



PERTEMUAN ILMIAH TAHUNAN X

Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia
(Indonesian Association of Clinical Pathologists)



SERTIFIKAT

Diberikan kepada
Phey Liana
Sebagai
Peserta Poster
Dalam

PERTEMUAN ILMIAH TAHUNAN X PERHIMPUNAN DOKTER SPESIALIS PATOLOGI KLINIK INDONESIA

TEMA : "PERAN DOKTER SPESIALIS PATOLOGI KLINIK DALAM TATA LAKSANA PASIEN YANG KOMPREHENSIP"

AKREDITASI : PB IKATAN DOKTER INDONESIA (IDI), sk NO. 1473 / PB /A.4 / 09 / 2011

Peserta : 12 SKP, Pembicara : 12 SKP, Moderator : 4 SKP, Panitia : 2 SKP

Pontianak, 21 September 2011

Lia G Partakusuma, dr, SpPK(K),MM
Ketua PP PDS PATKLIN

Adi Sudjatmoko, dr, SpPK, MARS
Ketua Panitia



Pertemuan Ilmiah Tahunan X



Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia
(Indonesian Association of Clinical Pathologists)

workshop & seminar nasional

Tema

**Peran Dokter Spesialis Patologi Klinik
Dalam Tata Laksana Pasien
Yang Komprehensif**

**Hotel Aston Pontianak
21 - 25 September 2011**



Terakreditasi IDI

**Buku Program dan
Kumpulan Abstrak**

Simposium

Presentasi Makalah Bebas

Presentasi Poster

DAFTAR ISI

Kata Sambutan Ketua PP PDS PATKLIN 3

Kata Sambutan Ketua Panitia PIT X Pontianak 4

Daftar Isi 5

Susunan Panitia 6

Susunan Acara

- **WORKSHOP 8**
- **SIMPOSIUM 10**

Abstrak Simposium 14

Abstrak Presentasi Makalah Bebas (PO) 63

Abstrak Presentasi Poster (PP) 119

Buku Program dan Kumpulan Abstrak Pertemuan Ilmiah Tahunan X

Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Pontianak, 21-25 September 2011



Tim Penyusun:

- Ida Parwati
- Felicia Enny
- Adhi Kristianto Sugianli

PP-33

PENYAKIT HEMOGLOBIN KÖLN DENGAN DEFISIENSI BESI

Phey Liana, Riadi Wirawan
Divisi Hematologi, Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia-Rumah Sakit Umum
Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo, Jakarta, Indonesia

Pendahuluan

Hemoglobin KÖln merupakan hemoglobin *unstable* yang tergolong dalam kelompok hemoglobin varian. Hemoglobin KÖln merupakan hemoglobin varian tersering di dunia yang kelainannya terletak pada asam amino rantai beta posisi 98 yaitu pergantian valin dengan metionin. Keadaan ini menyebabkan ketidakstabilan molekul hemoglobin. Molekul hemoglobin yang terbentuk mudah teroksidasi menjadi methemoglobin yang kemudian akan dipecah menjadi heme (Fe^{3+}) dan globin. Rantai globin akan terdenaturasi dan berpresipitasi membentuk *Heinz bodies* yang sering menempel pada membran eritrosit. Proses tersebut dipicu oleh infeksi dan obat oksidatif. *Heinz bodies* akan ditekan keluar dari eritrosit ketika melewati mikrosirkulasi lien. Akibatnya terbentuk *bite cell* yang dapat terlihat pada sediaan hapus darah tepi.

Kasus

Seorang anak berusia 3 tahun dengan diagnosis anemia. Pemeriksaan darah lengkap didapatkan kadar hemoglobin 10.0 g/dL, hitung eritrosit $6.37 \times 10^9/\mu L$, volume eritrosit rerata 54.2 fl, kandungan hemoglobin eritrosit rerata 15.7 pg, retikulosit 700/ μL dengan *immature reticulocyte fraction* (IRF) 17.7 % (normal : 1.4 - 14.6%) dan Ret-He 24.2 pg (normal : > 25 pg). Pada sediaan Wright didapatkan eritrosit mikrositik hipokrom, sel pensil, *bite cells* dan fragmenosit. Pada sediaan *new methylene blue* terlihat *bite cells*. Pada elektroforesis hemoglobin ditemukan fraksi tambahan sebesar 4.3%, yang dikenal dengan hemoglobin KÖln. Kadar besi serum, TIBC dan saturasi transferin adalah 26 $\mu g/dL$, 440 $\mu g/dL$ dan 5.9% menunjukkan adanya defisiensi besi. Retikulositopenia dengan IRF tinggi menunjukkan adanya eritropoiesis inefektif yang umum ditemukan pada anemia defisiensi besi. Anemia defisiensi besi juga didukung dengan temuan Ret-He < 25 pg, anemia mikrositik hipokrom dan sel pensil. Adanya hemoglobin KÖln pada pasien dibuktikan dengan temuan fraksi hemoglobin KÖln dan *bite cells*. Hemoglobin KÖln mempunyai afinitas tinggi terhadap oksigen menyebabkan hipoksia jaringan sehingga memicu produksi eritrosit dan menyebabkan terjadi eritrositosis seperti yang ditemukan pada pasien ini. Kami menyarankan pemeriksaan analisis hemoglobin ulang setelah 3 bulan terapi besi dan analisis DNA untuk konfirmasi adanya mutasi pada hemoglobin KÖln.

