

PEMERIKSAAN ANTI-RO/ SJÖGREN'S- SYNDROME- RELATED ANTIGEN A ANTIBODI DALAM PENYAKIT AUTOIMUN

Penyusun:
I Edward Kurnia Setiawan L

Editor:
Arif Rahmat
Imran Pashar



FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS
DIPONEGORO TAHUN 2020

**Pemeriksaan Anti-Ro / *Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A*
Antibodi dalam Penyakit Autoimun**

Penyusun:

I Edward Kurnia Setiawan L

Editor:

Arif Rahmat

Imran Pashar

*Pemeriksaan Anti-Ro/Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A
Antibodi dalam Penyakit Autoimun*

PENYUSUN

I Edward Kurnia Setiawan L

EDITOR

Arif Rahmat

Imran Pashar

Pertama kali diterbitkan oleh:

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Cetakan I, 2020

ISBN 978-623-6528-31-0

PRAKATA

Assalamualaikum Wr. Wb.

Puji Syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan berkah dan karunia-Nya sehingga bisa menyelesaikan buku tentang Pemeriksaan Anti-Ro/Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A Antibodi dalam Penyakit Autoimun. Tujuan penyusunan bahan ajar ini adalah sebagai salah satu referensi bagi dosen atau tenaga pengajar, dokter dan praktisi pelayanan kesehatan untuk dapat mengetahui pemeriksaan mengenai antibody autoimun tersebut.

Kami mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan buku ini. Disadari bahwa buku ini masih banyak kekurangannya, sehingga kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan buku ini.

Waalaikumussalam Wr. Wb.

Semarang, November 2020

Tim Penyusun

DAFTAR ISI

Halaman Sampul	i
Prakata	iv
Daftar Isi	v
Daftar Gambar	vi
I Pendahuluan	1
II Antibodi Anti-Ro/ <i>Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A</i>	5
2.1 Definisi	5
2.2 Klasifikasi	6
2.3 Patogenesis	9
2.4 Praanalitik Pengumpulan Sampel Pemeriksaan	11
2.5 Pemeriksaan Laboratorium	14
2.6 Pemeriksaan Antibodi Anti-Ro/ <i>Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A</i> dalam Penyakit Autoimun	23
III PENUTUP	35
Daftar Pustaka.....	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ikatan RNA dan RO 60 Kda	8
Gambar 2. Cawan Carlson-Crittenden dan posisi.....	13
Gambar 3. Pengambilan sampel menggunakan mikropipet	14
Gambar 4. Skema metode ELISA sandwich	17
Gambar 5. Skema metode <i>Indirect immunofluorescent assay</i>	19
Gambar 6. Skema metode <i>Imunodifusi</i>	20
Gambar 7. Skema metode <i>Counterimmunoelectrophoresis</i>	21
Gambar 8. Skema metode Western Blot.....	23

I. PENDAHULUAN

Gangguan autoimun adalah kegagalan fungsi sistem kekebalan tubuh yang menyebabkan sistem imun menyerang jaringan yang berasal dari tubuh sendiri. Fungsi utama sistem imunitas adalah menjaga tubuh dari zat asing yang masuk ke dalam tubuh dengan cara melawan zat asing yang masuk. Zat asing tersebut termasuk bakteri, virus, parasit, sel kanker bahkan organ cangkok. Zat yang bisa merangsang respon imunitas disebut antigen. Antigen adalah molekul yang mungkin terdapat dalam sel atau di atas permukaan sel (seperti bakteri, virus, atau sel kanker). Pada kondisi normal dapat ditemukan beberapa antigen jaringan sendiri, namun sistem imunitas hanya akan bereaksi terhadap antigen dari bahan asing, tetapi bila terdapat suatu keadaan yang menyebabkan sistem imun kita rusak, maka sistem imun tersebut dapat menterjemahkan jaringan tubuh sendiri sebagai antigen asing dan menghasilkan antibodi (autoantibodi) sehingga sel imunitas menyerang jaringan tubuh sendiri.^{1,2} Respon ini disebut reaksi autoimun, hal tersebut akan menghasilkan radang dan kerusakan jaringan. Kondisi seperti ini tidak selalu terjadi pada setiap individu, beberapa orang menghasilkan jumlah autoantibodi yang begitu kecil sehingga gangguan autoimun tidak terjadi. Pada keadaan tertentu sistem kekebalan tidak mampu bereaksi terhadap

antigen yang umumnya berpotensi menimbulkan respon imun. Keadaan tersebut disebut toleransi kekebalan (immunological tolerance) dan terjadi melalui beberapa mekanisme, yaitu¹:

1. Delesi klonal, yaitu eliminasi klon (kelompok sel yang berasal dari satu sel) limfosit, terutama limfosit T dan sebagian kecil limfosit B, selama proses pematangan.
2. Anergi klon, yaitu ketidakmampuan klon limfosit menampilkan fungsinya
3. Supresi klon, yaitu pengendalian fungsi limfosit T *helper*.

Pada umumnya, sistem kekebalan dapat membedakan antara antigen diri sendiri (*self antigen*) dan antigen asing (*non self antigen*). Apabila sistem kekebalan gagal membedakan antara *self antigen* dan antigen asing (*non-self*), maka terjadi pembentukan limfosit T dan B yang autoreaktif dan terjadi reaksi terhadap *self antigen* (reaksi auto imun)^{1,2}. Penyakit autoimun terdiri dari dua golongan, yaitu :

- a. Khas organ (*organ specific*) dengan pembentukan antibodi yang khas organ; contoh : *Thiroiditis*, dengan auto-antibodi terhadap tiroid; *Diabetes Mellitus*, dengan auto-antibodi terhadap pankreas; *sclerosis multiple*, dengan auto-antibodi terhadap susunan saraf; penyakit radang usus, dengan auto-antibodi terhadap usus.

- b. Bukan khas organ (*non-organ specific*), dengan pembentukan auto antibodi yang tidak terbatas pada satu organ, contoh : *Systemic lupus erythematosus* (SLE), *arthritis rheumatika*, *vaskulitis sistemik* dan *scleroderma*, dengan auto-antibodi terhadap berbagai organ.

Penyakit autoimun memiliki gejala dan tanda yang sangat bervariasi, sehingga dibutuhkan pemeriksaan laboratorium untuk membantu menegakkan diagnosis penyakit autoimun. *Biomarker* dapat menggambarkan proses patologis penyakit autoimun, diantaranya berupa inflamasi maupun kerusakan jaringan. Setiap *biomarker* memiliki sensitivitas dan spesifisitas terbatas. Pemeriksaan laboratorium juga berperan untuk memprediksi faktor risiko penyakit, memantau aktivitas dan perkembangan penyakit, serta evaluasi pengobatan. Evaluasi laboratorium dan evaluasi klinis secara komprehensif berguna untuk diagnosis dan tata laksana pasien dengan dugaan penyakit autoimun.^{3,4}

Antibodi Anti-Ro / *Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A* (Anti-Ro / SSA) merupakan salah satu autoantibodi yang paling sering terdeteksi pada *screening* penyakit autoimun sistemik.⁵ Antibodi Anti-Ro/SSA sering ditemukan pada berbagai penyakit autoimun seperti Sindrom Sjögren (SS), *Lupus Eritematosus Sistemik* (LES), *Subacute cutaneous lupus erythematosus*

(SCLE), Lupus neonatus, Arthritis reumatoid (AR).⁴ Penyakit autoimun ditandai dengan antibodi dalam sirkulasi yang dapat menyerang protein tubuh. Antibodi ini dapat terdeteksi sebelum timbul manifestasi klinis penyakit. Penelitian kasus kontrol yang dilakukan oleh Theander dkk menunjukkan bahwa *Anti-nuclear antibodies* (ANA), *Rheumatoid factor* (RF) serta Antibodi Anti-Ro/SSA dapat terdeteksi sebelum manifestasi klinis SS muncul. Hasil ini sesuai dengan penelitian lain terhadap LES, AR, Diabetes mellitus (DM) tipe 1 dan Sirosis biliaris primer. Antibodi Anti-Ro/SSA merupakan salah satu antibodi yang paling awal terdeteksi pada beberapa penyakit autoimun.⁷

II. Anti-Ro / *Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A*

2.1 Definisi

Antigen nukleus yang dapat diekstraksi atau *extractable nuclear antigen* (ENA) terdiri dari Antigen Smith, *Ribonucleoprotein* (RNP) atau U1RNP, anti-Ro/SSA, dan anti-La/SSB. Antigen-antigen tersebut dapat diekstraksi dengan larutan penyangga atau *buffer* netral.⁸ Antibodi anti-Ro / SSA pada awalnya digambarkan sebagai antibodi spesifik yang mempercepat reaksi antigen yang terkandung dalam saliva dan ekstrak kelenjar lakrimal pasien yang terkena Sindrom Sjogren (SS), disebut SjD dan SjT. Pada tahun 1981 Lerner et al. menunjukkan hubungan antigen Ro dengan RNA kecil dan menyebut sistem antigen ini sebagai Ro ribonucleoproteins (Ro RNP). Antigen Ro dibentuk oleh dua protein Ro yang berbeda yaitu protein dengan ukuran 60 dan 52 kDa dan berikatan dengan RNA sitoplasma kecil yang dikenal sebagai hY-RNA. Sel-sel manusia mengandung empat hY-RNA bernama hY1, hY3, hY4 dan hY5 (hY2RNA ditunjukkan berasal dari hY1RNA).⁹

Antibodi anti-Ro / SSA memiliki korelasi dengan *Human leukocyte antigen* (HLA) DR3, DR15 dan / atau DR2. Suatu penelitian menunjukkan bahwa HLA DQ1 dan DQ2

juga dapat mencetuskan respons Antibodi anti-Ro / SSA pada orang Kaukasia dan kulit hitam. *Human leukocyte antigen class II* merupakan faktor predisposisi sekresi Antibodi anti-Ro / SSA, sehingga lebih rentan untuk terkena penyakit autoimun.^{10,11}

2.2 Klasifikasi Antibodi Anti-Ro / Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A

Antigen Ro 60 kDa/SSA dan 52 kDa adalah dua antigen yang berbeda, memiliki fungsi, dan dikodekan oleh gen yang berbeda, serta terletak di kompartemen seluler yang berbeda. Protein Ro 60 kDa berukuran kurang lebih 32 kb, dikodekan oleh gen yang terletak pada kromosom 19, dan memiliki domain spesifik pada RNA. Anti-Ro 60 kDa / SSA sering ditemukan pada penyakit autoimun, terutama SS, LES, Lupus neonatus serta kelainan jantung bawaan

