



PENDIDIKAN BERKESINAMBUNGAN PATOLOGI KLINIK 2023

COMPREHENSIVE LABORATORY AND CLINICAL APPROACH TO REPLACEMENT THERAPY AND TRANSPLANTATION



**COMPREHENSIVE LABORATORY AND CLINICAL
APPROACH TO REPLACEMENT THERAPY AND
TRANSPLANTATION**

Penulis:

Budi Sampurna

Aria Yudhistira

Hanifah Oswari

Yusra

Nuri Dyah Indrasari

Ninik Sukartini

Fify Henrika

Cosphiadi Irawan

Sri Suryo Adiyanti

Suzanna Immanuel

Idrus Alwi

Merry Febriana Lauwiman

Maruhum Bonar H. M.

Ro Shinta C. Solin

Dewi Wulandari

July Kumalawati

Dean Handimulya

Adityo Susilo

Yusuf Bahasoan

Merci Monica Pasaribu

COMPREHENSIVE LABORATORY AND CLINICAL APPROACH TO REPLACEMENT THERAPY AND TRANSPLANTATION

Editor:

Nuri Indrasari

July Kumalawati

Reviewer:

Dean Handimulya

Dewi Wulandari Ro Shinta C. Solin

Penulis:

Budi Sampurna

Aria Yudhistira

Hanifah Oswari

Yusra

Nuri Dyah Indrasari

Ninik Sukartini

Fify Henrika

Cosphiadi Irawan

Sri Suryo Adiyanti

Suzanna Immanuel

Idrus Alwi

Merry Febriana Lauwiman

Maruhum Bonar H. M.

Ro Shinta C. Solin

Dewi Wulandari

July Kumalawati

Dean Handimulya

Adityo Susilo

Yusuf Bahasoan

Merci Monica Pasaribu

ISBN : 9786025532801

15x21cm

viii 343 Hal

Diterbitkan pertama oleh **PIPInterna**

Perkumpulan Informasi dan Penerbitan Intera Gedung Cimandiri One. Lantai 3, Unit 302 J Camandiri No 1-
Cikini, Jakarta Pusat 10330.

Tip: 021-31903775 Email pipfkui@yahoo.com

Bekerja sama dengan

Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik 2023

Jakarta Agustus 2023

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Dilarang memperbanyak mencetak, dan menerbitkan sebagian atau seluruh isi buku ini dengan cara dan berdua
apapun tanpa seizin penulis dan penerbit

DAFTAR KONTRIBUTOR TULISAN

Prof. dr. Budi Sampurna, DFM, SH, Sp.F(K), Sp.KPI

& Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Aria Yudhistira, Sp.F.M

& Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Prof. Dr. dr. Hanifah Oswari, Sp.A(K)

Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Yusra, Sp.PK(K), Ph.D

Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Nuri Dyah Indrasari, Sp.PK(K)

Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Dr. dr. Ninik Sukartini, DMM, Sp.PK(K)

Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Fify Henrika, Sp.PK(K)

Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

Dr. dr. Cosphiadi Irawan, Sp.PD-KHOM

Divisi Hematologi-Onkologi Medik, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Sri Suryo Adiyanti, M.Kes, Sp.PK(K)

Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Prof. dr. Suzanna Immanuel, Sp.PK(K)

Departemen Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo. Jakarta

Prof. Dr. dr. Idrus Alwi, Sp.PD-KKV, FACC, FESC

Divisi Kardiologi, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Merry Febriana Lauwiman

Divisi Kardiologi, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Dr. dr. Maruhum Bonar H. M., Sp.PD-KGH

Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Ro Shinta C. Solin, Sp.PK(K)

Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Dr. dr. Dewi Wulandari, Sp.PK(K), M.Sc

Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. July Kumalawati, DMM, Sp.PK(K)

Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Dean Handimulya, Sp.PK(K)

Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Adityo Susilo, Sp.PD-KPTI

Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi, KSM Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo & Rumah Sakit Universitas Indonesia, Jakarta

dr Yusuf Bahasoan, Sp PK(K), M.Sc

Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah
Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Dr.dr.Merci Monica Pasaribu, Sp.PK(K)

Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah
Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR PBPK 2023	iii
DAFTAR KONTRIBUTOR TULISAN	v
DAFTAR ISI	vii
REGULASI TRANSPLANTASI DI INDONESIA	1
Budi Sampurna	
TRANSPLANTASI ORGAN DAN JARINGAN: PERTIMBANGAN ETIK, MEDIKOLEGAL DAN HUKUM	9
Aria Yudhistira	
CAPAIAN PENTING TRANSPLANTASI HATI ANAK DI INDONESIA	21
Hanifah Oswari	
PEMERIKSAAN LABORATORIUM PADA TRANSPLANTASI HATI	34
Yusra	
PENGALAMAN PEMERIKSAAN LABORATORIUM PADA PASIEN TRANSPLANTASI HATI DI RSCM.....	52
Nuri Dyah Indrasari	
TRANSPLANTASI SEL PUNCA: SEBUAH PENGANTAR	64
Ninik Sukartini	
DIAGNOSIS LABORATORIUM KELAINAN HEMATOLOGI YANG DAPAT DILAKUKAN TRANSPLANTASI.....	80
Fify Henrika	
BONE MARROW TRANSPLANTATION IN BLOOD MALIGNANCIES IN INDONESIA.....	98
Cosphiadi Irawan	
PERAN SEL PUNCA PADA INFARK MIOKARD	104
Sri Suryo Adiyanti	
PERAN PEMERIKSAAN LABORATORIUM PADA TERAPI SEL PUNCA UNTUK INFAR MIOKARD	129
Suzanna Immanuel	
PERAN TERAPI SEL PUNCA PADA INFARK MIOKARD AKUT: PENELITIAN DI INDONESIA	152
Idrus Alwi, Merry Febriana Lauwiman	
LAPORAN TERKINI TRANSPLANTASI GINJAL DI JAKARTA (2023).....	198
Maruhum Bonar Hasiholan Marbun	
PEMERIKSAAN LABORATORIUM PADA PASIEN TRANSPLANTASI GINJAL	205
Ro Shinta Christina Solin	

