

**HUBUNGAN MUTASI GEN EGFR, KRAS, NRAS, BRAF DAN
C-KIT PADA KANKER PARU JENIS KARSINOMA BUKAN SEL
KECIL STADIUM LANJUT TERHADAP KARAKTERISTIK KLINIS
PASIE**

*CORELATION THE MUTATIONS OF EGFR, KRAS, NRAS, BRAF AND
C-KIT IN THE ADVANCED STAGE OF NON-SMALL CELL LUNG
CANCER TO CLINICAL CHARACTERISTIC OF THE PATIENT*

**dr. SRY RAHAYU ALIMUDDIN
C185182005**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1
DEPARTEMEN PULMONOLOGI DAN KEDOKTERAN RESPIRASI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
RUMAH SAKIT WAHIDIN SUDIROHUSODO
MAKASSAR
2022**

**HUBUNGAN MUTASI GEN EGFR, KRAS, NRAS, BRAF DAN
C-KIT PADA KANKER PARU JENIS KARSINOMA BUKAN SEL
KECIL STADIUM LANJUT TERHADAP KARAKTERISTIK KLINIS
PASIEEN**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Spesialis 1

Program Studi
Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi

Disusun dan diajukan oleh

STRY RAHAYU ALIMUDDIN

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1
DEPARTEMEN PULMONOLOGI DAN KEDOKTERAN RESPIRASI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
RUMAH SAKIT WAHIDIN SUDIROHUSODO
MAKASSAR
2022**

**HALAMAN PENGESAHAN
UJIAN AKHIR PENELITIAN**

Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 (Sp.1)
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

Disetujui untuk diseminarkan: Hubungan Mutasi gen EGFR, KRAS, NRAS, BRAF Dan C-KIT Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil Stadium Lanjut Terhadap Tampilan Klinis Pada Pasien

Nama : dr. Sry Rahayu Alimuddin
Nomor Pokok : C185182005
Program Pendidikan : Dokter Spesialis-1 (Sp.1) FK Unhas
Program Studi : Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi
Tahun Masuk : Januari 2019
Tempat : Ruang Pertemuan Pulmonologi dan Kedokteran
Respirasi lantai 2 RS Unhas Makassar

Makassar, 19 April 2022

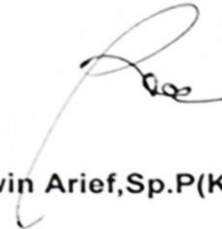
Komisi Penasehat,

Pembimbing I



dr. Arif Santoso, Sp.P(K), Ph.D, FAPSR

Pembimbing II



Dr.dr. Erwin Arief, Sp.P(K), Sp.PD, K-P

Mengetahui,

Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis
Fakultas Kedokteran Unhas



dr. Uleng Bahrun, Sp.PK (K), Ph.D

NIP: 19680518 199802 2 001

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “Hubungan Mutasi Gen EGFR, KRAS, NRAS, BRAF dan C-KIT pada Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil Stadium Lanjut Terhadap Karakteristik Klinis Pasien” adalah benar karya saya dengan arahan komisi pembimbing (dr. Arif Santoso, Ph.D, Sp.P(K), FAPSR sebagai pembimbing utama serta Dr. dr. Erwin Arief, Sp.P(K), Sp.PD, K-P sebagai pembimbing pendamping). Karya Ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.



Assar, 22 April 2022

Sry Rahayu Alimuddin

NIM: C185182005

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena rahmat dan Hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan usulan penelitian ini. Penulisan usulan penelitian ini dilakukan untuk memenuhi syarat dalam menempuh Pendidikan Dokter Spesialis Tahap 1 pada Program Studi Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, maka sulit untuk menyelesaikan usulan penelitian ini. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. **dr. Arif Santoso, Ph.D, Sp.P(K), FAPSR** sebagai pembimbing I yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan kepada penulis pada waktu penyusunan tesis ini dan memotivasi untuk menyelesaikan tesis ini.
2. **Dr. dr. Erwin Arief, Sp.P(K), Sp.PD, K-P** sebagai pembimbing II yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan kepada penulis pada waktu penyusunan tesis ini dan memotivasi untuk menyelesaikan tesis ini.

Penghargaan dan ucapan terima kasih yang tidak terhingga kami sampaikan kepada **Dr. dr. Muhammad Ilyas, Sp.PD, K-P, Sp.P(K), Dr. dr. Harun Iskandar, SpP(K). Sp.PD. K-P, dan dr. Nurjannah Lihawa, Sp.P (K)** sebagai Tim Penguji yang tidak jemu-jemuanya memberikan saran, masukan dan koreksi demi kesempurnaan penelitian dan penyusunan tesis

ini.

Perkenankan pula saya menyampaikan penghargaan terima kasih yang setinggi tingginya kepada :

1. **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A**, selaku Rektor UNHAS sebelumnya, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Universitas Hasanuddin, dan **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc**, selaku Rektor UNHAS saat ini.
2. **Prof. dr. Budu M, Ph.D, Sp.M (K), M.Med.Ed**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran UNHAS sebelumnya, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis melanjutkan studi di Program Pendidikan Dokter Spesialis di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, dan **Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes.,Sp.PD-KGH, Sp.GK(K)** selaku Dekan Fakultas kedokteran UNHAS saat ini.
3. **dr. Uleng Bahrin, Sp.PK(K),Ph.D** selaku Manager PPDS Fakultas Kedokteran UNHAS yang telah memberikan kesempatan kepada penulis melanjutkan studi di Program Pendidikan Dokter Spesialis Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
4. **Dr.dr. Nur Ahmad Tabri Sp.PD, K-P,Sp.P(K)**, sebagai Ketua Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi FK UNHAS sebelumnya, atas bimbingan, dukungan dan motivasi untuk menjalani pendidikan di Program Pendidikan Dokter Spesialis Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran

Universitas Hasanuddin, dan **dr. Arif Santoso, Ph.D, Sp.P(K), FAPSR** sebagai Ketua Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi FK UNHAS saat ini.

5. **Dr. dr. Muhammad Ilyas, Sp.PD, K-P, Sp.P(K)** sebagai Ketua Program Studi Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi FK UNHAS sebelumnya, atas bimbingan, dukungan dan motivasi untuk menjalani pendidikan di Program Pendidikan Dokter Spesialis Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, dan **Dr. dr. Irawaty Djaharuddin, Sp.P(K), FISR** sebagai Ketua Program Studi Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi FK UNHAS saat ini.
6. Penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada staf pengajar **Dr.dr.Jamaluddin Madolangan, Sp.P(K), FAPSR, dr. Edward Pandu Wiriansyah, Sp.P(K), dr. Bulkis Natsir, Sp.P(K), dr.Sitti Nurisyah, Sp.P(K), dr. Harry Akza Putrawan, Sp.P(K)** atas segala bimbingan dan pengarahan yang sangat berguna selama penulis mengikuti pendidikan di Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi FK UNHAS.
7. Staf Administrasi dan Rekan-Rekan PPDS Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
8. Anak-Anak saya **Fahry Zafran Khairi** dan **Muh. Khalid Syaifullah,**

Saudara-saudara saya **Marlan Alimuddin, Wahyudi Alimuddin** dan **Nurnia** serta Keluarga Besar yang telah memberikan dukungan moral maupun material serta teman-teman yang telah banyak membantu dalam penyelesaian tesis ini.

9. Teman-teman seangkatan sy soulmate Januari 2019, **dr. Nirmalasari, dr. Devi Grania Amelia Salekede, dr. Muhammad Ayip, dr. Asrul Abdul Azis, dan dr. Musannif Ziad.**

Tesis ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan masukan, saran dan perbaikan terhadap tesis ini. Penulis pun menyampaikan permohonan maaf yang tulus kepada semua pihak atas segala kekhilafan dan kesalahan yang diperbuat. Semoga ilmu yang penulis dapat selama proses pendidikan dapat bermanfaat untuk sesama dan semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala mencurahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Amin.

Makassar, 22 April 2022

Penulis

ABSTRAK

Nama : Sry Rahayu Alimuddin
Program Studi : Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi
Judul : Hubungan Mutasi Gen EGFR, KRAS, NRAS, BRAF, dan C-KIT pada Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil Stadium Lanjut terhadap karakteristik klinis pasien

Latar Belakang: Kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK) merupakan tipe yang paling umum dari kanker paru. KPKBSK stadium lanjut dimulai dari stadium III dengan manifestasi ekstra-paru. Pemeriksaan genomik tumor telah dikembangkan untuk kepentingan pilihan terapi seperti *epidermal growth factor receptor* (EGFR), *kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog gene* (KRAS), neuroblastoma-RAS (NRAS), BRAF dan C-Kit.

Metode: Penelitian ini merupakan analitik observasional dengan desain *cross-sectional* pada pasien KPKBSK stadium lanjut yang berkunjung di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar periode Januari 2019 - Desember 2020. Ekspresi gen EGFR, KRAS, NRAS, BRAF, dan C-Kit diukur secara kuantitatif dalam bentuk persentase menggunakan metode MALDI-TOF *mass spectrometry*.

