

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam Disertasi.....	ii
Prasyarat Gelar Doktor.....	iii
Lembar Pengesahan.....	iv
Penetapan Panitia Penguji.....	v
Surat Pernyataan Orisinalitas Disertasi.....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN.....	xiii
SUMMARY.....	xv
ABSTRAK.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
DAFTAR ISI.....	xxii
DAFTAR TABEL.....	xxiii
DAFTAR GAMBAR.....	xxiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xxvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxix
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1 Tujuan umum.....	6
1.3.2 Tujuan khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Manfaat teoritis.....	7
1.4.2 Manfaat praktis.....	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Leukemia Mieloid Akut.....	8
2.2 Struktur Gen dan Reseptor <i>FLT3</i>	13
2.2.1 Sintesis dan aktivasi <i>FLT3</i>	14
2.2.2 Transduksi jaringan sinyal yang diaktivasi oleh <i>FLT3-WT</i> (<i>Wild Type</i>).....	18
2.2.3 Ligan <i>FLT3</i>	19
2.3 Gen <i>FLT3</i> dan Leukemia Mieloid Akut.....	20
2.3.1 Mutasi gen <i>FLT3-ITD</i>	21
2.3.2 Mutasi gen <i>FLT3-TKD (D835)</i>	24
2.4 Hubungan Mutasi Gen <i>FLT3</i> pada Prognosis LMA terkait Jumlah <i>Blast</i> dan status ekspresi <i>CD34</i>	26

2.5 Ekspresi <i>Cyclin D1</i> sebagai Penanda Aktivitas Jalur Proliferasi dan <i>Bcl-xL</i> sebagai Penanda Aktivitas Antiapoptosis Sel <i>Blast LMA</i>	32
2.6 <i>hENTI</i> (<i>Human Equilibrative Nucleoside Transporter 1</i>).....	35
2.7 Pengobatan Leukemia Mieloid Akut pada Anak dan Dewasa.....	39
2.8 Analog Nukleosida <i>Ara-C</i> Dalam Pengobatan Leukemia Mieloid Akut.....	43
2.9 Hubungan Mutasi <i>FLT3-ITD</i> , <i>-TKD (D835)</i> dengan <i>hENTI</i>	48
2.10 Kerangka Teori.....	50
2.11 Penjelasan Kerangka Teori.....	51
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS.....	53
3.1 Kerangka Konseptual.....	53
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual.....	53
3.3 Hipotesis Penelitian.....	55
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	56
4.1 Jenis Rancangan Penelitian.....	56
4.2 Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel.....	56
4.2.1 Populasi penelitian.....	56
4.2.2 Sampel penelitian.....	57
4.2.3 Besar sampel.....	57
4.2.4 Teknik pengambilan sampel.....	58
4.2.5 Kriteria penerimaan dan penolakan sampel.....	58
4.2.5.1 Kriteria penerimaan sampel.....	58
4.2.5.2 Kriteria penolakan sampel.....	58
4.3 Identifikasi Variabel.....	59
4.3.1 Variabel penelitian.....	59
4.3.1.1 Variabel bebas.....	59
4.3.1.2 Variabel tergantung.....	59
4.3.2 Definisi operasional variabel.....	59
4.4 Bahan Penelitian.....	64
4.4.1 Spesimen penelitian.....	64
4.4.2 Bahan untuk pemeriksaan mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> , <i>-TKD(D835)</i>	64
4.4.2.1 Bahan untuk ekstraksi <i>DNA</i>	64
4.4.2.2 Bahan untuk pemeriksaan <i>PCR</i> dan <i>PCR-RFLP</i> mutasi gen <i>FLT-ITD</i> , <i>- TKD(D835)</i>	64
4.4.3 Bahan untuk pemeriksaan ekspresi <i>CD34</i> , <i>Bcl-xL</i> , <i>cyclin D1</i> , <i>hENTI</i>	65
4.4.3.1 Bahan persiapan spesimen <i>immunophenotyping</i>	65
4.4.3.2 Bahan pemeriksaan ekspresi <i>CD34</i> , <i>cyclin D1</i> , <i>Bcl-xL</i> , <i>hENTI</i>	65
4.5 Instrumen Penelitian.....	65
4.5.1 Instrumen pengambilan dan pemeriksaan spesimen sumsum tulang.....	65