Kesimpulan

Kasus tersebut sesuai dengan penyakit hemoglobin KÖln dengan defisiensi besi

Kata kunci

Bite cells, sel pensil, hemoglobin KÖln

PENYAKIT HEMOGLOBIN KOLN DENGAN DEFISIENSI BESI

Phey Liana, Riadi Wirawan

Divisi Hematologi, Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia-Rumah Sakit Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo, Jakarta, Indonesia

Pendahuluan

Hemoglobin Koln merupakan hemoglobin *unstable* yang tergolong kelompok hemoglobin varian. Hemoglobin Koln merupakan hemoglobin varian tersering di dunia yang kelainannya terletak pada asam amino rantai beta posisi 98 yaitu pergantian valin dengan metionin. Keadaan ini menyebabkan ketidakstabilan molekul hemoglobin. Molekul hemoglobin yang terbentuk mudah teroksidasi menjadi methemoglobin yang kemudian akan dipecah menjadi heme (Fe^{3+}) dan globin. Rantai globin akan terdenaturasi dan berpresipitasi membentuk *Heinz bodies* yang sering menempel pada membran eritrosit. Proses tersebut dipicu oleh infeksi dan mikrosirkulasi lien. Akibatnya terbentuk *bite cell* yang dapat terlihat pada sediaan hapus darah tepi.

Kasus

Seorang anak berusia 3 tahun dengan diagnosis anemia. Pemeriksaan darah lengkap didapatkan kadar hemoglobin 10.0 g/dL, hitung eritrosit $6.37 \times 10^6/\mu\text{L}$, volume eritrosit rerata 54.2 fl, kandungan hemoglobin eritrosit rerata 15.7 pg, retikulosit 700/ μL dengan *immature reticulocyte fraction* (IRF) 17.7% (normal: 1.4 – 14.6%) dan Ret-He 24.2 pg (normal: > 25 pg). Pada sediaan Wright didapatkan eritrosit mikrositik hipokrom, sel pensil, *bite cells*, dan fragmentosit. Pada sediaan *New methylene blue* terlihat *bite cells*. Pada elektroforesis hemoglobin ditemukan fraksi tambahan sebesar 4.3%, yang dikenal dengan Hemoglobin Koln. Kadar besi serum, TIBC, dan saturasi transferin adalah 26 $\mu\text{g/dL}$, 440 $\mu\text{g/dL}$ dan 5.9%, menunjukkan adanya defisiensi besi. Retikulositopenia dengan IRF tinggi menunjukkan adanya eritropoiesis inefektif yang umum ditemukan pada anemia defisiensi besi. Anemia defisiensi besi juga didukung dengan temuan Ret-He < 25 g, anemia mikrositik hipokrom dan sel pensil. Adanya Hemoglobin Koln pada pasien dibuktikan dengan temuan fraksi Hemoglobin Koln dan *bite cells*. Hemoglobin Koln mempunyai afinitas tinggi terhadap oksigen menyebabkan hipoksia jaringan sehingga memicu produksi eritrosit dan menyebabkan terjadi eritrositosis seperti yang pada ditemukan pada pasien ini. Kami menyarankan pemeriksaan analisis hemoglobin ulang setelah 3 bulan terapi besi dan analisis DNA untuk konfirmasi adanya mutasi pada Hemoglobin Koln.

Kesimpulan

Kasus tersebut sesuai dengan penyakit Hemoglobin Koln dengan defisiensi besi

Kata kunci

Bite cells, sel pensil, Hemoglobin Koln

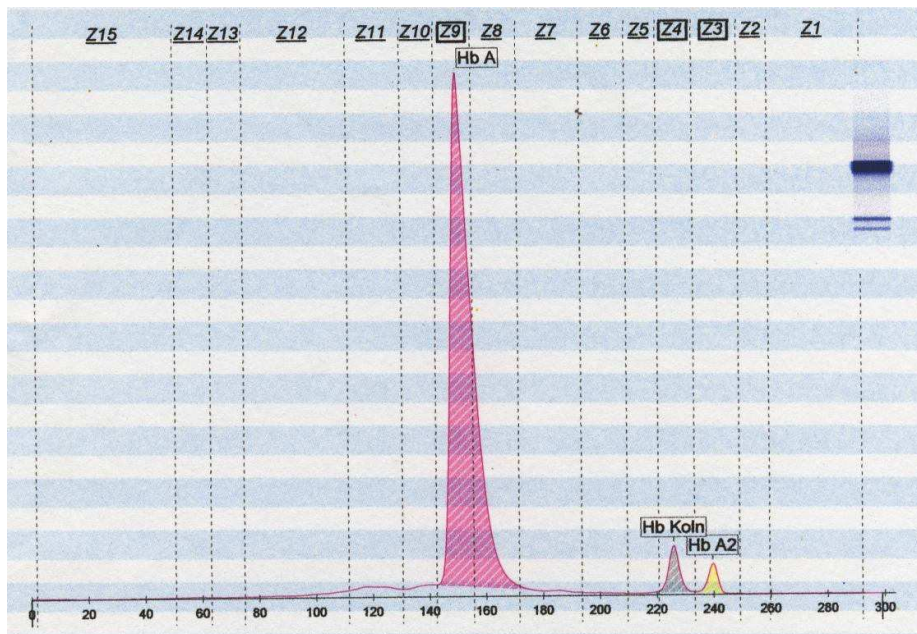
Kasus

Seorang anak perempuan, 3 tahun dengan diagnosis anemia dirujuk ke laboratorium Departemen Patologi Klinik oleh dokter N pada tanggal 16 September 2010 untuk pemeriksaan analisis hemoglobin, SI, TIBC dan saturasi transferin.

