

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 17	No. 2	Hal. 57–126	Surabaya Maret 2011	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	-------------	------------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 43/DIKTI/Kep/2008, Tanggal 8 Juli 2008

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Pemberian Protein Adhesin 38-kilodalton <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> Peroral Meningkatkan Jumlah Makrofag dan Limfosit Usus Mencit Balb/c (<i>Oral Administration of Mycobacterium Tuberculosis 38-kilodalton Adhesin Protein Increases Macrophages and Lymphocytes in Intestinal Balb/c Mice</i>) Rahma Triliiana, Ade A Kartosen, Dianika P Puspitasari, Sri Murwani, Sanarto Santoso, Maimun Z Arthamin	57-62
Diazo Test as a Screening Test of Typhoid Fever: A Practical Approach (<i>Uji Diazo sebagai Penyaring Demam Tifoid; Sebuah Pendekatan Praktis</i>) J. Nugraha, Meiti Muljanti	63-66
The Diagnostic Value of Heart-type Fatty Acid Binding Protein (h-FABP) Rapid Test Related to Cardiac Troponin I in Non St Elevation Myocardial Infarction (NSTEMI) (<i>Nilai Diagnostik Uji Cepat Heart Type Fatty Acid Binding (h-FABP) Dihubungkan dengan Troponin I pada Non St Elevation Myocardial Infarction (NSTEMI)</i>) RR. Marpaung, Aryati, Sidarti Soehita SFHS, Yogiarto, Yusri	67-71
Kadar Serum Kreatinin dan Kalsium Pasien dengan dan Tanpa Diabetes Jenis (Tipe) II (<i>The Creatinine Level and Potassium Serum in Patients with and without Type II Diabetic</i>) Tonang Dwi Ardyanto, Tahono	72-75
Prokalsitonin sebagai Penanda Pembeda Infeksi Bakteri dan Non Bakteri (<i>Procalcitonin for the Differentiation of Bacterial and Non Bacterial Infection</i>) Bastiana, Aryati, Dominicus Husada, MY. Probohoeheso	76-80
Diagnosis Jangkitan (Infeksi) Virus Dengue dengan Uji Cepat (<i>Rapid Test</i>) IgA Anti-dengue (<i>Diagnosis of Dengue Virus Infection with IgA Anti Dengue Rapid Tests</i>) Sri Kartika Sari, Aryati	81-85
Status Penggumpalan (Agregasi) Trombosit sebagai Faktor Prognostik Terjadinya Keluaran Klinis Strok Infark Mendadak (Strok Infark Akut) (<i>The Platelet Aggregation Test as a Predictor of Clinical Outcome in Acute Infarction Stroke</i>) Linda Rosita, Usi Sukorini, Budi Mulyono	86-96
Hubungan antara Flagging Atypdep di Alat Cell-DYN 3200 dan Keberadaan <i>Plasmodium Spp</i> di dalam Darah Penderita di RSUD Dr. Soetomo Surabaya (<i>Association Between Atypical Depolarization on the Cell-DYN 3200 and the Presence of Plasmodium Spp in Blood in the Dr. Soetomo Hospital Surabaya</i>) Esti Rohani, J. Nugraha	97-101
Korelasi antara Hitung Trombosit dengan Jumlah Cd4 Pasien HIV/AIDS (<i>The Correlation between Thrombocyte and Cd4 Count in HIV/AIDS Patients</i>) M.I. Diah Pramudianti, Tahono	102-106
Pengaruh (Efek) Kemoterapi terhadap Kerja (Aktivitas) Enzim Transaminase di Penderita Kanker Payudara (<i>The Chemotherapy Effect in the Activity of Transaminase Enzymes in Breast Cancer Patients</i>) Helena Leppong, Mutmainnah, Uleng Bahrun	107-109

TELAAH PUSTAKA

Patogenesis dan Pemeriksaan Laboratoprium Mielofibrosis Primer (<i>Pathogenesis and Laboratory Examination of Primary Myelofibrosis</i>) Johanis, Arifoel Hajat	110-120
--	----------------

LAPORAN KASUS

Leukositosis Ber-flagging Bintang (*) Berpotensi Adanya Interferensi Alat Analisis Hematologi Otomatis (<i>Star (*)-flagged Leukocytosis as Indicator of Interfering Factor in Automatic Hematology Analyzer</i>) Christine Sugiarto, Leni Lismayanti, Nadjwa Zamalek Dalimoenthe	121-124
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU	125-126

PATOGENESIS dan PEMERIKSAAN LABORATORIUM MIELOFIBROSIS PRIMER

(*Pathogenesis and Laboratory Examination of Primary Myelofibrosis*)

Johanis, Arifoel Hajat

ABSTRACT

Primary myelofibrosis (PMF) is a neoplastic hematologic disease, characterized by clonal hemopoietic stem cell and collagen accumulation in bone marrow. PMF is not related with underlying myeloproliferative disorders or other diseases. The features of PMF show marrow fibrosis, megakaryocytes and granulocytes proliferation, and extramedullary hematopoiesis. PMF is classified as BCR-ABL-negative myeloproliferative disorders. Diagnosis of PMF is based on clinical symptoms of splenomegaly and myelophthisis; bone marrow biopsy shows granulocytes/megakaryocytes hyperplasia, megakaryocytes dysmorphic and fibrosis; cytogenetic testing for mutation of JAK2V617F⁺, MPLW515L/K⁺ and BCR-ABL. The diagnostic criterion according to the 2008 WHO classification considers major and minor criteria. The primary purpose for treatment is to improve the quality of life by palliative treatment. The five year survival of PMF patients is low.

Key words: Phatogenesis, primary myelofibrosis, laboratory examination

ABSTRAK

Mielofibrosis primer (primary myelofibrosis/PMF) merupakan penyakit keganasan hematologik Ciri PMF berupa kelainan klon hemopoitik sel punca disertai penumpukan kolagen yang berlebihan dalam sumsum tulang. PMF tidak berhubungan dengan penyakit dasar kelainan mieloproliferatif maupun penyakit lainnya. Gambaran PMF adalah fibrosis sumsum tulang, proliferasi megakariosit dan granulosit, dan hematopoisis ekstramedula. tanpa didahului kelainan periapan sumsum (mieloproliferatif) maupun penyakit lainnya. Mielofibrosis primer digolongkan (diklasifikasikan) sebagai BCR-ABL /BCR-ABL-negative myeloproliferative. Diagnosis PMF berdasarkan gejala klinis berupa splenomegali dan mieloptosis; biopsi sumsum tulang yang menunjukkan hiperplasia granulosit/megakariosit, dismorphik megakariosit, dan fibrosis; pemeriksaan sitogenetika terhadap mutasi JAK2V617F⁺, MPLW515L/K⁺, serta BCR-ABL. Patokan diagnosis PMF menurut WHO tahun 2008 terdiri dari patokan mayor dan minor. Tujuan utama pengobatan adalah meningkatkan kualitas kehidupan dengan pengobatan/perawatan paliatif. Angka harapan hidup lima tahun penderita PMF rendah.

