

Paparan Fosfatidilserin Pada Pasien Talasemia B Putu Ristyning Ayu Sangging¹, Sutyarso², Hendri Busman²

¹Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

²Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung

Abstrak

Talasemia merupakan kelainan genetik yang melibatkan pembentukan hemoglobin abnormal. Talasemia terbagi menjadi dua kategori utama yaitu talasemia alfa dan beta tergantung pada rantai hemoglobin yang terpengaruh. Meskipun beberapa kategori talasemiaringan dan hanya menyebabkan anemia ringan serta masalah kekurangan zat besi pada pasien, bentuk talasemia lain yang lebih parah dapat mengakibatkan kematian. Penderita talasemia bisa mendapatkan pengobatan sesuai dengan tingkat keparahan kondisinya. Derajat *eritropoiesis* yang tidak efektif diketahui berhubungan dengan keparahan klinis pada individu penderita talasemia. Namun, hubungan tingkat biomarker eritropoiesis yang tidak efektif dengan genotipe talasemia yang berbeda masih terbatas. Penelitian yang telah dilakukan mengeksplorasi tingkat sel darah merah yang terpapar *fosfatidilserin* dan biomarker eritropoiesis yang tidak efektif pada pasien dengan genotipe berbeda. Berdasarkan hasil tinjauan penderita talasemia beta memiliki kadar GDF-15 tertinggi, diikuti oleh pasien dengan talasemia alfa non-deletal. Pasien dengan talasemia alfa non-delesional menunjukkan peningkatan kadar hemoglobin dan penurunan kadar GDF-15 setelah splenektomi. Pasien dengan talasemia beta dan talasemia alfa non-delesional memiliki tingkat sel darah merah terpapar PS tertinggi dan biomarker eritropoiesis yang tidak efektif serta berkorelasi dengan tingkat keparahan klinis talasemia. Perbedaan tingkat eritropoiesis tidak efektif pada talasemia yang menekankan perlunya pendekatan pengobatan yang berbeda pada pasien dengan genotipe talasemia yang berbeda.

Kata kunci: Eritropoiesis, fosfatidilserin, talasemia

Phosphatidylserine Exposure in Talasemia B Patients

Abstract

Talasemia is a genetic disorder that involves the formation of abnormal hemoglobin. Talasemia is divided into two main categories namely alpha and beta talasemia depending on the hemoglobin chain affected. Although some categories of talasemia are mild and cause only mild anemia and iron deficiency problems in patients, other, more severe forms of talasemia can result in death. Talasemia sufferers can get treatment according to the severity of the condition. The degree of *ineffective erythropoiesis* is known to be associated with clinical severity in individuals with talasemia. However, the association of ineffective erythropoiesis biomarker levels with different talasemia genotypes is limited. Studies have explored levels of red blood cells exposed to *phosphatidylserine* and ineffective erythropoiesis biomarkers in patients with different genotypes. Based on the results of the review, beta talasemia patients have the highest GDF-15 levels, followed by patients with non-deletal alpha talasemia. Patients with non-delesional alpha talasemia showed elevated hemoglobin levels and decreased GDF-15 levels after splenectomy. Patients with beta talasemia and non-delesional alpha talasemia had the highest levels of red blood cell exposure to PS and ineffective erythropoiesis biomarkers, which correlated with the clinical severity of talasemia. Differences in erythropoiesis rates are not effective in talasemia, which emphasizes the need for different treatment approaches in patients with different talasemia genotypes.

Keywords: Eritropoiesis, fosfatidilserin, talasemia

Korespondensi : Putu Ristyning Ayu Sangging, Jalan Soemnatri Bojonegoro No. 1, email : putu.ristya@gmail.com

