

New_Terapi Target Pada Kanker Paru

by Laksmi Fk

Submission date: 21-Feb-2019 04:19PM (UTC+0800)

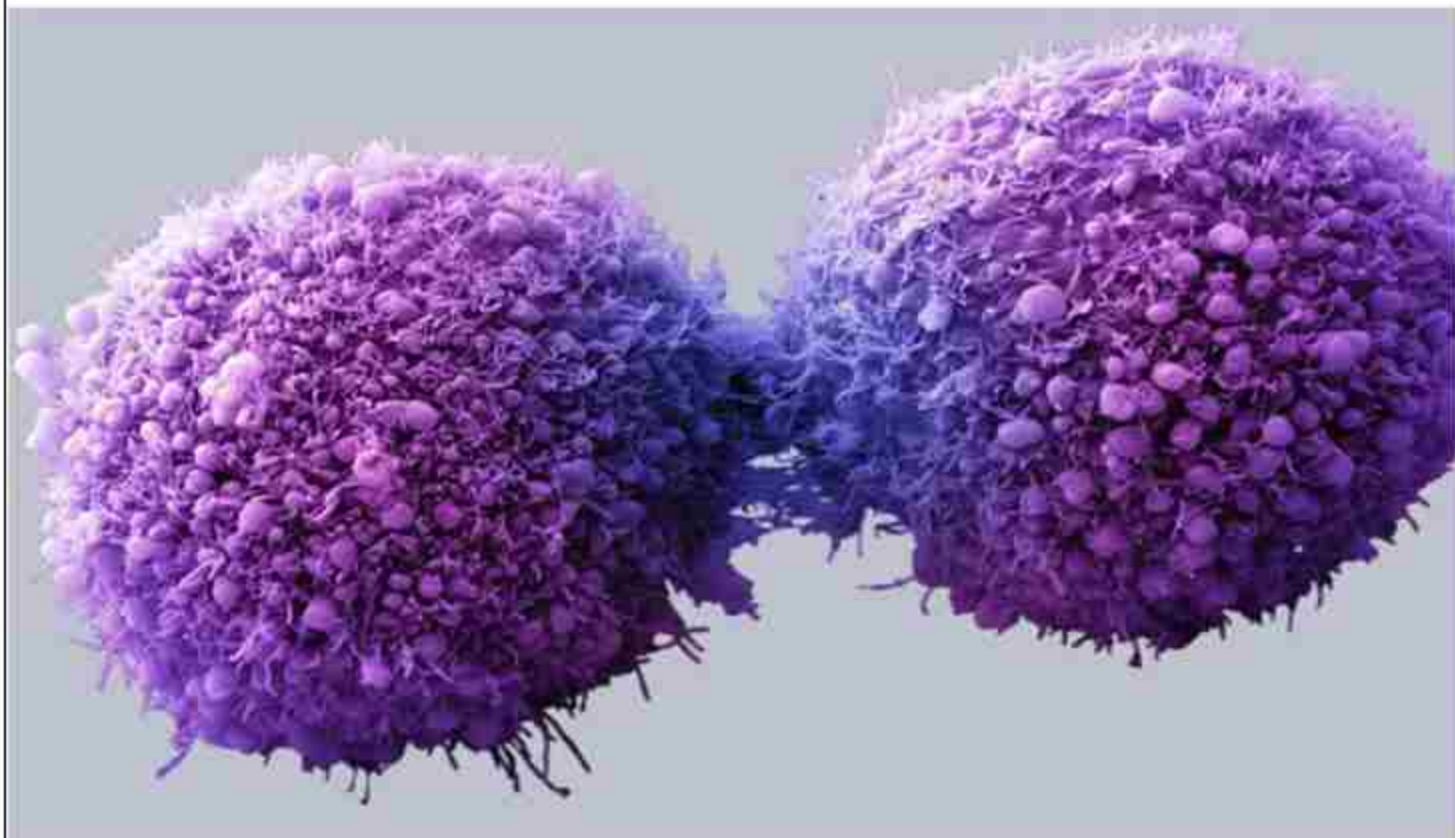
Submission ID: 1081337062

File name: Terapi_Target_pada_Kanker_Paru_dr_Laksmi_Revisi.doc (14.86M)

Word count: 11877

Character count: 75472

TERAPI TARGET PADA KANKER PARU



Laksmi Wulandari

Prakata

Kanker paru telah menjadi pembunuh yang tidak boleh diremehkan. Dari seluruh kasus kematian yang terjadi pada penderita kanker, hampir sepertiganya disebabkan oleh kanker paru. Dari kasus kanker paru yang terjadi, sekitar 80 persennya merupakan dari jenis Kanker Paru Bukan Sel Kecil (KPBSK) atau *Non-small Cell Lung Cancer* (NSCLC). Yang termasuk dalam NSCLC di antaranya *adenocarcinoma*, *squamous cell carcinoma*, dan *large cell carcinoma*.

Terapi bedah sebenarnya merupakan pilihan utama pada kasus stadium dini, namun faktanya hanya 20% penderita yang dapat menjalani reseksi kuratif. Sebagian kecil lainnya sudah mengalami penyebaran lokal sehingga hanya dapat diatasi dengan *radical thoracic radiotherapy*. Sedangkan sebagian besar penderita datang terlambat dan sudah dalam stadium lanjut. Pilihan modalitas terapi yang tersedia sebelumnya hanyalah kemoterapi. Untuk penderita dengan status fisik yang jauh lebih buruk hanya perawatan suportif dan paliatif yang dapat diberikan.

Dengan beberapa kemajuan terakhir di bidang genetika dan biologi sel kanker, saat ini para ilmuwan telah menemukan *oncogenic driver mutation* yang mendasari pertumbuhan sel-sel kanker, termasuk kanker paru. Hal itu kemudian mengubah

paradigma dalam diagnosis, klasifikasi, dan tatalaksana kanker paru. Buku ini membahas beberapa perubahan tersebut dan didedikasikan untuk semua kalangan yang peduli dan menaruh minat pada tatalaksana kanker paru.

