

INFORMASI LABORATORIUM

ISSN 0854-7165 | No. 1/2020

KOMBINASI AFP DAN PIVKA-II UNTUK DETEKSI DINI *HEPATOCELLULAR CARCINOMA* (HCC)

PENDAHULUAN

Kanker hati merupakan jenis kanker ke-6 terbanyak di seluruh dunia dan merupakan jenis kanker kedua yang paling banyak menyebabkan kematian. Sekitar 754.000 orang meninggal setiap tahun karena kanker hati. Salah satu kanker hati primer yang paling umum adalah *Hepatocellular carcinoma* (HCC). Kanker hati lebih banyak diderita oleh pasien laki-laki daripada perempuan, dengan perbandingan 3:1 pada populasi dengan insidensi tinggi dan 1:8 pada populasi dengan insidensi rendah. Di Indonesia kanker hati merupakan tumor ganas dengan prognosis yang amat buruk, umumnya penderita meninggal dalam waktu 2-3 bulan setelah diagnosis ditegakkan (1,2).

HCC memiliki prognosis yang buruk serta pilihan pengobatan yang terbatas pada stadium lanjut, sehingga upaya deteksi dini menjadi penting untuk dilakukan. Observasi dengan pencitraan (*imaging*) hingga saat ini masih tetap menjadi baku emas untuk mengevaluasi perkembangan HCC. Meskipun demikian, perkembangan penyakit HCC dengan invasi vaskular atau *multiple lesions*, terutama pada pasien sirosis tidak dapat diketahui dengan jelas melalui analisis radiologis saja. Salah satu cara mengatasi keterbatasan ini adalah dengan menggunakan penanda serologis, yaitu Alfa

fetoprotein (AFP) dan *Protein induced by vitamin K absence or antagonist-II* (PIVKA-II) (2).

EPIDEMIOLOGI HCC

Prevalensi kanker hati, khususnya HCC bervariasi pada berbagai wilayah di seluruh dunia, dengan insidensi tertinggi di Asia Timur dan sub-Sahara Afrika. Di Amerika, insidensi HCC meningkat hingga 3 kali lipat semenjak tahun 1980, selain itu di Kanada HCC menjadi satu-satunya kanker dengan angka kematian yang meningkat serta diperkirakan akan terus meningkat hingga tahun 2020 dan seterusnya. Deteksi HCC pada tahap awal melalui tes skrining berulang (*surveilans*) dan upaya kuratif dapat meningkatkan kesintasan dalam 5 tahun. Faktor risiko utama pada HCC meliputi sirosis, infeksi hepatitis B atau hepatitis C kronis, *alcoholic fatty liver disease* (AFLD), dan *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD). Selain itu, faktor risiko lain juga ikut berperan dalam perkembangan HCC, diantaranya adalah alfatoksin, riwayat keluarga dan faktor genetik, obesitas, diabetes, merokok, dan adanya ko-infeksi virus HIV (3).

Di Asia, *Japan Society of Hepatology* (JSH) membedakan populasi berisiko tinggi HCC menjadi 3, yaitu: (1) "*super-high-risk patients*" (sirosis hepatitis B dan sirosis hepatitis C) dimana pasien direkomendasikan untuk melakukan tes *surveilans* setiap 3-4 bulan sekali, (2) "*high-risk patients*" dimana pasien direkomendasikan untuk melakukan tes *surveilans* setiap 6 bulan, dan (3) "*risk factor other than hepatitis virus infection or liver cirrhosis*" dimana rekomendasi untuk melakukan tes *surveilans* masih belum dapat ditentukan. JSH juga merekomendasikan *surveilans* dengan 3 jenis tes yaitu: AFP, PIVKA-II dan AFP-L3. Di sisi

lain *Asian Pacific Association for the Study of the Liver* (APASL) mengeluarkan rekomendasi tes surveilans untuk pasien hepatitis B dengan sirosis dan pasien hepatitis C dengan sirosis saja karena mempertimbangkan efektivitas biaya dan situasi ekonomi di setiap Negara Asia tidak sama, sedangkan *Korean Liver Cancer Study Group and the National Cancer Center* merekomendasikan tes surveilans pada populasi dengan risiko tinggi yang meliputi pasien dengan infeksi virus hepatitis B, infeksi virus hepatitis C, dan pasien sirosis berdasarkan efektivitas biaya dan manfaat kelangsungan hidup. Di Indonesia, Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia (PPHI) merekomendasikan surveilans karsinoma hepatoselular dilakukan setiap enam bulan dengan ultrasonografi dan pemeriksaan penanda tumor (AFP dan/atau PIVKA-II) (3).

PENANDA SEROLOGIS: AFP DAN PIVKA-II

AFP merupakan penanda yang digunakan sebagai pemeriksaan pendukung diagnosis HCC. Meskipun demikian, AFP tidak spesifik terhadap tumor saja, karena dapat

diproduksi dan dilepaskan dari jaringan hati ataupun jaringan lainnya yang mengalami kerusakan. Konsentrasi AFP yang meningkat juga ditemukan pada pasien dengan penyakit hati non-kanker, seperti sirosis ataupun hepatitis. AFP memiliki keterbatasan untuk deteksi HCC, sehingga dibutuhkan penanda lain untuk mendukung deteksi HCC, salah satunya adalah PIVKA-II (1).

