

INFORMASI LABORATORIUM

ISSN 0854-7165 | No. 5/2022

PERAN PEMERIKSAAN SEROLOGIS PADA GASTRITIS AUTOIMUN

PENDAHULUAN

Gastritis autoimun (*Autoimmune Gastritis*/AIG) adalah penyakit peradangan kronis pada korpus dan fundus lambung. Meskipun belum diketahui penyebabnya secara pasti, faktor genetik, faktor lingkungan, mimikri antigen maupun reaksi silang antigen diduga kuat berkontribusi terhadap patogenesis AIG. AIG dapat bermanifestasi dengan anemia defisiensi besi, defisiensi vitamin B12 (anemia perniosa), kondisi neurologis dan neuropsikiatri, pertumbuhan berlebih bakteri usus kecil dan infeksi gastrointestinal. AIG sulit didiagnosis, baku emas untuk diagnosis AIG adalah dengan biopsi korpus dan juga fundus. Kombinasi dari beberapa pemeriksaan serologis yang efektif dan non-invasif meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas diagnostik juga memungkinkan prediksi tingkat atrofi (1).

EPIDEMIOLOGI AIG

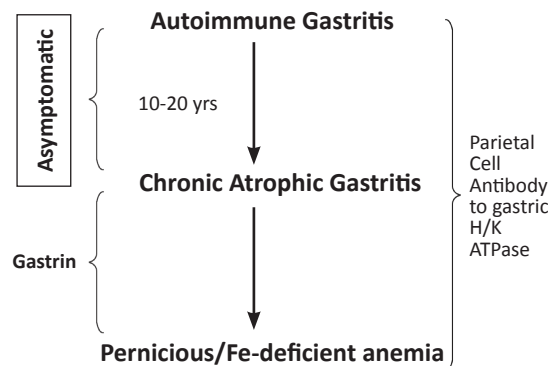
Prevalensi AIG sulit diketahui, karena penyakit ini bersifat asimtomatik pada tahap awal, tidak terdiagnosis dalam jangka waktu yang lama dan kemudian berkembang menjadi

progresi atrofi dan displasia mukosa yang diiringi dengan gejala. Wanita lebih banyak mengalami AIG dibandingkan dengan pria (rasio 3:1). Prevalensi dari anemia perniosa yang merupakan salah satu manifestasi AIG adalah 0,1% pada populasi umum dan 2% pada populasi lansia (>60 tahun). Prevalensi anemia perniosa tidak berbeda secara signifikan antara populasi Kaukasia, Asia dan Afrika. Selain anemia perniosa, AIG juga berkaitan erat dengan infeksi *H. pylori* dikarenakan adanya molekuler mimikri antara antigen *H. pylori* dengan H+/K+ *adenosine-triphosphate enzyme* (ATPase). Beberapa penelitian mengevaluasi kejadian AIG pada pasien dengan anemia defisiensi besi (ADB) dari etiologi yang tidak diketahui. Estimasi prevalensi bervariasi antara 15 dan 27% (2).

PATOGENESIS AIG

AIG merupakan inflamasi kronis yang terjadi secara lokal di bagian korpus dan fundus lambung. Proses peradangan dimulai ketika limfosit dan sel plasma menginfiltrasi lamina propria, yang mengakibatkan destruksi sel parietal. Hilangnya sel parietal menyebabkan hipokloridria dan hiperplasia sel G karena tidak adanya umpan negatif, sehingga meningkatkan sekresi gastrin di antrum. Konsekuensi lebih lanjut dari peningkatan pH lambung adalah pseudohipertrofi sel parietal. Sekresi gastrin yang lebih tinggi menyebabkan stimulasi langsung sel mirip enterochromaffin (ECL) dan proliferasinya dalam sub tipe hiperplastik, displastik, dan neoplastik yang dapat

menimbulkan tumor karsinoid. Metaplasia pseudopyloric (“antralisasi oxyntic”, *spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia* (SPEM)), metaplasia usus (IM) dan metaplasia pankreas juga terjadi pada beberapa kasus. SPEM dapat diubah menjadi IM, yang merupakan penggantian mukosa lambung dengan epitel usus (usus halus dan kolon). AIG menyebabkan anemia defisiensi besi mikrositik dan anemia pernisiiosa *megalocytic* karena kekurangan vitamin B12. Skema perkembangan AIG menjadi anemia pernisiiosa dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini (3).



Gambar 1. Skema Perkembangan AIG menjadi Anemia Pernisiiosa (3).