Biomarker merupakan alat baru yang digunakan untuk mengidentifikasi kanker paru dengan karakteristik molekular tertentu. Jika sebelumnya semua kanker paru jenis apapun diperlakukan sama karena terapi yang tersedia untuk stadium lanjut hanyalah kemoterapi, maka saat ini pemeriksaan biomarker merupakan suatu keharusan untuk menuntun para klinisi memberikan modalitas terapi yang paling menguntungkan penderita. Terdapat dua jalur mutasi genetik yang penting pada pasien NSCLC. Dua jalur tersebut adalah *Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)* dan *Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) rearrangement*. Dalam buku ini juga akan dibahas secara singkat alasan rasional penghambatan masing-masing jalur sinyal mutasi tersebut serta beberapa jenis obat khusus yang tersedia di pasaran di Indonesia. Semoga buku ini dapat dimanfaatkan sebagaimana mestinya untuk perbaikan kesintasan (*survival*) dan kualitas hidup penderita kanker paru.

Laksmi Wulandari

ix Daftar Isi

Prakata.....	
Daftar Isi.....	
Daftar Gambar.....	
Daftar Tabel.....	
1. Kanker Paru: Tinjauan Umum.....	
2. Terapi Target Pada Kanker Paru.....	
3. <i>Driver Mutations</i> Sebagai Terapi Target.....	
4. Mutasi <i>Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)</i>	
5. <i>Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) Gene Rearrangement</i>	
6. <i>Driver Mutations</i> Lain Pada <i>Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)</i>	
Daftar Pustaka.....	

Daftar Gambar

- Gambar 1.** Tahap Perkembangan Kanker Paru.....
- Gambar 2.** Siklus Sel Dan *Checkpoint* Di Antaranya.....
- Gambar 3.** Mekanisme Kerja Berbagai Kemoterapi
Sitotoksik Pada Siklus Sel.....
- Gambar 4.** Grafik Perbandingan OS Berbagai Histologi
Kanker Paru.....
- Gambar 5.** Grafik Perbandingan OS Berbagai Kombinasi
Kemoterapi Pada Pasien *Adenocarcinoma*.....
- Gambar 6.** Diagram Evolusi Dari Pembagian Histologi
NSCLC.....
- Gambar 7.** Diagram Perbandingan *Driver Mutations*
Berdasarkan Jenis Histologi NSCLC.....
- Gambar 8.** Grafik Perbandingan *Driver Mutations* Pada
Kelompok Perokok/Mantan Perokok Dengan Pasien Yang
Tidak Pernah Merokok Dengan Histologi
Adenocarcinoma.....

Gambar 9. Ikhtisar Jalur Molekuler Dan Target Potensial Pada NSCLC.....	
Gambar 10. Transduksi Sinyal Melalui EGFR	
Gambar 11. Diagram Ekspresi EGFR Pada Epitel Bronkial.....	
Gambar 12. Strategi Penghambatan Transduksi Sinyal EGFR.....	
Gambar 13. Mekanisme Resistensi Yang Didapat (<i>Acquired Resistance</i>) Terhadap EGFR-TKI.....	
Gambar 14. Berbagai Protein Yang Berfusi Dengan ALK Yang Diidentifikasi pada NSCLC.....	
Gambar 15. Aktivasi Jalur ALK.....	
Gambar 16. Algoritma Terapi Pada ALK <i>Rearrangement</i> (+).....	

Daftar Tabel

Tabel 1. Klasifikasi Histologi Kanker Paru.....

Tabel 2. Berbagai Penelitian Yang Meneliti Imunoterapi
EGFR-TKI Sebagai Lini Pertama Pada Pasien NSCLC
Dengan Mutasi EGFR.....

Tabel 3. Driver Mutations Yang Umum Ditemukan Pada
NSCLC.....

Tabel 4. Faktor-Faktor Klinis Pre-Pengobatan Yang
Memprediksi Sensitivitas Terhadap *Gefitinib*.....

Tabel 5. Karakteristik ALK *Inhibitor* Generasi Kedua.....

Kanker Paru : Tinjauan Umum

PENDAHULUAN

Jumlah kematian yang terjadi pada penderita kanker paru cukup besar. Dari seluruh kasus kematian pada penderita kanker, hampir sepertiganya disebabkan oleh kanker paru. Sementara itu *median survival* penderita kanker paru yang tidak diterapi hanya sekitar 4-5 bulan, dengan *survival rate* setelah 1 tahun tidak lebih dari 10%.¹ Kasus kanker paru yang paling banyak ditemui adalah dari jenis *non-small cell lung cancer* (NSCLC) yang meliputi *adenocarcinoma*, *squamous cell carcinoma*, dan *large cell carcinoma*, yaitu sekitar 80%.² Terapi bedah sebenarnya merupakan pilihan utama namun hanya 20% penderita yang dapat menjalani reseksi kuratif. Sebagian kecil lainnya yang sudah mengalami penyebaran lokal menjalani *radical thoracic radiotherapy*. Sedangkan sebagian besar penderita datang terlambat dan sudah dalam stadium lanjut.³

Data meta-analisis menunjukkan bahwa kemoterapi untuk NSCLC stadium lanjut dapat memperpanjang *survival* hingga sekitar 7–8 bulan, mengurangi gejala, dan sedikit memperbaiki kualitas hidup.^{4,5} Akan tetapi, manfaat dari kemoterapi tersebut dianggap masih belum cukup dan dianggap memiliki toksisitas yang terlalu tinggi. Dikenal empat macam regimen kemoterapi konvensional yang sering dipakai untuk NSCLC. Regimen yang digunakan yaitu kombinasi *cisplatin – docetaxel*, *carboplatin – paclitaxel*, *cisplatin – paclitaxel*, dan *cisplatin – gemcitabine*. Namun penggunaan berbagai macam regimen tersebut ternyata tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dan dampaknya terhadap *survival* sangat terbatas.^{1,6} Karena itu penelitian-penelitian terus dilakukan untuk mengembangkan obat baru yang dapat memperbaiki *outcome* pada penderita kanker, yaitu memiliki indeks terapeutik yang tinggi dengan toksisitas yang rendah.