Hasil Pemeriksaan

Analisis Hemoglobin

Jenis pemeriksaan	Hasil	Satuan	Nilai rujukan
Hemoglobin	10.0	g/dL	12.0 - 14.0
VER	54.2	Fl	82 - 92
HER	15.7	Pg	25 - 35
KHER	29.0	g/dL	32 - 36
RDW-CV	35.5	%	
Fraksi Hemoglobin	Fraksi HbA, HbA ₂ , Hb Kōln		
HbA	93.30	%	96.5 - 98
HbA ₂	2.40	%	2.0 - 3.50
HbF	0.0	%	< 0.5
lain-lain:			
Hb Kōln	4.3	%	
Kesan : terdapat fraksi Hb Kōln			



FE (SI) – TIBC

Jenis pemeriksaan	Hasil	Satuan	Nilai rujukan
Serum Iron (SI)	26	μg/dL	30 - 109
TIBC	440	μg/dL	228 - 428
Saturasi transferin	5.9	%	15 - 45

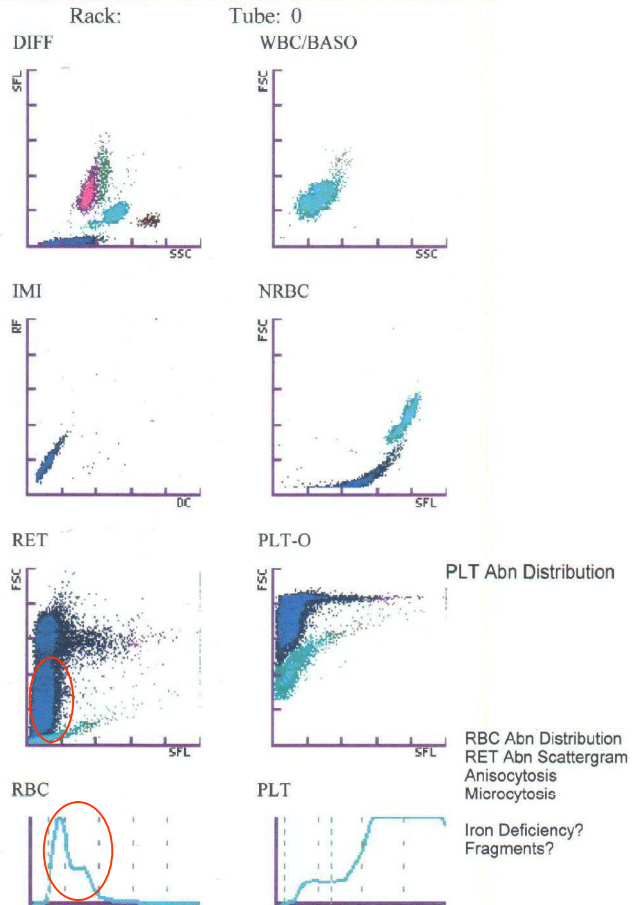
Kesan : defisiensi besi

Hasil pemeriksaan hematologi dari alat Sysmex XE-2100i

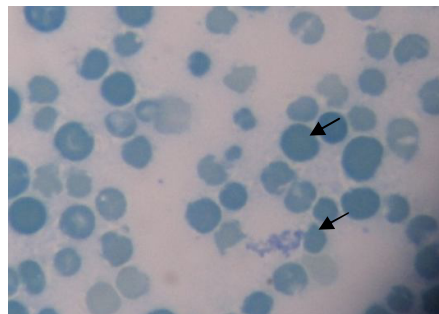
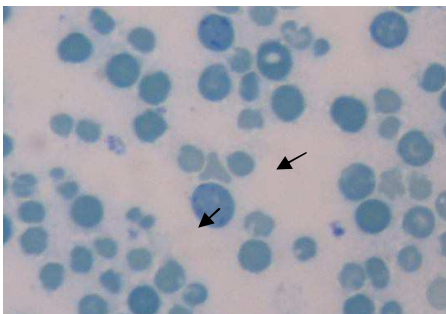
No. Pasien : 200916762130
 Nama Pasien :
 Alamat :
 Jns Kelamin :

No.RekMed :
 Tgl Periksa : 16/09/2010
 Jam Periksa : 09:54:34
 Dokter :

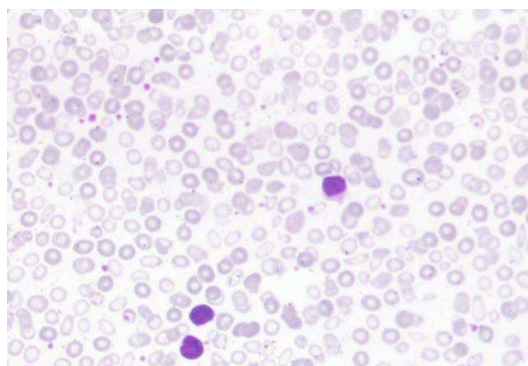
Positive		
WBC	8.64	[10 ³ /uL]
NEUT	4.24 *	[10 ³ /uL] 49.0 * [%]
LYMPH	3.23 *	[10 ³ /uL] 37.4 * [%]
MONO	0.76 *	[10 ³ /uL] 8.8 * [%]
EO	0.30	[10 ³ /uL] 3.5 [%]
BASO	0.11 +	[10 ³ /uL] 1.3 + [%]
RBC	6.37 *	[10 ⁶ /uL]
HGB	10.0	[g/dL]
HCT	34.5 *	[%]
MCV	54.2 *	[fL]
MCH	15.7 *	[pg]
MCHC	29.0 *	[g/dL]
RDW-SD	63.7 *	[fL]
RDW-CV	35.5 *	[%]
PLT & MPV	293 *	[10 ³ /uL] [fL]
RET	0.11 *	[%] 0.0070 * [10 ⁶ /uL]
IRF	17.7 *	[%]
NRBC	0.00	[10 ³ /uL] 0.0 [100WBC]
IG	0.03	[10 ³ /uL] 0.3 [%]
IPF	4.0 *	[%]
RET-He	24.2 *	[pg]
HPC		[10 ³ /uL]



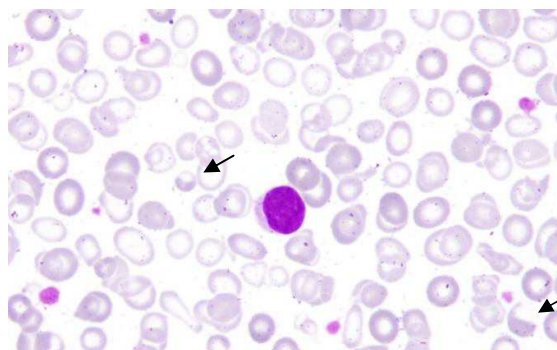
Kesan : anemia dimorfik (mikrositik & *fragmented red cell* (FRC)), anisositosis
 peningkatan jumlah eritrosit (eritrositosis)
 retikulositopenia dengan peningkatan *Immature reticulocyte fraction* (IRF)
 penurunan Ret-He



Pewarnaan *New Methylene Blue*: (100x10)
 Ditemukan *bite cell* dan tidak ditemukan *Heinz bodies*



Pewarnaan Wright (10x10)



Pewarnaan Wright (100x10)

Gambaran darah tepi:

Eritrosit : mikrositik hipokrom, anisopoikilositosis, fragmentosit, *bite cell*, sel pensil.

