



**HUBUNGAN EKSPRESI THYROID TRANSCRIPTION FACTOR-1 (TTF-1) DAN
MUTASI EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR) PADA
ADENOKARSINOMA PARU DI RSUD DR. SAIFUL ANWAR, MALANG
INDONESIA**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Spesialis Paru**



**Oleh :
dr. Andy**

NIM. 148070300111001

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
PULMONOLOGI DAN KEDOKTERAN RESPIRASIFAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITASBRAWIJAYA
RSUD Dr. SAIFUL ANWAR MALANG2018**

HALAMAN PENGESAHAN



TUGAS AKHIR

**HUBUNGAN EKSPRESI *THYROID TRANSCRIPTION FACTOR-1* (TTF-1) DAN
MUTASI *EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR* (EGFR) PADA
ADENOKARSINOMA PARU
DI RSUD
DR. SAIFUL ANWAR, MALANG INDONESIA**

Oleh :

dr. Andy

NIM. 148070300111001

Telah diuji pada
Hari: Kamis
Tanggal: 18 Oktober 2018
Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Dr.dr. Susanthy Djajalaksana, Sp.P(K)

NIP. 19620507 198903 2 007

Pembimbing I

Pembimbing II

dr.Suryanti Dwi Pratiwi, Sp.P(K) dr.Ngakan Putu Parsama Putra, Sp.P(K)

NIP. 19750117 201001 2 005

NIP. 19660812 200904 1 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi

Dr.dr.Susanthy Djajalaksana, Sp.P(K) NIP. 19620507 198903 2 007

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN



Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : dr.Andy

NIM : 148070300111001

Program studi : Pendidikan Dokter Spesialis I Pulmonologi dan
Ilmu Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya Malang

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 18 Oktober 2018

Yang membuat pernyataan,

(dr.Andy)

NIM 148070300111001

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kehadiran Allah Bapa yang bertahta di dalam Kerajaan Surga atas segala berkat, rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Hubungan ekspresi *Thyroid Transcription Factor-1* (TTF-1) dan mutasi *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) pada Adenokarsinoma Paru di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang Indonesia”.

Dalam penulisan Tugas Akhir ini, tentunya banyak pihak yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada hingganya kepada :

1. Ayahanda DRS.Mustafa Hatorangan Lumban Gaol, MM dan ibunda Berlyana Sihombing atas segala cinta kasih, pengorbanan dan dukungan sehingga Tugas Akhir ini terselesaikan. Kepada kakak-kakakku Jackson Lumban Gaol ; Evi Romauli Lumban Gaol, S.Kom ; Letkol Parulian Munthe ; Sahat Jefri Yudi Lumban Gaol, SE ; dr.Vanda Sitompul dan adik-adikku Imelda Sari Lumban Gaol, S.Farm, Apt dan Bundi Jannius, S.Farm, Apt serta keponakan Reynaldi Munthe ; Rahel Lumban Gaol yang telah memberikan dukungan dan motivasi baik moril maupun materil.
2. Keluarga kecil penulis dr.Meyrna Heryaning Putri, Sp.THT-KL ; Kevin Christiano Matthew Lumban Gaol ; Kathleen Mutiara Meyrandy Lumban Gaol atas segala cinta kasih, pengorbanan dan pengertian sehingga Tugas Akhir ini terselesaikan.
3. Keluarga mertua dr.Rus Suheryanto, Sp.THT-KL(K) ; drg.Wuryaningsih, Sp.KGA ; mas Tonny Darmawan, SE ; mbak Meyta Heryaning Sari, ST serta keponakan Kezhia Anita Putri atas segala dukungan, motivasi hingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
4. dr.Suryanti Dwi Pratiwi, Sp.P(K) selaku pembimbing I, dr.Ngakan Putu Parsama Putra selaku pembimbing II, dr.Eviana Norahmawati Sp.PA(K) selaku pembimbing III dan dr.Harun Al Rasyid, MPH selaku pembimbing IV yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat dan arahan kepada penulis.



5. dr. HMK Teguh Rahayu Sartono, Sp.P(K) selaku Kepala SMF Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi yang tidak pernah lelah dalam memberikan bimbingan selama pendidikan dokter spesialis.
6. Dr.dr.Susanthy Djajalaksana, Sp.P(K) selaku Ketua Program Studi PPDS I Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang atas didikan dan motivasi yang telah diberikan.
7. dr.Yani Jane R.Sugiri, Sp.P(K) selaku Dosen Pembimbing Akademik atas didikan dan motivasi yang telah diberikan.
8. Guru-guru dr.Nunuk Sri Muktiati, Sp.P(K), dr.Triwahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K), dr.lin Noor Chozin, Sp.P(K), dr.Ungky Agus Setyawan, Sp.P, dr.Garinda Almaduta, Sp.P atas segala bimbingan, bantuan, dukungan dan motivasinya selama kami menjalani pendidikan.
9. Direktur Rumah Sakit Umum Dr.Saiful Anwar Malang, dan segenap staf medis, dan paramedis di Instalasi Rawat Jalan dan Rawat Inap.
10. Kepada teman-teman angkatan Juli 2014 : dr.Wayan Wahyu Semaraputra, Sp.P, dr.Vitri Iriani, Sp.P, dr.Aria Purnama, dr.Sylvia Sagita Siahaan atas segala kebersamaan yang telah dilalui, suka, duka, serta segala dukungan, motivasi hingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
11. Juga untuk teman-teman PPDS : dr.Andreas, dr.Echom, dr.Ibnu, dr.Yulia, dr.Umi, dr.Dewa, dr.Andri, dr.Zamzam, dr.Rosa, dr.Asih, dr.Fahmi, dr.Herman, dr.Adit, dr.Ary, dr.Santony, dr.Frenky, dr.Tya, dr.Aldiela, dr.Sasmika, dr.Indah, dr.Zika, dr.Agus, dr.Haris, dr.Kristo, dr.Yusuf, dr.Maria, dr.Simon, dr.Caesar, dr.Ulfa dan dr.Jimmy atas semua kerjasama dan bantuannya selama kita berproses dalam pendidikan ini. Tak lupa Budi, mbak Rini, mbak Elly, mbak Desrina, mbak Kiki dan mas Deni (admin), mbak Yulia, pak Heru, mbak Nanik, bu Ning, mas Imron (poli paru), pak Tri, mbak Fina, pak Eko, pak Hari (ok paru), pak Rianto, pak Eko, mas Rosi dan semua perawat RHCU, bu Wiwit, mbak Windi, mbak Karin, pak Andi, mbak Lulut, mbak Novi, mbak Heni, mas Mijan (Lab PA RSSA dan FK) ats segala bantuannya.
12. Semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

ABSTRAK

Andy. 2018. Hubungan ekspresi *Thyroid Transcription Factor-1* (TTF-1) dan mutasi *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) pada Adenokarsinoma paru di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang Indonesia. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis I Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi, Universitas Brawijaya, RSUD Dr.Saiful Anwar Malang. Pembimbing : (1). dr.Suryanti Dwi PratiwiSp.P(K). (2). dr.Ngakan Putu Parsama PutraSp.P(K). (3). dr.Eviana NorahmawatiSp.PA(K). (4). dr.Harun Al Rasyid,MPH

Latar Belakang: Dalam kelompok keganasan rongga toraks, kanker paru dengan gambaran histologik adenokarsinoma adalah tipe yang paling sering. Adenokarsinoma paru dapat disebabkan merokok, paparan radon dan polusi udara. Berdasarkan penelitian terbaru, terdapat korelasi antara mutasi EGFR dan Adenokarsinoma paru. Namun, pemeriksaan untuk mutasi EGFR sulit karena spesimen yang baik dari pembedahan. Sesuai klasifikasi WHO, TTF-1 adalah marker untuk Adenokarsinoma. **Tujuan:** Untuk mengetahui hubungan antara mutasi EGFR dan TTF-1. **Metode:** Penelitian observasional ini bertempat di RSUD Dr.Saiful Anwar Malang dari bahan biologi tersimpan sejak tahun 2013 sampai dengan pertengahan tahun 2018. Sampel adalah pasien yang didiagnosa dengan Adenokarsinoma paru yang telah melakukan pemeriksaan EGFR. Data kemudian dianalisis dengan *Fischer's exact test* untuk menentukan hubungan antara EGFR dan TTF-1. Analisis dengan AUC juga dilakukan. **Hasil:** Sesudah analisis statistik dilakukan, nilai spesifisitas 0.20 dan sensitifitas 0.57. Dari fisher's exact test menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara TTF-1 dan mutasi EGFR $p: 0.617$ ($p > 0,05$) dengan 0,333 odds ratio (0.032 – 3.515). Namun, ROC dari TTF – 1 menunjukkan *Area Under Curve* (AUC) 0.614 (95CI, 0.35 – 0.878). **Kesimpulan:** Dari perhitungan nilai AUC menunjukkan pemeriksaan TTF – 1 memiliki kekuatan sedang dalam menentukan mutasi EGFR

Kata kunci : Ekspresi *Thyroid Transcription Factor-1* (TTF – 1), mutasi *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR), Adenokarsinoma paru

ABSTRACT

Andy. 2018. Association of Thyroid Transcription Factor – 1 (TTF – 1) expression and Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) mutations on lung Adenocarcinoma patients at Saiful Anwar general hospital Malang Indonesia. Final assignment. Pulmonology and respirology medical program, medical faculty of Brawijaya University – Saiful Anwar Hospital. Supervisors: (1). dr.Suryanti Dwi PratiwiSp.P(K). (2). dr.Ngakan Putu Parsama PutraSp.P(K). (3). dr.Eviana NorahmawatiSp.PA(K). (4). dr.Harun Al Rasyid,MPH

Background: Among malignancy on thorax cavity, lung cancer with adenocarcinoma histologic appearance is the most common type. Lung adenocarcinoma can be caused by smoking, radon exposure, and air pollution. According to the newest study, there is a correlation between mutation of Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) and lung adenocarcinoma. Unfortunately, examination for EGFR mutation is difficult because surgery must be conducted in order to obtain the specimen. According to WHO classification, Thyroid Transcription Factor – 1 (TTF – 1) is a marker for adenocarcinoma.

Objective: to determine the association between mutation on EGFR and TTF – 1. **Methods:** This observational study took place at Saiful Anwar General Hospital from 2013 until mid-2018. Samples were patients diagnosed with lung adenocarcinoma that undergo EGFR examination. Data than analysed with Fischer's exact test to determine the association between EGFR and TTF – 1. Analysis using AUC were also conducted. **Results:** After statistical analysis were conducted, specificity value is 0.75 while sensitivity value is 0.90. From Fischer's exact shows no significance correlation between TTF – 1 and EGFR mutation $p: 0.617$ ($p > 0,05$) with 0,333 odds ratio (0.032 – 3.515). Therefore, ROC of TTF – 1 show AUC 0.614 (95CI, 0.35 – 0.878). **Conclusion:** From the calculation of the AUC value indicates TTF-1 examination has a moderate strength in determining the EGFR mutation.

Keywords : Thyroid Transcription Factor – 1 (TTF – 1) Expression, Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) mutation, lung Adenocarcinoma



DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan.....	iii
Lembar Pernyataan Keaslian Tulisan.....	iv
Kata Pengantar.....	v
Abstrak.....	viii
Abstract.....	ix
Daftar Isi.....	x
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Tabel.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv
Daftar Lampiran.....	xvi
BAB 1 Pendahuluan.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 Tinjauan Kepustakaan.....	5
2.1 Definisi Kanker Paru.....	5
2.2 Epidemiologi.....	5
2.3 Perubahan genetik dan molekular kanker paru.....	6
2.3.1 Genetik kanker paru.....	11
2.3.2 Perubahan molekular kanker paru.....	12
2.3.2.1 Proto-onkogen.....	12
2.3.2.2 Epidermal Growth Factor Receptor.....	13
2.3.2.3 Tumor Suppressor Gene.....	14
2.4 Klasifikasi Kanker Paru.....	15
2.4.1 Kanker Paru Karsinoma Sel Kecil.....	15
2.4.2 Kanker Paru Karsinoma Bukan Sel Kecil.....	15
2.4.2.1 Squamous-cell Carcinoma (SCC).....	17
2.4.2.2 Adenokarsinoma.....	18
2.4.2.3 Large cell carcinoma.....	21
2.5 Diagnosis Kanker Paru.....	22



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Therapeutic Targeting Of The Hallmarks Of Cancer

7

Gambar 2.2 Onkogen dominan dan resesif pada kanker paru 12

Gambar 2.3 Aktivasi Tp53 14

Gambar 2.4 Histologi dan sub tipe KPKBSK 16

Gambar 2.5 Squamous Cell Carcinoma 18

Gambar 2.6 Gambaran mikroskopik Adenokarsinoma 19

Gambar 2.7 CT Scan toraks Adenokarsinoma 21

Gambar 2.8 Gambaran mikroskopik Large Cell Carcinoma 21

Gambar 2.9 Rontgen dada 21

Gambar 2.10 Jalur Epidermal Growth Factor Receptor(EGFR) 31

Gambar 2.11 Jalur sinyal EGFR 31

Gambar 2.12 Ekspresi positif TTF-1 pada sel adenokarsinoma 36

Gambar 2.13 Hubungan TTF-1 dan mutasi EGFR 37

Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian 43

Gambar 4.1 Sensitivitas analitik dari grafik PCR-HRM 54

Gambar 5.1 Diagram status EGFR 60

Gambar 5.2 Kurva ROC 64



DAFTAR TABEL

Tabel 1 Klasifikasi Stadium Tumor Paru Edisi 7 (NCCN, 2014) 28

Tabel 2 Penderajatan pada KPKSK (NCCN, 2014) 29

Tabel 3 Rencana waktu penelitian 50



DAFTAR SINGKATAN

ATP	: Adenosine triphosphate
CA19-9	: Carbohydrate antigen 19-9
CEA	: Carcinoembryonic antigen
CT	: Computerized tomography
CYFRA21-1	: Cytokeratin-19 fragment
EGF	: Epidermal growth factor
EGFR	: Epidermal growth factor receptor
FNAB	: Fine Needle Aspiration Biopsy
KPKBSK	: Kanker paru karsinoma bukan sel kecil
KPKSK	: Kanker paru karsinoma sel kecil
MRI	: Magnetic resonance imaging
PAHs	: Polycyclic aromatic hydrocarbons
PCR	: Polymerase chain reaction
PET	: Positron emission tomography
PTHrP	: Parathyroid hormone-related protein
SCC	: Squamous-cell Carcinoma
SIADH	: Syndrome of inappropriate antidiuretic hormone - secretion
TBLB	: Transbronchial lung biopsy
TBNA	: Transbronchial needle aspiration
TGF	: Transforming growth factor
TKI	: Tirosin kinase inhibitor
TTB	: Transthoracic biopsy
TTNA	: Transthoracic needle aspiration



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Analisa Statistik	76
Lampiran 2 Hasil Patologi Anatomi	88
Lampiran 3 Data Penelitian	92
Lampiran 4 Kelayakan Etik Penelitian	103



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kecenderungan meningkatnya kasus keganasan rongga toraks masih terus berlanjut terutama di rumah sakit – rumah sakit rujukan seperti RS Persahabatan Jakarta, RS dr.Soetomo Surabaya dan RSK Dharmas Jakarta.

Data yang hampir sama juga di pusat pendidikan pulmonologi lainnya seperti RSUD dr.Saiful Anwar Malang, RSUD Moewardi Solo, RSUP dr.M.Djamil Padang serta RSUP Adam Malik Medan. Dalam kelompok keganasan rongga toraks yang terdiri dari kanker paru, tumor mediastinum, mesotelioma, metastasis tumor di paru dan tumor dinding dada, angka kejadian kanker paru tetap menjadi kasus tertinggi (Jusuf *et al.*,2016; Listyoko *et al.*,2017)

Kanker paru adalah salah satu penyebab utama kematian akibat kanker di dunia baik pada laki-laki maupun pada wanita. Kanker paru dibagi menjadi dua jenis utama yaitu, Kanker Paru Karsinoma Sel Kecil (KPKSK) dan Kanker ParuKarsinoma Bukan Sel Kecil (KPKBSK). KPKBSK merupakan 80% dari semua kanker paru dengan adenokarsinomasebagai jenis histologi yang paling sering dijumpai (Tukumo *et al.*,2005; Jazieh *et al.*,2013; Siegelin *et al.*,2014).

Faktor risiko utama kanker paru adalah merokok. Faktor lainnya yang juga diketahui sebagai faktor yang mempengaruhi perkembangan kanker paru antara lain : paparan gas radon, asbestosis, polusi udara dan faktor genetik (Tukumo *et al.*,2005; Ilonen,2011; Jazieh *et al.*,2013; Siegelin *et al.*,2014).

Sekitar 60% dari pasien KPKBSK terdiagnosis saat penyakit telah pada tahap lanjut. Terapi yang ada saat ini antara lain pembedahan, radioterapi dan kemoterapi. Terapi tersebut diberikan berdasarkan derajat kanker paru pasien. Pemberian kemoterapi tunggal atau kombinasi dengan modalitas terapi lainnya seperti radioterapi atau pembedahan memberikan hasil yang kurang memuaskan dalam memperbaiki kualitas hidup pasien. Selain itu, adanya toksisitas dan



resistensi terhadap obat kemoterapi juga membatasi penggunaan terapi (Papaetis *et al.*,2007; Pan *et al.*,2013).

Tantangan dalam hal penatalaksanaan KPKBSK juga disebabkan karena belum dipahami dengan jelas mekanisme kelainan yang terjadi pada kanker paru. Penelitian terbaru menemukan bahwa terdapat penyimpangan genetik yang berperan dalam mengontrol kelangsungan hidup sel. Penyimpangan tersebut meningkatkan pembelahan sel dan menginduksi terjadinya tumor. Salah satu jalur yang dapat mengalami penyimpangan adalah *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR). EGFR merupakan reseptor transmembran protein tirosin kinase yang dapat ditemui pada epitel normal, mesenkimal dan jaringan neurogenik. Ekspresi berlebihan EGFR diduga berperan dalam perkembangan kanker paru (Bethune *et al.*,2010; Ilonen.,2011).