Kadar *epidermal growth factor receptor* (EGFR) yang tinggi pada berbagai kasus keganasan kanker membuktikan bahwa EGFR mempunyai peran yang sangat penting dalam pertumbuhan sel kanker. Oleh karena itu, saat ini dikembangkan terapi antikanker yang bertujuan menghambat kerja EGFR yang disebut dengan EGFR *inhibitor*.⁷

Tyrosine kinase inhibitor (TKI) merupakan salah satu golongan EGFR *inhibitor* yang bekerja pada regio intraseluler. EGFR-TKI bekerja dengan menghalangi ATP untuk berikatan pada domain intraseluler EGFR tirosin kinase katalitik, sehingga memblokir autofosforilasi EGFR dan sinyal selanjutnya. Akibatnya sinyal kunci intraseluler EGFR-*dependent* menjadi terhambat, yang akhirnya menghambat proliferasi sel kanker.⁸

Dengan semakin meningkatnya pemahaman tentang struktur dan peranan tirosin kinase dalam transduksi sinyal pertumbuhan untuk berbagai sel kanker, saat ini telah banyak dilakukan penelitian untuk mengembangkan terapi baru antikanker.^{9,10} Salah satu penemuan yang telah mencapai tahap penelitian klinis adalah molekul yang mampu mengganggu transduksi sinyal melalui jalur *epidermal growth factor receptor* (EGFR).⁹ Zat tersebut berpotensi sebagai antikanker karena dapat menghambat pertumbuhan sel-sel kanker, namun pada saat yang sama hanya menimbulkan efek yang minimal terhadap fungsi sel normal. Sifat-sifat farmakokinetik dan farmakodinamiknya menguntungkan, serta memiliki efek toksik yang cukup rendah. Beberapa di antaranya bahkan berpotensi untuk digunakan secara kombinasi dengan obat-obat sitostatik, sitotoksik, atau radioterapi.^{9,11}

12 KANKER PARU

Kanker paru merupakan segala bentuk penyakit keganasan yang terdapat pada paru. Keganasan dapat berasal dari dalam paru sendiri maupun berasal dari hasil metastasis organ lain.¹² Kanker paru dapat dimulai dari sel yang melapisi bronkus dan bagian lain dari paru, seperti bronkiolus atau alveoli. Area ini disebut area prekanker. Perubahan pertama yang terjadi pada gen (DNA) di dalam sel paru menyebabkan multiplikasi sel yang cepat. Sel-sel abnormal ini membutuhkan perubahan gen (mutasi) lain yang akan membuatnya berkembang menjadi kanker. Kanker yang tumbuh kemudian menghasilkan sitokin yang menstimulasi angiogenesis. Pembuluh darah baru tersebut memberikan nutrisi ke sel kanker dan mendukung pertumbuhan massa. Pada suatu titik tertentu sel dari kanker dapat terpisah dari massa dan menyebar (metastasis) ke organ lain.¹³

Merokok masih menjadi penyebab utama kanker paru pada sebagian besar penderita. Pencegahan serta pemberhentian merokok mampu menurunkan angka kejadian kanker. Pada negara-negara dengan pengontrolan tembakau yang efektif, insiden kanker paru baru mengalami penurunan pada pria, serta mencapai *plateau* pada wanita.^{14,15,16} Beberapa faktor risiko kanker paru yang lain adalah pajanan asbestos, arsen,

dan radon. Predisposisi genetik pada kanker paru sulit ditentukan oleh karena dipengaruhi oleh pajanan lingkungan, namun telah ditemukan penelitian yang menunjukkan bahwa polimorfisme nukleotida tunggal pada gen di lokus tertentu, seperti 15q24-25 (*CHRNAB4*, *CHRNA3*, *CHNRNA5*), 5p15.23, dan 6p21.33 dianggap memiliki hubungan dengan risiko kanker paru.^{17,18}

INSIDEN DAN EPIDEMIOLOGI

Pada tahun 2012, kanker paru merupakan kanker yang paling banyak didiagnosis serta salah satu penyebab kematian utama pada populasi pria. Sedangkan pada populasi wanita, kasus kematian yang terjadi pada penderita kanker juga disebabkan oleh kanker paru sebagai penyebab kematian utama.¹⁹ Di Amerika, diperkirakan sebanyak 225.500 kasus kanker paru baru (116.990 pada pria dan 105.510 pada wanita) terdiagnosis pada tahun 2017, dan 155.870 kematian (84.590 pada pria dan 71.280 pada wanita) diperkirakan terjadi akibat kanker tersebut.²⁰

Sebagian besar kasus kanker paru didiagnosis pada pasien berusia 65 tahun ke atas. Pada tahun 2012, kematian akibat kanker paru di Amerika ditemukan pada pria berusia 40 tahun

ke atas²¹, serta wanita mulai usia 60 tahun. Dari seluruh penderita kanker paru, hanya 17,7% yang hidup 5 tahun atau lebih setelah diagnosis.⁴ *World Health Organization* (WHO) memperkirakan kanker paru menjadi penyebab 1,37 juta kematian global per tahun. Sekitar 71% kasus kematian disebabkan merokok. Hal ini menunjukkan bahwa hampir 400.000 kematian per tahun akibat kanker paru terjadi pada pasien yang tidak pernah merokok.²² Saat ini ditemukan peningkatan kejadian NSCLC pada pasien yang tidak pernah merokok, terutama di berbagai negara di Asia.²³ Data epidemiologi baru ini telah membuat "*non-smoking-associated lung cancer*" menjadi suatu penyakit yang berbeda, di mana ditemukan karakteristik genetik dan molekuler spesifik yang berperan pada mekanismenya.²⁴

KLASIFIKASI KANKER PARU

Kanker paru dibagi menjadi dua tipe utama, yaitu *non-small cell lung cancer* (NSCLC) dan *small cell lung cancer* (SCLC). Tipe gabungan dari karakteristik NSCLC dan SCLC disebut *combined small cell/non-small cell cancer*, namun tipe ini jarang ditemukan.¹³ WHO mempublikasikan klasifikasi kanker paru terbaru di tahun 2015 berdasarkan tipe dan sub tipe histologinya (Tabel 1).²⁵