Kata kunci: Patogenesis, mielofibrosis primer, pemeriksaan laboratorium

PENDAHULUAN

Mielofibrosis primer merupakan penyakit keganasan hematologis berupa kelainan klon hemopoitik sel punca disertai penumpukan kolagen yang berlebihan dalam sumsum tulang. Mielofibrosis dapat terjadi tanpa didahului kelainan mieloproliferatif maupun penyakit lainnya yang disebut mielofibrosis primer. Beberapa persamaan PMF yang sering digunakan di kepustakaan adalah *agnogenik myeloid metaplasia*, *chronic idiopathic myelofibrosis*, *idiopathic myelofibrosis*, *leucoerythroblastic anemia*, *myelofibrosis with myeloid metaplasia*, dan *myelosclerosis with myeloid metaplasia*.¹⁻³

Mielofibrosis primer digolongkan dalam kelompok gangguan menahun periapan sumsum (*chronic myeloproliferative disorders*)/CMPD yang merupakan bagian gangguan menahun sumsum (*chronic myeloid disorders*). Mielofibrosis, polisitemia vera (PV), dan trombositemia esensial (ET) digolongkan sebagai periapan sumsum tidak teratur *BCR-ABL-negatif/BCR-ABL-negative myeloproliferative disorders* (tanpa kromosom Philadelphia) dan adanya peran mutasi *JAK2 tyrosin kinase (JAK2V617F⁺)*. Temuan terbaru (2006) di penderita PMF adalah mutasi reseptor trombopoitin (*MPLW515L/K⁺*).¹⁻⁸

Ciri PMF adalah fibrosis sumsum tulang, proliferasi megakariosit dan granulosit, serta hematopoisis ekstramedula. Gambaran khas hapsus darah tepi

menunjukkan ada sel mieloid dan eritroid yang belum dewasa (imatur), bentukan air mata (dakriosit), dan trombosit yang berukuran besar. Di sumsum tulang menunjukkan peningkatan serat benang silang (retikulin) yang merupakan tanda fibrosis kolagen. Perjalanan penyakit PMF pada mulanya dapat tanpa gejala selama beberapa tahun, tetapi dapat ditemukan juga dengan gejala kerusakan hemopoisis dan pembesaran limpa (splenomegali) yang pejal (masif).^{1-3,8}

Mielofibrosis primer merupakan penyakit yang jarang terjadi dengan kemunculan kejadian sebanyak 0,4–1,5 kasus/100.000 populasi per tahun. Pada umumnya PMF terjadi setelah usia 50 tahun dengan tetengah (median) usia 60 tahun saat terdiagnosis. Mielofibrosis primer sangat jarang terjadi di anak dan biasanya bertanda tak nyeri (indolen) dengan gejala hepatosplenomegali. Kejadian di orang dewasa penderita lelaki dan perempuan hampir sama, sedangkan di anak insiden di penderita anak perempuan dua kali lebih tinggi daripada anak lelaki. Insiden jarang terjadi antar anggota keluarga. Angka harapan hidup penderita PMF berkisar antara lima tahunan.^{1-3,8}

PEMBAHASAN

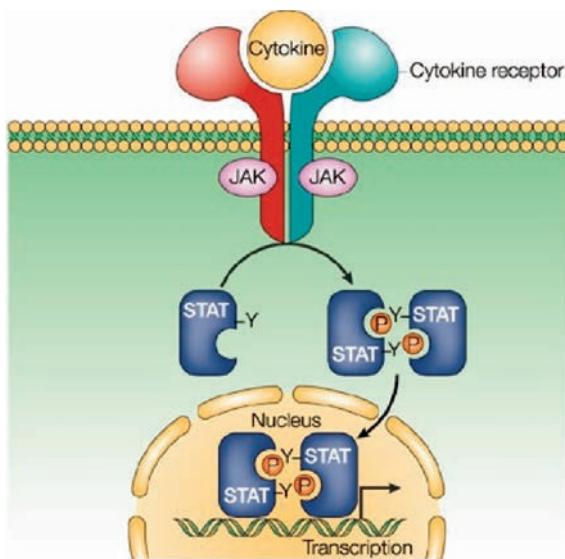
Perjalanan penyakit (patogenesis)

Mielofibrosis primer terjadi melalui dua pembuatan (proses). Proses pertama adalah pengembangan (ekspansi) terhadap satu atau lebih galur mieloid dalam sumsum tulang dalam proses mieloproliferasi, keadaan ini mengakibatkan leukositosis dan/atau trombositosis yang disertai peningkatan sel bak sumsum (mieloid) belum dewasa dalam peredaran darah. Sel mieloid belum dewasa bertumpuk (berakumulasi) dalam limpa, hati, dan organ lain yang memacu hematopoisis ekstramedula. Proses kedua adalah proses reaktif poliklon sumsum tulang yang memacu proliferasi fibroblas, penumpukan kolagen dan jaringan ikat lainnya fibronektin dan proteoglikan, neoangiogenesis, osteosklerosis, fibrosis retikulin, serta penurunan ketepatgunaan (efektivitas) hematopoisis. Pereaktifan fibroplasia poliklon dirangsang oleh sitokin yang dikeluarkan oleh trombosit, megakariosit, dan monosit, antara lain faktor pengubahan pertumbuhan/*transforming growth factor* (TGF)- β , faktor pertumbuhan menurunkan platelet/*platelet-derived growth factor* (PDGF), interleukin-1, dan faktor pertumbuhan fibroblas (*fibroblast growth factor*). Perjalanan penyakit terdapat dua tingkat, yang pertama disebut tahap prefibrotik dengan ciri khas berupa hipersel sumsum tulang dan sejumlah sedikit retikulin. Tingkatan kedua disebut tahapan fibrotik dengan ciri khas retikulin fibrosis atau kolagen.^{1-3,8,9}

Kelainan klon berupa pengubahan (transformasi) sel neoplastik berpeluang ganda hemopoitik berperan dalam terjadinya mielofibrosis. Kelainan hematopoisis mieloproliferasi paling sering terjadi di galur granulosit dan megakariosit dan menyebabkan granulositosis dan trombositosis. Sel progenitor mengalami hipersensitif terhadap sitokin yang mengakibatkan jumlah sel darah meningkat. Sel progenitor yang menggambarkan CD 34 $^{+}$ dapat meningkat sampai 400 kali. Hiperplasia sumsum tulang mencetuskan fibrosis sumsum tulang terjadi.^{2,3,9,10}

Kelainan klon yang berperan antara lain ialah mutasi gen *Janus kinase 2/JAK2* berupa mutasi G-ke-T di nukleotida 1849, exon 14, menyebabkan penyulihan (substitusi) valin menjadi fenilalanin di kodon 617 (*JAK2V617F⁺*). Mutasi *JAK2* ditemukan di 35–50% penderita PMF, 75% dari jumlah tersebut adalah heterozigot dan 25% homozigot. *JAK2* merupakan *enzim* sitoplasmik tirosin kinase yang berperan dalam isyarat pengalih imbasan (sinyal tranduksi) sel. Protein sinyal tranduksi tersebut disebut pengalih imbas isyarat dan peneriman turunan/*signal transducers and activators of transcription* (*STAT*), yang berfungsi sebagai aktivator transkripsi sel sitoplasma. *STAT* diaktifkan oleh pemfosforan (fosforilasi) tirosin yang menanggapi (berespon) ikatan antara sitokin dan penerimanya (reseptornya). Dalam hal ini protein terfosfor (fosforilasi) mengalami penyuraman (dimerisasi) dan masuk ke nukleus, kemudian mengaktifkan cara menyalin (proses transkripsi) dengan mengikat unsur DNA yang khas (gambar 1). Lintasan *JAK-STAT* (*JAK-STAT pathway*) mempengaruhi proliferasi, aktivasi, perpindahan (migrasi), dan pemati sel (apoptosis). Pada mutasi *JAK2V617F⁺* terjadi aktivasi reseptor yang terus menerus akibat swahambat (oto-inhibisi) terhadap enzim penghambat (inhibitor) *JAK2* dan hipersensitivitas terhadap sitokin, misalnya aktivasi yang berlebihan di isyarat penerima (sinyal reseptör) eritropoitin (Epo) pada PV. Mutasi *JAK2* juga ditemukan di PV dan ET. Mekanisme kejadian perbedaan fenotip di mutasi *JAK2* yang belum diketahui. Diperkirakan bahwa kesebandingan perpindahan (proporsi mutasi) menentukan fenotip penyakit.^{2,3,5,6,8,10-15}

Mutasi *JAK2* tidak khas di kelompok *BCR-ABL-negatif-MPD*, mutasi reseptör trombopoitin (*MPLW515L/K⁺*) lebih khas di PMF dan ET. Mutasi *MPLW515L/K⁺* berupa peralihan (transisi) G-ke-T di nukleotida 1544, menyebabkan sulihan (substitusi) triptofan menjadi leusin di kodon 515 dari kawasan penerima (regio reseptör) melewati selaput (transmembran) MPL (leukemia periapan sumsum/*myeloproliferative leukemia*).