Hasil: Subjek penelitian sebanyak 31 pasien, terdiri dari laki-laki (80,6%) dan perempuan (19,4%) dimana terbanyak usia 45-64 tahun (48,4%). Riwayat merokok (64,5%). Berdasarkan hasil histopatologi yang terbanyak adalah jenis karsinoma sel skuamous (61,3%) dengan stadium terbanyak 4A (45,2%). Status performans terbanyak pada skor dua (67,7%). Analisis mutasi gen terbesar yaitu mutasi gen EGFR (38,7%) dan ditemukan terdapat 1 pasien (3,2%) dengan mutasi gen EGFR disertai KRAS. Selama penelitian ditemukan sebesar 20 pasien (64,5%) meninggal.

Kesimpulan: Mutasi EGFR terdeteksi dengan persentasi hampir sama pada kedua jenis KPKBSK stadium lanjut baik adenokarsinoma dan karsinoma sel skuamous, sedangkan KRAS hanya terdeteksi pada jenis karsinoma sel skuamous. Pemeriksaan panel mutasi pada kedua jenis KPKBSK tersebut sangat penting karena terbukti bahwa prognosis cenderung lebih baik jika mendapatkan terapi yang sesuai dengan ekspresi mutasi tersebut.

Kata Kunci: KPKBSK, EGFR, KRAS, karakteristik

ABSTRACT

Nama : Sry Rahayu Alimuddin
Program Studi : Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi
Judul : Corelation the mutations of EGFR, KRAS, NRAS, BRAF and C-Kit in the advanced Stage of Non-Small Cell Lung Cancer to Clinical Characteristic of the Patient

Background: Non-small cell lung carcinoma (NSCLC) is the most common type of lung cancer. Advanced stage NSCLC starts from stage III with extra-pulmonary manifestations. Tumor genomic studies have been developed for therapeutic options such as epidermal growth factor receptor (EGFR), kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog gene (KRAS), neuroblastoma-RAS (NRAS), BRAF and C-Kit.

Methods: This study is an analytical observational cross-sectional design on patients with advanced stage NSCLC who visited in RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar period January 2019 - December 2020. The expression of EGFR, KRAS, NRAS, BRAF, and C-Kit genes was measured quantitatively in percentage form using the MALDI-TOF mass spectrometry method.

Results: The study subjects were 31 patients, consisting of male (80,6%) and female (19,4%), most of whom were aged 45-64 years (48.4%). History of smoking (64.5%). Based on histopathological results, the most type was squamous cell carcinoma (61.3%) with the most stage 4A (45.2%). The highest performance status is category two, (67.7%). The analysis of the largest gene mutation was (38.7%) EGFR gene mutation and found there was 1 pasien (3.2%) with EGFR gene mutation accompanied by KRAS. During the study, it was found that 20 patients (64.5%) died.

Conclusion: EGFR mutations were detected in almost the same percentage in both types of advanced stage NSCLC both adenocarcinoma and squamous cell carcinoma, while KRAS was only detected in squamous cell carcinoma types. Examination of the panel for mutations in both types of NSCLC is very important because it proven that the prognostic tends to be better if you get therapy that matches the expression of these mutation.

Keywords: NSCLC, EGFR, KRAS, characteristics

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGANTAR	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Kanker Paru Karsinoma Bukan Sel Kecil	7
2.2. KPKBSK Stadium Lanjut	14
2.3. Mutasi Gen Pada KPKBSK	16
2.4. Kerangka Teori	29
2.5. Kerangka Konsep	30
2.6. Hipotesis Penelitian	30
BAB III METODE PENELITIAN	31
3.1. Rancangan Penelitian	31
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.3. Populasi Penelitian	31
3.4. Sampel Penelitian dan Cara Pengambilan Sampel	31
3.5. Perkiraan Besar Sampel Penelitian	32
3.6. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	32

3.7.	Identifikasi Variabel	33
3.8.	Definisi Operasional	34
3.9.	Prosedur Penelitian	35
3.10.	Pengolahan dan Analisis Data	35
3.11.	Alur Penelitian	36
3.12.	Struktur Organisasi	37
3.13.	Etik Penelitian	37
BAB IV HASIL PENELITIAN		38
4. 1.	Karakteristik Sampel Penelitian & Profil Mutasi Genetik	38
4. 2.	Hubungan Jenis Ekspresi Mutasi Gen – Karakteristik Pasien	43
4. 3.	Hubungan Jenis Ekspresi Mutasi Gen – Karakteristik Pasien pada Karsinoma Sel Skuamous	46
4. 4.	Hubungan Jenis Ekspresi Mutasi Gen – Karakteristik Pasien pada Adenokarsinoma	50
4. 5.	Hubungan Level Ekspresi Mutasi Gen – Karakteristik Pasien	52
4. 6.	Analisis Korelasi Ekspresi & Ekson dari EGFR terhadap Stadium, Tumor, Nodul, dan Metastasis	54
4. 7.	Hubungan Ekson dari EGFR terhadap Stadium, Tumor, Nodul, Metastasis, dan Survival	56
4. 8.	Perbandingan Rerata Time Survival berdasarkan Ekson dari EGFR	57
4. 9.	Analisis Kaplan-Meier pada Probabilitas-Survival Rate	58
DAFTAR V PEMBAHASAN		61
BAB VI PENUTUP		80
6. 1.	Ringkasan	80
6. 2.	Kesimpulan	81
6. 3.	Saran	82
DAFTAR PUSTAKA		83

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Ligand yang berikatan dengan Reseptor EGFR	28
Gambar 4.1 Proporsi Ekspresi Gen pada KPKBSK	41
Gambar 4.2 Profil Mutasi Genetik KPKBSK	42
Gambar 4.3 Analisis Kaplan-Meier Probabilitas Pasien akan meninggal dalam 2 tahun berdasarkan jenis mutasi	59
Gambar 4.4 Analisis Kaplan-Meier pada Probabilitas Pasien dengan Karsinoma Sel Skuamous akan meninggal dalam 2 tahun berdasarkan jenis mutasi yang terjadi	59
Gambar 4.5. Analisis Kaplan-Meier pada Probabilitas Pasien dengan Adenokarsinoma akan meninggal dalam 2 tahun berdasarkan jenis mutasi yang terjadi	60

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Karakteristik Sampel Penelitian	39
Tabel 4.2. Hubungan Mutasi Gen pada Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil Stadium Lanjut terhadap Karakteristik Klinis Pasien	43
Tabel 4.3. Distribusi Ekspresi Gen EGFR, dan KRAS pada Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil Stadium Lanjut terhadap Karakteristik Klinis Pasien	47
Tabel 4.4. Distribusi Ekspresi Gen EGFR, dan KRAS pada Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil Stadium Lanjut terhadap Karakteristik Klinis pada Pasien dengan Gambaran Histopatologi Karsinoma Sel Skuamous	49
Tabel 4.5. Distribusi Ekspresi Gen EGFR, dan KRAS pada Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil Stadium Lanjut terhadap Karakteristik Klinis pada Pasien dengan Gambaran Histopatologi Adenokarsinoma	51
Tabel 4.6 Proporsi Level Ekspresi Genetik pada Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil Stadium Lanjut terhadap Karakteristik Klinis Pasien	53
Tabel 4.7 Hubungan Level Ekspresi Gen pada Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil Stadium Lanjut terhadap Karakteristik Klinis Pasien	53
Tabel 4.8 Korelasi Ekspresi EGFR terhadap Stadium, Tumor, Nodul, Metastasis, dan Survival	55
Tabel 4.9 Korelasi Ekson EGFR terhadap Stadium, Tumor, Nodul, Metastasis, dan Outcome	55
Tabel 4.10 Hubungan Ekson dari EGFR terhadap Stadium, Tumor, Nodul, metastasis, dan Outcome	56
Tabel 4.11 Perbandingan Rerata Time Survival berdasarkan Ekson dari EGFR	57

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

World Health Organization (WHO) telah mengklasifikasikan dari kanker paru karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK) menjadi 3 jenis utama: adenokarsinoma, karsinoma sel skuamous, dan sel besar. Adenokarsinoma adalah jenis paling umum KPKBSK yang menyumbang sekitar 40% dari kanker paru.⁽¹⁾ Adenokarsinoma paru adalah kanker paru primer jenis KPKBSK yang paling umum di Amerika Serikat dan memiliki hubungan kuat dengan riwayat merokok. Insiden dan kematian adenokarsinoma dilaporkan telah menurun, namun tetap menjadi penyebab utama kematian akibat kanker paru di Amerika Serikat.⁽³⁾