Pendahuluan

Talasemia merupakan kelainan genetik yang melibatkan pembentukan hemoglobin abnormal^{1,3}. Hemoglobin terdiri dari rantai alfa dan beta pada pasien talasemia, sehingga produksi hemoglobin pun rusak. Pasien talasemia, tidak hanya memiliki kadar hemoglobin yang rendah dalam aliran darahnya tetapi juga memiliki kualitas hemoglobin yang kurang baik. Pada saat yang sama, tubuh pasien terus berusaha memproduksi lebih banyak sel

darah merah dan hemoglobin⁴. Penderita talasemia dapat diobati sesuai dengan tingkat keparahan kondisinya^{2,4}. Meskipun beberapa bentuk talasemia ringan akan tetapi menyebabkan anemia ringan dan masalah kekurangan zat besi pada pasien, bentuk talasemia lain yang lebih parah bahkan dapat mengakibatkan kematian. Talasemia terbagi dua kategori utama talasemia yaitu talasemia alfa dan beta yang kemudian dibagi menjadi

subkategori lebih lanjut^{2,5}. Penyebab utama thalassemia adalah cacat sintesis rantai alfa atau beta⁵. Thalassemia beta terjadi ketika salah satu atau kedua gen Beta globin tidak normal atau tidak ada^{2,5}. Riwayat keluarga talasemia meningkatkan kemungkinan seseorang menderita penyakit talasemia^{5,10,12}

Pengobatan talasemia yang sering dilakukan yaitu dengan transfusi darah, hal ini menyebabkan kelebihan zat besi menumpuk di aliran darah⁶. Secara umum, talasemia menimbulkan masalah pada tingkat yang berbeda-beda tergantung pada tingkat keparahan bentuk talasemia. Secara klinis, penyakit thalassemia diklasifikasikan menjadi thalassemia yang bergantung pada transfusi dan thalassemia yang tidak bergantung pada transfusi (*non-transfusion-dependent-thalassemia*).

Isi

Pengurangan rantai globin β menyebabkan talasemia β^2 . Penyakit ini disebabkan oleh mutasi yang hampir mempengaruhi seluruh lokus globin β dan sangat heterogen. Hampir setiap kemungkinan cacat yang mempengaruhi ekspresi gen pada tingkat transkripsi atau pasca transkripsi, termasuk translasi, pada talasemia β^2 . Penyebab anemia pada talasemia β terjadi

Pada pasien thalasemia, membran sel darah merah teroksidasi dan mengekspresikan *fosfatidilserin* (PS) bermuatan negatif dari lapisan tunggal bagian dalam ke lapisan tunggal bagian luar membran sel darah merah (sel darah merah yang terpapar *fosfatidilserin*). *Fosfatidilserin* (PS) adalah fosfolipid bermuatan negatif yang umumnya terletak di lapisan dalam membran sel darah merah. Ekspresi dari *fosfatidilserin* di lapisan luar sel darah merah menyebabkan kematian sel prematur di dalam sumsum tulang (*eritropoiesis* tidak efektif) atausirkulasi perifer^{7,8}. Selain itu, peningkatan sel darah merah yang terpapar PS menyebabkan keadaan hiperkoagulasi pada pasien talasemia dengan mengaktifkan jalur koagulasi dan menstimulasi trombosit⁵ Komplikasi ini lebih banyak terjadi pada pasien NTDT yang menjalani splenektomi^{9,10}.

karena dua penyebab yang pertama yaitu eritropoiesis infektif dan yang kedua adalah penghancuran sel darah merah yang bersirkulasi (hemolisis)^{5,8,10}. Karena perbedaan komposisi biokimia agregat antara globin alfa dan globin beta, tingkat keparahan penyakit pada talasemia alfa lebih ringan dibandingkan dengan talasemia beta.

