

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hemofilia A adalah penyakit perdarahan akibat kekurangan faktor pembekuan darah yang diturunkan (herediter) secara *sex-linked recessive* pada kromosom X, dimana terjadi kekurangan faktor VIII. Tidak berfungsinya atau tidak adanya FVIII di dalam darah akan mengakibatkan terjadinya perdarahan.<sup>1,2</sup>

Penyakit ini bermanifestasi klinik pada laki-laki, dengan angka kejadian hemofilia A sekitar 1 : 10.000 orang. Jumlah penyandang hemofilia di Indonesia cenderung meningkat. Dari registrasi oleh Himpunan Masyarakat Hemofilia Indonesia (HMHI), pada tahun 2012 tercatat sebanyak 1.585 orang dan sampai dengan tahun 2013 tercatat sebanyak 1.737 orang penderita hemofilia. Seharusnya berdasarkan perhitungan biostatistik di Indonesia dengan populasi 220 juta, akan ada penyandang hemofilia sekitar 20.000 orang. Perbedaan ini mungkin disebabkan karena *underdiagnosis* terhadap penyakit hemofilia, sehingga menyebabkan tingginya angka kematian.<sup>1,2,3</sup>

Manifestasi klinis hemofilia yang tersering adalah perdarahan terutama pada sendi lutut, siku, bahu, dan pergelangan kaki (hamartrosis) yang dapat terjadi secara akut, yang ditandai dengan nyeri dan bengkak serta keterbatasan gerak sendi. Apabila tidak diobati secara adekuat dapat menjadi kronik dan walaupun ditangani dengan baik tetap menyebabkan artritis kronik yang dapat berupa kerusakan sendi permanen, disebut dengan artropati hemofilia. Tanda perdarahan yang sering dijumpai yaitu berupa hemartrosis, hematoma subkutan/ intramuskular,

perdarahan mukosa mulut, perdarahan intrakranial, epistaksis, dan hematuria. Sering pula dijumpai perdarahan yang berkelanjutan pasca operasi kecil (sirkumsisi, ekstraksi gigi).<sup>4,5</sup>

Penatalaksanaan hemofilia A selama ini adalah dengan memberikan terapi substitusi konsentrat FVIII. *Anti hemophilic factor* (AHF) merupakan protein yang bekerja sebagai faktor koagulasi yang sumbernya dapat berasal dari plasma darah manusia (*plasma-derived*) atau produk rekayasa genetik/ rekombinan. AHF kita berikan sebagai terapi pengganti karena terjadinya defisiensi FVIII. Kemasan AHF tersedia sebagai plasma dalam kantong darah yang diproduksi oleh Unit Transfusi Darah seperti *cryoprecipitate*, atau sebagai konsentrat yang terdiri dalam bentuk serbuk yang mengandung faktor VIII produk *plasma-derived* atau rekombinan, dan cairan pelarutnya dalam botol terpisah.<sup>6,7</sup>

Setelah pemberian terapi substitusi dengan produk faktor pembekuan, beberapa pasien hemofilia mulai timbul aloantibodi yang dikenal sebagai inhibitor FVIII. Aloantibodi terhadap FVIII terjadi sekitar 40-60% pada hemofilia A. Aloantibodi ini akan menetralkan fungsi koagulasi dari konsentrat FVIII, sehingga terapi yang diberikan tidak lagi efektif. Inhibitor adalah suatu antibodi yang dapat menghancurkan faktor pembekuan darah sehingga terapi *replacement* yang diberikan tidak dapat bekerja sebagaimana mestinya.<sup>8,9</sup> Inhibitor adalah antibodi *immunoglobulin G* (IgG) poliklonal dengan afinitas tinggi yang secara spesifik dapat menetralkan aktivitas prokoagulan dari faktor pembekuan FVIII. Inhibitor FVIII biasanya mulai muncul setelah 5-50 hari setelah terpapar dengan terapi substitusi FVIII.<sup>10,11</sup>

Konsentrat FVIII yang diberikan akan diproses dan dicerna secara endositosis oleh *Antigen-Presenting Cell* (APC). Peptida yang diekspresikan akan ditentukan oleh molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) class II sehingga nantinya akan diekspresikan pada permukaan sel dan akan berikatan dengan sel T naïve melalui *T-cell receptor* (TCR). Akibat dilepaskannya sitokin dan molekul kostimulator, sel T naïve akan teraktivasi dan berinteraksi dengan sel B, dan nantinya akan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang akan memproduksi antibodi. Selama pemaparan, sel B dan sel T spesifik akan memainkan peranan penting dalam respon imun berikutnya saat terjadi paparan ulang.<sup>12,13</sup>