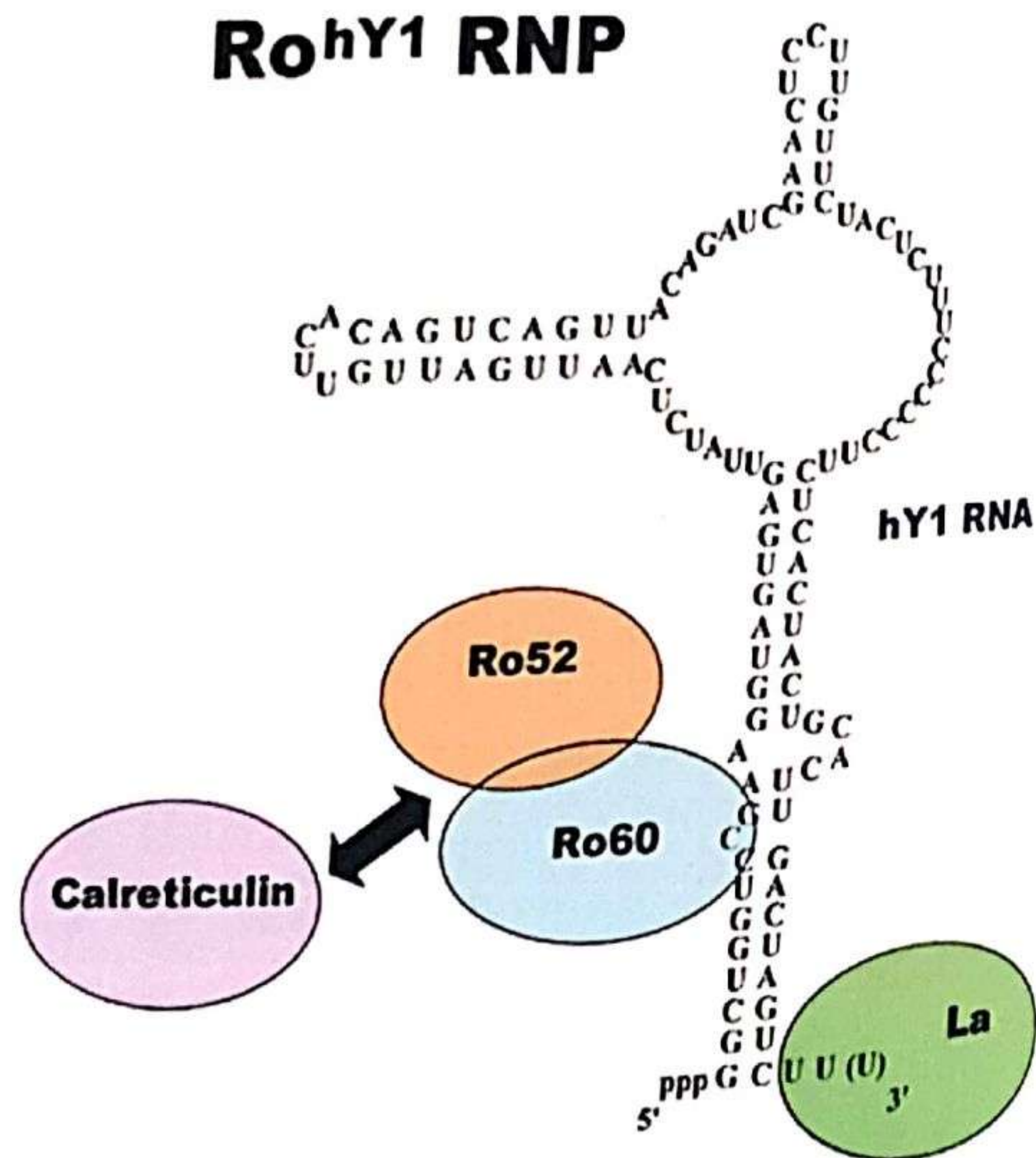
Gen Ro52 secara resmi disebut TRIM21, karena merupakan *anggota tripartite motif protein* (TRIM). Protein ini biasanya terletak di sitoplasma, meskipun dapat bergerak ke nukleus, dan juga dapat diekspresikan pada permukaan sel. Ro52 adalah protein pengatur respons inflamasi negatif, seperti sekresi sitokin proinflamasi dalam keluarga interleukin dan interferon (INF)³⁶. Ro52 dapat mengatur dan diinduksi oleh

sitokinin INF. Hilangnya fungsi penekanan antigen Ro52 dapat menyebabkan peradangan yang tidak terkontrol pada awal cedera atau penyakit. Pasien dengan SLE dan SS tidak hanya menunjukkan peningkatan kadar antibodi Anti-Ro, tetapi juga peningkatan kadar Ro52.³⁶ Ro52 memiliki satu epitop primer yang mengikat anti-Ro/SSA independen pada penyakit autoimun.

Protein Ro 52 kDa berukuran sekitar 8,8 kb dikodekan oleh gen yang terletak pada kromosom 11 dan tidak memiliki domain spesifik pada RNA, yaitu terletak pada *zinc finger* dan *leucine zipper*. Hubungan antigen Ro dengan RNA ini membentuk partikel *Ro ribonucleoprotein* (Ro RNP). Antigen Ro 52 kDa/SSA tidak secara langsung terikat dengan RNA, sehingga ikatan tersebut tidak stabil. Kedua antigen tersebut juga memiliki pola manifestasi klinis yang berbeda.¹⁰⁻¹²

Anti- Ro 52 kDa/SSA memiliki spektrum penyakit yang lebih luas karena dapat ditemui pada penyakit autoimun serta non-autoimun. Anti-Ro 52 kDa / SSA sering ditemukan pada SS, Sklerosis sistemik, Sirosis biliaris primer, miopati inflamasi idiopatik (polimiositis, dermatomiositis), dan Hepatitis autoimun, serta pada penyakit non-autoimun seperti infeksi (Hepatitis C), dan penyakit keganasan.¹³⁻¹⁵ Penelitian Hervier dkk menunjukkan bahwa Anti- Ro 52 kDa / SSA tidak

memiliki nilai diagnostik untuk LES.¹⁵ Prevalensi penyakit autoimun lebih tinggi secara signifikan pada pasien dengan Anti-Ro 60 kDa / SSA positif dibandingkan pasien dengan Anti-Ro 52 kDa / SSA positif. Penyakit autoimun dengan Anti-Ro 60 kDa/SSA independen terhadap Anti-Ro 52 kDa/SSA.¹²



Gambar1. Ikatan RNA dan RO 60 Kda
Diambil dari: Routsias, *et al.* (2007) ¹³

2.3 Patogenesis Antibodi Anti-Ro / Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A

Related Antigen A

Beberapa peneliti menduga bahwa antigen-Ro / SSA dapat dideteksi pada membran sel sebagai akibat infeksi virus, peningkatan konsentrasi estradiol atau apoptosis. Hubungan antara Antibodi anti-Ro / SSA dengan berbagai manifestasi klinis yang beragam menunjukkan bahwa autoantibodi ini mungkin terlibat langsung dalam kerusakan jaringan pada penyakit autoimun maupun non-autoimun. Radiasi ultraviolet (UV) dapat menginduksi sintesis *de novo* dari antigen-Ro/SSA di sitoplasma dan nukleus keratinosit. Radiasi UV meningkatkan ekspresi antigen permukaan sel serta meningkatkan kemungkinan cedera keratinosit oleh Antibodi anti-Ro/SSA.^{10,17}

Gangguan konduksi jantung neonatus berhubungan dengan ekspresi antigen Ro pada janin sejak usia minggu ke-18 sampai minggu ke-24, terutama pada miosit jantung. Beberapa pasien dewasa dengan penyakit jaringan ikat autoimun yang memiliki Antibodi anti-Ro / SSA dapat mengalami gangguan repolarisasi jantung. Interval QT rata-rata memanjang secara signifikan dibandingkan dengan individu yang tidak memiliki Antibodi anti-Ro/SSA. Pemanjangan interval QT mungkin disebabkan oleh

penghambatan arus listrik jantung akibat Antibodi anti-Ro/SSA. Aritmia ventrikel lebih sering dijumpai pada pasien yang memiliki Antibodi anti-Ro/SSA.^{11,18}

Pada Sindrom Sjogren didapatkan peningkatan *B cell Activating Factor* (BAFF), yang merangsang pematangan sel B. Kadar plasma BAFF pada pasien Sindrom Sjogren berkorelasi dengan autoantibodi disirkulasi dan pada jangka panjang mungkin berperan pada terjadinya limfoma. Fenotip limfosit T yang mendominasi adalah sel T CD 4 +. Sel-sel ini memproduksi berbagai interleukin antara lain IL-2, IL-4, IL-6, IL-1 A dan TNF alfa sitokin-sitokin ini merubah sel epitel dan mempresentasikan protein, merangsang apoptosis sel epitel kelenjer. Sel B selain mengfiltrasi pada kelenjar, sel ini juga memproduksi imunoglobulin dan autoantibody.¹⁹

Pada sebagian sindrom sjogren terjadi peningkatan imunoglobulin dan autoantibodi, dimana autoantibodi ada yang spesifik seperti anti Ro (SS-A) dan anti LA (SS-B) yang perannya dalam sindrom sjogren masih belum jelas, dan autoantibodi non-spesifik seperti faktor reumatik dan ANA (anti nuklear antibodies). Adanya antibodi Ro dan anti La ini dihubungkan dengan gejala awal penyakit, lama penyakit, pembesaran kelenjer parotis yang berulang, splenomegali