B-TRACE PROTEIN SEBAGAI BIOMARKER LAJU FILTRASI GLOMERULUS.....	222
Dewi Wulandari	
PENGENDALIAN INFEKSI PADA HEMODIALISIS.....	236
July Kumalawati	
PENYAKIT INFEKSI PADA PASIEN TRANSPLANTASI ORGAN SOLID YANG MENDAPATKAN TERAPI IMUNOSUPRESAN	251
Dean Handimulya Djumaryo	
INFEKSI PASCATRANSPLANTASI ORGAN	274
Adityo Susilo	
RESPONS IMUN PADA REJEKSI ORGANTRANSPLAN.....	279
Yusuf Bahasoan	
PEMERIKSAAN IMUNOLOGI TRANSPLANTASI: HLA-TYPING, DONOR-SPECIFIC ANTIBODY, DAN CROSSMATCHING	308
Dewi Wulandandari	
MEKANISME AGEN IMUNOSUPRESIF	329
Merci Monica Pasaribu	

PEMERIKSAAN IMUNOLOGI TRANSPLANTASI: *HLA-TYPING, DONOR-SPECIFIC ANTIBODY, DAN CROSSMATCHING*

Dewi Wulandari

Departemen Patologi Klinik FKUI-RSCM

ABSTRAK

Transplantasi merupakan suatu upaya terapi kegagalan fungsi organ yang bersifat terminal dan gagal dengan upaya pengobatan lain. Transplantasi dilakukan dengan cara memindahkan sel, jaringan, atau organ sehat untuk menggantikan jaringan/organ yang mengalami kerusakan. Transplantasi dari orang lain yang secara genetik tidak identik disebut transplantasi allogenik. Walaupun transplantasi memberikan harapan hidup lebih panjang bagi pasien, tetapi reaksi penolakan jaringan/organ transplan berpotensi menimbulkan masalah kesehatan baru bagi pasien. Donor allogenik berpotensi mencetuskan reaksi penolakan secara imunologis oleh karena sel, jaringan, atau organ dari donor akan dikenali sebagai benda asing oleh sistem imun donor. Rejeksi imunologis merupakan salah satu mekanisme yang penting pada kegagalan transplantasi. Oleh karena itu, penentuan kompatibilitas imunologis antara donor dan resipien sebelum proses transplantasi sangat penting dan dapat menurunkan risiko kegagalan transplantasi. Sistem imun akan membedakan sel/jaringan *self* melalui pengenalan molekul HLA. Sebaliknya, molekul HLA donor berbeda dari HLA *self* dapat mencetuskan respon imun. Pada pasien tertentu bahkan sudah memiliki antibodi terhadap haplotipe HLA tertentu yang dapat dicetuskan riwayat transfusi sebelumnya, atau multiparitas. Adanya antibodi di dalam serum resipien ini dapat mencetuskan rejeksi hiperakut yang terjadi beberapa menit hingga beberapa jam setelah transplantasi. Kompatibilitas imunologis antara donor dan resipien dapat ditentukan melalui berbagai pemeriksaan antara lain HLA typing, antibodi terhadap HLA (DSA), dan *cross matching*. Pemilihan donor yang memiliki kompatibilitas imunologis yang baik diharapkan dapat meningkatkan keberhasilan transplantasi dan memberikan harapan hidup yang lebih baik bagi resipien.

Kata kunci: transplantasi organ, *HLA typing*, *anti-HLA antibody*, *haplotipe HLA*, *DSA*, *cross matching*.

PENDAHULUAN

Berbagai kondisi patologis terutama yang bersifat kronis dapat berakibat pada kerusakan jaringan dan kegagalan fungsi organ secara terminal dan menetap. Transplantasi merupakan suatu upaya

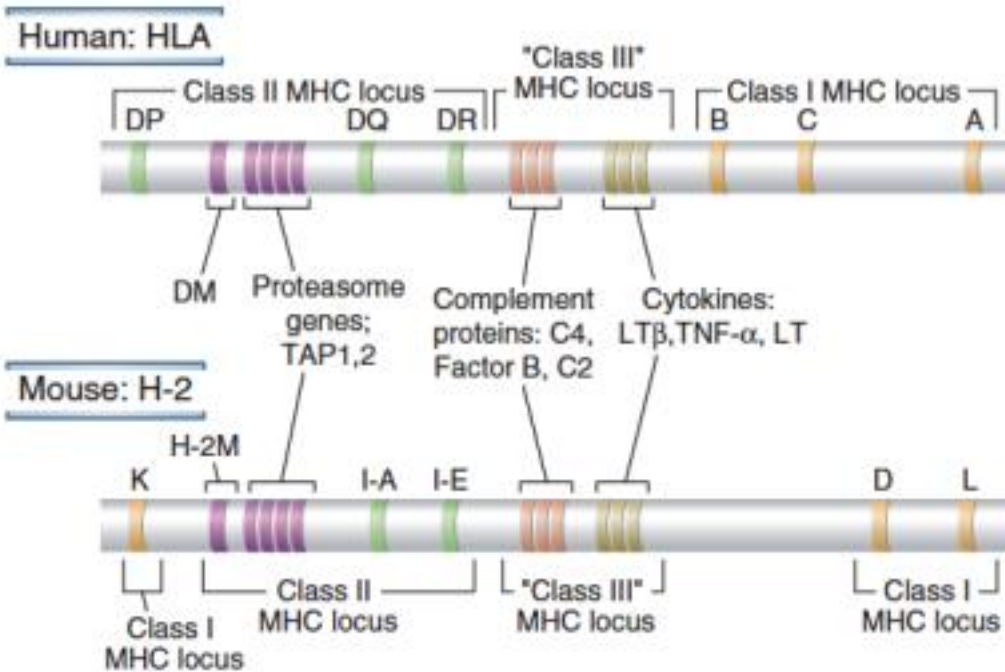
terapi untuk menggantikan fungsi jaringan/organ tersebut dengan cara memindahkan sel, jaringan atau organ dari lokasi atau individu lain, jika pilihan upaya pengobatan lain sudah tidak dapat mengatasi kegagalan fungsi organ tersebut. Walaupun prosedur transplantasi ini merupakan suatu upaya menyelamatkan jiwa, namun keberhasilannya sangat tergantung pada suatu mekanisme yang kompleks dari sistem imun.^{1,2}

