

Efek Berbagai Dosis Radiasi Terhadap Fragilitas Eritrosit dan Kadar Kalium pada Produk Sel Darah Merah Pekat

David H Sidabutar¹, Vivi Setiawaty², Yuyun SM Soedarmono³, Agus Kosasih⁴

¹Unit Darah Daerah Palang Merah Indonesia (UDD PMI) Kota Tangerang

²Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan, Jakarta

³Unit Transfusi Darah Pusat PMI Jakarta

⁴Laboratorium Patologi Klinik RS Kanker Dharmais, Jakarta

Email: vivisetiawaty@hotmail.com

Abstract

One of the delayed transfusion reactions that are fatal is TA GVHD (Transfusion Associated Graft Versus Host Disease). TA incidence of GVHD in immunocompromised patients is estimated at 0.1 to 1.0% with a mortality rate of approximately 80-90%.⁷ Efforts irradiation of cellular blood components is currently the most efficient way and a reliable way to prevent TA-GVHD. This study aims to determine the effect of various doses of irradiation effects on red blood cells during storage. This study used a descriptive analytic design at 54 red blood cell preparations that meet the inclusion and exclusion criteria. The preparation of red blood cells were divided into 4 groups, ie the group that received 2500,3000,5000 cGy dose and control. OFT testing and potassium levels on the first day, the third and fifth storage. An increase in potassium levels was statistically significant from the first day after irradiation at all doses. There were no significant differences in red blood cell membrane resistance to all doses of irradiation during storage until the fifth day. Irradiation at doses of 2500-5000 cGy can cause increased potassium level and does not cause changes fragility of red blood cells stored for 5 days after irradiation. The need for further research on the quality of the preparation of red blood cells during storage after irradiation as seen levels of hemolysis (hemolysis rate).

Keyword : *Blood transfusion, Irradiated, OFT and potassium*

Abstrak

Salah satu reaksi transfusi lambat yang bersifat fatal adalah TA GVHD (*Transfusion Associated Graft Versus Host Disease*). Kejadian TA GVHD pada pasien *immunocompromised* diperkirakan sebesar 0,1- 1,0% dengan angka kematian sekitar 80- 90%.⁷ Upaya radiasi komponen darah seluler saat ini merupakan cara yang paling efisien dan dapat diandalkan untuk mencegah TA-GVHD. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh efek berbagai dosis radiasi terhadap sel darah merah selama penyimpanan. Penelitian ini menggunakan desain deskriptif analitik pada 54 sediaan sel darah merah yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Sediaan sel darah merah dibagi menjadi 4 grup, yaitu grup yang mendapat dosis 2500,3000,5000 cGy dan kontrol. Dilakukan pengujian OFT dan kadar kalium pada hari pertama, ketiga dan kelima penyimpanan. Terjadi peningkatan kadar kalium yang bermakna secara statistik mulai dari hari pertama setelah dilakukan radiasi pada semua dosis. Tidak ditemukan perbedaan bermakna ketahanan membran sel darah merah terhadap semua dosis radiasi selama penyimpanan sampai hari kelima. Radiasi pada dosis 2500-5000 cGy dapat menyebabkan peningkatan kadar kalium dan tidak menyebabkan perubahan fragilitas sel darah merah yang disimpan selama 5 hari setelah radiasi. Perlunya penelitian lebih lanjut mengenai mutu sediaan sel darah merah selama penyimpanan setelah dilakukan radiasi seperti melihat tingkat hemolisis (hemolisis rate).