Leukosit : kesan jumlah cukup, morfologi dalam batas normal, hitung jenis 0/2/5/51/35/7

Trombosit : kesan jumlah cukup, morfologi dalam batas normal

Kesan : anemia mikrositik hipokrom, dengan sel pensil dan *bite cell*, kemungkinan hemoglobin *unstable* dengan defisiensi besi

Kesimpulan : Hemoglobin Köln dengan defisiensi besi

Saran : bilirubin total, bilirubin indirek dan LDH

urinalisis

analisis DNA

analisis hemoglobin ulang setelah defisiensi besi teratasi,

DATA TAMBAHAN

Penderita merupakan pasien rawat jalan dan tidak ditemukan data rekam medis penderita saat ditelusuri.

TEORI SINGKAT

Pendahuluan

Pribilla (1962) pertama kali melaporkan adanya hemoglobin abnormal yang ditemukan pada sebuah keluarga dari *Middle Reno* dengan kondisi seperti *thalassemia*. Keluarga tersebut tidak mempunyai hubungan kekerabatan dengan suku *Mediterranea*, Afrika atau Asia. Hemoglobin ini kemudian dikenal dengan sebutan Hemoglobin Köln.¹

Hemoglobin Köln merupakan kelompok hemoglobin varian yang disebabkan oleh mutasi pada rantai globin beta, dimana terjadi pergantian residu valin dengan metionin pada posisi kodon 98, menyebabkan ketidakstabilan hemoglobin. Hemoglobin Köln merupakan hemoglobin *unstable* yang

paling sering ditemukan di dunia.^{2,3} Beberapa hemoglobin *unstable* dipaparkan pada Tabel 1 dibawah ini.

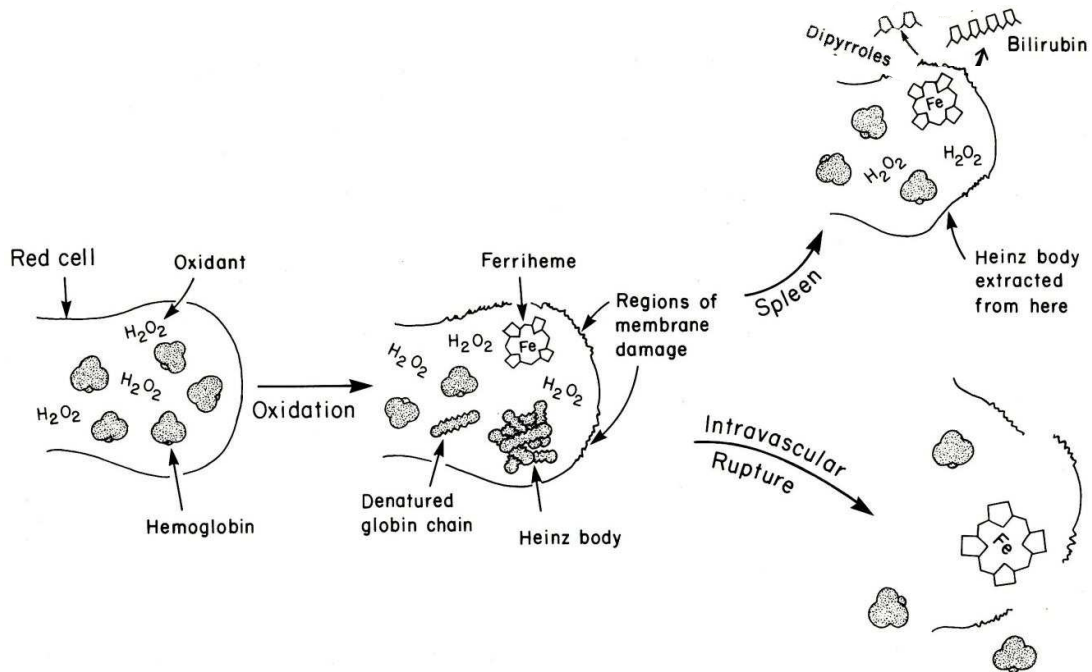
Tabel 1. Beberapa hemoglobin *unstable*⁵

Hemoglobin	Substitusi	Afinitas terhadap oksigen	Derajat hemolitik
Köln	$\beta^{98(\text{Val} \rightarrow \text{Met})}$	Meningkat	Sedang-berat
Gun Hill	$\beta^{91 \rightarrow 95}$ terdelesi	Meningkat	Ringan-sedang
Hammer-smith	$\beta^{42(\text{Phe} \rightarrow \text{Ser})}$	Menurun	Berat
Seattle	$\beta^{70(\text{Ala} \rightarrow \text{Asp})}$	Menurun	Ringan-sedang
Bristol	$\beta^{67(\text{Val} \rightarrow \text{Asp})}$	-	Berat
Carribean	$\beta^{91(\text{Leu} \rightarrow \text{Arg})}$	Menurun	Ringan-sedang
Hope	$\beta^{136(\text{Gly} \rightarrow \text{Asp})}$	Menurun	Ringan-sedang

Patogenesis dan patofisiologi

Hemoglobin Köln merupakan kelainan autosomal dominan. Pada Hemoglobin Köln terjadi substitusi rantai globin beta berupa pergantian valin dengan metionin pada kodon 98 menyebabkan gangguan ikatan heme dan globin. Molekul hemoglobin yang terbentuk mudah teroksidasi menjadi methemoglobin yang kemudian akan dipecah menjadi heme (Fe^{3+}) dan globin. Rantai globin akan terdenaturasi dan berpresipitasi membentuk *Heinz bodies*. *Heinz bodies* sering menempel pada membran eritrosit menyebabkan membran eritrosit menjadi kaku sehingga ketika *Heinz bodies* melewati mikrosirkulasi lien akan ditekan keluar dari eritrosit. Akibatnya akan terbentuk *bite cell* yang dapat terlihat pada sediaan hapus darah tepi.^{4,5,6} *Heinz bodies* tidak terlihat pada pemeriksaan apus darah tepi kecuali pada pasien pasca-splenektomi.