Kanker paru tipe NSCLC mencakup lebih dari 80% kasus kanker paru, yang terdiri atas dua tipe utama, yaitu *non-squamous carcinoma* (termasuk *adenocarcinoma*, *large-cell carcinoma*, serta tipe lainnya) dan *squamous cell* (epidermoid) *carcinoma*. *Adenocarcinoma* merupakan jenis NSCLC terbanyak.⁴ Tumor neuroendokrin mencakup 20% kasus kanker paru, dan sebagian besar (14%) adalah SCLC. Kanker paru tipe SCLC ditandai dengan *doubling time* yang cepat, fraksi pertumbuhan yang tinggi, serta metastasis dini yang luas.²⁶

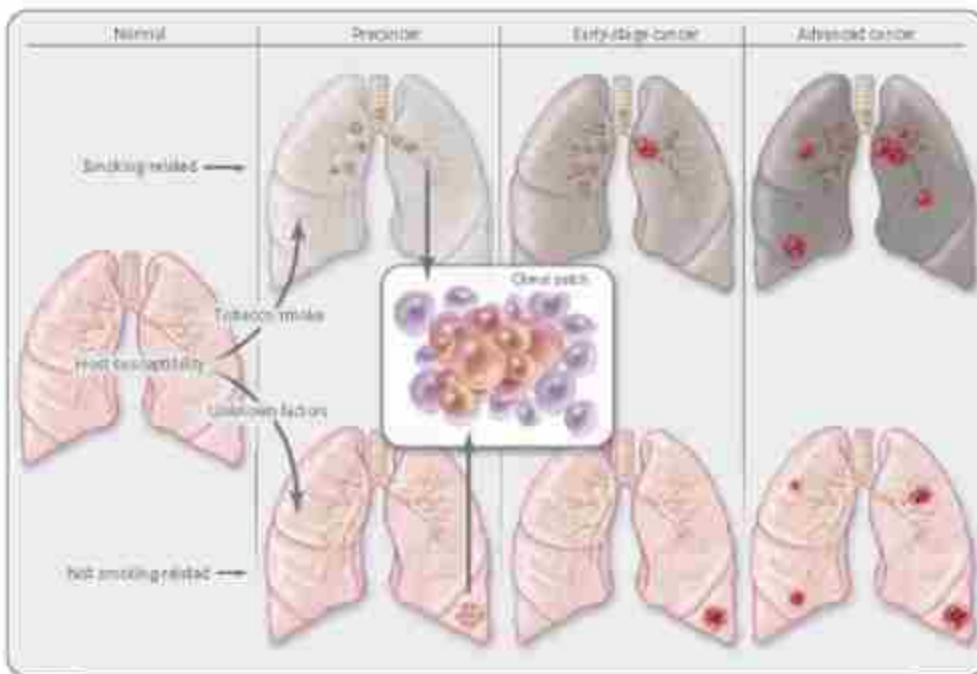
Tabel 1. Klasifikasi histologi kanker paru.²⁵

Histologic Type and Subtypes	ICDO Code	Histologic Type and Subtypes	ICDO Code
Epithelial tumors		Papilloma	
Adenocarcinoma	8140/3	Squamous cell papilloma	8052/0
Leptidic adenocarcinoma ^a	8250/3 ^b	Exophytic	8052/0
Acinar adenocarcinoma	8551/3 ^c	Inverted	8053/0
Papillary adenocarcinoma	8260/3	Glandular papilloma	8260/0
Micropapillary adenocarcinoma ^a	8265/3	Mixed squamous and glandular papilloma	8560/0
Solid adenocarcinoma	8280/3	Adenoma	
Invasive mucinous adenocarcinoma ^a	8253/3 ^b	Sequestering pneumocystoma ^d	8832/0
Mixed invasive mucinous and non-mucinous adenocarcinoma	8254/3 ^b	Alveolar adenoma	8251/0
Colloid adenocarcinoma	8480/3	Papillary adenoma	8260/0
Fetal adenocarcinoma	8333/3	Mucinous cystadenoma	8470/0
Enteric adenocarcinoma ^a	8344/3	Mucous gland adenoma	8480/0
Minimally invasive adenocarcinoma ^a		Mesenchymal tumors	
Nonmucinous	8256/3 ^b	Pulmonary hamartoma	8932/0 ^e
Mucinous	8257/3 ^b	Chondroma	9220/0
Preinvasive lesions		PEComa tumors^f	
Atypical adenomatous hyperplasia	8250/0 ^b	Lymphangiomyomatosis	9174/1
Adenocarcinoma in situ ^a		PEComa, benign ^g	8714/0
Nonmucinous	8250/2 ^b	Clear cell tumor	8005/0
Mucinous	8254/2 ^b	PEComa, malignant ^g	8714/3
Squamous cell carcinoma	8070/3	Congenital peribronchial myofibroblastic tumor	8877/1
Keratinizing squamous cell carcinoma ^a	8071/3	Diffuse pulmonary lymphangioleiostosis	
Nonkeratinizing squamous cell carcinoma ^a	8072/3	Inflammatory myofibroblastic tumor	8825/1
Basaloid squamous cell carcinoma ^a	8088/3	Epithelioid hemangioendothelioma	9133/3
Preinvasive lesion		Pleuropulmonary blastoma	8973/3
Squamous cell carcinoma in situ	8070/2	Synovial sarcoma	9040/3
Neuroendocrine tumors		Pulmonary artery intimal sarcoma	9137/3
Small cell carcinoma	8041/3	Pulmonary myxoid sarcoma with <i>TERT</i> , <i>CAH2</i> translocation ^h	8842/3 ⁱ
Combined small cell carcinoma	8045/3	Myoepithelial tumors ^g	
Large cell neuroendocrine carcinoma	8038/3	Myoepithelioma	8992/0
Combined large cell neuroendocrine carcinoma	8039/3	Myoepithelial carcinoma	8992/3
Carcinoid tumors		Lymphohistiocytic tumors	
Typical carcinoid tumor	8260/3	Extranodal marginal zone lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	9699/3
Atypical carcinoid tumor	8269/3	Diffuse large cell lymphoma	9680/3
Preinvasive lesion		Lymphomatoid granulomatosis	9756/1
Diffuse idiopathic pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia	8040/0 ^b	Intravascular large B cell lymphoma ^g	9712/3
Large cell carcinoma	8012/3	Pulmonary Langerhans cell histiocytosis	8751/1
Adenosquamous carcinoma	8560/3	Erdheim-Chester disease	9750/1
Sarcomatoid carcinoma		Tumors of ectopic origin	
Pleomorphic carcinoma	8012/3	Germ cell tumors	
Spindle cell carcinoma	8013/3	Teratoma, mature	9080/0
Giant cell carcinoma	8011/3	Teratoma, immature	9080/3
Carcinosarcoma	8980/3	Intrapulmonary thymoma	8270/3
Pulmonary blastoma	8872/3	Melanoma	9530/0
Other and Unclassified carcinomas		Meningeal, NOS	
Lymphoepithelioma-like carcinoma	8082/3	Metastatic tumors	
NUT carcinoma ^a	8013/3 ^b	^a The morphology codes are from the ICDO. Behavior is coded /0 for benign tumors, /1 for unspecified, borderline or uncertain behavior, /2 for carcinoma in situ and grade III intraepithelial neoplasia, and /3 for malignant tumors.	
Salivary gland-type tumors		^b The classification is modified from the previous WHO classification taking into account changes in our understanding of these lesions.	
Mucopidermoid carcinoma	8430/3	^c This table is reproduced from the 2015 WHO Classification by Travis et al.	
Adenoid cystic carcinoma	8200/3	^d These new codes were approved by the International Agency on Cancer Research/WHO Committee for ICDO.	
Epithelial myoepithelial carcinoma	8562/3	^e New terms changed or entities added since 2004 WHO Classification.	
Pleomorphic adenoma	8940/0		