Gambar 1. Jalan lintas JAK-STAT (JAK-STAT pathway)¹⁶

MPL protein merupakan reseptor trombopoitin yang ditandai dengan penunjukkan CD110 dan berkaitan dengan reseptor dari berbagai sitokin. Mutasi *MPLW515L/K⁺* mengakibatkan hiperaktivasi jalan lintas JAK-STAT(JAK-STAT pathway).^{2,3,8,12}

Fibrosis sumsum tulang yang disertai gangguan hemopoisis di hewan coba, dapat dicetuskan oleh infeksi virus leukemia mieloproliferatif pembawa onkogen *v-mpl* (*virus - myeloproliferative leukemia*). Onkogen *v-mpl* ini menyebabkan pemisahan antara reseptor dan ikatan trombopoitin, serta berperan sebagai reseptor trombopoitin. Pada penelitian lain, proses mielofibrosis dan pengerasan jaringan tulang (osteosklerosis) di tikus percobaan dicetuskan oleh retrovirus yang mengakibatkan penggambaran trombopoitin berlebihan bersamaan dengan peningkatan TGF-β dan PDGF.^{2,3,17}

Penggambaran berlebihan trombopoitin (TPO^{high}) dan yang rendah terhadap faktor turunan (transkripsi) hematopoitik GATA-1 (GATA-1^{low}) dari megakariosit menyebabkan peningkatan bahan (substansi) *P-selectin*. Bahan *P-selectin* merupakan peptida neurotransmitter yang letaknya dekat dengan fibronektin, dan berfungsi sebagai penyokong tatanan kekebalan (modulator sistem imun) dan hematopoitik. Bahan *P-selectin* bersifat angiogenik dan berperan sebagai mitogen fibroblas. Peningkatan bahan *P-selectin* mencetuskan emperipolesis (persitindakan/interaksi megakariosit dan neutrofil). Emperipolesis mengakibatkan terjadi jejas sel disertai pelepasan granula-α, TGF-β, faktor pertumbuhan dasar fibroblas/basic fibroblast growth factor (bFGF), PDGF, faktor pertumbuhan endotel pembuluh darah/vascular endothelial growth factor (VEGF), penghambat jaringan acuan metaloproteinase/tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP), elastase asal neutrofil (neutrophil-derived elastase),

dan protease lain. Penurunan kadar metaloproteinase III (*stromelysin-1*) yang terjadi di plasma dan peningkatan kadar TIMP menyebabkan penumpukan acuan (matriks). Metaloproteinase merupakan proteinase yang berfungsi sebagai acuan (matriks) proteolitik ekstrasel.^{2,3,18-21}

Di samping peningkatan gangguan bentuk (dismorfik) megakariosit sumsum tulang di mielofibrosis, monosit dan makrofag juga menunjang terjadinya fibrosis. Pelepasan PDGF, bFGF, dan TGF-β dari monosit berpeluang sebagai faktor pertumbuhan periapan sumsum (*myeloproliferative growth factors*) dan sitokin profibrosis.^{2,3} Penggambaran *FKBP51* yang berlebihan di megakariosit menyebabkan kelainan megakarioposis dan meningkatkan ketahanan apoptosis melalui jalur kalsineurin. *FKBP51* adalah protein pengikat (*binding protein*) FK506 dengan berat 51 kDa, yang merupakan pesusun penerima yang rumpil (komponen kompleks reseptor) glukokortikoid yang berdaya gabung tinggi dan berperan di hambatan kalsineurin. Kalsineurin merupakan protein bergantung kalsium (*calcium-dependent*) yang berperan di apoptosis, apabila terjadi hambatan jalur kalsineurin akan menyebabkan sel berdaya tahan terhadap apoptosis. Megakariositosis dan dismorphik tetap terjadi meskipun terdapat penekanan pendahulu (prekursor) eritroid dan mieloid akibat fibrosis sumsum tulang.^{2,22,23}

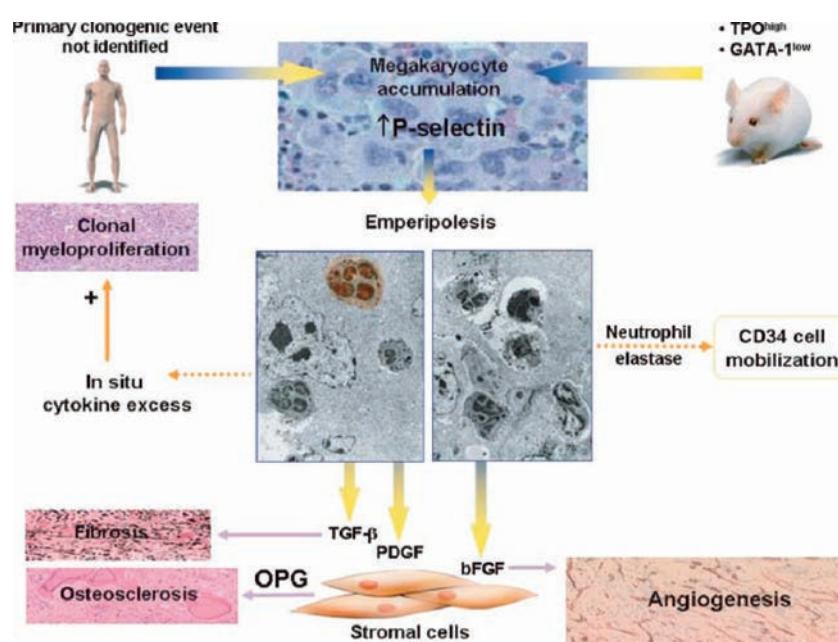
Hematopoisis hipoplastik dapat terjadi pada awal maupun di tingkat lanjut. Hematopoisis hipoplastik diakibatkan oleh apoptosis muda, menyebabkan granulositopenia dan trombositopenia. Anemia dapat disebabkan oleh penurunan eritropoisis, masa hidup eritrosit menjadi lebih singkat, hemolis, dan pelepasan bagian mati (sekuestrasi) splenomegali. Hemoglobin H yang terdapat ditemukan di penderita PMF, dugaan penyebabnya adalah kegagalan pascapenyalinan (*post-transkripsi*) rantai α-globin.^{2,24}

Sumsum tulang yang normal terdiri dari empat jenis kolagen. Kolagen jenis I berada di tulang, jenis III di pembuluh darah, jenis IV dan V di dasar membran. Kolagen jenis III hanya dapat diwarnai dengan pengecatan perak dan jenis I hanya dengan pengecatan trikrom. Keempat jenis kolagen terutama jenis III, mengalami peningkatan di mielofibrosis, sehingga akan tampak dengan jelas ada penebalan lapisan kolagen sumsum tulang melalui pengecatan perak. Peningkatan jumlah kolagen jenis I dan III dalam sumsum tulang dicetuskan oleh faktor pertumbuhan fibroblas/fibroblast growth factors (PDGF, faktor pertumbuhan lapisan atas kulit (*epidermal growth factor*), faktor pertumbuhan sel endotel (*endothelial cell growth factor*), TGF-β, bFGF) yang terdapat dalam granula megakariosit. Faktor pertumbuhan dasar fibroblas/basic fibroblast growth factor (bFGF) menghambat hasilan

osteoprotegerin (OPG), sehingga mengakibatkan osteosklerosis. Osteoprotegrin merupakan protein yang menghambat perubahan sel progenitor menjadi osteoblas. Faktor lain yang merangsang fibroblas adalah faktor alfa tumor kematian sel/*tumor necrosis factor alpha* (TNF- α), interleukin-1 α (IL-1 α) dan IL-1 β yang dilepaskan oleh sel sumsum tulang. Faktor platelet 4/*platelet factor 4* (PF4) yang dilepaskan oleh megakariosit akan menghambat kolagenase, sehingga terjadi penumpukan kolagen. Fibroplasia berkaitan dengan peningkatan jumlah dan ukuran sinus sumsum tulang, peningkatan jumlah sel endotel, peningkatan volume pembuluh darah dalam sumsum tulang, dan peningkatan aliran darahnya. Proses ini akan mencetuskan peningkatan sintesis laminin, kolagen jenis IV dan V oleh sel endotel sumsum tulang.^{2,3,8,25,26}