Tabel 1. Karakter klinis dasar pada pasien thalasemia

Characteristic	All patients (n=139)	Beta-thalassemia group (n=88)		Non-deletional alpha thalassemia group (n=43)		Deletional alpha thalassemia group (n=8)	
		NTDT N=40	TDT N=48	NTDT N=35	TDT N=8	NTDT N=7	TDT N=1
Sex (n, %)							
Male	57 (41.0)	18 (45)	19 (39.6)	14 (40)	2 (25)	4 (57.1)	0
Female	82 (59.0)	22 (55)	29 (60.2)	21 (60)	6 (75)	3 (42.9)	1
Splenectomy (n, %)							
Yes	51 (36.7)	15 (37.5)	26 (54.2)	9 (25.7)	1 (12.5)	-	-
No	88 (63.3)	25 (62.5)	22 (45.8)	26 (74.3)	7 (87.5)	7 (100)	1
Age at enrollment (yrs.) Mean \pm SD	34.5 \pm 14.5	32.9 \pm 11.5	34.1 \pm 13.2	32.4 \pm 14.8	36.8 \pm 16.5	56.3 \pm 18.7	18.1
Time after splenectomy (yrs.) Mean \pm SD	10.6 \pm 7.8	3.8 \pm 6.5	6.9 \pm 8.9	1.3 \pm 2.9	1.5 \pm 4.2	-	-
RBC ($10^9/\mu\text{L}$)	3.65 (2.14-6.99)	3.4 (2.4-5.3)	3.3 (2.1-4.8)	4.5* (3.2-7.0)	3.9 (3.4-5.5)	4.9 (3.7-6.3)	4.2
Hb (g/dL)	7.6 (4.6-12.6)	7.3 (5.1-9.1)	7.3 (4.6-10.2)	8.3 (5.5-11.3)	7.6 (6.0-8.8)	9.0 (7.5-12.6)	7.8
MCV (fL)	69.1 (47.9-88.1)	67.3 (47.9-84.9)	70.25 (51-88.1)	68.7 (52.1-85.7)	68.5 (55.9-77.6)	66.0 (54.2-78.7)	70.5
Nucleated RBCs	5 (0-1682)	15.5 (0-1682)	89 (0-927)	0 (0-105)	0 (0-9)	0	0
Serum ferritin (ng/mL)	1007 (145-6515)	936* (145-6202)	1665 (428-6515)	621 (185-3292)	1371 (316-4329)	856 (488-2000)	896
Liver iron concentration (LIC) (mg/g dry weight)	9.3 (1.5-35.8)	10.1 (3.2-33.0)	11.4 (1.5-35.8)	4.4 (1.7-32.7)	9.7 (5-20)	3.7 (2-5.7)	5.2
Cardiac T2* (msec.)	39.1 (7.4-72.1)	38.5 (11.9-56.6)	39.5 (7.4-55.7)	39.0 (27.5-72.1)	40.6 (34.5-47.4)	43.3 (31.5-61.4)	33.1

NTDT = non-transfusion-dependent thalassemia; TDT = transfusion-dependent thalassemia.

Pasien yang menderita thalasemia beta dan thalasemia alfa tanpa delesi mengalami eritropoiesis yang tidak efisien dan penumpukan zat besi yang lebih signifikan dibandingkan dengan pasien yang mengidap

thalasemia alfa dengan penghapusan gen. Sel darah merah yang mengandung fosfatidilserin merupakan sel darah merah yang mengalami kelainan yang sering ditemukan pada pasien thalasemia. Keadaan ini terjadi karena

perpindahan fosfolipid bermuatan negatif dari membran sel darah merah. Ekspresi fosfatidilserin pada sel darah merah ini memicu aktivasi jalur koagulasi, yang mengakibatkan peningkatan risiko hiperkoagulabilitas pada pasien dengan talasemia⁵. Hiperkoagulasi merupakan komplikasi talasemia yang disebabkan adanya kelainan primer genetik.¹⁴ Peningkatan jumlah sel darah merah yang mengekspresikan fosfatidilserin pada pasien talasemia yang telah menjalani splenektomi merupakan faktor risiko utama terjadinya hipertensi pulmonal pada pasien tersebut⁸.

Pada Identifikasi jenis sel darah merah dilakukan berdasarkan luas area sel, luas area

inti sel, diameter maksimum, diameter minimum dan rasio sel dari hasil proses ekstraksi ciri meliputi mikrositik, sel target, eritroblast small fragment dan WBC¹³. Pengaruh hiperkoagulasi terhadap pasien talasemia yaitu Komplikasi meliputi hemolisis kronik, kerentanan terhadap infeksi pasca splenektomi, infeksi melalui transfusi darah, perburukan anemia selama infeksi, ikterus, ulkus tungkai, kolelitiasis, fraktur patologis, gangguan pertumbuhan, pubertas terlambat, hepatic siderosis, splenomegali, penyakit jantung karena kelebihan besi, dan krisis aplastik¹⁵.