Sementara itu, heme (Fe^{3+}) akan melepaskan besi dan diubah menjadi bilirubin. Pada sebagian kasus, hanya sebagian heme yang diubah menjadi bilirubin dan sisanya diubah menjadi dipirol dengan mekanisme reaksi yang belum diketahui dan dieksresikan dalam urin sehingga menyebabkan urin berwarna gelap kehitaman.^{2,3} Selain itu, membran eritrosit yang kaku akibat proses oksidatif mudah pecah (ruptur) sehingga terjadi hemolisis intravaskuler.³ Terjadi penglepasan hemoglobin bebas yang kemudian berikatan dengan haptoglobin. Sebagian hemoglobin bebas yang tidak terikat haptoglobin akan terdisosiasi menjadi bentuk dimer yang dapat melalui filtrasi glomerulus. Bila kemampuan reabsorpsi ginjal terlampaui maka hemoglobin bebas tersebut dapat ditemukan dalam urin. Besi dari hemoglobin dapat mengendap pada sel tubulus proksimal ginjal dan ikut terlepas bersama urin sehingga dikenal dengan hemosiderin. Hemoglobin bebas yang tidak terikat haptoglobin dan tidak dieskresikan oleh ginjal akan teroksidasi menjadi methemoglobin dan akan dipecah menjadi heme (Fe^{3+}) dan globin. Sebagian Heme (Fe^{3+}) berikatan dengan hemopeksin dan sisanya berikatan dengan albumin menjadi methemalbumin yang dapat dideteksi dalam plasma. Globin akan dihidrolisis menjadi asam amino dan digunakan kembali oleh tubuh.⁴



Gambar 1. Patogenesis hemoglobin *unstable*³

Gambaran klinis

Gambaran klinis hemoglobin Köln sulit dibedakan dengan gambaran klinis hemoglobin *unstable* lainnya. Secara umum penyakit hemoglobin *unstable* memberikan gambaran sindroma hemolitik dengan berbagai tingkat keparahan. Pada Hemoglobin Köln sering ditemukan gambaran anemia hemolitik yang ditandai dengan ikterus episodik, urin berwarna gelap kehitaman, dan splenomegali.^{9,10} Keadaan ini dapat dipicu oleh adanya infeksi dan pemberian obat yang bersifat oksidatif seperti sulfonamida, piridium dan antimalaria. (Tabel 2.)^{2,7}

Anemia hemolitik yang kronik akan meningkatkan risiko terbentuknya batu empedu.¹¹ Beratnya penyakit hemoglobin *unstable* ditentukan oleh kadar hemoglobin *unstable* dalam sirkulasi. Kadar hemoglobin Köln dalam sirkulasi berkisar 12-22%.

Tabel 2. Obat dan zat kimia dikaitan dengan hemolisis²

Obat	Zat kimia
Sulfametoksazol	<i>Methylene blue</i>
Sulfonamida	<i>Toluidine blue</i>
Sulfasetamid	<i>Trinitrotoluene</i>
Asam nalidiksat	Naftalen
Primakuin	
Nitrofurantoin	
Fenazopiridin	
Fenilhidrazin	

Pemeriksaan laboratorium

Hematologi

Kadar hemoglobin bisa normal, kecuali pada saat hemolisis episodik, terjadi penurunan ringan sampai berat.⁶ Nilai eritrosit rerata (NER) bisa normal, tetapi bila terjadi defisiensi besi karena hemoglobinuria dan hemosiderinuria dapat menyebabkan nilai NER menurun. Retikulositosis dapat menetap atau berubah secara intermiten. Trombosit bisa menurun ringan sampai sedang, yang kemungkinan disebabkan oleh sekuestrasi lien.^{2,6} Leukosit dan neutrofil bisa meningkat.⁶ Gambaran darah tepi dapat ditemukan eritrosit hipokrom ringan, mikrositosis, anisopokilositosis, polikromatofilia, basofilik *stippling* serta sel target dan *bite cell*. Bila terjadi hemolisis berat dapat ditemukan fragmentosit dan mikrosferosit.² Pemeriksaan sumsum tulang dapat menunjukkan adanya hiperplasia eritroid dan gambaran diseritropoietik seperti binuklear/multinuklear dan iregularitas atau lobulasi inti.⁶

Kimia

Kadar bilirubin serum (terutama bilirubin indirek) dan laktat dehidrogenase dapat meningkat. Gejala adanya hemolisis intravaskular dapat ditemukan, seperti penurunan kadar haptoglobin serum dan hemopeksin serum serta hemosiderinuria dan hemoglobinuria.⁶ Tekanan oksigen bisa menurun karena afinitas terhadap oksigen meningkat.^{8,12}

Pemeriksaan khusus

A. Tes denaturasi panas (*heat denaturation test*)

Pemeriksaan ini untuk menilai ketidakstabilan hemoglobin. Kestabilan hemoglobin akan menurun bila dipanasi. Cara pemeriksaannya adalah sebagai berikut: hemolisat yang dibuat dari darah EDTA segar ditambahkan dengan buffer (Tris-HCl buffer) kemudian diinkubasi pada suhu 50°C dalam *waterbath* selama 120 menit. Kemudian periksa tabung pada menit ke-60, 90 dan 120 untuk melihat adanya presipitasi. Pada hemoglobin *unstable* akan terlihat presipitasi yang jelas pada menit ke-60 dan flokulasi berat pada menit ke-120. Pada kontrol normal tidak terlihat presipitasi atau hanya minimal pada menit ke-60.¹³