Transplantasi sel, organ, atau jaringan yang berasal dari donor individu lain yang secara genetik berbeda disebut transplantasi allograf. Pada transplantasi tipe ini, sel/jaringan donor dapat dikenali sebagai benda asing oleh sistem imun, sehingga mencetuskan respons imun dalam upaya mengeliminasi jaringan asing tersebut. Kondisi seperti ini dikenal dengan istilah rejeksi transplan.² Intensitas respon imun terhadap jaringan transplan bervariasi, tergantung jenis jaringan yang ditransplantasikan (*graft*) dan variasi genetik antara donor dan resipien. Kesesuaian antar donor dan resipien untuk menentukan kompatibilitas imun sebelum transplantasi dapat mencegah terjadinya rejeksi transplan. Selain itu, sistem imun juga dapat dimanipulasi dengan pengobatan untuk membantu kesintasan jangka panjang dan keberhasilan transplantasi.² Pada makalah ini akan dibahas prinsip dasar rejeksi imun, dan berbagai pemeriksaan imunologi transplantasi yang meliputi *HLA-typing*, *crossmatching*, dan *Donor-Specific Antibody*.

HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN (HLA)

Human Leukocyte Antigen (HLA) adalah sekelompok gen yang berada pada lengan pendek kromosom 6, dan analogi dari major histocompatibility complex (MHC) yang ada pada manusia. *Major Histocompatibility Complex (MHC)* pertama kali teridentifikasi pada tikus sebagai sekelompok gen yang berperan pada penolakan jaringan transplan yang berasal dari tikus donor yang memiliki strain yang berbeda.^A Gen HLA terdiri dari sekelompok sekuen pengkode (*coding sequences*) yang mengatur ekspresi molekul yang memiliki fungsi yang serupa namun tidak identik dengan molekul MHC pada tikus. (Gambar 1.). Gen HLA terletak di suatu regio sepanjang sekitar 4000 kilobasa di lengan pendek kromosom 6 band p21.3. Regio ini meliputi sejumlah gen dan pseudogen.^{1,3}

Gen HLA dibagi menjadi kelompok klasik dan non-klasik. Gen HLA klasik sudah berhasil dikarakterisasi, dan berperan pada presentasi antigen kepada sel imun. Gen klasik tersebut terdiri dari HLA kelas I yang meliputi HLA-A, HLA-B, dan HLA-C, dan HLA kelas II yang meliputi HLA-DR, HLA-DQ, dan HLA-DP). Sedangkan gen HLA non-klasik terdiri HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-DM, and HLA-DO.¹



Gambar 1.

Pemetaan skematik lokus MHC yang menunjukkan kemiripan pengaturan dasar gen MHC pada manusia dan tikus.

Lokus MHC kelas II digambarkan sebagai beberapa blok yang masing-masing mengandung beberapa gen. MHC kelas III adalah gen yang mengkode molekul selain molekul yang berperan pada presentasi peptida, dan istilah ini jarang digunakan.¹

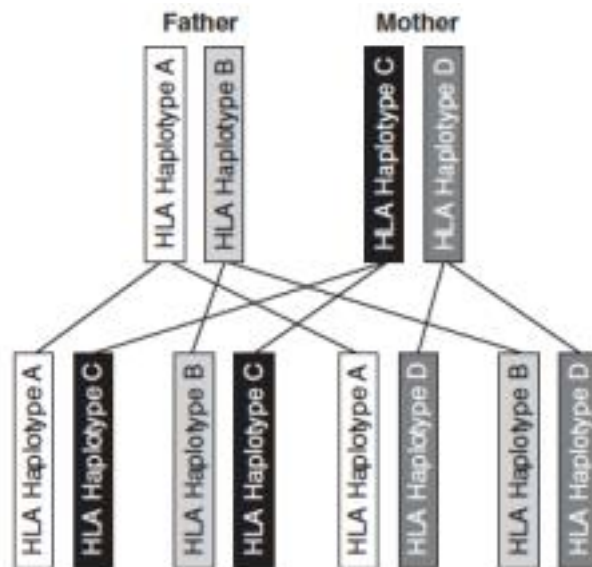
Molekul HLA kelas I dan II masing-masing terdiri dari sepasang rantai polipeptida yang terhubung melalui ikatan non-kovalen. Molekul HLA kelas II terdiri dari satu rantai polimorfik α dan satu rantai polimorfik β , sedangkan molekul HLA kelas I terdiri dari 1 rantai polimorfik α dan 1 rantai ringan yang sama untuk seluruh molekul HLA kelas I, yaitu β 2-microglobulin. Seluruh rantai α dan β dari molekul HLA kelas I dan II di kode oleh gen yang terletak dalam regio MHC, sedangkan β 2- *microglobulin* dikode di luar regio MHC yaitu di kromosom 15.^{1,2} (Gambar 2).