Tabel 2. Tingkat sel darah merah yang terpapar PS, GDF15 dan sTfR kelompok genotipe

	Beta-thalassemia (n=88)	Non-deletional alpha thalassemia (n=43)	Deletional alpha thalassemia (n=8)	Normal Control [34, 35] (Chansai S et al. Huang Y et al.)	P-value
PS-exposed RBCs (%) Median, range	1.2 (0.1-4.1)	1.2 (0.1-4.0)	0.9 (0.4-2.5)	0.21 (0.16-0.27)	0.765
Mean ± SD	1.32±0.8	1.32±0.9	1.12±0.7		0.813
GDF15 (pg/mL) Median, range	43268.0 ^{††} (6857.0-160500.0)	15928.6 [*] (1219.5-60571.4)	10000.0 [*] (7000-41928.6)	176.02 (58.57-953.62)	<0.001
Mean ± SD	53757.2±36220.6 ^{††}	20179.0±15117.5 [*]	15178.6±11906.0 [*]		<0.001
sTfR (µg/mL) Median, range	14.4 (2.2-68.2)	20.0 (2.2-73.0)	7.0 (2.3-28.4)	2.63 (0.32-5.34)	0.073
Mean ± SD	18.3±15.1 [*]	24.4±20.4 ^{*,#}	9.6±9.2 [#]		0.033

[†]significant different between Beta-thalassemia and Non-deletional alpha thalassemia. ^{††}significantly different between Beta-thalassemia and Deletional alpha thalassemia. ^{*}significantly different between Non-deletional alpha thalassemia and Deletional alpha thalassemia.

Reseptor transferin serum terlarut merupakan penanda yang mewakili *eritropoiesis* aktif dan disekresi oleh prekursor eritroid. Tingkat sTfR meningkat pada kondisi tertentu termasuk hiperplasia eritroid dan penipisan simpanan zat besi tubuh¹⁶. Pasien dengan talasemia alfa non- delesional memiliki tingkat sTfR yang jauh lebih tinggi dibandingkan pasien dengan talasemia beta dan talasemia

alfa penghapusan. pasien dengan talasemia alfa non-deletal yang menjalani splenektomi memiliki kadar Hb yang jauh lebih tinggi dan kadar GDF-15 lebih rendah dibandingkan pasien yang tidak menjalani splenektomi. Zhou GDF-15 mungkin merupakan biomarker yang mewakili eritropoiesis yang tidak efektif pada pasien dengan talasemia^{15,16}.

Tabel 3. Karakteristik kontrol normal dan hemoglobin E/B-talasemia (Hb E/B-itu) pasien.

	Normal kontrol	Tidak dilakukan splenektomi HbE/B-itu	Displenektomi HbE/B-itu
Jumlah pasien	15	15	15
Usia (tahun)	27±3 ± 7±5	23±5 ± 4±9	21±5 ± 3±5
Jenis Kelamin: M/F	7/8	7/8	7/8
Hb (g/dl)	14±1 ± 1±2	7±4 ± 1±7	6±3 ± 1±0
Hematokrit (l/l)	0±458 ± 0±029	0±25 ± 0±051	0±222 ± 0±026
MCV (fl)	89±6 ± 5±6	59 ± 5±8	71±9 ± 7±3
Retikulosit	0±012 ± 0±004	0±032 ± 0±011	0±122 ± 0±055
RBC berinti/100 WBC	0	21±1 ± 20±3	1149±3 ± 711±5
RDW (%)	12±8 ± 0±9	28±4 ± 2±3	30±1 ± 2±9
WBC (·10 ⁹ /l)	7±3 ± 1±7	7±1 ± 1±9	9±5 ± 4±2
Trombosit (·10 ⁹ /l)	252±7 ± 37±4	256±6 ± 90	646±1 ± 191±7
Kadar Hb F (%)	0±48±0±24	18±4±14±0	27±9±10±5
ferritin serum (akug/l)	75±1 ± 47±6	914±1±1060±9	3346±6±2066±9

RDW, lebar sebaran sel darah merah. Nilai dinyatakan sebagai rata-rata ± SD.