B. Tes stabilitas isopropanol

Pemeriksaan stabilitas isopropanol juga digunakan untuk menilai ketidakstabilan hemoglobin. Bila hemoglobin dilarutkan dalam larutan isopropanol yang bersifat lebih nonpolar dari air, maka ikatan hidrofobik *van der Waals* melemah sehingga stabilitas molekul hemoglobin akan menurun. Pemeriksaan ini dilakukan dengan menginkubasi campuran hemolisat yang dibuat dari darah EDTA segar dan larutan isopropanol 17% pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian periksa tabung pada menit ke-5, 20 dan 30 untuk melihat adanya presipitasi dan flokulasi. Pada sampel normal, hingga menit ke-30, campuran larutan tetap jernih atau ada gambaran berawan

ringan. Pada hemoglobin *unstable* dapat terlihat presipitasi pada menit ke-5 dan flokulasi setelah menit ke-20. Namun pada hemoglobin *unstable* ringan, presipitasi baru dapat terlihat setelah inkubasi 20 menit.^{13,14}

C. Uji *Heinz bodies*

Uji *Heinz bodies* untuk melihat adanya *Heinz bodies* yang berasal dari denaturasi dan presipitasi dari hemoglobin *unstable* akibat inkubasi lama. Pemeriksaan ini seperti pemeriksaan supravital (*new methylene blue*, *briliant cresyl blue*) hanya inkubasi pada suhu 37°C dilakukan selama 24 jam. Setelah inkubasi selesai, dibuat sediaan hapus untuk melihat adanya *Heinz bodies*. Pada orang normal tidak ditemukan *Heinz bodies*. Pada penderita hemoglobin *unstable* ditemukan adanya *Heinz bodies* dengan jumlah banyak.¹⁴

D. Elektroforesis hemoglobin

Elektroforesis hemoglobin dapat membantu diagnosis hemoglobin *unstable* karena dapat ditemukan pola elektroforesis hemoglobin abnormal pada pasien hemoglobin *unstable*. Pada elektroforesis Hemoglobin Köln dapat ditemukan pola pita kecil antara hemoglobin A dan hemoglobin A₂. Hampir lebih dari setengah kasus hemoglobin *unstable* memberikan pola elektroforesis hemoglobin normal, karena itu dibutuhkan analisis DNA untuk melihat dan memastikan adanya hemoglobin varian.^{1,2,6}

E. Analisis DNA

Pada kasus Hemoglobin Köln ditemukan mutasi pada rantai globin beta, berupa substitusi valin dengan metionin pada posisi kodon 98.

DISKUSI

Telah dilakukan pemeriksaan analisis hemoglobin dan *Serum iron (SI)*, *Total iron binding capacity (TIBC)* dan saturasi transferin pada pasien anak berusia 3 tahun dengan diagnosis anemia. Hasil pemeriksaan hematologi, didapatkan anemia mikrostik hipokrom, anisopoikilositosis dengan *bite cell*, dan sel pensil. Ditemukan peningkatan eritrosit dan retikulositopenia dengan peningkatan IRF serta penurunan Ret-He. Nilai besi serum dan saturasi transferin menurun dengan peningkatan TIBC. Pada analisis hemoglobin didapatkan fraksi Hemoglobin Köln. Secara keseluruhan data tersebut mendukung adanya fraksi Hemoglobin Köln dengan anemia defisiensi besi.

Nilai *cutoff* Ret-He untuk anemia defisiensi besi adalah ≤ 25 pg.¹⁵ Pada pasien ini ditemukan nilai Ret-He 24.2% (< 25 pg) yang mendukung adanya defisiensi besi. Selain itu, ditemukan sel pensil pada sediaan hapus darah tepi dan penurunan besi serum dan saturasi transferin serta peningkatan TIBC yang memperkuat adanya defisiensi besi pada pasien. Kemungkinan defisiensi besi pada pasien disebabkan oleh kebutuhan besi pasien meningkat karena pasien pada masa pertumbuhan. Selain itu, terjadi kehilangan besi akibat hemoglobinuria dan hemosiderinuria karena proses hemolisis.

Gambaran *bite cell* pada sediaan darah tepi berasal dari pembersihan *Heinz bodies* oleh lien yang dapat ditemukan pada kasus defisiensi G6PD dan hemoglobin *unstable*.

Pada kasus hemolisis biasanya ditemukan peningkatan jumlah retikulosit. Namun pada pasien ini justru didapatkan retikulositopenia (hitung retikulosit absolut (HRA) 7000/ μ L). Selain itu, didapatkan nilai *Immature reticulocyte fraction* (IRF) tinggi (17.7%). Nilai IRF menggambarkan fraksi retikulosit imatur terhadap jumlah retikulosit dan merupakan indikator aktivitas eritropoiesis efektif. Nilai IRF pada orang normal di Indonesia berkisar 1.4-14.6%.¹⁶ Adanya nilai IRF tinggi tetapi HRA rendah menunjukkan terjadinya eritropoiesis tidak efektif akibat diseritropoiesis yang dapat ditemukan pada kasus defisiensi besi seperti yang terjadi pada pasien ini.