Mutasi yang terjadi pada EGFR banyak ditemukan pada etnis Asia dan pasien kanker paru jenis adenokarsinoma yaitu sekitar 51,4%, sedangkan jenis kelamin dan status merokok didapatkan tidak berhubungan secara bermakna dengan mutasi tersebut. Dengan ditemukannya pemeriksaanEGFR dan pengembangan terapi target pada mutasi EGFR, waktu dan kualitas hidup pasien adenokarsinoma sangat meningkat. Akan tetapi, terdapat keterbatasan dalam mendeteksi adanya mutasi pada EGFR. Spesimen terbaik untuk pemeriksaan mutasi EGFR diperoleh dari pembedahan. Namun, 70-80% pasien KPKBSK tidak dapat menjalani pembedahan saat terdiagnosis, selain itu biopsi juga memberikan risiko tinggi perdarahan pada kanker yang lanjut. Dengan demikian, pada beberapa pasien tidak memperoleh pengobatan yang efektif dan tepat waktu, sehingga perlu untuk menemukan indikator alternatif yang efisien dari status mutasi EGFR (Tukumo *et al.*,2005; Riely *et al.*,2006; Cote *et al.*,2011).

Padapemeriksaanhistopatologi sering ditemukan kesulitan untuk memastikan jenis histologis kanker paru terutama dari bahan biopsi kecil dan sediaan sitologi. Kesulitan penentuan jenis juga dihadapi pada kasus-kasus kanker paru yang berdiferensiasi buruk. Pada keadaan ini diperlukan pemeriksaan tambahan seperti pemeriksaan imunohistokimia (IHK) untuk membantu memastikan jenis kanker paru. Beberapa data menunjukkan bahwa diagnosis adenokarsinoma atau karsinoma sel skuamosa dapat ditegakkan pada



50-70% kasus hanya dengan pemeriksaan morfologi dari sediaan biopsi kecil atau sitologi. Pulasan IHK dapat membantu menentukan jenis sampai sub tipe histologis sehingga diharapkan kesimpulan diagnosis tidak hanya karsinoma bukan sel kecil, namun bisa sampai subtipenya (Jusuf *et al.*,2017).

IHK pada kanker paru pertama kali diperkenalkan pada klasifikasi *World Health Organization* (WHO) tahun 1999. Sebelum klasifikasi tersebut diagnosis kanker paru hanya berdasarkan pada gambaran morfologi dengan pulasan Hematoxillin-Eosin. Pada klasifikasi WHO tahun 2004 pemeriksaan IHK digunakan terbatas pada karsinoma neuroendokrin jenis sel besar dan karsinoma sarkomatoid (Jusuf *et al.*,2017)

Berdasarkan klasifikasi WHO terbaru tahun 2015, penanda yang umum digunakan untuk adenokarsinoma adalah *Thyroid Transcription Factor-1* (TTF-1) dan Napsin A dengan tingkat positivitas tergantung pada sub tipe histologisnya (angka sensitivitas 80%). Gambaran histologis adenokarsinoma sangat bervariasi dan menjadi masalah ketika diagnosis bandingnya meliputi metastasis atau mesotelioma ganas. Dalam studi klinis pada *New England Journal* (NEJ) tahun 2010, dijelaskan bahwa pada pasien dengan adenokarsinoma paru positif untuk ekspresi TTF-1, tingkat mutasi EGFR lebih tinggi. Khususnya, orang Asia, wanita dan bukan perokok memiliki tingkat ekspresi TTF-1 positif dan mutasi EGFR yang jauh lebih tinggi (Jusuf *et al.*,2017).

Sampai saat ini, belum ada penelitian yang dilakukan di RSUD dr.Saiful Anwar Malang, mengenai hubungan antara ekspresi TTF-1 dan mutasi EGFR pada pasien adenokarsinoma paru. Oleh sebab itu, pada penelitian ini akan diteliti hubungan antara ekspresi TTF-1 dan mutasi EGFR pada pasien adenokarsinoma paru di lingkungan RSUD dr Saiful Anwar Malang, sehingga diharapkan dapat menjadi pertimbangan bagi pasien untuk menerima terapi EGFR-TKI bagi pasien yang tidak memungkinkan atau tidak dapat melakukan pemeriksaan mutasi EGFR dengan harapan dapat mempermudah pasien mendapat terapi yang sesuai.



1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekspresi *Thyroid Transcription Factor-1* (TTF-1) dan mutasi *Epidermal Growth Factor Receptor*(EGFR) berhubungan pada pasien adenokarsinomaparu?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui frekuensi mutasi *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) pada pasien adenokarsinoma paru di RSUD dr.Saiful Anwar Malang.
2. Mengetahui hubungan ekspresi *Thyroid Transcription Factor-1* (TTF-1) dan mutasi *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) pada pasien adenokarsinoma paru di RSUD dr.Saiful Anwar Malang.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Teoritis

1. Memberikan pengetahuan tentang frekuensi mutasi EGFR pada pasien adenokarsinoma paru di RSUD dr.Saiful Anwar Malang.
2. Memberikan pengetahuan tentang kaitan antara ekspresi TTF-1 dan mutasi EGFR.

1.4.2 Praktis

Di masa mendatang, diharapkan ekspresi TTF-1 dapat menjadi pertimbangan pasien yang memerlukan pemberian terapi EGFR-TKI namun tidak memungkinkan dilakukan pemeriksaan mutasi EGFR.



BAB 2

TINJAUAN KEPUSTAKAAN

2.1 Definisi Kanker Paru

Kanker paru dalam arti luas adalah semua penyakit keganasan di paru, mencakup keganasan yang berasal dari paru sendiri maupun keganasan dari luar paru (metastasis tumor di paru) (PDPI, 2016). Dalam kepustakaan lain disebutkan kanker paru / karsinoma bronkogenik adalah tumor ganas paru primer yang berasal dari saluran pernapasan (Alsagaff dan Mukty, 2002). Kanker paru adalah konsekuensi fenotip yang merupakan akumulasi perubahan genetik pada sel epitel saluran nafas sehingga terjadi proliferasi sel yang tidak terkendali (Fishman's, 2008). Kanker paru adalah kanker yang berasal dan terjadi pada satu atau kedua paru. Umumnya bermula di satu paru kemudian melakukan penyebaran ke kelenjar limpa serta jaringan paru lain misalnya pleura bahkan paru kontralateral. Sel tumor dapat berkembang biak secara tidak terkontrol dan menginvasi jaringan sekitar serta bisa menyebar / metastase ke bagian tubuh lain (Margono, 2010).

2.2 Epidemiologi

Kanker paru merupakan penyebab utama kematian terbesar akibat kanker di dunia. Penyakit ini menjadi epidemik seiring dengan peningkatan insiden kanker paru dan kematian akibat kanker yang berkaitan pula dengan konsumsi rokok. Lebih dari 1.5 juta kasus baru terdiagnosis setiap tahun di seluruh dunia. Sekitar 55% kasus kanker saat ini terjadi di negara berkembang. (Steliga *et al.*, 2011; De Groot *et al.*, 2012).

Berdasarkan data epidemiologi, angka kejadian kanker pada pria di seluruh dunia yang terbanyak adalah kanker paru yaitu sekitar 61.6%, dengantingkat tertinggi terjadi di Amerika Utara, Asia Timur dan Tengah, serta



Eropa Selatan. Sedangkan pada wanita, kejadian kanker paru didunia lebih rendah, yaitu sekitar 38.5% dari semua kasus kanker. Insidensi dan mortalitas kanker paru ditemukan tinggi pada orang kaukasia dan Afrika Amerika daripada ras lain di Amerika Serikat. Usia, ras, suku, tingkat sosial dan ekonomi juga mempengaruhi kejadian kanker paru (Steliga *et al.*,2011; De Groot *et al.*,2012; American Lung Association.,2014).

Kanker adalah penyakit penuaan. Hampir 60% diagnosis kanker ditemukan pada seseorang dengan usia lebih dari 65 tahun. Tipe utama sel kanker paru adalah kanker paru karsinoma sel kecil (KPKSK) dan kanker paru karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK).Kadangkala kanker paru memiliki karakteristik seperti kedua jenis kanker tersebut, yang dikenal dengan *mixed small cell/large cell carcinoma*. KPKSK lebih sedikit dibanding tipe KPKBSK,sekitar 14% dari semua kasus kanker paru. Jenis KPKBSK merupakan jenis yang terbanyak yaitu sekitar 86% dari semua kasus kanker paru dimana jenis adenokarsinoma menduduki urutan terbanyak (Steliga *et al.*,2011; De Groot *et al.*,2012; American Lung Association, 2014).

2.3 Perubahan Genetik dan Molekular Kanker Paru

Kanker paru merupakan fenotip yang muncul sebagai akibat dari akumulasi perubahan genetik pada sel epitel saluran nafas yang menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkendali. Perubahan genetik dan molekular pada kanker paru bersifat kompleks dan tidak sepenuhnya dipahami. Perubahan molekular yang telah diketahui pada kanker paru telah dijabarkan oleh Hanahan dan Weinberg (2011), yaitu : (Gambar 2.1)



2. *Evading Growth Suppressor* (menghindari supresor pertumbuhan)

Dalam keadaan normal, terdapat tumor supresor gene yang menjadi sinyal untuk menghentikan pertumbuhan / pembelahan sel ketika sel dalam keadaan stres. Contoh tumor supresor gene adalah p53 dan pRb. Ketika sel mengalami stres / anomali, protein ini akan teraktivasi dan menyebabkan sel mengalami perbaikan atau kematian (apoptosis). Dalam berbagai jenis kanker, terjadi defisiensi atau mutasi dari tumor supresor gene. Seperti pada kasus kanker serviks, terjadi degradasi p53 dan pRb yang disebabkan oleh protein-protein dari Human Papilloma Virus (HPV) yang menyebabkan proses karsinogenesis. Oleh karena tumor supresor gene ini berperan penting pada siklus sel, maka obat yang dikembangkan berdasar karakteristik kanker ini adalah inhibitor protein siklus sel (CDK inhibitor). Belum ada obat yang teruji klinis sebagai CDK inhibitor hingga saat ini.

3. *Avoiding immune destruction* (menghindari kerusakan oleh sistem imun)

Sistem imun sebenarnya mampu mengenali sel kanker sebagai sel *nonself* yang berbeda dengan sel normal lain. Akan tetapi, sel kanker dapat menghindari pengenalan oleh sistem imun dengan berbagai mekanisme, antara lain dengan translokasi antigen sel kanker sehingga tidak dapat dikenali oleh APC. Obat antikanker yang berdasarkan sistem imun ini adalah Tremelimumab yang merupakan antibodi IgE2 dan menstimulasi sistem imun penderita kanker untuk membunuh sel-sel kankernya.

4. *Enabling Replicative Immortality* (mengalami pembelahan terus-menerus)

Ujung kromosom dilindungi oleh telomer, yang menimbulkan kemampuan untuk sel berproliferasi terus menerus. Pada sel normal, telomer terus memendek seiring proses proliferasi sel, hingga akhirnya proliferasi sel berhenti. Pada kanker, terdapat enzim telomerase yang dapat memperpanjang telomer, menyebabkan sel berproliferasi terus menerus.



8. Mengalami instabilitas genomik dan mutasi

Sel-sel dalam tubuh mengalami mutasi untuk kemudian berkembang menjadi kanker. Sebenarnya tubuh pun memiliki fungsi untuk memperbaiki gen yang termutasi, tetapi proses tersebut terjadi sangat lambat. Sementara, sel kanker diketahui menyebabkan peningkatan mutasi untuk lebih memacu tumorigenesis-nya. Mutabilitas tersebut dapat terjadi dengan peningkatan sensitivitas terhadap suatu mutagen, misalnya dengan kerusakan komponen-komponen pemeliharaan gen. Sementara, terapi kanker justru menginginkan gen suatu sel kanker rusak sehingga sel kanker dapat mati. Protein PARP dalam sel kanker akan memperbaiki kerusakan gen yang terjadi pada sel kanker, sehingga sel kanker tetap hidup dan tumbuh. Oleh karena itu, PARP inhibitor menjadi salah satu obat kanker dan contoh obatnya adalah iniparib, yang saat ini masih berada pada uji klinik fase 3.

9. Menghindari kematian sel

Apoptosis atau kematian sel terprogram merupakan jalur ideal dan idaman bagi pengobatan kanker. Sistem apoptosis terdiri dari 2 bagian yaitu *upstream* regulator dan *downstream* efektor. Regulasi apoptosis dapat terjadi melalui dua jalur, jalur ekstrinsik dan intrinsik, dan melibatkan mitokondria sebagai komponen penting dalam peristiwa apoptosis. Secara umum, induksi apoptosis terjadi melalui kesetimbangan protein pro- dan antiapoptosis yang merupakan anggota famili protein Bcl-2 dan memiliki motif protein BH3. Obat kanker dikembangkan dengan meniru bentuk BH3 tersebut, antara lain obatoclax.

10. Deregulasi pengaturan energi seluler

Sel kanker dapat meningkatkan glikolisis dan uptake glukosa ke dalam sel yang menyebabkan produksi energi dalam sel kanker lebih banyak dibanding sel normal. Energi tersebut digunakan untuk sel kanker berproliferasi. Inhibitor glikolisis aerobik dikembangkan menjadi anti kanker, antara lain Dichloroacetic acid (DCA) dan 2-deoxy-D-glucose (2DG).

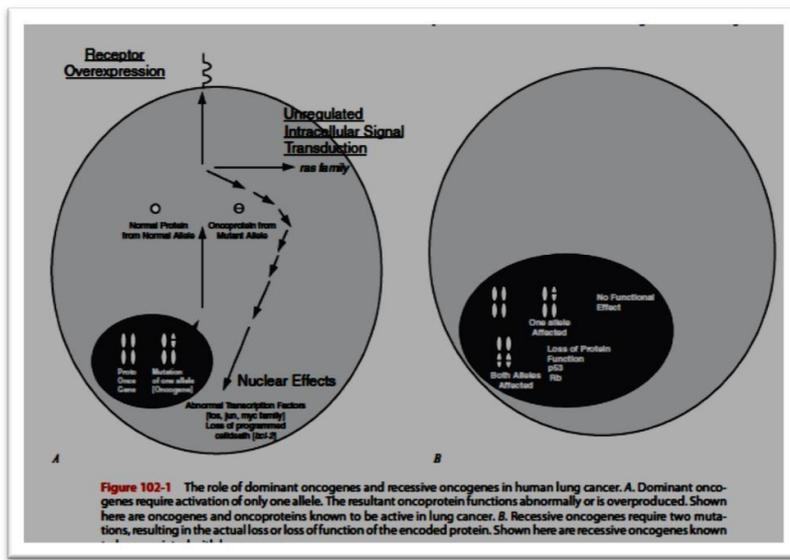


2.3.1 Genetik Kanker Paru

Terdapat komponen genetik pada patogenesis kanker paru. Hal tersebut menyebabkan seseorang menjadi rentan terhadap kanker paru, dengan atau tanpa paparan asap rokok. Dua tipe mutasi yang terjadi pada kanker, yaitu mutasi yang didapat dan mutasi yang diturunkan. Tidak semua kanker paru memiliki dasar keturunan, sebab terdapat beberapa kanker yang terjadi secara sporadis atau tanpa ada riwayat keluarga yang menderita kanker. Kanker tersebut bukan diakibatkan mutasi pada *germline* atau gen yang rentan terhadap kanker, akan tetapi lebih disebabkan oleh perubahan genetik somatik yang didapat (Dang *et al.*, 2008; Kern *et al.*, 2008; Cruz *et al.*, 2011)

Terdapat dua kelas onkogen yang berperan dalam kanker paru, yaitu onkogen dominan atau proto-onkogen dan onkogen resesif atau *tumor suppressor genes* (Gambar 2.2). Onkogen dapat menghasilkan protein yang abnormal atau protein normal dalam jumlah berlebihan melalui proses mutasi, translokasi kromosomal, amplifikasi atau disregulasi transkripsional. Onkogen dominan (proto-onkogen) hanya memerlukan aktivasi satu alela yang mengakibatkan fungsi onkogen menjadi tidak normal atau onkogen tersebut diproduksi berlebihan. Sedangkan Onkogen resesif (*tumor suppressor genes*) memerlukan 2 mutasi untuk menyebabkan hilangnya fungsi protein *encode* (Gambar 2.2) (Kern *et al.*, 2008).

Proto-onkogen dapat diklasifikasikan kedalam 5 kategori yaitu : *growth factors*, hormon dan reseptor untuk *growth factor*, *intracellular signal transducers* *unclear transcription factors*, dan *cell cycle control protein* (Kern *et al.*, 2008)



Gambar 2.2 Onkogen dominan dan onkogen resesif pada kanker paru. (Kern et al.,2008)

2.3.2 Perubahan Molekular Kanker Paru

2.3.2.1 Proto-Onkogen

Proto-onkogen seperti *Ras* dan *Myc* pertama kali ditemukan pada tahun 1970. Gen tersebut terintegrasi kedalam jalur signaling. Mutasi pada gen tersebut berkaitan dengan timbulnya penyakit kanker pada manusia. Gen *Ras* (*Hras*, *Kras*, dan *Nras*) mengkode protein GTPase yang membantu penguatan sinyal *survival* dan *promoting signal*. Ketika terjadi mutasi onkogenik, terjadi gangguan pada penghancuran normal sinyal RAS melalui hidrolisis ikatan guanosis trifospat (GTP) menjadi guanosis difospat (GDP). Hal tersebut menyebabkan signaling gen RAS menetap. Mutasi pada gen *Kras* menjadi penanda prognosis yang buruk pada KPKSK (Kern et al.,2008; Marquez et al., 2013)

Gen *Myc* (*MYCL*, *MYCN*, dan *CMYC*) menkode faktor transkripsi yang meregulasi gen yang terlibat dalam regulasi sel, sintesis DNA dan metabolisme RNA. Gen tersebut dapat teraktivasi oleh hilangnya kontrol transkripsional atau melalui amplifikasi gen yang berakibat pada ekspresi berlebihan protein MYC (Kern et al.,2008; Marquez et al., 2013).



2.3.2.2 Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)

Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) disintesis dari prekursor residu 1210 polipeptida, yang berlokasi pada kromosom 7p 11.2 sepanjang 200 kb dan terdiri dari 28 exon. EGFR terdiri dari rantai polipeptida asam amino tunggal dengan berat molekul sebesar 170 kDaltons (kDa) yang diekspresikan pada sebagian besar sel normal. Secara struktural, EGFR terdiri dari tiga lokasi yaitu, ekstraselular yang berikatan dengan ligan, intraselular yang memiliki aktivitas tirosin kinase dan transmembran dengan urutan hidrofobik tunggal.