(Continued)

FAKTOR RISIKO

Kanker paru berkembang mulai dari adanya bakat genetik. Paparan terhadap beberapa faktor atau bahan karsinogenik tertentu menyebabkan ketidakseimbangan ekspresi gen yang berakibat pada dominasi *oncogene* dan melemahnya *tumor suppressor gene*. Hal tersebut mengarah pada terbentuknya lesi pre-neoplastik berupa metaplasia, displasia (ringan, sedang, berat), hingga akhirnya *carcinoma in situ*. Sekelompok sel yang tumbuh tidak terkendali tersebut (disebut sebagai *clonal patch*) mampu bermigrasi dan menyebar. Baru kemudian terjadilah perkembangan menjadi kanker stadium dini dan kanker stadium lanjut (Gambar 1).²⁷



Gambar 1. Tahap-tahap perkembangan kanker paru.²⁷

Kanker paru sebagian besar timbul pada penderita yang memiliki faktor-faktor risiko tertentu. Faktor risiko untuk mengidap kanker paru selain faktor genetik, yang telah disepakati oleh para ahli berdasarkan hasil beberapa penelitian adalah: merokok aktif (baik dalam bentuk sigaret, cerutu secara langsung maupun melalui pipa), merokok pasif (*second-hand smoke*), paparan terhadap gas radon, asbestos, vinil klorida, nikel kromat, dan produk-produk tambang batu bara.²⁸

- **Rokok sigaret**

Menghisap rokok jenis sigaret telah terbukti merupakan faktor risiko nomor satu untuk terjadinya kanker paru. Sembilan puluh persen (90%) kanker paru pada pria dan 78% kanker paru pada wanita disebabkan oleh merokok sigaret. Bahan-bahan karsinogen yang terkandung dalam rokok jenis sigaret dapat menimbulkan perubahan dan kerusakan sel-sel di paru. Dengan berjalannya waktu, kerusakan/perubahan sel tersebut dapat berkembang menjadi kanker. Probabilitas seorang perokok sigaret untuk mengidap kanker paru ditentukan oleh umur saat mulai merokok, lamanya merokok, jumlah sigaret yang dihisap per hari, dan seberapa dalam penghisapan asap rokoknya.²⁸

- **Rokok cerutu/pipa**

Perokok cerutu dan perokok melalui pipa memiliki risiko menderita kanker paru yang lebih tinggi dibandingkan non-perokok. Lamanya seseorang merokok (dalam hitungan tahun), jumlah pipa rokok/cerutu yang dihisapnya dalam satu hari, seberapa dalam ia menghisap pipa/cerutunya, semuanya menentukan besarnya risiko. Bahkan perokok yang tidak menghisap asap cerutu/pipa rokoknya dalam-dalam pun berisiko terkena kanker paru atau kanker rongga mulut.²⁸

- **Asap rokok dari lingkungan**

Paparan terhadap asap rokok dari lingkungan sekitar yang berasal dari orang lain yang merokok di sekitar kita sudah cukup untuk meningkatkan risiko menderita kanker paru. Paparan jenis ini disebut juga *second-hand smoke* atau perokok pasif.²⁸

- **Gas radon**

Radon adalah gas radioaktif yang tidak berwarna, tidak berbau, tidak dapat dirasakan, yang muncul secara alamiah dari dalam tanah atau bebatuan. Gas radon dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel pada saluran napas dan paru, serta mampu memicu pertumbuhan sel

kanker. Para pekerja tambang berisiko terpapar dan menghirup gas ini. Risiko untuk menderita kanker paru akan makin besar jika para pekerja tambang itu juga merokok.²⁸

- **Asbestos**

Asbestos merupakan sekelompok mineral yang muncul secara alamiah dalam bentuk serat-serat (*fiber*) dan dimanfaatkan dalam industri tertentu seperti pembuatan badan kapal, insulator, kanvas rem, dan lain-lain. Serat-serat asbestos mudah patah menjadi partikel-partikel kecil yang beterbangan di udara atau menempel pada kain pakaian. Bila terhirup, partikel-partikel tersebut dapat menempel di paru, merusakkan sel-sel paru, dan memicu pertumbuhan sel kanker. Risiko seseorang yang terpapar asbestos untuk menderita kanker paru adalah 3-4 kali lipat dibandingkan orang yang tidak terpapar.²⁸