Sel limfosit merupakan sel yang berperan utama dalam sistem imun spesifik, sel T pada imunitas selular dan sel B pada imunitas humoral. Pada imunitas humoral, sel T CD4<sup>+</sup> berinteraksi dengan sel B dan merangsang proliferasi dan diferensiasi dari sel B. Sel limfosit B (Sel B) memiliki peranan yang besar dalam pembentukan inhibitor FVIII. Sel B berasal dari prekursor *stem-cell* hematopoetik pada sumsum tulang yang berkembang menjadi sel pro B, sel pre B, sel B imatur, dan sel B matur. Sel B merupakan 5-25% dari limfosit dalam darah yang berjumlah sekitar 1.000-2.000 sel/mm<sup>3</sup>. Terbanyak merupakan limfosit asal sumsum tulang (hampir 50%) dan sisanya sekitar 1/3-nya berasal dari kelenjar getah bening (KGB), limfe dan kurang dari 1% di timus. Sel B matur kemudian meninggalkan sumsum tulang dengan antigen spesifik reseptor sel B (BCR) pada permukaannya.<sup>13,14,15</sup>

Sel B mengalami pematangan dalam dua tahap, fase pertama pematangan sel B bersifat *independent-antigen*, dimana pematangan progenitor sel B dalam sumsum tulang tidak memerlukan antigen. Sedangkan fase kedua bersifat

*dependent-antigen*, yaitu jika BCR pada sel B matur berikatan dengan antigen yang sesuai, maka sel B akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang akan memproduksi immunoglobulin berupa IgM, IgG dan isotope Ig lain (seperti IgG1, IgG2), atau menjadi sel B memori yang mempunyai usia lebih panjang.<sup>16,17</sup>

Perkembangan sel B mulai dari sel prekursor limfoid yang berdiferensiasi menjadi sel progenitor B (pro-sel B) yang mengekspresikan transmembran tirosin fosfatase (CD54R). Proliferasi pro-B menjadi prekursor B memerlukan lingkungan mikro dari stroma sel sumsum tulang. Bila sel pro-B dibiakkan in vivo, tidak akan tumbuh menjadi sel B yang matur, kecuali ada sel sumsum tulang yang melepaskan IL-17 sehingga akan menolong proses perkembangan sel.<sup>14,15</sup>

Sel limfosit B memiliki beberapa antigen pada permukaannya yang dapat digunakan sebagai penanda berbagai tingkat diferensiasinya. Pada tahun 1980, Stashenko dkk. memperkenalkan antigen permukaan yang spesifik pada sel B yang disebut B1, namun saat ini dikenal sebagai CD20. Molekul CD20 mempunyai berat molekul sekitar 33-37 kDa. Molekul CD20 merupakan target efektif yang sedang dikembangkan saat ini untuk penatalaksanaan secara imunoterapi. Hal ini dikarenakan molekul CD20 sangat diekspresikan pada permukaan sel B (sekitar 100.000 molekul/sel). Selain itu molekul CD20 tidak rusak, tidak mengalami internalisasi, dan umumnya tidak larut, dalam respon mengikat antibodi.<sup>15,16</sup>

Aktivasi sel B diawali dengan pengenalan spesifik oleh reseptor permukaan. Antigen dan perangsang lain termasuk Th akan merangsang proliferasi dan diferensiasi dari sel B. Atas pengaruh antigen dan sel T, sel B akan

berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang nantinya akan membentuk dan melepas antibodi. Antibodi yang dilepas ini nantinya akan berikatan dengan FVIII yang diberikan, sehingga menghambat aktivitas prokoagulan dari faktor pembekuan FVIII. Sehingga akibat adanya inhibitor FVIII ini, akan meningkatkan angka kesakitan serta mengurangi kualitas hidup dari penderita hemofilia.<sup>17,18</sup>

Pemberian substitusi FVIII tidak lagi bermakna dalam mengatasi kejadian perdarahan pada pasien hemofilia yang mempunyai inhibitor FVIII, karena fungsi FVIII tersebut akan dinetralkan oleh antibodi anti FVIII. Sehingga penatalaksanaan perdarahan pada pasien hemofilia yang mempunyai inhibitor FVIII saat ini adalah dengan menggunakan *bypassing agent*, yaitu dengan rekombinan faktor VIIa. Produk ini bekerja dengan memotong jalur pembekuan intrinsik, dimana pada jalur tersebut terdapat inhibitor yang mengganggu kaskade pembekuan. Saat ini produk yang disetujui oleh FDA adalah *recombinant factor VIIa* dan *activated prothrombin complex concentrate (APCC)*. Rekombinan faktor VIIa telah dipercaya dan terbukti efektif dalam mengatasi kejadian perdarahan pada pasien hemofilia yang mempunyai inhibitor FVIII. Dalam literatur berdasarkan bukti, produk ini efektif 79-92% pada setiap episode perdarahan, dan efektif pada lebih dari 90% kasus bedah.<sup>19,20,21</sup>