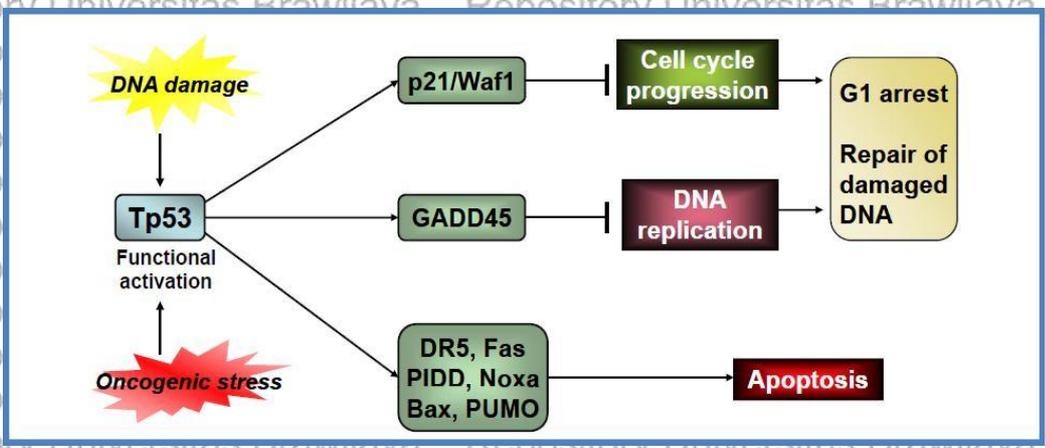
EGFR intraselular memodulasi proliferasi sel dan survival melalui autoaktivasi EGFR sendiri atau melalui 2 jalur intermediat *downstream* yaitu, jalur PIK3CA/AKT1/MTOR dan jalur RAS/RAF1MAP2K1/MAPK1 (Jorissen *et al.*, 2003; Bethune., 2010; Cheng *et al.*, 2012).

Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) merupakan reseptor transmembran yang secara normal berada pada permukaan sel dan seringkali diekspresikan berlebihan pada pasien KPKBSK. Telah dilaporkan sebelumnya bahwa mutasi EGFR lebih sering terjadi pada exon 19 dan 21, dan mutasi ini berkaitan dengan sensitivitas sel tumor terhadap terapi EGFR-TKI. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa tingkat mutasi EGFR memiliki perbedaan regional. Tingkat mutasi EGFR di negara barat terjadi sekitar 10 % sedangkan di negara Asia didapatkan tingkat mutasi sebesar 50%. Selain itu, tingkat mutasi EGFR juga bergantung pada kelompok histologi kanker pasien, yaitu pada kelompok adenokarsinoma sebesar 45.76% sedangkan pada kelompok *squamous-cell carcinoma* sebesar 19.57 %. Demikian pula pada kelompok pasien wanita, tingkat mutasi EGFR lebih besar yaitu 61% dibandingkan pasien laki-laki yaitu sebesar 44% (Bethune *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2014).

Kemajuan penelitian mengenai jalur sinyal sel yang mengontrol kelangsungan hidup sel mengungkapkan adanya penyimpangan genetik dan pengaturan yang menekan kematian sel, meningkatkan pembelahan sel, menginduksi tumorigenesis (Mendelsohn *et al.*, 2006; Bethune, *et al.*, 2010).

2.3.2.3 Tumor Suppressor Gene

Peran *Tumor suppressor gene* p53 adalah turut menjaga integritas genomik setelah terjadi kerusakan DNA. Ketika sel mengalami stress akibat paparan karsinogen, radiasi ultraviolet dan/atau hipoksia, maka regulasi gen p53 akan ditingkatkan. Setelah ditingkatkan, gen p53 akan mengaktifasi beberapa jalur seperti p21 yang berperan pada progresi siklus sel, jalur GADD45 yang berperan pada replikasi DNA serta jalur DR5, Fas PIDD, Noxa Ba, PUMO yang akan mempengaruhi apoptosis. Jalur-jalur tersebut dapat melakukan berbagai fungsi antara lain siklus sel, perbaikan DNA, apoptosis dan proses penuaan (gambar 2.3) (Kitamura., 2008; Mogi *et al.*, 2011; Marquez., 2013).



Gambar 2.3 Aktivasi Tp53 (Kitamura *et al.*, 2008).

Keterangan : Kerusakan DNA dan stress onkogenik menimbulkan respon selular. p53 mengaktifkan target *downstream* untuk melakukan berbagai fungsi antara lain terkait siklus sel, perbaikan DNA, apoptosis dan proses penuaan.

Pada kanker paru, terjadi mutasi pada p53. Mutasi pada gen p53 merupakan salah satu perubahan genetik yang paling sering ditemukan pada kanker. Frekuensi terbesar mutasi pada gen p53 didapatkan pada sampel KPKSK, sedangkan pada sampel KPKBSK mutasi gen p53 lebih banyak



dijumpai pada *squamous cell carcinoma* dan rendah pada adenokarsinoma (Kitamura., 2008; Mogi *et al.*, 2011; Marquez., 2013).

2.4 Klasifikasi Kanker Paru

Kanker paru diklasifikasikan menjadi Kanker Paru Karsinoma Sel Kecil (KPKSK) dan Kanker Paru Karsinoma Bukan Sel Kecil (KPKBSK). Subkategori dari KPKBSK antara lain adenokarsinoma, *squamous-cell carcinoma* dan *large-cell carcinoma*. Perbedaan patologi antara KPKSK dan KPKBSK sangat penting karena penatalaksanaan yang akan diberikan juga berbeda (Jusuf *et al.*, 2011).

2.4.1 Kanker Paru Karsinoma Sel Kecil (KPKSK)

Kanker paru karsinoma sel kecil (KPKSK) adalah diagnosis histologis kanker paru pada sekitar 15% pasien penderita kanker paru di Amerika Serikat. KPKSK merupakan tumor ganas epitel yang terdiri dari sel-sel kecil dengan sitoplasma sedikit, tepi sel tidak jelas, kromatin granular halus, dengan inti sel yang tidak ada atau tidak jelas. Sel-sel berbentuk bulat, oval atau spindel, dan memiliki tingkat pembelahan yang tinggi (Kalemkerlan *et al.*, 2013).

KPKSK merupakan kanker paru yang agresif. Tanpa pengobatan, waktu bertahan hidup pasien hanya 3–4 bulan. Kanker jenis ini memiliki kemampuan metastasis yang tinggi. Hampir 70% dari pasien terdiagnosis saat penyakit sudah dalam stadium lanjut. KPKSK merupakan karsinoma endokrin yang memiliki aktivitas mitosis yang tinggi (>10 mitosis/ 2 mm^2) dengan mitosis rata-rata 60-80 mitosis/ 2 mm^2 serta nekrosis yang luas (Ganti *et al.*, 2013; Harmsma., 2013).

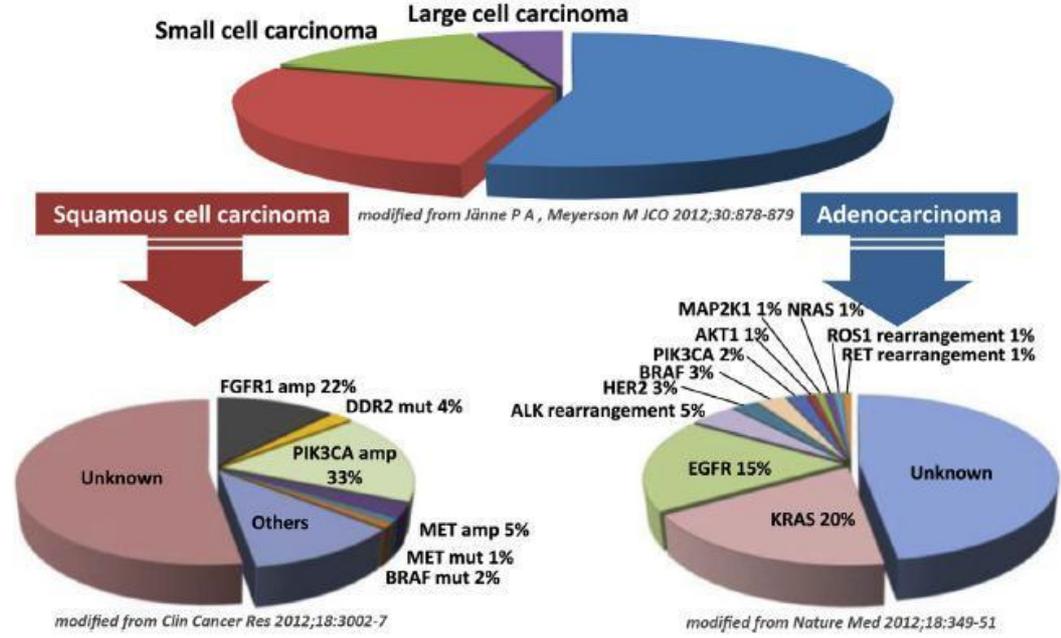
2.4.2 Kanker Paru Karsinoma Bukan Sel Kecil (KPKBSK)

Kanker paru karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK) mencakup 80% dari seluruh kanker paru. Kanker paru karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK) dapat dibagi ke dalam tiga kelompok histologi utama yaitu *squamous-cell carcinoma*, adenokarsinoma dan *large-cell carcinoma*. Adenokarsinoma merupakan subtipe



histologi yang paling umum, diikuti oleh *squamous cell carcinoma*. Adenokarsinoma dan *squamous cell carcinoma* dapat dibagi lagi berdasarkan perubahan genomik somatik seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.4. Ketiga jenis histologi tersebut dapat disebabkan oleh kebiasaan merokok, akan tetapi yang paling dikaitkan dengan kebiasaan merokok adalah jenis *squamous-cell carcinoma*. Sedangkan adenokarsinoma adalah tipe yang paling berkaitan dengan pasien yang bukan perokok. (Herbst *et al.*, 2008; Kitamura *et al.*, 2008; Litzky., 2008)

Histologic and molecular subtypes of NSCLC



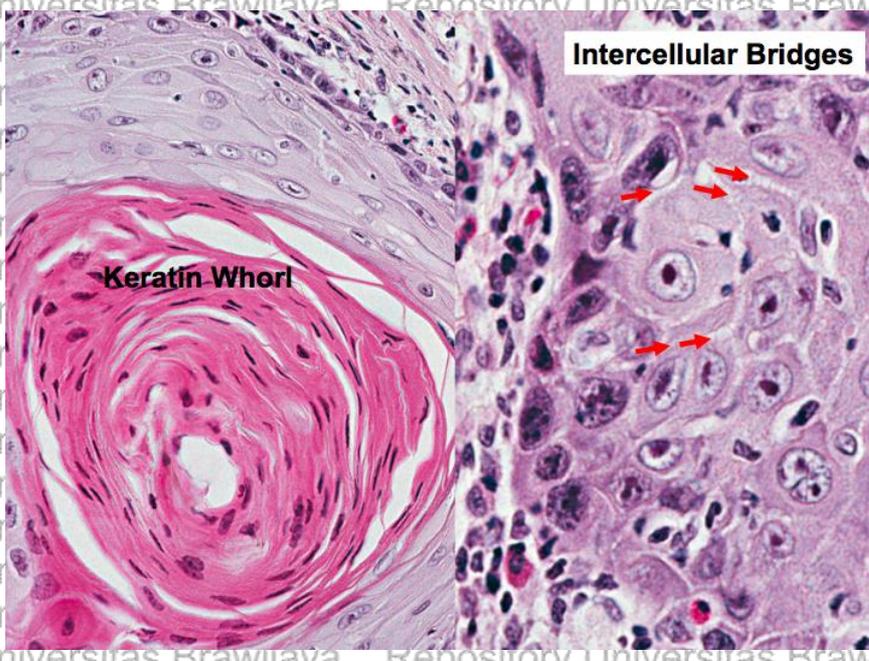
Gambar 2.4 Histologi dan sub tipe KPKBSK (Kitamura *et al.*, 2008)



2.4.2.1 Squamous-cell Carcinoma (SCC)

Squamous-cell Carcinoma (SCC) adalah jenis histologi kanker paru yang paling sering berkaitan dengan rokok. Angka kejadian jenis ini berkisar antara 30-60% dari seluruh kasus kanker paru. Kanker ini bermula dari lapisan sel skuamosa di dalam saluran napas. Seringkali dihubungkan dengan kebiasaan merokok dan cenderung ditemukan di lapang tengah paru, berdekatan dengan bronkus. Jumlah penderita laki-laki lebih banyak dibandingkan dengan perempuan dengan usia rata-rata penderita adalah 57 tahun. Secara mikroskopik, SCC memberikan gambaran lapisan sel-sel epitel dengan keratinasi, *intercellular bridges*, atau *pearl formation*, dan sel sering membentuk pola gulungan atau sarang. Kadang kala ditemukan kavitasi. Jenis ini sering memberikan respon awal yang baik terhadap radiasi, namun kurang memberikan respon pada kemoterapi. (West., 2010; Djojodibroto., 2013; American Cancer Society., 2014).

Gejala umum yang ditimbulkan berupa batuk berdahak, hemoptisis, nyeri dada dan sesak nafas. Oleh karena lokasi tumor ini sebagian besar terletak di bronkus besar, maka secara radiologik akan ditemukan massa perihilar atau atelektasis. Selain itu, karena SCC terjadi di permukaan bronkus, maka karsinoma ini dapat dideteksi melalui pemeriksaan sitologi, bahkan sebelum tampak pada pemeriksaan foto polos dada. Jenis histologi ini cenderung berkembang lambat, progresivitasnya diperkirakan sekitar 3 - 4 tahun dari in situ sampai memberikan gejala klinis. Modalitas terapi pada SCC antara lain pembedahan dan radiasi. Pemberian kemoterapi tidak memberikan hasil yang memuaskan. (Schrumpet *al.*, 2008; Djojodibroto., 2013; American Cancer Society., 2014).



Gambar 2.5 Squamous Cell Carcinoma

2.4.2.2 Adenokarsinoma

Penelitian epidemiologis di Amerika Serikat mengungkapkan bahwa adenokarsinoma merupakan jenis kanker paru yang paling sering ditemukan (40%). Jenis ini paling sering ditemukan pada wanita (50%), dan juga pada yang bukan perokok. Adenokarsinoma adalah tumor epitelial ganas yang membentuk kelenjar dengan atau tanpa produksi musin. Insiden tumor ini meningkat signifikan dalam 2 dekade terakhir, 25% hingga 40% dari kanker paru adalah adenokarsinoma (Litzky., 2008; Schrupp *et al.*, 2008; Djodjodibroto., 2013; American Cancer Society, 2014).

Gambaran histologis adenokarsinoma sangat bervariasi dan menjadi masalah ketika diagnosis bandingnya meliputi metastasis atau mesotelioma ganas. Adenokarsinoma menunjukkan diferensiasi glandular dan sering menghasilkan mukus (Litzky., 2008; West., 2010).





Tingkat kepositifan TTF-1 pada tipe lepidik dan papiler lebih tinggi dibandingkan tipe solid predominan. Terdapat hubungan yang erat antara sub tipe histologis dan mutasi EGFR; adenokarsinoma tipe musinosum invasif menunjukkan profil imun yang agak berbeda dari sub tipe lainnya. Adenokarsinoma musinosum invasif memberikan hasil positif dengan pemeriksaan penanda CK 7 dan CK 20 tetapi memberikan hasil negatif terhadap TTF-1 dan Napsin A. Penanda paling sensitif dan spesifik untuk karsinoma sel skuamosa adalah p40. Penanda lain yang digunakan untuk karsinoma sel skuamosa adalah CK 5/6 dan p63. Data terbaru menunjukkan bahwa p63 kurang spesifik dibanding p40 karena ekspresi p63 juga ditemukan pada 30% kasus adenokarsinoma. Penanda yang direkomendasikan untuk karsinoma neuroendokrin antara lain NCAM/CD56, *chromogranin* dan *synaptophysin* (Jusuf *et al.*, 2017).

Derajat adenokarsinoma dibagi menjadi diferensiasi baik, diferensiasi sedang dan diferensiasi buruk. Pembagian tersebut berdasarkan pada derajat dan luasnya diferensiasi glandular. Mayoritas adenokarsinoma berkembang dari bagian perifer paru dan berhubungan dengan pleura yang mengkerut atau jaringan parut dari parenkim paru. Adenokarsinoma berkembang lebih lambat dibandingkan kanker lain, dan umumnya dapat terdeteksi sebelum kanker menyebar. Kanker jenis ini terletak di perifer sehingga kadangkala gejalanya tenang. Gejala yang timbul dapat berupa batuk, hemoptisis, nyeri dada dan penurunan berat badan yang cepat. Seringkali tidak terdeteksi melalui pemeriksaan sitologi sputum maupun sitologi yang lain, akan tetapi lebih mudah terdeteksi melalui pemeriksaan *computed tomography* (CT) scan dada maupun foto toraks. Pada gambaran radiologik biasanya ditemui di daerah perifer yang berdekatan dengan pleura dan mempunyai diameter kurang dari 4 cm. Pada pemeriksaan CT-Scan toraks dapat dijumpai tumor perifer dengan tepi spikulated pada paru, dapat tidak mengenai permukaan pleura seperti yang tampak pada gambar 2.7 (Litzky., 2008; Schrupp *et al.*, 2008; Djojodibroto., 2013).



Large cell carcinoma mengandung sel berukuran hampir sama dengan *squamous cell carcinoma*, tetapi pola gulungan yang khas tidak terlihat. Tampak sarang sel tumor dengan sitoplasma berlimpah, inti atipikal, nukleolus yang berbeda dan beberapa mitosis. Tampak pula adanya diferensiasi asinar, keratinisasi, atau jembatan antar sel (Gambar 2.8). Kanker ini cenderung terjadi di perifer paru. Dengan sampling yang lebih ekstensif dan mikroskop elektron, banyak *undifferentiated large cell carcinoma* yang bisa diklasifikasikan lebih tepat.

2.5 Diagnosis Kanker Paru

Diagnosis kanker paru bertujuan untuk menentukan jenis histopatologi kanker, lokasi tumor serta penderajatannya yang selanjutnya diperlukan untuk menetapkan kebijakan pengobatan (Jusuf, 2011).