Hematopoisis ekstramedula terjadi akibat sel progenitor terlepas dari sumsum tulang dan penurunan fungsi penyaringan (filtrasi) limpa disertai dengan perangsangan sitokin yang abnormal. Kemudian sel progenitor ini menetap dan berkembang di jaringan tubuh lainnya, tetapi perkembangannya tidak efektif. Hematopoisis ekstramedula memberikan gambaran leukoeritroblastik di hapusan darah (eritrosit berinti, metamielosit, mielosit, mieloblast, megakariosit), dengan gejala berupa hepatosplenomegali, penyakit kelenjar getah bening (limfadenopati), cairan selaput paru keluar (pleura efusi), cara kerja antar sela (proses interstisial) di paru, asites, penekanan saraf tulang belakang dan percabangan saraf.¹⁻³

Hematopoisis ekstramedula dapat berkembang menjadi tumor fibrohematopoik di organ yang bersangkutan, misalnya: kelenjar adrenal, parenkim ginjal (renal), kelenjar getah bening (limfe), saluran pencernaan, payudara, hati, paru, sekat dada (mediastinum), selaput paru (pleura), lipatan selaput perut (mesenterik), kulit, lumas sendi (sinovium), kelenjar kacangan (timus), kelenjar gondok (tiroid), dada (toraks), prostat, limpa, dan saluran kemih. Hematopoisis luar sumsum (ekstramedula) di dalam tengkorak (intrakranial) dapat menyebabkan komplikasi neurologik yang parah, antara lain: perdarahan subdural, peningkatan tekanan dalam intrakranial, tumor otak besar (serebral), paralisis, koma. Hemopoik pada permukaan selaput jernih (serosa) menimbulkan efusi, misalnya di dada, perut, dan rongga selaput luar jantung (perikardium). Kejadian tersebut dibuktikan dengan adanya megakariosit, granulosit belum dewasa, dan eritroblas dalam cairan efusi. Komplikasi PMF lainnya adalah hipertensi portal, asites, varises esofagus, perdarahan saluran pencernaan, dan ensefalopati terkait hepatis, yang diakibatkan oleh peningkatan aliran splenoportal dan penurunan kelenturan pembuluh darah hati atau trombosis hepatis. Penyebab kematian penderita PMF adalah infeksi (26–29%), perdarahan (11–22%), gagal jantung (7–15%), gagal hati (3–8%), tumor (3%), gagal napas (3%), dan hipertensi portal (6%). Di gambar 2 ditunjukkan skema patogenesis mielofibrosis primer.^{2,3,9}



Gambar 2. Patogenesis mielofibrosis primer. FGF, faktor pertumbuhan fibroblast (*fibroblast growth factor*); OPG, osteoprotegerin; PDGF, faktor pertumbuhan menurunkan platelet (*platelet-derived growth factor*); TGF, faktor pengubah pertumbuhan (*transforming growth factor*); TPO, thrombopoietin.³

Gambaran Klinis

Sebagian penderita PMF tidak mengalami gejala dan terdiagnosis saat pemeriksaan medis alasan lainnya. Gejala yang timbul adalah lemah, letih, sesak napas, palpitas, penurunan berat badan, anoreksia, demam, keringat malam yang berlebihan, nyeri perut kiri atas yang disebabkan oleh splenomegali, nyeri hebat di perut kiri atas yang menjalar ke lengan kiri akibat kematian jaringan (infark) limpa dan sekeliling radang limpa (perisplenitis), perdarahan, trombosis, nyeri tulang terutama tungkai bawah.^{1-3,8,9,27}

Tanda klinis yang ditemukan di penderita PMF adalah hepatomegali, splenomegali, otot mengecil, osteosklerosis, edema perifer, limfadenopati, efusi pleura, asites, gangguan saraf, hipertensi portal, purpura, dermatosis neutrofilik yang menyerupai sindroma Sweet. Di tabel 1 ditunjukkan gambaran klinis penderita PMF saat didiagnosis.^{1-3,8,9,27}

Tabel 1. Gambaran klinis penderita PMF saat didiagnosis.³

Gambaran klinis yang paling sering ditemukan (>50% kasus)
Splenomegali
Hepatomegali
Letih
Anemia
Leukositosis
Trombositosis
Gambaran klinis yang cukup sering ditemukan (10–50% kasus)
Tanpa gejala (asimtotik)
Penurunan berat badan
Keringat malam yang berlebihan
Perdarahan
Nyeri di limpa
Leukopenia
Trombositopenia
Gambaran klinis yang jarang ditemukan (<10% kasus)
Edema perifer
Hipertensi portal
Limfadenopati
Gejala kekuningan (ikterik)
Gout

Gambaran Laboratoris

Anemia umumnya berupa normokromik normositik dengan kadar hemoglobin 9,0–12,0 g/dL pada saat didiagnosis, tetapi gambaran anisositosis dan poikilositosis juga sering ditemukan. Bentuk bangun (morfologi) eritrosit yang sering dijumpai adalah dakriosit dan eritrosit berinti (gambar 3). Anemia dapat menjadi berat sehubungan terdapat peningkatan kesebandingan eritrosit dalam limpa yang membesar. Eritropoisis yang tidak efektif mengakibatkan penurunan massa eritrosit. Hemolisis dan peningkatan retikulosit dapat terjadi di beberapa kasus. Pemeriksaan antiglobulin (Coombs)

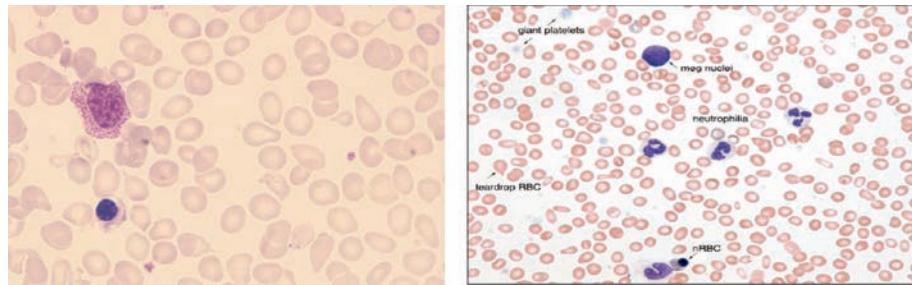
biasanya menunjukkan hasil negatif, tetapi adanya otoantibodi eritrosit dapat menyebabkan hemolis dengan mekanisme imunologis. Hasil positif pemeriksaan hemolisis dengan larutan asam dan sukrosa ditemukan di kasus hemoglobinuria hilang timbul berulang (paroksismal) pada malam hari (nokturnal). Hemoglobin H yang diperoleh dapat menyebabkan hemolisis. Hemoglobin H ditemukan melalui pengecatan *brilliant cresyl blue* (BCB), yaitu dengan ditemukan benda sertaan (inklusi) dan gambaran hapusan darah hipokromik mikrositik dan poikilositosis.^{1-3,8,9,27}

Jumlah leukosit mengalami peningkatan ringan dengan didominasi granulosit (granulositosis). Rentang jumlah lekosit sangat lebar saat didiagnosis, yaitu $0,4\text{--}237 \times 10^3/\mu\text{L}$ dengan rerata $10\text{--}14 \times 10^3/\mu\text{L}$ yang ditemukan pada beberapa penelitian. Di hapusan darah tepi ditemukan kesebandingan mielosit dan promielosit yang sedikit, tetapi terdapat hipersegmentasi, hiposegmentasi (pseudo *Pelger-Huët*), kelainan granulasi neutrofil, dan basofil yang sedikit meningkat. Kesebandingan sel blas berkisar 0,5–2%, tetapi apabila ditemukan banyak sel blas kemungkinannya adalah leukemia mielositik mendadak. Neutropenia terjadi di 20% kasus saat didiagnosis. Fungsi neutrofil mengalami gangguan di beberapa kasus, misalnya: penurunan kemampuan fagositosis yang diketahui melalui reaksi terhadap *nitroblue tetrazolium* yang menurun, penurunan pemakaian oksigen, penurunan pembentukan hidrogen peroksidase, glutation reduktase, dan mieloperoksidase.^{2,3,8,9,27}