Rekombinan FVIIa diproduksi sebagai glikoprotein rantai tunggal, dimana bekerja langsung mengaktifkan FX dan meningkatkan produksi thrombin pada permukaan trombosit yang teraktivasi. Evaluasi farmakokinetik dari rFVIIa memperlihatkan waktu paruhnya adalah 2-3 jam pada orang dewasa, sehingga pemberiannya perlu diulang setiap 2-6 jam. Dosis standar pada dewasa adalah 90

$\mu\text{g/kg}$ , dosis mungkin perlu diulang setiap 2-3 jam sampai perdarahan berhenti.<sup>22,23</sup>

Pemberian *bypassing agent* ini terbukti efektif dalam mengatasi setiap periode perdarahan. Namun produk ini tidak menghilangkan antibodi anti FVIII yang tetap ada pada pasien hemofilia yang mempunyai inhibitor FVIII. Pengobatan hemofilia dengan pemberian konsentrat FVIII mengakibatkan tingginya biaya pengobatan, dikarenakan mahalnnya harga dari faktor pembekuan tersebut. Total biaya dari faktor pembekuan tersebut menghabiskan 50-90% dari total biaya pengobatan hemofilia. Dalton (2015) memperkirakan biaya pengobatan hemofilia di Amerika Serikat mencapai \$250.000 (setara Rp 3,5 Milyar) per orang per tahun. Dengan terbentuknya inhibitor FVIII pada pasien hemofilia, akan mengakibatkan semakin membengkaknya biaya pengobatan. Diperkirakan \$697.000 (setara Rp 9,7 Milyar) per orang per tahun, yang mana mencapai 2-5 kali lipat dari biaya pasien hemofilia yang tidak mempunyai inhibitor FVIII.<sup>24,25</sup>

Akibat mahalnnya biaya pengobatan ini, pengobatan terapi substitusi FVIII pada pasien hemofilia menjadi tidak efisien lagi dari segi biaya pengobatan. Sehingga mulai dipikirkan terapi untuk mengeliminasi inhibitor FVIII tersebut. Penelitian saat ini yang dikembangkan adalah dengan penggunaan rituximab. Rituximab merupakan suatu antibodi monoklonal anti CD20, pertama kali dikembangkan untuk pengobatan keganasan hematologi dan diindikasikan untuk kasus limfoma non-Hodgkin. Penggunaan rituximab dalam beberapa tahun terakhir sudah dikembangkan dalam pengobatan penyakit-penyakit autoimun. Rituximab ditargetkan kepada limfosit B CD20 yang dengan cepat

menghilangkan sel B dari darah, kelenjar getah bening dan sumsum tulang. Sehingga akan menekan pembentukan antibodi dari sel plasma. Leissinger *et al* (2014) mendapatkan bahwa terjadi peningkatan ekspresi sel B CD20, yaitu sekitar 316 - 861 sel/uL. Arena *et al* (2015) pada laporan kasus juga mengukur jumlah sel limfosit B CD20 pada pasien hemofilia yang mempunyai inhibitor FVIII, dari nilai awal 564 sel/uL menjadi 0,5 sel/uL setelah diberikan rituximab.<sup>26,27,28</sup>

Data penggunaan rituximab pada hemofilia saat ini masih terbatas, banyak laporan penelitian hanya sebatas percobaan pada binatang, laporan kasus dan kelompok kecil kasus, belum dilakukan suatu penelitian dengan jumlah sampel yang besar dan jangka waktu yang lama. Selain itu bagaimana korelasi antara ekspresi limfosit B CD20 dengan kadar inhibitor FVIII belum diketahui secara jelas. Berdasarkan kondisi inilah dirasakan perlu untuk mengetahui korelasi jumlah sel limfosit B CD20 dengan kadar inhibitor FVIII pada pasien hemofilia A yang mempunyai inhibitor FVIII yang diharapkan dapat menjadi tambahan literatur dalam penggunaan antibodi monoklonal anti CD20 dalam penatalaksanaannya.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat korelasi ekspresi limfosit B CD20 dengan kadar inhibitor FVIII pada pasien Hemofilia A yang mendapat terapi substitusi?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui korelasi ekspresi limfosit B CD20 dengan kadar inhibitor FVIII pada pasien Hemofilia A yang mendapat terapi substitusi.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengetahui rerata ekspresi limfosit B CD20 pada pasien hemofilia A yang mendapat terapi substitusi.
2. Mengetahui rerata kadar inhibitor FVIII pada pasien hemofilia A yang mendapat terapi substitusi.
3. Mengetahui korelasi ekspresi limfosit B CD20 dengan kadar inhibitor FVIII pada pasien Hemofilia A yang mendapat terapi substitusi.