PIVKA-II merupakan penanda potensial untuk skrining HCC. PIVKA-II atau yang dikenal juga dengan nama *des-gamma-carboxyprothrombin* (DCP) adalah bentuk *immature* dari protrombin yang tidak memiliki fungsi koagulasi. PIVKA-II disintesis ketika terjadi kerusakan dari prekursor karboksilasi yang ditemukan pada pasien HCC (4).

PIVKA-II berperan dalam progresi HCC dengan bertindak sebagai *autologous growth factor*. Tingginya konsentrasi serum PIVKA-II berasosiasi dengan ukuran HCC, invasi mikrovaskular, *metastatic dissemination*, kekambuhan HCC setelah transplantasi dan/atau ablasi nodul HCC. PIVKA-II tidak meningkat pada penyakit hati jinak (seperti: sirosis dan nekrosis), namun meningkat pada HCC tahap awal dan nodul HCC berbagai ukuran (4).

Tabel 1. Sensitivitas dan Spesifisitas AFP serta PIVKA-II dalam membedakan pasien HCC dari kontrol (7).

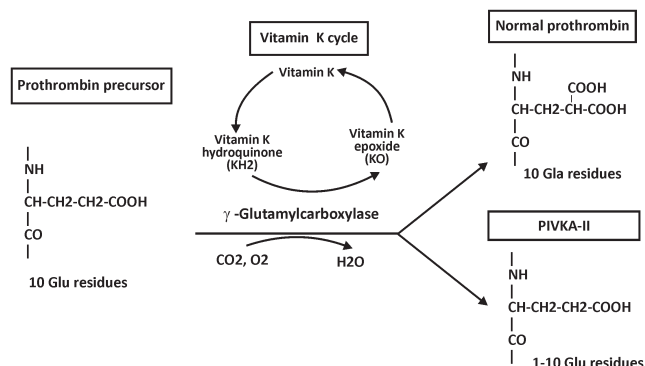
PIVKA-II (mAU/ml)	Cut-off ≥ 32.0			Cut-off ≥ 100		
Months before HCC diagnosis	Sensitivity	Specificity	Youden Index	Sensitivity	Specificity	Youden Index
- 12	31.4%	93.5%	24.9%	2.9%	100%	2.9%
- 9	27.8%	94.4%	22.2%	5.6%	99.1%	4.7%
- 6	38.9%	92.6%	31.5%	8.3%	100%	8.3%
- 3	41.7%	92.6%	34.3%	19.4%	100%	19.4%
0	58.3%	92.6%	50.9%	36.1%	100%	36.1%
AFP (ng/ml)	Cut-off ≥ 5.0			Cut-off ≥ 200		
Months before HCC diagnosis	Sensitivity	Specificity	Youden Index	Sensitivity	Specificity	Youden Index
- 12	51.4%	77.8%	29.2%	2.9%	100%	2.9%
- 9	47.2%	77.8%	25.0%	0	100%	0
- 6	55.6%	88.0%	43.6%	5.6%	100%	5.6%
- 3	66.7%	88.9%	55.6%	16.7%	100%	16.7%
0	75.0%	91.7%	66.7%	19.4%	100%	19.4%
AFP + PIVKA-II	Cut-off ≥ 5.0 or * ≥ 32.0			Cut-off ≥ 5.0 and ** ≥ 32.0		
Months before HCC diagnosis	Sensitivity	Specificity	Youden Index	Sensitivity	Specificity	Youden Index
- 12	27.8%	75.9%	3.7%	13.8%	98.1%	11.9%
- 9	61.1%	75.0%	36.1%	13.8%	98.1%	11.9%
- 6	72.2%	82.4%	54.6%	22.2%	99.1%	21.3%
- 3	77.8%	82.4%	60.2%	16.7%	100%	16.7%
0	88.9%	85.2%	74.1%	25.0%	100%	25.0%

Keterangan: * Positif ketika AFP atau PIVKA II nilainya diatas *cut-off*

** Positif ketika AFP dan PIVKA II nilainya diatas *cut-off*



Protrombin normal disintesis oleh sel hati oleh *vitamin K-dependent γ -glutamylcarboxylation* sebagai modifikasi pasca translasi. Pada kondisi normal *γ -glutamylcarboxylase* mengkatalisasi konversi lengkap dari residu 10 Glu pada domain Gla prekursor protrombin menjadi residu 10 Gla dengan bantuan Vitamin K sebagai kofaktor. Sedangkan pada kondisi abnormal kurang dari residu 10 Glu yang terkonversi menjadi Gla. Pada pasien HCC, aktivitas *γ -glutamylcarboxylase* menurun, penurunan ini menyebabkan konversi yang tidak sempurna pada prekursor protrombin sehingga menghasilkan PIVKA-II (Gambar 1) (5).



