

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Polisitemia Vera

2.1.1 Sejarah

Polisitemia vera pertama kali diperkenalkan pada tahun 1882 oleh Louis Henri Vaquez^{20,21} kemudian diperjelas oleh William Osler (1849-1919) pada tahun 1903.²² Pada tahun 1951, William Dameshek mengategorikan PV menjadi salah satu kelainan mieloproliferatif.²³ Penelitian klinik mengenai penyakit ini secara formal dimulai pada tahun 1967 Louis Wasserman(1912-1999) dan mendirikan *Polycythemia Vera Study Group* (PVSG). PVSG telah melakukan berbagai penelitian klinik tentang PV dan PVSG merupakan organisasi yang pertama kali menentukan kriteria diagnosis untuk PV²⁴ sebelum WHO menetapkan perubahan-perubahan pada kriteria tersebut dimana WHO menetapkan PV sebagai keganasan myeloid. Kriteria terbaru yang ditetapkan oleh WHO adalah adanya mutasi *Jak2* dan abnormalitas morfologi sumsum tulang.⁸

2.1.2 Epidemiologi

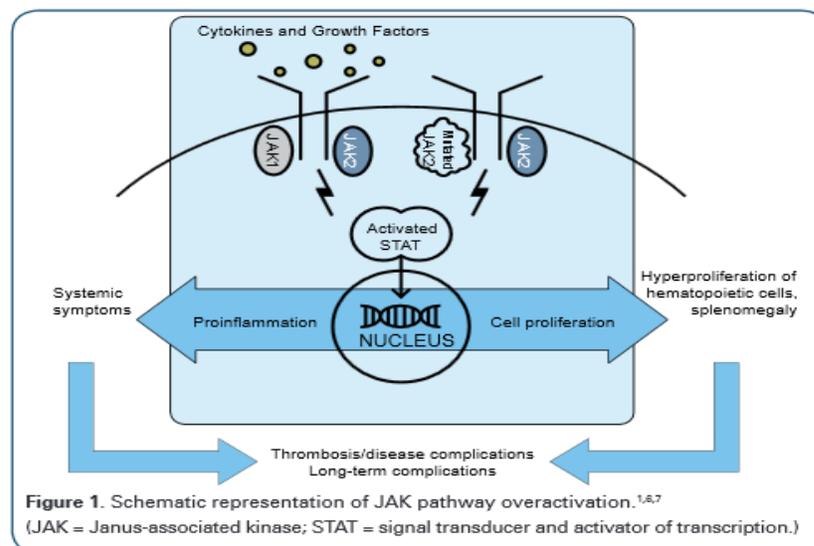
Berdasarkan penelitian terakhir di Eropa, didapatkan insidensi dari PV yaitu 0,4-2,8/100.000 penduduk per tahun. Sementara pada penelitian-penelitian sebelumnya yaitu 0,68-2,6/100.000 penduduk per tahun.²⁵⁻²⁶ Sedangkan prevalensinya menurut WHO sekitar 0,7-2,6/100.000 penduduk.^{6,27} Penelitian yang dilakukan di Semarang, dari 73,68% penderita yang terdiagnosa keganasan mieloproliferatif

didapatkan hasil mutasi *Jak2* positif pada semua pasien PV.¹⁷ Penyakit PV banyak menyerang usia 50-70 meskipun bisa terjadi pada semua usia termasuk dewasa muda, anak-anak dan remaja.²⁸ PV bisa terjadi pada semua etnis, pada sebuah penelitian didapatkan bahwa keturunan Yahudi mempunyai kasus PV lebih besar daripada negara Perancis (5,8:3)%²⁹