Molekul HLA kelas I Molekul HLA kelas II

Gambar 2. Struktur molekul HLA kelas I dan kelas II.

Residu polimorfik dari molekul HLA kelas I yang terdiri dari domain $\alpha 1$ dan $\alpha 2$, dan residu polimorfik molekul HLA kelas II yang terbentuk dari domain $\alpha 1$ dan $\beta 1$ membentuk peptide binding cleft, yang menyebabkan variasi di antara molekul HLA dan berperan pada pengenalan oleh limfosit T.²

Gen HLA diturunkan *en bloc* dari masing-masing orang tua, walaupun masih mungkin terjadi rekombinasi. Setiap haplotipe HLA sebagai satu unit yang diturunkan dari generasi ke generasi mengikuti hukum Mendel. Oleh karena setiap individu mewarisi 2 dari 4 haplotipe yang mungkin (dua dari masing-masing orang tuanya), maka terdapat empat kemungkinan genotipe dari setiap individu, dan probabilitas identitas genotipik di antara 2 saudara kandung adalah 25%. (Gambar 3). Saudara kandung yang memiliki fenotipe haplotipe HLA yang identik juga memiliki genotipe HLA yang identik. Pada suatu populasi yang besar, frekuensi gen mencapai *equilibrium* setelah beberapa generasi, kecuali bila ada kondisi yang mempengaruhi kesintasan individu atau kemampuan untuk mempunyai keturunan (*Hardy-Weinberg law*). Dalam kondisi *equilibrium* ini, prevalensi gen dipertahankan berdasarkan frekuensinya. Namun pada populasi khusus kombinasi khusus antigen HLA terjadi dengan frekuensi lebih tinggi daripada yang di prevalensi masing-masing alel di populasi tersebut.^{2,3}



Gambar 3. Potensi Haplotipe HLA pada Anak³

Karakteristik yang menonjol dari sistem HLA adalah sangat polimorfik. Sebagian besar individu heterozigot, dan oleh karenanya memiliki 2 alel yang berbeda dari masing-masing gen

HLA, yang diekspresikan secara ko-dominan, yang artinya diekspresikan sama kuat pada permukaan sel. Oleh karena setiap individu memiliki tiga gen HLA kelas I (-A, -B, -C) dan tiga gen HLA kelas II (-DR, -DP, -DQ), maka kebanyakan individu (kecuali yang homozigot) mengekspresikan 6 molekul HLA kelas I yang berbeda, dan 6 molekul HLA kelas II yang berbeda di permukaan selnya. Polimorfisme HLA terutama terjadi pada domain *peptide binding* sehingga diduga bahwa polimorfisme ini berhubungan dengan upaya pertahanan diri terhadap berbagai agen infeksius.³

Polimorfisme HLA merupakan dasar dari alloimunisasi, membedakan antara *self* dan *non-self*, karena sebagian besar individu memiliki molekul HLA yang berbeda di permukaan selnya. Saat ini telah teridentifikasi ratusan alel HLA melalui teknik *typing* beresolusi tinggi dan oleh karenanya peluang untuk dua individu memiliki fenotipe HLA yang identik sangat rendah.^{3,4}

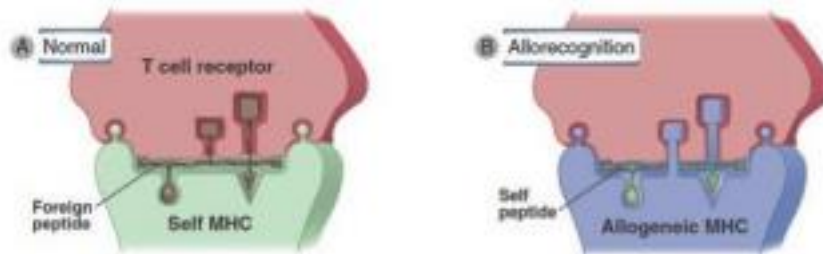
IMMUNOLOGI PADA REJEKSI TRANSPLAN

Jika sistem imun dihadapkan pada benda asing, akan dibentuk suatu respon serangan untuk mengeliminasi benda asing tersebut dalam rangka melindungi tubuh dari segala potensi yang membahayakan. Molekul HLA *self* di permukaan sel yang dikenali oleh sistem imun, akan mencegah terbentuknya respon imun tersebut. Sebaliknya, sel yang tidak mempresentasikan molekul HLA yang dikenali tersebut, akan direspon sebagai sel asing yang perlu dieliminasi. Demikian pula jaringan/organ transplan (*graft*) yang mengekspresikan HLA yang berbeda akan dikenali sebagai benda asing oleh sistem imun.^{1,2}

Respon imun terhadap *graft* terdiri dari mekanisme selular (*lymphocyte mediated*) dan humoral (*antibody mediated*). Walaupun berbagai sel terlibat dalam, namun limfosit T memiliki peran sentral dalam rejeksi *graft*. Aktivasi limfosit T oleh *graft allogenic* dapat terjadi melalui jalur langsung (direk) dan tidak langsung (tidak langsung) yang akan merangsang pembentukan limfosit T allospesifik.^{2,3}

1. Jalur aktivasi langsung (direk)

Aktivasi langsung terjadi apabila limfosit T melalui reseptornya (*T cell receptor/TCR*) mengenali molekul HLA intak di permukaan sel donor. Berbagai mekanisme dapat mendasari terjadinya aktivasi limfosit T oleh molekul HLA donor, salah satunya hipotesis yang diajukan adalah struktur kompleks yang terbentuk oleh HLA donor dan peptida donor menyerupai kompleks yang terbentuk dari HLA *self* dan peptida patogen. Sehingga kompleks ini akan dikenali oleh sistem imun sebagai kompleks yang harus “diserang”. (Gambar 4)²