Peran RBC PS dalam

hiperkoagulabilitas darah pada pasien talasemia. Sebagian besar thalassemia mayor (TM) splenektomi dan thalassemia intermedia (TI) non-splenektomi. Pada lapisan luar membran sel darah merah pada kelompok

pasien tidak mencapai signifikansi statistik, korelasi pada kelompok S cukup baik karena 25 \pm 3% variasi kadar TAT plasma dapat disebabkan oleh paparan RBC AV.¹¹

Tabel 4. Nilai aliran-sitometri dari 15 kontrol normal (NC), 15 non-splenektomi (NS), dan 15 hemoglobin E/splenektomi (S)B-talasemia (Hb E/B-thal) pasien dinyatakan sebagai persentase sel darah merah annexin V positif

Annexin V-positif sel darah merah (%)	Normal kontrol	Tidak dilakukan splenektomi HbE/B-itu	Displenektomi Hb EB-itu	P-nilai*
- Berukuran lebih besar populasi	1 \pm 22 \pm 0 \pm 38	1 \pm 98 \pm 1 \pm 19	3 \pm 53 \pm 2 \pm 82	0 \pm 003
- Berukuran lebih kecil populasi	2 \pm 62 \pm 1 \pm 66	3 \pm 65 \pm 2 \pm 94	6 \pm 87 \pm 5 \pm 28	0 \pm 01

* SATU ARAHanovates.

Tes Scheffe:P-nilai grup NC versus S, NS versus S, dan NC versus NS untuk subset RBC yang berukuran lebih besar $\frac{1}{4}$ 0 \pm 003, 0 \pm 151 dan 0 \pm 262 masing-masing.P-nilai-nilai kelompok mata pelajaran yang sesuai untuk subset RBC berukuran lebih kecil $\frac{1}{4}$ 0 \pm 016, 0 \pm 217 dan 0 \pm 470 masing-masing.

Nilai dinyatakan sebagai rata-rata \pm SD.

Eksresi fosfatidilserin (PS) dalam sel darah merah, yang diindikasikan oleh persentase sel darah merah yang positif terhadap annexin V. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pasien yang telah menjalani splenektomi dengan kondisi Hb E/B mengalami hiperkoagulasi kronis tingkat rendah, yang terkait dengan peningkatan jumlah sel darah merah yang mengungkapkan PS dalam sirkulasi^{15,16}. Kondisi ini mungkin berperan dalam meningkatkan risiko pasien tersebut terkena trombosis arteri pulmonal. Untuk mengkonfirmasi peran sel darah merah patologis ini dalam proses koagulasi, ditambahkan sel darah merah pasien yang displenektomi ke dalam uji DRVVT dan mampu menunjukkan waktu pembekuan yang lebih singkat bila dibandingkan dengan kontrol normal. Waktu yang diperpendek bervariasi secara langsung seiring dengan bertambahnya jumlah sel darah merah, yang semakin menegaskan peran langsung mereka dalam proses tersebut¹⁴. Saat ini Halley menunjukkan bahwa PS pada selebaran luar membran sel darah merah bertanggung jawab atas talasemia, sehingga peningkatan jumlah sel darah merah yang terpapar PS (AV-positif) yang

bersirkulasi menunjukkan keadaan hiperkoagulabilitas kronis tingkat rendah pada Hb E/B-pasien talasemia. Kondisi tersebut berhubungan dengan sirkulasi PS yang berlebihan dan paparan sel darah merah sebagai akibat dari splenektomi.¹⁴

Simpulan

Pasien dengan talasemia beta dan talasemia alfa non- delesional memiliki tingkat sel darah merah terpapar PS tertinggi dan biomarker eritropoiesis yang tidak efektif. Hal ini berkorelasi dengan tingkat keparahan klinis talasemia. Perbedaan tingkat eritropoiesis tidak efektif pada thalassemia, menekankan perlunya pendekatan pengobatan yang berbeda pada pasien dengan genotipe thalassemia yang berbeda.