2.5.1 Manifestasi Klinis

Kanker paru memberikan gambaran tanda, gejala, dan sindrom yang bervariasi. Kanker paru pada tahap awal jarang menimbulkan gejala. Sebagai akibatnya, sebagian besar pasien datang dalam kondisi stadium lanjut dengan metastasis dan akhirnya meninggal. Gejala awal biasanya tidak spesifik dan seringkali mirip dengan penyakit lain.

Keluhan klinis yang terjadi pada kanker paru dapat disebabkan oleh tumor itu sendiri (batuk, nyeri dada dan hemoptisis), obstruksi tumor pada bronkus (mengi, stridor, atelektasis, atau dispneu), pertumbuhan tumor ke pleura (nyeri pleura, efusi pleura), dan metastasis (suara serak, disfagia, parese, nyeri punggung). Sel-sel tumor juga dapat berefek ditempat yang jauh dengan mengeluarkan berbagai agen biologis aktif, termasuk antibodi, hormon, dan protein lain. Hal ini dikenal sebagai sindrom paraneoplastik yang dapat dilihat di setiap jenis kanker paru (Blum, 2005; Silvestri *et al.*, 2005; Palka dan Johnson., 2008). Misalnya : Hiperkalsemia akibat *parathyroid hormone-related protein* (PTHrP) yang disekresikan oleh karsinoma sel skuamosa, *Syndrome of*



inappropriate secretion of diuretic hormone (SIADH) pada karsinoma sel kecil.

Pemeriksaan fisik harus dilakukan secara menyeluruh dan teliti. Hasil yang didapat sangat bergantung pada kelainan saat pemeriksaan dilakukan.

Tumor paru ukuran kecil dan terletak di perifer dapat memberikan gambaran normal pada pemeriksaan. Tumor dengan ukuran besar, terlebih bila disertai atelektasis sebagai akibat kompresi bronkus, efusi pleura atau penekanan vena kava akan memberikan hasil yang lebih informatif. Pemeriksaan fisik ini juga dapat memberikan data untuk penentuan stage penyakit, seperti pembesaran KGB atau tumor di luar paru. (Palka dan Johson., 2008; Jusuf *et al.*, 2011);

Diagnosis histopatologi penderita kanker paru pada pasien di RSSA dapat ditegakkan dengan pemeriksaan FNAB transtorakal (29%), biopsi forcep FOB (15%), *washing brushing* FOB (11%). Penegakan diagnosa yang lain dapat diperoleh dari sitologi cairan pleura pada pasien dengan gambaran klinis efusi pleura, FNAB KGB pada pasien dengan pembesaran KGB superfisial dan sputum sitologi sebesar 2%. Diagnosis histopatologi terbanyak di RSSA yaitu adenokarsinoma (60%); diikuti *squamous cell carcinoma* (22%) dan KPKSK (9%) (Listyoko *et al.*, 2017)

2.5.2 Gambaran Radiologis

Pemeriksaan radiologis adalah salah satu pemeriksaan penunjang yang mutlak dibutuhkan untuk menentukan lokasi tumor primer dan metastasis, serta penentuan stage penyakit berdasarkan sistem TNM. Pemeriksaan radiologi paru yaitu foto toraks PA/ lateral, bila mungkin *computerized tomography (CT)-scan* toraks, *bone scan*, *bone survey*, *ultrasonography (USG) abdomen*, CT otak, *positron emission tomography (PET)* dan *magnetic resonance imaging (MRI)* dibutuhkan untuk menentukan letak kelainan, ukuran tumor dan metastasis. (Jusuf., 2011; Tao dan Kendall., 2013).

a. Foto Toraks

Pada pemeriksaan foto toraks PA / lateral, kelainan dapat dilihat bila



massa tumor berukuran lebih dari 1 cm. Tanda yang mendukung keganasan adalah tepi yang iregular, disertai indentasi pleura, tumor satelit, dan lain-lain.

Pada foto toraks juga dapat ditemukan invasi ke dinding dada, efusi pleura, efusi perikardium dan metastasis intrapulmoner. Keterlibatan KGB mediastinum untuk menentukan N agak sulit ditentukan dengan foto toraks saja (Jusuf., 2011; Tao dan Kendall., 2013).

Seorang penderita yang termasuk dalam golongan risiko tinggi (GRT) dengan diagnosis penyakit paru, harus disertai *follow-up* yang teliti. Pemberian OAT pada pasien dengan kecurigaan tuberkulosis paru yang tidak menunjukkan perbaikan atau bahkan memburuk setelah 1 bulan harus menimbulkan pemikiran kemungkinan kanker paru dan melakukan pemeriksaan penunjang lain sehingga kanker paru dapat disingkirkan. Pengobatan pneumonia yang tidak berhasil setelah pemberian antibiotik selama 1 minggu juga harus menimbulkan dugaan kemungkinan tumor di balik pneumonia tersebut. Pada efusi pleura, keganasan harus dipikirkan bila cairan bersifat produktif, dan / atau cairan serohemoragik (Jusuf., 2011; Tao dan Kendall., 2013).



Gambar 2.9 Rontgen dada. (Fraire et al., 2010).

Keterangan : Tampak kepadatan nodular besar dengan batas yang jelas pada lobus kiri atas. Biopsi ditemukan *large cell carcinoma* paru

2.5.4 Pemeriksaan Khusus

a. Bronkoskopi

Bronkoskopi adalah pemeriksaan dengan tujuan diagnostik sekaligus dapat untuk mengambil jaringan atau bahan agar dapat dipastikan ada tidaknya sel ganas. Teknik diagnostiknya meliputi biopsi dengan forceps endobronkial, *endobronchial brushing*, *bronchialwashing*, *bronchoalveolar lavage* (BAL), dan *transbronchial needle aspiration* (TBNA) (Jusuf, 2011). Lokasi juga berperan penting dalam keberhasilan bronkoskopi. Nodul yang terletak di dalam atau 1/3 tengah paru memiliki kemungkinan keberhasilan diagnostik lebih besar dibandingkan yang berada di 1/3 luar paru. Oleh karena itu pendekatan biopsi jarum per kutan memiliki peluang yang lebih baik pada posisi ini. (Ost dan Fein., 2008).

b. Transthoracal Needle Aspiration

Apabila biopsi tumor intrabronkial tidak dapat dilakukan, misalnya karena amat mudah berdarah, atau mukosa licin berbenjol-benjol, maka sebaiknya dilakukan biopsi aspirasi jarum, karena bilasan saja sering memberikan hasil negatif. Aspirasi jarum halus ini bisa dilakukan dengan panduan USG, CT scan, atau fluoroskopi. Akurasi teknik ini adalah antara 80% hingga 95% untuk penegakan diagnosis kanker paru. Spesimen yang dihasilkan adalah bahan pemeriksaan histopatologi (Reed *et al.*, 2005; Jusuf, 2011; Tao dan Kendall, 2013).

c. Transbronchial Needle Aspiration (TBNA)

TBNA di karina, atau trakea 1/3 bawah (2 cincin di atas karina) pada posisi jam 1 bila tumor ada di kanan, akan memberikan informasi ganda, yakni didapat bahan untuk sitologi dan informasi metastasis KGB subkarina atau paratrakea (Jusuf, 2011).



d. Sitologi sputum

Sitologi sputum merupakan tindakan diagnostik yang paling mudah dan murah. Kekurangan pemeriksaan ini terjadi bila tumor ada di perifer, penderita batuk kering dan teknik pengumpulan dan pengambilan sputum yang tidak memenuhi syarat. (Jusuf., 2011). Sampel sputum dianggap memenuhi syarat pemeriksaan apabila makrofag alveolar minimal 5-150 dalam spesimen atau terdapat sel epitel bronkus. Biasanya sampel sputum ini akan diperiksa dan hanya sekitar 1% sel yang merupakan atipikal. Beberapa studi tentang sputum sitologi menyebutkan sensitivitas rerata 65% dengan kisaran 22-98%. Variabilitas yang luas ini disebabkan karena lokasi dari lesi. Lesi yang terletak di sentral seperti kanker paru karsinoma sel kecil dan *squamous-cell carcinoma* lebih mudah terdeteksi dibandingkan lesi perifer seperti pada *large cell carcinoma* dan adenokarsinoma(Khalid *et al.*, 2010).

2.5.5 Pemeriksaan Invasif

Pada kasus yang rumit terkadang tindakan invasif seperti torakoskopi, mediastinoskopi atau torakotomi eksplorasi dan biopsi paru terbuka dibutuhkan agar diagnosis dapat ditegakkan. Tindakan ini merupakan pilihan terakhir bila dari semua cara pemeriksaan yang telah dilakukan, diagnosis histologis/ patologis tidak dapat ditegakkan (Jusuf., 2011)

2.6 Penderajatan/Staging Penyakit

2.6.1 Penderajatan/Staging KPKBSK

Penderajatan KPKBSK ditentukan menurut *International Staging System For Lung Cancer* 2007, berdasarkan sistem TNM versi 7 UICC tahun 2009. Pengertian T adalah tumor yang dikategorikan atas Tx, T0 s/d T4, N untuk keterlibatan kelenjar getah bening (KGB) yang dikategorikan atas Nx, N0 s/d N3, sedangkan M adalah menunjukkan ada atau tidaknya metastasis di paru atau metastasis jauh (M0 s/d M1a, M1b) (Jusuf., 2011).



Tabel 1. Klasifikasi Stadium Tumor Paru Edisi 7 (NCCN., 2014)

5th Edition T/M Descriptor	7th Edition T/M	N0	N1	N2	N3
T1 (≤2 cm)	T1a	IA	IIA	IIIA	IIIB
T1 (<2-3 cm)	T1b	IA	IIA	IIIA	IIIB
T2 (≤5 cm)	T2a	IB	IIA	IIIA	IIIB
T2 (<5-7 cm)	T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T2 (>7 cm)	T3	IIIB	IIIA	IIIA	IIIB
T3 invasion		IIB	IIIA	IIIA	IIIB
T4 (same lobe nodules)		IIIB	IIIA	IIIA	IIIB
T4 extension	T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIB
M1 (ipsilateral lung)		IIIA	IIIA	IIIB	IIIB
T4 (pleural effusion)	M1a	IV	IV	IV	IV
M1 (contralateral lung)		IV	IV	IV	IV
M1 (distant)		IV	IV	IV	IV

2.6.2 Penderajatan/ Staging KPKSK

Pada tahun 2014, NCCN mengkombinasi TNM *staging system* dari AJCC dengan *Veterans Administration (VA) scheme* untuk KPKSK. Dulunya, mediastinum kontralateral dan limfadenopati supraklavikula ipsilateral secara umum dimasukkan sebagai *limited stage*. KPKSK yang *limited stage* (30% kasus KPKSK) meliputi stadium I-III (T any, N any, M0) yang dapat diberikan radioterapi. *Extensive stage* KPKSK (70% dari kasus KPKSK) meliputi stadium IV(T any, N any, M1a/b) atau T3-4 akibat nodul paru multipel. Definisi *limited-stage disease* dihubungkan dengan toleransi terhadap terapi radiasi. Kondisi tamponade jantung, efusi pleura ganas, dan keterlibatan parenkim paru bilateral biasanya dihubungkan dengan *extensive-stage disease*. (Minna, 2005; NCCN,2014).



Tabel 2 Penderajatan pada KPKSK (NCCN, 2014)

<p><i>Limited Stage</i></p>	<p>Tahap I-III (T any, N any, MO) yang bisa aman diobati dengan dosis radiasi definitif. <i>Excludes</i> T3-4 karena beberapa nodul paru atau volume tumor / nodul terlalu besar untuk dapat ditoleransi radiasi</p>
<p><i>Extensive Stage</i></p>	<p>Tahap IV (T any, N any, M a / b) atau T3-4 karena beberapa nodul paru atau volume tumor / nodul juga besar untuk dicakup dalam rencana radiasi yang dapat ditoleransi</p>

2.7 Mutasi Endothelial Growth Factor Receptor (EGFR)

Mutasi DNA pada EGFR yang dideteksi melalui pemeriksaan *polymerase chain reaction* (PCR) dapat terjadi pada regio intra maupun ekstraselular. Mutasi yang terjadi paling banyak adalah delesi pada exon spesifik yang menkode domain ekstraselular molekul EGFR. Mutasi yang terjadi pada regio tirosin kinase sebagian besar terjadi pada exon 19 atau sebagai mutasi poin pada exon 21. Mutasi tersebut dapat menyebabkan aktivasi jalur sinyal transduksi yang menyebabkan proliferasi sel atau anti apoptosis, mengganggu *receptor down regulation* (Bethune *et al.*, 2010)

Mutasi pada domain tirosin kinase merupakan mutasi genetik yang paling sering dijumpai pada kanker paru non perokok. Mutasi EGFR ini terjadi pada subset tertentu seperti pasien dengan histologi adenokarsinoma, tidak perokok,





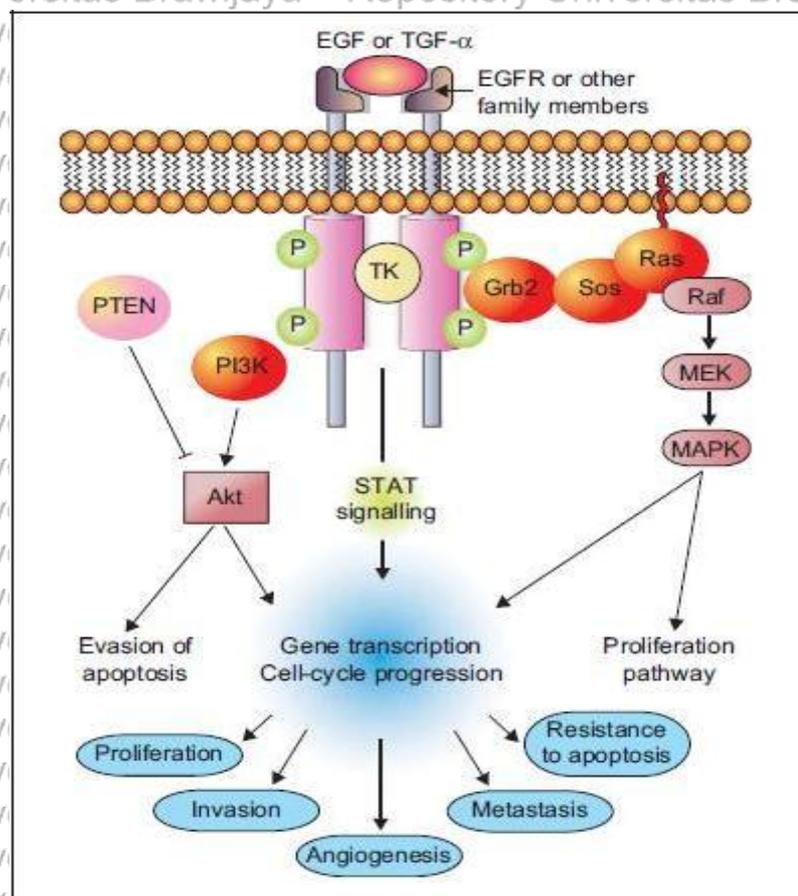
etnis asia dan jenis kelamin perempuan. Mutasi tersebut tampaknya memperkuat aktivitas tirosin kinase. Tirosin kinase adalah enzim yang membawa fosfat dari adenosine trifosfat (ATP) ke protein residu tirosin. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa mutasi somatik pada domain tirosin kinase EGFR pada adenokarsinoma paru terjadi sekitar 10% spesimen pasien di Amerika dan sekitar 30-50% pada spesimen pasien Asia (Herbst *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2011; Cheng *et al.*, 2012).

Mutasi EGFR juga dapat dideteksi pada lesi awal kelainan seperti pada hiperplasia adenomatous atipikal. Berdasarkan beberapa hasil penelitian, mutasi EGFR tampaknya terjadi pada periode awal dari patogenesis adenokarsinoma paru. Kanker paru dengan mutasi EGFR memberikan sensitivitas yang baik terhadap inhibitor EGFR-Tirosin Kinase (EGFR-TK) sebab tumor tersebut bergantung pada jalur sinyal EGFR untuk kelangsungan hidup dan proliferasinya (Herbst *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2011).

Berbagai macam ligan dapat berikatan dengan mengaktivasi EGFR, termasuk *epidermal growth factor* (EGF), *transforming growth factor* (TGF), *amphiregulin*, heparin-binding EGF dan betacellulin. EGF dan TGF dipercaya merupakan ligan yang paling penting untuk EGFR. Ligan yang berikatan dengan EGFR menyebabkan homo atau heterodimerisasi reseptor pada permukaan sel, diikuti oleh internalisasi reseptor yang terdimerisasi. Setelah berikatan dengan ligan tertentu (misalnya faktor pertumbuhan), reseptor mengalami perubahan konformational dan terjadi fosforilasi pada daerah intraselular yang akan mengaktifkan transduksi sinyal melalui berbagai jalur. EGFR penting dalam mengatur proses tumorigenik meliputi proliferasi, apoptosis, angiogenesis dan invasi. Ligan, seperti EGF, TGF- α berikatan dengan domain kinase, menyebabkan aktivasi dan transporporilasi reseptor. Membentuk tempat masuk untuk protein adaptor, Grb2 dan Sos, yang merekrut Ras dan *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K), menyebabkan pembentukan dua cabang utama jalur sinyal, *Ras/MA PK* dan *PI3K/Akt* (gambar 2.10) (Herbst *et al.*, 2004; Brambilla dan Gadzar., 2009; Bethune *et al.*, 2010; Al Olayan *et al.*, 2012).

Jalur *Ras/mitogen-activated protein kinase* dan *PI3K/Akt* adalah jalur sinyal utama yang menghubungkan aktivasi EGFR pada proliferasi sel dan kelangsungan hidup sel. Jalur ini mengatur berbagai proses biologis seperti ekspresi gen, proliferasi selular, angiogenesis dan inhibisi proses apoptosis yang

juga memberikan kontribusi terhadap perkembangan keganasan. Stimulasi pada jalur EGFR juga dapat meningkatkan motilitas sel tumor, adhesi dan metastasis sel tumor (gambar 2.10) (Herbst, 2004; Brambilla dan Gadzar, 2009).