Gambar 1. Mekanisme Sintesis Protrombin dan PIVKA-II (5)

Hasil penelitian mengindikasikan bahwa konsentrasi serum PIVKA-II meningkat pada pasien HCC dan lebih sensitif untuk mendeteksi HCC pada berbagai tahap keganasan. Terlebih lagi, penelitian di Asia menunjukkan bahwa konsentrasi serum PIVKA-II berkorelasi dengan tahap HCC dan tingkat kesintasan pasien HCC. Kombinasi PIVKA-II dan AFP saat ini rutin digunakan di Jepang untuk diagnosis dan surveilans HCC, sesuai dengan pedoman JSH. AFP dan PIVKA-II diproduksi secara independen sehingga kedua penanda ini berfungsi sebagai penanda komplementer untuk HCC. Penggunaan kombinasi AFP dan PIVKA-II telah menunjukkan peningkatan sensitivitas dan spesifisitas daripada menggunakan satu penanda saja (2,6).

Umumnya, konsentrasi AFP maupun PIVKA-II akan meningkat seiring semakin dekatnya waktu penetapan diagnosis, namun penelitian menunjukkan adanya perbedaan antar individu pada pasien HCC. Pada beberapa pasien (11 dari 36) PIVKA-II memiliki efektivitas prediksi yang baik, dimana konsentrasinya diatas *cut-off* pada 12 bulan sebelum diagnosis, sedangkan pada beberapa pasien lainnya (7 dari 36) AFP memiliki prediksi yang lebih baik. Meskipun demikian, kondisi pasien berbeda-beda untuk sebagian besar pasien, konsentrasi dapat bersifat fluktuatif seiring berjalannya waktu, sehingga pemeriksaan kombinasi AFP dan PIVKA-II dapat menjadi salah satu upaya untuk deteksi dini HCC secara lebih akurat. Perbandingan sensitivitas dan spesifisitas PIVKA-II dan AFP dapat dilihat pada Tabel 1 (7).

PENUTUP

PIVKA-II merupakan tes serologis komplementer dari AFP. PIVKA-II memiliki efektivitas yang sama dengan AFP dalam upaya skrining dan surveilans HCC. Kombinasi PIVKA-II

dengan AFP dapat meningkatkan sensitivitas hingga 88.9% dengan spesifisitas 85.2% untuk deteksi HCC. Laboratorium Klinik Prodia menyediakan pemeriksaan AFP dan PIVKA-II yang dapat dilakukan secara bersamaan untuk mendukung surveilans pada populasi berisiko tinggi HCC.

Gianni Yosephine

Rujukan:

1. Huang S, Jiang F, Wang Y, Yu Y, Ren S, Wang X, et al. Diagnostic performance of tumor markers AFP and PIVKA-II in Chinese hepatocellular carcinoma patients. *Tumor Biol.* 2017;39(6):101042831770576.
2. Park H, Park J. Clinical Significance of AFP and PIVKA-II Responses for Monitoring Treatment Outcomes and Predicting Prognosis in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *BioMed Res Int.* 2013;2013:1-6.
3. Tang A, Hallouch O, Chernyak V, Kamaya A, Sirlin C. Epidemiology of hepatocellular carcinoma: target population for surveillance and diagnosis. *Abdom Radiol.* 2017;43(1):13-25.
4. Gentile I, Buonomo AR, Scotto R, et al. Diagnostic Accuracy of PIVKA-II, Alpha-Fetoprotein and a Combination of both in Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma in Patients Affected by Chronic HCV Infection. *In Vivo.* 2017;31(4):695-700.
5. Xing H, Yan C, Cheng L, Wang N, Dai S, Yuan J, Yang T. Clinical application of protein induced by vitamin K antagonist-II as a biomarker in hepatocellular carcinoma. *Tumor Biol.* 2016;37(12):15447-56.
6. Saitta C, Raffa G, Alibrandi A, et al. PIVKA-II is a useful tool for diagnostic characterization of ultrasound-detected liver nodules in cirrhotic patients. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(26):e7266.
7. Yu R, Xiang X, Tan Z, Zhou Y, Wang H, Deng G. Efficacy of PIVKA-II in prediction and early detection of hepatocellular carcinoma: a nested case-control study in Chinese patients. *Scientific Reports.* 2016;6(1).

PEMERIKSAAN IMUNOHISTOKIMIA UNTUK DIAGNOSIS LIMFOMA HODGKIN

PENDAHULUAN

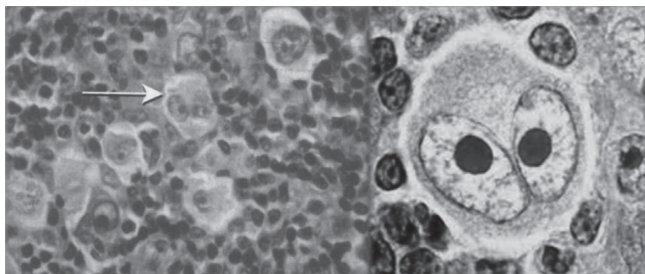
Gangguan proliferasi sel limfoid dapat bersifat reaktif ataupun neoplastik. Limfoma neoplastik menurut klasifikasi WHO dapat dikelompokkan secara luas menjadi dua jenis, yaitu limfoma Hodgkin dan Non-Hodgkin. Masing-masing jenis limfoma ini berbeda secara klinis dan histologis serta unik satu sama lain (1). Sangat penting untuk mengetahui diagnosis yang tepat untuk setiap tipe limfoma sesuai dengan fitur klinis dan histologis agar pasien mendapat pengobatan yang tepat.