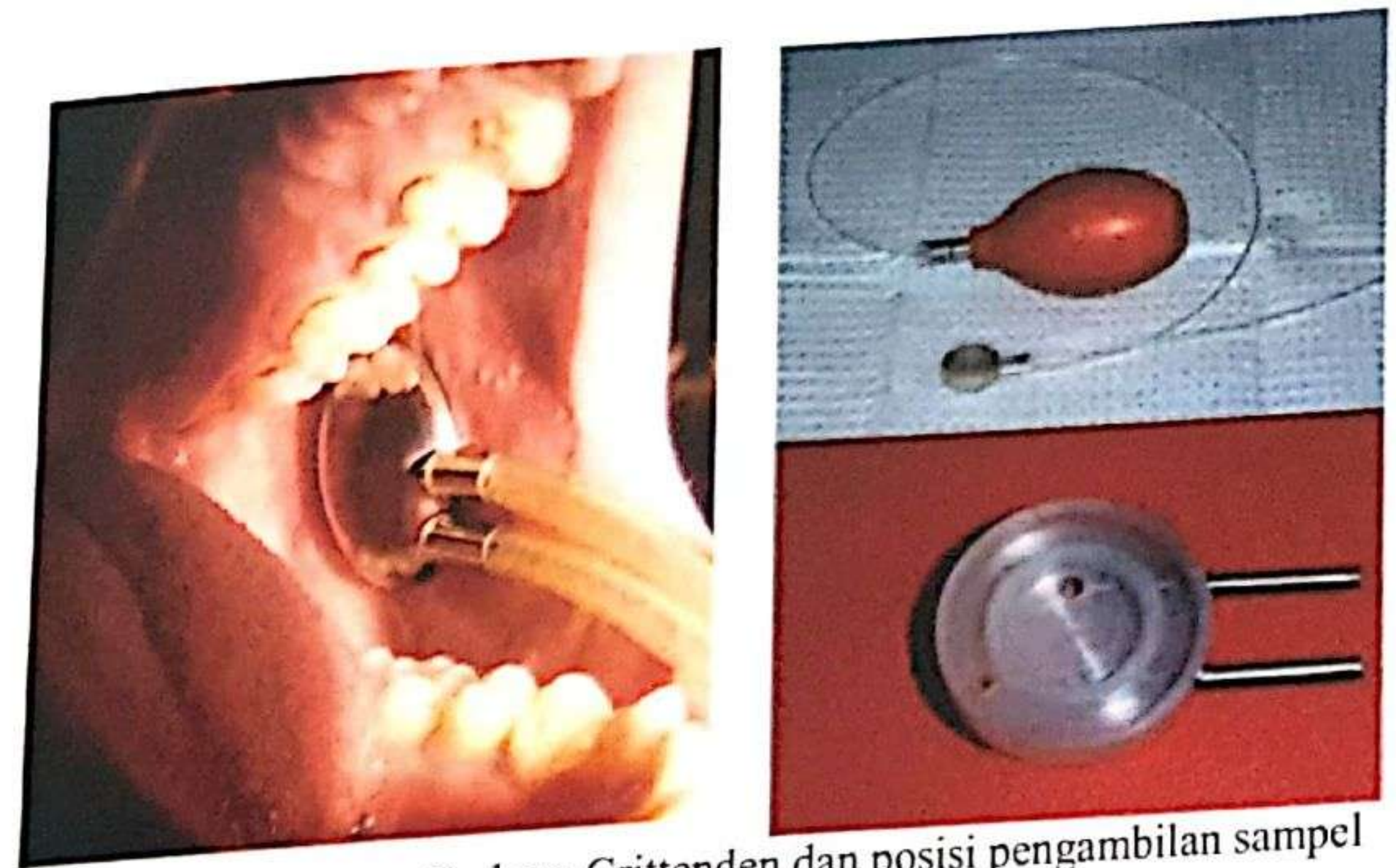
limfadenopati dan anti La sering dihubungkan dengan infiltrasi limfosit pada kelenjer eksokrin minor.¹⁹

2.4 Praanalitik Pengumpulan Sampel Pemeriksaan

Sampel pemeriksaan dapat berupa plasma maupun serum. Pengumpulan sampel menggunakan tabung antikoagulan *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) maupun tabung *plain*. Volume sampel darah yang dibutuhkan adalah 0,5 mL, dengan jumlah minimal 0,35 mL. Pemilihan jenis sampel disesuaikan dengan reagen yang dipakai pada pemeriksaan. Sampel kemudian didiamkan pada suhu ruang sampai membentuk bekuan (bila menggunakan serum), lalu disentrifugasi. Serum atau plasma segera dipisahkan dan sampel sebaiknya segera diperiksa. Sampel dapat disimpan pada suhu -20°C bila tidak dapat segera diperiksa dalam waktu 24 jam. Sampel yang disimpan pada suhu -20°C dapat bertahan sampai 21 hari. Pembekuan dan pencairan sampel secara berulang sebaiknya dihindari. Sampel hemolisis, ikterik dan lipemik sebaiknya dihindari karena dapat mengganggu keakuratan pemeriksaan.⁹

Pemeriksaan Antibodi anti-Ro / SSA dapat menggunakan saliva maupun air mata, karena kelenjer eksokrin merupakan salah satu organ target pada beberapa

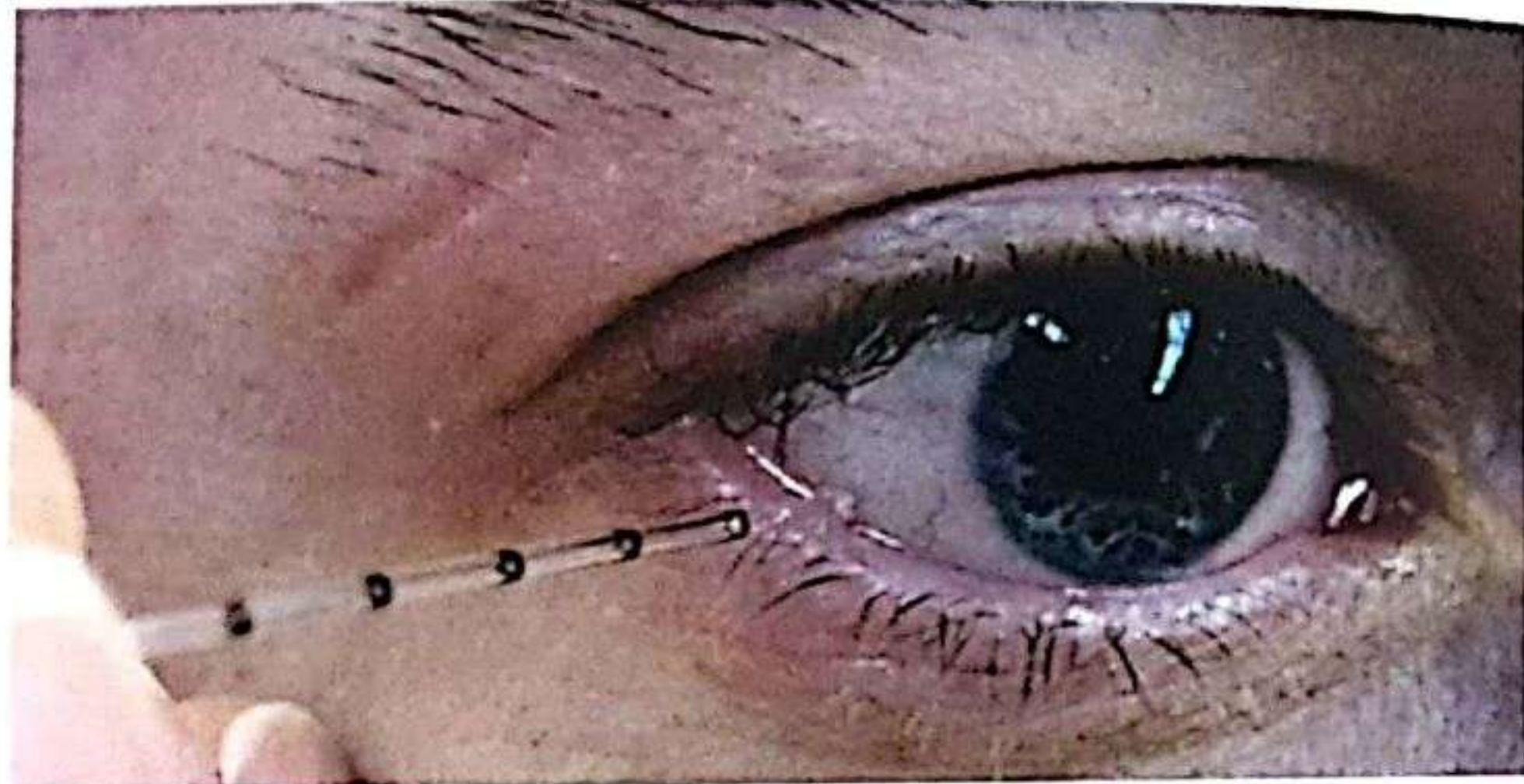
penyakit autoimun. Saliva dikumpulkan menggunakan Cawan Carlson-Crittenden yang diletakkan di atas membran bukal selama minimal 15 menit. Pasien tidak boleh makan dan minum selama 2 jam, berkumur selama 15 menit dan istirahat selama lima menit sebelum pengambilan sampel. Sampel kemudian disentrifugasi pada 2600 g selama 15 menit. Supernatan dipisahkan dan sampel disimpan pada suhu -80°C bila pemeriksaan tidak dapat segera dilakukan. Saliva merupakan sampel yang berguna dalam mendiagnosis SS, karena target utama SS adalah kelenjar eksokrin. Sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan Antibodi anti-Ro / SSA dengan sampel saliva tidak setinggi serum untuk penegakkan diagnosis SS. Penelitian Horsfall dkk membuktikan pada sampel saliva, sub tipe immunoglobulin (Ig) yang dominan adalah Ig A anti-Ro/SSA, disusul oleh Ig G dan Ig M.¹⁸



Gambar 2. Cawan Carlson-Crittenden dan posisi pengambilan sampel
Diambil dari: Mahvash *et al* (2008)²⁰

Pemeriksaan Antibodi anti-Ro / SSA dengan sampel air mata diambil dari *cul de sac* bawah menggunakan mikropipet dengan ujung yang tumpul. Sampel dibekukan bila pemeriksaan tidak dapat segera dilakukan. Penelitian Domingo dkk menunjukkan adanya peningkatan kadar Ig G air mata pasien AR dengan SS sekunder, selain itu kadar Ig G berbanding lurus dengan dengan kekeringan mata. Antibodi anti-Ro / SSA pada air mata dapat terjadi akibat ekstrasvasi protein dari pembuluh darah ke jaringan kelenjar lakrimal yang mengalami inflamasi, dapat juga mencerminkan sintesis lokal sel penghasil Antibodi anti-Ro/SSA pada kelenjar lakrimal. Pemeriksaan Antibodi anti-Ro/SSA dengan sampel air mata

dapat menjadi alternatif pemeriksaan pada pasien SS dengan manifestasi klinis yang jelas, namun memberikan hasil negatif pada pemeriksaan Antibodi anti-Ro / SSA dengan sampel serum. Kadar Antibodi anti-Ro/SSA pada air mata tidak tergantung dengan kadar Antibodi anti-Ro / SSA pada darah.²¹



Gambar 3. Pengambilan sampel menggunakan mikropipet dengan ujung yang tumpul. Diambil dari : Sivak A (2009)²²