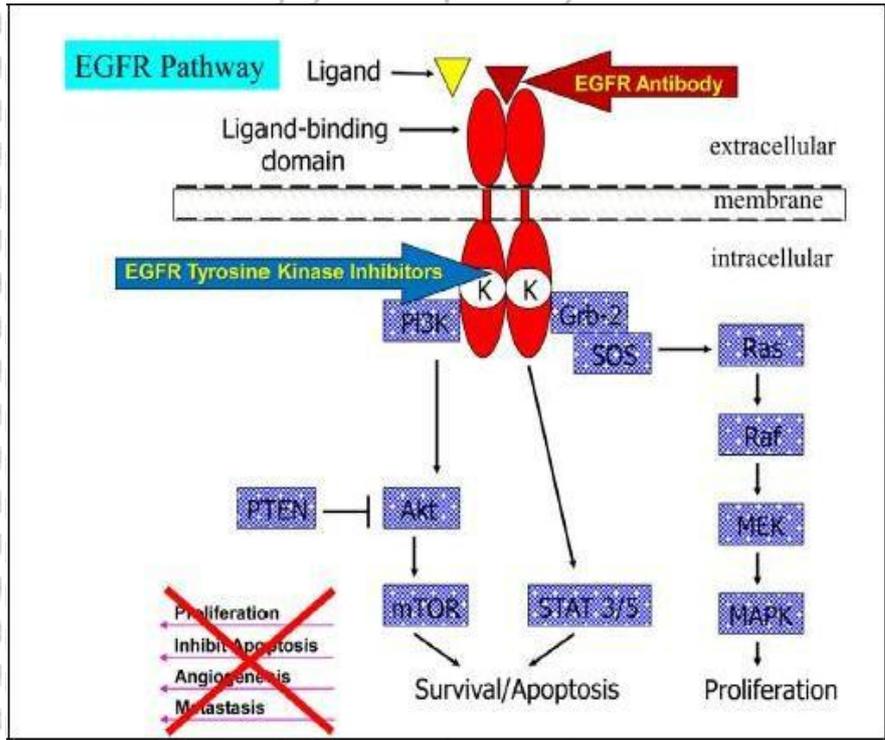


Gambar 2.10 Jalur Epidermal Growth Factor Reseptor (EGFR)
(Brambilla.,2009).

Peran penting EGFR dalam mengatur proliferasi sel, kelangsungan hidup sel dan metastasis membuat EGFR menjadi target molekular karena gangguan pada aktivitas EGFR tersebut akan mengganggu sinyal transduksi. Ekspresi berlebihan dari EGFR dapat digunakan membedakan sel tumor dari sel normal, sehingga memungkinkan inhibitor EGFR untuk bertindak selektif terhadap sel-sel



tumor dan mengurangi agresifitas proliferasi sel-sel tumor tersebut. Sebagai tambahan efek antiproliferasi, penghambatan EGFR dapat menghambat proses metastase dan meningkatkan apoptosis. (Herbst, 2004; Roengvoraphoj et al., 2013).



Gambar 2.11 Jalur Sinyal EGFR (Roengvoraphoj et al., 2013).

Terdapat beberapa cara untuk menjadikan EGFR sebagai target terapi. Strategi yang paling sering diteliti adalah dengan antibodi monoklonal (Mab) dan Tirosin Kinase Inhibitor (TKI). Kedua cara tersebut memberikan efek yang efisien dalam menghambat jalur transduksi sinyal EGFR. Antibodi monoklonal bekerja dengan memblok interaksi antara ligan dan reseptor. EGFR-TKI dapat berperan dalam penghambatan autofosforilasi EGFR, aktivasi resptor dan transduksi sinyal. (Brambilla dan Gadzar., 2009; Chen, 2013; Roengvoraphoj *et al.*, 2013).

Proses interaksi antara ligan-reseptor dan reseptor-reseptor menyebabkan aktivasi jalur intraselular yang mengatur kelangsungan hidup/apoptosis sel, aktivitas proliferaatif dan fungsi lain yang secara bersamaan meningkatkan aktivitas keganasan. Tirosin Kinase Inhibitor (TKI) berikatan dengan domain tirosin kinase inhibitor dan menghambat jalur transduksinya. Akibatnya TKI mengganggu sejumlah fungsi seluler utama yang diatur oleh reseptor EGF (gambar 2.11). Generasi pertama TKI (erlotinib dan gefitinib) dapat berikatan dengan afinitas yang tinggi terhadap domain tirosin kinase intraselular dari EGFR dan secara kompetitif menghambat ikatan adenosin-5 trifospat (ATP) (Brambilla dan Gadzar., 2009; Chen, 2013; Roengvoraphoj *et al.*, 2013).

Terdapat tiga tipe mutasi berbeda dari EGFR yang berkaitan sensitivitas terhadap EGFR-TKI, antara lain : (1) delesi pada exon 19, yang merupakan mutasi yang paling sering terjadi yaitu sekitar 46% dari semua mutasi EGFR, (2) mutasi pada exon 18, 20, atau 21, yang merupakan mutasi tersering kedua, ditemukan sekitar 41% kasus dari semua mutasi EGFR, termasuk substitusi nukleotida tunggal L858R pada exon 21, (3) duplikasi/insersi pada exon 20 (Chen, 2013; Roengvoraphoj *et al.*, 2013).

Walaupun pada awalnya pasien dengan mutasi EGFR memberikan respon yang baik terhadap terapi TKI, namun pemberian TKI yang berkepanjangan dapat menyebabkan timbulnya resistensi sekunder. Terdapat dua mekanisme utama yang mendasari terjadinya resistensi sekunder. Mekanisme pertama adalah adanya mutasi pada gen T790M yang mengganggu ikatan antara TKI dan adenosin trifospat dari tirosin kinase EGFR yang menyebabkan TKI menjadi inefektif. Mekanisme kedua yang menyebabkan resistensi EGFR-TKI sekunder adalah amplifikasi MET. Amflipikasi MET menyebabkan sinyal EGFR terus berlanjut dan mengabaikan adanya inhibitor EGFR (Cadranet *et al.*, 2011; Chen, 2013; Roengvorapho *et al.*, 2013).

2.8 Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1)

TTF-1 adalah anggota dari keluarga NKX2-1. TTF-1 diekspresikan dalam tiroid, otak depan, paru dan organ lainnya. Di paru, TTF-1 terutama ada di tipe II sel epitel alveolar dan sel epitel bronkiolus non-bersilia. Baik peningkatan substansi aktif permukaan dan wilayah



protein sekretori sel clara memiliki tempat ikatan yang dapat mempertahankan aktivitas sel kanker paru,

TTF-1 pada adenokarsinoma paru telah benar-benar dijelaskan dan dianggap sebagai penanda spesifik adenokarsinoma paru. Berghmans menemukan tingkat ekspresi TTF-1 pada adenokarsinoma paru sekitar 70-88% (Berghmans *et al.*,2006).

Faktor transkripsi adalah protein yang berinteraksi dengan DNA dekat atau di dalam lokus gen. Faktor transkripsi khusus merangsang atau menekan transkripsi gen tertentu dengan mengikat ke rangkaian pengaturannya. *Thyroid transcription factor-1* (TTF-1) adalah anggota protein nuklir 38 kDa dari keluarga NKx2 faktor transkripsi homeodomain. TTF1 pertama kali diidentifikasi sebagai aktivitas pengikatan DNA tiroid spesifik yang berinteraksi dengan gen tiroglobulin tikus. TTF1 manusia adalah polipeptida tunggal dari 371 asam amino yang dikodekan oleh lokus gen tunggal. Setelah ditemukan di sel-sel epitel folikel tiroid, TTF1 didemonstrasikan di paru dan area-area tertentu di otak. Baru-baru ini telah ditempatkan di situs lain, termasuk kelenjar pituitari, paratiroid dan parafollicular C-sel tiroid (Yatabe *et al.*,2002).

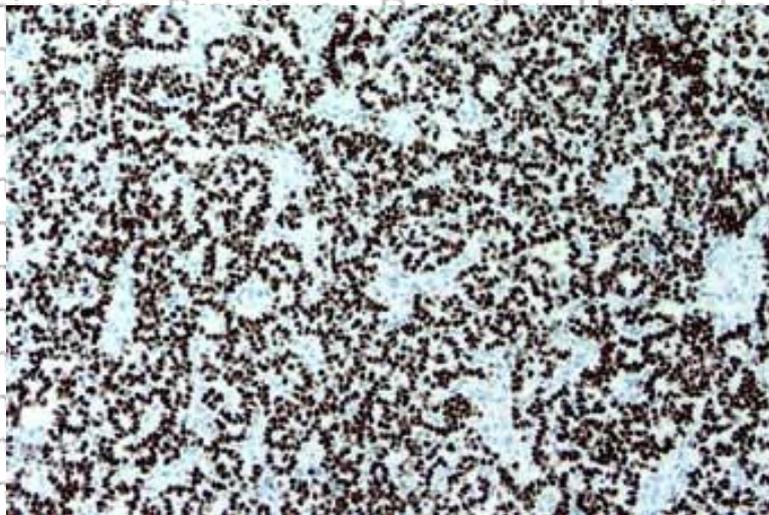
TTF1 berperan dalam mengatur gen di tiroid, paru dan otak. Target molekulernya di kelenjar tiroid adalah thyroglobulin, thyroperoxidase dan reseptor tirotropin. TTF1 mengaktifkan transkripsi gen yang mengkodekan protein ini. Di paru, TTF1 mempromosikan transkripsi protein surfaktan A ke D, dan protein sekresi sel Clara. Di otak, target molekuler TTF1 tidak diketahui. Selain menjadi promotor transkripsi jaringan spesifik di organ dewasa, TTF1 telah menyarankan peran dalam morfogenesis dan *cytodifferentiation*. Hal ini dinyatakan dalam sel-sel epitel tiroid, paru dan otak depan ventral pada embriogenesis awal. Studi eksperimental telah menunjukkan perkembangan yang cacat setelah memblokir ekspresi gen TTF1. Ada kemungkinan bahwa beberapa kelainan kongenital tiroid, paru dan otak disebabkan oleh ekspresi TTF1 yang abnormal. Setelah lahir, dan pada organisme dewasa yang normal, ekspresi TTF1 terbatas pada sel epitel folikel dan sel-C di tiroid, dan sel pneumosit tipe II dan sel Clara di paru (Yatabe *et al.*,2002).

Di antara neoplasma tiroid, TTF1 terlihat di hampir semua tumor derivasi folikel, yaitu adenoma folikular dan karsinoma folikular dan papiler. Juga karsinoma meduler yang berasal sel C positif untuk *immunoreactivity* TTF1 di hampir semua kasus (frekuensi yang lebih rendah dalam beberapa penelitian mungkin karena penyebab teknis). Sebagian besar karsinoma tiroid anaplastik telah dilaporkan negatif. Di antara neoplasma paru, TTF1 secara luas diekspresikan pada adenokarsinoma paru, frekuensi tumor positif adalah 60-85%, tergantung pada klon yang digunakan. Positivitas untuk TTF1 umumnya tidak berhubungan dengan sub tipe, karena neoplasma dengan morfologi acinar, papilari dan bronchiolo-



alveolar telah dilaporkan mengekspresikan TTF1. Namun, adenokarsinoma penghasil musin, termasuk karsinoma bronkiolo-alveolar musinum, seringkali TTF1 negatif. Adenokarsinoma ekstrapulmoner sangat jarang mengekspresikan TTF1 (sekitar 1%) (Yatabe *et al.*,2002).

TTF1 berguna sebagai penanda untuk adenokarsinoma paru dan keganasan neuroendokrin pulmonal, termasuk karsinoma paru sel kecil dan dapat digunakan untuk membedakan adenokarsinoma paru primer dari metastasis asal ekstrapulmoner. Penggunaan *immunostaining* TTF1 adalah tambahan yang berharga dalam diagnosis banding keganasan pleura. Mesothelioma ganas tidak mengekspresikan TTF1 sedangkan adenokarsinoma pulmonal perifer biasanya positif, namun penanda mesothelioma lainnya, tentu saja, diperlukan untuk memperkuat diagnosis. Demikian pula, adenokarsinoma paru tumbuh atau bemetastasis ke pleura berbeda dari metastasis adenokarsinoma ekstrapulmoner (pengecualian: kasus langka karsinoma tiroid metastatik) atas dasar positifitas TTF1 (Yatabe *et al.*,2002).

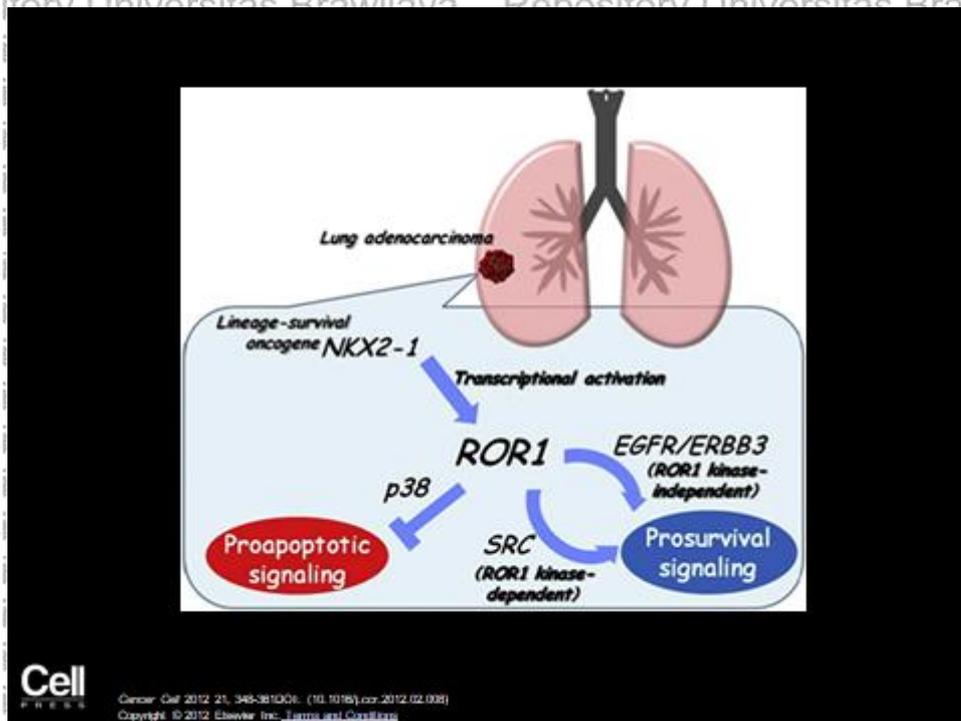


Gambar 2.12 Ekspresi positif TTF-1 pada sel adenokarsinoma

2.9 Hubungan antara ekspresi TTF-1 dan mutasi EGFR

Tomoya Yamaguchi, dkk mengidentifikasi NKX2-1, juga dikenal sebagai TTF1 dan TTF-1, sebagai onkogen kelangsungan hidup keturunan pada adenokarsinoma paru. Dijelaskan bahwa NKX2-1 menginduksi ekspresi reseptor tirosin kinase seperti reseptor orphan

1 (ROR1), yang pada gilirannya menopang keseimbangan yang menguntungkan antara prosurvival PI3K-AKT dan pensinyalan pro-apoptosis p38, sebagian melalui aktivasi c-Src dependen ROR1, serta kinase pendukung aktivitas independen dari asosiasi EGFR-ERBB3, ERBB3 fosforilasi, dan konsekuensial Aktivasi PI3K. Khususnya, ROR1 knockdown secara efektif menghambat jalur sel adenokarsinoma paru, terlepas dari status EGFR mereka, termasuk mereka yang resistan terhadap EGFR tyrosine kinase inhibitor gefitinib. Temuan ini mengidentifikasi ROR1 sebagai strategi terapeutik untuk kanker pada masa depan pada adenokarsinoma paru (Yamaguchi *et al.*, 2012).



Gambar 2.13 Hubungan TTF-1 dan Mutasi EGFR

2.10 Penatalaksanaan

Pengobatan kanker paru adalah dengan *combined modality therapy* (multi-modalitas terapi).

Tujuan pengobatan kanker paru adalah (Simmonds., 2009):

- Kuratif: menyembuhkan, memperpanjang masa bebas penyakit dan meningkatkan angka harapan hidup pasien.
- Paliatif: mengurangi dampak kanker, meningkatkan kualitas hidup.
- Rawat rumah (*Hospice care*) pada kasus terminal: mengurangi dampak fisik maupun

psikologis kanker pada pasien maupun keluarga.

- d. Suportif: menunjang pengobatan kuratif, paliatif dan terminal seperti pemberian nutrisi, transfusi darah dan komponen darah, obat anti nyeri, dan obat anti infeksi.

2.10.1 Pembedahan

Reseksi diindikasikan pada pasien KPKBSK dengan stadium dini (I, II, *selected* IIIA), dimana kemoterapi dan radiasi digunakan pada stadium yang lebih lanjut. Pembedahan utama adalah dengan melakukan *anatomic lobectomy* dengan diseksi komplit dari limfonodi mediastinum, dengan mempertimbangkan pasien dapat mentoleransi tindakan ini.

Segmentektomi hanya dikerjakan jika faal paru tidak cukup untuk lobektomi. Pembedahan juga merupakan bagian dari *combined modality therapy*, misalnya didahului kemoterapi neoadjuvan untuk KPKBSK stage IIIA. Indikasi bedah paliatif dilakukan bila ada kegawatan yang memerlukan intervensi bedah, seperti kanker paru dengan sindrom vena kava superior berat (Korst, 2008; Jusuf *et al.*, 2011).

Peranan pembedahan pada KPKSK masih kontroversi. Saat ini peranan pembedahan pada manajemen KPKSK dapat dikategorikan sebagai berikut: (Asamura dan Riken., 2008) :

Pembedahan primer.

Pembedahan primer yang diikuti kemoterapi adjuvant sistemik.

Kemoterapi atau kemoradioterapi induksi/ neoadjuvant yang diikuti pembedahan.

Pembedahan penyelamatan setelah kemoradioterapi definitif.

Prinsip pembedahan pada KPKSK: (NCCN., 2014)

KPKSK yang terdiagnosis pada stadium I < 5%.

Pasien dengan stadium > T1-2, N0 tidak mempunyai keuntungan jika dioperasi.

Pasien KPKSK pada stadium T1-2, N0 setelah menjalani evaluasi staging dipertimbangkan menjalani reseksi:

- Sebelum reseksi, seluruh pasien dilakukan mediastinoskopi atau staging mediastinum yang lain.

- Pasien yang menjalani reseksi komplit juga harus menjalani kemoterapi post operasi.