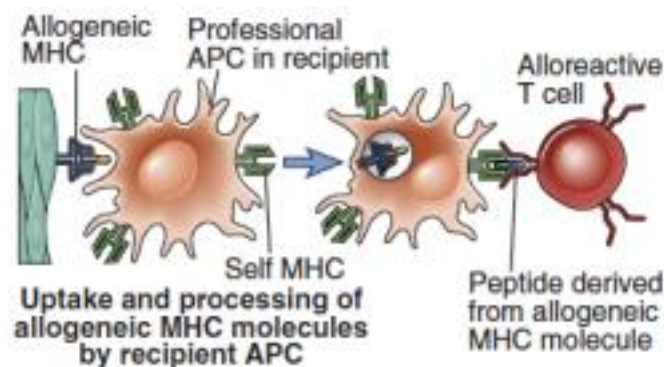


Gambar 4. Dasar Molekular Aktivasi Langsung (Direk).

Reseptor limfosit T yang telah terbentuk dan mengenali kompleks HLA *self* dan peptida asing (A) akan bereaksi terhadap kompleks antara HLA allogenik dengan peptida yang membentuk kompleks dengan struktur serupa (B).²

2. Jalur aktivasi tidak langsung (direk)

Aktivasi tidak langsung terjadi apabila molekul HLA *graft* ditangkap dan diproses oleh *antigen presenting cell (APC)* resipien, dan selanjutnya dipresentasikan dan mencetuskan aktivasi limfosit T resipien. (Gambar 5). Jalur aktivasi ini umumnya terjadi lebih lambat, menyebabkan rejeksi kronik atau rejeksi akut yang lambat, dan menyebabkan vaskulopati kronik.^{1,2}



Gambar 5. Jalur aktivasi indirek limfosit T.¹

STADIUM KLINIS REJEKSI TRANSPLAN

1. Rejeksi Hiperakut

Rejeksi hiperakut terjadi beberapa menit sampai beberapa jam setelah transplantasi dan disebabkan oleh antibodi yang telah dimiliki sebelumnya (*pre-existing*) oleh resipien yang sesuai dengan antigen asing dari donor, yang mencetuskan respon imun terhadap *graft*. Antibodi tersebut dapat terbentuk sebagai akibat dari transfusi atau transplantasi sebelumnya yang dialami oleh resipien, atau multiparitas. Antibodi tersebut bereaksi dengan sel di pembuluh darah *graft* yang menyebabkan aktivasi sistem koagulasi dan mencetuskan terbentuknya bekuan darah, sehingga menghalangi suplai darah dan berakibat kematian jaringan transplan dalam waktu singkat.^{1,2}

2. Rejeksi Akut

Rejeksi akut terjadi dalam 6 bulan pertama setelah transplantasi. Umumnya resipien paling berisiko pada 3 bulan pertama. Rejeksi akut terjadi akibat terbentuknya antibodi terhadap jaringan asing yang ditransplantasikan. Reaksi rejeksi akut ini akan terjadi pada hampir semua transplantasi dengan intensitas yang beragam, kecuali transplantasi yang dilakukan antar individu kembar identik. Namun jika dapat dikenali sedini mungkin, rejeksi akut dapat diterapi dengan menekan sistem imun, sehingga kerusakan permanen pada graft dapat dicegah pada beberapa kasus.^{1,2}

3. Rejeksi Kronik

Rejeksi kronik dapat terjadi sebagai akibat episode rejeksi akut berulang, dan menyebabkan kegagalan organ transplan. Rejeksi kronik umumnya ditandai dengan terbentuknya jaringan parut pada jaringan atau organ transplan yang terbentuk selama beberapa bulan hingga beberapa tahun. Hingga saat ini belum ada terapi untuk rejeksi kronik ini selain mengangkat *graft*.^{1,2}

PEMILIHAN DONOR YANG SESUAI

Rejeksi transplan dapat diminimalisasi dengan menyesuaikan kompatibilitas donor dan resipien sebelum transplantasi. Semakin baik kesesuaian antara donor dan resipien, semakin besar peluang keberhasilan transplantasi. Kompatibilitas antara donor dan resipien dapat ditentukan melalui kombinasi berbagai pemeriksaan antara lain: *tissue typing (HLA typing)*, *panel reactive antibody (donor-specific antibody)*, dan *crossmatching*.