Adenokarsinoma paru biasanya berkembang dari kelenjar mukosa dan mewakili sekitar 40% dari semua kanker paru.⁽²⁾ Di sisi lain, karsinoma sel skuamous terdiri dari 25-30% dari semua kasus kanker paru. Ini muncul dari versi awal sel skuamous di sel epitel saluran napas pada bronkial di sentral paru. Subtipe KPKBSK ini sangat berkorelasi dengan merokok. Karsinoma sel besar (tidak berdiferensiasi) menyumbang 5-10% dari kanker paru.⁽³⁾

KPKBSK memiliki stadium klinis yang ditentukan berdasarkan klasifikasi TNM, KPKBSK dikatakan stadium lanjut jika dimulai dari stadium III dan biasanya selain manifestasi paru (efusi pleura) dan perikardial

malignan, KPKBSK stadium lanjut juga memiliki manifestasi klinis terkait dengan lokasi penyebaran seperti: (1) Gejala sistem saraf pusat, termasuk sakit kepala, mual, muntah, kejang, kebingungan, gangguan mental, dan gejala neurologis fokal, (2) Nyeri tulang yang terlokalisir, (3) Metastasis hati muncul dengan kelemahan, anoreksia, dan penurunan berat badan tanpa adanya peningkatan tes fungsi hati, (4) Hiperkalsemia: kelemahan dan lesuh; riwayat nyeri perut atau batu ginjal, (5) SIADH (*Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion*): gejala hiponatremia tanpa penurunan volume (misalnya, malaise, lesu, perubahan status mental) (6) Sindrom Cushing (produksi ACTH): gejala kelelahan dan kelemahan otot proksimal. ⁽²⁾

Uji biomarker imunologis dan genomik tumor menjadi pemeriksaan yang rutin dilakukan terutama adenokarsinoma yang akan berkaitan dengan berbagai pilihan terapi. Biomarker penting antara lain mutasi gen *epidermal growth factor receptor* (EGFR), *Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog gene* (KRAS), Neuroblastoma-RAS (NRAS), BRAF dan c-kit.⁽⁴⁻¹¹⁾

Persentasi onkogen target yang diidentifikasi pada pasien Korea dengan Adenokarsinoma paru dimana onkogen yang bermutasi aktif yaitu EGFR (60%), mutasi KRAS (12%), mutasi NRAS (1,5%), dan mutasi BRAF (<1,0%).⁽¹²⁾ Epidermal growth factor receptor (EGFR) menjadi paling menarik karena EGFR paling sering diekspresikan di KPKBSK. Mutasi ini

berkorelasi dengan karakteristik klinis yang diamati dari responden terhadap inhibitor tirosin kinase (TKI) termasuk jenis kelamin perempuan, etnis Asia, riwayat merokok tidak ada atau rendah, dan diagnosis adenokarsinoma paru.⁽⁵⁾

Selain EGFR juga di penelitian lain ditemukan bahwa mutasi NRAS telah diamati pada 0,7-1,2% pasien KPKBSK⁽¹³⁻¹⁵⁾ dan KRAS (v-Ki-ras 2; viral Kirsten rat sarcoma 2 onkogen homolog) terjadi pada 30% adenokarsinoma paru dan sebagian besar terlihat pada perokok. NRAS-KPKBSK mutan memiliki perubahan genetik berbeda dibandingkan dengan mutan-KRAS. Secara khusus, KRAS dicirikan oleh sebagian besar mutasi di situs G12 dalam domain p-loop yang mengikat GTP-fosfat, sedangkan mutasi NRAS terutama berkerumun di situs Q61 dalam domain sakelar I yang dilestarikan yang berfungsi dalam hidrolisis GTP.⁽⁶⁾

Mutasi onkogen lain seperti *B-Rapidly Accelerated Fibrosarcoma* (BRAF) dan c-kit/CD117. BRAF ditemukan pada 9,3% pasien, Mutasi BRAF lebih banyak pada tipe adenokarsinoma (80%) dengan hanya satu kasus (20%) karsinoma sel skuamous.⁽¹⁰⁾ Ekspresi c-kit pada KPKBSK juga dipercaya memiliki hubungan potensial terhadap faktor patologis dan hasil klinis. Reseptor kit adalah protein transmembran 145~165 kd yang menunjukkan aktivitas protein tirosin kinase.⁽⁹⁾ Pemeriksaan mutasi onkogen merupakan salah satu cara untuk dapat memberikan terapi yang tepat terhadap pasien KPKBSK. Oleh sebab itu, perlu diketahui seberapa besar mutasi onkogen pada pasien kanker.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan diatas, maka dapat ditetapkan masalah atau pertanyaan penelitian yaitu bagaimana perbandingan ekspresi mutasi EGFR, KRAS, NRAS, BRAF, c-kit pada pasien KPKBSK stadium lanjut terhadap karakteristik klinis pasien?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui perbandingan ekspresi mutasi EGFR, KRAS, NRAS, BRAF dan C-Kit pada KPKBSK stadium lanjut terhadap karakteristik klinis pasien.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui level ekspresi mutasi EGFR pada KPKBSK stadium lanjut terhadap karakteristik klinis pasien.
2. Mengetahui level ekspresi mutasi KRAS pada KPKBSK stadium lanjut terhadap karakteristik klinis pasien.
3. Mengetahui level ekspresi mutasi NRAS pada KPKBSK stadium lanjut terhadap karakteristik klinis pasien.
4. Mengetahui level ekspresi mutasi BRAF pada KPKBSK stadium lanjut terhadap karakteristik klinis pasien.

5. Mengetahui level ekspresi mutasi C-Kit pada KPKBSK stadium lanjut terhadap karakteristik klinis pasien.
6. Menganalisis perbandingan ekspresi mutasi EGFR, KRAS, NRAS, BRAF dan C-Kit pada KPKBSK stadium lanjut terhadap karakteristik klinis pasien.
7. Menilai karakteristik klinis pasien KPKBSK stadium lanjut terhadap ekspresi mutasi EGFR, KRAS, NRAS, BRAF dan C-Kit.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini akan memberikan manfaat sebagai berikut:

a. Bagi Peneliti

- a. Sebagai sarana untuk melatih pola pikir dan membuat penelitian berdasarkan metode penelitian yang baik dan benar.
- b. Sebagai sarana menerapkan dan memanfaatkan ilmu yang didapat selama pendidikan, serta ilmu yang diperoleh juga akan membantu dalam edukasi prognostik yang lebih spesifik ke pasien dan keluarga.

b. Bagi Pasien

Pengetahuan yang didapat dari penelitian ini diharapkan dapat membantu pasien kanker paru kelompok bukan sel kecil stadium lanjut dalam pemilihan terapi sehingga dapat meningkatkan kualitas hidup.

c. Institusi

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai Mutasi Gen EGFR, KRAS, NRAS, BRAF, C-Kit pada Pasien KBKBSK.
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk penelitian lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker Paru Karsinoma Bukan Sel Kecil

WHO telah mengklasifikasikan KPKBSK menjadi 3 jenis utama: adenokarsinoma, karsinoma sel skuamous, dan sel besar. Adenokarsinoma adalah jenis paling umum KPKBSK yang dan menyumbang sekitar 40% dari kanker paru. Adenokarsinoma muncul dari sel-sel alveolar yang terletak di epitel saluran napas yang lebih kecil dan cenderung mengekspresikan penanda imunohistokimia seperti TTF-1 dan napsin A.⁽¹⁾ Adenokarsinoma adalah jenis kanker paru yang paling umum pada perokok dan bukan perokok pada pria dan wanita tanpa memandang usia mereka.⁽³⁾

Tipe kanker ini cenderung terjadi di perifer paru, yang mungkin disebabkan oleh penambahan filter pada rokok yang mencegah partikel besar memasuki paru. Hal ini menyebabkan penghirupan asap rokok yang lebih dalam, yang menyebabkan lesi perifer. Dibandingkan dengan jenis kanker paru lainnya, adenokarsinoma cenderung tumbuh lebih lambat dan memiliki peluang lebih besar untuk ditemukan sebelum menyebar ke luar paru. Di sisi lain, karsinoma sel skuamous terdiri dari 25-30% dari semua kasus kanker paru. Ini muncul dari versi awal sel skuamous di sel epitel saluran napas pada bronkial di sentral paru.⁽³⁾

Subtipe KPKBSK ini sangat berkorelasi dengan merokok. Karsinoma sel besar (tidak berdiferensiasi) menyumbang 5-10% dari kanker paru. Jenis karsinoma ini tidak menunjukkan bukti pematangan skuamous atau kelenjar dan akibatnya sering didiagnosis secara default dengan mengesampingkan kemungkinan lain. Karsinoma sel besar sering dimulai di bagian tengah paru, kadang-kadang ke kelenjar getah bening di dekatnya dan ke dinding dada serta organ jauh. Tumor karsinoma sel besar sangat terkait dengan merokok.⁽³⁾

Adenokarsinoma

Adenokarsinoma adalah subtipe histologis yang paling umum dari kanker paru. Sebagian besar adenokarsinoma terjadi di perifer paru, dan mungkin berhubungan dengan reaksi desmoplastik dan kerutan pleura. Dari semua tipe histologis, adenokarsinoma paling mungkin ditemukan secara insidental pada individu yang bebas gejala. Beberapa dideteksi berdasarkan metastasis yang terbukti secara klinis. Adenokarsinoma jarang menunjukkan kavitas.⁽¹⁶⁾ Adenokarsinoma paru merupakan jenis kanker paru yang paling sering ditemukan pada perokok maupun bukan perokok, pada orang di bawah usia 45 tahun, lebih sering terjadi pada perempuan, umumnya lesinya di perifer paru dan sering dihubungkan dengan jaringan parut pada pleura. ⁽¹⁷⁾

Adenokarsinoma ditemukan sekitar 30 persen dari kanker paru primer pada perokok laki-laki dan 40 persen pada perokok perempuan.

