

Efektivitas Iradiasi terhadap Penurunan Limfosit T pada Komponen Sel Darah Merah Pekat

The Effectiveness of Irradiation to Decrease T Lymphocytes in the Packed Red Cell

Sheila Kadir^{1*}, Vivi Setiawaty², Agus Kosasih³, dan Saptuti Chunaeni³

¹Program Magister Biomedik FKUI, Jakarta, Indonesia

²Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Balitbangkes, Kemenkes RI, Jl. Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560, Indonesia

³Rumah Sakit Kanker Dharmais, Jakarta, Indonesia

*Korespondensi Penulis: sheilakadir@gmail.com

Submitted: 28-05-2015, Revised: 19-09-2015, Accepted: 17-02-2016

Abstrak

Pemberian transfusi darah merupakan salah satu tindakan medis untuk penyelamatan nyawa (*life saving*) dan penyembuhan penyakit, tetapi di sisi lain tindakan ini juga memiliki risiko atau komplikasi. Salah satu komplikasi yang dikenal adalah *Transfusion-Associated Graft-vs-Host Disease* (TAGVHD) yang menyebabkan berproliferasinya limfosit T yang kemudian akan diikuti oleh proses *engraft* (tertanam) di dalam tubuh resipien khususnya yang berada dalam kondisi imunokompeten seperti pasien kanker atau dengan penyakit autoimun. Saat ini, satu-satunya metode yang dapat diterima untuk mencegah komplikasi tersebut adalah dengan melakukan iradiasi darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis iradiasi dan waktu penyinaran yang tepat untuk menurunkan jumlah CD 3⁺ dan CD 4⁺ sebagai penyebab terjadinya TAGVHD. Hasil penelitian dapat dijadikan rekomendasi untuk prosedur iradiasi terhadap komponen sel darah merah pekat yang akan diberikan pada pasien-pasien imunokompeten di RS Kanker Dharmais Jakarta. Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dengan pemeriksaan *time series* yang dilakukan terhadap 54 kantong komponen sel darah merah pekat dengan umur simpan tidak lebih dari satu hari. Pengujian dilakukan terhadap jumlah CD 3⁺ dan CD 4⁺ dalam tiga dosis dengan tiga serial waktu berbeda. Terjadi penurunan secara bermakna jumlah CD 3⁺ dengan penyinaran dosis 3000 cGy dan CD 4⁺ dengan penyinaran dosis 2500 dan 3000 cGy pada komponen sel darah merah pekat yang dilakukan iradiasi pada waktu penyinaran 3 jam dan 5 jam. Dosis penyinaran 2500 cGy dan setelah 5 jam penyinaran memberikan penurunan viabilitas CD 3⁺.

Kata Kunci: iradiasi, *Transfusion-Associated Graft-vs-Host Disease* (TAGVHD), CD 3⁺, CD 4⁺

Abstract

Blood transfusion is a medical treatment for life-saving and cure the disease. On the other hand these treatment also have risks or complications, one of which is known as Transfusion-Associated Graft-vs-Host Disease (TAGVHD) that may cause proliferation T lymphocytes and follow by a process engraft (embedded) in the recipient's body at a state of immunocompetent. This condition is commonly experienced by patients with impaired immunological systems such as cancer patients or autoimmune diseases. Currently, one - the only acceptable method to prevent such complications by way of blood irradiation. The aim of the study is to determine the irradiation dose and exposure time in reducing the amount of CD 3⁺ and CD 4⁺ which is the cause of the TAGVHD. The results of this study will be a recommendation for action to the irradiation of packed red cell that will be given in immunocompetent patients in Jakarta Dharmais Cancer Hospital. This study used an experimental research design time series with the examination conducted on 54 bags of packed red cell with the storage time was no longer than one day. The experiments were conducted on the number of CD 3⁺ and CD 4⁺ in three doses with three different time series. We found the significant decline in the number of CD 3⁺ with 3000 cGy irradiation dose and CD 4⁺ with 2500 dan 3000 cGy irradiation doses in packed red cell irradiation at 3 to 5 hours of irradiation time. The 2500 cGy irradiation doses for 5 hours decreased the viability of CD 3⁺.