Kata kunci: *Transfusi darah, Radiasi, OFT, Kalium*

Pendahuluan

Transfusi darah merupakan prosedur medis umum yang biasanya berjalan tanpa komplikasi, namun pada beberapa kasus mengandung risiko. Salah satu reaksi transfusi lambat yang bersifat fatal adalah *Transfusion Associated Graft Versus Host Disease* (TA GVHD). Pada TA GVHD, sel darah putih (limfosit T) donor berproliferasi dan menyerang sel-sel dalam tubuh resipien. Sebagai target kerusakan jaringan organ biasanya adalah kulit, *thymus*, saluran pencernaan, hati, limpa dan sumsum tulang.¹ Reaksi transfusi fatal ini biasanya mengenai orang-orang dengan sistem kekebalan tubuh yang sangat lemah (*immuno-compromised*), seperti yang sedang dirawat karena leukemia atau limfoma. Tanda dan gejala termasuk demam, ruam, diare, dan hasil tes fungsi hati yang abnormal.²

Kejadian TA GVHD pada pasien *immunocompromised* diperkirakan sebesar 0,1- 1,0% dengan angka kematian sekitar 80-90%.³ Upaya radiasi komponen darah seluler saat ini merupakan cara yang paling efisien dan dapat diandalkan untuk mencegah TA-GVHD.¹ Radiasi produk seluler darah biasanya menggunakan sinar gamma, yang merupakan energi dari radiasi elektromagnetik yang diproduksi oleh radioaktivitas atau proses nuklir atau sub atomik.¹ Radiasi darah ini bertujuan tidak mengaktifkan sel limfosit T sehingga tidak akan berproliferasi dalam tubuh resipien.⁴ Radiasi ionisasi akan masuk ke dalam sel nukleus dan merusak rantai DNA baik secara langsung atau dengan menyebarkan ion dan radikal bebas yang mempunyai efek biologi. Kerusakan DNA sel limfosit T inilah yang akan mencegah proliferasi sel T limfosit yang berperan untuk terjadinya TAGVHD.⁵ Oleh karena itu, semua darah dan komponen darah (sel darah merah, platelet, granulosit) yang dipisahkan dengan jalan sentrifugasi ataupun

aferesis, yang kemungkinan mengandung sel T limfosit harus diradiasi.⁴

Standar *American Association of Blood Bank* (AABB) merekomendasikan dosis 2500 cGy bila radiasi dilakukan di tengah lapangan radiasi dan dosis minimum radiasi 1500 cGy bila dilakukan di beberapa bagian dari lapangan radiasi.⁴ Meskipun radiasi sinar gamma saat ini merupakan pilihan, namun radiasi menyebabkan kerusakan pada membran sel darah merah, meningkatkan permeabilitas membran dan menyebabkan kebocoran kalium dari sel darah merah. Peningkatan kadar kalium pasca-radiasi pernah dilaporkan meningkat sampai ke tingkat klinis secara signifikan.^{6,7} Kenaikan konsentrasi kalium plasma darah radiasi setelah radiasi 1500 cGy, 2000 cGy dan 4000 cGy ini meningkatkan kebocoran natrium dan kalium dari sel darah merah.^{8,9} Pada akhirnya, peningkatan pecahnya sel darah merah mencerminkan kenaikan jumlah kalium dalam konsentrasi plasma dan dapat di tunjukkan dengan pemeriksaan fragilitas dari sel darah merah tersebut.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efek dari radiasi sinar gamma pada produk sel darah merah konsentrat melalui penilaian fragilitas sel darah merah dan kebocoran kalium, sebelum dan sesudah radiasi darah dilakukan dengan berbagai dosis.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif-analitik menggunakan sediaan sel darah merah yang diradiasi 2500, 3000, 5000 cGy dan grup kontrol. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik dan Unit Radioterapi RS Kanker Dharmais. Penelitian ini dilakukan tanggal 28 Mei hingga 10 September 2013. Bahan penelitian adalah produk komponen darah sel darah merah pekat (*Packed Red Cell* = PRC) yang ada di Bank Darah Rumah

Sakit Kanker Dharmais (RSKD), hasil pengiriman dari Unit Transfusi Darah (UTD) PMI DKI-Jakarta yang hasil uji saring IMLTD terhadap HIV, hepatitis C, hepatitis B dan sifilis non reaktif dan umur simpannya 1 hari. Besar sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus rerata dua populasi independen dan diperoleh jumlah sampel masing-masing kelompok 12 sampel dan grup kontrol untuk masing-masing kelompok 6 sampel, total 54 sampel.