Persentase kejadian adenokarsinoma pada bukan perokok mendekati 60 persen pada laki-laki dan 80 persen pada perempuan. Penyakit ini juga lebih sering terjadi pada populasi Asia.⁽¹⁷⁾ Gen yang umumnya terlibat dalam pengembangan adenokarsinoma paru adalah *KRAS*, *p53 pathway*, *RB pathway*, *p16 pathway*, *EGFR*, *c-MET proto-oncogen* dan beberapa mutasi gen lainnya yang belum diketahui.⁽¹⁷⁻¹⁹⁾

Untuk memperbaiki sistem klasifikasi sebelumnya untuk kanker paru dan menghubungkan perubahan molekuler yang relevan secara terapeutik dengan temuan radiologis, histologis, dan sitologis, sebuah konsorsium yang terdiri dari Asosiasi Internasional untuk Studi Kanker Paru, *American Thoracic Society*, dan *European Respiratory Society* mengklasifikasi ulang adenokarsinoma paru, dan perubahan tersebut tercermin dalam klasifikasi tumor toraks WHO terbaru.⁽¹⁶⁾ Perubahan besar adalah penghapusan istilah karsinoma bronkioloalveolar dan penggantian istilah adenokarsinoma in situ untuk mencerminkan riwayat alami, pengobatan, dan dasar-dasar molekuler dari tumor dominan lepidik.⁽¹⁶⁾

Klasifikasi baru membagi adenokarsinoma menjadi empat kelompok berdasarkan spesimen eksisi bedah: lesi preinvasif (termasuk atypical adenomatous hyperplasia (AAH) dan adenokarsinoma in situ), adenokarsinoma invasif minimal, adenokarsinoma invasif, dan varian adenokarsinoma invasif. Adenokarsinoma in situ (sebelumnya karsinoma bronkioloalveolar) didefinisikan oleh pertumbuhannya di sepanjang septa alveolar (pertumbuhan lepidik) tanpa kerusakan arsitektur alveolar yang

mendasarinya. Ada dua subtipe adenokarsinoma in situ: nonmucinous (sebagian besar) dan mucinous (jarang).⁽¹⁶⁾

Adenokarsinoma invasif dideskripsikan lebih lanjut berdasarkan pola arsitektur yang dominan: lepidik predominan, asinar predominan, papiler predominan, mikropapiler predominan, dan solid predominan. Sangat penting untuk mengenali pola padat dan mikropapiler karena memiliki prognosis yang lebih buruk daripada yang lain, bahkan pada tumor stadium. Di bawah “varian adenokarsinoma,” klasifikasi baru sebelumnya mencantumkan tipe fetal dan tipe koloid dan menambahkan dua varian baru yaitu: mucinous invasif (sebelumnya mucinous bronchioloalveolar karsinoma) dan enterik. Tiga varian sebelumnya kistadenocarcinoma mucinous, clear cell, dan signet ring kini dianggap sebagai entitas yang tidak berbeda. Adenokarsinoma fetal yang langka menyerupai komponen epitel dari blastoma paru.⁽¹⁶⁾

Adenokarsinoma musinosa sekarang diakui sebagai varian adenokarsinoma yang berbeda secara klinis dan genetik, menyimpan mutasi KRAS pada 76% kasus dan tidak memiliki mutasi EGFR. Adenokarsinoma musinosa dan adenokarsinoma enterik mudah dikacaukan dengan adenokarsinoma metastatik yang berasal dari gastrointestinal, karena sejumlah besar tumor ini tidak memiliki ekspresi TTF-1 dan dapat mengekspresikan CK20 dan CDX-2.⁽¹⁶⁾ Klasifikasi baru ini juga memberikan pedoman untuk tata nama dalam sitologi dan spesimen biopsi kecil, dengan pemahaman bahwa pola dan varian adenokarsinoma

tertentu biasanya tidak dapat diidentifikasi secara tepat dan dilaporkan pada sampel yang terbatas. ⁽²⁰⁾

Rekomendasi utama dari klasifikasi baru adalah bahwa diagnosis “karsinoma sel non- kecil” diminimalkan dan bahwa upaya yang masuk akal dilakukan untuk menetapkan baik adenokarsinoma atau karsinoma sel skuamous. Alasan di balik harapan ini adalah bahwa adenokarsinoma harus diuji untuk mutasi yang dapat ditargetkan secara terapeutik. Jika pembedaan tidak dimungkinkan oleh sitomorfologi, direkomendasikan imunohistokimia “lini pertama” terbatas hanya untuk dua penanda (TTF-1 dan p63; p40 dapat menggantikan p63). Kasus sitologis tak tentu yang positif untuk TTF-1 dan negatif untuk p63 dan p40 harus dilaporkan sebagai “karsinoma sel non-kecil, mendukung adenokarsinoma.” ⁽²⁰⁾

Kasus sitologis tak tentu positif untuk p63 atau p40 dan negatif untuk TTF-1 harus diklasifikasikan sebagai “ karsinoma sel non-kecil” mendukung karsinoma sel skuamous.” Kasus positif untuk TTF-1 dan p63 atau p40 harus diklasifikasikan sebagai “karsinoma sel non-kecil, mendukung adenokarsinoma.” Sangat penting bahwa pewarnaan khusus dilakukan dengan hemat, untuk mengawetkan jaringan untuk studi molekuler, jika diindikasikan. Hal ini dapat diterima untuk menggantikan p40 untuk p63; p40 jauh lebih spesifik untuk karsinoma sel skuamous daripada p63, yang setidaknya positif secara fokal pada 30% adenokarsinoma paru. Pewarnaan lain (CK5/6, CK7, Napsin) kurang sensitif dan spesifik dalam diferensial dan tidak boleh dianggap sebagai alat lini pertama ⁽²⁰⁾

Karsinoma sel skuamous

Sekitar 20-30% kasus KPKBSK adalah kanker paru sel skuamous. Kanker paru sel skuamous dicirikan oleh fitur klinikopatologis dan molekuler yang unik yang telah berevolusi secara substansial dari waktu ke waktu. Umumnya, pasien dengan kanker paru sel skuamous cenderung lebih tua, biasanya ditemukan pada stadium lanjut, sangat terkait dengan merokok, sebagian besar dengan tumor yang berlokasi di pusat yang agresif secara lokal, dan seringkali tanpa perubahan genetik yang dapat ditindaklanjuti.⁽²¹⁾ Kanker sel skuamous biasanya ditemukan pada perokok, dan ada kemungkinan bahwa karsinoma sel skuamous dari sistem aerodigestif (misalnya, paru, kerongkongan, dan kepala dan leher) memiliki perubahan genetik yang sama.⁽²²⁾

Amplifikasi SOX2 telah dilaporkan pada kedua karsinoma sel skuamosa paru dan esofagus, dan mutasi NRF2 telah ditemukan pada kanker sel skuamous esofagus dan kepala dan leher. Karena lebih banyak yang dipelajari tentang perubahan genetik spesifik pada subtipe tumor yang berbeda, kita mungkin memang menemukan tema umum yang menghubungkan kanker sel skuamous dari berbagai jenis kanker primer.⁽²²⁾ Hal ini tampaknya sangat mungkin, mengingat faktor risiko umum dari asap tembakau yang mendasari kanker ini. Beberapa karsinogen telah ditemukan dalam asap rokok, termasuk PAH, azaarena, N-nitrosamin, amina aromatik, amina aromatik heterosiklik, dan aldehida. Setidaknya 50

karsinogen dalam asap rokok telah diidentifikasi yang menyebabkan tumor paru pada hewan atau manusia. ⁽²²⁾