H. pylori merupakan patogen yang menginfeksi hampir setengah populasi di dunia. Mimikri molekuler antara antigen *H. pylori* dengan gastric H+/K+ ATPase dipercayai menginisiasi mekanisme patogenesis dari autoimun gastritis. Reaksi silang peptida *H. pylori* menginduksi proliferasi sel T dan produksi sitokin Th1 dan autoantibodi H/K ATPase teridentifikasi pada 20-30% pasien yang terinfeksi *H. pylori*. Infeksi *H. pylori* ditemukan dalam studi biomarker serum atrofi lambung (pepsinogen I, pepsinogen I/II dan gastrin) dan autoimunitas (antibodi sel parietal dan faktor intrinsik) pada 23 pasien dengan tingkat gastritis atrofi yang berbeda. Meskipun demikian studi tersebut hanya menunjukkan hubungan sebab akibat, namun tidak memberikan bukti yang pasti (3).

Progresi AIG menjadi gastrik fibrosis dan korpus atrofi serta hilangnya *Intrinsic Factor* (IF) yang memproduksi *gastric parietal cell* menyebabkan malabsorpsi vitamin B12 dan anemia pernisiiosa megaloblastik. Autoantibodi terhadap faktor intrinsik pada cairan lambung yang menghambat IF juga berkontribusi terhadap terjadinya defisiensi vitamin B12. Pada penelitian Carmel (2006) terhadap 729 orang berusia 60 tahun ke atas, 1,9% mengalami anemia pernisiiosa yang tidak dikenali dan tidak diobati dengan prevalensi 2,7% pada wanita dan 1,4% pada pria. Gambaran klinis anemia defisiensi besi yang terkait dengan achlorhydria dan atrofi korpus mukosa secara akurat digambarkan sebagai “*anemia achylia gastrica*” oleh Faber dan lainnya lebih dari 100 tahun

yang lalu, termasuk refrakter terhadap pengobatan besi oral, banyak terjadi pada wanita, pada usia yang relatif muda, peningkatan prevalensi penyakit tiroid dan progresi menjadi anemia pernisiiosa (3,4).

PENANDA SEROLOGIS UNTUK AIG

Baku emas untuk penegakan diagnosis AIG adalah dengan melakukan endoskopi, namun pada fase awal penyakit, gambaran endoskopik dari AIG tidak berbeda dengan pada kondisi sehat, sehingga diperlukan alternatif pemeriksaan lain yang bersifat non-invasif sebagai penunjang diagnosis dari AIG, salah satunya adalah penanda serologis. AIG dikarakterisasi dengan atrofi korpus dan fundus lambung, serta ditandai oleh keberadaan serum autoantibodi terhadap sel parietal (*Parietal Cell Antibody/PCA*) yang menyerang pompa proton (H+/K+ATPase), dan autoantibodi terhadap faktor intrinsik (*Intrinsic Factor Antibody/IFA*) (5).

PCA ditemukan lebih dari 90% pada pasien anemia pernisiiosa, selain itu, PCA juga ditemukan pada kondisi lain seperti tiroiditis kronis (33%), sindrom Sjögren sicca (15%), gastritis atrofi (60%), tukak lambung (22%), dll. Antibodi juga ditemukan pada populasi normal, dengan kejadian yang bervariasi menurut usia dan jenis kelamin; yaitu dari 2% pada subjek di bawah 20 tahun hingga 16% pada subjek di atas 60 tahun dan lebih sering ditemukan pada wanita daripada pria (5).

Faktor intrinsik adalah protein yang diproduksi oleh sel parietal. Selama pencernaan, asam lambung melepaskan vitamin B12 dari makanan dan berikatan dengan faktor intrinsik untuk membentuk kompleks. Pembentukan kompleks ini diperlukan untuk penyerapan vitamin B12 di usus kecil. Adanya IFA dapat merusak sel parietal dan mengganggu produksi faktor intrinsik atau mencegah faktor intrinsik menjalankan fungsi biologisnya. Adanya autoantibodi terhadap sel parietal (PCA) dan juga faktor intrinsik (IFA) dapat menandakan adanya autoimunitas pada gastrik, yang menyebabkan terjadinya anemia pernisiiosa (5).

PENUTUP

Serangan autoimun pada sel parietal dapat menyebabkan penurunan sekresi asam, hipergastrinemia, anemia defisiensi besi, anemia pernisiiosa karena defisiensi vitamin B12, serta tumor lambung (karsinoid dan adenokarsinoma), maka dari itu diagnosis dini AIG sangat penting untuk mencegah dan mengobati anemia defisiensi besi, anemia pernisiiosa, dan lesi lambung pramaligna. Oleh karena itu dibutuhkan penanda serologis yang praktis, efektif dan non-invasif dalam upaya



deteksi dini AIG, diantaranya adalah PCA dan IFA. Laboratorium Klinik Prodia saat ini sedang mengembangkan pemeriksaan untuk menunjang diagnosis AIG dengan mendeteksi PCA dan IFA secara bersamaan menggunakan metode *immunoblot*.