Jumlah trombosit meningkat di 40% penderita PMF dan trombositopenia ringan-sedang ditemukan di sepertiga penderita. Jumlah trombosit yang ditemukan berkisar $15\text{--}3215 \times 10^3/\mu\text{L}$ dengan rerata $175\text{--}580 \times 10^3/\mu\text{L}$ saat didiagnosis. Gambaran khas di hapusan darah tepi adalah platelet raksasa (*giant platelet*), kelainan bentukan butir (granulasi) trombosit, dan megakariosit. Fungsi trombosit mengalami penurunan pada pemeriksaan perdarahan dan pemeriksaan gumpalan trombosit terhadap agregator epinefrin. Kandungan adenosin difosfat dalam granula padat trombosit dan aktivitas lipoksigenase mengalami penurunan.^{2,3,8,9,27}

Pansitopenia ditemukan di 10% penderita, penyebabnya adalah kelainan hematopoisis dan pelepasan bagian yang mati (sekuestrasi) dari splenomegali. Pansitopenia berhubungan dengan fibrosis sumsum tulang yang berkembang. Limfosit mengalami penurunan ringan, di antaranya adalah penurunan sel T yang menunjukkan CD3+, CD4+, CD8+, CD3-/CD56+.^{1,2}

Jumlah sel progenitor granulosit, monosit, eritroid, megakariosit mengalami peningkatan dalam darah penderita melalui pemeriksaan klonogenik di perbenihan setengah padat (kultur semisolid).



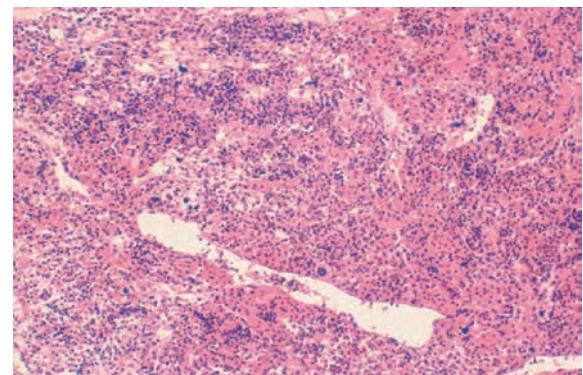
Gambar 3. Hapusan darah tepi penderita PMF, gambaran anisositosis, poikilositosis (dakrosit), mielosit, giant platelet, dan leukoeritroblas. Gambar Objektif 100 \times .²⁷⁻²⁸

Jumlah sel progenitor dalam darah berhubungan dengan kepadatan serat retikulin sumsum tulang. Peningkatan sel yang menunjukkan CD34 $^{+}$ merupakan ciri PMF. Jumlah CD34 $^{+}$ berhubungan dengan perkembangan dan keparahan penyakit. Jumlah CD34 $^{+}$ lebih dari 15 sel/ μ L mengarah terhadap diagnosis PMF, lebih dari 300 sel/ μ L mengarah terhadap perkembangan penyakit yang lebih cepat.^{2,9,10}

Aspirasi sumsum tulang biasanya tidak berhasil akibat ada fibrosis sumsum tulang. Dengan demikian penilaian sumsum tulang menggunakan cara mengerjakan biopsi. Hasil biopsi sumsum tulang menunjukkan hiperplasia granulosit dan megakariosit. Jumlah sel eritroid dapat menurun, normal, maupun meningkat. Biopsi dengan pengecatan *hematoxylin* dan eosin (H&E) menunjukkan peningkatan fibrosis (gambar 4–10). Pengecatan perak menunjukkan peningkatan serat retikulin. Selularitas sumsum tulang akan mengalami penurunan kecuali megakariosit. Di sumsum tulang ditemukan sel raksasa sumsum berinti besar (*giant megacaryocyte*), mikromegakariosit, kelainan baga inti (*lobus nukleus*), dan nukleus megakariosit tanpa sitoplasma. Di sel granulosit terjadi hiperlobulasi, hipolobulasi (*pseudo Pelger-Huët*), *nuclear blebs*, dan pendewasaan di antara inti sitoplasma yang tidak seimbang. Sinusoid sumsum tulang sering mengalami pemuluran (dilatasi) dan di dalam sinusoid terdapat sel hematopoitik belum dewasa serta megakariosit. Kepadatan pembuluh renik (mikrovaskuler) meningkat di 70% kasus diakibatkan oleh peningkatan aliran darah ke dalam sumsum tulang dan pelebaran sinusoid sumsum tulang. Osteosklerosis dapat ditemukan melalui biopsi, tetapi pemeriksaan radiologis lebih sering dilakukan.^{2,3,27}

Pemeriksaan radiologis menunjukkan gambaran intensitas yang rendah di sumsum tulang. Gambaran pencitraan talunan bermagnet/*magnetic resonance imaging* (MRI) di mielofibrosis adalah osteosklerosis yang berbintik (*patchy*) maupun membaur (*diffuse*). Terdapat perbedaan kepadatan radio (radio-densitas) di batas ruas tulang belakang atas (vertebra superior) dan bawah (inferior), sehingga membentuk gambaran “ruas tulang belakang terapit (*sandwich*

vertebrae”). MRI tidak mampu membedakan PMF dan mielofibrosis sekunder. Pemeriksaan dengan tomografi pancaran positron (*positron emission tomography*) menggunakan fluorida natrium/sodium fluoride (^{18}F) khusus untuk osteosklerosis di PMF²

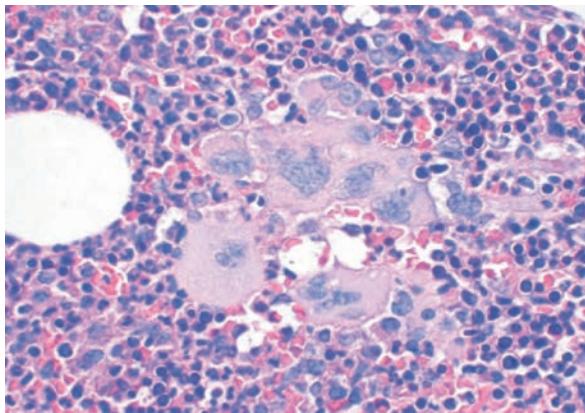


Gambar 4. Biopsi sumsum tulang penderita PMF tahap awal (tahap perselan). Hiperselularitas dengan peningkatan semua galur sel darah dan pelebaran sinusoid. Merekat ikat (fiksasi) parafin, H&E, gambar objektif 10 \times .²⁷

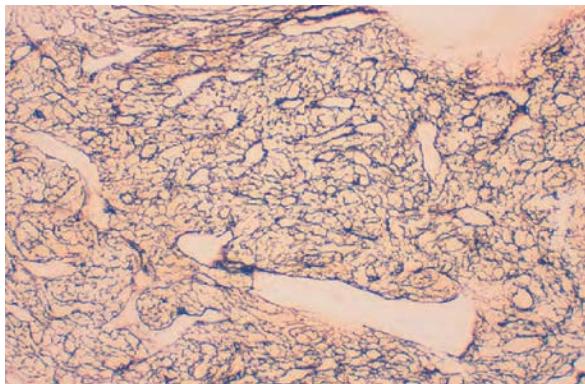
DIAGNOSIS

Kecurigaan terhadap PMF secara klinis adalah ditemukannya splenomegali dan infiltrasi mieloptisis jaringan non-hemopoitik di sumsum tulang. Penetapan diagnosis melalui pemeriksaan biopsi sumsum tulang berupa gambaran hiperplasia dari granulosit dan megakariosit bersama dengan fibrosis sumsum tulang. Terdapat dua gambaran histologis PMF, yaitu tahap perselan dan tahap fibrotik (gambar 4–8). Fibrosis sumsum tulang dapat disertai osteosklerosis dan hematopoiosis dalam sinusoid (gambar 9–10). Ciri PMF yang lain adalah bangun bentuk megakariosit yang aneh berbentuk bulat besar, menyerupai bentuk awan, nukleus hiperkromasia (gambar 5).^{1–3,27}