- **Riwayat penyakit paru/kanker sebelumnya**

Beberapa jenis penyakit paru dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker paru. Misalnya penyakit tuberkulosis dan penyakit paru obstruktif kronik (PPOK). Risiko dapat meningkat terutama pada mereka yang juga memiliki bakat menderita kanker. Kanker paru biasanya

tumbuh dari jaringan parut (fibrosis) akibat infeksi paru sebelumnya. Pada mereka yang memiliki bakat kanker, jaringan tersebut dapat tumbuh tidak terkendali dan akhirnya menjadi jaringan kanker. Risiko yang lebih tinggi dapat terjadi pada mereka yang sebelumnya pernah menderita penyakit kanker lain atau memiliki riwayat penyakit kanker dalam keluarga.²⁹

Mendeteksi secara dini kanker paru berarti melakukan penapisan (*screening*) untuk menemukan lesi kanker sedini mungkin pada kelompok masyarakat yang terpapar faktor-faktor risiko tertentu seperti pada perokok, pekerja industri, atau pekerja tambang batu bara. Melakukan prevensi atau pencegahan kanker paru berarti menghindarkan anggota masyarakat dari paparan terhadap faktor-faktor risiko kanker paru.

Terapi Target Pada Kanker Paru

SIKLUS SEL

Sebelum membahas mengenai proses terjadinya kanker (karsinogenesis), perlu diketahui terlebih dahulu mengenai perjalanan siklus sel. Siklus sel terdiri dari beberapa fase disertai dengan *checkpoint* di antaranya (Gambar 2). *Checkpoint* adalah tahap pada sel eukariot di mana sel memeriksa kondisi internal dan eksternal untuk menentukan apakah sel akan melanjutkan divisi sel atau tidak. *Checkpoint* G1 adalah tahap keputusan utama suatu sel untuk membelah atau tidak. Ketika sel melewati *checkpoint* G1 dan masuk fase S, maka sel akan membelah. Untuk melewati *checkpoint* G1, ukuran sel harus adekuat, nutrisi sel harus cukup, dan tidak boleh ada kerusakan DNA. Untuk memastikan pembelahan sel berjalan baik, sel memiliki *checkpoint* tambahan sebelum fase M, yaitu G2. Sel akan melewati *checkpoint* G2 jika kromosom telah direplikasi secara sempurna dan DNA tidak rusak. Jika kerusakan tidak dapat diperbaiki, sel akan mengalami apoptosis. Mekanisme ini bertujuan untuk mencegah DNA yang rusak mengalami replikasi serta mencegah kanker.³⁰

G₁ checkpoint

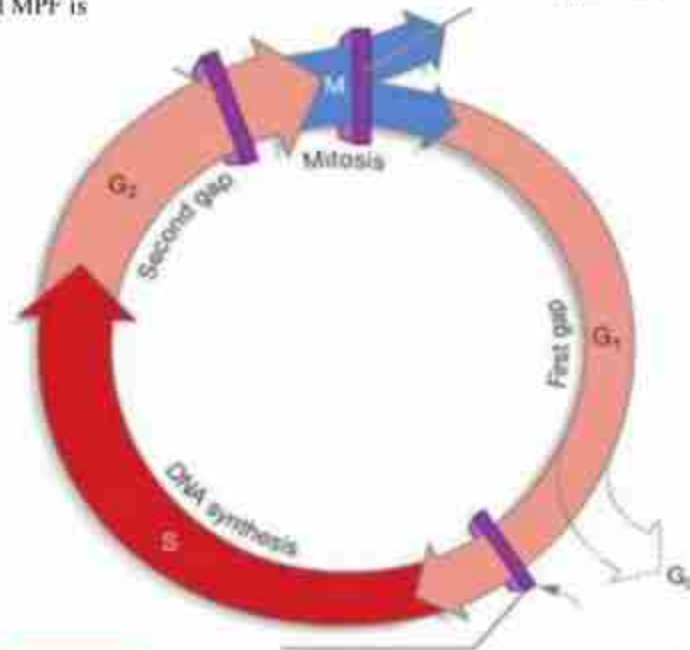
Pass this checkpoint if:

- chromosomes have replicated successfully
- DNA is undamaged
- activated MPF is present

Metaphase checkpoint

Pass this checkpoint if:

- All chromosomes are attached to spindle apparatus



G₂ checkpoint

Pass this checkpoint if:

- cell size is adequate
- nutrients are sufficient
- social signals are present
- DNA is undamaged

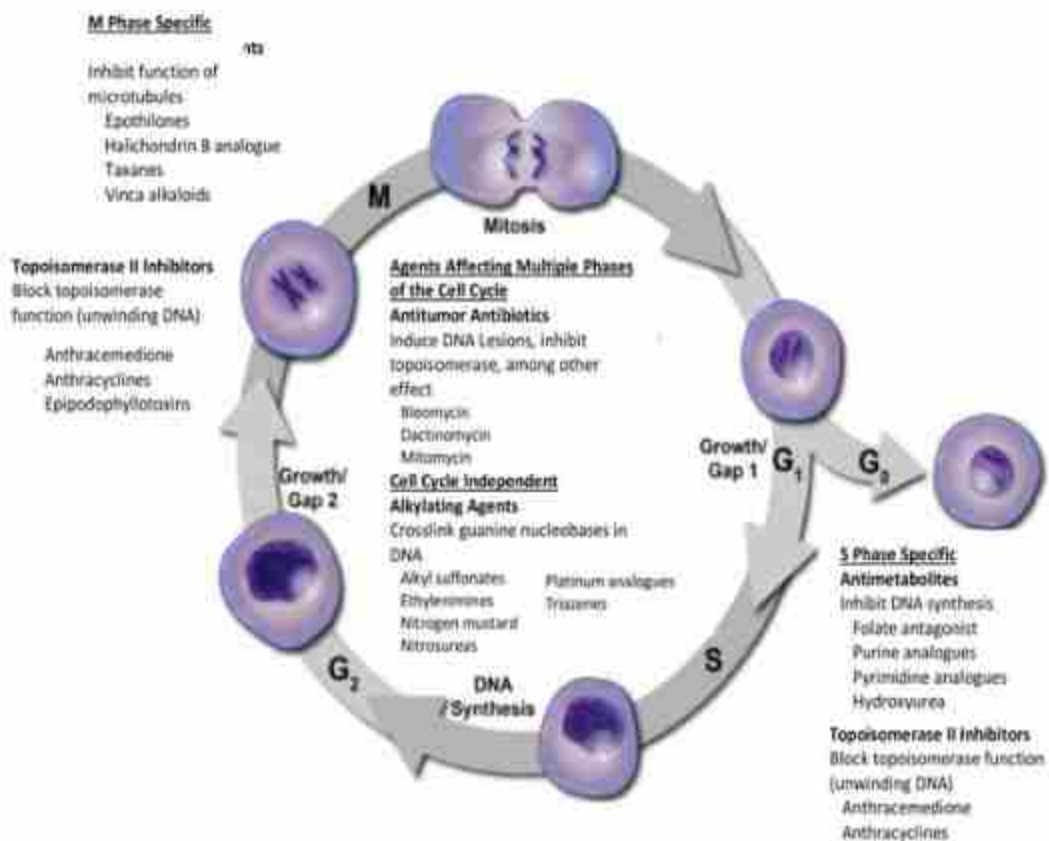
Mature cells do not pass the checkpoint (they enter G₀ state)