Gianni Yosephine

Referensi:

1. Dimitrova Kovacheva-Slavova M, Asenov Angelov T, Yankov Valkov H, Iljanov Iliev H, Georgiev Vladimirov B. Current view on autoimmune gastritis. *Gastritis - New Approaches and Treatments*. 2019;
2. Zhang Y et al. Gastric parietal cell antibodies, helicobacter pylori infection, and chronic atrophic gastritis: Evidence from a large population-based study in Germany. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2013;22(5):821-826
3. Toh B-H. Diagnosis and classification of autoimmune gastritis. *Autoimmun. Rev.* 2014;13(4-5):459-62.
4. Carmel R. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch InternMed.* 2006;156:1097-100.
5. Renato Tozzoli; Graziano Kodermaz; Anna Rosa Perosa; Marilina Tampoia; Antonietta Zucano; Antonio Antico; Nicola Bizzaro. Autoantibodies to parietal cells as predictors of atrophic body gastritis: A five-year prospective study in patients with autoimmune thyroid diseases. *Autoimmun. Rev.* 2010 , 10(2), 80-3.

pada 15% kasus namun seringkali *overlap* dengan CIMP sekitar 60-80% kasus. CIMP dapat mengakibatkan terjadinya MSI karena metilasi pada CpG island pada promotor MLH1 menyebabkan MLH1 mengalami *transcriptional silencing*. Hal ini menjelaskan mekanisme dari MSI kanker kolorektal sporadik (80%) karena mewakili lebih dari 80% pasien kanker kolorektal dengan MSI. Namun tidak semua MSI terjadi melalui jalur tersebut karena pada *Lynch syndrome* (LS), MSI kolorektal yang terjadi disebabkan oleh mutasi *germline* gen MMR dan bukan karena jalur CIMP (2).

METODE PEMERIKSAAN *MICROSATELLITE INSTABILITY*

Microsatellite Instability merupakan akibat dari terjadinya defisiensi pada system *mismatch repair* (dMMR). Untuk mengetahui terjadinya defisiensi *mismatch repair* dapat dilakukan dengan mendeteksi protein MMR (MLH1, MSH2, MSH6 dan PMS2) pada jaringan menggunakan metode imunohistokimia (IHK). Defisiensi MMR didefinisikan apabila pada hasil pewarnaan IHK menggunakan antibodi terhadap 4 protein tersebut pada nukleus tidak ditemukan, hilangnya ekspresi salah satu ekspresi protein tersebut pada nukleus sudah cukup untuk penanda defisiensi MMR. Apabila keempat protein tersebut terwarnai pada inti selnya maka didefinisikan sebagai profisiensi MMR (pMMR) (3).

Sedangkan untuk mengetahui status MSI pada jaringan kanker kolorektal digunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pemeriksaan MSI dengan metode *fluorescent PCR* dan *capillary electrophoresis* hingga saat ini merupakan baku emas untuk mendeteksi status MSI pada jaringan tumor karena efisiensi dan sensitivitasnya yang tinggi. Status MSI ditentukan berdasarkan hasil penanda MSI yang terdiri dari 5 mononukleotida (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 dan MONO-27) untuk mendeteksi MSI. Apabila ditemukan ada 2 atau lebih penanda mengalami instabilitas maka artinya memiliki *MSI-high* (MSI-H), sedangkan jika hanya 1 dari 5 penanda yang tidak stabil maka disebut *MSI-low* (MSI-L). Sedangkan jika pada 5 penanda tersebut semua stabil maka disebut *Microsatellite stable* (MS) (4,5).

MANFAAT MSI UNTUK PROGNOSIS KANKER KOLOREKTAL NON METASTATIK

Tendensi MSI pada *stage* II kanker kolorektal adalah 20%, pada *stage* III 11% dan pada metastatik adalah 3,5%. MSI pada *stage* awal kanker kolorektal memiliki manfaat sebagai penanda prognostik baik yang kuat. Pada studi QUASAR (n= 1913) dilaporkan prevalensi MSI juga bervariasi

IMPLIKASI TERANOSTIK PEMERIKSAAN *MICROSATELLITE INSTABILITY* PADA PASIEN KANKER KOLOREKTAL

PENDAHULUAN

Penentuan status MSI memiliki dampak besar pada manajemen kanker kolorektal, mengingat kanker kolorektal diprediksi masih akan menjadi salah satu kanker terbanyak di dunia hingga tahun 2040. Di Indonesia sendiri saat ini menurut data GLOBOCAN 2020, kasus kanker kolorektal menduduki peringkat ke-4 sebagai kanker yang paling banyak (1).