Aktivasi metabolik karsinogen ini mengarah pada pembentukan adduksi DNA, dimana metabolit aktif berikatan secara kovalen dengan DNA. Adduksi DNA ini mendistorsi heliks DNA dan menyebabkan pengkodean yang menyimpang, dan akhirnya akumulasi mutasi menyebabkan hilangnya kontrol normal pada pertumbuhan sel. Selain peningkatan keseluruhan dalam frekuensi mutasi yang disebabkan oleh karsinogen dari asap tembakau, terdapat titik-titik mutasi tertentu yang terlihat. Misalnya, hubungan respons dosis antara asap tembakau dan mutasi p53 telah ditunjukkan, dan transversasi G ke T pada p53 lebih sering terjadi pada perokok daripada bukan perokok. Menariknya, teknologi yang lebih baru menunjukkan bahwa perubahan tersebut mungkin lebih global daripada yang diakui sebelumnya. ⁽²²⁾

Pleasance dkk melakukan pengurutan mendalam dari garis sel kanker paru sel kecil untuk mengeksplorasi beban mutasi yang terkait dengan merokok. Jumlah substitusi somatik yang teridentifikasi adalah 22.910, dimana 134 (0,6%) berada pada ekson pengkode. Transversasi G->T atau C->A adalah perubahan yang paling umum, pola yang sangat mirip dengan apa yang diamati pada p53. Salah satu tantangan penting adalah banyaknya mutasi yang ditemukan pada kanker perokok berat. Seperti disebutkan sebelumnya, mutasi klasik "driver" EGFR dan ALK yang ditemukan pada kanker paru telah ditemukan terutama pada non perokok

dan perokok ringan. Ada kemungkinan bahwa beban mutasi genetik yang lebih kompleks terjadi pada perokok akan membuat pengidentifikasian mutasi pemicu sejati dalam populasi ini menjadi lebih sulit. ⁽²²⁾

2.2. KPKBSK Stadium Lanjut

Stage kanker paru berdasarkan sistem TNM (T=Tumor Primer, N=Nodus Limfe, M=Metastasis).⁽²³⁾

Tumor Primer (T) Tx : Tumor primer tidak dapat dinilai, atau tumor dibuktikan dari terdapatnya sel-sel ganas dalam sputum atau bilasan bronkus tetapi tidak tampak dengan pemeriksaan pencitraan atau bronkoskopi

Tis : Karsinoma in situ

T0 : Tak ada tumor primer

T1 : Tumor \leq 3 cm pada dimensi terbesar, dikelilingi oleh paru atau pleura visceralis dan tak ada bukti-bukti adanya invasi proksimal dari bronkus dalam lobus pada bronkoskopi; T1mi : Adenokarsinoma invasi minimal ; T1a : Tumor \leq 1 cm T1b : Tumor $>$ 1 cm tapi \leq 2 cm ; T1c : Tumor $>$ 2 tapi \leq 3

T2 : Tumor $>$ 3 cm tapi \leq 5 cm, atau tumor primer pada ukuran apa pun dengan tambahan adanya atelektatis atau pneumonitis obstruktif dan membesar ke arah hilus. Pada bronkoskopi, ujung proksimal tumor yang tampak, \geq 2 cm distal dari karina. Setiap atelektasis atau pneumonia obstruktif yang menyertai, harus melibatkan kurang dari sebelah paru dan tidak ada efusi pleura; T2a : Tumor $>$ 3 cm tapi \leq 4 cm ; T2b : Tumor $>$ 4 cm tapi \leq 5 cm

T3 : Tumor $>$ 5 cm tapi \leq 7 cm atau dengan ukuran berapa pun, langsung membesar dan menyebar ke struktur di sekitarnya seperti dinding dada (termasuk tumor sulkus superior), pleura parietal, pericardium, saraf prenikus, nodul pada lobus yang sama dengan tumor primer.

T4 : Tumor $>$ 7 cm atau tumor dari berbagai ukuran yang menyerang salah

satu dari berikut: diafragma, mediastinum, jantung, pembuluh darah besar, trakea, saraf laringeal rekuren, esofagus, tubuh vetebral, carina; tumor terpisah nodul dalam lobus ipsilateral yang berbeda.

Tx : Tiap tumor yang tidak bisa diketahui atau dibuktikan dengan radiografi atau bronkoskopi, tapi didapatkan adanya sel ganas dari sekresi bronkopulmoner

N = Nodus Limfe

N0 : Tidak ada metastasis simpul getah bening regional

N1 : Terdapat tanda terkenanya kelenjar peribronkial/atau hilus homolateral, termasuk penjalaran/pembesaran langsung tumor primer

N2 : Metastasis di mediastinal ipsilateral dan/atau kelenjar getah bening subkrania

N3 : Metastasis di hilus kontralateral mediastinal, kontralateral, sisi tak sama panjang ipsilateral atau kontralateral, atau kelenjar getah bening supraklavikula

Nx : Syarat minimal untuk membuktikan terkenanya kelenjar regional tak terpenuhi.

M = Metastasis

M0 : Tak ada bukti adanya metastasis jauh

M1 : Terdapat bukti adanya metastasis jauh ; M1a : Tumor nodul yang terpisah dalam lobus kontralateral, tumor pleura dengan nodul atau efusi pleura ganas (atau perikardia) ;

M1b : Metastasis 1 organ diluar toraks ;

M1c: Beberapa metastasis pada 1 atau beberapa organ diluar toraks. Mx : Syarat minimal untuk menentukan adanya metastasis jauh tak bisa dipenuhi.⁽²³⁾

Seperti edisi sebelumnya, penunjukan M1 M1a didefinisikan sebagai metastasis intratoraks, di mana penyebaran tumor terbatas pada paru kontralateral, pleura, dan/atau perikardium termasuk perikardial ganas atau

efusi pleura. M1b menunjukkan penyebaran tumor ke setidaknya satu tempat yang jauh, biasanya tulang, kelenjar adrenal, hati, dan/atau otak. Sedangkan M1c menunjukkan metastasis ektratorakal multiple baik pada organ tunggal maupun multiple. ⁽²⁴⁾

Penunjukan efusi pleura dan/atau perikardial ganas sebagai penyakit M1a daripada penyakit T4 adalah perubahan yang patut diperhatikan; efusi seperti itu sekarang menunjukkan stadium IV daripada penyakit stadium IIIB. Pasien dengan metastasis intratoraks memiliki tingkat kelangsungan hidup yang lebih baik dibandingkan dengan mereka dengan penyakit ektratoraks dengan median 10 berbanding 6 bulan, dan kelangsungan hidup 1 tahun masing- masing 45% berbanding 22%⁽²⁴⁾ ($p < 0,0001$). Dengan pengecualian yang jarang, stadium IV KPKBSK dianggap tidak dapat disembuhkan, dan pendekatan terapeutik bersifat paliatif daripada kuratif.

2.3. Mutasi Gen pada KPKBSK

2.3.1. EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor Gene*)

Epidermal Growth Factor Receptor Gene (EGFR) adalah anggota keluarga reseptor faktor pertumbuhan ubtype ErbB. Ia berbagi homologi dengan anggota ubtype lainnya termasuk ERBB2 (HER2/neu), ERBB3, dan ERBB4. Pengikatan ligan ekstraseluler memicu homodimerisasi atau heterodimerisasi reseptor keluarga ErbB, memfosforilasi aktif situs dalam tirosin kinase sitoplasma, dan mengaktifkan jalur PI3K/AKT/Mtor dan

RAS/RAF/MAPK intraseluler. Pensinyalan EGFR sangat penting dalam perkembangan dan homeostasis seluler, proliferasi, dan pertumbuhan. ⁽²⁵⁾

Pengakuan bahwa protein EGFR diekspresikan secara berlebihan pada sebagian besar kanker paru berasal dari tahun 1990- an, sehingga EGFR telah lama terlibat sebagai onkogen. Studi sekuensing mengungkap dasar molekuler untuk respons diferensial ini. Sebagian besar responden menyimpang fungsi somatik yaitu, tumor saja yang mutasi EGFR terjadi di beberapa titik panas di domain tirosin kinase (ekson 18 hingga 21). Sekitar 90% mutasi pengaktifan EGFR terjadi sebagai penghapusan kecil dalam bingkai di dalam atau di sekitar motif Leu Arg Glu Ala (LREA) yang dilestarikan pada ekson 19 atau sebagai mutasi titik missense (p.Leu858Arg) pada ekson 21. ⁽²⁵⁾

Mutasi yang lebih jarang terjadi pada ekson 18 pada asam amino 719 (p.Gly719X) dan pada ekson 21 pada asam amino 861 (p.Leu861Gln). Mutasi penyisipan/duplikasi EGFR ekson 20 relatif jarang terjadi, tetapi ini secara unik mengarah pada aktivasi EGFR yang resisten terhadap EGFR-TKI dan dengan demikian biasanya gagal merespons terapi dengan inhibitor generasi pertama. Beberapa uji klinis besar nasional dan internasional kemudian mengkonfirmasi bahwa adanya mutasi EGFR memprediksi respons terhadap terapi EGFR-TKI. ⁽²⁵⁾