2.5 Pemeriksaan Laboratorium

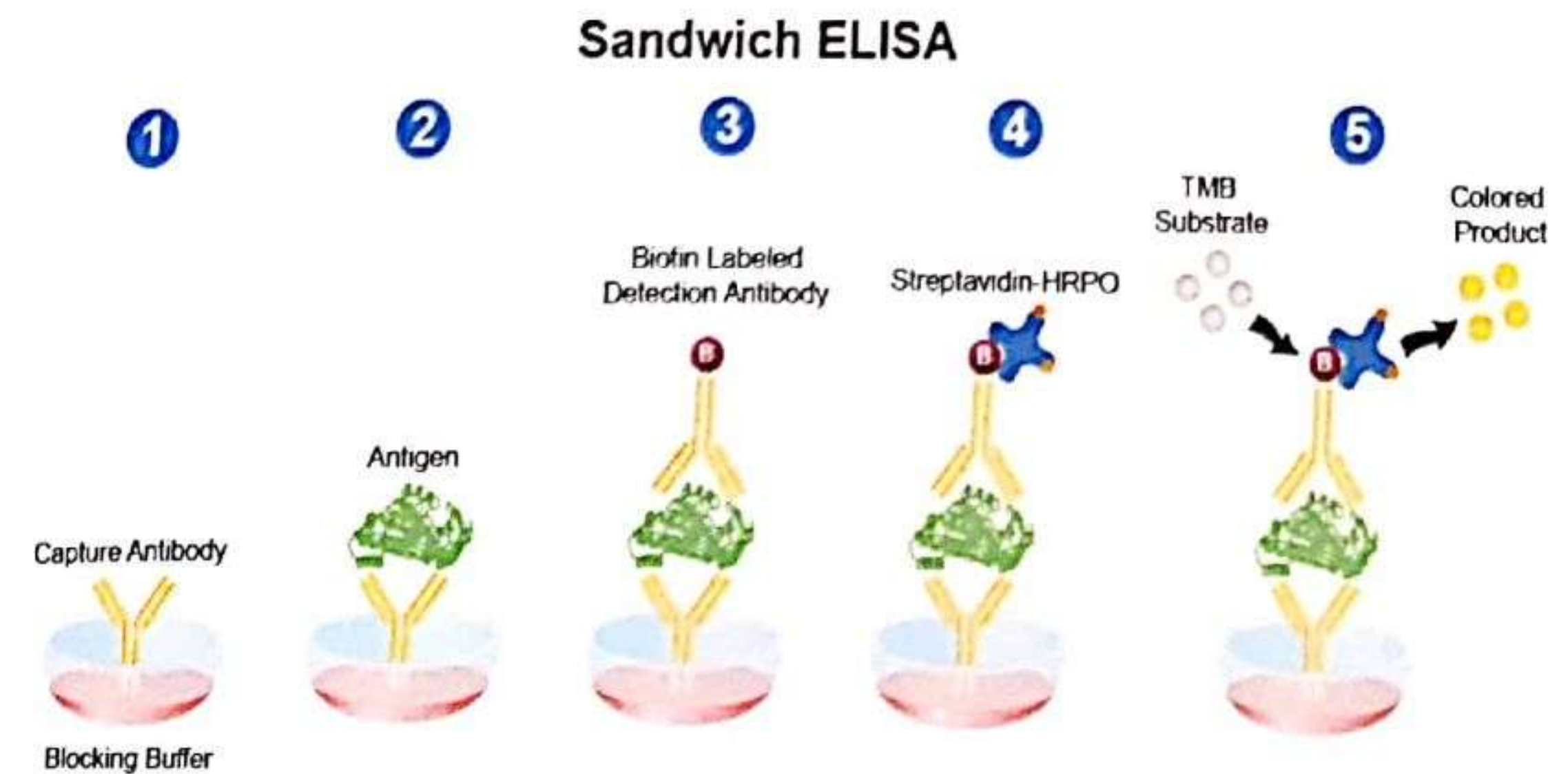
Terdapat berbagai metode untuk mendeteksi Antibodi anti-Ro/SSA. Metode presipitasi Asam ribonukleat atau *Ribonucleic acid (RNA)* merupakan *gold standar* pemeriksaan. Terdapat metode pemeriksaan lain selain presipitasi RNA, yaitu *counter-immunoelectrophoresis*, *immunodiffusion* dan *enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)*.⁵ Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA pada penyakit autoimun sistemik dapat terdeteksi tanpa adanya Antibodi anti-Ro 60 kDa / SSA.

Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA sering tidak dapat terdeteksi oleh metode pemeriksaan Ro pada umumnya. Penelitian Peene dkk menunjukkan bahwa Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA tidak dapat dipresipitasi, sehingga *counter-immunoelectrophoresis* atau ELISA konvensional yang menggunakan protein Ro / SSA natif sebagai antigen tidak dapat mendeteksi Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA. Penelitian yang dilakukan Schulte-Pelkum dkk menunjukkan bahwa reaktivitas antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA dan Antibodi anti-Ro 60 kDa / SSA dapat saling mempengaruhi satu sama lain, sehingga dapat memberikan hasil palsu, oleh karena itu sebaiknya pemeriksaan kedua antibodi tersebut dilakukan secara terpisah.¹¹ Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA dapat menghasilkan pola imunofluoresensi sitoplasma pada HEp-2 pemeriksaan ANA.²³

Enzyme-Linked Immunosorbent Assays digunakan dalam bidang imunologi untuk mendeteksi antibodi dalam suatu sampel. Sejumlah antigen yang tidak dikenal ditempelkan pada suatu permukaan, kemudian antibodi spesifik dipaparkan pada permukaan tersebut, sehingga akan berikatan dengan antigennya. Konversi substrat sebanding dengan kuantitas antigen. Antibodi ini terikat dengan suatu enzim, dan pada tahap terakhir, ditambahkan substansi yang dapat diubah oleh enzim menjadi sinyal yang dapat dideteksi.

Enzyme-Linked Immunosorbent Assays dapat mendeteksi berbagai isotype Ig, Ig G merupakan isotype yang paling sering diperiksa untuk membantu menegakkan diagnosis pasien. Enzim yang dipakai untuk label juga berfungsi sebagai faktor amplifikasi yang dalam jumlah sedikit dapat mengubah substrat yang banyak menjadi produk yang banyak pula. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assays* hanya bisa dilakukan pada laboratorium yang mempunyai fasilitas untuk melakukan pemeriksaan tersebut, karena menggunakan alat ELISA reader untuk membaca hasil dan peralatan mikropipet. Jenis metode ELISA yang biasa digunakan untuk pemeriksaan Antibodi anti-Ro / SSA adalah *Sandwich ELISA*. Keuntungan metode ELISA diantaranya tidak menggunakan bahan radioaktif, prosedur dikerjakan secara otomatis oleh alat sehingga pemeriksaan lebih objektif, dapat memeriksa sampel dalam jumlah banyak, dan secara teknis mudah dikerjakan. Metode ELISA merupakan metode pilihan untuk *screening*. Kekurangan metode ELISA diantaranya adalah kesulitan menentukan nilai *cut off* untuk interpretasi hasil, variasi antar kit yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, serta memiliki kemungkinan cukup besar untuk memberikan hasil positif palsu. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar serum Antibodi anti-Ro / SSA positif oleh

ELISA memberikan hasil negatif dengan pemeriksaan imunopresipitasi. Hal ini menyebabkan adanya anjuran untuk mengkonfirmasi hasil ELISA dengan metode lain, bila hasil pemeriksaan tidak sesuai klinis.^{8,10}

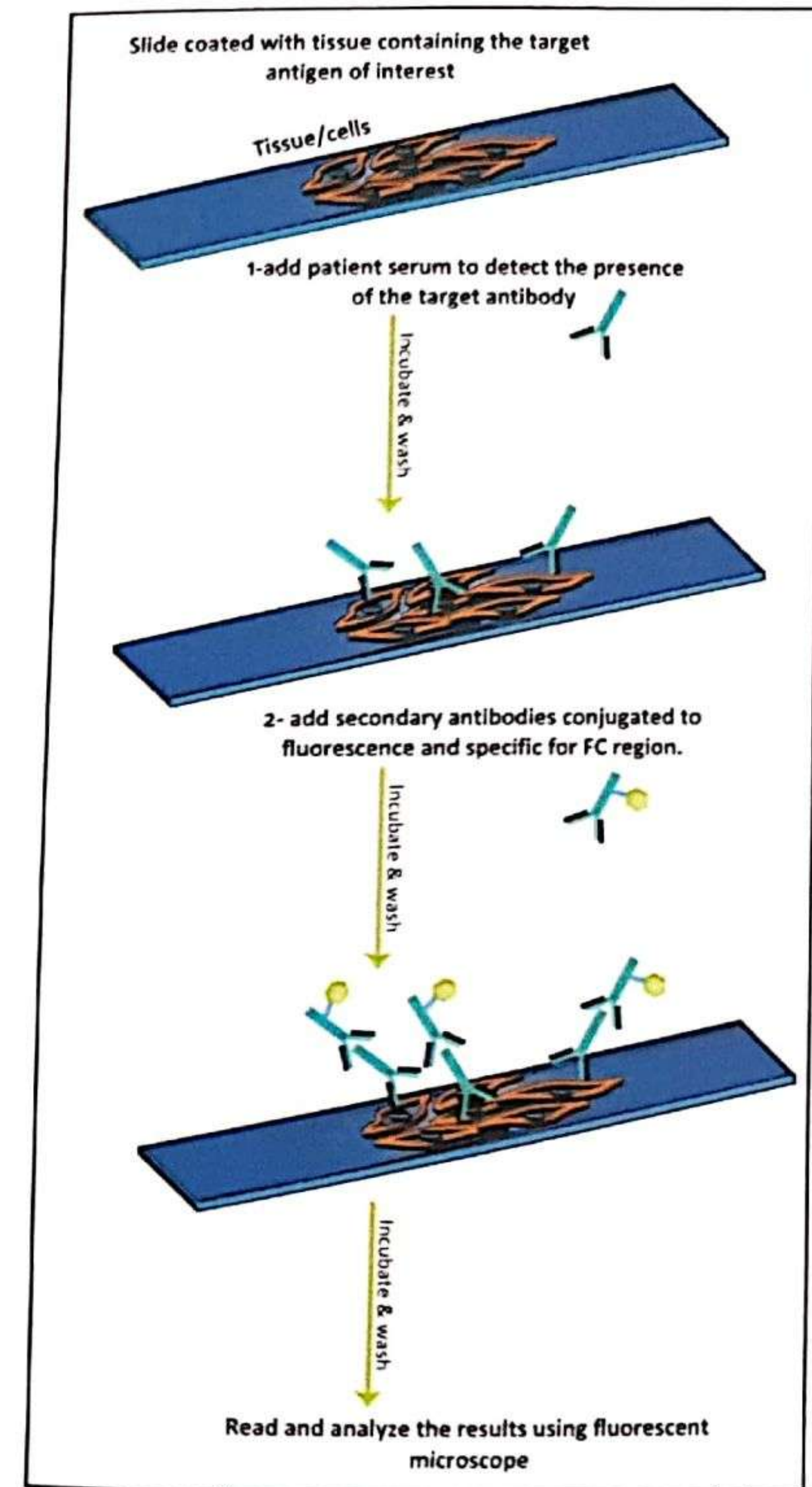


Gambar 4. Skema metode ELISA sandwich
Diambil dari: Shah K *et al.* (2016).²⁴

Pemeriksaan presipitasi RNA dapat digunakan untuk mendeteksi maupun mengkonfirmasi hasil pemeriksaan Antibodi anti-Ro / SSA. Prinsip dasar presipitasi RNA adalah deteksi partikel hY-RNA yang dilabel dengan radioisotop yang mengalami presipitasi bila dalam serum pasien terdapat Antibodi anti-Ro / SSA. Pada imunopresipitasi peptida dan

protein yang tidak diperiksa dipisahkan sehingga bila sampel mengandung protein yang akan diperiksa akan menimbulkan reaksi sehingga antibodi dapat dianalisis. Pemeriksaan ini merupakan pemeriksaan kuantitatif. Salah satu hal yang mempengaruhi hasil pemeriksaan dengan metode ini adalah kualitas antigen yang digunakan. Ekstraksi RNA menggunakan fenol dan dianalisis pada Gel polyacrylamide. Pita yang terbentuk akan dibaca pada *X-ray autoradiography*.^{25,26}