4.5.2 Instrumen pemeriksaan <i>PCR, PCR-RFLP</i>	66
4.5.3 Instrumen pemeriksaan <i>immunophenotyping</i>	66
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	67
4.7 Kerangka Operasional Penelitian.....	67
4.8 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data.....	68
4.8.1 Pengambilan dan Penyimpanan Spesimen Sumsum Tulang....	68
4.8.2 Deteksi Mutasi Gen <i>FLT3-ITD, -TKD (D835)</i>	68
4.8.2.1 Protokol ekstraksi dan purifikasi <i>DNA</i> (dengan <i>QIAamp DNA Blood mini kit QIAGEN</i>).....	68
4.8.2.2 <i>PCR</i> untuk deteksi mutasi gen <i>FLT3-ITD</i>	68
4.8.2.3 <i>PCR-RFLP</i> untuk deteksi mutasi gen <i>FLT3-TKD (D835)</i>	69
4.8.3 Pemeriksaan ekspresi <i>CD34, Bcl-xL, cyclin D1</i> dan <i>hENT1</i> dengan <i>flowcytometry</i>	70
4.8.3.1 Protokol pemeriksaan <i>ekspresi CD34</i> dan <i>hENT1</i>	70
4.8.3.2 Protokol pemeriksaan <i>cyclin D1</i> dan <i>Bcl-xL</i>	70
4.8.3.3 Pembacaan di alat <i>Facs Calibur</i>	71
4.9 Unit Analisis dan Analisis Statistik.....	71
4.9.1 Analisis deskriptif.....	71
4.9.2 Analisis inferensial.....	71
 BAB 5. HASIL PENELITIAN.....	 73
5.1 Karakteristik Subyek Penelitian.....	73
5.1.1 Distribusi jenis kelamin dan usia subyek penelitian.....	73
5.1.2 Distribusi subtype leukemia mieloid akut berdasarkan klasifikasi <i>French American British (FAB)</i>	74
5.2 Hasil <i>PCR</i> Pemeriksaan Mutasi Gen <i>FLT3-ITD</i>	75
5.3 Hasil <i>PCR</i> dan <i>RFLP</i> Pemeriksaan Mutasi Gen <i>FLT3-TKD(D835)</i>	79
5.4 Hasil Pemeriksaan Jumlah <i>Blast</i>	82
5.5 Hasil Pemeriksaan Status Ekspresi <i>CD34</i>	84
5.6 Hasil Pemeriksaan Ekspresi <i>hENT1</i>	85
5.7 Hasil Pemeriksaan Ekspresi <i>Cyclin D1</i>	87
5.8 Hasil Pemeriksaan Ekspresi <i>Bcl-xL</i>	88
5.9 Analisis Hubungan Status Mutasi <i>FLT3-ITD</i> dengan Ekspresi <i>Cyclin D1, Bcl-xL</i> dan Jumlah <i>Blast</i>	90
 BAB 6. PEMBAHASAN.....	 92
6.1 Karakteristik Subyek Penelitian.....	92
6.1.1 Distribusi jenis kelamin dan usia subyek penelitian.....	92
6.1.2 Distribusi subtype leukemia mieloid akut berdasarkan klasifikasi <i>French American British (FAB)</i>	94
6.2 Hasil <i>PCR</i> Pemeriksaan Mutasi Gen <i>FLT3-ITD</i>	96
6.3 Hasil <i>PCR</i> dan <i>RFLP</i> Pemeriksaan Mutasi Gen <i>FLT3-TKD (D835)</i>	101
6.4 Hasil Pemeriksaan Jumlah <i>Blast</i>	103

6.5 Hasil Pemeriksaan Status Ekspresi <i>CD34</i>	104
6.6 Hasil Pemeriksaan Ekspresi <i>hENT1</i>	106
6.7 Hasil Pemeriksaan Ekspresi <i>cyclin-D1</i>	108
6.8 Hasil Pemeriksaan Ekspresi <i>Bcl-xL</i>	109
6.9 Analisis Hubungan Status Mutasi <i>FLT3-ITD</i> dengan Ekspresi <i>Cyclin D1</i> , <i>Bcl-xL</i> dan Jumlah <i>Blast</i>	112
6.10 Temuan Baru.....	113
6.11 Keterbatasan Penelitian.....	115
 BAB 7. PENUTUP.....	 116
7.1 Kesimpulan.....	116
7.2 Saran.....	116
 KEPUSTAKAAN.....	 118
LAMPIRAN.....	128