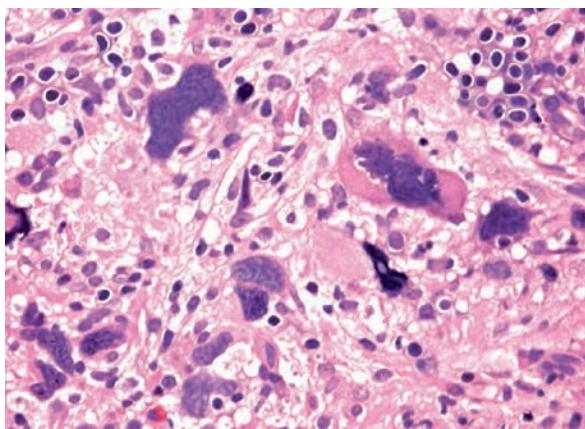
Penilaian sumsum tulang di penderita yang dicurigai menderita PMF dengan menggunakan metode biopsi sumsum tulang karena umumnya sumsum tulang terdiri dari jaringan fibrotik dengan perselan yang sangat padat (*dry tap*).



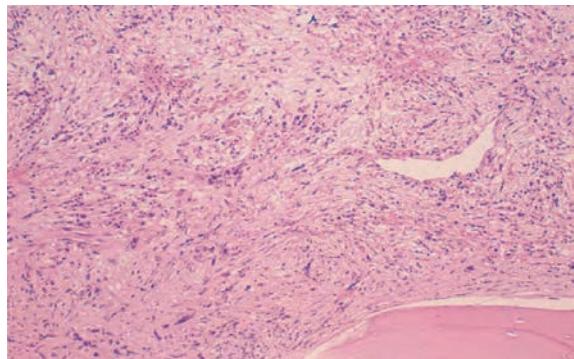
Gambar 5. Biopsi sumsum tulang penderita PMF tahap awal (fase sel). Berbagai ukuran dan bentuk bangun megakariosit; banyak lobus nucleus) tidak beraturan menyerupai bentuk awan dan tanduk rusa; perselan meningkat. Fiksasi parafin, H&E, gambar objektif 20 \times .²⁷



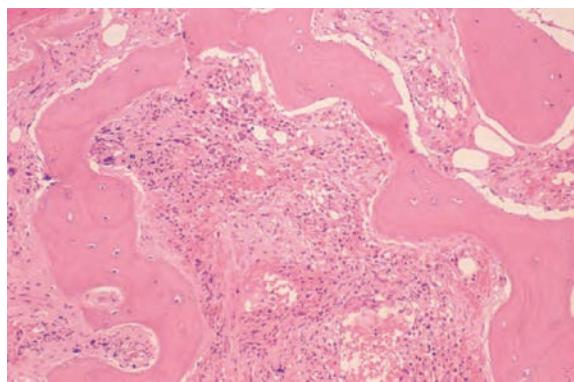
Gambar 6. Biopsi sumsum tulang penderita PMF pada tahap perselan. Penumpukan serat retikulin dan pelebaran beberapa sinusoid. Fiksasi parafin, pengecatan Gordon & Sweet, gambar objektif 10 \times .²⁷



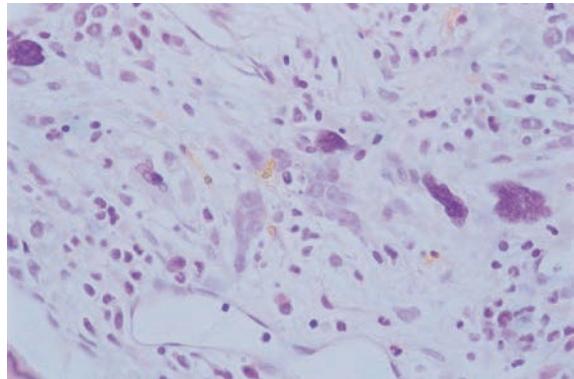
Gambar 7. Biopsi sumsum tulang penderita PMF tahap fibrotik. Sisa (residu) sel hematopoietik, displastik megakariosit, fibrosis kolagen, bentuk inti megakariosit yang aneh dan hiperkromasia. Fiksasi parafin, H&E, gambar objektif 40 \times .²⁷



Gambar 8. Biopsi sumsum tulang penderita PMF tahap fibrotik. Fibrosis kolagen dan penurunan semua sel hemopoietik. Fiksasi parafin, H&E, gambar objektif 10 \times .²⁷

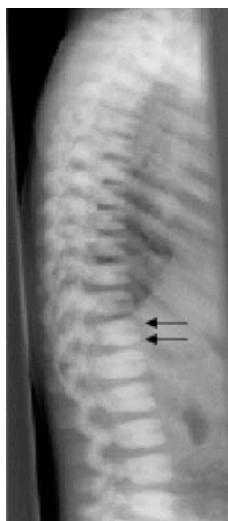


Gambar 9. Biopsi sumsum tulang. Osteomielosklerosis dengan penebalan balok (trabekula) tulang dan diselingi fibrosis kolagen. Fiksasi parafin, H&E, gambar objektif 10 \times .²⁷



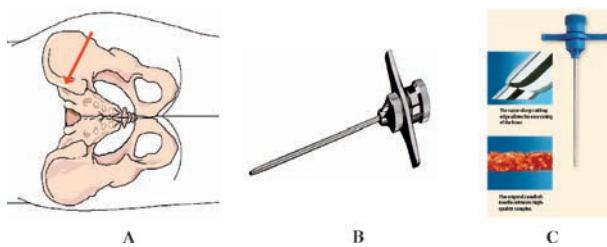
Gambar 10. Biopsi sumsum tulang. Osteomielosklerosis dengan displastik eritroid dan megakariosit. Fiksasi parafin, H&E, gambar objektif 40 \times .²⁷

Aspirasi sumsum tulang selalu mengalami kegagalan di sumsum tulang dengan sadapan yang kering (*dry tap*). Metode biopsi sumsum tulang yang umum digunakan adalah metode biopsi trephine menggunakan jarum Jamshidi yang diameter ukuran 2–4 mm (gambar 12). Tempat pengambilan sumsum



Gambar 11. Ruas tulang belakang terapit (*Sandwich vertebrae*).²⁹

tulang di tonjol tulang usus belakang (krista iliaka posterior) atau depan (anterior) dengan kedalaman 2 cm (gambar 13). Persiapan contoh sumsum tulang dilakukan dengan cara membuat preparat sentuhan (*imprint*) maupun dengan potongan histologis (gambar 14, 15). Preparat *imprint* dapat segera dinilai melalui pengecatan Romanowsky maupun sitokimia. Pemotongan histologis umumnya dilakukan dengan perlekatan menggunakan parafin yang kemudian dicat dengan haematoxylin dan eosin, perak, serta trikrom.^{1-3,27,30}



Gambar 12. Lokasi biopsi sumsum tulang di krista iliaka posterior (A), jarum Jamshidi (B), ujung jarum Jamshidi dan contoh sumsum tulang (C).³⁰⁻³²

Peningkatan fibrosis diketahui melalui pemeriksaan retikulin dengan pengecatan perak atau trikrom. Serat retikulin tampak sedikit pada tahapan perselan. Pengangkaan retikulin melalui pemeriksaan biopsi sumsum tulang yang dibagi menjadi lima tingkat (tabel 2). Tingkatan retikulin di sumsum tulang yang normal adalah 0–1 dan di PMF dapat meningkat sampai 4.^{3,27}



Gambar 13. Menentukan ukuran jaringan sumsum tulang yang akan diambil dengan menarik keluar jarum sepanjang 2 cm dan kemudian pengeluar cairan rongga tubuh (trokar) diarahkan ke sudut lain untuk mengambil jaringan sumsum tulang.³⁰



Gambar 14. Jaringan sumsum tulang dikeluarkan dari trokar dan diletakkan di atas gelas alas/benda (objek).³⁰