Terdapat tiga jalur yang mengendalikan karsinogenesis kanker kolorektal; pertama adalah *Chromosomal instability* (CIN) terjadi pada 75% kasus, kedua adalah DNA metilasi yang disebut juga *CpG island methylator phenotype* (CIMP) terjadi pada 20% kasus, dan yang ketiga adalah defisiensi *mismatch repair* atau *microsatellite instability* (MSI) terjadi



berdasarkan lokasi kanker kolorektal, pada kolon sebelah kanan 26%, kolon sebelah kiri 3% dan 1% pada rektal. Pada kelompok pasien kanker kolorektal *stage* II status MSI berasosiasi dengan penurunan risiko kekambuhan tumor (RR 0,53, 95% CI : 0,29-0,67, $p < 0,001$) (6).

Pada studi ACCENT, diperoleh 23,1% pasien kanker kolorektal *stage* II memiliki status MSI, dan secara signifikan memiliki *overall survival* (OS) dan *time to recurrence* yang lebih baik dibandingkan pasien yang memiliki status *microsatellite stable* (MS) setelah dilakukan reseksi (pembedahan). Studi lain melaporkan terdapat pula perbaikan *survival after recurrence* (SAR) pada pasien kanker kolorektal *stage* III yang memiliki status MSI, kecuali pada pasien dengan mutasi BRAF V600E maka prognosisnya buruk pada kelompok dengan maupun tanpa MSI (6).

Namun hasil laporan penelitian mengenai manfaat prognostik MSI pada pasien kanker kolorektal *stage* III tidak konsisten. Pada metaanalisis yang melibatkan 36 studi yang khusus mempelajari makna prognostik MSI pasien kanker kolorektal *stage* III dilaporkan bahwa status MSI secara signifikan tidak berhubungan dengan OS, DFS dan DSS. Satu hal yang konsisten dari studi-studi mengenai makna prognostik MSI adalah pada pasien kanker kolorektal *stage* II (6).

MANFAAT PREDIKTIF PEMERIKSAAN MSI PADA KEMOTERAPI AJUVAN KANKER KOLOREKTAL NON METASTATIK

Kemoterapi ajuvan yang paling umum digunakan pada kanker kolorektal non metastatik adalah fluorouracil (5-FU), namun berbagai studi retrospektif maupun *pooled analysis* studi membuktikan bahwa kemoterapi ajuvan dengan 5-FU pada pasien kanker kolorektal *stage* II yang memiliki status MSI tidak menunjukkan perbaikan klinis (OS, DFS) yang signifikan. Oleh sebab itu kemoterapi ajuvan dengan 5-FU tidak direkomendasikan pada pasien kanker kolorektal *stage* II yang memiliki status MSI. Untuk pasien kanker kolorektal *stage* III yang memiliki status MSI, kemoterapi ajuvan oxaliplatin dipertimbangkan sebagai standar perawatan untuk prognosis yang lebih baik (6).

MANFAAT PREDIKTIF PEMERIKSAAN MSI PADA PENGOBATAN IMUNOTERAPI PASIEN KANKER KOLOREKTAL METASTATIK

Pada pasien kanker kolorektal metastatik terdapatnya defisiensi MMR/MSI diketahui memberikan prognosis yang baik, pengobatan menggunakan *Immune Check point*

Inhibitor (ICI) pada pasien ini diketahui sangat efektif (3). Beberapa organisasi dunia telah mengatur pemanfaatan pemeriksaan MSI pada kanker kolorektal metastatik sebagai berikut:

1. *Food and Drug Administration* (FDA), pemeriksaan MSI digunakan untuk penentuan pengobatan lini pertama pada pasien kanker kolorektal metastatik. Pada 29 Juni 2020, FDA menyetujui pembrolizumab untuk diberikan sebagai terapi lini pertama bagi pasien yang memiliki MSI-H atau dMMR. Persetujuan ini berdasarkan hasil studi KEYNOTE-177 (NCT02563002). Sebelumnya pada 2018, FDA telah menyetujui nivolumab digunakan sebagai terapi tunggal maupun kombinasi dengan ipilumab pada pasien kanker kolorektal metastatik dengan MSI-H sebagai lanjutan pengobatan dengan fluoropyrimidine, oxaliplatin, dan irinotecan (7).
2. *European Society Medical Oncology* (ESMO) pada September tahun 2022, menyarankan baik MSI (Molekuler) dan atau MMR (IHK) sebaiknya diperiksa pada semua pasien kanker kolorektal metastatik sebelum pemberian terapi dengan pembrolizumab (3).