2.1.3 Patogenesis

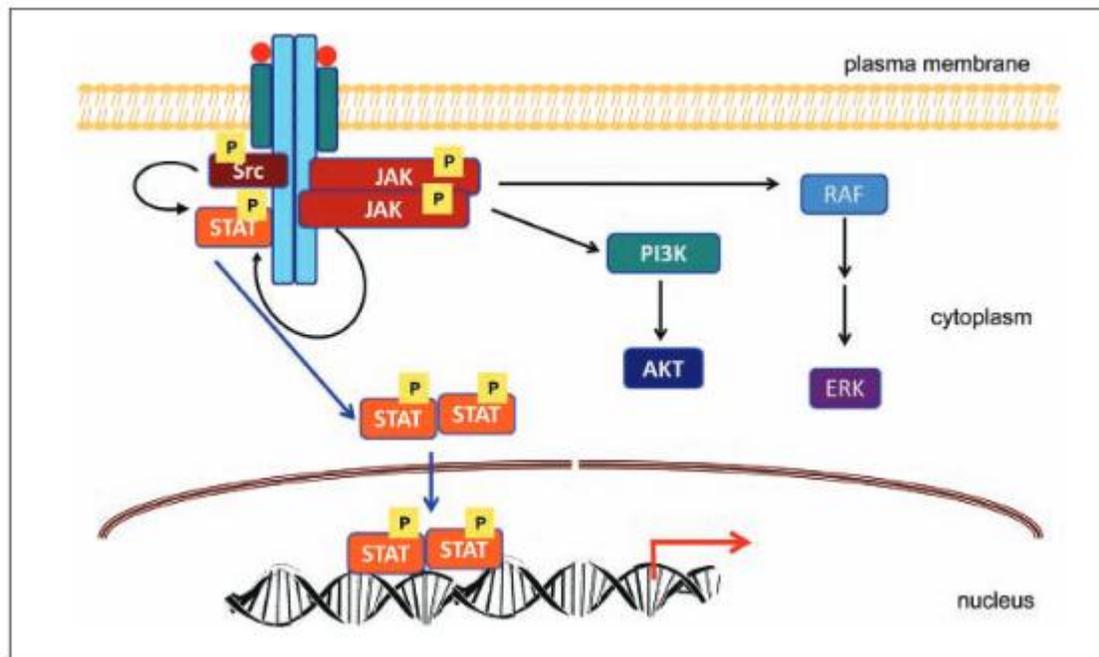
Adanya reaktivitas berlebihan pada sinyal Janus Kinase¹⁸ yaitu tirosin kinase yang berperan dalam proses hematopoetik menyebabkan proliferasi berlebih pada sel-sel hematopoetik dan juga menstimulasi proses inflamasi pembuluh darah.

Proliferasi berlebih pada sel-sel hematopoetik akan menimbulkan abnormalitas pada penilaian klinis pasien seperti abnormalitas hitung darah lengkap dan inflamasi akan memicu timbulnya gejala klinis pada pasien.^{8,20}



Gambar 1. Aktivasi berlebihan pada rantai Janus Kinase²⁰

Saat ligan terikat ke reseptor sitokin akan memicu dimerisasi. *Jaks* yang terikat pada reseptornya melalui domain SH2, mengalami transposforilasi dan setelah itu memposforilasi STAT / *Signal Transducer and Activator of Transcription*. STAT yang teraktivasi akan berdimerisasi dan bertranslokasi ke nukleus, dengan cara mengaktivasi promotor gen. STAT juga bisa diaktivasi secara langsung oleh Src kinase. Pada gambar dibawah, *Jaks* memposforilasi reseptor dan menciptakan *binding site* untuk STAT. Saat itu juga, reseptor sitokin juga mengaktivasi jalur sinyal tambahan yang melibatkan protein seperti *Akt* dan ERK.



Gambar 2. Sinyal yang diperantarai oleh *Jaks*.³⁰

2.1.4 Manifestasi klinik

Gejala pada PV antara lain appendisitis, plethora, gastroenteritis, Budd-Chiari Syndrome, sakit kepala, pruritus, tinnitus, pusing, migraine, sinkop, nyeri perut,

penurunan berat badan, lesu dan sinkop, pingsan.³¹ Gejala lain seperti kekenyangan, gangguan aktivitas, gangguan konsentrasi, gatal selain pruritus, nyeri tulang, demam, dan keringat tengah malam. Kelelahan merupakan keluhan fisik paling banyak pada pasien, sedangkan demam merupakan gejala yang jarang.³²⁻³³

2.1.5 Diagnosis

Menurut WHO tahun 2008, kriteria polisitemia vera adalah sebagai berikut⁸:

Gejala mayor:

- Hb >18.5 pada laki-laki, 16.5 g/dL pada perempuan
- Ditemukan mutasi *Jak2V617F* atau mutasi lain yang sama secara fungsional.

Gejala Minor:

- Hiperselularitas sumsum tulang, eritroid, granulosit dan megakariosit
- Serum EPO (Eritropoetin) dibawah nilai normal
- Pembentukan koloni eritroid endogen

Dikatakan positif jika terdapat kedua gejala mayor dan atau salah satu gejala mayor ditambah salah satu atau lebih diantara tiga gejala minor.