Keywords: irradiation, *Transfusion-Associated Graft-vs-Host Disease* (TAGVHD), CD 3⁺, CD 4⁺

Pendahuluan

Pemberian transfusi darah merupakan salah satu tindakan medis untuk penyelamatan nyawa

(*life saving*) dan penyembuhan penyakit, tetapi di sisi lain tindakan ini juga memiliki risiko atau komplikasi. Salah satu komplikasi yang dikenal

adalah *Transfusion-Associated Graft-vs-Host Disease* (TAGVHD) yang akan menyebabkan berproliferasinya limfosit T dan mengaktifkan *sitokin* yang kemudian akan diikuti oleh proses *engraft* (tertanam) di dalam tubuh resipien yang umumnya berada dalam kondisi imunokompeten. Kondisi ini umumnya dialami oleh pasien-pasien dengan gangguan sistem imunologi seperti pada pasien kanker, atau penyakit-penyakit autoimun. Pasien yang mengalami komplikasi TAGVHD akan mengalami *erythematous maculopapular rash*, komplikasi gastrointestinal sampai perdarahan, disfungsi hati, kerusakan empedu sampai kematian.¹

Saat ini, satu-satunya metode yang dapat diterima untuk mencegah komplikasi tersebut dengan cara melakukan iradiasi darah.^{1,2} Hal ini juga berlaku untuk darah dan komponennya yang telah dilakukan proses filtrasi (*leucodepletion*) dengan menggunakan alat khusus. *Transfusion-Associated Graft-vs-Host Disease* ini juga pernah dilaporkan terjadi pada pasien yang mendapat transfusi dari komponen darah yang telah dilakukan filtrasi.^{3,4} Proses ionisasi iradiasi ini akan menghilangkan kapasitas fungsional dan proliferasi dari limfosit T tetapi tidak mengganggu fungsi dari komponen sel darah yang lain seperti eritrosit, granulosit dan trombosit.^{4,5} Hal ini dimungkinkan karena limfosit T lebih radiosensitif dibandingkan dengan komponen darah lainnya. Iradiasi dengan menggunakan sinar gamma akan mencegah proliferasi limfosit dengan cara memotong rantai ganda *deoxyribonucleic acid* (DNA). Dosis iradiasi untuk meminimalkan komplikasi tersebut sangat bervariasi antara 1500 – 5000 cGy. *America Assosiation of Blood Bank* (AABB) dan *Japanese society of guideline blood transfusion* merekomendasikan dosis yang berbeda sesuai dengan posisi kantong darah pada saat dimasukkan ke dalam *cannister* iradiasi yaitu 2500 cGy pada bagian tengah dan 1500 cGy pada bagian pinggir.⁶ Sedangkan negara di Eropa melalui *British Committee for standard in haemotolgy* merekomendasikan dosis yang lebih tinggi dari 2500 cGy tetapi tidak melebihi 5000 cGy.⁴

Semua darah dan komponen darah merah pekat (PRC), platelet, dan granulosit yang dipisahkan dari darah lengkap secara konvensional atau aferesis, memiliki kemungkinan mengandung limfosit T. Untuk menghindari terjadinya TAGVHD dianjurkan untuk melakukan iradiasi darah pada semua kantong darah.^{7,8} Pada PRC yang berasal dari

kantong volume 350 ml diperkirakan jumlah leukosit 10^8 - 10^9 . Proses menghilangkan leukosit dengan metode penyaringan khusus yang dikenal dengan *leucodepletion* hanya dapat mengurangi jumlah leukosit sekitar kurang dari 5×10^6 yang dinilai masih dapat menyebabkan terjadinya TAGVHD.⁹

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis iradiasi dan waktu penyinaran yang tepat untuk menurunkan jumlah CD 3⁺ dan CD 4⁺ sebagai penyebab terjadinya TAGVHD terhadap populasi di Indonesia dengan menggunakan alat uji iradiasi yang sudah tersedia di RS Pusat Kanker Dharmais sejak 2011.

Metode

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dengan pemeriksaan *time series* pada 54 kantong komponen sel darah merah pekat yang umur simpannya satu hari, berasal dari kantong ganda 350 ml dan hasil uji infeksi menular lewat transfusi darah (IMLTD) non reaktif. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik, Bank Darah dan Unit Radioterapi RS Kanker Dharmais sejak 28 Mei hingga 10 September 2013. Sampel yang digunakan adalah sel darah merah pekat dalam kantong yang disimpan di Instalasi Bank Darah RS Kanker Dharmais. Dilakukan pengujian terhadap jumlah CD 3⁺ dan CD 4⁺ dengan pemberian iradiasi sinar gamma dalam 3 dosis yaitu 2500 cGy, 3000 cGy dan 5000 cGy serta dalam 3 serial waktu yang berbeda yaitu 2 jam, 3 jam dan 5 jam setelah iradiasi dengan menggunakan metode *flow cytometry*.^{4,7}