Waktu penyinaran telah dihitung berdasarkan *thermoluminescence dosimeter* (TLD) yang telah ditentukan oleh produsen alat. Dosis radiasi akan menentukan waktu (lamanya) penyinaran. Penyinaran pada kelompok dengan radiasi 2500, 3000 dan 5000 cGy dilakukan (berturut-turut) selama 760, 912 dan 1520 detik. Pemeriksaan *Osmotic Fragility Test* (OFT) dan kadar kalium dengan alat *Easylite* dilakukan pada hari

pertama, ketiga dan kelima penyimpanan, baik yang diradiasi maupun yang tidak diradiasi. Pemeriksaan dilakukan secara duplo. Pemeriksaan OFT dilakukan untuk uji ketahanan membran sel darah merah terhadap berbagai konsentrasi larutan NaCl.

Hasil

Pada pemeriksaan kadar kalium pada sediaan darah merah pekat (PRC) tanpa dan sesudah radiasi (tabel 1). Pemeriksaan dilakukan pada hari pertama, ketiga dan kelima. Pada pemeriksaan didapatkan kadar kalium meningkat seiring dengan lamanya penyimpanan pada kedua grup. Kadar kalium pada grup radiasi lebih tinggi dibandingkan dengan grup tanpa radiasi. Perbedaan kadar kalium sebelum dan sesudah radiasi berbeda bermakna secara statistik sejak dilakukan radiasi dan selama penyimpanan.

Tabel 1. Perbedaan Kadar Kalium Pra dan Post Radiasi dengan Berbagai Dosis Radiasi

		Pra Radiasi	Post Radiasi	Nilai p
Dosis 2500 cGy	Hari 1	11,64 ±2	14,08±2,15	0,04
	Hari 3	21,04±4,73	45,52±4,46	0,02
	Hari 5	26,83±3,46	55,91±7,83	0,02
Dosis 3000 cGy	Hari 1	5,22±0,37	9,62±1,55	0,04
	Hari 3	13,77±1,67	36,84±5,06	0,02
	Hari 5	28,12±4,51	55,57±8,33	0,02
Dosis 5000 cGy	Hari 1	14,61±8,31	18,26±9,51	0,04
	Hari 3	25,48±5,29	58,51±8,11	0,02
	Hari 5	30,38±5,65	64,77±6,99	0,02

Tabel 2. Perbedaan Nilai OFT Pra dan Post Radiasi dengan Berbagai Dosis Radiasi

		Pra Radiasi	Post Radiasi	Nilai p
Dosis 2500 cGy	Hari 1	6	6	0,5
	Hari 3	5.78±0,43	5,39±0,5	0,01
	Hari 5	5.22±0,43	4,94±0,64	0,03
Dosis 3000 cGy	Hari 1	5.83±0,38	5,89±0,32	0,3
	Hari 3	6.06±0,24	6,06±0,42	0,5
	Hari 5	5.94±0,24	5,94±0,24	0,5
Dosis 5000 cGy	Hari 1	5.94±0,24	5,94±0,24	0,5
	Hari 3	5.94±0,24	5,94±0,24	0,5
	Hari 5	5.94±0,24	5,94±0,24	0,5

Pada uji ketahanan sel darah merah pada sediaan darah merah pekat (PRC) tanpa dan sesudah radiasi (Tabel 2). Pemeriksaan dilakukan pada hari pertama, ketiga dan kelima. Pada pemeriksaan hari ketiga dan kelima didapatkan ketahanan sel darah merah pada grup yang dilakukan radiasi dengan dosis 2500 cGy lebih mudah lisis dibandingkan dengan grup tanpa radiasi. Pada grup dengan dosis 3000 dan 5000 cGy tidak didapatkan perbedaan bermakna secara statistik ketahanan sel darah merah selama penyimpanan.