Pengaktifan mutasi dalam domain kinase dari EGFR memicu aktivasi tirosin kinase ligan-independen, yang mengarah ke pensinyalan

antiapoptosis hilir. Hal ini diperkirakan menyebabkan keadaan ketergantungan EGFR, atau “kecanduan onkogen,” dan dengan demikian menjelaskan sensitivitas sel tumor terhadap penghambatan EGFR. Secara kebetulan, mutasi pengaktif ini juga menstabilkan interaksi antar tirosin inhibitor kinase dan kinase. Akibatnya, EGFR-TKI secara istimewa menghambat mutasi dibandingkan dengan tipe liar EGFR, yang mengarah pada peningkatan kemanjuran dan pengurangan toksisitas.⁽²⁵⁾

Jumlah salinan gen EGFR yang tinggi dan ekspresi protein berlebih diamati lebih sering pada kanker paru sel skuamosa dibandingkan pada adenokarsinoma (82% berbanding 44%). Meskipun ekspresi berlebih EGFR telah dikaitkan dengan prognosis yang lebih buruk dalam beberapa penelitian, hal tersebut belum dikaitkan dengan respons terhadap EGFR TKI yang digunakan secara klinis. Sebuah analisis retrospektif FLEX, sebuah studi Fase-III besar yang mengevaluasi kemoterapi dengan atau tanpa antibodi anti-EGFR cetuximab, menyarankan bahwa ekspresi berlebih EGFR dapat dikaitkan dengan hasil yang lebih baik pada kelompok cetuximab, tetapi temuan ini belum dikonfirmasi dalam penelitian lain.⁽²²⁾

Studi selanjutnya dari fitur klinikopatologis dari kanker bermutasi EGFR dan pasien yang mengembangkannya telah mengkonfirmasi hubungan antara tidak pernah atau riwayat merokok ringan, jenis kelamin perempuan, histologi adenocarcinoma, dan etnis Asia. Namun, mutasi EGFR telah diidentifikasi pada perokok dan kanker dengan profil histologis lainnya, termasuk karsinoma adenoskuamous, “karsinoma sel besar,” dan,

jarang, pada karsinoma sel skuamous. Kehadiran mutasi EGFR di ini yang terakhir 2 entitas mungkin mencerminkan kesalahan kategorisasi dari adenocarcinoma subtype yang solid, dalam kasus karsinoma sel besar, dan mungkin Undersampling dari karsinoma adenoskuamous, dalam kasus karsinoma sel skuamous.⁽²⁵⁾

2.3.2. KRAS (*Kirsten Rat Sarcoma 2 Viral Oncogene Homolog*)

KRAS (*Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog*) adalah anggota keluarga RAS protein G terkait membran dan bertindak hilir dari sejumlah reseptor tirosin kinase termasuk EGFR. Pensinyalan protein RAS mengaktifkan RAF kemudian anggota keluarga MEK, yang pada akhirnya mendorong proliferasi sel dan jalur pertumbuhan. KRAS adalah salah satu onkogen yang paling banyak dipelajari, sebagian karena itu adalah salah satu yang pertama kali ditemukan dan sering bermutasi dengan cara yang sama di berbagai jenis tumor umum. Pada paru adenokarsinoma, lebih dari 90% mutasi pada KRAS terjadi pada kodon 12 dan 13, dalam bentuk varian missense nukleotida tunggal.⁽²⁵⁾

Mutasi KRAS lebih kuat terkait dengan riwayat merokok daripada sebagian besar driver perubahan onkogenik yang diketahui yang dapat dijelaskan dalam adenokarsinoma paru. Serial genotip besar telah mengidentifikasi mutasi KRAS pada 34% perokok dan 6% tidak pernah perokok dengan adenokarsinoma paru. Di antara adenokarsinoma dengan histologi subtype padat, frekuensi mutasi KRAS adalah 40%. Perubahan KRAS yang paling umum pada perokok dan mantan perokok adalah pada

kodon 12 mutasi transversi G.T yang mengarah ke p.Gly12Cys; transversi mencerminkan perubahan tingkat DNA khas yang disebabkan oleh karsinogen tembakau.⁽²⁵⁾

KRAS Mutasi lebih sering diidentifikasi pada adenokarsinoma, kaulasian, dan individu dengan riwayat merokok. KRAS telah banyak ditemukan pada tipe tumor yang merupakan tipe liar untuk EGFR dan ALK, artinya mutasi ini adalah subset molekul baru dari KPKBSK. Data yang muncul menunjukkan bahwa mungkin ada nilai prognostik yang mungkin dari mutasi KRAS tetapi temuan mengenai peran sebagai prediktor untuk inhibitor tirosin kinase EGFR atau kemoterapi sitotoksik masih terbatas.⁽³⁾ Sampai saat ini, tidak ada pendekatan yang mapan untuk menargetkan penghambatan yang dari pensinyalan yang dimediasi KRAS pada karsinoma.⁽²⁵⁾

Mutasi KRAS pada dasarnya terjadi dengan secara eksklusif dengan driver onkogenik lainnya seperti mutasi EGFR dan penataan ulang ALK. Jadi, utilitas terbesar dari pengujian untuk Mutasi KRAS saat ini mungkin untuk mengecualikan keberadaan perubahan target lainnya yang kurang umum. Uji klinis saat ini sedang menguji berbagai inhibitor pada adenokarsinoma paru dengan mutas KRAS, termasuk dengan senyawa yang menargetkan jalur RAS/RAF/MEK dan PI3K/AKT/Mtor dan cyclin-dependent kinases.⁽¹⁹⁾

Hasil uji coba Fase 2 menggunakan inhibitor MEK1/MEK2 (selumetinib) pada pasien dengan adenokarsinoma paru yang bermutasi

KRAS lanjut menunjukkan peningkatan kelangsungan hidup dan overall survival pada pasien yang menerima kombinasi selumetinib dan doksitaxel versus doksitaxel saja, meskipun dengan lebih profil efek samping yang signifikan pada kelompok terapi kombinasi.⁽¹⁹⁾ Seperti halnya pada pergeseran paradigma untuk studi terapi klinis, “uji coba ko-klinis” yang dilakukan pada model tikus rekayasa genetika menyoroati efek pengubah genetik dari respons terhadap penghambatan MEK.⁽²⁶⁾

Desain penelitian meniru percobaan klinis pada manusia, tetapi memiliki keuntungan mengacak tikus secara prospektif yang tumornya memiliki perubahan gen penekan tumor secara bersamaan. Penulis penelitian dengan demikian menentukan bahwa tumor yang mengandung mutasi pengaktifan KRAS dan mutasi kehilangan fungsi TP53 dan LKB1/SKT11 lebih kecil kemungkinannya untuk merespons monoterapi docetaxel. Menariknya, tikus dengan mutasi KRAS dan TP53 gabungan mendapat manfaat dari selumetinib dan doksitaxel, tetapi tikus dengan mutasi KRAS LKB1 tidak.⁽²⁶⁾

2.3.3. NRAS (*Neuroblastoma Rat Sarcoma 2 Viral Oncogene Homolog*)

NRAS sebagai anggota keluarga RAS berperan dalam jalur pensinyalan MAPK dan deregulasinya dapat menyebabkan tumorigenesis. Mutasi pengaktifan gen NRAS pada ekson 2 (kodon 12 dan 13), 3 (kodon 59 dan 61) dan 4 (kodon 117, 126 dan 146) telah sering dijelaskan pada melanoma (13-25%), leukemia myeloid (10 %), kanker kolorektal (2-5%),

karsinoma hepatoseluler (1,4%) dan karsinoma tiroid (6%). Di antara semua telah mutasi pengaktif NRAS yang telah dikenal luas, substitusi pada kodon 61 lebih sering (90%) daripada substitusi pada kodon lain. Transversi yang paling umum digambarkan sebagai G > C dan T > A. Sebelumnya dilaporkan bahwa polusi udara bahan bakar fosil (termasuk dimethylobenza-antrasena) terlibat dalam induksi perubahan A>T dan T>A.⁽²³⁾

Terdapat 30 mutasi NRAS berhubungan dengan 9 substitusi asam amino yang berbeda: Q61H/K/L/R (ekson 3) dan G12A/C/D/R/S (ekson 2). Codon Q61 adalah yang paling sering bermutasi (80%), dan setengah dari mutasi adalah NRAS Q61L. Selain itu, kombinasi merokok dan karsinogen lingkungan dapat dikaitkan dengan etiologi kanker paru bermutasi NRAS.⁽²⁷⁾ Meskipun frekuensi mutasi NRAS pada KPKBSK relatif jarang, KPKBSK adalah penyakit umum dengan 230.000 kasus baru di Amerika Serikat. Jadi, sekitar 1.500 pasien di Amerika Serikat akan mengembangkan kanker paru yang menyimpan mutasi NRAS setiap tahun.⁽²⁸⁾