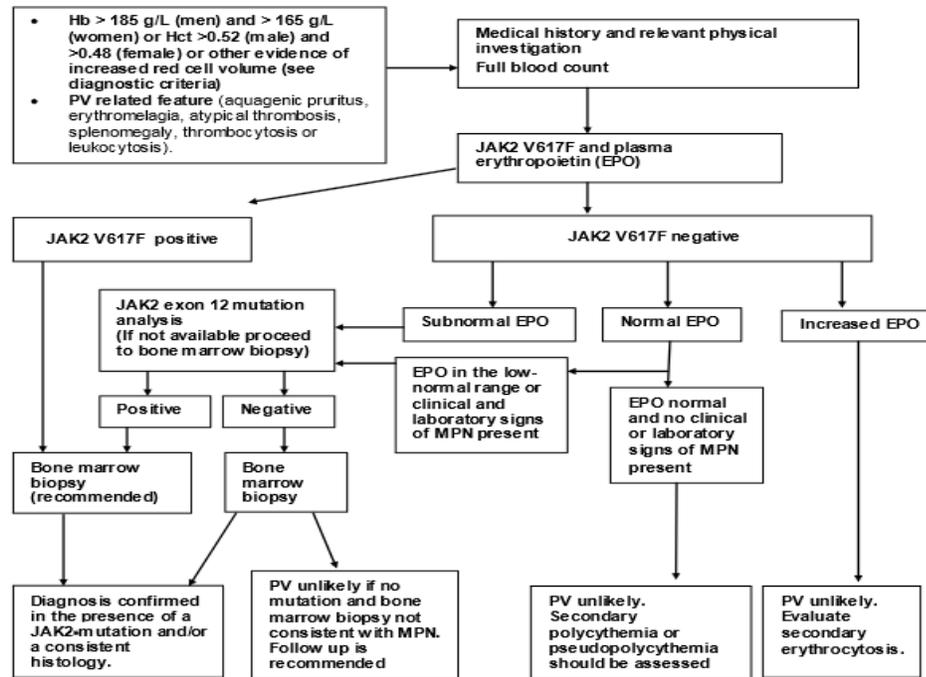
PV bisa juga dicurigai jika Ht/Hb dibawah nilai diagnosis, apabila terdapat gejala PV seperti trombosis arteri/vena khususnya pada pasien muda atau PV yang atipikal (trombosis vena splanknikus, sindroma buchiari, pruritus, eritromelalgia) atau gejala iskemi akral (splenomegali, leukositosis, thrombosis, mikrositosis). Pasien dengan PV tipikal mempunyai *S-eritropoietin (S-EPO)* subnormal ataupun dibawah normal.

Tabel 2. Kriteria diagnosis PV menurut PVSG (*Polisitemia Vera Study Group*) yang sudah dimodifikasi (2007)³⁴

<i>JAK2-positive polycythaemia vera</i>	
A1	High haematocrit (>0.52 in men, >0.48 in women) OR raised red cell mass (>25% above predicted)*
A2	Mutation in <i>JAK2</i>
<i>Diagnosis requires both criteria to be present</i>	
<i>JAK2-negative polycythaemia vera</i>	
A1	Raised red cell mass (>25% above predicted) OR haematocrit <u>></u> 0.60 in men, <u>></u> 0.56 in women.
A2	Absence of mutation in <i>JAK2</i>
A3	No cause of secondary erythrocytosis
A4	Palpable splenomegaly
A5	Presence of an acquired genetic abnormality (excluding <i>BCR-ABL</i>) in the haematopoietic cells
B1	Thrombocytosis (platelet count $>450 \times 10^9/l$)
B2	Neutrophil leucocytosis (neutrophil count $> 10 \times 10^9/l$ in non-smokers; $>12.5 \times 10^9/l$ in smokers)
B3	Radiological evidence of splenomegaly
B4	Endogenous erythroid colonies or low serum erythropoietin
<i>Diagnosis requires A1 + A2 + A3 + either another A or two B criteria</i>	