MANFAAT MSI PADA LYNCH SYNDROME (LS)

Terlepas mengenai *stage* kanker kolorektal, beberapa expert panel menyarankan pemeriksaan MSI untuk semua pasien yang didiagnosis kanker kolorektal, untuk mengidentifikasi kemungkinan kanker di kerabatnya jika ditemukan MSI, mengingat MSI umumnya di temukan pada *LS-related* kanker kolorektal yang disebabkan mutasi *germline* gen MMR yaitu MLH1, MSH2, MSH6 dan PMS2. Pembawa mutase heterozigot gen MMR memiliki risiko kanker kolorektal 25-70% dan kanker endometrial 30-70%. Manfaat diketahuinya status MSI tidak hanya bermanfaat untuk menyelamatkan hidup pasien tetapi juga memberi peluang keluarga yang tidak bergejala untuk memastikan status risiko mutase hereditas pada dirinya, karena peluang diturunkan jika memiliki mutasi gen MMR tersebut adalah 50% mengingat sifat penurunannya adalah autosomal dominan (8).

PENUTUP

Peningkatan kasus kanker kolorektal yang terus bertumbuh memberikan tantangan sendiri dalam pengelolaannya. Kemajuan bidang farmasi seperti ICI dan teknologi laboratorium bersinergi untuk menunjang penanganan pasien kanker kolorektal. Metode molekular di bidang laboratorium membantu klinisi untuk mengetahui status MSI pasien sehingga dokter dapat memperkirakan prognosis pasien serta prediksi respon pengobatan ICI dengan lebih

presisi. Pada akhirnya semua hal tersebut diharapkan memberikan *outcome* klinis seperti OS, DFS maupun SAR yang lebih baik.

Trilis Yulianti

Referensi:

1. Morgan E, Arnold M, Gini A, Lorenzoni V, Cabasag CJ, Laversanne M, et al. Global burden of colorectal cancer in 2020 and 2040: incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. *Gut*. 2022.
2. Randrian V, Evrad C and Tougeron D. Microsatellite Instability in Colorectal Cancer: Carcinogenesis, Neo-Antigens, Immuno-Resistance and Emerging Therapies. *Cancer*, 2021;13:3063
3. Guyot DAsnières De Salins A, Tachon G, Cohen R, Karayan-tapon L, Junca A, Frouin at all.. Discordance between Immunocheristry of mismatch repair proteins and molecular testing of microsatellite intsbaility in colorectal cancer. *ESMO*, 2021
4. Li K, Luo H, Huang L, Luo and Zhu Xiao. Microsatellite Instability: a review of what the oncogist should know. *Cancer Cell Int* (2020) 20:16
5. Gilson, P.; Merlin, J.-L.; Harlé, A. Detection of Microsatellite Instability: State of the Art and Future Applications in Circulating Tumour DNA (ctDNA). *Cancer* 2021, 13, 1491
6. Jin Z and Sinicrope F A. 2021. Prognostic and Predictive Values of Mismatch Repair Deficiency in Non-Metastatic Colorectal Cancer. *Cancer*, 2021. 13: 300
7. FDA. FDA approves pembrolizumab for first-line treatment of MSI-H/dMMR colorectal cancer
8. NICE 2022. All rights reserved. Subject to Notice of rights (<https://www.nice.org.uk/terms-andconditions#notice-of-rights>)

PEMERIKSAAN MUTASI BCR-ABL T315I PADA *CHRONIC MYELOID LEUKEMIA* (CML)

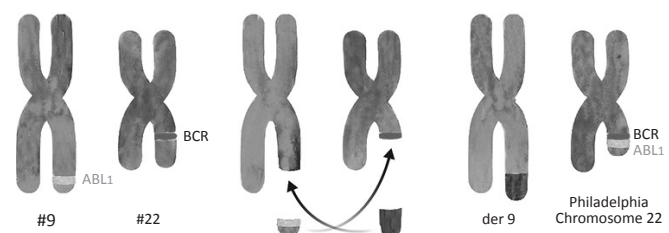
PENDAHULUAN

Hingga tahun 2020, leukemia termasuk dalam 10 kanker terbanyak di Indonesia dengan 14.979 kasus baru dan total prevalensi selama 5 tahun sebelumnya sebanyak 41.701 kasus (1). *Chronic myeloid leukemia* (CML) merupakan neoplasma mieloproliferatif yang menyumbang 15% dari keseluruhan kasus leukemia pada orang dewasa. Kemajuan teknologi biomedis selama 2 dekade terakhir telah membawa perubahan signifikan pada prognosis pasien CML sehingga memungkinkan pasien mengalami peningkatan