Indirect immunofluorescent assay (IFA) merupakan salah satu pilihan metode pemeriksaan antibodi terhadap anti-Ro/SSA pada nukleus. Antigen yang telah diketahui difiksasi pada slide kaca lalu ditambahkan beberapa tetes serum pasien. Slide dicuci dan ditambah *antihuman globulin* berlabel fluorescein (konjugat) setelah selesai diinkubasi. Slide dicuci dan dilihat di bawah mikroskop fluoresens. Bila dalam serum terdapat Antibodi anti-Ro/SSA, akan tampak adanya fluoresensi. *Indirect immunofluorescent assay* dengan HEp2000 memiliki sensitivitas yang tinggi (71% sampai 91%) dan nilai prediktif yang tinggi.¹⁰

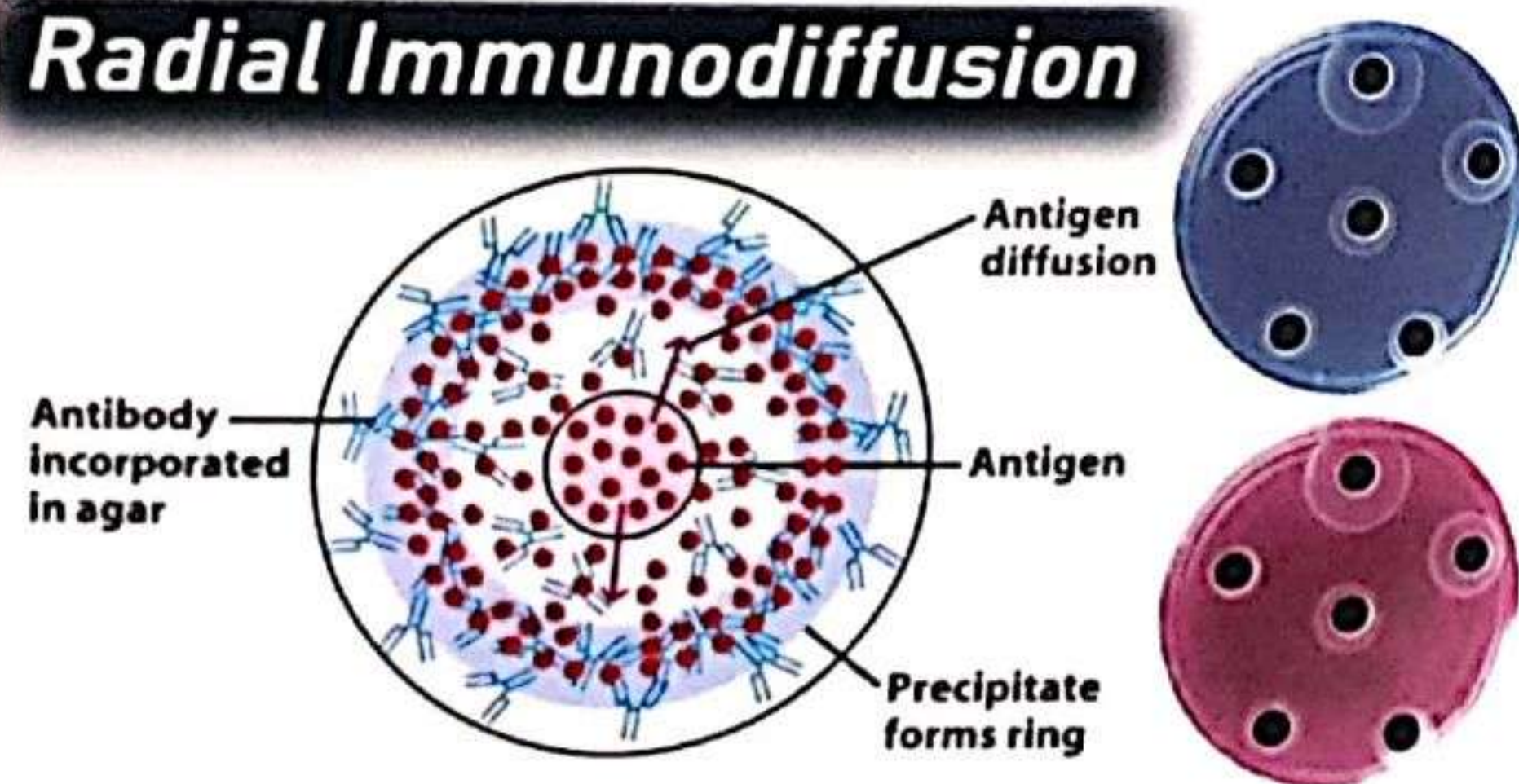


Gambar 5. Skema metode *Indirect immunofluorescent assay* (IFA)

Diambil dari : Alhabab RY. (2018)²⁷

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Antibodi anti-Ro / SSA dapat diperiksa dengan menggunakan metode imunodifusi. Antigen yang digunakan dapat berasal dari ekstrak lien sapi maupun babi. Pada metode ini antibodi (antisera) yang monospesifik dicampur dengan agar dan dilapiskan di atas suatu *slide* / cawan petri. Misalnya anti-Ig M yang dicampur dengan agar, maka dalam beberapa sumur dapat dimasukan serum penderita dan serum baku (dengan kadar Ig M telah diketahui untuk penentuan kadar Ig M serum pasien. Lingkaran presipitasi di sekitar sumur tersebut akan terbentuk setelah inkubasi. Kadar Ig dalam serum pasien dapat ditentukan secara kuantitatif dengan cara mengukur diameter dan diplotkan pada kurva baku

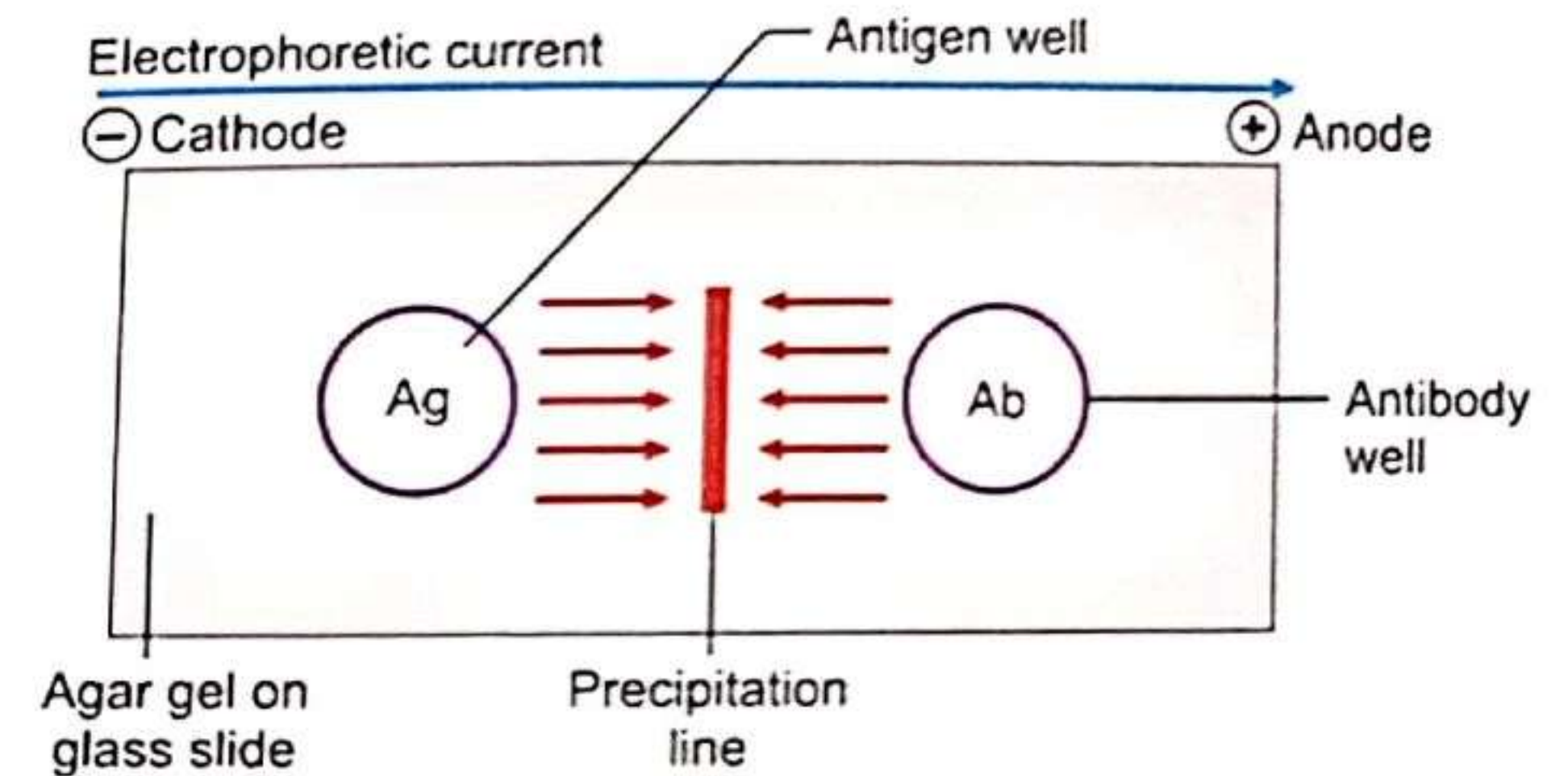
Radial Immunodiffusion



Gambar 6. Skema metode Imunodifusi
Diambil dari : Aryal S. (2018) ²⁸

Prinsip *Counterimmunoelectrophoresis* (CIE) sebenarnya hampir sama dengan imunodifusi. Pada CIE baik