LIMFOMA HODGKIN

Penyakit limfoma Hodgkin adalah kelainan limfoproliferatif ganas yang pertama kali ditemukan oleh Thomas Hodgkin pada tahun 1832. Limfoma Hodgkin berpotensi dapat disembuhkan apabila diketahui karakteristik klinis, histologi, dan perilaku biologis yang tepat (1). Secara klinis, limfoma Hodgkin muncul sebagai massa yang membesar dan persisten, tidak sakit dan berada di daerah kelenjar getah bening. Pada tahap awal, nodus limfa tersebut dapat bergerak sedangkan pada tahap selanjutnya akan melekat pada jaringan di sekitarnya. Jika tidak diobati maka akan menyebar ke jaringan ekstralimfatik lainnya seperti tulang, hati dan paru-paru. Tanda-tanda sistemik umum untuk limfoma Hodgkin adalah penurunan berat badan, demam, keringat di malam hari dan pruritus (1).

Limfoma Hodgkin dapat diklasifikasikan menjadi 2 tipe, yaitu *Nodular Lymphocyte Predominant Hodgkin's Lymphoma* (NLPHL) dan *Classic Hodgkin's Lymphoma* (cHL). Prevalensi NLPHL hanya sekitar 5% dari keseluruhan limfoma Hodgkin, sedangkan sisanya cHL, yaitu sekitar 95%. NLPHL dapat terjadi pada usia berapa saja, namun lebih sering terjadi pada orang dewasa dan melibatkan nodus limfa perifer. 80% kasus terdiagnosa pada stadium I atau II dan sekitar 90% dari pasien hidup sampai 10 tahun (1). Usia kejadian cHL mempunyai sebaran usia yang bimodal, yaitu pada awal masa dewasa (usia 15-35 tahun) dan >55 tahun. Angka kejadian cHL sangat jarang pada anak-anak. cHL melibatkan limfadenopati di servikal, mediastinal, aksilari dan para-aortik (2).

Diagnosis limfoma hodgkin didasarkan pada identifikasi adanya sel raksasa berinti banyak disertai dengan lingkungan yang inflamasi. Sel ini disebut sel *Reed Sternberg* (RS) yang dianggap mewakili tubuh tumor. Diameter sel RS umumnya 20-60 μm dengan lingkaran sitoplasma yang besar dan setidaknya terdapat dua nukleus, yang mencakup lebih dari 50% area inti (Gambar 1) (3).



Gambar 1. Gambaran sel RS dalam pewarnaan HE (1).

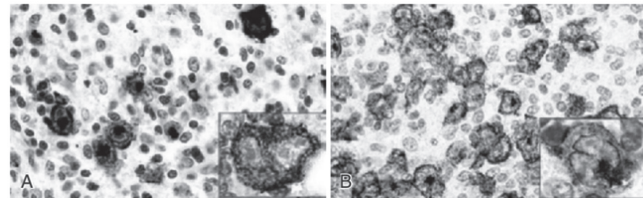
IMMUNOHISTOKIMIA UNTUK DIAGNOSIS SEL RS

Immunohistokimia (IHK) menggunakan prinsip dasar sistem kekebalan humoral - pengenalan dan pengikatan antibodi antigen spesifik - untuk mendeteksi molekul berbasis sel dan jaringan yang dapat divisualisasikan melalui mikroskop

cahaya. Penanda imunohistologis sangat penting untuk diagnosis limfoma yang akurat dan pemisahannya dari jenis tumor lainnya. Seperti yang ditekankan dalam klasifikasi hematopoietik WHO, immunofenotipe merupakan bagian integral dari diagnosis neoplasia limfoid(4).

Sel HRS dan variannya secara umum memiliki penanda CD45, CD30, CD15, CD 20, EBER (Gambar 2) (2). Berdasarkan klasifikasi WHO, limfoma Hodgkin dapat dibedakan menjadi NLPHL dengan karakteristik CD45RB+ (*leukocyte common antigen*), CD20+, EMA+/-, EBER- sedangkan cHL mempunyai karakteristik CD45RB-, CD30+, CD15+, EBER+/- (5).