Pembedahan harus dilakukan dengan teliti untuk meyakinkan telah dilakukan reseksi komplit. Perkembangan saat ini dalam perawatan pasien kanker yang operabel juga meliputi kemoterapi adjuvant pada pasien stadium II dan III yang telah dilakukan reseksi komplit.

(Korst., 2008).

Kita juga harus mengetahui toleransi penderita terhadap jenis tindakan bedah yang

akan dilakukan. Toleransi penderita yang akan dibedah dapat diukur dengan nilai uji faal paru dan jika tidak memungkinkan dapat dinilai dari hasil analisis gas darah (Jusuf., 2011).

- Risiko ringan untuk pneumonektomi, bila KVP paru kontralateral baik dan VEP1 > 60%.
- Risiko sedang untuk pneumonektomi, bila KVP paru kontralateral \geq 35% dan VEP1 > 60%.

2.10.2 Radioterapi

Peranan radioterapi terbatas pada pasien dengan stadium dini dan merupakan terapi terbaik bagi pasien yang secara medis tidak bisa atau menolak dilakukan pembedahan. Radioterapi pada kanker paru dapat bersifat kuratif atau paliatif. Pada terapi kuratif, radioterapi menjadi bagian dari kemoradioterapi neoadjuvant untuk KPKBSK stage IIIA. Radiasi sering merupakan tindakan darurat yang harus dilakukan untuk meringankan keluhan penderita, seperti sindrom vena kava superior, nyeri tulang akibat invasi tumor ke dinding dada dan metastasis tumor di tulang atau otak. Bisa juga diberikan pada pasien yang menjalani reseksi yang tidak komplis sebagai terapi adjuvant. Dosis radiasi yang diberikan secara umum adalah 5000-6000 cGy, dengan cara pemberian 200 cGy/x 5 hari perminggu (Wendland dan William., 2008; Jusuf., 2011).

Radioterapi memegang peranan penting dalam terapi KPKSK. Penyinaran dada konkuren dengan penggunaan kemoterapi berbasis platinum saat ini telah dipertimbangkan sebagai terapi standar pada KPKSK *limited stage*. Dosis yang dipakai 50 Gy (rata-rata 10 Gy/ minggu). Sebagai terapi paliatif penggunaannya mirip pada KPKBSK. Secara umum, menggunakan regimen 37,5 Gy dalam 15 fraksi, 30 Gy dengan 10 fraksi, 20 Gy dengan 5 fraksi, atau tunggal dengan 8-10 Gy. (Lee dan William., 2008; Jusuf., 2011).

Pemberian radioterapi sampai dosis penuh sebelum pemberian kemoterapi atau setelah siklus kemoterapi selesai (4-6 siklus) diberikan disebut radioterapi sekuensial. Pada pemberian radioterapi dilakukan bergantian di antara siklus kemoterapi disebut radioterapi alternating. Hasil yang baik tetapi terkadang disertai efek samping yang tinggi adalah pemberian radioterapi konkuren yaitu pemberian radioterapi bersamaan dengan pemberian kemoterapi yang mengandung sifat sebagai radiosensitizer, seperti sisplatin, karboplatin, golongan paklitaksel, dosetaksel dan gemsitabin (Jusuf., 2011).

Bagaimanapun yang perlu diingat adalah bahwa terapi dengan kombinasi berbagai modalitas terapi akan meningkatkan *survival rate* dibandingkan jika hanya dilakukan terapi tunggal (seperti hanya diradiasi). (Wendland dan William., 2008).





2.10.3 Kemoterapi

Kemoterapi dapat diberikan pada semua kasus kanker paru. Syarat utama harus ditentukan jenis histologis tumor dan tampilan harus lebih dari 60 menurut skala Karnofsky atau 2 menurut skala WHO. Kemoterapi dilakukan dengan menggunakan beberapa obat antikanker dalam kombinasi regimen kemoterapi. Pada keadaan tertentu seperti usia sangat tua atau tampilan > 2 skala WHO, penggunaan 1 jenis obat antikanker dapat dilakukan. (Jusuf., 2011).

Prinsip pemilihan jenis antikanker dan pemberian sebuah regimen kemoterapi adalah: (Margono dan Isnu., 2005; Jusuf., 2011).

- *Platinum based therapy* (sisplatin atau karboplatin)
- Respon obyektif satu obat antikanker $\geq 15\%$
- Toksisitas obat tidak melebihi grade 3 skala WHO

- Harus dihentikan atau diganti bila setelah pemberian 3 siklus pada penilaian terjadi progresifitas tumor.

KPKSK ditandai dengan sifatnya yang memiliki *double time* yang cepat, fraksi tumbuh yang tinggi, dan metastase yang luas pada fase dini. KPKSK sangat sensitif terhadap kemoterapi dan radioterapi. Pada pasien dengan *limited stage*, tujuan utama dari terapi adalah menggunakan kemoterapi ditambah dengan radioterapi dada. Pada *extensive stage* kemoterapi bisa berperan sebagai terapi paliatif dan memperpanjang *survival* pada kebanyakan pasien (NCCN., 2014).

Evaluasi yang dilakukan setelah pemberian kemoterapi antara lain : (1) Respon subyektif yaitu penurunan keluhan klinik, (2) Respon semisubyektif yaitu perbaikan tampilan, bertambahnya berat badan, (3) Respon obyektif, (4) Efek samping obat. (Margono dan Isnu., 2005; Jusuf., 2011).

Penderita yang tidak respon setelah pemberian kemoterapi 2 siklus atau progresif dalam masa evaluasi setelah selesai kemoterapi 4 siklus dapat diberikan terapi kemoterapi lini kedua, antara lain dosetaksel, pemetrexed, erlotinib, gefitinib (Jusuf., 2011).

2.10.4 Terapi Target

Terapi target adalah jenis obat yang menghambat pertumbuhan kanker dengan mengganggu molekul target spesifik yang diperlukan untuk pembentukan dan pertumbuhan tumor. Obat ini tidak hanya mengganggu sel-sel yang membelah dengan cepat seperti pada kemoterapi. Terapi target kanker mungkin lebih efektif daripada pengobatan saat ini dan kurang memberikan efek berbahaya pada sel-sel normal. Kategori utama terapi target

adalah molekul kecil dan antibodi monoklonal. Terapi target yang telah dikembangkan saat ini antara lain, (1) Terapi yang menargetkan atau bekerja sepanjang jalur tumorigenesis, yaitu EGFR-TKI (gefitinib, erlotinib dan cetuximab), (2) Terapi yang menargetkan pada angiogenesis dan proliferasi sel *antivascular endothelial growth factor*(VEGF), (3) kombinasi antara 1 dan 2, (4) Rexinoid agonist, (5) Penghambatan proteasome, (6) target apoptosis, (7) Cox-2 inhibitor, (8) vaksin (Behera., 2007; De dan Bala., 2011).

Sebagai penyebab utama kematian kanker diseluruh dunia, 50-80% KPKBSK dikaitkan dengan ekspresi berlebihan dari EGFR. Mengingat tingginya presentase KPKBSK yang didiagnosa pada stadium lanjut maka penghambatan EGFR sendiri atau kombinasi dengan lainnya menjadi strategi yang menarik dan dikembangkan akhir-akhir ini. Ikatan ligan dan EGFR menyebabkan dimerisasi reseptor, yang akan mengaktifkan domain tirosin kinase intraselular, yang kemudian akan mengaktifkan kaskade jaringan intraselular dan selanjutnya menyebabkan proliferasi sel, penghambatan apoptosis, angiogenesis dan invasi, sehingga terjadi pertumbuhan tumor dan penyebaran (De., 2011; Chi., 2013).

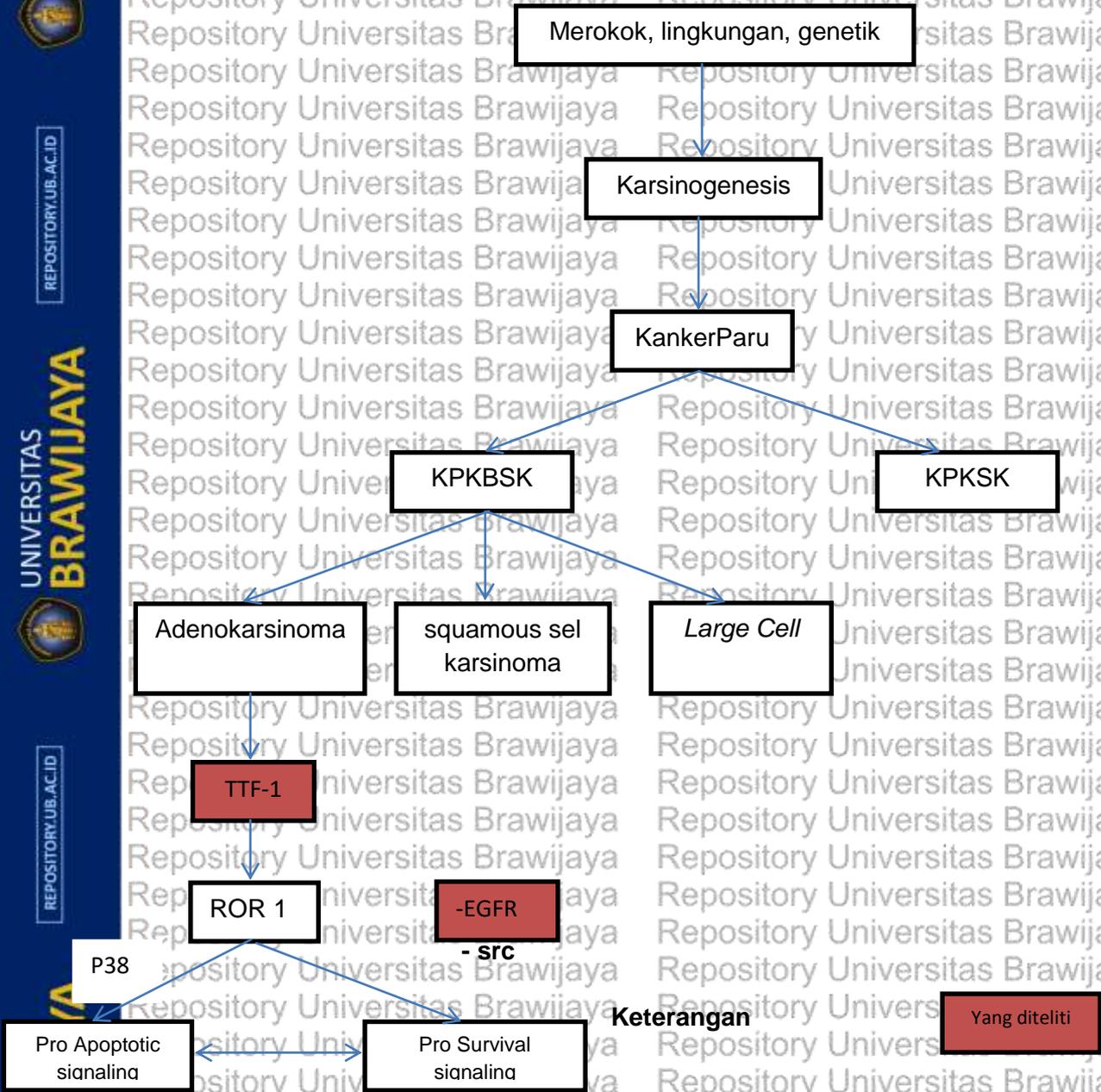
Terdapat dua tipe utama EGFR inhibitor yang tersedia, yaitu : (1) Antibodi monoklonal (Mab) (2) EGFR – TKI intraselular. Molekul kecil tirosin kinase inhibitor (TKI) merupakan salah satu agen terapi target EGFR. TKI diberikan secara oral dan memiliki onset aksi yang cepat. Molekul TKI akan berikatan dengan domain tirosin kinase intraselular bersaing dengan ATP dan menghambat autofosforilasi reseptor dan menurunkan proliferasi (Behera., 2007; Jett., 2013).



BAB 3

KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan

Yang diteliti

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

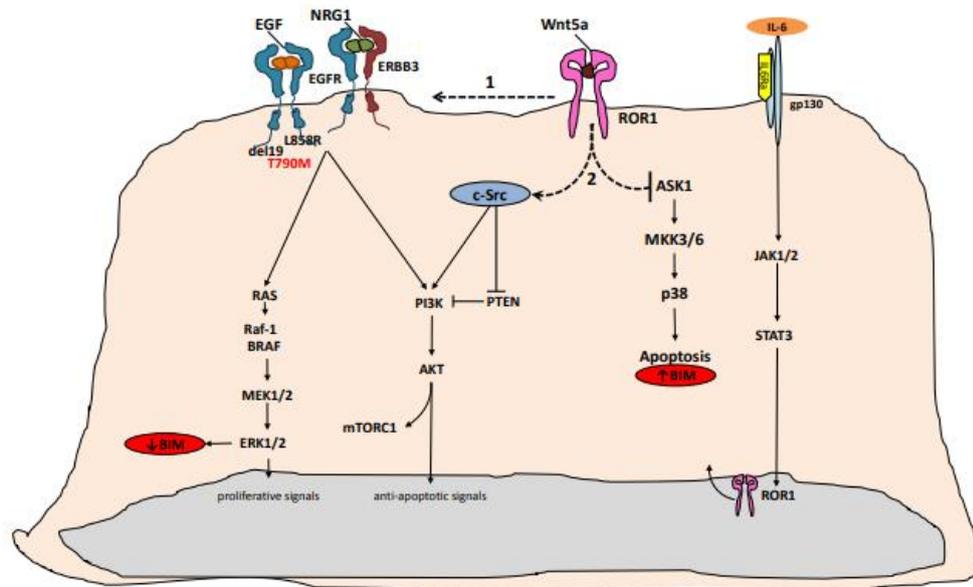


Perkembangan kanker paru dipengaruhi oleh berbagai macam faktor. Faktor yang saat ini dipercaya memberikan kontribusi antara lain adalah kebiasaan merokok, faktor lingkungan (polusi udara), faktor risiko terkait pekerjaan, paparan radon dan virus. Selain itu terdapat pula faktor genetik yang juga dapat berperan dalam perkembangan kanker paru (Haugen *et al.*,2008; Kern *et al.*,2008).

Kanker paru diklasifikasikan menjadi Kanker Paru Karsinoma Sel Kecil (KPKSK) dan Kanker Paru Karsinoma Bukan Sel kecil (KPKBSK). KPKBSK merupakan 80% dari semua kanker paru. Subkategori dari KPKBSK antara lain adenokarsinoma (70%), *squamous-cell carcinoma* (20%) dan *large-cell carcinoma* (10%) dengan adenokarsinoma sebagai jenis histologi yang paling sering dijumpai (Jusuf *et al.*,2011)

Tomoya Yamaguchi, dkk mengidentifikasi NKX2-1, juga dikenal sebagai TTF1 dan TTF-1, sebagai onkogen kelangsungan hidup keturunan pada adenokarsinoma paru. Dijelaskan bahwa NKX2-1 menginduksi ekspresi tirosin kinase like reseptor orphan 1 (ROR1), yang pada gilirannya menopang keseimbangan yang menguntungkan antara prosurvival PI3K-AKT dan pensinyalan pro-apoptosis p38, sebagian melalui aktivasi c-Src dependen ROR1, serta kinase pendukung aktivitas independen dari asosiasi EGFR-ERBB3, ERBB3 fosforilasi, dan konsekuensial Aktivasi PI3K (Yamaguchi *et al.*,2012).

KERANGKA TEORI



Gambar Kerangka teori

ROR1, suatu protein membran tipe-I yang evolusioner, dinyatakan oleh berbagai kanker yang berbeda tetapi tidak oleh jaringan postpartum normal. Zhang et al mampu mendeteksi ekspresi ROR1 di limfoma tetapi juga di sel kanker ovarium, usus besar, paru-paru, pankreas dan prostat. Sel-sel kanker yang dibedakan dengan buruk dengan *high-grade histology* lebih mungkin mengekspresikan ROR1 daripada tumor dengan *low-grade histology*. Ada juga hubungan yang signifikan antara ekspresi ROR1 dan aktivasi PI3K-AKT dalam garis sel kanker atau jaringan tumor primer. Dua penelitian terbaru menunjukkan garis keturunan sel hubungan antara mutasi EGFR dan homeodomain faktor transkripsi TTF-1. Secara fungsional, TTF-1 induksi ROR-1 diperlukan untuk mempertahankan pensinyalan jalur EGFR di jalur sel adenokarsinoma paru. ROR1, melalui kinase-dependent dan -independent yang berbeda mekanisme, mempertahankan keseimbangan yang menguntungkan antara PI3K/AKT-dimediasi prosurvival signaling dan pro-apoptosis jalur p38. ROR1 menekan proapoptotik p38 signaling, mengikat EGFR dalam menanggapi EGF dan lead



untuk aktivasi jalur PI3K-AKT dengan mempromosikan aktivasi ERBB3 oleh EGFR dan oleh fosforilasi c-Src. ROR1 secara fisik berinteraksi dengan dan memfosforilasi c-Src, komponen penting dari beberapa jalur pensinyalan penting untuk perkembangan kanker. Regulasi PTEN negatif dari pensinyalan PI3K-AKT tampaknya, setidaknya sebagian, di bawah pengaruh ekspresi ROR1, sebuah temuan konsisten dengan laporan sebelumnya pada PTEN sebagai c-Src Substrat. Represi ROR1 menghambat adenokarsinoma paru terlepas dari status EGFR.