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Temuan sitogenetik dan molekuler yang digunakan untuk klasifikasi prognosis / resiko pada LMA..... 9
Tabel 2.2	Protokol kemoterapi LMA anak menurut IDAI (EKZ/AMC 83 dengan modifikasi..... 40
Tabel 4.1	Definisi operasional variabel penelitian..... 59
Tabel 4.2	Jadwal pelaksanaan penelitian..... 69
Tabel 4.3	Kondisi <i>PCR</i> Deteksi Mutasi <i>FLT3-ITD</i> 69
Tabel 4.4	Kondisi <i>PCR</i> Deteksi Mutasi <i>FLT3-TKD (D835)</i> 67
Tabel 5.1	Distribusi jenis kelamin dan rentang usia penderita LMA 74
Tabel 5.2	Distribusi subtype leukemia mieloid akut berdasarkan klasifikasi <i>FAB</i> 75
Tabel 5.3	Jumlah <i>blast</i> pada penderita LMA dengan status mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> positif dan negatif..... 84
Tabel 5.4	Status ekspresi <i>CD34</i> pada penderita LMA dengan status mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> positif dan negatif..... 84
Tabel 5.5	Ekspresi <i>hENT1</i> pada penderita LMA dengan status mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> positif dan negatif..... 86
Tabel 5.6	Ekspresi <i>cyclin D1</i> pada penderita LMA dengan status mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> positif dan negatif..... 88
Tabel 5.7	Ekspresi <i>Bcl-xL</i> pada penderita LMA dengan status mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> positif dan negatif..... 89
Tabel 5.8	Hasil analisis hubungan status mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> dengan ekspresi <i>cyclin D1</i> , <i>Bcl-xL</i> dan jumlah <i>blast</i> 91

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Skema monomer reseptor <i>FLT3</i> 16
Gambar 2.2	Aktivasi reseptor <i>FLT3</i> 18
Gambar 2.3	Struktur reseptor <i>FLT3</i> 25
Gambar 2.4	Diagram mutasi gen <i>FLT3</i> 25
Gambar 2.5	Tahap perkembangan sel deret granulositik disertai gambaran ekspresi fenotipnya..... 29
Gambar 2.6	Diagram topologi <i>hENTI</i> 37
Gambar 2.7	Algoritma terapi pada LMA dewasa..... 42
Gambar 2.8	Struktur analog <i>cytidine</i> 45
Gambar 2.9	Jalur metabolik konversi <i>deoxycytidine</i> dan <i>Ara-C</i> menjadi bentuk trifosfat..... 46
Gambar 2.10	Kerangka teori..... 50
Gambar 3.1	Kerangka konsep..... 53
Gambar 4.1	Rancangan penelitian..... 56
Gambar 4.2	Kerangka operasional penelitian..... 67
Gambar 4.3	Skema diagram regio amplifikasi <i>PCR</i> daerah <i>activating loop</i> yang didigesti dengan enzim <i>EcoRV</i> 70
Gambar 5.1	Hasil pemeriksaan <i>PCR</i> mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> 75
Gambar 5.2	Hasil pemeriksaan <i>PCR</i> mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> 76
Gambar 5.3	Hasil sekuensing sampel penderita LMA dengan mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> 77
Gambar 5.4	Distribusi umur penderita LMA dengan dan tanpa mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> 78
Gambar 5.5	Distribusi subtype LMA berdasarkan klasifikasi <i>FAB</i> penderita LMA dengan dan tanpa mutasi gen <i>FLT3-ITD</i> 78
Gambar 5.6	Hasil <i>PCR</i> pemeriksaan mutasi gen <i>FLT3-TKD(D835)</i> ... 79
Gambar 5.7	Hasil <i>PCR-RFLP</i> pemeriksaan mutasi gen <i>FLT3-TKD(D835)</i> 80
Gambar 5.8	Hasil <i>PCR-RFLP</i> pemeriksaan mutasi gen <i>FLT3-TKD(D835)</i> 80
Gambar 5.9	Hasil sekuensing penderita LMA tanpa mutasi gen <i>FLT3-TKD(D835)</i> 81
Gambar 5.10	Gambaran <i>blast</i> aspirat sumsum tulang penderita LMA-M2 (leukemia mieloid akut dengan maturasi)..... 82
Gambar 5.11	Gambaran aspirat sumsum tulang penderita LMA-M3 (leukemia promielositik akut)..... 83
Gambar 5.12	Hasil pemeriksaan <i>immunophenotyping</i> penderita LMA dengan status ekspresi <i>CD34+</i> 85
Gambar 5.13	Hasil pemeriksaan <i>immunophenotyping</i> penderita LMA

	dengan status ekspresi <i>CD34</i>	85
Gambar 5.14	Ekspresi <i>hENT1</i>	86
Gambar 5.15	Ekspresi <i>cyclin D1</i>	87
Gambar 5.16	Ekspresi <i>Bcl-xL</i>	89
Gambar 5.17	Analisis hubungan status mutasi <i>FLT3-ITD</i> dengan jumlah <i>blast</i> , ekspresi <i>cyclin D1</i> dan ekspresi <i>Bcl-xL</i>	90
Gambar 6.1	Analisis hubungan status mutasi <i>FLT3-ITD</i> dengan jumlah <i>blast</i> , ekspresi <i>cyclin D1</i> , <i>Bcl-xL</i> beserta kandidat petanda lain.....	113