Daftar Pustaka

1. Vij R, Machado RF. Pulmonary complications of hemoglobinopathies. *Chest*. 2010; 138(4): 973-83. doi: 10.1378/chest.10-0317. PMID: 20923801.
2. Joly P, Pondarre C, Badens C. [Beta-thalassemiias: molecular, epidemiological, diagnostical and clinical aspects]. *Ann Biol*

- Clin (Paris)*. 2014; 72(6): 639-68. doi: 10.1684/abc.2014.1015. PMID: 25486662.
3. Nawal Helmi, Mawahib Bashir, Ayesha Shireen, Iffat Mirza Ahmed. Thalassemia review: features, dental considerations and management. *Electronic Physician* (ISSN: 2008-5842)
 4. Habibian N, Alipour A, Rezaianzadeh A. Association between Iron Deficiency Anemia and Febrile Convulsion in 3- to 60-Month-Old Children: A Systematic Review and Meta- Analysis. *Iran J Med Sci*. 2014; 39(6): 496-505. PMID: 25429171, PMCID: PMC4242983
 5. Harteveld CL, Higgs DR. α -thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis*. 2010; 5: 13. doi: 10.1186/1750-1172-5-13.
 6. Verma IC, Saxena R, Kohli S. Skenario perawatan & pengendalian thalasemia di masa lalu, sekarang & masa depan di India. *India J Med Res*. 2011; 134: 507-21. PMID: 22089615, PMID: PMC3237251.
 7. Taher AT, Otrock ZK, Uthman I and Cappellini MD. Thalassemia and hypercoagulability. *Blood Rev* 2008; 22: 283-292.
 8. Perspectives M. Domenica Cappellini, Khaled M. Musallam, Alessia Marcon and Ali T. Taher. Coagulopathy in Beta in Beta-Thalassemia: Current Understanding and Future. *Medit J Hemat Infect Dis*. 2009
 9. Sarwani, SRD., Nurhayati, N., Supriyanto, Kartikasari E. Descriptive Study of Thalassemia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. Vol.7 No. 3 Oktober 2012.
 10. Anke Hannemann, David C. Rees, John N. Brewin, Andreas Noe, Ben Low and John S. Gibson Oxidative stress and phosphatidylserine exposure in red cells from patients with sickle cell anaemia. *British Journal of Haematology*, 2018, 182, 567–578.
 11. Ivan Lumban Toruan, Pandji Irani Fianza, Delita Prihatni. Platelet-Derived Microparticle Count in β -Thalassemia Patients with Direct Labeling Monoclonal Antibody CD62P and CD41. *Majalah Kedokteran Bandung*, Volume 52 No. 2, June 2020
 12. Penatua A dan Rachmilewitz EA. Keadaan hiperkoagulabilitas pada thalassemia. *Darah* 2002; 99: 36-43.
 13. Mururul Aisyi, Alan R Tumbelaka. Pola Penyakit Infeksi pada Thalassemia Pola Penyakit Infeksi pada Thalassemia. *Sari Pediatri*, Vol. 5, No. 1, Juni 2003: 27 – 33.
 14. Siriyakorn Chansai¹, Suwadee Yamsri, Supan Fucharoen, Goonapa Fucharoen, Nattiya Teawtrakul. Phosphatidylserine-exposed red blood cells and ineffective erythropoiesis biomarkers in patients with thalassemia. *Am J Transl Res* 2022;14(7):4743-4756.
 15. Chansai S., Yamsri S., Fucharoen S., Fucharoen G., Teawtrakul N. The correlation between ineffective erythropoiesis biomarkers and development of extramedullary hematopoiesis in patients with thalassemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2022, 14(1): e2022052, DOI: <http://dx.doi.org/10.4084/MJHID.2022.052>.
 16. Klaihmon, Sinmanus Vimonpatranon, Egarit Noulsri, Surapong Lertthammakiat, Usanarat Anurathapan, Nongnuch Sirachainan, Suradej HongengKovit Normalized levels of red blood cells expressing phosphatidylserine, their microparticles, and activated platelets in young patients with β -thalassemia following bone marrow transplantation Phatchanat Pattanapanyasat. *Ann Hematol*. doi:10.1007/s00277-017-3070-2.