harapan hidup (2). Prognosis CML dapat ditinjau dari pemeriksaan kuantitatif transkrip gen BCR-ABL, di mana hasil pemeriksaan yang didapat dijadikan acuan dalam menentukan intervensi terapi yang sesuai dengan kondisi klinis pasien. Pemberian imatinib yang merupakan *tyrosine kinase inhibitor* (TKI) adalah terapi lini pertama penanganan CML hingga saat ini. Seiring berjalannya waktu, studi menunjukkan bahwa respon negatif terhadap imatinib diasosiasikan dengan adanya mutasi T315I pada gen BCR-ABL sehingga menyebabkan resistensi TKI (3,4). Oleh karena itu, pemeriksaan mutasi T315I pada pasien CML menjadi sebuah langkah transformasional yang dapat membantu menentukan strategi terapi terhadap pasien yang diduga memiliki resistensi terhadap imatinib.

PATOFISIOLOGI DAN PERJALANAN PENYAKIT CML

CML ditandai oleh terdeteksinya fusi gen BCR-ABL yang bersifat onkogenik pada pemeriksaan kualitatif. Fusi gen BCR-ABL terjadi akibat translokasi gen Abelson (ABL1) yang berada pada kromosom 9 dengan gen *breakpoint cluster region* (BCR) yang berada pada kromosom 22, yang kemudian dikenal sebagai kromosom Philadelphia (Gambar 1). Fusi gen ini mengkode onkoprotein *tyrosine kinase* yang berperan dalam peningkatan aktivitas *tyrosine kinase*, dan memicu pembelahan dan pertumbuhan sel darah secara tidak terkontrol (5). Peningkatan aktivitas ini mengganggu jalur *downstream* seperti JAK/STAT, PI3K/AKT, dan RAS/MEK yang terlibat dalam pertumbuhan sel, kelangsungan hidup sel, inhibisi apoptosis, dan aktivasi dari faktor transkripsi (6).



Gambar 1. Ilustrasi pembentukan fusi gen BCR-ABL akibat translokasi (7)

Perjalanan penyakit CML terklasifikasi menjadi 3 fase, yaitu fase *chronic*, *accelerated*, dan *blast*. Perbedaan manifestasi klinis dari ketiga fase tersebut dapat dilihat pada Gambar 2. Pada umumnya, pasien berada pada fase *chronic* saat terdiagnosis, di mana gejala yang muncul dikaitkan dengan anemia dan splenomegali (6).

Penegakkan diagnosis CML pada fase tertentu berpengaruh pada terapi yang diperlukan pasien. Hingga saat ini, *Food and Drug Administration* (FDA) telah menyetujui terapi lini pertama CML fase *chronic* yang terdiri dari TKI generasi pertama imatinib, dan TKI generasi kedua yaitu dasatinib, nilotinib, dan bosutinib. TKI generasi ketiga yaitu ponatinib merupakan terapi pilihan bagi pasien CML yang resisten terhadap TKI generasi lainnya karena adanya mutasi T315I. Hal ini menandakan pentingnya pemeriksaan T315I sebagai faktor penentu penggantian terapi TKI generasi pertama dan kedua menjadi ponatinib agar dapat mencapai *outcome* yang lebih optimal. Pada pasien yang berada pada fase lanjut CML dan tidak memiliki respon baik terhadap pengobatan TKI, dapat dipertimbangkan untuk melakukan transplantasi sel punca hematopoietik alogenik (6).

	Chronic Phase	Accelerated Phase	Blast Crisis
Median duration without treatment	5-6 years	6-9 months	3-6 months
	BCR-ABL Expansion of compartment myeloid	New cytogenetic abnormalities	Increased genomic instability
Blasts	10-15%	>15% <30%	>30%
Symptoms	Asymptomatic	Increased tiredness Weight loss Enlarged spleen	Increased blast cell in bone marrow & blood Extramedullary disease

Gambar 2. Fase-fase perjalanan penyakit CML (8).