DAFTAR SINGKATAN

<i>AKT</i>	: <i>protein kinase B</i>
<i>API</i>	: <i>activator protein 1</i>
<i>Ara-C</i>	: <i>cytosine arabinoside</i>
<i>Ara-CMP</i>	: <i>cytarabine monophosphate</i>
<i>Ara-CDP</i>	: <i>cytarabine diphosphate</i>
<i>Ara-CTP</i>	: <i>cytarabine triphosphate</i>
<i>Ara-U</i>	: <i>uracil arabinoside</i>
<i>ASXL</i>	: <i>additional sex comb like</i>
<i>ATP</i>	: <i>adenosine tri phosphate</i>
<i>ATR</i>	: <i>ataxia telangiectasia mutated and rad 3</i>
<i>BAD</i>	: <i>Bcl-2 antagonist of cell death</i>
<i>Bax</i>	: <i>Bcl associated X</i>
<i>Bcl</i>	: <i>B cell leukemia</i>
<i>BFU</i>	: <i>burst forming unit</i>
<i>bp</i>	: <i>base pair</i>
<i>C</i>	: <i>carboxyl</i>
<i>CALGB</i>	: <i>cancer and leukemia group B</i>
<i>CBF</i>	: <i>core binding factor</i>
<i>CD</i>	: <i>cluster of differentiation</i>
<i>CDA</i>	: <i>cytidine deaminase</i>
<i>CDK</i>	: <i>cyclin dependent kinase</i>
<i>CEBPA</i>	: <i>CCAAT enhancer binding protein alpha</i>
<i>CFU</i>	: <i>colony forming unit</i>
<i>Chk1</i>	: <i>checkpoint</i>
<i>CNT</i>	: <i>concentrative nucleoside transporter</i>
<i>D</i>	: <i>asam aspartate (asam amino)</i>
<i>dCMP</i>	: <i>deoxy cytarabine monophosphate</i>
<i>DCK</i>	: <i>deoxycytidine kinase</i>
<i>DFS</i>	: <i>disease free survival</i>
<i>DNMT</i>	: <i>DNA metil transferase</i>
<i>DNA</i>	: <i>deoxyribonucleic acid</i>
<i>E</i>	: <i>glutamate(asam amino)</i>
<i>ECD</i>	: <i>extracellular domain</i>
<i>EFS</i>	: <i>event free survival</i>
<i>EKZ/AMC</i>	: <i>Emma Kinder Ziekenhuis / Academisch Medisch Centrum</i>
<i>ENT</i>	: <i>equilibrative nucleoside transporter</i>
<i>ERK</i>	: <i>extracellular signal regulated kinase</i>
<i>ETO</i>	: <i>eight twenty one</i>
<i>EZH2</i>	: <i>enhancer zeste homolog 2</i>
<i>FL</i>	: <i>FLT3 ligand</i>
<i>FLT3</i>	: <i>FMS like tyrosine kinase</i>
<i>FLK</i>	: <i>fetal liver tyrosine kinase</i>