Pemeriksaan laboratorium terhadap *Jak2V617F* sangat sensitif (95%) dan spesifik 100% untuk membedakan PV dari penyakit lain yang mengalami peningkatan hematokrit.³⁵⁻³⁶ Nilai serum EPO yang subnormal dan tidak didapatkan adanya mutasi *Jak2V617F*, kemungkinan 3% terjadi mutasi *Jak2* pada exon 12, oleh karena itu diperlukan analisis mutasi lebih lanjut pada *Jak2* exon 12 jika ditemukan hasil negatif *Jak2V617F* pada penderita PV.³⁷ Pemeriksaan Sumsum tulang kurang esensial sebagai diagnosis PV.³⁸ Pada PV akan terjadi penurunan zat besi disebabkan oleh penggunaan Fe oleh peningkatan massa eritrosit.³⁹

Diagnostic algorithm for polycythemia vera



Gambar 3. Algoritma diagnosis PV dari PVSG. Jika kriteria 1 dan dua tidak terpenuhi maka biopsy sumsum tulang sangat direkomendasikan.⁴⁰

Gambaran Elektrokardiografi pada Polisitemia Vera:

PV biasanya ditandai dengan adanya hiperviskositas dimana terdapat peningkatan volume plasma dan penurunan saturasi oksigen dalam eritrosit. Hiperviskositas akan meningkatkan myocardial *workload* dan iskemia jaringan. Hal tersebut akan menyebabkan repolarisasi memanjang, ditandai dengan pemanjangan signifikan parameter repolarisasi (QT-QTc, Tp-Te, Tp-Te/QT) dan didapatkan juga Pwave memanjang.⁴¹

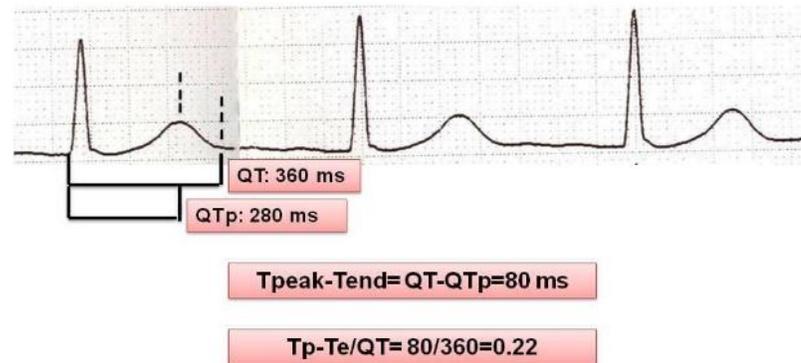


Figure 1. Measurement of repolarization parameters on 12-lead ECG sample.

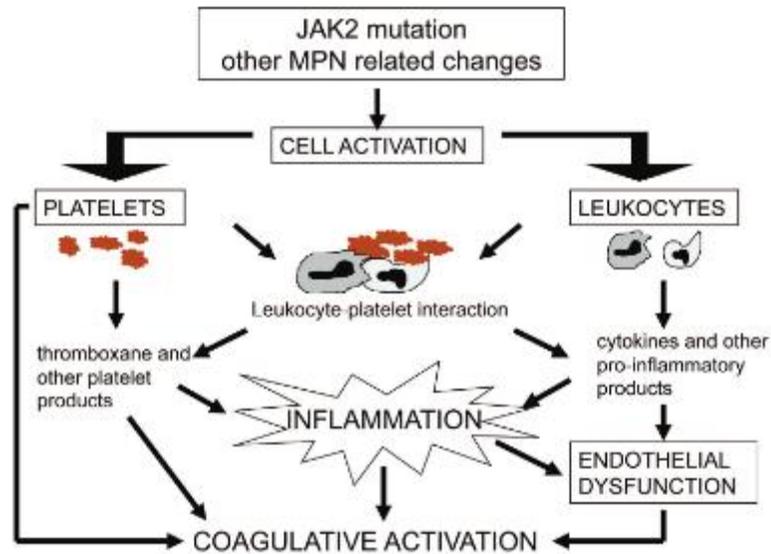
Gambar 4. Gambaran Elektrokardiografi pada Polisitemia Vera

2.1.6 Komplikasi dan Faktor Risiko

Komplikasi yang sering disebabkan oleh penyakit PV antara lain^{3,8,42}

- 1) Trombosis
- 2) Perdarahan
- 3) Transformasi menjadi leukemia

Trombosis merupakan komplikasi paling sering (34-39%). Pada trombosis, mutasi *Jak2* menyebabkan aktivasi dan interaksi leukosit dan trombosit yang menyebabkan inflamasi sehingga menyebabkan disfungsi endotel pembuluh darah. Sedangkan Eritrositosis menyebabkan hiperviskositas darah yang memicu trombosis.⁴²