Mutasi NRAS paling signifikan terkait dengan merokok dan kemungkinan ras Afrika-Amerika, meskipun angka untuk asosiasi terakhir terlalu kecil untuk membuat kesimpulan yang berarti. Mutasi NRAS juga, sebagian besar, saling eksklusif dengan mutasi driver lain yang diketahui, termasuk EGFR, KRAS, dan ALK, dll. Tentu saja, kemungkinan harus

dipertimbangkan bahwa mutasi driver ini bisa muncul secara bersamaan dalam tumor tunggal pada frekuensi rendah. Tetapi, secara kolektif, data ini menunjukkan bahwa mutasi NRAS di KPKBSK menentukan subset molekul yang berbeda.⁽²⁸⁾

Mutasi NRAS terjadi pada sekitar 1% KPKBSK (kebanyakan mereka yang terpapar tembakau langsung), sebagian besar eksklusif dari mutasi driver lain yang diketahui, memiliki profil transversasi nukleotida yang berbeda dari mutasi KRAS, dan mungkin terkait dengan sensitivitas terhadap inhibitor MEK. Pasien dengan mutasi NRAS harus diidentifikasi secara prospektif untuk memprioritaskan terapi bertarget yang paling mungkin memberikan manfaat maksimal. Pasien dengan penyakit stadium lanjut yang mutasi NRAS mungkin merupakan prognosis yang buruk, relatif terhadap perubahan EGFR dan ALK, yang telah dikaitkan dengan prognosis yang lebih baik.⁽²⁸⁾

Dalam penelitian yang dilakukan oleh ohashi menemukan bahwa overall survival pada stadium lanjut setelah pengobatan dengan kemoterapi sistemik untuk 7 pasien (8 bulan). Meskipun jumlah pasien di setiap kelompok kecil, data awal ini menunjukkan setidaknya untuk pasien dengan penyakit stadium lanjut bahwa mutasi NRAS mungkin merupakan relatif terhadap perubahan EGFR dan ALK, yang telah dikaitkan dengan prognosis yang lebih baik.⁽²⁸⁾ Kemajuan terbaru dalam biologi molekuler kanker paru telah memungkinkan untuk memprioritaskan terapi yang ditargetkan secara rasional pada pasien dengan hasil yang lebih baik. Data

ini konsisten dengan laporan sebelumnya menggunakan beberapa tapi tidak semua senyawa terkait.⁽²⁸⁾

2.3.4. BRAF (*B-Rapidly Accelerated Fibrosarcoma*)

BRAF bermutasi di beberapa jenis tumor dengan histogenesis yang sangat berbeda, termasuk melanoma, karsinoma, dan saraf. Faktanya, mutasi pengaktif BRAF yaitu mutasi p.Val600Gly (V600E), adalah fitur diagnostik dari beberapa entitas, seperti hairy cell leukemia. BRAF adalah anggota penting dari jalur pensinyalan pertumbuhan dan proliferasi RAS/RAF/MAPK, bertindak hilir dari anggota keluarga RAS.⁽²⁵⁾ Pada melanoma, di mana BRAF V600E terjadi pada lebih dari 50% kasus, ini merupakan biomarker penting dari respons terhadap inhibitor BRAF-tertarget seperti vemurafenib.⁽²⁵⁾

Pada karsinoma usus besar, di mana perubahan BRAF jauh lebih jarang terjadi, terjadi pada 10% hingga 15% kasus, BRAF V600E adalah faktor yang terkait dengan kelangsungan hidup yang jauh lebih buruk daripada tumor dengan genotipe bermutasi KRAS atau tipe liar, dan merupakan faktor negatif dari respon terhadap terapi antibodi EGFR.⁽²⁵⁾ Mutasi somatik BRAF telah ditemukan pada 1-4% dari semua KPKBSK, paling sering pada pasien dengan adenokarsinoma. Mutasi ini lebih sering dikaitkan dengan perokok aktif ataupun pasien dengan riwayat perokok.⁽³⁾ Berbeda dengan di jenis tumor lain di mana substitusi V600E jelas mendominasi, profil mutasi BRAF di adenokarsinoma paru dibagi

sekitar 50-50 antara V600E di ekson 15 dan perubahan lain di ekson 11 dan 15. ⁽²⁵⁾

Kanker yang bermutasi BRAF tampaknya tidak memiliki fitur klinikopatologis yang khas, tetapi dapat terjadi sedikit lebih sering pada perokok. ⁽²⁵⁾ Beberapa perubahan BRAF terdeteksi di adenokarsinoma paru, termasuk D594N dan G496del, kurang mengaktifkan aktivitas dan bahkan meredam aktivitas kinase dan gagal untuk mengubah sel in vitro. Juga, berbeda dengan jenis tumor lain di mana mutasi BRAF dan KRAS tampaknya terjadi secara eksklusif, mutasi BRAF ekson 11 dapat ditemukan bersama dengan mutasi KRAS dan EGFR. Data lengkap tentang aktivitas kinase dari semua mutasi ekson 11 masih kurang diketahui, sehingga mutasi yang terjadi bersamaan ini mungkin hanya “penumpang” yang mungkin memiliki sedikit pengaruh pada pertumbuhan/efek proliferasi yang dihasilkan dari perubahan jalur hulu yang dipahami dengan lebih baik. ⁽²⁵⁾

Kelangkaan relatif dari adenokarsinoma paru yang mengandung mutasi pengaktifan BRAF, data tentang signifikansi prediktif dan prognosis dari perubahan ini tetap terbatas. Mutasi BRAF tampaknya tidak mempengaruhi respons terhadap kemoterapi standar berbasis platinum, meskipun mutasi V600E dapat dikaitkan dengan penyakit yang lebih agresif. Upaya untuk memerangi tumor ini dengan inhibitor spesifik BRAF telah menyebabkan hasil yang umumnya mengecewakan. Meskipun pasien dengan mutasi BRAF V600E awalnya akan merespon inhibitor yang

ditargetkan, tumor mereka cenderung kambuh dengan cepat. Mekanisme resistensi meliputi pensinyalan autokrin konstitutif melalui EGFR atau hilangnya protein BRAF V600E *full-length*.⁽²⁵⁾

2.3.5. C-Kit

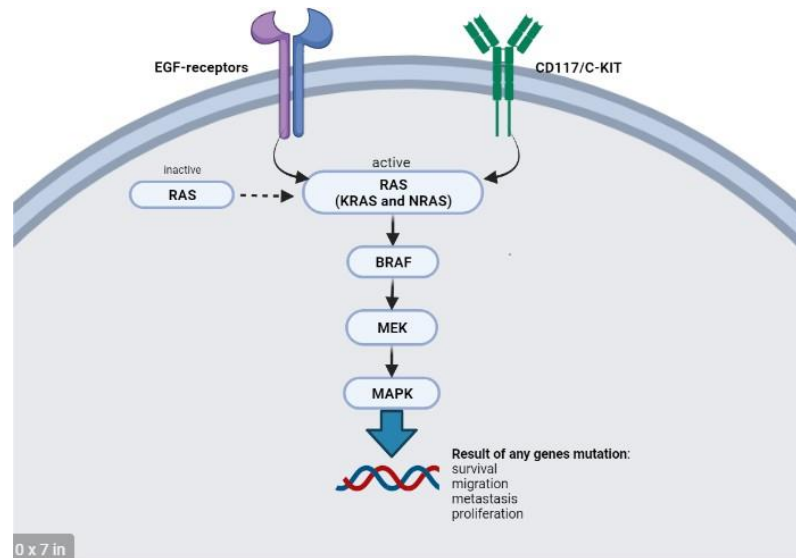
Dalam dua dekade terakhir, proto-onkogen C-Kit telah menjadi perhatian besar untuk peran prognostik dalam beberapa tumor ganas, terutama kanker paru. Proto-onkogen C-Kit, juga dikenal sebagai CD117, mengkode protein transmembran yang dimiliki tirosin, reseptor kinase tipe III. C-Kit mengikat ligan, yang disebut faktor sel induk (*SCF/ stem cell factor*), dan memainkan peran penting dalam kelangsungan hidup sel, proliferasi, dan diferensiasi.⁽²⁹⁾

Dalam penelitian oleh sakabe *et al*, menunjukkan bahwa ekspresi positif CD117 secara signifikan terkait dengan tingkat kelangsungan hidup bebas kambuh yang lebih pendek pada pasien dengan kanker paru bukan sel kecil. Pengamatan tersebut menunjukkan bahwa CD117 dapat berfungsi sebagai penanda prognostik untuk memprediksi prognosis buruk dan target terapi baru untuk pasien dengan kanker paru bukan sel kecil.⁽³⁰⁾ Analisis saat ini menunjukkan bahwa ekspresi CD117 secara signifikan terkait dengan prognosis buruk pada karsinoma paru dan terutama pada kanker paru bukan sel kecil.⁽³¹⁾