Pada hasil pemeriksaan hematologi dengan Sysmex XE-2100 didapatkan peningkatan jumlah eritrosit (6.37×10^6 μ L). Pada hemoglobin *unstable* tidak hanya terjadi ketidakstabilan hemoglobin tapi dapat juga terjadi perubahan afinitas oksigen. Beberapa hemoglobin tidak stabil dapat menyebabkan afinitas oksigen menurun.¹⁴ Namun sebagian hemoglobin tidak stabil juga dapat menyebabkan afinitas oksigen meningkat seperti pada Hemoglobin Köln. Adanya peningkatan afinitas oksigen pada Hemoglobin Köln menyebabkan menurunnya hantaran oksigen ke jaringan sehingga tubuh akan berkompensasi dengan meningkatkan sintesis eritropoietin yang kemudian akan meningkatkan produksi eritrosit (eritrositosis) seperti yang terlihat pada pasien ini.⁹

Pada pemeriksaan analisis hemoglobin digunakan elektroforesis kapiler MINICAP SEBIA. Alat ini mengelompokkan hemoglobin dalam 15 zona (Z15) (Tabel 3.).¹⁷ Hemoglobin dalam zona yang sama adalah hemoglobin yang bermigrasi pada tempat yang sama. Pada pasien ini ditemukan fraksi hemoglobin patologik/varian pada zona 4 (Z4). Pada zona 4 bermigrasi berbagai jenis hemoglobin seperti Hb E, Hb Köln, varian Hb A2 "M-Iwate", varian Hb A2, denaturasi Hb C.¹⁷ Untuk menentukan hemoglobin sebenarnya, perlu dinilai beberapa hal yaitu kadar tiap hemoglobin varian yang biasa ditemukan, sifat khas dari tiap hemoglobin serta peran etnik/ras pada tiap hemoglobin.

Hemoglobin E merupakan hemoglobin varian akibat mutasi rantai globin beta pada posisi ke-26 dengan substitusi asam glutamat dengan lisin dan terbanyak ditemukan di Asia Tenggara. Pada keadaan homozigot (HbEE), dapat ditemukan anemia mikrositik (MCV 55-56 fl) dengan banyak sel target dan kadar hemoglobin E dalam sirkulasi berkisar 92-98%. Pada keadaan heterozigot (HbAE), biasa tidak ditemukan anemia, dapat terlihat eritrosit mikrositik (MCV 65fl) dengan sedikit sel target dan kadar hemoglobin E dalam sirkulasi berkisar 20-35%.^{14,18} Sementara itu, pada hemoglobin C, kelainan terdapat pada rantai globin beta posisi ke-6 akibat adanya substitusi asam glutamat dengan lisin dan biasanya ditemukan di Afrika Barat. Pada keadaan homozigot (HbCC) dapat ditemukan anemia normositik normokrom dengan sel target (40-90%), sedikit sferosit, kristal hemoglobin C intra atau ekstraseluler dan kadar hemoglobin C dalam sirkulasi lebih dari 90%. Pada keadaan heterozigot (HbAC) dapat ditemukan asimtomatik atau hanya anemia ringan, mikrositik hipokrom, sel target (5-30%) dan kadar hemoglobin C dalam sirkulasi sekitar 30-40%.^{14,18}

Sementara itu, varian Hb A2 “M-Iwate atau dikenal dengan nama Hemoglobin M-Iwate merupakan hemoglobin varian dengan kecenderungan membentuk methemoglobin dan menyebabkan sianosis namun jarang menyebabkan anemia. Pada Hemoglobin M-Iwate terjadi mutasi rantai globin alfa berupa substitusi histidin dengan tirosin pada posisi ke-87 kadarnya dalam sirkulasi sekitar 15-25%. Varian HbA2 tidak bermakna secara klinis dan bisa ditemukan pada sampel yang ditunda pemeriksaannya.⁶ Pada hemoglobin Köln terjadi mutasi pada rantai globin beta, berupa substitusi valin dengan metionin pada posisi 98 dan merupakan hemoglobin *unstable* yang paling sering ditemukan di dunia. Pada hemoglobin Köln dapat ditemukan *inclusion bodies (Heinz bodies)* bila fungsi limpa tidak sempurna dan bila fungsi limpa sempurna dijumpai *bite cell* dan kadarnya dalam sirkulasi berkisar 12-22%.

Adanya anemia, *bite cell* serta kadar hemoglobin varian 4.3% sesuai dengan karakteristik dari hemoglobin Köln yang bersifat *unstable* sehingga dinyatakan hemoglobin tersebut merupakan hemoglobin Köln. Kadar hemoglobin Köln menurut berbagai kepustakaan berkisar 12-22%.² Pada pasien ini kadarnya hanya 4.3%. Keadaan ini bisa disebabkan karena pasien juga mengalami defisiensi besi sehingga terjadi penurunan sintesis rantai globin □ dengan akibat kadar hemoglobin Köln yang terukur rendah palsu.

Tabel 3. Zona elektroforesis kapiler MINICAP SEBIA¹⁶

Zona	Hemoglobin
Z 1	Hb δA'2, Hb uA2, varian Hb A2 “Hasharon” ,varian Hb A2“Winnipeg”, Hb A2 “Q-India” ,varian Hb A2”Q-Thailand” , varian Hb A2 lain
Z 2	Hb C, Hb Constant Spring,varian Hb A2 ”Setif”
Z 3	Hb A2, Hb O-Arab
Z 4	Hb E, Hb Koln, varian Hb A2 “M-Iwate” ,varian Hb A2, denaturasi Hb C
Z 5	Hb S, Hb Hasharon, Hb Handsworth, denaturasi Hb-O-Arab
Z 6	Hb-D-Punjab (D-Los Angeles), Hb Stanleyville II, Hb Osu Christianborg, Hb D-Ouled Rabah, Hb Lepore (Lepore-BW), Hb G-Philadelphia, Hb Q-India, Hb Q-Iran, Hb Korle-Bu (G-accra), Hb Koln, Hb G-Taipei, Hb Winnipeg, Hb D-Iran, Hb setif, Hb P-Nilotic, varian Hb A2 “J-Toronto” , varian Hb A2 “J-Rovigo”, denaturasi Hb E
Z 7	Hb F, Hb Q-Thailand (G-Taichung), Hb Richmond, Hb G-San Jose, Hb Geldrop Santa Anna, Hb Porto-Alegre,Hb Presbyterian, denaturasi Hb S
Z 8	<i>Acetylated</i> Hb F, Hb Atlanta, Hb Athens-GA (Waco)
Z 9	Hb A, Hb Phnom Penh, Hb Toulon, Hb Okayama, Hb Fontaiebleau, Hb Raleigh, Hb Hekinan, Hb Mosella, Hb Dallas, Hb Aztec, Hb Little Rock, Hb Frankfurt, Hb Camperdown
Z 10	Hb Hope, Hb M-Iwate
Z 11	Denaturasi Hb A, Hb Kaohsiung (New York), Hb Himeji
Z 12	Hb Bart’s, Hb J-Providence, Hb J-Brouissais, Hb J-Toronto, Hb Ube-2, Hb J-Meinung (J-Bangkok), Hb J-Mexico, Hb J-Baltimore
Z 13	Hb j-Rovigo, Hb N-Baltimore
Z 15	Hb H