Pembahasan

Sel darah merah bersirkulasi dalam tubuh selama 120 hari dan berubah-ubah bentuk dari bikonkav menjadi bentuk batang. Perubahan bentuk ini membuat sel darah merah dapat melalui kapiler yang sangat kecil. Kerusakan struktur sel darah merah dipengaruhi oleh temperatur, tekanan osmotik, faktor imunologi, faktor biologi, ion K, Mg dan Ca, perubahan komposisi dan struktur membran dan usia sel darah merah tersebut.¹⁰

Pada penelitian ini didapatkan peningkatan kadar K dalam plasma

sediaan PRC pada grup radiasi sejak hari pertama pada semua dosis radiasi. Peningkatan kadar K ini terus berlanjut sampai hari kelima penyimpanan PRC pada blood bank 4±2°C. Peningkatan kadar K ini mengindikasikan kerusakan membran PRC yang terjadi segera setelah dilakukan radiasi. Radiasi mengakibatkan transport aktif K masuk kembali ke dalam sel darah merah terganggu. Kerusakan transport aktif ini bersifat reversibel.⁶

Pada sediaan PRC dengan berbagai dosis radiasi (0-55 Gy), diperoleh peningkatan kadar K sejak hari pertama dilakukan radiasi. Peningkatan kadar K ini sesuai dengan peningkatan dosis radiasi dan lama penyimpanan PRC. Peningkatan kadar K pada penelitian tersebut kurang dari 21 mmol/L setelah penyimpanan 21 hari. Standard Palang Merah RRC kadar K yang diperbolehkan pada sediaan darah lengkap adalah kurang dari 20 mmol/L.^{10,11} AABB maupun Eropa tidak menentukan batas kadar K yang diperbolehkan pada sediaan darah selama penyimpanan. Pada penelitian ini, didapatkan peningkatan kadar K lebih dari 20 mmol/L pada penyimpanan hari ke 3.

Pada penelitian efek terhadap membran pada sel darah merah yang dilakukan radiasi pada dosis 2-200 Gy, disimpulkan bahwa grup sulfidril merupakan target utama yang menyebabkan permeabilitas ion Na-K terganggu. Yonei dan Kato dengan menggunakan fluoresent menemukan radiasi sinar X menyebabkan perubahan yang signifikan terhadap struktur membran sel darah merah.⁶ Peningkatan kadar K 40-57 mmol/L pada penyimpanan hari ke 42 setelah radiasi 35 Gy, sedangkan peningkatan pada hari ke 14 berkisar 17-37 mmol/L. Davey dkk melaporkan peningkatan kadar K 43-78 mEq/L pada penyimpanan 42 hari setelah radiasi 30 Gy, dan dianjurkan agar penyimpanan tidak diperbolehkan sampai 42 hari.¹²

Dari beberapa PRC yang di radiasi 30 Gy kemudian disimpan selama 14 hari ditemukan kadar K 68 dan 31 mmol/L, sehingga tidak dianjurkan darah radiasi disimpan kembali.⁶ Untuk mengurangi kadar K dalam plasma dapat dilakukan "pencucian". Tetapi pencucian tidak perlu dilakukan secara rutin. Hanya dilakukan pada kasus-kasus tertentu, seperti pada pasien dengan gagal ginjal dan transfusi tukar pada bayi.¹³

Pada penelitian ini, dosis 25 Gy, pada hari ke 3 dan 5 didapatkan perbedaan OFT yang bermakna dibandingkan dengan grup kontrol. Sedangkan pada dosis 35 dan 50 Gy tidak didapatkan perbedaan OFT dengan grup kontrol sampai penyimpanan hari ke 5. Pada penelitian dengan gamma radiasi dengan dosis 160-500 Gy, tidak didapatkan hemolisis pada larutan salin isotonik maupun hipertonik. Tetapi didapatkan pelepasan ion K. Peneliti menyimpulkan radiasi membuat efek terhadap barrier Na dan K karena kerusakan pada membran grup sulfidril sehingga membuat pergerakan keluar dari membran sel.⁶ Pada penelitian ini rata-rata hemolisis terjadi pada konsentrasi

larutan salin 0,54%. Hal ini menunjukkan sediaan sel darah merah masih memiliki ketahanan terhadap larutan hipotonik dan masih memiliki kualitas yang baik.