Gambar 5. Mekanisme trombosis melalui proses aktivasi dan inflamasi¹⁰

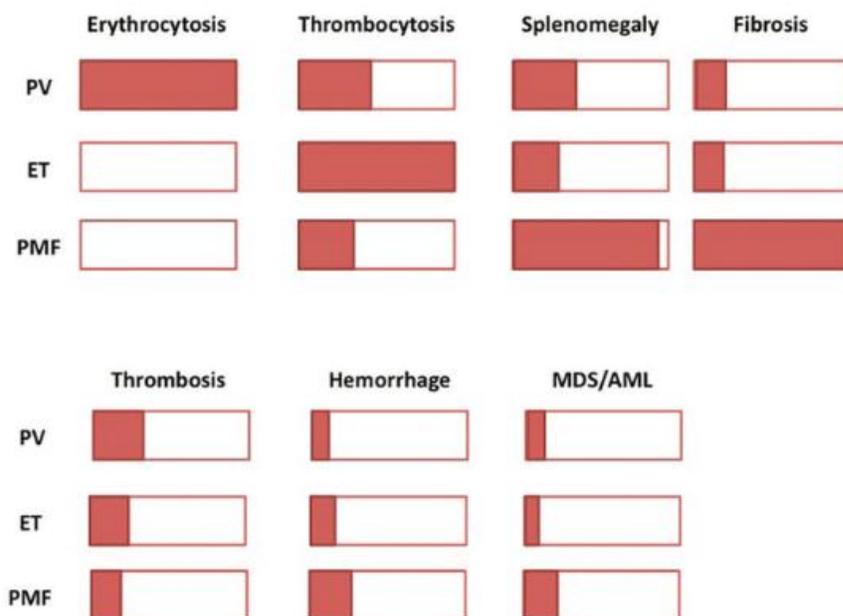
Stratifikasi faktor risiko dari penyakit ini bertujuan untuk memperkirakan akan terjadinya komplikasi thrombosis. Penilaian risiko terdiri dari dua kategori yaitu risiko rendah tanpa trombositosis (usia <60 tahun tanpa riwayat thrombosis, risiko rendah dengan trombosit yang tinggi ($>1.000 \times 10^9/L$). Risiko tinggi yaitu usia >60 tahun dengan riwayat thrombosis. Risiko tinggi dengan PV yang refrakter atau intoleran terhadap hydroxyurea.⁴³

2.1.7 Diagnosis banding

Mutasi *Jak2* tidak hanya terjadi pada penyakit polisitemia vera, namun juga terjadi pada keganasan mieloproliferatif lain seperti *Esensial Trombositemia* (ET)⁶ dan *Mielofibrosis* (MF). Sehingga ketiga penyakit ini mempunyai keterkaitan yang unik.⁴⁴ Mutasi *Jak2* positif pada penderita polisitemia vera sekitar 95%-100%

sementara pada keganasan lain ET dan MF \pm 50-60%. Meskipun eritrositosis bisa membedakan PV dari ET dan MF, namun tidak semua pasien dengan gejala eritrositosis dengan mutasi *Jak2* akan berkembang menjadi PV.⁴⁵⁻⁴⁶

Untuk membedakan PV dan penyakit mieloproliferatif lain bisa dinilai dari proporsi manifestasi klinis dan komplikasi yang ditimbulkan, seperti terlihat pada gambar berikut.



Gambar 6. Proporsi manifestasi klinis dan komplikasi pada keganasan mieloproliferatif positif *Jak2*¹⁴

2.1.8 Prognosis

Penyakit PV mempunyai prognosis yang baik dan jika PV terdeteksi sejak dini dan diterapi, maka angka harapan hidup dapat mencapai >10 tahun lebih panjang pada 80% pasien PV.⁴⁷ Perkembangan penyakit ini akan mengarah ke penyakit

seperti splenomegali, anemia, mielodisplasia dan atau leukemia myeloid akut (*Acute Myeloid Leukaemia/AML*).²⁷ Laki-laki mempunyai angka harapan hidup yang lebih baik dibandingkan perempuan. Jika dibandingkan dengan orang berkulit putih, pasien berkulit hitam mempunyai angka harapan hidup yang sedikit lebih kecil. Penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi usia, angka harapan hidup semakin kecil, dan sebaliknya.¹³