Gambar 15. Pembuatan hapusan *imprint* jaringan sumsum tulang dengan cara menyentuhkan ke gelas objek baru.³⁰

Tabel 2. Kuantifikasi retikulin melalui pemeriksaan biopsi sumsum tulang.²⁷

Tingkat	Gambaran Sumsum Tulang
0	Tidak ada serat retikulin
1	Serat retikulin yang halus dan terpisah
2	Jaringan serat retikulin yang halus tersebar di hampir semua bagian, tidak ada serat retikulin yang kasar
3	Jaringan serat retikulin yang tebal dan kasar tersebar merata, tidak ada kolagen yang dewasa
4	Jaringan serat retikulin yang tebal dan kasar tersebar merata dengan kolagenisasi

Tabel 3. Patokan diagnosis PMF menurut WHO tahun 2008.³³

Diagnosis PMF harus memenuhi tiga patokan mayor dan dua patokan minor
Patokan mayor
1. Terdapat proliferasi dan tidak khas (atipikal) megakariosit,* selalu disertai dengan fibrosis retikulin dan/atau kolagen, perubahan megakariosit harus disertai peningkatan perselan sumsum tulang dengan gambaran khas proliferasi granulosit dan penurunan eritropoisis (tahapan sel prefibrotik).
2. Tidak memenuhi patokan polisitemia vera, [†] <i>BCR-ABL1</i> ⁺ leukemia persumsuman menahun (<i>chronic myelogenous leukemia</i>), [‡] MDS, [§] atau keganasan mieloid lainnya menurut WHO.
3. Terdapat mutasi <i>JAK2V617F</i> ⁺ atau penanda klon lainnya (<i>MPLW515L/K⁺</i>), atau tidak terdapat penanda klon, tidak ada bukti fibrosis sumsum tulang atau perubahan lain yang disebabkan oleh infeksi, kelainan otoimun, peradangan menahun; leukemia sel merambut (<i>hairy cell leukemia</i>) atau keganasan limfoid; metastasis keganasan; atau penyakit sumsum menahun /mielopati kronis (toksik). [¶]
Patokan Minor
1. Leukoblastosis**
2. Peningkatan kadar serum laktat dehidrogenase **
3. Anemia**
4. Splenomegali**
* Megakariosit berbagai ukuran dengan angka banding inti (rasio nukleus)/sitoplasma yang menyimpang (abera), bulat besar, nukleus terlipat dan padat.
† Penurunan serum feritin yang gagal, pengobatan dengan pemberian sediaan/zat (preparat) besi untuk mencapai kadar hemoglobin sampai nilai rentang polisitemia vera. Pengeluaran polisitemia vera berdasarkan kadar hemoglobin dan hematokrit; pemeriksaan massa eritrosit tidak diperlukan.
‡ Tidak memiliki <i>BCR-ABL1</i> .
§ Tidak ada diseritropoisis dan disgranulopoisis.
¶ Penderita dengan keadaan yang berkaitan dengan mielofibrosis reaktif bukan reaksi imun terhadap PMF, dan diagnosis lain perlu dipertimbangkan apabila menemukan patokan lain.
** Tingkat kelainan dapat ditemukan dengan jelas atau samar.

Pemeriksaan khusus terhadap PMF adalah pemeriksaan sitogenetika mutasi *JAK2V617F*⁺, *MPLW515L/K⁺*, dan *BCR-ABL* dengan metode

fluorescence in situ hybridization (FISH). Diagnosis CML terarah keberadaan kromosom Philadelphia maupun *BCR-ABL*. Adanya mutasi *JAK2V617F*⁺ akan menyengkirkan penyebab infeksi, terjadinya peradangan, kelainan limfoid, dan metastasis karsinoma, tetapi tidak khas bagi PMF. Perkembangan tak wajar jaringan (displasia) lebih dari dua galur sel darah mengarah ke diagnosis PMF. Keberadaan sideroblas bercincin (*ringed sideroblasts*) mengurangi kehiasan diagnosis PMF.^{2,3,7,8,14,27,33}

Patokan diagnosis PMF menurut WHO tahun 2008 terdiri dari patokan mayor dan minor (tabel 3). Diagnosis PMF harus memenuhi tiga patokan mayor dan dua patokan minor.³³

PENATALAKSANAAN

Pengamatan (observasi)

Pada umumnya PMF tidak dapat disembuhkan dengan pengobatan. Tujuan utama pengobatan adalah meningkatkan mutu kehidupan dengan pengobatan palliatif, misalnya mengurangi gejala sitopenia, pembesaran alat tubuh (organomegali), trombositosis, leukositosis, splenektomi, dan terapi radiasi. Penderita tanpa gejala dan kebahayaan penyakitnya rendah dapat menunda pengobatan.^{2,3,8,9}

Pengobatan

Petunjuk pengobatan penderita PMF adalah untuk: anemia, sitopenia, nyeri, leukositosis, dan trombositosis. Pengobatan anemia adalah memberikan: eritropoietin (Epo) eksogen, androgen, kortikosteroid, *danazol*, *thalidomide*, dan *lenalidomide*. *Thalidomide* dan *lenalidomide* juga memberikan respon terhadap trombositopenia dan splenomegali. Obat pilihan utama untuk splenomegali dan pengurangan gejala leukositosis maupun trombositosis adalah hidroksiuropa. Kadang-kadang obat mielosupresif juga digunakan, antara lain *cladribine*, *melphalan*, dan busulfan.^{1-3,8,9}

Splenektomi

Petunjuk bedah limpa adalah jika terjadi hipertensi portal yang menyebabkan perdarahan varises dan asites, nyeri perut, *cachexia* yang berat, dan sering mendapat transfusi darah. Bedah limpa tidak berguna dalam kasus dengan trombositopenia berat yang merupakan tanda pengubahan (transformasi) leukemia.^{1-3,8,9}

Pengobatan (terapi) radiasi

Pengobatan dengan sinar digunakan untuk mengurangi gejala hepatosplenomegali, terutama di kasus hematopoisis ekstramedula nonhepatosplenik.

Radiasi di paru cukup efektif untuk hematopoisis ekstramedula pulmona.^{1-3,8,9}

Pencangkukan (transplantasi) sel punca

Pada penelitian pencangkukan sel punca terhadap 147 penderita menunjukkan keberhasilan bertahan selama 30 hari sebesar >80%, 14% bertahan selama 5 tahun, dan 41% bertahan selama 2 tahun. Keberhasilan bertahan selama 5 tahun lebih tinggi daripada penderita yang lebih muda (>60%).^{1-3,8,9}

SIMPULAN

Mielofibrosis primer merupakan penyakit keganasan hematologik berupa kelainan klon hemopoitik sel punca disertai penumpukan kolagen yang berlebihan dalam sumsum tulang tanpa didahului kelainan mieloproliferatif maupun penyakit lainnya. Ciri PMF adalah fibrosis sumsum tulang, proliferasi megakariosit dan granulosit, serta hematopoisis ekstramedula. Mielofibrosis primer digolongkan sebagai gangguan periapan sumsum negatif *BCR-ABL/BCR-ABL-negative myeloproliferative disorders* (tanpa kromosom Philadelphia).

Mielofibrosis primer terjadi melalui dua proses, yaitu pengembangan galur mieloid dalam sumsum tulang dan proses reaktif poliklon sumsum tulang. Tahap perjalanan penyakit terdiri dari tahap prefibrotik (hipersel) dan tahap fibrotik. Kelainan klon yang berperan adalah mutasi gen *Janus kinase 2/JAK2 (JAK2V617F⁺)* dan mutasi reseptor trombopoitin (*MPLW515L/K⁺*), yang akan berakibat hiperselularitas dan dismorfik sel darah. Kelainan menunjukkan trombopoitin (*TPO^{high}*), GATA-1 (*GATA-1^{low}*), *FKBP51* menyebabkan kelainan megakariosit dan emperipolesis, sehingga berakibat terjadi peningkatan sitokin yang akan memacu proliferasi fibroblas, penumpukan kolagen, neoangiogenesis, osteosklerosis, fibrosis retikulin, penurunan efektivitas hematopoisis. Hematopoisis ekstramedula terjadi akibat sel progenitor terlepas dari sumsum tulang, penurunan fungsi filtrasi limpa, dan perangsangan sitokin yang abnormal.