Uji pemeriksaan viabilitas merupakan uji prinsip terhadap hasil yang menunjukkan kemampuan viabilitas sel. Analisis dilakukan dengan memeriksa sel-sel mati atau mempelajari keadaan fisiologis sel. Untuk membedakan sel mati dan sel hidup, dapat digunakan *fluorescent* atau pewarna *non fluorescent*. Pemeriksaan viabilitas atau kemampuan limfosit T ini dilakukan dengan menggunakan reagen 7 amino actinomycin (7-AAD) dengan dosis iradiasi 2500 cGy untuk pembuktian sel limfosit dengan melihat jumlah CD 3⁺ mati atau hidup dengan menggunakan tehnik pemeriksaan dengan tehnik *flow cytometry*.

Analisis data dilakukan dengan menilai jumlah limfosit T sebelum iradiasi dan setelah iradiasi pada 2 jam, 3 jam dan 5 jam, pada dosis radiasi tertentu, yang kemudian dihitung dengan rumus *t* indenpenden.

Hasil**a. Uji Terhadap CD 3⁺**

Sebelum dilakukan iradiasi, dilakukan pemeriksaan CD 3⁺ dengan 3 serial waktu didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Penilaian Jumlah CD 3⁺ Sebelum Iradiasi.

Variabel	Waktu Penilaian (Rerata)		
	2 Jam (mm ³)	3 Jam (mm ³)	5 Jam (mm ³)
Rerata	2024,33	2066,11	2004,44
SD	154,82	167,75	77,41
P values	0,14	0,24	0,27

Hasil uji statistik diperoleh penurunan rerata jumlah CD 3⁺ tidak bermakna ($p > 0,05$) (Tabel 1).

Setelah dilakukan iradiasi dengan 3 dosis berbeda dalam empat serial waktu didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Penilaian Jumlah CD 3⁺ dengan Dosis 2500 cGy.

Variabel	Waktu Penilaian (Rerata)			
	Sebelum Radiasi 0 jam (mm ³)	Setelah Radiasi		
		2 Jam (mm ³)	3 Jam (mm ³)	5 Jam (mm ³)
Rerata	2198,88	2214,21	2174,54	818,32
SD	818,32	644,70	667,86	666,48
P Value		0,42	0,20	0,063

Hasil pemeriksaan jumlah CD 3⁺ dengan menggunakan iradiasi dosis 2500 cGy diperoleh nilai rerata yang cenderung menurun namun penurunannya tidak bermakna ($p > 0,05$), artinya radiasi dengan dosis tersebut tidak efektif menurunkan jumlah CD 3⁺ pada limfosit T (Tabel 2).

Tabel 3. Hasil Penilaian Jumlah CD 3⁺ dengan Dosis 3000 cGy.

Variabel	Waktu Penilaian (Rerata)			
	Sebelum Radiasi 0 jam (mm ³)	Setelah Radiasi		
		2 Jam (mm ³)	3 Jam (mm ³)	5 Jam (mm ³)
Rerata	2247,00	2206,22	2160,67	853,99
SD	853,99	888,66	642,33	768,0
P Value		0,324	0,027	0,039

Hasil pemeriksaan jumlah CD 3⁺ dengan menggunakan iradiasi dosis 3000 cGy diperoleh nilai rerata yang cenderung menurun bermakna ($p < 0,05$) pada 3 dan 5 jam setelah radiasi yang

artinya efektif menurunkan jumlah CD 3⁺ pada limfosit T (Tabel 3).

Tabel 4. Hasil Penilaian Jumlah CD 3⁺ dengan Dosis 5000 cGy.

Variabel	Waktu Penilaian (Rerata)			
	Sebelum Radiasi 0 jam (mm ³)	Setelah Radiasi		
		2 Jam (mm ³)	3 Jam (mm ³)	5 Jam (mm ³)
Rerata	2482,44	2469,61	2478,72	2542,35
SD	715,32	707,25	708,12	775,42
P Value		0,46	0,42	0,396

Hasil pemeriksaan jumlah CD 3⁺ dengan menggunakan iradiasi dosis 5000 cGy diperoleh nilai rerata yang cenderung menurun namun penurunannya tidak bermakna ($p > 0,05$) artinya radiasi tidak efektif menurunkan jumlah CD 3⁺ pada limfosit T (Tabel 4).

b. Uji Terhadap CD 4⁺

Sebelum dilakukan iradiasi, dilakukan pemeriksaan dengan 3 serial waktu didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5. Hasil Penilaian Jumlah CD 4⁺ Sebelum Iradiasi.