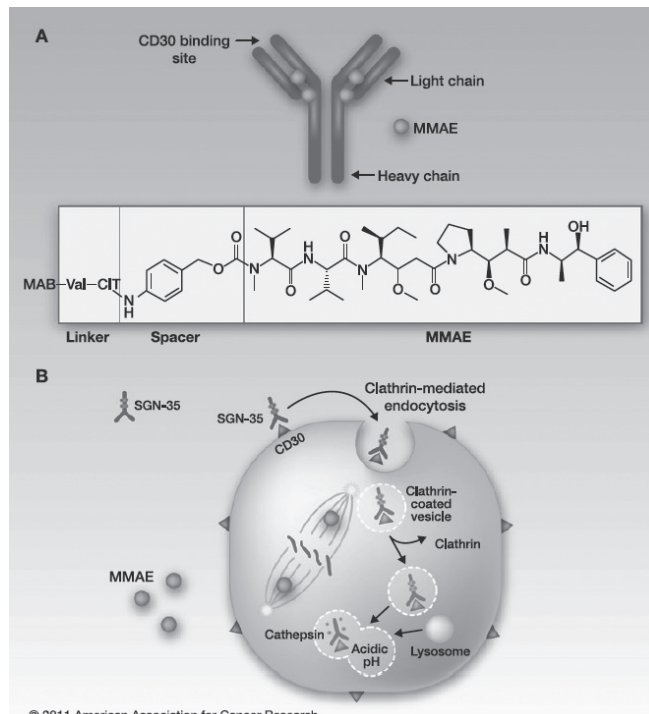
Eksresi molekul CD30 oleh sel RS terlihat di lebih dari 98% kasus cHL meskipun intensitas *imunostaining* dapat bervariasi dari satu kasus ke yang lain, dan bahkan dalam kasus yang sama. Menariknya, antigen dapat tertutup oleh fiksasi (fiksasi berkepanjangan dalam formalin atau fiksasi dalam B5); dengan demikian, teknik pengambilan antigen diperlukan untuk mencapai hasil yang dapat diandalkan. CD15 adalah penanda lain yang bermanfaat untuk sel RS dan terdeteksi pada sekitar 80% pasien dengan cHL. Namun CD15 tidak spesifik untuk sel RS karena dapat dideteksi (walaupun jarang) pada limfoma sel B dan T dan pada tumor non-limfoid. Sel RS biasanya kekurangan ekspresi CD45 dan EMA. Secara khusus, CD20 ditemukan pada 30%-40% kasus cHL (biasanya EBV negatif), dan CD79a ditemukan lebih jarang (3).



Gambar 2. Sel RS mengekspresikan: (A) CD15 and (B) CD30 (2).

TARGETED THERAPY ANTI CD-30: BRENTUXIMAB VEDOTIN

Brentuximab vedotin dikembangkan untuk memberikan agen sitotoksik aktif ke sel target. Obat ini menggabungkan antibodi monoklonal IgG1 anti-CD30 cAC10 dengan agen sitotoksik *monomethyl auristatin E* (MMAE), turunan sintetik dari agen anti-tubulin dolastatin 10, yang dihubungkan melalui protease yang dapat dipecah (*linker*). Pembentukan kompleks *antibody drug conjugates* (ADC) dan CD30 menghasilkan internalisasi ke dalam sel. Penghubung (*linker*) yang terpisah mengakibatkan terjadinya pelepasan MMAE di dalam lisosomal, menyebabkan gangguan jaringan mikrotubulus dengan mengikat MMAE ke tubulin, mengganggu siklus sel fase-G/M, dan terjadilah apoptosis (6). Struktur dan proses internalisasi ADC dapat dilihat pada Gambar 3 (7).



Gambar 3. A. Struktur Brentuximab Vedotin;
B. Proses Internalisasi ADC (7)

PENUTUP

Limfoma Hodgkin secara klinis menunjukkan adanya pembesaran kelenjar getah bening. Proses diagnosis yang lebih pasti dapat diketahui dengan menggunakan metode imunohistokimia. Diagnosis yang tepat dapat memungkinkan mencegah terjadinya prognosis yang lebih buruk dan manajemen pengobatan yang lebih baik. Brentuximab Vedotin merupakan pengobatan yang tertarget dengan menarget CD30 pada limfoma Hodgkin dan mengganggu siklus sel fase-G/M sehingga sel tumor mengalami apoptosis.

Rina Triana

Rujukan:

1. Nagpal B, Usha H, Archana S, Ghosh A, Nagpal A, Nagpal A. Hodgkin's Lymphoma: A comprehensive review for oral health care practitioners. *IJHSR*. 2016;6: 335-43.
2. Naeim F, Rao PN, Song SX, Grody WW. Classical Hodgkin Lymphoma. 2013. *Atlas of Hematopathology*. Academic Press, Elsevier.
3. Piccaluga PP, Agostinelli C, Gazzola A, Tripodo C, Bacci F, Sabattini E, et al. Pathobiology of hodgkin lymphoma. *Adv Hematol*. 2011;2011:920898.
4. Anderson MW, Natkunam Y. Immunohistochemical Profiling of Lymphoma. 2010. In: Jones D. (eds) *Neoplastic Hematopathology*. Contemporary Hematology. Humana Press, Totowa, NJ
5. Higgins RA, Blankenship JE, Kinney MC. Application of immunohistochemistry in the diagnosis of non-Hodgkin and Hodgkin lymphoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2008 Mar;132(3):441-61.