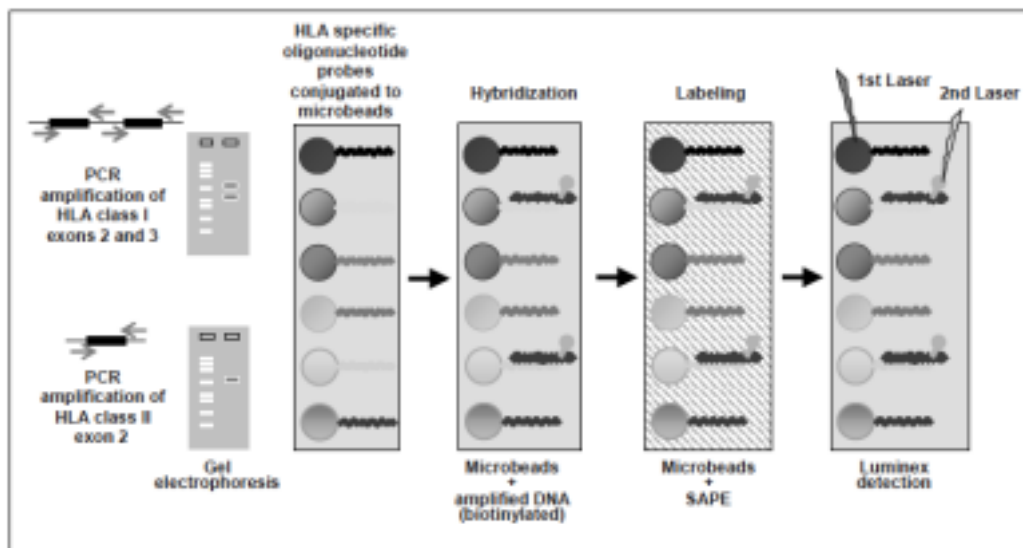
Pemeriksaan *HLA typing*

Pemeriksaan *HLA typing* dilakukan untuk menentukan haplotipe HLA yang dimiliki seorang individu. Penentuan haplotipe HLA dilakukan dengan berbagai tujuan antara lain untuk melihat hubungan haplotipe HLA tertentu dengan berbagai penyakit, untuk melihat potensi *responsiveness* pada pasien kanker terhadap imunoterapi tertentu, dan pada transplantasi diperlukan untuk memprediksi potensi kesesuaian antara donor dan resipien. Pemeriksaan *HLA typing* dapat dilakukan terhadap semua individu calon donor maupun resipien.⁵

Pemeriksaan *HLA typing* dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain secara serologis maupun pemeriksaan berbasis DNA. Pemeriksaan serologis dilakukan dengan mereaksikan sel yang akan ditentukan haplotipe HLA dengan suatu panel antibodi yang telah diketahui spesifisitasnya terhadap berbagai haplotipe HLA. Namun pemeriksaan dengan cara ini sudah mulai ditinggalkan dan berganti dengan pemeriksaan berbasis molekular yang dianggap lebih akurat dan efisien.⁵

Metode *HLA typing* berbasis DNA secara langsung menentukan alel dari gen HLA. Berbagai pemeriksaan berbasis molekular antara lain: pemeriksaan berbasis PCR dengan sequence specific primer (SSP) dan sequence specific oligonucleotide probe (SSOP). Metode SSOP saat ini merupakan salah satu metode yang banyak dipakai saat ini dengan memanfaatkan teknik Luminex, sehingga dapat mendeteksi banyak target secara simultan sekaligus.

Pada metode SSOP, proses PCR yang mengamplifikasi regio exon yang mengkode HLA kelas I dan kelas II menghasilkan *amplicon* berlabel biotin. Selanjutnya amplicon tersebut akan ditangkap oleh sejumlah probe oligonukleotida yang spesifik untuk berbagai sekuens alel HLA yang terkonjugasi dengan *microbeads*. Proses staining berikutnya dengan menambahkan SAPE yang akan berikatan dengan biotin. Pada saat pembacaan di alat, sinyal fluoresensi dari *microbeads* menunjukkan alel HLA, sedangkan sinyal fluoresensi dari SAPE menunjukkan alel yang berasal dari sample pasien.⁶



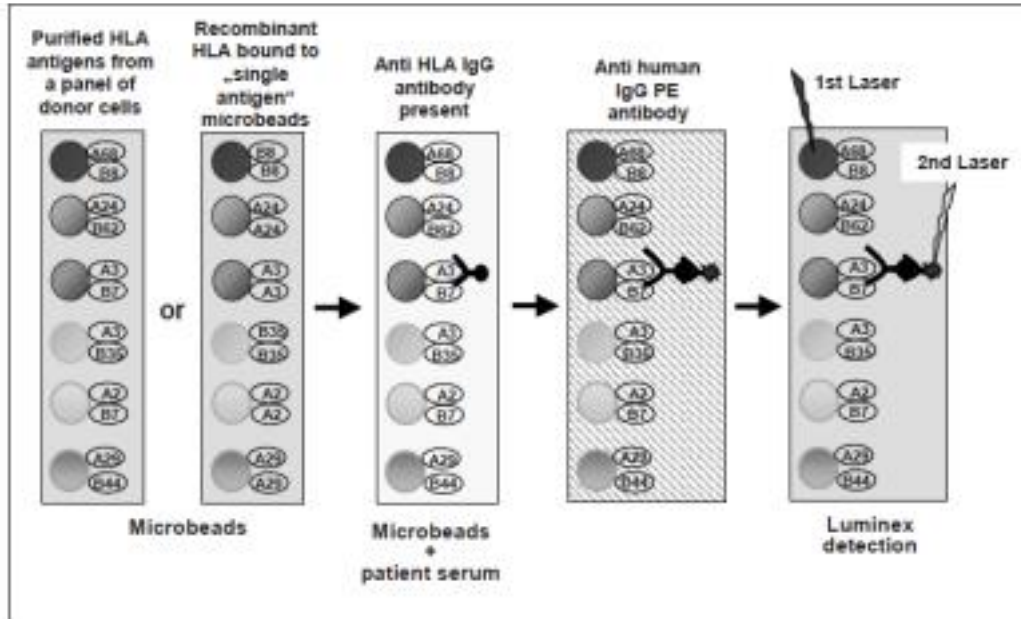
Gambar 6. Prinsip pemeriksaan SSOP dengan metode Luminex.⁶