Gambar 2. Siklus sel dan *checkpoint* di antaranya.³⁰

Adanya mutasi pada *oncogene* dan *tumor suppressor gene* dapat mengganggu kemampuan sel untuk memperbaiki DNA yang rusak serta memicu proliferasi sel yang tidak terkontrol sehingga terbentuklah kanker.³⁰

MEKANISME KEMOTERAPI SITOTOKSIK

Kemoterapi sitotoksik adalah agen yang mekanismenya menyebabkan kematian sel atau mencegah pertumbuhan sel melalui penghambatan fungsi mikrotubul, fungsi protein, atau sintesis DNA. Berbagai kemoterapi sitotoksik menghambat siklus sel pada berbagai fase.³¹



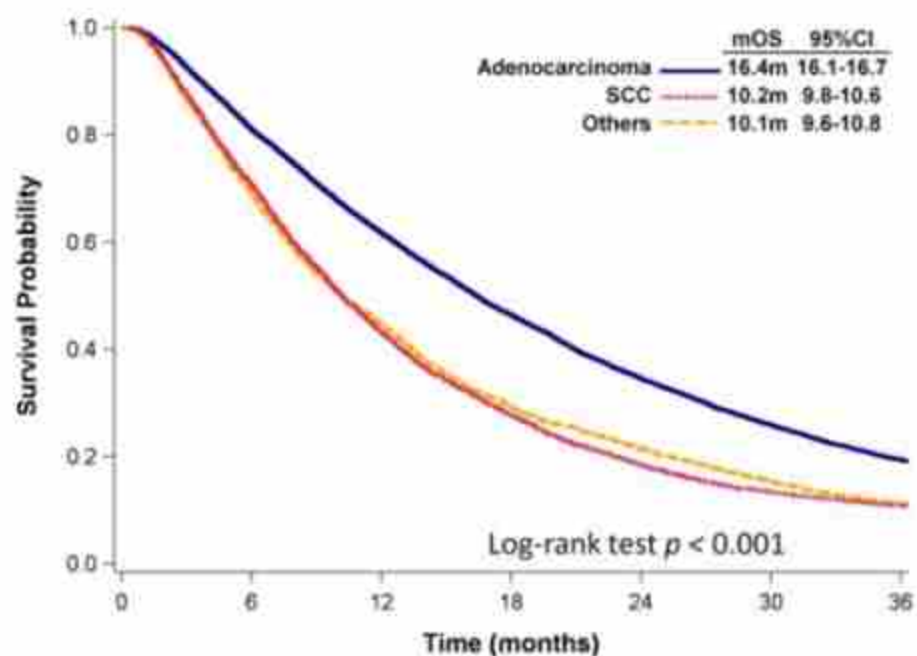
Gambar 3. Mekanisme kerja berbagai kemoterapi sitotoksik pada siklus sel.³¹

PERAN KEMOTERAPI SITOTOKSIK DAN TERAPI TARGET

Pada tahun 1995, NSCLC *Collaborative Group* mempublikasi suatu meta-analisis yang menilai dampak kemoterapi pada semua stadium NSCLC. Pada penyakit stadium lanjut dan yang telah mengalami metastasis, kemoterapi berbasis platinum memberikan keuntungan ketahanan hidup yang lebih baik dibandingkan *best supportive care* (BSC). Walaupun angka ketahanan hidup tidak terlalu jauh berbeda, hal tersebut signifikan secara klinis maupun statistik.³² Pada NSCLC tanpa adanya *driver mutations*, kemoterapi sitotoksik menjadi pilihan terapi. Kemoterapi *doublet* berbasis platinum adalah standar terapi lini pertama untuk kelompok pasien tersebut. *Gemcitabine*, *vinorelbine*, *docetaxel*, *paclitaxel*, dan *pemetrexed* merupakan agen kemoterapi standar yang dikombinasi dengan platinum.³³