Variabel	Waktu Penilaian (Rerata)		
	2 jam (mm ³)	3 jam (mm ³)	5 jam (mm ³)
Rerata	1008,83	986,00	974,17
SD	70,00	59,75	44,70
P values	0,73	0,82	0,93

Hasil uji statistik diperoleh nilai rerata jumlah CD 4⁺ menurun tidak bermakna ($p > 0,05$) (Tabel 5).

Setelah dilakukan radiasi dengan 3 dosis berbeda dalam empat serial waktu didapatkan hasil:

Tabel 6. Hasil Penilaian Jumlah CD 4⁺ dengan Dosis 2500 cGy.

Variabel	Waktu Penilaian (Rerata)			
	Sebelum Radiasi 0 jam (mm ³)	Setelah Radiasi		
		2 Jam (mm ³)	3 Jam (mm ³)	5 Jam (mm ³)
Rerata	1021,50	1006,04	972,33	945,58
SD	443,81	371,93	366,47	380,65
P Value		0,30	0,06	0,03

Hasil pemeriksaan jumlah CD 4⁺ dengan menggunakan iradiasi dosis 2500 cGy diperoleh nilai rerata cenderung menurun secara bermakna ($p < 0,05$) pada 3 jam dan 5 jam setelah radiasi

yang artinya efektif menurunkan jumlah CD 4⁺ pada limfosit T (Tabel 6).

Tabel 7. Hasil Penilaian Jumlah CD 4⁺ dengan Dosis 3000 cGy.

Variabel	Waktu Penilaian (Rerata)			
	Sebelum Radiasi 0 jam (mm ³)	Setelah Radiasi		
		2 Jam (mm ³)	3 Jam (mm ³)	5 Jam (mm ³)
Rerata	1238,17	1194,44	1160,44	1167,72
SD	571,82	545,33	424,13	513,05
P Value		0,14	0,024	0,022

Hasil pemeriksaan jumlah CD 4⁺ dengan menggunakan iradiasi dosis 3000 cGy diperoleh nilai rerata cenderung menurun secara bermakna ($p < 0,05$) pada 3 jam dan 5 jam setelah radiasi yang artinya efektif menurunkan jumlah CD 4⁺ pada limfosit T (Tabel 7).

Tabel 8. Hasil penilaian CD 4⁺ dengan Dosis 5000 cGy.

Variabel	Waktu Penilaian (Rerata)			
	Sebelum Radiasi 0 jam (mm ³)	Setelah Radiasi		
		2 Jam (mm ³)	3 Jam (mm ³)	5 Jam (mm ³)
Rerata	1237,33	1237,28	1234,44	1270,71
SD	280,44	309,49	304,99	321,68
P Value		0,397	0,308	0,344

Hasil pemeriksaan jumlah CD 4⁺ dengan menggunakan iradiasi dosis 5000 cGy diperoleh nilai rerata yang cenderung menurun namun penurunannya tidak bermakna ($p > 0,05$) artinya radiasi tidak efektif menurunkan jumlah CD 4⁺ pada limfosit T (Tabel 8).

Terjadi penurunan jumlah CD 3⁺ dan CD 4⁺ setelah dilakukan radiasi. Dosis radiasi yang efektif menurunkan jumlah CD 3⁺ dan CD 4⁺ pada dosis radiasi 3000 cGy. Waktu yang paling efektif

menurunkan jumlah CD 3⁺ dan CD 4⁺ setelah 3 dan 5 jam radiasi.

c. Pemeriksaan Viabilitas

Uji viabilitas limfosit T CD 3⁺ didapatkan nilai viabilitas yang rendah pada dosis radiasi 2500 cGy dengan waktu 5 jam setelah iradiasi.

Hasil pemeriksaan viabilitas CD 3⁺ dengan membandingkan sebelum dan sesudah radiasi 2 jam, 3 jam dan 5 jam dengan dosis 2500 cGy yang menggunakan alat *flow cytometry FACSCalibur*, didapatkan kesimpulan rerata sel mati sebelum radiasi 2%. Setelah iradiasi 2 jam rerata sel yang mati sebanyak 2,97%, setelah iradiasi 3 jam 0,87% dan 5 jam setelah iradiasi 4,07% (Tabel 9).