Pemeriksaan DSA/Antibody anti-HLA

Keberadaan antibodi terhadap HLA di dalam darah resipien sebelum transplantasi merupakan salah satu faktor risiko utama terjadinya rejeksi transplan allograf. Pemeriksaan penyaring terhadap adanya antibodi alloreaktif ini sebelumnya menggunakan teknik *complement-dependent cytotoxicity assay (CDC)* yang mendeteksi adanya antibodi IgG1/3 dan IgM yang akan mengaktivasi sistem komplemen. Pemeriksaan ini menggunakan limfosit yang telah ditentukan haplotipe nya, sehingga disebut juga teknik untuk mendeteksi *panel reactive antibody (PRA)*. Sebagai contoh, jika serum resipien menunjukkan reaksi positif terhadap separuh dari sel dalam

panel, maka hasil dinyatakan memiliki *panel reactivity* 50% PRA.⁶

Namun, spesifisitas CDC terbatas, karena reaksi positif juga dapat ditimbulkan oleh antibodi non HLA. Selain itu juga sensitivitasnya terbatas, karena hanya antibodi yang mampu mengaktivasi sistem komplemen yang menimbulkan reaksi positif. Saat ini metode berbasis fase padat seperti ELISA dan teknik berbasis flow cytometry baik menggunakan teknik *flow cytometry* klasik maupun Luminex telah menggantikan metode CDC.⁶



Gambar 7. Prinsip pemeriksaan Antibodi terhadap HLA berbasis Luminex.⁶

Pada pemeriksaan antibodi HLA dengan teknik Luminex, serum pasien calon resipien direaksikan dengan suatu panel antigen HLA yang terkonjugasi dengan microbeads fluoresens. Antigen HLA yang dimasukkan dalam panel biasanya ditentukan berdasarkan kekerapan haplotipe dalam suatu populasi. Walaupun demikian kit komersial yang tersedia saat ini, umumnya sudah mencakup ratusan dan sebagian besar haplotipe HLA yang ada. Jika di dalam serum pasien terdapat antibodi IgG terhadap haplotipe HLA tertentu maka akan terbentuk tertangkap oleh microbeads yang sesuai yang selanjutnya pada saat penambahan konjugat berlabel fluorokrom (PE) akan membentuk kompleks. Kompleks ini akan dideteksi pada saat pembacaan di alat Luminex.⁶

Pemeriksaan Uji Silang (Crossmatching)

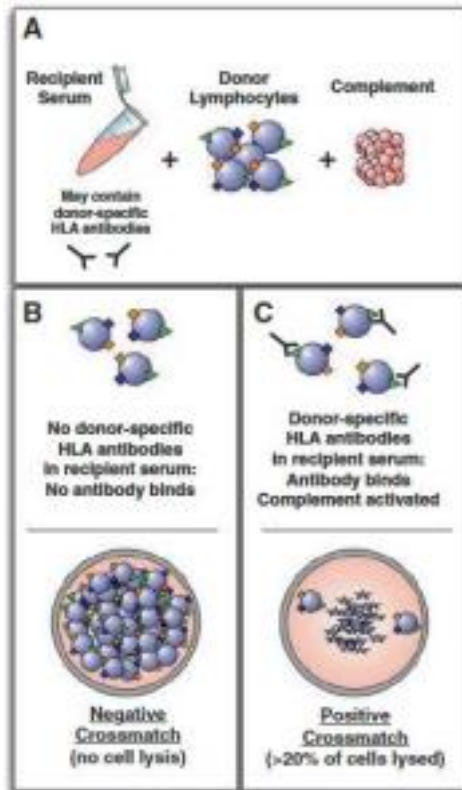
Pemeriksaan uji silang (crossmatching) adalah suatu pemeriksaan untuk menentukan risiko

imunologis dengan memastikan bahwa tidak ada antibodi dalam sirkulasi resipien terhadap antigen donor. Dengan kata lain, kemungkinan adanya antibodi dalam sirkulasi resipien yang bereaksi dengan sel donor, namun tidak terdeteksi dengan pemeriksaan DSA dapat dideteksi dengan pemeriksaan uji silang. Uji silang dapat dilakukan dengan cara *physical crossmatch* (PXM) tests, seperti *complement-dependent cytotoxicity crossmatch* (CDCXM) and flow cytometry crossmatch (FCXM), yang dilakukan dengan cara mereaksikan serum resipien dengan sel donor. Belakangan mulai diperkenalkan teknik Virtual crossmatch (VXM) untuk menilai kompatibilitas imunologis antara resipien dan calon donor dengan menganalisis hasil dari 2 pemeriksaan independen yaitu antibodi HLA resipien dan *HLA typing* donor.⁷

CDC crossmatching

Pemeriksaan CDC *crossmatching* adalah pemeriksaan untuk mendeteksi antibodi yang berpotensi memiliki fungsi fiksasi komplemen di dalam sirkulasi resipien yang akan segera berikatan dan bereaksi dengan jaringan transplan. Sebagaimana telah disebutkan di bagian sebelumnya bahwa alloantibodi yang telah ada sebelumnya di dalam sirkulasi resipien, berpotensi menyebabkan rejeksi hiperakut.⁷

Pemeriksaan CDC *crossmatching* dilakukan dengan mereaksikan limfosit B dan T donor dengan serum resipien. Selanjutnya ditambahkan komplemen (misalnya komplemen dari serum kelinci). Jika di dalam serum resipien terdapat antibodi yang melekat pada permukaan limfosit donor dan memiliki kapasitas fiksasi komplemen akan terjadi kematian sel. (Gambar 8). Pembacaan hasil dilakukan secara mikroskopis dengan menghitung persentase sel yang mati/lisis dan hasil dilaporkan secara semikuantitatif. Skor 0 apabila tidak ada sel yang mati, dan selanjutnya skor 2, 4, dan 6 sesuai dengan derajat sel lisis. Skor 2 adalah positif rendah, dimana terjadi sekitar 20% sel lisis, sedangkan skor 8 adalah skor tertinggi di mana seluruh sel donor lisis. Namun hingga saat ini belum ada standarisasi, dan sistem skoring yang berbeda-beda masih dipakai.⁸