METODE PEMERIKSAAN MUTASI BCR-ABL T315I

Pemeriksaan Mutasi BCR-ABL T315I memerlukan metode dengan spesifisitas dan sensitivitas tinggi agar bisa mendeteksi mutasi secara akurat. Rosso *et al.* (9) mengembangkan metode berdasarkan penggabungan teknologi *peptide nucleic acid* (PNA) dengan *immunofluorescence microscopy* (PNA-FISH) untuk mendeteksi mutasi spesifik T315I. Selain itu, dikembangkan juga metode berdasarkan PNA *directed* PCR-*clamping* untuk deteksi yang lebih mudah, murah, dan cepat (9). Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode tersebut mampu mendeteksi sampel mutasi hingga batas terendah sebesar 0,5% pada 5 dari 17 pasien CML.

Prodia menggunakan metode *in-house Mutant Enrichment with 3-Modified Oligonucleotides* (MEMO-PCR) dan deteksi Sanger *sequencing* untuk mendeteksi mutasi T315I. Metode ini memberikan kemampuan deteksi yang lebih baik dibandingkan metode PCR konvensional. Uji sensitivitas dilakukan dengan membandingkan metode PCR konvensional dengan MEMO-PCR pada beberapa sampel klinis positif mutasi T315I dan juga gBlocks. Hasil perbandingan menunjukkan bahwa MEMO-PCR memberikan sensitivitas

lebih baik dibandingkan metode PCR konvensional dalam mendeteksi mutasi, di mana tingkat *enrichment* alel mutan yang dikerjakan mencapai 20x. Uji spesifisitas dilakukan secara *in silico* dengan mencocokkan rangkaian primer ABL-F dan ABL-R3 terhadap *database* gen ABL1 Homo sapiens pada NCBI menggunakan fitur BLAST dengan *software* MEGA. Primer *forward* dan *reverse* yang digunakan memberikan kesesuaian yang baik dengan sekuens gen ABL1 pada kromosom 9 manusia.

MANFAAT DAN APLIKASI PEMERIKSAAN MUTASI BCR-ABL T315I

Deteksi mutasi BCR-ABL T315I penting sebagai faktor prognostik yang menunjang keberhasilan *targeted therapy* pasien CML. Terdeteksinya mutasi T315I merupakan indikator resistensi terhadap TKI generasi pertama dan kedua, sehingga dapat dipertimbangkan penggantian terapi menjadi TKI generasi ketiga yaitu ponatinib agar pasien mendapatkan manfaat klinis yang lebih baik (3, 4). Selain itu, pemeriksaan ini menunjang penerapan teknologi molekuler untuk pemantauan progres penyakit pascaterapi yang dapat dilihat dari penilaian *minimal residual disease* (MRD) (10).

Nilai transkrip BCR-ABL sebagai indikator utama pemantauan MRD didapatkan melalui pemeriksaan *quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction* (RQ-PCR). Program *European Treatment Outcome Study* (EUTOS) bersama *LabNet network* di Itali menetapkan standarisasi pemeriksaan RQ-PCR dan nilai transkrip BCR-ABL sebagai “*international scale*” atau IS (10). Prognosis CML dapat dievaluasi dari *molecular response* (MR) pascaterapi TKI, yang ditandai oleh *log-reduction* dari 100% (11). Panduan *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) menunjukkan bahwa penurunan nilai transkrip sebanyak 2-log atau lebih besar ($\leq 1\%$ BCR-ABL1 IS; MR2.0) berkorelasi dengan respon signifikan berupa *complete cytogenetic response* atau CCyR, dan penurunan ≥ 3 -log ($\leq 0,1\%$ BCR-ABL1 IS) dirujuk sebagai *major molecular response* (MMR) or MR3.0 dan inilah yang menjadi target pengobatan CML (11).

Deep molecular response (DMR) didefinisikan sebagai level sensitivitas pemeriksaan, di mana nilai $\leq 0,01\%$ BCR-ABL1 (IS) adalah MR4.0, dan nilai $\leq 0,0032\%$ BCR-ABL1 (IS) adalah MR4.5 (11). Saat ini, pemeriksaan BCR-ABL kuantitatif di Prodia mampu mendeteksi hingga 0,0030% (IS) sehingga sangat baik digunakan untuk pemantauan MRD CML. Respon molekuler terapi TKI yang baik dalam 3, 6, 12 bulan, dan seterusnya yang ditandai dengan DMR yang stabil dapat memberikan harapan hidup yang baik



bagi pasien, karena dapat menjadi prasyarat *Treatment Free Remission* (TFR) (10). Sebaliknya, apabila pada pemantauan rutin yang idealnya dilakukan setiap 3 bulan sekali tidak menunjukkan adanya respon molekuler yang baik, perlu dipertimbangkan adanya resistensi terhadap TKI generasi pertama dan kedua, dan dilakukan evaluasi terkait interaksi obat dan kepatuhan pasien terhadap pengobatan (11). Di sinilah peran pemeriksaan mutasi BCR-ABL T315I yang bermanfaat untuk mendeteksi mutasi yang menjadi penyebab resistensi TKI. Apabila mutasi T315I terdeteksi, pemberian ponatinib yang merupakan TKI generasi ketiga perlu dijadikan pilihan. Ponatinib adalah satu-satunya TKI yang hingga saat ini terbukti memberikan reaksi efektif terhadap CML dengan mutasi T315I, dan diberikan sebanyak 45 mg setiap hari (5, 6).