2.1.9 Terapi

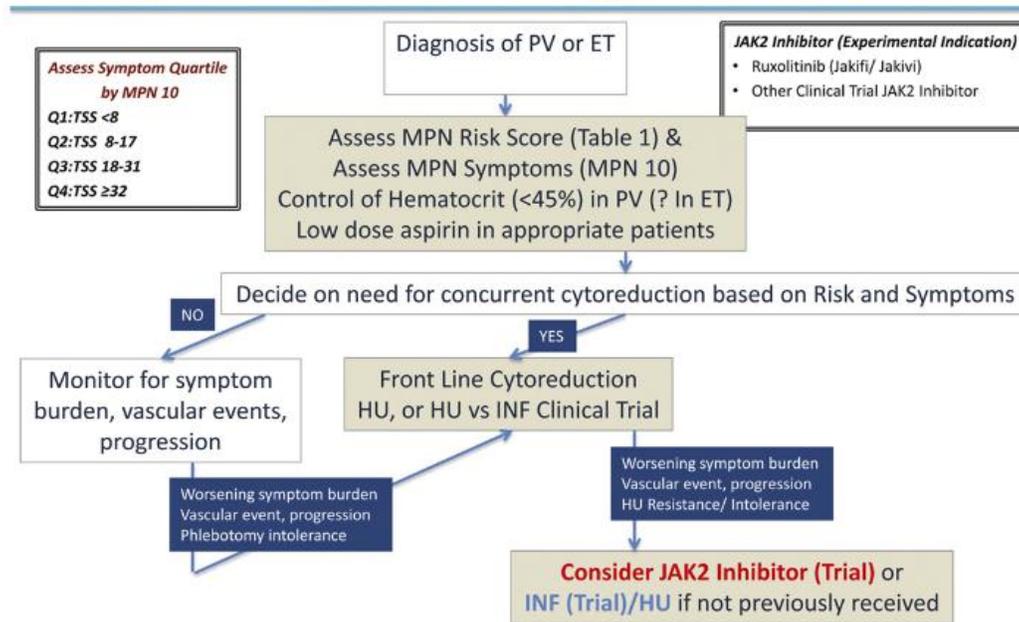
Tujuan utama terapi pada pasien PV yaitu untuk mengurangi risiko thrombosis dan perdarahan, meminimalis risiko berkembangnya PV kearah leukemia akut dan mielofibrosis.³¹

Terapi pada PV antara lain Aspirin, phlebotomy, *cytoreductive* dan *JAK* inhibitor.⁴⁸ Aspirin berperan mengontrol perdarahan. Plebotomi bekerja dengan cara mengontrol kadar hematokrit hingga kadar normal (<45)^{12,49}. Terapi *cytoreductive* lini pertama adalah Hydroxyurea, yang telah terbukti menurunkan komplikasi thrombosis dengan cara menghambat enzim ribonukleotida difosfat yang berperan dalam sintesis DNA, Namun belum bisa dibuktikan apakah obat ini berpotensi leukemik atau tidak.⁵⁰ Interferon alpha berperan sebagai anti proliferasi dan diferensiasi sel. Penelitian klinis dan molekuler dibutuhkan lebih lanjut dibutuhkan untuk menentukan sensitivitas dan resistensi IFN terhadap pasien PV^{51,52}

Contoh dari *Jak* inhibitor antara lain erlotinib dan ruxolitinib. Erlotinib efektif dalam menghambat pertumbuhan sel progenitor hematopoetik. Data menunjukkan bahwa sel progenitor hematopoetik *Jak2V617F* sensitif terhadap