Pembahasan

Dari hasil ketiga penelitian menggunakan alat *flow cytometry FACSCalibur*, didapatkan penurunan CD 3⁺ dan CD 4⁺ yang bermakna pada dosis 2500 cGy dan 3000 cGy. Penelitian ini didukung oleh beberapa penelitian bahwa pada dosis 2500 cGy terdapat penurunan 5×10^{10} limfosit T sampai ke level yang tidak terdeteksi dengan menggunakan *metode limiting dilution analyses*.^{5,10}

Dosis radiasi 2500 – 5000 cGy merusak limfosit disebabkan limfosit yang merupakan sel yang proliferasi atau regenerasinya cepat sehingga pada dosis radiasi yang tinggi dapat memutus rantai ganda DNA yang sedang membelah pada fase S di siklus sel sehingga putus dan mengalami apoptosis, yang merupakan respons fisiologis. Awalnya sel akan menyusut karena sitoplasma mengalami kondensasi. Kemudian oleh kromatin dikondensasi dan terjadi fragmentasi inti. Sel kemudian terpisah menjadi beberapa fragmen kecil atau apoptosis yang kemudian difagositosis oleh sel sekitarnya.^{11,12} Pada pemberian dosis radiasi gamma 500 cGy dapat menghilangkan

Tabel 9. Hasil Viabilitas Limfosit T CD 3⁺ dengan Dosis Penyinaran 2500 cGy.

No.	Sebelum Radiasi Jumlah CD 3 ⁺ (%)		Sesudah Radiasi Jumlah CD 3 ⁺ (%)					
			2 Jam		3 Jam		5 Jam	
	Sel Hidup	Sel Mati	Sel Hidup	Sel Mati	Sel Hidup	Sel Mati	Sel Hidup	Sel Mati
1	99,35	0,65	97,36	2,64	99,44	0,56	98,40	1,60
2	98,41	1,59	97,60	2,40	99,62	0,38	98,72	1,28
3	98,73	1,27	95,32	4,68	99,21	0,79	99,71	0,29
4	98,98	1,02	97,80	2,20	99,59	0,41	99,67	0,33
5	98,71	1,29	98,37	1,63	98,71	1,29	92,06	7,94
6	94,27	5,73	95,71	4,29	98,19	1,81	87,01	12,99

respon limfosit untuk sel alogenetik pada *mixed lymphocytes culture* dan dosis 1500 cGy dapat mengurangi respon terhadap rangsangan *mitogen-induced* sampai 90%. Beberapa penelitian merekomendasikan dosis terendah untuk menghambat proliferasi dengan dosis 1500 sampai dengan 2500 cGy sebelum dilakukan pemberian transfusi darah.^{3,13}

Rekomendasi yang dihasilkan dari pemeriksaan jumlah CD 3⁺ dan viabilitas limfosit T CD 3⁺ adalah penyinaran dengan dosis radiasi 2500 cGy dan waktu yang efektif adalah 5 jam setelah radiasi. Hal ini sesuai dengan standar radiasi yang ditetapkan AABB. Sedangkan pada sampel dengan dosis penyinaran 5000 cGy didapatkan hasil tidak terdapatnya penurunan limfosit secara signifikan. Hal ini mungkin karena telah terjadi penurunan limfosit T yang terdeteksi oleh *flow cytometry* sebagai limfosit T. Padahal mungkin saja sel tersebut adalah sel yang telah mengalami apoptosis. Penelitian yang dilakukan oleh Button dkk,¹² melakukan penyinaran komponen darah dengan dosis 5000 cGy dengan melihat stimulasi mitogen dari limfosit didapatkan hasil penurunan sebesar 98,5% tetapi tidak mengganggu fungsi sel darah lainnya.

Hasil penelitian radiasi yang dilakukan oleh para peneliti memberikan hasil yang tidak sama, kesimpulan dari Moroff dan Luban,¹⁴ menyatakan faktor yang mempengaruhi respon terhadap sinar radiasi termasuk subpopulasi limfosit, sensitif terhadap sitolisis, tekanan oksigen pada saat radiasi, volume dalam *canister* pada saat radiasi, konfigurasi kontainer dan pengaruh dari bahan kantung darah.