Akumulasi bukti menunjukkan bahwa NKX2-1, faktor transkripsi spesifik dengan peran penting dalam perkembangan paru perifer (Maeda *et al.*, 2007), dinyatakan dalam sebagian besar dari adenokarsinoma paru (Yatabe *et al.*, 2002). Meskipun studi sebelumnya menunjukkan kebutuhan berkelanjutan ekspresi NKX2-1 untuk kelangsungan hidup adenokarsinoma paru (Kendall *et al.*, 2007; Kwei *et al.*, 2008; Tanaka *et al.*, 2007; Weir *et al.*, 2007), mekanisme yang digunakan oleh NKX2-1, sinyal bertahan hidup tetap sulit dipahami. Penelitian ini jelas menunjukkan bahwa ROR1 adalah target transkripsi langsung NKX2-1 dan sangat penting terlibat dalam mempertahankan keseimbangan yang menguntungkan antara prosurvival PI3K-AKT signaling dan pro-apoptosis jalur p38. Penelitian sebelumnya mengungkapkan asosiasi signifikan ekspresi NKX2-1 dengan mutasi EGFR pada adenokarsinoma paru (Takeuchi *et al.*, 2006; Yatabe *et al.*, 2005), menunjukkan hubungan fungsional potensial. Dalam hal ini, temuan ini menunjukkan bahwa NKX2-1 dan EGFR secara fungsional dapat saling terkait satu sama lain. Induksi ROR1 yang diperantarai NKX2-1 pada sel adenokarsinoma paru, yang mungkin berkontribusi pada pengembangan adenokarsinoma paru dengan hasil saat ini juga menunjukkan bahwa ROR1 mempekerjakan mekanisme yang bergantung pada kinase-dependen dan-independen yang berbeda dalam mempertahankan keseimbangan yang menguntungkan antara prosurvival termediasi PI3K-AKT signaling dan jalur p38 pro-apoptosis (Yamaguchi *et al.*, 2012).

ROR1 memainkan peran independen dari aktivitas kinase dalam keberlangsungan EGF-induced signaling dari EGFR-ERBB3-PI3K aksis, yang terkenal memainkan peran penting dalam adenokarsinoma paru. Menariknya, perawatan EGF memunculkan fosforilasi kuat dari kedua EGFR pada Y1068 dan ERK, bahkan dalam sel-sel yang diremukkan untuk ROR1. Temuan ini



menunjukkan bahwa interaksi ROR1 dengan EGFR secara selektif diperlukan untuk kelestarian sinyal di sepanjang sumbu EGFR-ERBB3-PI3K melalui heterodimerisasi EGFR-ERBB3 dan resultan ERBB3 fosforilasi tetapi tidak untuk sinyal menuju jalur ERK melalui autofosforilasi dan homodimerisasi EGFR.

Diperkirakan bahwa studi masa depan memerinci resolusi tinggi struktur reseptor ini yang akan memberikan wawasan tentang bagaimana ROR1 berpartisipasi dalam proses ini dengan kekhususan seperti itu (Yamaguchi *et al.*, 2012).

ROR1 secara fisik berinteraksi dengan dan memfosforilasi c-Src, yang merupakan komponen penting dari beberapa jalur pensinyalan penting untuk perkembangan kanker (Yeatman, 2004). Selain itu, PTEN negatif regulasi Sinyal PI3K-AKT tampaknya, setidaknya sebagian, di bawah pengaruh ekspresi ROR1, sebuah temuan yang konsisten dengan sebelumnya melaporkan PTEN sebagai substrat c-Src (Lu *et al.*, 2003; Nagata *et al.*, 2004). Juga menarik untuk dicatat bahwa c-Src-mediated fosforilasi tirosin telah diusulkan untuk memicu T308 dan fosforilasi S473 oleh PDK1 dan mTORC2, masing-masing, mengarah ke aktivasi AKT (Bellacosa *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2001; Jiang dan Qiu, 2003) dan memberikan dukungan untuk gagasan bahwa aktivasi c-Src yang dimediasi oleh ROR1 mungkin juga terlibat dalam proses prasyarat ini untuk aktivasi AKT yang kuat dalam sel adenokarsinoma paru. Dengan demikian, ROR1 muncul untuk dimainkan peran independen dari aktivitas kinase dalam mempertahankan EGFinduced signaling melalui sumbu EGFR-ERBB3-PI3K, yang lebih lanjut ditegakkan oleh ROR1 hilir melalui kinasedependennya aktivasi c-Src. Mungkin juga ada menjadi substrat tambahan dari ROR1, seperti umumnya terjadi pada reseptor *tyrosine kinase signaling* (Yamaguchi *et al.*, 2012).

Secara bersama-sama, temuan ini mengidentifikasi ROR1 sebagai suatu "Achilles Heel" pada adenokarsinoma paru. Mekanisme, seperti itu sebagai mutasi EGFR sekunder, amplifikasi MET, dan overekspresi HGF, mungkin timbul pada adenokarsinoma paru pada pasien menjalani pengobatan EGFR-TKI, yang mengarah ke resistensi terhadap pengobatan oleh tumor. Adanya mekanisme yang beragam seperti itu membuatnya sulit untuk memprediksi mana yang harus ditargetkan untuk mencegah perluasan klon yang tahan (Bean *et al.*, 2007; Engelman *et al.*, 2007; Turke *et al.*, 2010; Yano *et al.*, 2008). Dari sudut pandang klinis, menghambat ROR1 tampaknya efektif untuk pengobatan adenokarsinoma paru yang resisten gefitinib (Yamaguchi *et al.*, 2012).



3.2 Hipotesis Penelitian

Ekspresi TTF-1 dan mutasi EGFR positif berhubungan pada pasien adenokarsinoma paru



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *deskriptif analitik*. Peneliti akan melakukan pemeriksaan pada bahan biologi tersimpan pasien adenokarsinoma Paru di laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr.Saiful Anwar Malang. Pendekatan yang dilakukan pada penelitian ini adalah *crosssectional* untuk mengetahui hubungan antara ekspresi TTF-1 dan mutasi EGFR. Hubungan antara ekspresi TTF-1 dan mutasi EGFR diuji dengan Chi square. Analisis uji diagnostik dilakukan untuk mendapatkan sensitifitas, spesifisitas, akurasi, nilai prediksi positif dan nilai prediksi negatif dari ekspresi TTF-1 terhadap mutasi EGFR pada pasien adenokarsinoma paru di RSUD dr.Saiful Anwar Malang.

4.2 Subjek Penelitian dan Besar Sampel

Sampel adalah pasien adenokarsinoma paru yaitu tumor epitel maligna dengan diferensiasi kelenjar, produksi musin, atau ekspresi penanda pneumosit, yang telah menjalani pemeriksaan mutasi EGFR di poli rawat jalan paru atau bagian rawat inap RSUD dr.Saiful Anwar Malang periode tahun 2013 sampai dengan pertengahan tahun 2018.



4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di bagian rawat inap dan rawat jalan SMF Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi dan di laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr.Saiful Anwar Malang serta di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Februari 2018 – September 2018

Tabel 3 Rencana waktu penelitian

No	Uraian	Rencana waktu penelitian							
		Feb'18	Mar'18	Apr'18	Mei'18	Jun'18	Jul'18	Agu'18	Sep'18
1	Pembuatan proposal								
2	Pengambilan data								
3	Pengolahan dan analisis data								
4	Penyusunan laporan								

4.4 Variabel Penelitian

1. Ekspresi TTF-1
2. Mutasi EGFR



4.5 Definisi Operasional dan Parameter

No.	Variabel	Definisi Operasional	Instrumen	Skala
1.	Mutasi EGFR positif	Penderita adenokarsinoma paru yang mengalami perubahan pada gen berupa mutasi, insersi dan delesi exon	Metode PCR	Nominal
2.	Ekspresi TTF-1	Diagnosis patologis dianggap pasti jika TTF-1 terletak di nukleus; ini diindikasikan oleh partikel cokelat atau cokelat di nukleus. Pada pembesaran tinggi 10 pandangan yang berbeda dipilih; untuk setiap pandangan, 100 sel tumor dihitung. Sampel dianggap negatif untuk ekspresi TTF-1 jika 0-10 % sel tumor positif diamati, Partial positif jika 10-50 % sel tumor positif diamati, dan	Metode pewarnaan Imunohistokimia	Nominal



positif (+) jika lebih
dari 50 % sel tumor
positif diamati

Kriteria Inklusi:

1. Bahan biologi tersimpan pasien yang didiagnosis kanker paru karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK) jenis adenokarsinoma dengan cara pemeriksaan patologi anatomi
2. Bahan biologi tersimpan pasien adenokarsinoma paru yang belum pernah menerima pengobatan antikanker
3. Bahan biologi tersimpan pasien adenokarsinoma paru usia > 18 tahun
4. Bahan biologi tersimpan pasien adenokarsinoma paru yang diperiksa EGFR yang berasal dari bahan jaringan Histopatologi dan biopsi (FOB) dalam bentuk blok parafin

Kriteria Eksklusi:

1. Bila didapatkan dua kanker di tempat yang berbeda selain di Paru
2. Bahan biologi tersimpan pasien adenokarsinoma paru yang diperiksa EGFR yang berasal dari bahan jaringan Histopatologi dan biopsi (FOB) dalam bentuk blok parafin namun tidak didapatkan sel ganas



4.6 Cara Pemeriksaan mutasi EGFR

DNA genom diisolasi dari tumor menggunakan kit Micro DNA QIAamp (Qiagen, Hilden, Jerman) mengikuti protokol pabrik. DNA dari setiap sampel dielusi dalam 50 μ L buffer AE (termasuk dalam kit).

Skrining mutasi EGFR exon 19 dan 21 dilakukan menggunakan analisis PCR-HRM (*Polymerase Chain Reaction – High Resolution Melt*). Analisis PCR-HRM dilakukan pada Rotor-Gene Q (Qiagen) menggunakan pewarna interskasi SYTO9 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Sampel didenaturasi dengan penahanan awal sebesar 95 ° C selama 30 detik dan profil peleburan dari 79 ° C hingga 90 ° C meningkat pada 0,2 ° C. Data HRM disajikan sebagai grafik derivatif untuk mengamati "split peak" yang menunjukkan adanya alel bermutasi (Gambar 4.1) menggunakan perangkat lunak Rotor-Gene Q (Qiagen). Pola puncak perpecahan diamati dalam persentase rendah alel mutan, yaitu, kurang dari 25%, persentase yang biasanya tidak dapat terdeteksi menggunakan metode *Direct Sequencing*. Metode PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*) kemudian digunakan untuk menindaklanjuti dugaan mutasi yang disarankan dengan adanya pola "split peak". Genotyping EGFR L858R dan mutasi hotspot L861Q di exon 21 dilakukan menggunakan PCR-RFLP yang telah terbukti mendeteksi 1% alel mutan.

Mutasi pada EGFR exon 18 (yaitu untuk mendeteksi G719X) dan 20 (T790M dan insersi) dianalisis menggunakan *Sanger Sequencing*. Beberapa sampel yang membawa mutasi pada ekson 20 T790M diuji ulang menggunakan kit EGFR RGQ Therascreen RGQ (Qiagen, Manchester, UK) dan / atau AmoyDx Deteksi mutasi EGFR 29 kit (AmoyDx, Xiamen, China), sesuai dengan instruksi pabrik. (Syahrudin et al.,2018)



8. Antigen retrieval rendam dalam larutan DIVA, panaskan dalam Decloaking Chamber
9. Dinginkan dalam suhu ruangan 20 s/d 30 menit (bilas dengan aquades)
10. Rendam dengan Phospat Buffer Salin (PBS) 2-5 menit
11. Letakkan slide dalam moisture chamber dan beri pembatas pada sekeliling sediaan dengan pap pen. Teteskan background sniper 10-15 menit
12. Teteskan primary antibodi, inkubasi 10 menit
13. Cuci tangan PBS 2-5 menit
14. Teteskan secondary antibodi, inkubasi 10 menit
15. Cuci dengan PBS 2-5 menit
16. Teteskan Trekavidin-Hrp Label, inkubasi 10 menit
17. Cuci dengan PBS 2-5 menit
18. Teteskan DAB inkubasi 2-4 menit (1 ml Betazoid Dab Substrate Buffer tambah 1-2 tetes DAB Chromogen)
19. Cuci dengan air mengalir 5-7 menit
20. Counterstain dengan mayers haematoxilin 2 s/d 3 menit (rendam dalam litium Carbonat jenuh 2-3 menit)
21. Cuci dengan air mengalir 5-7 menit
22. Dehidrasi dengan alokohol 80%, 96%, alkohol absolute sampai dengan xylol I,II,III masing-masing 3 menit
23. Mounting dengan entelan
(SPO Pemeriksaan Imunohistokimia Instalasi Patologi Anatomi RSSA, 20 Februari 2015)

4.8 Teknik Pengumpulan Data

Cara pengambilan sampel : Sampel diperoleh dari bahan biologi tersimpan penderita yang memenuhi kriteria inklusi di bagian rawat inap dan rawat jalan SMF Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi RSUD dr.Saiful Anwar Malang. Data akan diambil dari data pasien adenokarsinoma paru yang telah menjalani pemeriksaan mutasi EGFR sebelum terapi.



4.9 Teknik Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan dan Analisis Data menggunakan software IBM SPSS versi 20.0. Hubungan antara mutasi gen EGFR dan TTF-1 diuji dengan uji chi square dengan derajat kepercayaan 95%, $\alpha = 0.05$. Hasil dinyatakan bermakna jika $p < 0.05$.
2. Hasil uji diagnostik dinyatakan dalam tabel 2x2 kemudian dihitung sensitivitas, spesifisitas, akurasi, nilai prediksi positif dan nilai prediksi negatif.

Cara menentukan :

$$\text{Sensitivitas} = \frac{A}{A + C} \times 100\%$$

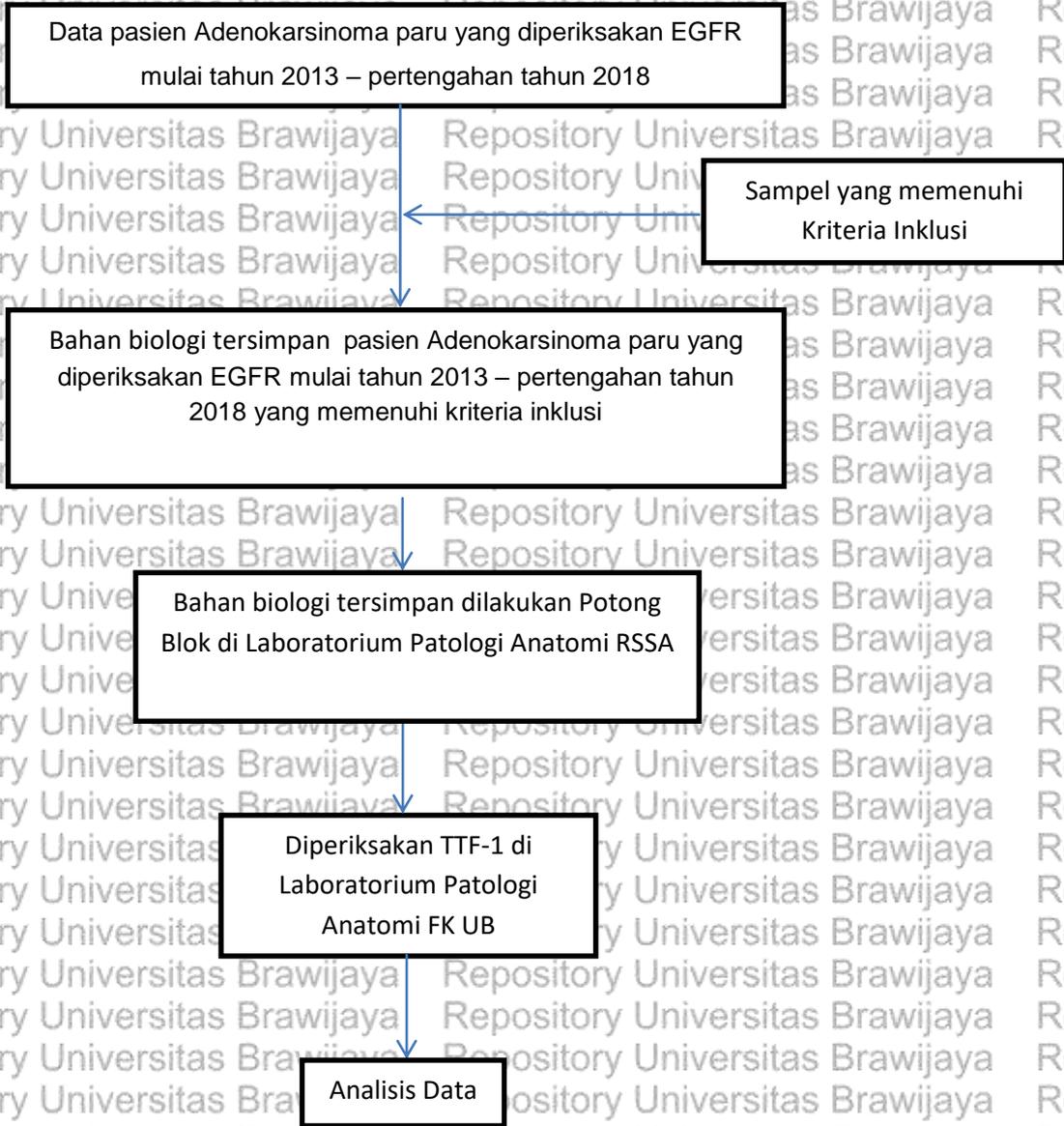
$$\text{Spesifisitas} = \frac{D}{B + D} \times 100\%$$

$$\text{Akurasi} = \frac{\text{Sensitivitas} + \text{Spesifisitas}}{2} \times 100\%$$

$$\text{Nilai Prediksi Positif} = \frac{A}{A + B} \times 100\%$$

$$\text{Nilai Prediksi Negatif} = \frac{D}{C + D} \times 100\%$$

4.10 Alur Penelitian



Data pasien Adenokarsinoma paru yang diperiksa EGFR mulai tahun 2013 – pertengahan tahun 2018

Sampel yang memenuhi Kriteria Inklusi

Bahan biologi tersimpan pasien Adenokarsinoma paru yang diperiksa EGFR mulai tahun 2013 – pertengahan tahun 2018 yang memenuhi kriteria inklusi

Bahan biologi tersimpan dilakukan Potong Blok di Laboratorium Patologi Anatomi RSSA

Diperiksakan TTF-1 di Laboratorium Patologi Anatomi FK UB

Analisis Data





BAB 5

HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN

5.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Pengolahan data pada penelitian ini dilakukan pada bulan September sampai Oktober 2018, data sekunder diambil dari rekam medis pasien kanker paru yang dirawat di SMF Pulmonologi RSUD dr. Saiful Anwar Malang. Untuk mengetahui frekuensi mutasi EGFR, diambil data dari rekam medis pasien yang menjalani pemeriksaan EGFR sejak tahun 2013 sampai dengan pertengahan 2018. Untuk melihat hubungan mutasi EGFR dan kadar TTF – 1, data sekunder diambil sebanyak 26 rekam medis yang memenuhi kriteria inklusi.