6. Bhatt G, Maddocks K, Christian B. CD30 and CD30-Targeted Therapies in Hodgkin Lymphoma and Other B cell Lymphomas. *Curr Hematol Malig Rep*. 2016;11(6):480-91.
7. Katz J, Janik JE, Younes A. Brentuximab Vedotin (SGN-35). *Clin Cancer Res*. 2011; 17(20): 6428-36

MANFAAT RET-He DALAM DIAGNOSIS DEFISIENSI BESI DAN ANEMIA DEFISIENSI BESI (ADB)

PENDAHULUAN

Anemia merupakan masalah kesehatan masyarakat global yang serius dan khususnya menyerang anak dan wanita hamil. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan bahwa 42% anak di bawah 5 tahun dan 40% wanita hamil di seluruh dunia menderita anemia. Di Indonesia, anemia ditemukan pada 40,5% anak balita, 47,2% anak usia sekolah, 57,1% anak perempuan, dan 50,9% ibu hamil. Setengah dari jumlah tersebut disebabkan oleh kekurangan zat besi yang merupakan salah satu defisiensi mikronutrien paling umum di dunia (1,2).

Pencegahan utama defisiensi besi dapat dilakukan dengan makan makanan yang bervariasi atau diet yang mengandung cukup zat besi, sedangkan pencegahan sekunder meliputi program skrining dan pengobatan dini defisiensi besi. Defisiensi besi dapat didiagnosis dengan pemeriksaan konsentrasi hemoglobin (Hb), *mean corpuscular hemoglobin concentration* (MCHC), *mean corpuscular volume* (MCV), *red blood cell distribution width* (RDW), *total iron binding capacity* (TIBC), *zinc protoporphyrin*, feritin serum, *serum transferrin receptor* (TFR), serta biopsi sumsum tulang (2).

Tingkat RET-He menjadi parameter yang berguna untuk diagnosis sebelum anemia berkembang pada pasien. Parameter ini dapat diidentifikasi jauh sebelum peningkatan Hb dan jumlah retikulosit yang dihitung secara manual, sehingga berguna untuk pengobatan dan tindak lanjut pengobatan. RET-He merupakan parameter pertama yang mengevaluasi defisiensi besi fungsional dan menunjukkan bahwa pasien mengalami perbaikan setelah melakukan terapi (2,3).

DEFISIENSI BESI DAN ANEMIA DEFISIENSI BESI (ADB)

Defisiensi zat besi didefinisikan sebagai penurunan total kandungan zat besi dalam tubuh. Anemia defisiensi besi (ADB) terjadi ketika defisiensi besi yang terjadi sangat berat sehingga dapat mempengaruhi eritropoiesis. Defisiensi zat



besi dapat disebabkan kehilangan jumlah zat besi yang berlebih atau, penurunan penyerapan zat besi. Secara umum, zat besi yang diserap setiap hari sama dengan jumlah yang dibutuhkan untuk mengkompensasi kehilangannya, sehingga jumlah besi dalam tubuh tetap stabil. Keseimbangan jumlah besi ini mudah terganggu, karena kemampuan menyerap zat besi yang terbatas. Jika asupan zat besi kurang dari yang diperlukan atau, jika pemakaian zat besi meningkat dan tidak dapat dikompensasi, akan mengakibatkan defisiensi besi dan jika tidak diobati, defisiensi besi akan menyebabkan ADB (1,2,4).

Anemia defisiensi besi memiliki efek jangka panjang pada perkembangan psikomotor dan kognitif yang dapat menjadi permanen dan juga penurunan kekebalan terhadap infeksi. Selain itu, walaupun defisiensi zat besi belum mencapai tahap anemia, namun dapat menyebabkan gangguan neurokognitif yang permanen (1,2).

DIAGNOSIS DEFISIENSI BESI DAN ANEMIA DEFISIENSI BESI

WHO mendefinisikan anemia dengan penurunan hemoglobin (Hb <13 g/dL pada pria dan 12 g/dL pada wanita. Namun, untuk memastikan bahwa defisiensi besi adalah penyebab anemia tidak selalu mudah. Kadang-kadang ditemukan hasil pemeriksaan hematologi yang khas, seperti mikrositosis, hipokromia, dan peningkatan RDW. Namun, sampai 40% dari kasus murni ADB bersifat normositik, oleh karena itu nilai MCV tidak bisa menjadi penanda defisiensi zat besi sebagai penyebab anemia. Selain itu mikrositosis juga dapat disebabkan anemia lain seperti anemia karena penyakit kronis dan thalassemia. RDW dapat mengukur tingkat populasi sel darah merah, namun peningkatannya tidak sensitif atau spesifik untuk defisiensi besi (4,5).

Baku emas dalam diagnosis defisiensi besi adalah pewarnaan makrofag sumsum tulang dan prekursor eritroid dengan *Prussian blue* dalam aspirasi sumsum tulang. Namun, prosedur ini cukup mahal dan invasif. Konsentrasi feritin serum, kadar besi serum (Fe), *total iron binding capacity* (TIBC), dan saturasi transferin adalah tes biokimia alternatif yang paling umum, tetapi tes ini dapat dipengaruhi oleh kondisi tertentu. Zat besi serum menurun pada kondisi ADB, namun menurun juga pada anemia penyakit kronis, dan juga berfluktuasi di siang hari tergantung pada asupan zat besi. Saturasi transferin dihitung berdasarkan Fe dan TIBC, sehingga perubahan nilai-nilainya akan berpengaruh juga pada nilai saturasi transferin. Tingkat feritin serum menunjukkan zat besi yang tersimpan di dalam tubuh, dan nilai yang sangat rendah menunjukkan kekurangan zat besi. Namun, serum feritin merupakan protein fase akut, dan dapat normal atau tinggi dalam kasus-kasus seperti infeksi, kondisi peradangan dan keganasan (2,3,4).