Kesimpulan

Penurunan viabilitas limfosit T CD 3⁺ terjadi pada dosis iradiasi 2500 cGy dengan waktu yang efektif adalah 5 jam setelah iradiasi.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan pada fase klinik atau pada pasien imunokompeten untuk transfusi dengan komponen sel darah merah pekat / PRC setelah dilakukan radiasi serta perlu dilakukan uji kultur limfosit 1 hari setelah radiasi. Mengingat tindakan radiasi saat ini merupakan satu-satunya cara untuk mencegah TAGVHD, maka perlu diketahui angka kejadiannya di Indonesia.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktur RS. Kanker Dharmais, Kepala Bagian Penelitian dan Pengembangan RS. Kanker Dharmais, dr. Liliana, dr. Christine dan staf instalasi Patologi Klinik RS. Kanker Dharmais, Kepala Bagian Radio terapi dan staf RS. Kanker Dharmais, Kepala Instalasi Bank Darah dan staf RS. Kanker Dharmais yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian dan izin menggunakan fasilitas yang ada di RS. Kanker Dharmais. Terima kasih diucapkan kepada Kepala Pusat Kerjasama Luar Negeri dan dr. Doddy Izwardy selaku Kepala Bidang Bilateral dan Multilateral PKLN, Kemenkes RI yang telah memberi kemudahan penulis dalam melakukan penelitian.

Daftar Pustaka

1. Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion council. Guidelines for prevention of transfusion associated graft versus host disease. 1st ed. 2011. [diakses tanggal 14 September 2015]. Tersedia di <http://www.anzsb.org.au/publications/preventionofta-gvhd.pdf>.
2. Rühl H, Bein G, Sachs UJ. Transfusion-associated graft-versus-host disease. *Transfus Med Rev.* 2009;23(1):62-71. doi: 10.1016/j.tmr.2008.09.006.
3. Dwyre DM, Holland PV. Transfusion-associated graft-versus-host disease. *Vox Sang.* 2008;95:85-93.
4. Treleaven J, Gennery A, Marsh J, Norfolk D, Page L, Parker A, dkk. Guidelines on the use of irradiated blood components prepared by the British Committee for Standards in Haematology blood transfusion task force. *British Journal of Haematology.* 2011;152(1):35-51. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08444.x.
5. Góes EG, Borges JC, Covas DT, Orellana MD, Palma PV, Morais FR, dkk. Quality control of blood irradiation: determination T cells radiosensitivity to cobalt-60 gamma rays. *Transfusion.* 2006;46(1):34-40.
6. American Association of Blood Banks. AABB Guidelines and Standards for Blood Banks and Transfusion Services, 1–24th edn. Karger AG, Basle, Switzerland. 2006.
7. Asai T, Inaba S, Ohto H. Guidelines for irradiation of blood and blood components to prevent post-transfusion graft-vs.-host disease in Japan. *Transfusion Medicine*, 2000;10:315-20.
8. Kumar H, Gupta PK, Mishra DK, Sarkar RS, Jaiprakash M. Leucodepletion and blood products. *Med. Journal Armed Forces India.* 2006;62:174-177.
9. Setiawan L, dkk. Efek gamma iradiasi dengan blood irradiator gsr-cl terhadap proliferasi

- limfosit. Laporan Penelitian RSU Dharmas; 2014.
10. Olivo RA, da Silva MV, Garcia FB, Soares S, Junior VR, Moraes-Souza H. Evaluation of the effectiveness of packed red blood cell irradiation by a linear accelerator. *Hemoterapia*. 2015;37(3):153-9.
 11. Girish TN, Ramakrishna MN, Devi HP, Damodar S, Gupta R. Transfusion associated graft versus host disease in an immunocompetent individual following coronary artery bypass grafting: case report. *Indian Journal of Critical Care Med*. 2008;12(3):124 – 7.
 12. Button NL, DeWolf WC, Newberger PE, Jacobson MS, Kevy SV: The effect of irradiation on blood components. *Transfusion*. 1981;21:419.
 13. Luban NL, Drothler D, Moroff G, Quinones R. Irradiation of platelet components: inhibition of lymphocyte proliferation assessed by limiting-dilution analysis. *Transfusion*. 2000;40(3):348–52.
 14. Moroff G, Luban NLC. The irradiation of blood and blood components to prevent graft-versus-host disease: Technical issues and guidelines. *Transfusion Medicine Reviews*. 1997;11(1):15-26.