Pada tabel 5.1 diperlihatkan gambaran karakteristik subjek penelitian. Subjek penelitian berusia ≥ 18 tahun, dengan nilai rerata usia 56,07. Distribusi subjek penelitian berdasarkan kelompok usia, terbanyak pada kelompok usia < 65 tahun yaitu sebanyak 21 orang (80,8%), sedangkan kelompok usia ≥ 65 tahun sebanyak 5 orang (19,2%). Berdasarkan jenis kelamin, terbanyak pada kelompok jenis kelamin laki-laki sebanyak 19 orang (73,1%) dan 7 orang (26,9%) adalah wanita.

**Tabel 5.1 Karakteristik Subjek Penelitian****Variabel****Usia****N : 26**

Rata-rata

56,1

< 65 tahun

21 (80.8%)

≥ 65 tahun

5 (19.2%)

Jenis Kelamin**N : 26**

Laki-laki

19(73.1%)

Perempuan

7 (26.9%)

5.2 Frekuensi pemeriksaan TTF - 1

Total subjek penelitian berjumlah 26 orang dimana sampel dengan TTF-1 positif berjumlah 21 orang (80.8%) dan TTF - 1 negatif berjumlah 5 orang (19.2%). Frekuensi TTF - 1 pada penelitian diperlihatkan pada tabel 5.2

Tabel 5.2 Hasil pemeriksaan TTF - 1**Variabel****Pemeriksaan TTF - 1****N : 26**

Positif

21 (80.8%)

Negatif

5 (19.2%)

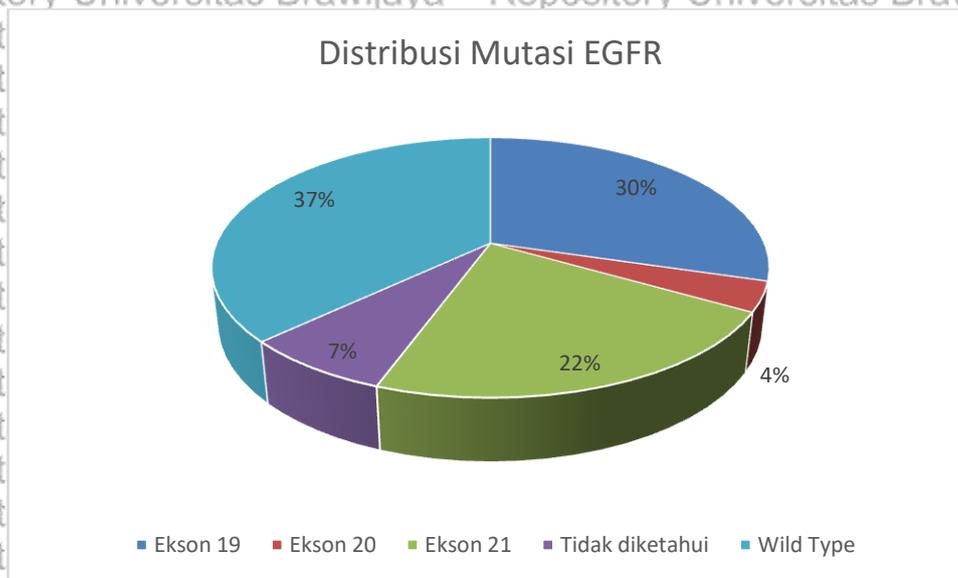
5.3 Frekuensi Mutasi EGFR

Berdasarkan hasil rekapitulasi rekam medis, hasil pemeriksaan mutasi EGFR dapat diperlihatkan pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Hasil Pemeriksaan Mutasi EGFR

Variabel	N: 26
EGFR	
Mutasi	16 (61.5%)
Wildtype	10 (38.5%)

Berdasarkan tabel 5.3 didapatkan pasien yang mengalami mutasi EGFR sebanyak 16 orang. Pembagian mutasi tersebut ada 8 orang yang mengalami mutasi pada ekson 21, ada 6 orang mengalami mutasi pada ekson 19, 1 orang mengalami mutasi pada 2 ekson secara bersamaan (ekson 21,20), dan 1 orang mengalami mutasi tanpa diketahui pada eksonnya. Sementara *Wildtype* atau tanpa mutasi ada 10 orang.



Gambar 5.1 Diagram status EGFR pada pasien kanker paru adenocarcinoma RSUD dr Saiful Anwar Malang. Mutasi yang terbanyak ada pada ekson 21 dan ekson 19. Terdapat pula sampel yang memiliki mutasi pada 2 ekson secara bersamaan (ekson 21,20).

5.4 Hubungan Mutasi EGFR dan Hasil Pemeriksaan TTF – 1

Pada tabel 5.4 terlihat bahwa dari 26 orang terbagi menjadi 4 golongan, yaitu pasien dengan *wildtype* dengan hasil pemeriksaan TTF – 1 negatif



sebanyak 1 orang, pasien dengan *wildtype* dengan hasil TTF – 1 positif sebanyak 9 orang, pasien dengan mutasi EGFR dengan hasil TTF – 1 negatif sebanyak 4 orang dan pasien dengan mutasi EGFR dengan hasil TTF – 1 positif sebanyak 12 orang.

Tabel 5.4 Hubungan Mutasi EGFR Dengan Hasil Pemeriksaan TTF – 1

	EGFR				p
	TTF – 1		Wildtype		
	N	%	N	%	
Positif	12	46.20%	4	15.40%	0.614
Negatif	9	34.60%	1	3.80%	

Berdasarkan uji Chi – square tidak didapatkan hubungan yang signifikan antara hasil pemeriksaan TTF – 1 dengan mutasi EGFR (p:0.614).

Tabel 5.5 Odd Rasio Mutasi EGFR dan TTF-1

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for TTF-1 (Positif / Negatif)	.333	.032	3.515
For cohort EGFR = Positif	.714	.402	1.268
For cohort EGFR = Negatif	2.143	.347	13.242
N of Valid Cases	26		



Nilai Odds ratio yang didapatkan adalah 0.333 dengan CI 95%: 0.032 – 3.515. Hal tersebut berarti pasien dengan TTF – 1 positif memiliki peluang 0.33x untuk memiliki mutasi pada EGFR.

5.5 Sensitivitas, Spesifisitas, akurasi, nilai prediksi positif, nilai prediksi negative hasil pemeriksaan TTF – 1 terhadap mutasi *Endothelial growth factor Receptor* (EGFR)

Hasil uji diagnostic dinyatakan dalam tabel 2x2 kemudian dihitung sensitivitas, spesifisitas, akurasi, nilai prediksi positif, dan nilai prediksi negatif.

Tabel 5.6 Distribusi sampel pada pemeriksaan TTF – 1 dan EGFR

TTF - 1	EGFR	
	Mutasi N	Wildtype N
Positif	12 (a)	4 (b)
Negatif	9 (c)	1 (d)

Hasil analisa adalah sebagai berikut :

Sensitivitas : $\frac{a}{a+c} \times 100\%$
 $= \frac{12}{12+9} \times 100\%$
 $= 57\%$

Spesifisitas : $\frac{d}{d+b} \times 100\%$
 $= \frac{1}{1+4} \times 100\%$
 $= 20\%$

Akurasi : $\frac{a+d}{a+b+c+d} \times 100\%$
 $= \frac{12+1}{12+4+9+1} \times 100\%$
 $= 50\%$

Nilai prediksi positif : $\frac{a}{a+b} \times 100\%$
 $= \frac{12}{12+4} \times 100\%$
 $= 75\%$



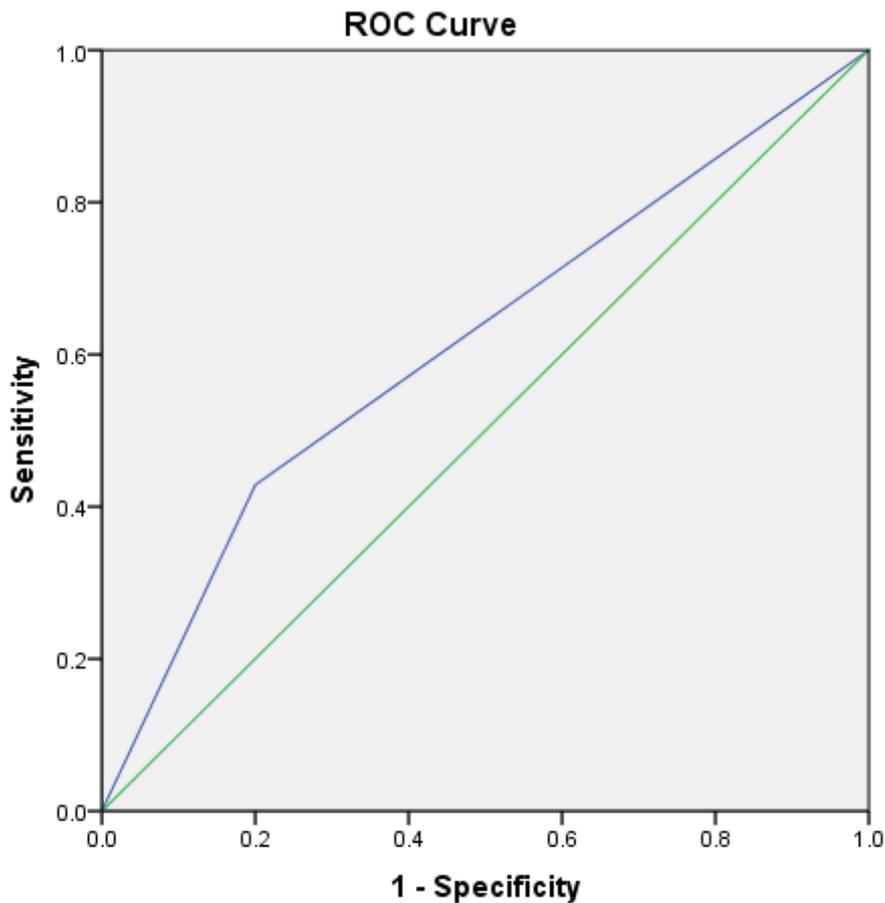
$$\text{Nilai prediksi Negatif} : \frac{d}{d+c} \times 100\%$$

$$: \frac{1}{1+9} \times 100\%$$

$$: 10\%$$

Dari hasil diatas, diketahui bahwa sensitifitas pemeriksaan TTF – 1 adalah 57% dan spesifisitasnya 20%. Dari hasil sensitifitas dapat disimpulkan bahwa TTF – 1 dapat mendeteksi mutasi EGFR sebesar 57%. Hasil spesifisitas 20% berarti kemungkinan pemeriksaan TTF – 1 dapat mendeteksi pasien kanker paru tanpa mutasi EGFR sebesar 20%. Nilai prediksi positif sebesar 75% berarti hanya sekitar 75% EGFR yang benar-benar mutasi. Nilai prediksi negatif 10% berarti sekitar 10% EGFR pasien kanker paru adenokarsinoma yang benar-benar tidak mutasi.

5.6 Kurva ROC dan nilai AUC hasil pemeriksaan TTF – 1 terhadap mutasi *Endothelial growth factor Receptor (EGFR)*



Diagonal segments are produced by ties.

Gambar 5.2 Kurva Receiver Operating Characteristic (ROC). Analisis kurva Receiver Operating Characteristik (ROC) untuk menilai kinerja TTF – 1 dalam membedakan EGFR mutasi dan *wildtype* pada pasien kanker paru adenokarsinoma.

Dari perhitungan didapatkan nilai Area Under Curve (AUC) adalah 0.614 atau 61.4%. Angka tersebut menunjukkan pemeriksaan TTF – 1 memiliki kekuatan sedang dalam menentukan mutasi EGFR. Nilai interpretasinya adalah jika AUC > 50,0 – 60,0 % sangat lemah, > 60,0 – 70,0 % sedang, > 80,0 – 90,0 % baik, > 90,0 – 100,0 % sangat baik.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Frekuensi mutasi EGFR

Pada penelitian ini didapatkan bahwa pasien yang mengalami mutasi EGFR sebanyak 16 orang (61,5%) dari 26 pasien dan *wildtype* sebanyak 10 orang (38,5%) dari 26 pasien. Diantara mutasi ini, didapatkan pasien yang mengalami mutasi EGFR sebanyak 16 orang. Pembagian mutasi tersebut ada 8 orang yang mengalami mutasi pada ekson 21, ada 6 orang mengalami mutasi pada ekson 19, 1 orang mengalami mutasi pada 2 ekson secara bersamaan (ekson 21,20), dan 1 orang mengalami mutasi tanpa diketahui pada eksonnya. Sementara *Wildtype* atau tanpa mutasi ada 10 orang, seperti yang disajikan pada gambar 5.1.

Hal tersebut sesuai dengan hasil temuan sebelumnya. Terdapat tiga tipe mutasi dari EGFR yang sering ditemukan, antara lain : (1) delesi pada exon 19, yang merupakan mutasi yang paling sering terjadi yaitu sekitar 46% dari semua mutasi EGFR, (2) mutasi pada exon 18, 20, atau 21, yang merupakan mutasi tersering kedua, ditemukan sekitar 41% kasus dari semua mutasi EGFR, (3) duplikasi/insersi pada exon 20 (Chen, 2013; Roengvoraphoj *et al.*, 2013; Siegelin *et al.*, 2014; Shi Y *et al.*, 2014).

Berdasarkan kepustakaan disebutkan bahwa tingkat mutasi EGFR berbeda secara regional. Tingkat mutasi pada KPKBSK di negara-negara Asia lebih tinggi dibanding negara-negara barat yaitu sekitar 50% sedangkan di negara barat sekitar 10%. (Shigematsu H *et al.*,2006; Wang *et al.*, 2014).

6.2 Hubungan adenokarsinoma paru dan pemeriksaan TTF-1

Pada penelitian ini didapatkan pemeriksaan TTF – 1 negatif berjumlah 5 orang (19.2%) dari total subjek penelitian berjumlah 26 orang. TTF-1 negatif berkorelasi dengan adenokarsinoma paru subtype solid dan invasif musinosum. Ini mendefinisikan subkelompok adenokarsinoma paru dengan *unfavorable*



outcomes. Selain itu, rekuren multipel metastasis lebih mungkin terjadi pada pasien adenokarsinoma dengan TTF-1 negatif (Zhang *et al.*, 2015).

6.3 Hubungan ekspresi *Thyroid Transcription Factor-1* (TTF-1) dan mutasi *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR), sensitifitas, spesifisitas, akurasi, nilai prediksi positif, nilai prediksi negatif ekspresi TTF-1 terhadap mutasi EGFR

Pada penelitian ini berdasarkan uji Chi – square tidak didapatkan hubungan yang signifikan antara hasil pemeriksaan TTF – 1 dengan mutasi EGFR (p:0.614) dengan odds rasio 0.333, sedangkan penelitian Sun *et al* (2012) dan Wang *et al*(2014)mengungkapkan bahwa ada hubungan yang bermakna antara TTF-1 dan EGFR.

Pada penelitian ini juga dilihat sensitifitas, spesifisitas, akurasi, nilai prediksi positif, nilai prediksi negatif ekspresi TTF-1 terhadap mutasi EGFR. Berdasarkan hasil analisis, didapatkan bahwa sensitifitas pemeriksaan TTF – 1 adalah 57% dan spesifisitasnya 20%. Nilai sensitifitas 57% menunjukkan bahwa dari 100 orang dengan mutasi EGFR, TTF-1 dapat mendeteksi adanya mutasi EGFR sebesar 57%. Nilai spesifisitas TTF-1 20% menunjukkan bahwa dari 100 orang tanpa mutasi EGFR, TTF-1 dapat mendeteksi EGFR tanpa mutasi hanya sebesar 20%. Nilai prediksi positif sebesar 75% berarti dari 100 pasien dengan TTF-1 positif hanya sekitar 75% yang benar-benar mengalami mutasi EGFR. Nilai prediksi negatif 10% berarti dari 100 orang dengan TTF-1 negatif maka sekitar 10% EGFR yang benar – benar tidak mutasi.

Kurva ROC yang disajikan pada gambar 5.2 dididatknilai *Area Under Curve* (AUC) adalah 0.614 atau 61.4%. Angka tersebut menunjukkan pemeriksaan TTF – 1 memiliki kekuatan sedang dalam menentukan mutasi EGFR.

6.4 Keterbatasan Penelitian



Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang akhirnya dapat menimbulkan bias. Keterbatasan penelitian ini antara lain :

1. Penelitian ini menggunakan desain cross sectional sehingga tidak bisa menganalisis hubungan kausal dan sulit menetapkan mekanisme sebab akibat.
2. Penelitian ini hanya melibatkan pasien dengan histologi adenokarsinoma sehingga tidak dapat dibandingkan dengan jenis histologi lainnya.
3. Penelitian ini hanya melakukan uji diagnostik pada 1 tumor marker sehingga kurang spesifik.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Pasien mutasi EGFR 16 orang (61,5%) dari 26 pasien, *wildtype* 10 orang (38,5%) dari 26 pasien. Diantara mutasi ini, didapatkan pasien yang mengalami mutasi EGFR sebanyak 16 orang. Pembagian mutasi tersebut ada 8 orang yang mengalami mutasi pada ekson 21, ada 6 orang mengalami mutasi pada ekson 19, 1 orang mengalami mutasi pada 2 ekson bersamaan (ekson 21,20), dan 1 orang mengalami mutasi tanpa diketahui pada eksonnya. Sementara tipe Wild tipe atau tanpa mutasi ada 10 orang
2. Tidak didapatkan hubungan yang signifikan antara hasil pemeriksaan TTF – 1 dengan mutasi EGFR (p:0.614).
3. Sensitivitas TTF-1 57%, spesifisitas 20%, nilai prediksi positif 75%, nilai prediksi negatif 10%, nilai akurasi 50%, nilai AUC 61,4% sehingga pemeriksaan TTF – 1 memiliki **kekuatan sedang** dalam menentukan mutasi EGFR pada kanker paru adenokarsinoma di RSUD dr.Saiful Anwar Malang

7.2 Saran

1. Dilakukan penelitian terhadap tumor marker lainnya atau kombinasi dengan TTF-1.
2. Dilakukan penelitian mutasi EGFR terhadap jenis histologi kanker paru lainnya.
3. Saat dilakukan pemeriksaan EGFR sebaiknya segera dilakukan juga pemeriksaan TTF-1 sehingga hubungan kedua pemeriksaan bisa dianalisa lebih baik.