C-Kit dilaporkan memiliki peran onkogenik penting pada kanker padat khususnya, telah dilaporkan bahwa ekspresi C-Kit diamati pada

kanker paru dan molekul ini dikaitkan dengan konsekuensi terapeutik dan prognostik. Ekspresi berlebihan C-Kit telah diamati pada kanker paru bukan sel kecil, menunjukkan bahwa C-Kit dapat menjadi target terapeutik dalam subset kanker paru bukan sel kecil.⁽³⁰⁾ Selain itu, sel kanker paru bukan sel kecil C-Kit-positif dilaporkan menunjukkan karakteristik sel punca kanker (CSC/*cancer stem cell*) termasuk pembaruan diri dan kemoresistensi.⁽³⁰⁾

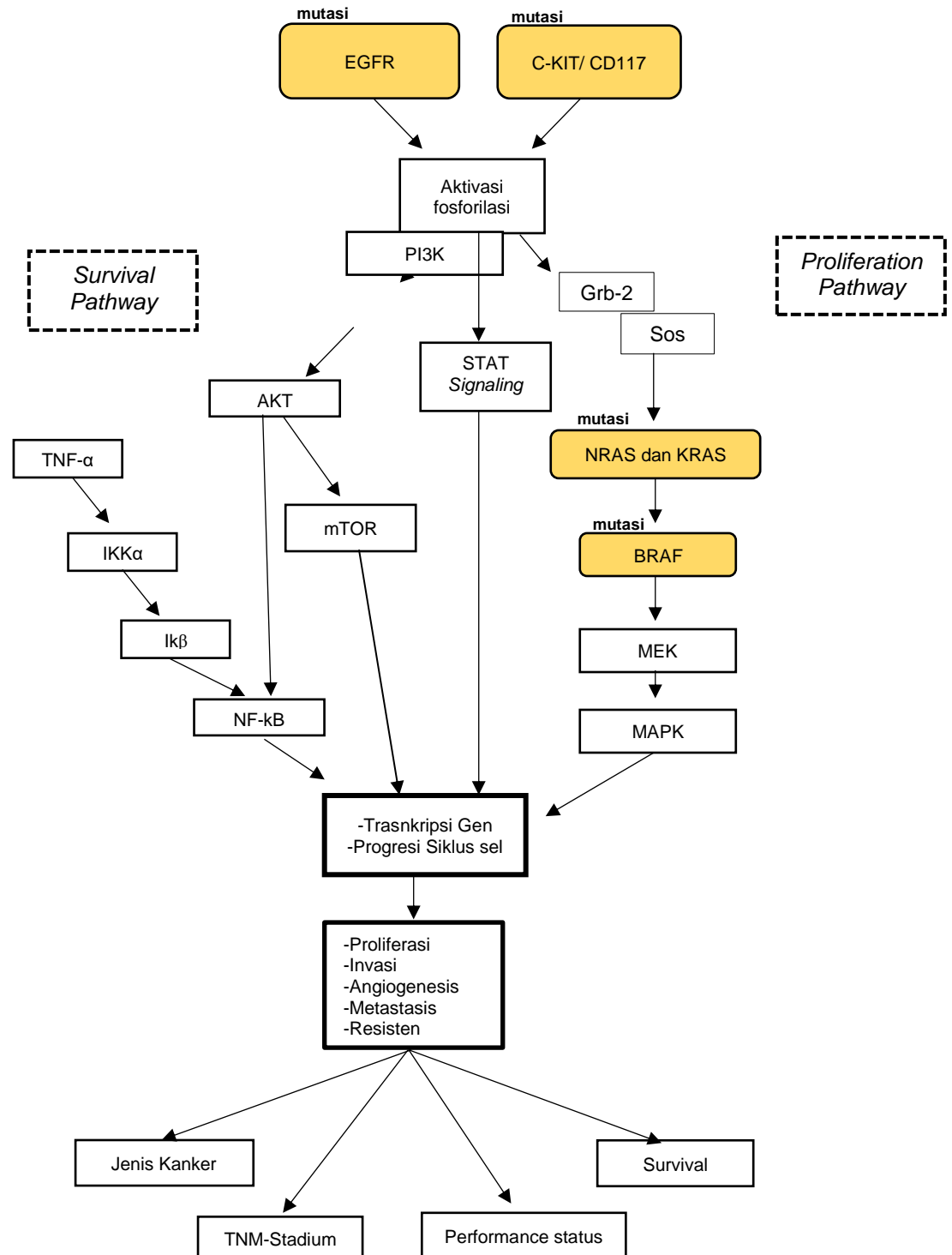
Bukti eksperimental sebelumnya menunjukkan bahwa keberadaan CSC dapat dikaitkan dengan prognosis pasien pada berbagai jenis kanker. Dihipotesiskan bahwa jika C-Kit memiliki signifikansi prognosis pada pasien dengan kanker paru bukan sel kecil, itu dapat digunakan sebagai target terapi dan penanda prognosis untuk pasien dengan kanker paru bukan sel kecil.⁽³⁰⁾ Ekspresi C-Kit memiliki efek negatif pada OS pasien karsinoma paru, mungkin karena kontribusinya terhadap resistensi kemoterapi.⁽³¹⁾ Data penelitian mengenai terapi pada mutasi gen C-Kit sampai saat ini masih terbatas. Dalam penelitian in-vitro yang dilakukan oleh Donnenberg et al, mereka melakukan evaluasi sensitivitas imatinib menggunakan isolat klinis lintas pertama sebagai sel indikator dan etailed flow cytometric analysis untuk mengukur efek obat pada eksplan heterogen ini setelah kultur jangka pendek. Hasilnya, penambahan imatinib (5 μ m) ke dalam kultur sel tumor CD117_{high} menghasilkan penurunan yang signifikan secara statistik dalam jumlah total sel dan jumlah sel sitokeratin+. berdasarkan hasil ini, terapi target pada mutasi gen C-Kit berpotensi menjadi terapi pada sel adenokarsinoma paru dengan C-Kit positif.⁽³²⁾



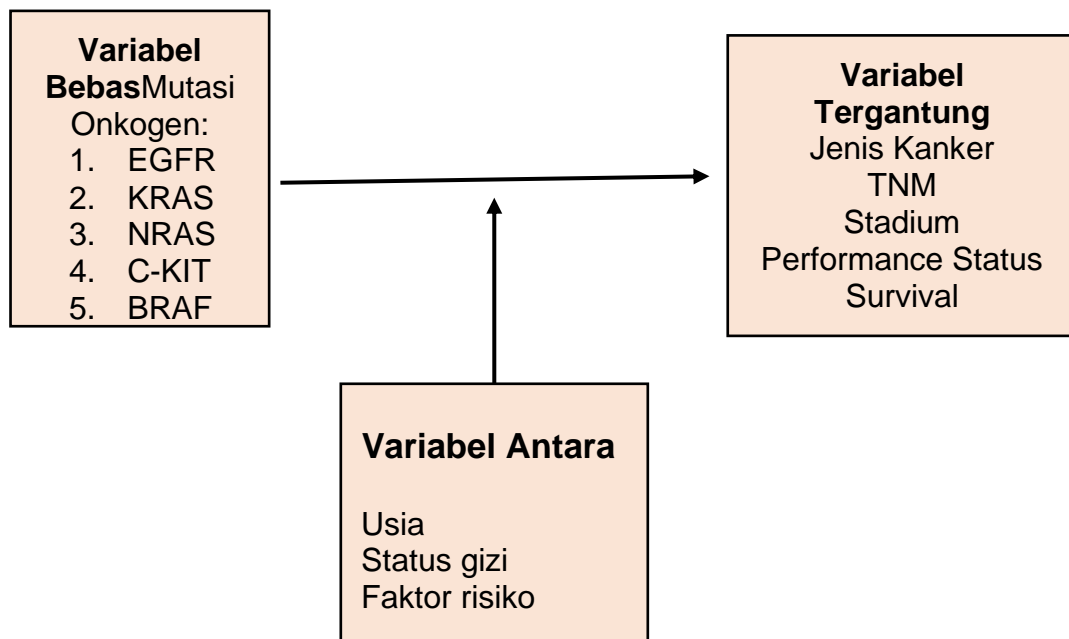
Gambar 2.1 Ligand yang berikatan dengan reseptor EGFR dan CD117/C-KIT akan mengaktifkan onkogen RAS (NRAS dan KRAS). Lalu kaskade tersebut berlanjut mengaktifkan onkogen BRAF, *mitogen activated protein kinase* (MEK) dan *mitogen activated protein kinase* (MAPK) dan berujung pada ekspresi growth promoting genes. Adanya mutasi pada gen-gen tersebut akan berimplikasi pada pembentukan tumor melalui mekanisme survival sel, migrasi, metastasis dan proliferasi yang tak terkontrol.

Dikutip dari ⁽³³⁾

2.4. Kerangka Teori



2.5. Kerangka Konsep



2.6. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah Mutasi gen spesifik pada KPKBSK mempengaruhi karakteristik klinis pasien.