RETICULOCYTE HB EQUIVALENT (RET-He)

Retikulosit adalah sel darah merah belum matang yang tidak memiliki nukleus dan mengandung residu RNA ribosom, berada di sirkulasi selama 1-2 hari dan memberikan indeks Hb dalam sel darah merah yang baru diproduksi dan respons terhadap suplementasi zat besi yang lebih baik. Jumlah retikulosit sekitar 1% (0,5-2,5%) dari eritrosit yang beredar. Pengukuran jumlah retikulosit menunjukkan tingkat eritropoiesis di sumsum tulang dan respons sumsum tulang terhadap anemia, yaitu aktivitas eritropoietik di sumsum tulang. Pada kasus anemia sedang, eritrosit diperkirakan akan meningkat 2-3 kali lipat dalam 10 hari di sumsum tulang yang sehat, berkat hormon eritropoietin (1,3).

Reticulocyte Hb equivalent (RET-He) yang diukur dengan analisis hematologi otomatis mencerminkan kandungan besi dalam retikulosit; merupakan indeks langsung ketersediaan besi dan mencerminkan ketersediaan seluler besi. RET-He berkorelasi dengan defisiensi besi dan merupakan penanda yang berguna pada defisiensi besi pada bayi dan anak-anak, donor darah dewasa, pasien geriatri, wanita hamil, dan pasien dengan penyakit ginjal kronis yang menjalani hemodialisis (1).

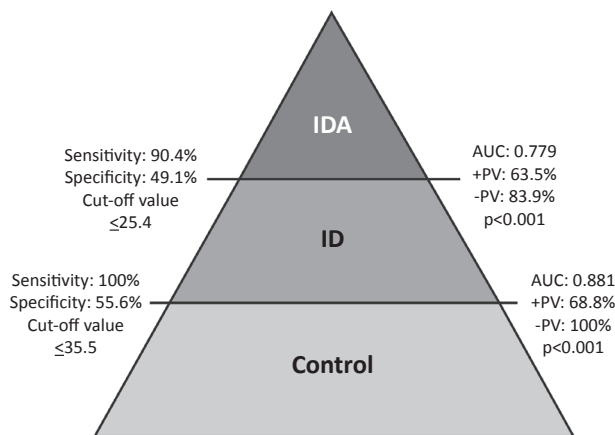
Pemeriksaan hematologi otomatis menggunakan zat warna fluoresen untuk menghitung jumlah darah dan kandungan RNA retikulosit secara bersamaan. Selain klasifikasi retikulosit melalui sebar plot tergantung konsentrasi asam nukleatnya, *channel* ini juga digunakan untuk mengukur ukuran eritrosit dan jumlah Hb di setiap sel. Pada kasus defisiensi besi, sintesis hemoglobin dikurangi pertama kali pada retikulosit. Tingkat RET-He menjadi parameter yang berguna untuk mendiagnosis anemia sebelum berkembang pada pasien. RET-He juga merupakan parameter yang dapat diidentifikasi jauh sebelum peningkatan Hb dan jumlah retikulosit klasik, yang berguna untuk pengobatan dan tindak lanjut pengobatan. RET-He adalah parameter pertama yang mengevaluasi defisiensi besi fungsional khususnya dan menunjukkan bahwa pasien menunjukkan perbaikan setelah perawatan (1,3).

Studi Uçar mengevaluasi 217 pasien yang dikelompokkan menjadi defisiensi besi, ADB, anemia non-defisiensi besi, dan kelompok kontrol. RET-He ditemukan lebih rendah secara signifikan pada kelompok defisiensi besi dan ADB, dibandingkan dengan 2 kelompok lainnya. Pada kelompok ADB, RET-He juga lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok defisiensi besi. Terdapat korelasi positif antara nilai RET-He yang rendah dan kadar feritin yang rendah, menunjukkan bahwa RET-He mendukung defisiensi besi dan ADB. Hal ini mendukung informasi sebelumnya yang menyebutkan bahwa RET-He adalah parameter yang sangat efektif dalam diagnosis defisiensi besi dan ADB, serta dalam diagnosis banding lainnya (3).

Setelah diberikan pengobatan selama 5 hari pada kelompok defisiensi besi dan ADB, tidak ada perbaikan nilai Hb dan parameter hitung darah lengkap lainnya, sementara peningkatan yang signifikan terjadi pada nilai RET-He. Peningkatan nilai RET-He pada kelompok ADB setelah

perawatan lebih signifikan dibandingkan dengan peningkatan pada kelompok defisiensi besi. Hal ini menunjukkan bahwa RET-He dapat menjadi penanda yang berguna dalam menilai respons hematopoietik terhadap pengobatan zat besi pada tahap yang sangat dini pada pasien defisiensi besi dan ADB (3).

