

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Korelasi Mutasi JAK2 V617F dengan Keparahan Klinis pada Pasien Neoplasma Myeloproliferatif yang Memiliki Kromosom Philadelphia Negatif



Penyusun Laporan :

- 1. dr. Santosa, SpPD**
- 2. dr. Fanti Saktini**
- 3. dr. Puspita Kusuma Dewi**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNDIP
Jl. Dr. Sutomo No. 18, Semarang 50231
Tlp. (024) 8311480/8311523; Fax (024) 8446905
2011**

HALAMAN PENGESAHAN

Penelitian berjudul “Korelasi Mutasi JAK2 V617F dengan Keparahan Klinis pada Pasien Neoplasma Myeloproliferatif yang Memiliki Kromosom Philadelphia Negatif” ini dinyatakan telah diperbaiki sesuai masukan Tim Panel pada Seminar Hasil RISBIN IPTEKDOK Tahun 2011 pada tanggal 12-14 Desember 2011.

Semarang, 27 Desember 2011
Ketua Tim Pelaksana,

dr. Santosa, SpPD, FINASIM
NIP. 1974 0526 2008 01 1005

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro

dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR
NIP. 1956 0806 1985 03 2001

SURAT KEPUTUSAN PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan berdasar Surat Keputusan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Nomor : HK.03.05/1/393/2011 tentang Penetapan Tim Pelaksana Riset Pembinaan Ilmu Pengetahuan Kedokteran Tahun 2011.

Sumber dana penelitian ini adalah dari DIPA Sekretariat Badan Litbangkes Nomor: 0682/024.11.1.01/00/2011 sebesar Rp. 144.916.708,00.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena berkat limpahan karunia-Nya Laporan Akhir Penelitian dengan judul “Korelasi Mutasi JAK2 V617F dengan Keparahan Klinis pada Pasien Neoplasma Myeloproliferatif yang Memiliki Kromosom Philadelphia Negatif” ini dapat diselesaikan dengan baik. Penyusunan laporan ini merupakan bagian penting dari rangkaian kegiatan Riset Pembinaan Ilmu Pengetahuan Kedokteran (RISBIN IPTEKDOK) Tahun 2011 yang diselenggarakan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Badan Litbangkes) Kementerian Kesehatan RI.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah khazanah pengetahuan dalam ilmu pengetahuan kedokteran, khususnya hematologi-onkologi, mengenai peran mutasi *Jak2* V617F terhadap karakteristik klinis penderita Neoplasma Myeloproliferatif. Selain itu, diharapkan penelitian ini juga dapat memberikan data dasar untuk penggunaan mutasi *Jak2* V617F sebagai biomarker diagnosis, dan pada saatnya nanti, sebagai biomarker target terapi spesifik *Jak2 inhibitor* yang saat ini tengah dalam uji klinis di lingkup internasional.

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Badan Litbangkes Kemenkes RI selaku penyelenggara RISBIN IPTEKDOK Tahun 2011 yang telah membiayai penelitian ini. Terima kasih juga ditujukan kepada para staf Divisi Hematologi-Onkologi Medik RSUP Dr. Kariadi Semarang, Dekan Fakultas Kedokteran UNDIP, Direktur beserta staf Laboratorium *Center for Biomedical Research* FK Undip Semarang, dan staf laboratorium Genetika BPPT Serpong yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini.

Kami menyadari bahwa masih ada kekurangan dan keterbatasan dalam laporan penelitian ini, maka segala kritik dan saran akan penulis terima dengan tangan terbuka. Akhirnya, Semoga Tuhan YME senantiasa meridhai dan memberikan petunjuk kepada kita semua dalam setiap langkah kita mengembangkan ilmu pengetahuan yang bermanfaat bagi sesama.

Semarang, 27 Desember 2011,

Tim Peneliti

RINGKASAN EKSEKUTIF

Neoplasma myeloproliferatif terdiri dari Polisitemia Vera (PV), Trombositemia Esensial (TE), Myelofibrosis Primer (MFP), dan leukemia myeloid kronis (LMK). Mutasi *JAK2 V617F* merupakan mutasi yang paling sering dijumpai pada neoplasma myeloproliferatif dengan kromosom Philadelphia negatif. Terjadi pada ~95% kasus PV, ~50% kasus TE dan pada ~65% kasus MFP.³ Mutasi *JAK2 V617F* dihubungkan dengan resiko trombosis pada pasien PV dan ET pruritus pada PV, splenomegali, dan transformasi leukemik pada MFP. Mutasi *JAK2 V617F* dapat menjadi target terapi spesifik dari *Jak2 inhibitors* yang tengah dikembangkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi mutasi *JAK2 V617F* dengan keparahan klinis pada pasien Neoplasma Myeloproliferatif yang memiliki kromosom Philadelphia negatif.

Pengumpulan sampel secara *consecutive sampling* dilakukan di RSUP Dr. Kariadi Semarang. Data klinis dan parameter hematologi didapatkan dari anamnesis dan rekam medis. Pemeriksaan sitogenetika dilakukan dari sumsum tulang mencari kromosom Philadelphia. Darah diekstraksi menjadi DNA dan dianalisis menggunakan *Amplification Refractory Mutation System polymerase chain reaction (ARMS-PCR)* untuk mengetahui mutasi *JAK2 V617F*.