#### **1.4 Hipotesis Penelitian**

Terdapat korelasi positif antara ekspresi limfosit B CD20 dengan kadar inhibitor FVIII pada pasien Hemofilia A yang mendapat terapi substitusi.

## 1.5 Manfaat Penelitian

### 1.5.1 Manfaat untuk ilmu pengetahuan

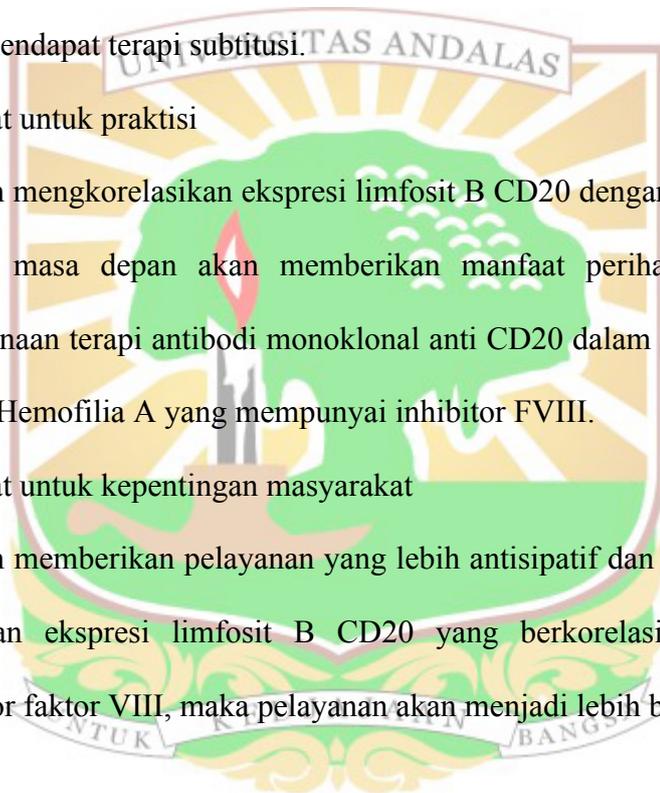
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan data dalam pengembangan ilmu pengetahuan tentang peran ekspresi limfosit B CD20 dan korelasinya dengan kadar inhibitor FVIII pada pasien Hemofilia A yang mendapat terapi substitusi.