Diagnosis PMF berdasarkan gejala klinis: splenomegali dan mieloptisis (infiltrasi jaringan non-hemopoitik di sumsum tulang); biopsi sumsum tulang menunjukkan hyperplasia granulosit/megakariosit, dismorfik megakariosit, dan fibrosis; pemeriksaan sitogenetika terhadap mutasi *JAK2V617F⁺*, *MPLW515L/K⁺*, dan *BCR-ABL*. Patokan diagnosis PMF menurut WHO tahun 2008 terdiri dari patokan mayor dan minor. Tujuan utama pengobatan adalah meningkatkan mutu kehidupan dengan pengobatan paliatif, misalnya mengurangi gejala sitopenia, organomegali, trombositosis, leukositosis, splenektomi, dan pengobatan radiasi. Peramalan

penyakit PMF tidak begitu baik dengan angka harapan hidup hanya 5 tahun.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ciesla B. Hematology in Practice. F.A. Davis Company; 2007;194–6.
2. Lichtman MA, Beutler E, Seligsohn U, Kaushansky K, Kipps TO. Williams Hematology, Seventh edition, McGraw-Hill's Access Medicine, 2007; Chapter 89.
3. Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, Means Jr RA. Wintrobe's Clinical Hematology, Twelve Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2009; 2045–53.
4. Tefferi A, et al. International Working Group (IWG) Consensus Criteria for Treatment Response in Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia, for The IWG for Myelofibrosis Research and Treatment (IWG-MRT). Blood, 2006; 108:1494–1503.
5. James C. The JAK2V617F Mutation in Polycythemia Vera and Other Myeloproliferative Disorders: One Mutation for Three Diseases? Hematology, 2008; 69–75.
6. Tefferi A. Classification, Diagnosis and Management of Myeloproliferative Disorders in the JAK2V617F Era. Hematology, 2006; 240–5.
7. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. Blood, 2002; 100: 2292–2302.
8. Mughal TI, Goldman JM. Chronic Myeloproliferative Disorders. Informa UK Ltd, 2008; 182–193.
9. Sekeres MA, Kalaycio ME, Bolwell BJ. Clinical Malignant Hematology. The McGraw-Hill Companies, Inc, 2007; 475–486.
10. Popat U, Frost A, Liu E, Guan Y, Durette A, Reddy V, Prchal JT. High Levels of Circulating CD34 cells, Dacrocytes, Clonal Hematopoiesis, and *JAK2* Mutation Differentiate Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia from Secondary Myelofibrosis Associated with Pulmonary Hypertension. Blood, 2006; 107: 3486–3488.
11. Rapado I, Grande S, Albizua E, Ayala R, Hernández JA, Gallardo M, Gilsanz F, Martinez-Lopez J. High Resolution Melting Analysis for *JAK2* Exon 14 and Exon 12 Mutations: A Diagnostic Tool for Myeloproliferative Neoplasms. Journal of Molecular Diagnostics, 2009; 11: 155–161.
12. Pancrazzi A, Guglielmelli P, Ponziani V, Bergamaschi G, Bosi A, Barosi G, Vannucchi AM. A Sensitive Detection Method for *MPLW515L* or *MPLW515K* Mutation in Chronic Myeloproliferative Disorders with Locked Nucleic Acid-Modified Probes and Real-Time Polymerase Chain Reaction. Journal of Molecular Diagnostics, 2008; 10: 435–441.
13. Duhe RJ et al. Negative regulation of Janus kinases. Cell Biochemistry Biophysics, 2001; 34(1): 17–59.
14. Deeg HJ, Bowen DT, Gore SD, Haferlach T, Le Beau MM, Niemeyer C. Hematologic Malignancies: Myelodysplastic Syndromes. Springer Berlin Heidelberg, 2006; 23–38, 55–79.
15. Za T. et al. Prevalence of the *JAK2* V617F mutation in patients with unprovoked venous thromboembolism of common sites and without overt myeloproliferative neoplasms. British Journal of Haematology, 2009; 144(6): 965–7.
16. Shuai K., Liu B. Regulation of JAK–STAT signalling in the immune system. Nature Reviews Immunology, 2003; 3: 900–911.
17. Vignon I. et al. Molecular cloning and characterization of *mpl*, the human homologue of the *v-mpl* oncogene: identification of a member of the hematopoietic growth factor receptor superfamily. The National Academy of Sciences, 1992. 89: 5640–5644.
18. Ferreira R., Ohneda K., Yamamoto M., Philipsen S. GATA1 Function, a Paradigm for Transcription Factors in Hematopoiesis. Molecular and Cellular Biology, 2005; 25: 1215–27.

19. Simon MC. Transcription factor GATA-1 and erythroid development. Society for Experimental Biology and Medicine, 1993; 202: 115–121.
20. Majewski IJ, Metcalf D, Mielke LA, Krebs DL, Ellis S, Carpinelli MR, Mifsud S, Di Rago L, Corbin J, Nicola NA, Hilton DJ, Alexander WS. A Mutation in the Translation Initiation Codon of Gata-1 Disrupts Megakaryocyte Maturation and Causes Thrombocytopenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2006.
21. Tengiz I, Ercan E, Aliyef E, Sekuri C, Duman C, Altuglu I. Elevated Levels of Matrix Metalloprotein-3 in Patients with Coronary Aneurysm: A Case Control Study. *Current Controlled Trials in Cardiovascular Medicine*, 2004; 5: 10.
22. Hubler TR, Denny WB, Valentine DL, Cheung-Flynn J, Smith DF, Scammell JG. The FK506-Binding Immunophilin FKBP51 Is Transcriptionally Regulated by Progestin and Attenuates Progestin Responsiveness. *Endocrinology* 2003; 144: 2380–87.
23. Baughman G, Wiederrecht GJ, Campbell NF, Martin MM, Bourgeois S. FKBP51, a Novel T-Cell-Specific Immunophilin Capable of Calcineurin Inhibition. *Molecular and Cellular Biology*, 1995; 15: 4395–4402.
24. Rinaldi CR, Rinaldi P, Pane F, Camera A, Rinaldi C. Acquired Hb H Disease Associated with Elevated Hb F Level in Patient Affected by Primary Myelofibrosis. *Annals of Hematology*, 2009; 89: 827–8.
25. Stejskal D, bartek J, Pastorková R, Růžička V, Oral I, Horalík D. Osteoprotegerin, RANK, RANKL. *Biomed Papers*, 2001; 145: 61–4.
26. Yeung RSM. The Osteoprotegerin/Osteoprotegrin Ligand Family: Role in Inflammation and Bone Loss. *The Journal of Rheumatology*, 2004; 31: 844–6.
27. Bain BJ, Clark DM, Wilkins BS. *Bone Marrow Pathology*, Fourth edition, Wiley-Blackwell, 2010; 260–6.
28. Tkachuk DC, Hirschmann JV. *Wintrobe's Atlas of Clinical Hematology*, 1st Edition, 2007; 126.
29. Stark Z., Savarirayan R. Osteopetrosis. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2009; 4: 5.
30. Riley RS, Ben-Ezra JM, Pavot DR, Forysthe R, Massey D, Wright L, Smith E. An Illustrated Guide to Performing the Bone Marrow Aspiration and Biopsy. www.pathology.vcu.edu/education/lymph/How to Marrow.pdf. Diakses tanggal 4 Juni 2010.
31. Jamshidi Type Bone Marrow Biopsy Needle. Dixons Surgical Instrument Ltd. www.dixons-uk.com.
32. Interventional Specialties Products and Services. Jamshidi® Bone Marrow Biopsy Products and Safe-T™ Plus Trays. Cardinal Health, 2008.
33. Thiele J, Kvasnicka HM. The 2008 WHO Diagnostic Criteria for Polycythemia Vera, Essential Thrombocythemia, and Primary Myelofibrosis. *Current Hematologic Malignancy Reports*, 2009; 4: 33–40.