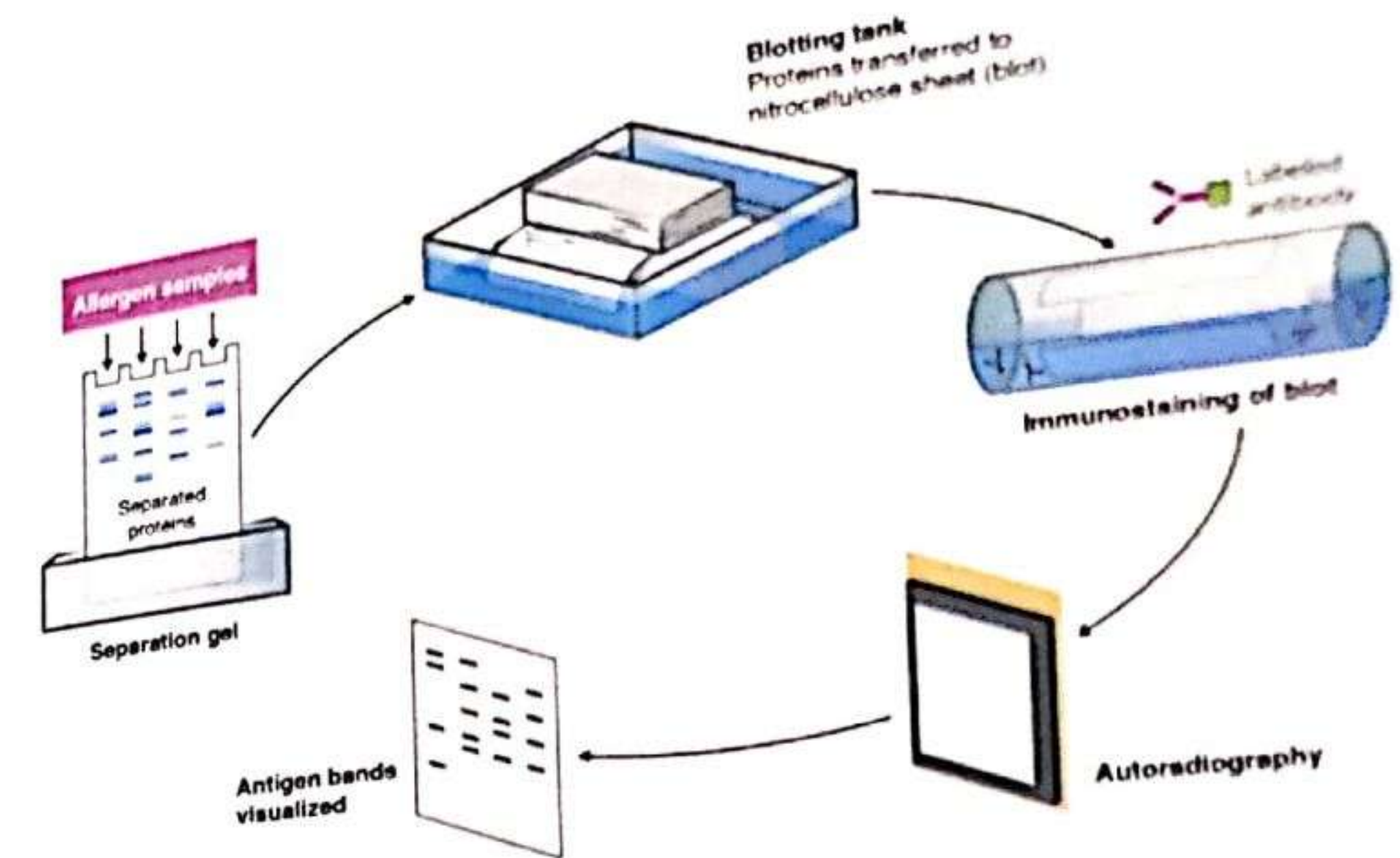
antigen maupun antibodi ditarik oleh arus listrik, sehingga saling mendekati dan dengan demikian dapat mempersingkat waktu inkubasi dan waktu pemeriksaan. Metode ini juga dapat mendeteksi kadar antibodi anti-Ro/SSA dalam jumlah kecil, sehingga lebih sensitif dibandingkan imunodifusi. *Counterimmunoelectrophoresis* dianggap sebagai salah satu metode pemeriksaan dengan sensitivitas dan spesifisitas terbaik, namun tidak semua laboratorium dapat melaksanakan pemeriksaan ini. ^{10,21}



Gambar 7. Skema metode *Counterimmunoelectrophoresis*(CIE)
Diambil dari : Kumar S (2016) ²⁹

Western Blot (WB) hanya dapat dilakukan pada laboratorium dengan fasilitas yang memadai dan membutuhkan waktu sekitar 24 jam. Western Blot digunakan untuk memisahkan, mendeteksi, dan mengidentifikasi satu atau lebih protein pada sampel. Teknik ini melibatkan langkah

elektroforesis. Proses WB dimulai dengan memisahkan protein dengan menggunakan gel poliakrilamida dan kemudian melakukan *blotting* dengan menggunakan *electro-blotting* ke strip nitroselulosa atau membran nilon. Strip atau membran kemudian direaksikan dengan reagen yang mengandung antibodi terhadap protein yang diinginkan. Protein yang terikat pada membran diidentifikasi dengan antibodi spesifik menggunakan label seperti peroksidase, alkalin fosfatase, atau *chemiluminescent*. Sampel yang digunakan dapat berupa serum, urine maupun cairan serebrospinal. Metode ini dapat mendeteksi konsentrasi antigen serendah 500 ng/mL. Interpretasi hasil WB dilakukan dengan melihat pola pita-pita yang terbentuk. Pemisahan antigen sitoplasma seperti anti-Ro / SSA menggunakan gel polyacrylamide 10%. Gel polyacrylamide dapat memisahkan anti-Ro 60 /SSA dengan anti-Ro 52/SSA namun anti-Ro 52 / SSA dan anti-La biasanya bersamaan. Hal ini dapat diatasi menggunakan acrylamide-bisacrylamide untuk memisahkan kedua antigen tersebut. Metode WB untuk pemeriksaan Antibodi anti-Ro/SSA banyak dipakai pada penelitian.^{10,23}



Gambar 8. Skema metode Western blot
Diambil dari: Salazar A. *et al* (2017)³¹

2.6 Pemeriksaan Antibodi Anti-Ro / Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A dalam Penyakit Autoimun

Antibodi anti-Ro/SSA dapat terdeteksi dalam serum pasien LES, *Subacute cutaneous lupus erythematosus* (gejala yang menonjol adalah fotosensitif dan vaskulitis, tanpa disertai penurunan fungsi ginjal yang parah), Lupus neonatus, miopati inflamasi idiopatik (polimiositis, dermatomiositis), Sklerosis sistemik, penyakit jaringan ikat campuran, Arthritis reumatoid, dan Kolangitis biliaris primer. Peningkatan kadar antibodi anti-Ro / SSA secara signifikan paling umum ditemui pada SS primer, LES, Sindrom Antifosfolipid, Sklerosis sistemik, dan

Kolangitis biliaris primer.^{8,23} Pemeriksaan Antibodi Anti-Ro / SSA dianjurkan dalam konseling pasien penyakit autoimun yang merencanakan kehamilan.³² Antibodi Anti-Ro / SSA dapat memprediksi progresivitas penyakit penyakit jaringan ikat. Pemeriksaan Antibodi Anti-Ro / SSA bukan merupakan pemeriksaan rutin, dilakukan pada pasien yang dicurigai dengan penyakit autoimun dan/ atau pasien yang memiliki *antinuclear antibody* (ANA) positif dengan gejala yang mengarah pada penyakit autoimun.³³ Pemeriksaan ini dimaksudkan untuk membantu menegaskan diagnosis, namun hasil negatif tidak menyingkirkan kemungkinan penyakit autoimun, karena antibodi ini dapat juga ditemukan pada individu sehat.³⁴

Antibodi anti-Ro/SSA merupakan salah satu ciri SS dan dapat ditemui pada 50% sampai 90% pasien SS primer, tergantung dari metode pemeriksaan Antibodi anti-Ro/SSA yang digunakan. *American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism (EULAR)* pada tahun 2016 mengusulkan kriteria diagnosis baru untuk SS primer. Pada kriteria baru ini salah satu komponen terpenting adalah keberadaan Antibodi anti-Ro/SSA dan pemeriksaan histologis analisis kelenjar saliva yang menunjukkan adanya sialadenitis fokal.²³

Antibodi anti-Ro / SSA memiliki korelasi dengan usia lebih muda saat terdiagnosis, durasi penyakit lebih lama, disfungsi kelenjar eksokrin lebih parah, pembesaran kelenjar parotis berulang dan peningkatan infiltrasi limfosit pada kelenjar saliva. Sebuah penelitian menunjukkan adanya peningkatan prevalensi manifestasi klinis ekstra glandular pasien SS primer seperti splenomegali, limfadenopati, vaskulitis, arthritis, asidosis tubulus ginjal, neuropati perifer, sitopenia, RF dan Fenomena Raynaud (kondisi yang menyebabkan beberapa area tubuh seperti jari tangan dan kaki terasa kebas atau mati rasa, serta dingin) pada pasien SS primer dengan Antibodi anti-Ro / SSA positif. Asidosis tubulus renalis merupakan bentuk gangguan ginjal tersering pada SS yang disebabkan oleh nefritis tubulointerstitial atau glomerulopati akibat kompleks imun. Penelitian lain terhadap 100 pasien menemukan bahwa pasien dengan Antibodi anti-Ro / SSA rentan mengalami komplikasi sistemik, kelainan hematologi dan ektraglandular. Sebuah penelitian pada pasien SS menunjukkan bahwa ANA adalah antibodi yang paling sering terdeteksi, tetapi Antibodi anti-Ro / SSA adalah yang paling spesifik. Antibodi anti-Ro / SSA dapat lebih dahulu pada pasien SS primer sebelum munculnya gejala klinis. IgM RF, anti-Ro / SSA dan anti-La / SSB berkorelasi dengan onset penyakit yang lebih dini, disfungsi kelenjar,

gangguan konduksi jantung berupa blok atrioventrikular total manifestasi ektraglandular atau *extraglandular manifestation* (EGM) dan peningkatan aktivasi sel B. Hal ini menyebabkan pasien memiliki risiko lebih tinggi terjadinya hipergammaglobulinemia, hipokomplementemia, dan limfadenopati. Anti-Ro / SSA adalah prediktor terkuat dari kehadiran EGM.³⁴⁻³⁶

Lupus eritematosus sistemik dapat berkorelasi dengan SS. *Sindrom Sjögren* merupakan inflamasi kronis autoimun terutama melibatkan kelenjar eksokrin yaitu kelenjar lakrimal dan saliva sehingga terjadi penurunan aliran saliva dan lakrimal. Hal ini dapat memberikan gejala berupa mulut kering dan mata kering. Sindrom Sjogren diklasifikasikan sebagai SS primer bila tidak berkaitan dengan penyakit autoimun sistemik dan SS sekunder bila berkaitan dengan penyakit autoimun sistemik lain. Penyakit autoimun yang paling sering menyebabkan SS sekunder adalah LES, Artritis reumatoid, dan Sklerosis Sistemik. Sindrom Sjogren primer lebih sering ditemui daripada SS Sekunder. Kemungkinan perkembangan SS sekunder pada pasien LES harus diperhatikan, terutama pada pasien yang berusia 25 tahun saat onset penyakit dan dengan Antibodi anti-Ro / SSA positif.^{23,37}