Pasien disarankan untuk pemeriksaan bilirubin total, indirek dan LDH untuk memastikan adanya hemolisis sesuai dengan patofisiologi hemoglobin *unstable*. Pemeriksaan urin secara spesifik untuk menemukan urin warna hitam akibat dipirol serta mencari adanya

hemoglobinuria/urobilinogenuria akibat hemolisis pada pasien. Pada pasien ini didapatkan hemoglobin Köln dengan defisiensi besi yang mengakibatkan produksi rantai globin α berkurang, sehingga kadar Hb Köln lebih rendah dari sebenarnya. Pemeriksaan ulang analisis hemoglobin pada pasien ini dilakukan setelah defisiensi besi teratasi. Analisis DNA dilakukan untuk uji konfirmasi dengan mengetahui letak mutasi pada rantai globin beta, berupa substitusi valin dengan metionin pada posisi kodon 98 rantai globin beta.

KESIMPULAN

Telah dikemukakan seorang pasien anak berusia 3 tahun dengan diagnosis anemia. Dari hasil pemeriksaan laboratorium didapatkan anemia, *bite cell*, dan fraksi Hemoglobin Köln pada analisis hemoglobin yang mendukung adanya Hemoglobin Köln. Ditemukan penurunan besi serum, peningkatan TIBC, penurunan saturasi transferin, Ret-He dan anemia mikrositik hipokrom dengan sel pensil mengarah adanya diagnosis defisiensi besi. Dengan demikian disimpulkan adanya Hemoglobin Köln dengan defisiensi besi pada pasien.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pscheidt S, et al. Köln's hemoglobin *unstable*: case report and literature review. *Jornal brasileiro de Patologia e Medicine Laboratorial*.2003;39(1):37-40.
2. Lukens JN. Hemoglobin *unstable* disease. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, editors. *Wintrobe's clinical hematology*. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p. 1313-18.
3. Babior BM, Stossel TP. Hemolytic anemias: extravascular destruction of red cells. *Hematology: a pathophysiological approach*. 1st ed. New York:Churchill livingstone, 1984. p. 97-113.
4. McKenzie SB. General aspects and classifications of hemolytic anemias. In: *Textbook of hematology*. 2nd ed. Baltimore:William & Wilkins, 1996.p. 213-43.
5. Miranda SRP, et al. Short communication:Hb Köln [α 2 β 98(FG5) val-met] identified by DNA analysis in a Brazilian family. *Brazilian journal of genetics*. 1997;20(40):745-8.
6. Bain BJ. Other significant haemoglobinopathies. In: *Haemoglobinopathy diagnosis*. 2nd ed. Massachusetts:Blackwell, 2006. p. 190-233.
7. Marengo-Rowe AJ. Structure-function relations of human hemoglobins.*Proc(Bayl Univ Med Cent)*. 2006;19:239-45.
8. Winterbourn CC, Carrell. Studies of hemoglobin denaturation dan Heinz body formation in the hemoglobin *unstable*. *The Journal of Clinical Investigation*. 1974;54:678-89.
9. Bird AR, Karabus CD, Hartley PS, Lehmann H. Haemoglobin Köln in Cape Town. *S Afr Med J*. 1987;72:154-6.
10. Lichtman MA, Beutler E, Seligsohn U, Kaushansky K, Kipps TO. Disorders of hemoglobin structure: sickle cell anemia and related abnormalities: overview. *Williams hematology*. 7th ed. 2007. <http://www.accessmedicine.com>.
11. Weatherall DJ. Haemoglobin and the inherited disorders of globin synthesis. In: Hoffbrand VA, Catovsky D, Tuddenham EGD, editors. *Postgraduate haematology*. 5th ed. Massachusetts:Blackwell, 2005. p. 85-103.
12. Gottschalk A, Silverberg M. An unexpected finding with pulse oximetry in a patient with hemoglobin Köln. *Anesthesiology*.1994;80(2):474-6.

13. Wild BJ, Bain BJ. Investigation of abnormal haemoglobins and thalassaemia. In: Lewis SM, Bain BJ, Bates I, editors. *Dacics and Lewis Practical hematology*. 9th ed. London: Churchill Livingstone, 2001. p. 231-68.
14. Safko R. Anemia of abnormal globin development-hemoglobinopathies. In: Stiene-Martin EA, Lotspeich-Steininger CA, Koepke JA, editors. *Clinical hematology: principles, procedures, correlations*. Philadelphia: Lippincott, 1998. p. 192-204.
15. Canals C. Clinical utility of the new Sysmex XE-2100i parameter – reticulocyte hemoglobin equivalent – in the diagnosis of anemia. *Hematology* 2005; 90: 1133-4.
16. Wirawan R. Uji ketelitian, ketepatan dan nilai rujukan parameter retikulosit orang Indonesia dewasa di Jakarta menggunakan alat hitung sel darah otomatis Sysmex XT-2000i. Jakarta: Balai penerbit FKUI, 2006. p. 1-63.
17. Insert kit Sebia MINICAP HEMOGLOBIN (E) Ref.2207;2008.
18. Lukens JN. Hereditary disorders of hemoglobin structure and synthesis. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, editors. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 1246-1262.