Nilai RET-He <25,7 pg memprediksi diagnosis defisiensi besi (defisiensi besi dan ADB) dengan sensitivitas 71,4% dan spesifisitas 100%. Pada pasien defisiensi besi (non anemia defisiensi besi), nilai RET He sebesar <35,5 pg memprediksi diagnosis defisiensi besi dengan sensitivitas 100% dan spesifisitas 55,6%. Nilai RET-He <25,4 pg memprediksi diagnosis defisiensi besi dengan sensitivitas 90,4% dan spesifisitas 100% pada pasien ADB, dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil ini didukung oleh penelitian lain, di mana nilai RET-He 28,5 pg ditemukan untuk memprediksi defisiensi besi dengan sensitivitas >90% (Gambar 1) (3).



Gambar 1. Diagram kinerja Diagnostik RET-He (3)

Study Twari, *et al.* menunjukkan bahwa RET-He dapat menjadi penanda yang sesuai untuk defisiensi zat besi laten pada donor darah. Toki *et al.* menemukan RET He menjadi penanda yang berguna dalam diagnosis anemia defisiensi besi. Eckhardt *et al.* melakukan penelitian dengan pasien gagal ginjal kronis dan menemukan RET-He menjadi penanda yang baik untuk mendiagnosis defisiensi besi (3).

Studi Poffenroth, *et al.* menunjukkan penggunaan algoritme skrining RET-He bersama dengan Hb, MCV dan RDW, dapat memandu rekomendasi laboratorium untuk evaluasi zat besi dengan lebih baik, mengurangi biaya evaluasi zat besi yang tidak diperlukan. Penelitian menunjukkan bahwa RET-He dengan *cut-off* <26 pg sangat sensitif tetapi tidak spesifik untuk deteksi defisiensi besi. Kegunaan klinisnya di masa depan dapat digunakan sebagai tes skrining untuk defisiensi besi, tetapi juga sebagai prediktor negatif defisiensi besi jika RET-He berada pada nilai referensi pada pasien anemia (Tabel 1) (6).

Tabel 1. Sensitivitas, Spesifisitas, *Positive Predictive Value* (PPV) & *Negative Predictive Value* (NPV) untuk Dua Nilai *Cut-off*. (6)

RET_He	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
<25 pg	0.905	0.955	0.730	0.987
<26 pg	1	0.936	0.677	1

PENUTUP

Parameter RET-He merupakan penanda yang berguna dalam diagnosis defisiensi besi dan ADB, penilaian respons pengobatan, serta dalam diagnosis banding defisiensi besi dan ADB karena memberikan hasil yang sangat cepat dan tidak terpengaruh oleh infeksi atau kondisi inflamasi lainnya.

Elva Aprilia

Rujukan:

1. Toki Y, Ikuta K, Kawahara Y, Niizeki N, Kon M, Enomoto M, et al. Reticulocyte hemoglobin equivalent as a potential marker for diagnosis of iron deficiency. *Int J Hematol.* 2017;106(1):116-25.
2. Runggu S, Wahani A, Mantik M. Reticulocyte hemoglobin equivalent for diagnosing iron deficiency anemia in children. *Paediatrica Indonesiana.* 2016;56(2):90.
3. Uçar M, Falay M, Dağdas S, Ceran F, Urlu S, Özet G. The importance of RET-He in the diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia and the evaluation of response to oral iron therapy. *J Med Biochem.* 2019;38(4):496-502.
4. Bermejo F, García-López S. A guide to diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia in digestive diseases. *World J Gastroenterol.* 2009;15(37):4638.
5. World Health Organization. Iron Deficiency Anaemia Assessment, Prevention, and Control A guide for programme managers. 2001.
6. Poffenroth C, Mabbett C, Kendrick CW. The reticulocyte haemoglobin equivalent (RET_He) and laboratory screening for iron deficiency. *NZJ Med Lab Sci.* 2017;71: 120-23.

INFORMASI LABORATORIUM

ISSN 0854-7165 | No. 1/2020

Redaksi Kehormatan

Drs. Andi Wijaya, Ph.D.
Prof. Dr. dr. FX Budhianto Suhadi

Ketua Dewan Redaksi/Penangggung Jawab

Rina Triana, M.Farm., Apt.

Anggota Dewan Redaksi

Dr. Trilis Yulianti, M.Kes.
Elva Aprilia Nasution, S.Farm.
Siska Darmayanti, S.Si, M.Farm.
Gianni Yosephine, S.Si.
Ardian Susanto, M.Farm.
Matthew Justyn, S.Si.

Alamat Redaksi

PT. Prodia Widyahusada
Jl. Kramat Raya 150, Jakarta 10430
Telepon: (021) 3144182 (Hunting)
Fax: (021) 3926675
e-mail: produk@prodia.co.id
website: www.prodia.co.id



Certificate Number : JKT 0403247
Certified to QMS

Februari 2020 - PR0003208