Pasien LES dengan defisiensi C2 dan C4 cenderung memiliki Antibodi anti-Ro / SSA dengan manifestasi kutaneus dan poliartritis, tanpa gangguan fungsi ginjal maupun susunan saraf pusat. Antibodi anti-Ro / SSA terdeteksi lebih dahulu daripada autoantibodi terkait LES lainnya, seperti Anti-*double stranded-DNA* (dsDNA), Anti-RNP, dan antibodi Anti-Smith. Antibodi anti-Ro / SSA dapat terdeteksi tiga sampai empat tahun sebelum muncul manifestasi LES. Sebanyak 63% sampai 88% pasien memiliki Antibodi anti-Ro / SSA positif sebelum muncul manifestasi LES Anti-Ro / SSA. Antibodi anti-Ro / SSA dapat berfungsi sebagai petanda risiko penyakit sebelum onset LES.³ Antibodi anti-Ro / SSA dan LES onset lambat yang didefinisikan sebagai penyakit dengan onset gejala setelah usia 50 tahun. Lupus eritematosus onset lambat ditandai dengan gangguan neurologis, penyakit paru interstisial, dan penurunan fungsi ginjal yang lebih ringan dibandingkan dengan LES.^{10,11} Antibodi anti-Ro 60 kDa / SSA lebih sering dijumpai pada pasien LES dan memiliki korelasi dengan fotosensitivitas, vaskulitis kulit, dan gangguan hematologi.¹ Radiasi ultraviolet (UV) dapat menginduksi sintesis antigen-Ro / SSA di sitoplasma dan nukleus keratinosit. Radiasi UV meningkatkan ekspresi antigen permukaan sel serta meningkatkan kemungkinan cedera

keratinosit oleh Antibodi anti-Ro. Hal ini mendukung korelasi antara Antibodi anti-Ro 60 kDa dan 52 kDa / SSA dengan fotosensitivitas dan xerophthalmia atau xerostomia. Kedua antigen Ro diekspresikan pada permukaan sel epitel duktus selama apoptosis, sehingga menunjukkan peran apoptosis dalam menginduksi respon anti-Ro 60 dan 52 / SSA.¹⁴ Pada pasien LES, Antibodi anti-Ro / SSA juga berkorelasi dengan artropati non-erosif akibat inflamasi jaringan lunak, yaitu Jaccoud arthropathy. Pneumonitis interstisial juga memiliki korelasi dengan Antibodi anti-Ro / SSA pada pasien LES.¹⁰

Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA berkorelasi secara signifikan dengan limfopenia, sedangkan Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA menunjukkan korelasi dengan peningkatan jumlah trombosit dan penurunan kadar hemoglobin. Sel *Cluster of differentiation* (CD) 4 dan *Natural killer* (NK) terlibat berperan dalam limfopenia yang berhubungan dengan keberadaan Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA. Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA dapat diinduksi oleh mediator-mediator proinflamasi, seperti *Interferon* (IFN) I dan II. Ekspresi Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA dapat ditemui pada sel mononuklear darah perifer pasien LES dan SS. Hal ini membuat dugaan bahwa peningkatan mediator-mediator proinflamasi pada penyakit autoimun dapat menginduksi

ekspresi Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA pada permukaan limfosit sehingga memungkinkan pengikatan antibodi yang pada akhirnya dapat mengakibatkan kematian sel. Antibodi anti-Ro 60 kDa / SSA memiliki korelasi dengan penurunan prevalensi trombositopenia pasien LES. Pasien LES dengan Antibodi anti-Ro 60 kDa / SSA cenderung memiliki jumlah trombosit yang lebih tinggi daripada pasien tanpa Antibodi anti-Ro 60 kDa / SSA. Penelitian Menendez dkk menunjukkan bahwa hal ini mungkin disebabkan oleh hubungan negatif antara Antibodi anti-Ro 60 kDa / SSA dengan Antibodi antifosfolipid dan Antibodi antikardiolipin. Antibodi antifosfolipid dan Antibodi antikardiolipin berperan dalam kejadian trombositopenia pada pasien LES. Efek negatif Antibodi anti-Ro 60 kDa / SSA terhadap kadar hemoglobin tidak adekuat untuk menyebabkan anemia pasien LES. Hasil Penelitian Menendez dkk membuktikan bahwa Antibodi anti-Ro 60 kDa / SSA tidak menyebabkan gangguan hematologi yang berarti, hal ini berbeda dengan gangguan hematologi yang disebabkan oleh Antibodi anti-Ro 52 kDa / SSA.^{14,38}

Antibodi anti-Ro / SSA memiliki asosiasi dengan gangguan konduksi jantung bawaan atau *Congential heart block* (CHB) pada bayi yang lahir dari ibu dengan LES. Congenital Heart Block (CHB) didefinisikan sebagai sebuah

kondisi pada bayi baru lahir yang dimediasi oleh imun. Merupakan salah satu gejala dari beberapa manifestasi klinis yang dikenal sebagai lupus neonatal. Kondisi medis ini biasanya terkait dengan transportasi antibodi dari ibu secara transplasenta yang spesifik untuk Ro / SSA (Sjögren-syndrome-related antigen A) dan La / SSB (Sjögren-syndrome-related antigen B) autoantigen yang dapat menyebabkan kelainan jantung neonatus, perkembangan manifestasi klinis penting lainnya seperti ruam kulit, cedera hati, dan sitopenia pada bayi. Antibodi anti-Ro dan anti-La melintasi plasenta sekitar minggu ke sebelas kehamilan dan dapat memengaruhi perkembangan janin jantung dengan merusak jaringan konduksi janin dan menyebabkan peradangan, kalsifikasi, dan fibrosis, yang dapat menghalangi konduksi sinyal di simpul atrioventrikular (AV) di jantung yang secara anatomis normal. Sebagian besar bayi yang terkena blok jantung kongenital autoimun bermanifestasi dengan blok atrioventrikular tipe tiga (juga dikenal sebagai komplit). Bayi-bayi ini mengalami penurunan yang parah pada denyut jantung ventrikel janin mereka (seringkali < 60 x per menit, normalnya sekitar 120-160 x per menit).⁴⁴

Congenital heart block autoimun terjadi pada 1% sampai 2% kehamilan dari ibu Antibodi anti-Ro / SSA positif,

tidak melibatkan kelainan struktur jantung dan memiliki tingkat kekambuhan 12% sampai 20% pada kehamilan berikutnya.⁹ Antibodi anti-Ro / SSA juga memiliki korelasi dengan kejadian Lupus neonatus. Transfer transplasental dari Ig G anti-Ro / SSA ibu ke janin dapat menyebabkan ruam akibat fotosensitif, CHB atau keduanya. Gejala Lupus neonatus biasanya hilang enam bulan setelah lahir, bertepatan dengan pembersihan antibodi ibu dari sirkulasi bayi. Sebuah penelitian membuktikan bahwa CHB berkaitan dengan kadar Antibodi anti-Ro / SSA ≥ 50 U / mL. Hal ini menunjukkan bahwa tingginya kadar Antibodi anti-Ro / SSA memiliki peranan penting dalam kejadian Lupus neonatus.^{8,11,31}

Antibodi anti-Ro / SSA terlibat dalam patogenesis Lupus neonatus, yang ditandai dengan ruam kulit, gangguan konduksi jantung bawaan, Dermatitis Lupus neonatus, disfungsi hepar dan gangguan hematologi (trombositopenia, leukopenia, dan anemia). *Congenital heart block* ditandai dengan deposit kompleks imun, kalsifikasi dan fibrosis pada nodus atrioventrikular pada jantung janin. Blok atrioventrikular total dapat menyebabkan akibat yang fatal dibandingkan dengan manifestasi lain. Ekokardiografi bayi sebaiknya dilakukan pada minggu ke 18 dan 24 kehamilan bila

ibu memiliki kadar Antibodi anti-Ro / SSA yang tinggi untuk mendeteksi CHB.⁵

Hingga saat ini belum ada terapi yang dapat memulihkan blok jantung derajat tiga secara permanen pada neonatus lupus, meskipun beberapa pengobatan telah menunjukkan beberapa efektivitas pada blok jantung kongenital. Steroid berfluorinasi yang dikonsumsi selama kehamilan telah menunjukkan manfaat pada kasus ini, meskipun efek sampingnya mungkin mengkhawatirkan. Manfaat pemberian steroid berfluorinasi dalam pencegahan mortalitas pada CHB belum diketahui secara pasti.⁴⁵

Selain penggunaan steroid berfluorinasi, penggunaan β -agonis telah digunakan untuk meningkatkan detak jantung janin dalam rahim. Ketahanan efek β -agonis dan dampaknya pada kematian masih dipertanyakan, tetapi bila digunakan dalam kombinasi dengan terapi lain dapat memberikan manfaat.⁴⁵

Konduksi nodus atrioventrikular neonatus rentan terganggu akibat apoptosis, disfungsi saluran kalsium, dan fibrosis, belum diketahui secara pasti mekanisme gangguan konduksi akibat penyakit autoimun ini dapat terjadi pada pasien dewasa. Antibodi anti-Ro / SSA berkorelasi dengan gangguan saluran kalsium, yang dapat mempengaruhi nodus

atrioventrikular dan sinoatrial sehingga menyebabkan aritmogenik. Kalsifikasi, jaringan fibrotik serta fibroblast pada nodus atrioventrikular dan sistem konduksi lainnya juga dapat memperlambat dan mengacaukan sistem konduksi listrik jantung sekaligus. Tam dkk menyarankan pasien dewasa SS dengan keluhan pusing atau pingsan harus dicurigai memiliki gangguan konduksi jantung dan dievaluasi lebih lanjut. Beberapa bayi baru lahir dengan Antibodi anti-Ro / SSA positif dan Lupus neonatus dapat mengalami gangguan konduksi yang baru terdeteksi saat dewasa. Pasien LES dewasa dengan Antibodi anti-Ro / SSA dapat memiliki transien atau CHB.³⁸

Antibodi anti-Ro / SSA dapat ditemukan pada 3% sampai 15% pasien AR. Beberapa penelitian melaporkan pasien AR dengan Antibodi anti-Ro / SSA positif rentan terkena manifestasi klinis ekstra artikular (keratokonjungtivitis sika, vaskulitis, leukopenia xerostomia, xerophthalmia dan fotosensitivitas), hipergammaglobulinemia, peningkatan kadar RF dan ANA, serta aktivasi komplemen. Manifestasi ekstra artikular dan gambaran laboratorium AR sangat berbeda antara pasien dengan Antibodi anti-Ro / SSA positif dan negatif. Antibodi anti-Ro / SSA positif pada AR pada umumnya menggambarkan inflamasi kronis sendi yang tidak erosif.