PENUTUP

Pemeriksaan mutasi BCR-ABL T315I menjadi langkah yang sangat penting untuk menunjang pemberian *targeted therapy* dalam penatalaksanaan penyakit CML yang diduga resisten terhadap TKI generasi pertama dan kedua. Perubahan strategi terapi menggunakan ponatinib (TKI generasi ketiga) pada pasien CML yang terdeteksi mutasi T315I dapat ditinjau dari respon molekuler yang terlihat pada transkrip BCR-ABL kuantitatif. Nilai transkrip BCR-ABL yang mengalami penurunan setelah terapi ponatinib merupakan target dari strategi terapi ponatinib ini. Oleh karena itu, hasil pemeriksaan mutasi BCR-ABL T315I merupakan faktor prognosis penting untuk menentukan strategi pengobatan pasien CML supaya mendapatkan manfaat klinis jangka panjang yang optimal.

Bernadette Vania Lundina Arman

Referensi:

1. Fact sheet: Indonesia [Internet]. International Agency for Research on Cancer; [updated 2021 Mar; cited 2023 Jan 04]. [about 2 screens]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>
2. Osman AEG, Deininger MW. Chronic Myeloid Leukemia: Modern therapies, current challenges and future directions. *Blood Rev.* 2021; 49: 100825.
3. Kimura S, Ando T, Kojima K. Ever-advancing chronic myeloid leukemia treatment. *Int J Clin Oncol.* 2014; 19(1): 3-9.
4. Massaro F, Molica M, Breccia M. Ponatinib: A Review of Efficacy and Safety. *Curr. Cancer Drug Targets.* 2018; 18(9): 847-56.
5. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring. *Am. J. Hematol.* 2018; 93(3): 442-59.
6. Eden RE, Coviello JM. Chronic Myelogenous Leukemia [Internet]. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; 2022 [cited 2023

Jan 3]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531459/>

7. About the Philadelphia Chromosome | CML Support [Internet]. [cited 2023 Jan 3]. Available from: <https://cmlsupport.org.uk/section/about-philadelphia-chromosome>
8. Clarke CJ, Holyoake TL. Preclinical approaches in chronic myeloid leukemia: from cells to systems. *Exp. Hematol.* 2017; 47: 13-23.
9. Rosso V, Bracco E, Pedrola R, Carturan S, Signorino E, Petiti J, et al. Detection of BCR-ABL T315I mutation by peptide nucleic acid directed PCR clamping and by peptide nucleic acid FISH. *Biomark Res.* 2015; 3(1): 15.
10. Cumbo C, Anelli L, Specchia G, Albano F. Monitoring of Minimal Residual Disease (MRD) in Chronic Myeloid Leukemia: Recent Advances. *Cancer Manag Res.* 2020; 12: 3175-89.
11. Deininger MW, Shah NP, Altman JK, Berman E, Bhatia R, Bhatnagar B, et al. Chronic Myeloid Leukemia, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2020; 18(10): 1385-415.

INFORMASI LABORATORIUM

ISSN 0854-7165 | No. 5/2022

Redaksi Kehormatan

Drs. Andi Wijaya, Ph.D.
Prof. Dr. dr. FX Budhianto Suhadi

Penanggung Jawab

Dr. Trilis Yulianti, M.Kes.

Ketua Dewan Redaksi

Gianni Yosephine, S.Si., M.Farm

Anggota Dewan Redaksi

Siska Darmayanti, S.Si., M.Farm.
Bernadette Vania Lundina Arman S.Ked., M.A.
Matthew Justyn, S.Si.
Bena Zaira, S.Si.
Amadea Risanggita Kinanthi, S.Si

Alamat Redaksi

PT. Prodia Widyahusada
Jl. Kramat Raya 150, Jakarta 10430
Telepon: (021) 3144182 (Hunting)
Fax: (021) 3926675
e-mail: produk@prodia.co.id
website: www.prodia.co.id



Certificate Number : JKT 0403247
Certified to QMS

Januari 2023 - PR0005976