Kesimpulan

Radiasi pada dosis 2500-5000 cGy dapat menyebabkan peningkatan kadar kalium dan tidak menyebabkan perubahan fragilitas sel darah merah yang disimpan selama 5 hari setelah radiasi. Pada pasien yang tidak dapat menerima sediaan PRC dengan kadar Kalium yang tinggi, dapat dilakukan pencucian untuk mengurangi kadar Kalium dalam sediaan PRC).

Saran

Perlu dilakukan penelitian sampai kepada dampak klinis terhadap pemakaian darah post- radiasi dan mutu sediaan sel darah merah selama penyimpanan setelah dilakukan radiasi seperti melihat tingkat hemolisis (*hemolisis rate*).

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktur RS. Kanker Dharmais, Kepala bagian penelitian dan pengembangan RS. Kanker Dharmais, dr. Liliana, dr. Christine dan staf instalasi Patologi Klinik, Kepala Bagian Radioterapi dan staf, Kepala Instalasi Bank Darah dan staf RS. Kanker Dharmais yang telah banyak membantu memudahkan penulis melakukan penelitian menggunakan fasilitas yang ada di RS. Kanker Dharmais.

Daftar Rujukan

1. Maung ZT, Wood AC, Jacson GH. Transfusion-associated graft-versus-host disease in fludarabine-treated B-chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2010; 88:649.
2. Popovsky MA. Transfusion reactions. 2nd ed. Bethesda: American Association of BloodBanks; 2001.

3. Linden JV, Pisciotto PT. Transfusion-associated graft-versus-host disease and blood irradiation. *Transfus Med Rev* 2012;6:116.
4. Deo A. Transfusion associated graft versus host disease. Learn about blood and blood disease. Diunduh tanggal 12 Juli 2012. Tersedia pada <http://www.allaboutblood.com>.
5. Grillner S: The motor infrastructure: from ion channels to neuronal networks. *Nat Rev Neurosci* 4:573,2003.
6. Anderson KC et al. Variation in blood component irradiation practice implications for prevention transfusion associated graft versus host disease *bloodjournal.hematology*;1997:2096 – 2172.
7. Kumar H, Gupta PK, Mishra DK, Sarkar RS, Jaiprakash M. Leucodepletion and blood products. *Med J Armed Forces India*;2006;62:174-77.
8. Garry M, Luban NLC. The Irradiation of blood and blood components to prevent graft versus host disease. Technical issue and guidelines. *Transfusion medicine review*, vol 11 no 1;1997:15-26.
9. Treleaven J, Gennery A, Marsh J, Norfolk D, Page L, et al. Guidelines on the use of irradiated blood components prepared by the British Committee for Standards in Haematology blood transfusion task force. *British Journal of Hematology*. 2011;152(1):35-51.
10. Anderson KC. Clinical indication for blood component irradiation, in Baldwin ML,Jeffferies LC (eds): *Irradiation of Blood Components*, Bethesda, MD, American Association of Blood Banks.1992:31-49.
11. Agarwal P, Ray VL, Choudhury N, Chaudhary RK. Effect of pre-storage gamma irradiation on red blood cell. *Indian J. Med Res*.2005.122:385-387.
12. Hirayama J, Abe H, Azuma H, Ikeda H. Leakage of potassium from red blood cells following gamma ray irradiation in the presence of dipyridamole, trolox, human plasma or mannitol. *Biol.Pharm.Bull*.2005;1318-20.
13. Adams F, Bellairs G, Bird AR, Oguntibeju OO. Biochemical Storage Lesions Occurring in Nonirradiated and Irradiated Red Blood Cells: A Brief Review. *BioMed Research International*. 2015;1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/968302>.