Beberapa penelitian juga menunjukkan korelasi antara Antibodi anti-Ro / SSA dengan efek samping pengobatan D-penicillamine dan garam emas atau *gold salt*.⁶ Beberapa penelitian melaporkan Antibodi anti-Ro / SSA sebagai faktor independen pada kegagalan terapi AR dengan inhibitor *tumor necrosis factor* (TNF).¹¹

Antibodi anti-Ro / SSA dapat ditemukan 12% sampai 37% pasien Sklerosis sistemik. Sklerosis sistemik merupakan penyakit jaringan ikat yang tidak diketahui penyebabnya yang ditandai oleh fibrosis kulit dan organ visceral serta kelainan mikrovaskular. Antibodi anti-Ro / SSA memiliki hubungan yang signifikan dengan gangguan paru, miositis, keratokonjungtivitis sika, dan fotosensitivitas pada pasien Sklerosis sistemik. Antibodi anti-Ro 52 / SSA ditemukan pada 5% sampai 15% pasien polimiositis / dermatomiositis.^{8,11} Antibodi anti-Ro 52 / SSA pada pasien polimiositis / dermatomiositis dikaitkan dengan perjalanan penyakit yang lebih parah.¹²

III. PENUTUP

Pemeriksaan laboratorium dibutuhkan untuk membantu menegakkan diagnosis penyakit autoimun. Antibodi Anti-Ro / *Sjögren's-Syndrome-Related Antigen A* (Anti-Ro / SSA) sering terdeteksi pada skrining serta salah satu antibodi yang paling awal terdeteksi pada beberapa penyakit autoimun. Antibodi anti-Ro/SSA dapat ditemui pada pasien LES, *subacute cutaneous lupus erythematosus*, lupus neonatus, miopati inflamasi idiopatik, sklerosis sistemik, penyakit jaringan ikat campuran, artritis reumatoid, dan kolangitis biliaris primer. Pemeriksaan Antibodi Anti-Ro / SSA dianjurkan dalam konseling pasien penyakit autoimun yang merencanakan kehamilan. Pemeriksaan antibodi anti-Ro / SSA dilakukan dengan indikasi yang jelas, yaitu pasien yang dicurigai dengan penyakit autoimun untuk diagnosis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology, Seventh Edition. USA: Elsevier Inc; 2012
2. Kresno BS. Immunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2010. Bab III, Penyakit Autoimun; p. 364-395.3.
3. Jog NR, James JA. Biomarkers in connective tissue diseases. *J allergy clin immunol*. 2017;140(2):1473-83.
4. Martel C, Gondran G, Launay D, Lalloué F, Palat S, Lambert M. Active immunological profile is associated with Systemic Sjögren's Syndrome. *J Clin Immunol*. 2011;31(4):840-7.
5. Fayyaz A, Kurien BT, Scofield H. Autoantibodies in Sjögren's Syndrome. *Rheum Dis Clin North Am*. 2016; 42(3):419-34.
6. Cavazzana I, Franceschini F, Quinzanini M, Manera C, Maglione W, Comina D, et al. Anti-Ro/SSA antibodies in rheumatoid arthritis: Clinical and immunologic associations. *Clin Exp Rheumatol*. 2014;24(1):59-64.
7. Maślińska M, Kwiatkowska B. Primary Sjögren's Syndrome and autoantibodies. *Intech Open Science*; 2013.
8. Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(3):238-47.
9. Mayo clinic laboratories. Test definition: SSA [Internet]. 2020 [cited 2020 Agustus 11]; Available from: <https://www.mayocliniclabs.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/81360>
10. Franceschini F, Cavazzana I. Anti-Ro/SSA and La/SSB antibodies. *Autoimmunity*. 2011;38(1):55-63.
11. Yoshimi R, Ueda A, Ozato K, Ishigatsubo Y. Clinical and pathological roles of Ro/SSA autoantibody system. *Clin Dev Immunol*. 2012;6(2):1-12.
12. Ndez AM, Mes JG, Escanlar E. Clinical associations of anti-SSA/Ro60 and anti-Ro52/TRIM21 antibodies: Diagnostic utility of their separate detection. *Autoimmunity*. 2013; 46(1):32-9.
13. Routsias, J.G., and A.G. Tzioufas. Sjorgen's Syndrome-Study of Autoantigens and Autoantibodies. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2007;32:238-251.
14. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso s, Cereda A, Guercilena G, et al. Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies. *Autoimmun. Rev*. 2011;2(2):150-4.
15. Menéndez A, Gómez J, Caminal-Montero L, Díaz-López JB, Cabezas-Rodríguez I, MozoL. Common and specific associations of Anti-SSA/Ro60 and Anti-Ro52/TRIM21 Antibodies in Systemic Lupus Erythematosus. *Sci. World J*. 2013;8(2):1-9.
16. Hervier B, Rimbert M, Colonna F, Hamidou MA, Audrain M. Clinical significance of anti-Ro/SSA-52 kDa antibodies - a retrospective monocentric study. *Rheumatology*. 2011;48(3):964-7.
17. Scofield RH, Farris AD. Fine specificity of the autoimmune response to the Ro/SSA and La/SSB ribonucleoproteins. *Arthritis Rheum*. 2010;42(2):199-209.

18. Lazzerini PE, Capecchi PL, Laghi-Pasini F. Anti-Ro/SSA antibodies and cardiac arrhythmias in the adult: facts and hypotheses. *Scand J Immunol*. 2010;7(2):213-22.
19. H.M. Moutsopoulos, L.V. Zerva. Anti-Ro (SSA)/La (SSB) antibodies and Sjorgen's syndrome. Department of Internal Medicine, School of Medicine, University of Ioannina, 451 10 Ioannina, Greece.
20. Mahvash N, Satish K.S. Kumar, Measuring salivary flow: Challenges and opportunities, *The Journal of the American Dental Association*, 2008;139(2);35-40
21. Wei P , Qiang L, He J, Li Z, Hua H. Role of salivary anti-SSA/B antibodies for diagnosing primary Sjögren's syndrome. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2015;20 (2):156-60.
22. Alisa S, Dry-eyed? Researchers want your tears *Daily Buletin University of Waterloo*. 2009
23. Toker E, Yavuz S, Direskeneli H. Anti -Ro/SSA and anti-La/SSB autoantibodies in the tear fluid of patients with Sjo"gren's syndrome. *Br J Ophthalmol*. 2014;88(1):384-7.
24. Kharisma S. Maghsoudlou, P. *Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. British Journal of Hospital Medicin*.; 2016; 77(7): 98-101.
25. Pasoto SG, Martins VA, Bonfa E. Sjögren's syndrome and systemic lupus erythematosus: links and risks. *Arthritis Rheum*. 2019;11(2):33-45.
26. Handojo Indro. *Pengantar Imunoasai Dasar*, Edisi 1. Surabaya: Airlangga University Press; 2003.
27. Alhabbab R.Y. Immunofluorescence (IF) Assay. In: *Basic Serological Testing. Techniques in Life Science and Biomedicine for the Non-Expert*. Springer, Cham. 2018; p.121
28. Aryal S. Radial Immunodiffusion- Objectives, Principle, Procedure, Results, Applications, Advantages and Limitations [Internet] 2018. Available from <https://microbenotes.com/radial-immunodiffusion/>
29. Kumar S. *Essential of Microbiology. Antigen-Antibody Reaction*, Maulana Azad Medical College, New Delhi, India 2016 (1) 16.
30. Manoussakis MN, Kistis KG, Liu X, Aidinis V. Detection of Anti -Ro(SSA) antibodies in autoimmune diseases : comparison of five methods. *Rheumatology*. 2013;32(3):449-55.
31. Salazar A. Velazquez S H, Balboa JA, Jiménez MC. Allergen-Based Diagnostic: Novel and Old Methodologies with New Approaches (2017). DOI: 10.5772/intechopen.69276
32. Burtis Carl A, Ashwood Edward R, Bruns David E, editor. *Principles of Immunochemical Techniques. Dalam Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, Edisi 5. USA :Elsevier; 2012.
33. Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(1):17-23.

34. Hernández-Molina G, Leal-Alegre G, Michel-Peregrina M. The meaning of anti-Ro and anti-La antibodies in primary Sjögren's syndrome. *Autoimmun. Rev.* 2011;2(1):123-5.
35. Habash-Bseiso DE, Yale SH, Glurich I, Goldberg JW. Serologic testing in connective tissue diseases. *Clin Med Res.* 2015;3(3):190-3.
36. Fauchais AL, Martel C, Gondran G, Lambert M, Launay D, Jauberteau MO. Immunological profile in primary Sjögren syndrome Clinical significance, prognosis and long-term evolution to other auto-immune disease. *Autoimmun. Rev.* 2010;3(1):595-9.
37. Theander E, Jonsson R, Brokstad K, Olsson P. Prediction of Sjögren's Syndrome years before diagnosis and identification of patients with early onset and severe disease course by autoantibody profiling. *Ann Rheum Dis.* 2015;67(9):2427-36.
38. Meilof JF, Veldhoven CH, Swaak AJ, Smeenk RJ. Production of anti-Ro/SS-A and anti-La/SS-B autoantibodies is closely coordinated in Systemic Lupus Erythematosus and independent of anti-dsDNA Production. *J. Autoimmun.* 2011;10(2):67-75.
39. Murg SHK, Thomas M. Clinical associations of the positive anti Ro52 without Ro60 autoantibodies: undifferentiated connective tissue diseases. *J Clin Pathol.* 2017;3(1):1-8.
40. Lazzerini PE, Yue Y, Srivastava U, Fabris F, Capecchi PL, Bertolozzi L et al. Arrhythmogenicity of Anti-Ro/SSA Antibodies in patients with Torsades de Pointes. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2016;9(2):1-9.
41. Tam WK, Hsu HC, Hsieh MH, Yeh JS. Association of Anti-Ro/Sjögren's syndrome type A antibodies and complete

atrioventricular block in an adult with Sjögren's Syndrome. *Arch Rheumatol.* 2018;33(2):225-9.

42. Sumariyono. *Diagnosis dan Tatalaksana Sindrom Sjogren. Kumpulan Makalah Temu Ilmiah Reumatologi.* 2008. Hal: 134-136
43. Yuliasih. 2006. *Buku ajar Ilmu Penyakit Dalam. jilid II edisi IV.* Pusat Penerbitan: IPD FKUI 193-196
44. Oke, Vilija; Wahren-Herlenius, Marie. 2012. "The immunobiology of Ro52 (TRIM21) in autoimmunity: A critical review". *Journal of Autoimmunity. Special Issue: Current pathogenetic, clinical and therapeutic aspects of Sjögren's syndrome.* 39(1):77-82. doi:10.1016/j.jaut.2012.08.001. PMID: 22971111 (<https://www.worldcat.org/issn/0896-8411>). (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22971111/>)
45. Abdullah S AlQahtani. "Overview of Congenital Heart Block". *EC Microbiology* 15.8 (2019): 918-924.
46. Saxena Amit, "Prevention and treatment in utero of autoimmune associated congenital heart block", *Cardiol Rev.* 2014 Nov-Dec; 22(6): 263-267.

ISBN 978-623-6528-31-0



9 786236 528310