### 1.5.2 Manfaat untuk praktisi

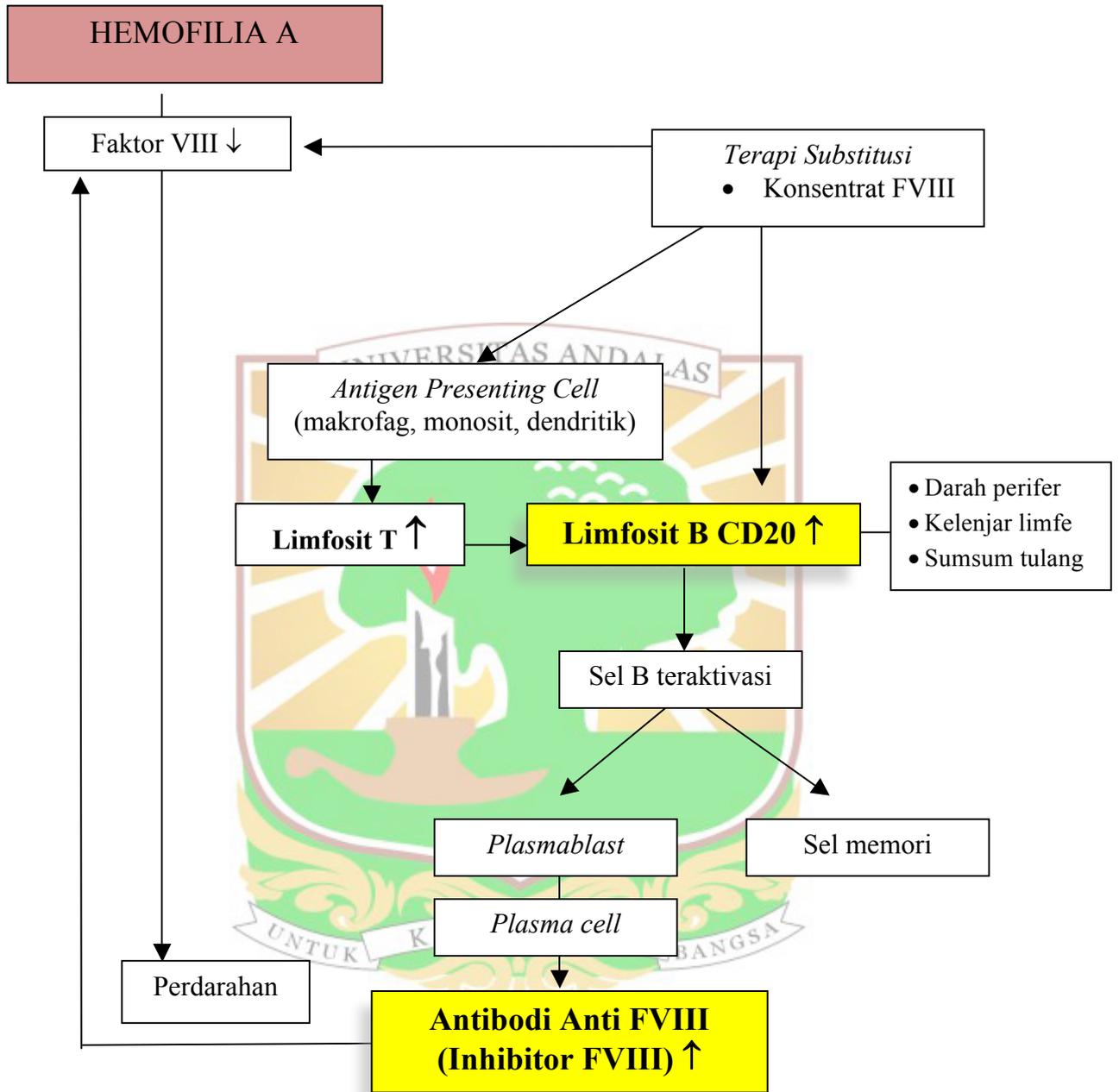
Dengan mengkorelasikan ekspresi limfosit B CD20 dengan kadar inhibitor ini, di masa depan akan memberikan manfaat perihal kemungkinan penggunaan terapi antibodi monoklonal anti CD20 dalam penatalaksanaan pasien Hemofilia A yang mempunyai inhibitor FVIII.

### 1.5.3 Manfaat untuk kepentingan masyarakat

Dengan memberikan pelayanan yang lebih antisipatif dan rasional melalui penilaian ekspresi limfosit B CD20 yang berkorelasi dengan kadar inhibitor faktor VIII, maka pelayanan akan menjadi lebih baik.



## 1.6 Kerangka konseptual



Gambar 1.1 Kerangka konseptual

## 1.7 Penjelasan kerangka konseptual

Penyakit Hemofilia A adalah penyakit perdarahan akibat defisiensi faktor VIII, diturunkan secara *X-linked* resesif maupun didapat yang disebabkan oleh mutasi genetik. Gen faktor VIII terletak di lengan panjang kromosom X, *band* q28. Saat dilakukan terapi substitusi pemberian konsentrat faktor VIII, beberapa pasien mulai muncul inhibitor, suatu antibodi anti FVIII yang mengakibatkan terapi substitusi tidak lagi efektif. Awalnya FVIII yang diberikan tersebut akan dikenal dan dipresentasikan oleh APC, yaitu makrofag, monosit dan sel dendritik. APC nantinya akan mengaktivasi sel T naïve, kemudian berdiferensiasi menjadi sel Th, Tc, atau Treg.

Sel Th akan melepaskan sitokin-sitokin yang akan merangsang proliferasi sel B, seperti IL2, IL4, IL5, IL6 dan interferon. Sehingga sel limfosit B akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang membentuk dan melepas immunoglobulin atau antibodi FVIII. Antibodi yang terbentuk akan berikatan dengan FVIII yang diberikan berikutnya, sehingga mengakibatkan FVIII menjadi rendah. Terdapatnya antibodi anti FVIII ini dibuktikan dengan pemeriksaan kadar inhibitor FVIII. Tingginya kadar inhibitor FVIII ini akan mengakibatkan terapi substitusi FVIII tidak lagi bermanfaat sebagaimana semestinya. APC=Antigen presenting cell; Th=T helper; Tc=T cytotoxic; Treg= T regulatory.