<i>GATA1</i>	: <i>GATA binding factor 1</i>
<i>G</i>	: <i>gap (siklus sel)</i>
<i>H</i>	: <i>histidin(asam amino)</i>
<i>hENT1</i>	: <i>human equilibrative nucleoside transporter – 1</i>
<i>Hif-1</i>	: <i>hypoxia inducible factor-1</i>
<i>HIV</i>	: <i>human immunodeficiency virus</i>
<i>HOX</i>	: <i>homeobox</i>
<i>IARC</i>	: <i>International agency for research on cancer</i>
<i>IDH</i>	: <i>isocitrate dehydrogenase</i>
<i>inv</i>	: <i>inversion</i>
<i>ITD</i>	: <i>internal tandem duplication</i>
<i>JM</i>	: <i>juxtamembrane domain</i>
<i>kb</i>	: <i>kilo base</i>
<i>kDa</i>	: <i>kilo Dalton</i>
<i>KI</i>	: <i>kinase insert</i>
<i>LLA</i>	: <i>leukemia limfoid akut</i>
<i>LMA</i>	: <i>leukemia mieloid akut</i>
<i>M</i>	: <i>metionin(asam amino)</i>
<i>Mcl-1</i>	: <i>myeloid cell leukemia -1</i>
<i>mCSF</i>	: <i>macrophage colony stimulating factor</i>
<i>MAPK</i>	: <i>mitogen activated protein kinase</i>
<i>MDS</i>	: <i>myelodisplastic syndrome</i>
<i>MLL</i>	: <i>mixed lineage leukemia</i>
μ <i>M</i>	: <i>micro mollar</i>
<i>MPD</i>	: <i>myeloproliferative disorder</i>
<i>mRNA</i>	: <i>messenger ribonucleic acid</i>
<i>MYC</i>	: <i>(myelocytoma) - master regulator of cell cycle entry</i>
<i>NDP</i>	: <i>nucleoside diphosphate kinase</i>
<i>NF-kB</i>	: <i>nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells</i>
<i>N</i>	: <i>nitrogen</i>
<i>N</i>	: <i>asparagine (asam amino)</i>
<i>NCI</i>	: <i>National cancer institute</i>
<i>NBMMPR</i>	: <i>nitrobenzylmercaptapurine ribosome nucleoside</i>
<i>NPM1</i>	: <i>nucleophosmin 1</i>
<i>NUP98</i>	: <i>nucleoporin 98</i>
<i>NSD1</i>	: <i>nuclear receptor binding SET domain protein 1</i>
<i>OS</i>	: <i>overall survival</i>
<i>PCR</i>	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
<i>PDGF</i>	: <i>platelet derived growth factor</i>
<i>p21</i>	: <i>protein 21</i>
<i>p27</i>	: <i>protein 27</i>
<i>Pim</i>	: <i>provirus integration site for Moloney murine leukemia</i>
<i>PI3K</i>	: <i>phospatidylinositol 3 kinase</i>
<i>PML</i>	: <i>promyelocytic leukemia</i>
<i>PM</i>	: <i>plasma membrane</i>

<i>PLZF</i>	: <i>promyelocytic leukemia zinc finger</i>
<i>RAEB-t</i>	: <i>refractory anemia with excessive blast in transformation</i>
<i>RARA</i>	: <i>retinoic acid receptor alpha</i>
<i>RAS</i>	: <i>rat sarcoma</i>
<i>RFLP</i>	: <i>restriction fragment length polymorphism</i>
<i>RTK</i>	: <i>reseptor tirosin kinase</i>
<i>RUNX1</i>	: <i>Runt-related transcription factor 1</i>
<i>RTK</i>	: <i>reseptor tirosin kinase</i>
<i>S</i>	: <i>sintesis (siklus sel)</i>
<i>SLC29A1</i>	: <i>solute carrier family 29 member 1 (Augustine blood group)</i>
<i>SMRT</i>	: <i>silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptor</i>
<i>STAT</i>	: <i>signal transducer and activator of transcription</i>
<i>STK</i>	: <i>stem cell tyrosine kinase</i>
<i>t</i>	: <i>translocation</i>
<i>TET2</i>	: <i>ten eleven translocation 2</i>
<i>TK1</i>	: <i>tirosin kinase 1</i>
<i>TK2</i>	: <i>tirosin kinase 2</i>
<i>TKD</i>	: <i>tyrosine kinase domain</i>
<i>TM</i>	: <i>transmembrane domain</i>
<i>TP53</i>	: <i>tumor protein 53</i>
<i>V</i>	: <i>valin (asam amino)</i>
<i>WT</i>	: <i>wild type</i>
<i>WHO</i>	: <i>World health organization</i>
<i>Y</i>	: <i>tirosin (asam amino)</i>

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Sertifikat laik etik.....	128
Lampiran 2. <i>Information for consent</i>	129
Lampiran 3. Dokumen pemberian informasi tindakan kedokteran aspirasi dan biopsi sumsum tulang (<i>Information for consent</i>).....	135
Lampiran 4. Lembar persetujuan menjadi partisipan penelitian (<i>informed consent</i>).....	137
Lampiran 5. Analisis statistik.....	138
Lampiran 6. Prosedur isolasi <i>DNA</i>	154
Lampiran 7. Protokol pemeriksaan <i>flowcytometry</i>	156