Mutasi *Jak2 V617F* ditemukan pada 14 (73,68%) sampel kasus, ia dapat menjadi biomarker diagnostik kasus NMP. Sebaliknya, kontrol non-NMP menunjukkan hasil yang negatif. Meski secara statistik tidak didapatkan hubungan yang bermakna, hasil penelitian ini menunjukkan efek mutasi *Jak2 V617F* terhadap terjadinya eritrositosis dan trombosis. Sebaliknya tidak ditemukannya mutasi, menunjukkan efek terhadap terjadinya perdarahan.

Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik, diperlukan penelitian berikutnya dengan periode penelitian lebih lama atau *multi-center* untuk memperbesar jumlah sampel, atau desain *cohort* untuk mengetahui perjalanan penyakit terutama transformasi ke arah leukemia, respon terhadap terapi, dan *survival*.

ABSTRAK

Latar Belakang: Penyakit myeloproliferatif kronis merupakan penyakit sel punca klonal hematopoiesis yang ditandai oleh proliferasi satu atau lebih jenis sel myeloid di sumsum tulang dan meningkatnya jumlah sel-sel matur dan imatur di darah tepi. William Damashek pada tahun 1951 memperkenalkan istilah “neoplasma myeloproliferatif” mengacu pada Polisitemia Vera (PV), Trombositemia Esensial (TE), Myelofibrosis Primer (MFP), dan leukemia myeloid kronis (LMK). Mutasi *JAK2* V617F merupakan mutasi yang paling sering dijumpai pada neoplasma myeloproliferatif dengan kromosom Philadelphia negatif. Terjadi pada ~95% kasus PV, ~50% kasus TE dan pada ~65% kasus MFP.³ Mutasi *JAK2* V617F dihubungkan dengan resiko trombosis pada pasien PV dan ET pruritus pada PV, splenomegali, dan transformasi leukemik pada MFP.

Tujuan: Mengetahui korelasi mutasi *JAK2* V617F dengan keparahan klinis pada pasien Neoplasma Myeloproliferatif yang memiliki kromosom Philadelphia negatif.

Metode: Pengumpulan sampel secara *consecutive sampling* di RSUP Dr. Kariadi Semarang. Data klinis dan parameter hematologi didapatkan dari anamnesis dan rekam medis. Pemeriksaan sitogenetika dilakukan dari sumsum tulang mencari kromosom Philadelphia. Darah diekstraksi menjadi DNA dan dianalisis menggunakan *Amplification Refractory Mutation System polymerase chain reaction (ARMS-PCR)* untuk mengetahui mutasi *JAK2* V617F.

Hasil: Mutasi *Jak2* V617F ditemukan pada 14 (73,68%) sampel kasus, ia dapat menjadi biomarker diagnostik kasus NMP. Sebaliknya, kontrol non-NMP menunjukkan hasil yang negatif. Subyek dengan mutasi positif lebih tinggi frekuensinya yang memiliki Hb > 18 g% (35,7% vs 0%), Ht > 55% (23,1% vs 0%), leukosit > 22.000/mm³, riwayat trombosis (42,9% vs 0%). Sementara subyek dengan mutasi negatif memiliki frekuensi lebih tinggi pada subyek dengan hepatomegali > 2 cm di bawah arkus kosta, riwayat perdarahan mayor, anemia berat, dan tranfusi PRC. Trombosit > 1.000.000/mm³ lebih banyak ditemukan pada subyek tanpa mutasi walaupun riwayat trombosis lebih banyak pada subyek dengan mutasi.

Kesimpulan: Meski secara statistik tidak didapatkan hubungan yang bermakna, hasil penelitian ini menunjukkan efek mutasi *Jak2* V617F terhadap terjadinya eritrositosis dan trombosis. Sebaliknya tidak ditemukannya mutasi, menunjukkan adanya efek mutasi terhadap terjadinya perdarahan.

Kata kunci: neoplasma myeloproliferatif, polisitemia vera, trombositemia esensial, myelofibrosis primer, *Jak2* V617F, kromosom Philadelphia-negatif, ARMS-PCR, biomarker

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Surat Keputusan Penelitian	iii
Kata Pengantar	iv
Ringkasan Eksekutif	v
Abstrak	vi
Daftar Anggota Tim Peneliti	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel.....	ix
Daftar Gambar	x
Daftar Lampiran	xi
LAPORAN PENELITIAN	1
A. Pendahuluan	1
B. Tujuan Penelitian	2
C. Metode	3
D. Hasil dan Pembahasan	14
E. Kesimpulan dan Saran	18
Ucapan Terima Kasih	19
Daftar Kepustakaan	20
Lampiran	22

DAFTAR TABEL

1. Tabel 1. Distribusi diagnosis sampel.....	14
2. Tabel 2. Karakteristik sampel	15
3. Tabel 3. Hasil analisis mutasi Jak2 V617F dengan ARMS-PCR	16
4. Tabel 4. Keparahan klinis pada NMP.....	17

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 1. Deteksi mutasi Jak2 V617F menggunakan ARMS-PCR	9
2. Gambar 2. Amplifikasi untuk cycle sequencing.....	11
3. Gambar 3. Hasil sequencing menggunakan primer forward.....	12
4. Gambar 4. Hasil sequencing menggunakan primer reverse.....	12

DAFTAR LAMPIRAN

1. Kriteria Diagnosis Neoplasma Myeloproliferatif dari WHO 2008	22
2. <i>Ethical Clearance</i>	24
3. Format Catatan Medik Penelitian	25
4. Hasil analisis kromosom sumsum tulang	27
5. Sekuens gen <i>Jak2</i>	29
6. Desain Primer	31
7. <i>Informed consent</i>	33