Gambar 8. Prinsip pemeriksaan CDC crossmatching.⁸

Uji Silang berbasis Flow cytometry

Seperti halnya CDC *crossmatching*, uji silang berbasis flow cytometry (FCXM) juga bertujuan mengidentifikasi antibodi yang yang mentarget antigen di permukaan sel. Namun perbedaannya, pada FCXM tanpa mempertimbangkan fungsi fiksasi komplemennya, dan tidak dapat diprediksi bahwa antibodi tersebut patologis. Pemeriksaan ini pertama kali diperkenalkan pada tahun 1980an, dengan mereaksikan serum resipien dengan donor limfosit. Jika terdapat allo-antibodi dalam serum resipien, akan berikatan dengan limfosit donor. Pada pemeriksaan ini limfosit B dan T tidak perlu dipisahkan, namun cukup digunakan antibodi yang spesifik untuk mengidentifikasi populasi limfosit B dan T. Selanjutnya antibodi poliklonal anti human IgG berlabel fluoresensi ditambahkan untuk mendeteksi adanya allo-antibodi IgG. Intensitas fluoresensi dinilai sebagai *median channel fluorescence* atau *molecules of equivalent soluble fluorochrome*. Pembacaan tes ini adalah perubahan intensitas fluoresensi. Jika ada alloantibodi yang terikat pada sel akan menyebabkan peningkatan intensitas fluoresensi dibandingkan serum kontrol negatif. Jika peningkatan intensitas melebihi nilai *cut-off* yang telah ditentukan, dianggap sebagai *crossmatch* positif.⁸

Jika pada CDC *crossmatch* merupakan suatu pemeriksaan fungsional yang membaca lisis sel,

pada pemeriksaan *crossmatching* berbasis *flow cytometry* hanya mendeteksi adanya anti HLA yang melekat di permukaan sel, tanpa mempertimbangkan potensi patologis dan fiksasi komplemen.⁸

Virtual Crossmatch (VXM)

Berbeda dengan CDCXM dan FCXM, pada VXM tidak dilakukan suatu reaksi in vitro antara sel donor dan serum resipien, namun kompatibilitas imunologis antara donor dan resipien dianalisis secara virtual berdasarkan hasil pemeriksaan *HLA typing* donor dan hasil pemeriksaan anti-HLA (DSA) dengan metode Luminex. Jika di dalam serum resipien tidak terdapat anti-HLA terhadap alel HLA yang dimiliki donor hasil VXM dilaporkan sebagai negatif. Jika di dalam serum resipien terdapat anti-HLA terhadap alel HLA donor, positività hasil ditentukan berdasarkan *cut-off* nilai MFI (*mean fluorescence index*) dari antibodi yang bersangkutan. Namun, hingga saat ini belum ada consensus mengenai *cut-off* MFI antibodi HLA untuk menentukan nilai positif. Suatu uji klinis mengenai transplantasi organ menetapkan nilai *cut off* MFI antara 1000 hingga 1500, dan nilai ini banyak diterapkan di berbagai laboratorium HLA.⁷

RINGKASAN

Transplantasi merupakan suatu upaya terapi kegagalan fungsi organ yang bersifat terminal dan gagal dengan upaya pengobatan lain. Walaupun transplantasi memberikan harapan hidup lebih panjang bagi pasien, tetapi reaksi penolakan jaringan/organ transplan berpotensi menimbulkan masalah kesehatan baru bagi pasien. Rejeksi imunologis merupakan salah satu mekanisme penolakan jaringan/organ transplan yang paling sering terjadi. Oleh karena itu, penentuan kompatibilitas imunologis antara donor dan resipien sebelum proses transplantasi sangat penting dan dapat menurunkan risiko kegagalan transplantasi.

Kompatibilitas imunologis antara donor dan resipien dapat ditentukan melalui berbagai pemeriksaan antara lain *HLA typing*, antibodi terhadap HLA (DSA), dan cross matching. Pemilihan donor yang memiliki kompatibilitas imunologis yang baik diharapkan dapat meningkatkan keberhasilan transplantasi dan memberikan harapan hidup yang lebih baik bagi resipien.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Major Histocompatibility Complex Molecules and Antigen Presentation to T Lymphocytes. In: Cellular and Molecular Immunology, 7th ed. Elsevier Saunders. 2012. p.109—138.

2. Malhotra P, Malu S, Kapur S. Immunology of Transplant. [Updated 2019 Oct 19]. In: Medscape [Internet]. available from: <https://emedicine.medscape.com/article/432209>
3. Wang E, Adam S, Marincola FM, Stromcek DF. Human Leukocyte and Granulocyte Antigens and Antibodies: The HLA and HNA System. In: Blood Banking & Transfusion Medicine 2nd ed. Basic Principle & Practice. Churchill Livingstone. 2007. p.129—156. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-06981-9.50015-6>.
4. Nordquist H, Jamil RT. Biochemistry, HLA Antigens. [Updated 2023 Apr 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546662/>
5. Dunn PPJ. Human leukocyte antigen typing: technique and technology, a critical appraisal. *Int J Immunogenet.* 2011 Dec;38(6):463-73.
6. Heinneman FM. HLA Genotyping and Antibody Characterization Using the Luminex™ Multiplex Technology. *Transfus Med Hemother* 2009;36:273–278.
7. Bhaskaran MC, Heidt S, Muthukumar T. Principles of Virtual Crossmatch Testing for Kidney Transplantation. *Kidney Int Rep* (2022) 7,1179—88; <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2022.03.006>
8. Mulley WR, Kanellis J. Understanding crossmatch testing in organ transplantation: A case-based guide for the general nephrologist. *Nephrology* 16 (2011) 125–133.