Erlotinib.¹⁵ Namun, pada penelitian selanjutnya menyatakan bahwa erlotinib tidak efektif sebagai terapi PV oleh karena toksisitasnya yang tinggi serta efikasi yang kecil. Diare adalah salah satu efek samping yang paling sering dialami pasien PV dengan terapi erlotinib.⁵³ Sementara belakangan ini, Ruxolitinib salah satu jenis *Jak* inhibitor merupakan preparat yang sangat poten dalam proses inhibisi proliferasi *Jak2V6117F* dengan cara mengurangi proliferasi selular dan menginduksi apoptosis. Ruxolitinib secara potensial menghambat proliferasi *ex vivo* progenitor eritroid pada pasien *Jak2V617F* positif PV.¹⁶ Ruxolitinib paling efektif sebagai terapi splenomegali dan mengurangi gejala pada PV dan PV dengan resisten hydroxyurea.⁵⁴ Pada pasien dengan risiko rendah, yang direkomendasikan sebagai terapi hanya plebotomi dan anti thrombosis profilaksis yaitu aspirin, sementara pada pasien risiko tinggi, diperlukan terapi sitostatik dan terapi lain⁵⁵

Proposed Algorithm of Therapy of ET/PV in 2014

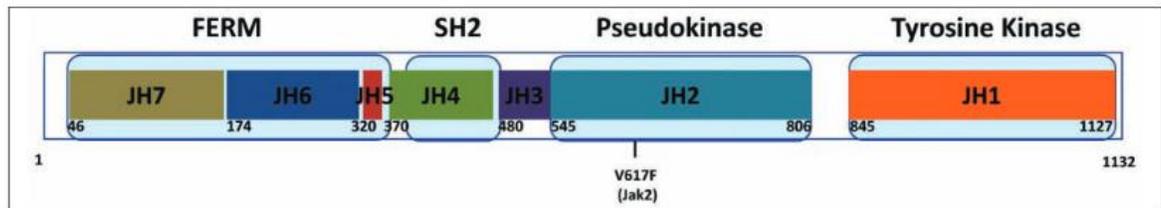


Gambar 7. Algoritma terapi PV⁴⁸

2.2 Mutasi Genetik pada Pasien Polisitemia Vera

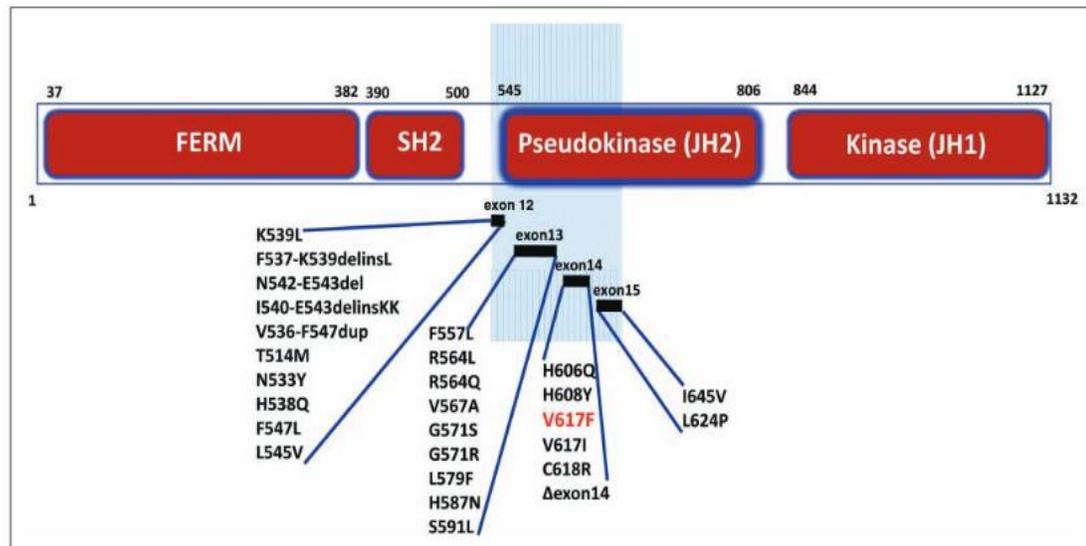
2.2.1 Mutasi *Jak2V617F*

Jak2 adalah kelompok/anggota family Janus tirosin kinase yg berperan dalam transduksi sinyal melalui proses eritropoetin, trombopoetin, faktor stimulasi pembentukan makrofag, dan faktor stimulasi pembentukan granulosit pada sel-sel hematopoiesis, dan juga sebagai transduksi sinyal oleh berbagai reseptor sitokin, seperti interleukin (IL-3, IL-5, dan IL-6).⁵⁶ Janus Kinase (*Jaks*) menempati 4 domain fungsional: domain FERM, domain SH2, domain pseudotyrosine kinase, dan tyrosin kinase aktif terkatalisis.



Gambar 8. JH2 sebagai domain terjadinya mutasi *Jak2V617F* pada keganasan mieloproliferatif.

Normalnya, *Jak2* akan teraktivasi jika reseptor tersebut terikat dengan ligan yang sama namun pada mutasi ini, terjadi perubahan substitusi valin dan fenilalanin pada kodon 617 (*Jak2V617F*)^{57,58}. Mutasi V617F terjadi pada sebuah sel progenitor hematopoetik yang multipoten yang menghasilkan peningkatan eritroid dan myeloid yang mengatur fungsi pertahanan sel-sel non-mutasi.⁵⁹ 95-96% mutasi *Jak2* exon 14 atau dikenal sebagai mutasi *Jak2V617F* didapatkan 95-96% sedangkan mutasi *Jak2* exon 12 ditemukan sebesar \pm 3-5% pada penderita PV.^{37,60} Dengan teknologi terbaru *ARMS-PCR* didapatkan prevalensi mutasi *Jak2* mendekati 100% pada PV dan 62,4-66,7 pada ET dan MF.^{61,62}



Gambar 9. Mutasi *Jak2V617F* exon 14 pada JH2 sebagai domain/reseptor aktivasi kinase³⁰

2.2.2 Mutasi Lain

a. Mutasi *Jak2* exon 12

Mutasi *Jak2* exon 12 ditemukan pada 15 dari 409 (3,7%) pasien eritrositosis dan pasien suspek PV tanpa mutasi *Jak2V617F*. Mutasi *Jak2* exon 12 ini mempunyai 9 jenis mutasi yang berbeda dengan 5 jenis subtype yang sudah diketahui dan 4 sudah terpublikasikan (D544-L545del, H538DK539L540S, H538-K539del, V536-F547). Pada mutasi ini terjadi perubahan pada asam glutamin 543 seperti N542-E543del⁷ dan K539L. Data menunjukkan bahwa mutasi exon 12 terjadi pada kodon 573-543.⁶³

Mutasi *Jak2* exon 12 lebih banyak pada perempuan dibandingkan laki-laki, usia rerata adalah 58 tahun (rentang usia 16-80 tahun) dimana lebih muda dari rentang usia PV *Jak2V617F* (>60 tahun). Nilai trombosit dan leukosit sedikit

meningkat. Hemoglobin mempunyai nilai yang hampir sama dengan mutasi V617F (150g/L vs 158g/L). Beberapa kasus mutasi *Jak2* exon 12 mempunyai nilai leukosit dan trombosit) yang lebih rendah dibandingkan mutasi V617F (Leukosit: $6.2 \times 10^9/L$ vs. $11.8 \times 10^9/L$); trombosit: $282 \times 10^9/L$ vs. $479 \times 10^9/L$). Organomegali terjadi pada 1 dari 8 pasien (12%). Penelitian menunjukkan bahwa pada PV dengan mutasi *Jak2* exon 12, wanita lebih berisiko dan onset yang lebih muda dibandingkan dengan PV dengan mutasi *Jak2V617F*.⁶⁴

b. Mutasi gen MPL (*Myeloproliferative Leukemia*)

Gen MPL (*myeloproliferative leukemia virus oncogene homology*) merupakan superfamili dari hematopoetin dan berperan mengaktifkan ligan trombopoetin yang memfasilitasi proses hematopoiesis serta pertumbuhan dan diferensiasi megakariosit. Mutasi MPL mempunyai 4 jenis mutasi somatik, sub tipe pada keganasan mieloproliferatif termasuk PV yaitu W515L dan W515K. MPL mengkode sebuah protein asam amino-635 (CD110) dengan 4 domain fungsional. CD110 dan trombopoetin (TPO) mempunyai peran penting dalam proses megakariopoiesis. Saat Trombopoetin (TPO) terikat dengan CD110 secara tidak langsung akan mengaktifasi STAT.⁶⁵ Pada penelitian ini, 2 dari 20 pasien suspek PV tidak mengalami mutasi *Jak2* baik V617F maupun exon 12 sesuai dengan kriteri WHO (2008), namun mengalami mutasi MPL. Kedua pasien ini mempunyai nilai trombosit dan leukosit yang lebih rendah ($p < 0,0001$; $p = 0,023$) dibandingkan dengan pasien PV *Jak2V617F*.⁶⁶