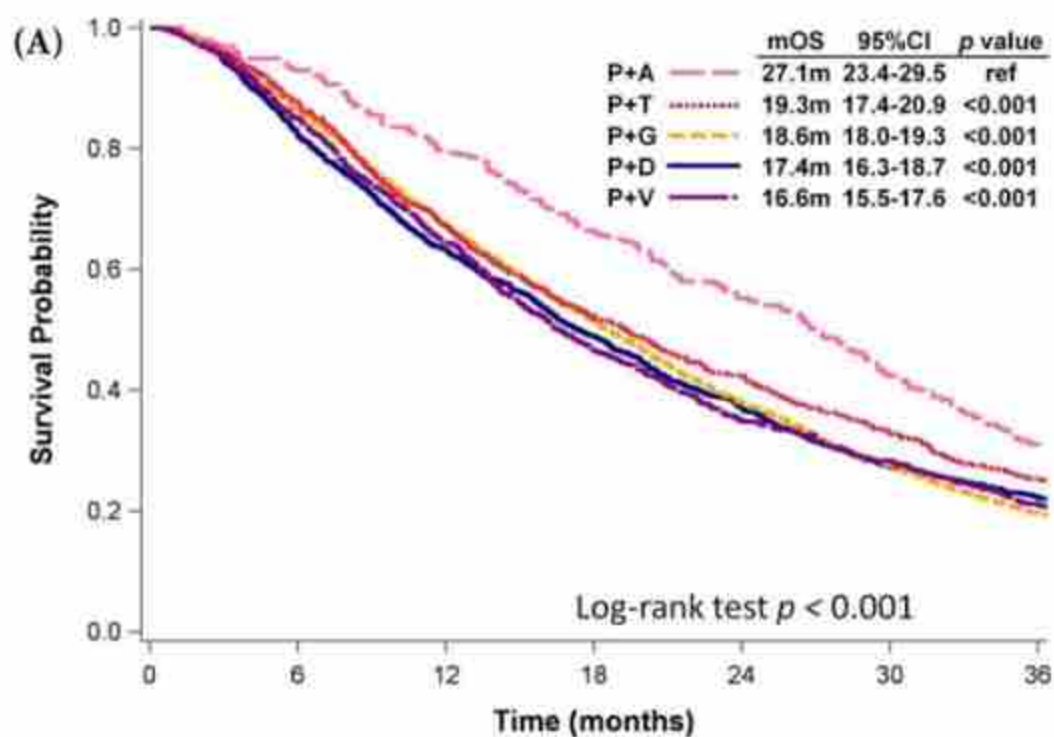
Pada kanker paru jenis *squamous cell carcinoma*, berbagai kombinasi kemoterapi *doublet* berbasis platinum menunjukkan hasil ketahanan hidup yang relatif sama. Dari suatu penelitian di Taiwan menunjukkan pada seluruh pasien NSCLC stadium lanjut, median *overall survival* (OS) adalah 13,9 bulan. Pasien adenokarsinoma memiliki median OS yang secara signifikan lebih panjang dibandingkan *squamous cell carcinoma* atau

NSCLC dengan histologi lain (16,4; 10,2; 10,1 bulan, nilai $p < 0,001$).³³



Gambar 4. Grafik perbandingan median OS berbagai histologi kanker paru (SCC: *squamous cell carcinoma*).³³

Pada pasien yang menerima kemoterapi *doublet* berbasis platinum untuk adenokarsinoma paru stadium lanjut, kelompok pasien yang diterapi dengan *pemetrexed* menunjukkan median OS (27,1 bulan) yang secara signifikan lebih panjang dibandingkan kelompok pasien lainnya (16,6-19,3 bulan, nilai $p < 0,001$).



Gambar 5. Grafik perbandingan median OS berbagai kombinasi kemoterapi pada pasien *adenocarcinoma* (P: platinum; A: pemetrexed; T: paclitaxel; G: gemcitabine; D: docetaxel; V: vinorelbine).³³

Walaupun 70-80% pasien mendapat keuntungan klinis dari kemoterapi lini pertama, data OS yang dicapai pasien masih mengecewakan dengan rata-rata kurang dari 12 bulan dan angka ketahanan hidup 5 tahun masih kurang dari 1%. Pada tahun-tahun belakangan ini, terapi target telah dikembangkan sebagai pilihan terapi untuk kanker paru. Penggunaan EGFR *tyrosine kinase inhibitor* (TKI), seperti *gefitinib* dan *erlotinib*, menunjukkan aktivitas antitumor yang baik pada pasien dengan NSCLC stadium lanjut, khususnya pasien dengan mutasi

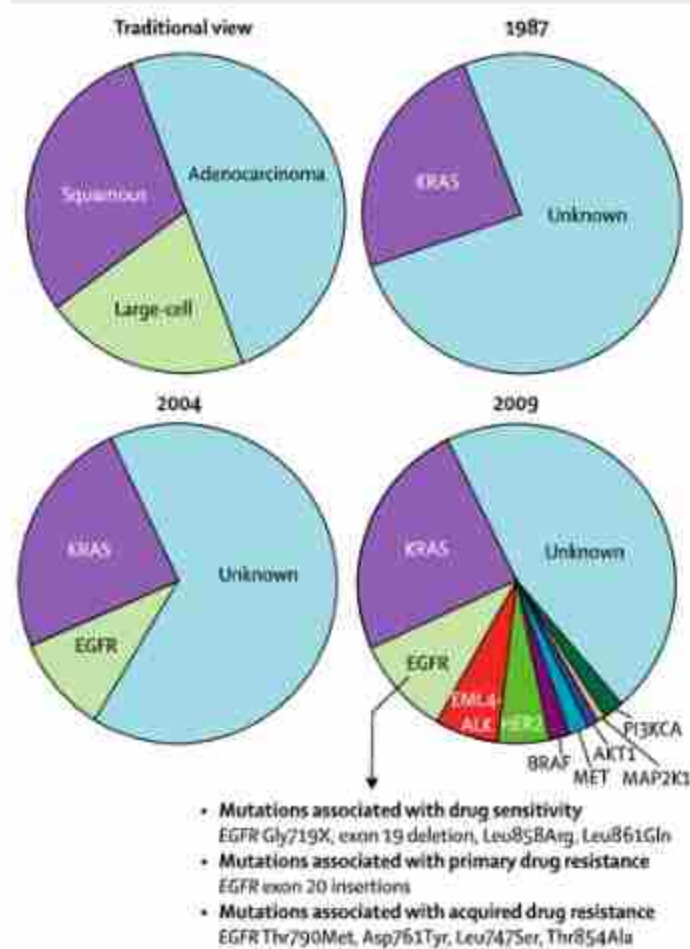
EGFR. Suatu penelitian di Jepang menunjukkan angka ketahanan hidup secara signifikan lebih panjang pada pasien yang menerima terapi *gefitinib*.³⁴ Dari hasil beberapa penelitian yang membandingkan EGFR-TKI dengan kemoterapi lain menunjukkan bahwa EGFR-TKI generasi pertama memang secara signifikan tidak meningkatkan OS, namun meningkatkan *progression free survival* (PFS) dan *response rate* (RR).³⁵

Tabel 2. Berbagai penelitian yang meneliti imunoterapi EGFR-TKI sebagai lini pertama pada pasien NSCLC dengan mutasi EGFR.³⁵

Penelitian	Terapi	Median PFS (bulan)	Median OS (bulan)	RR (%)
IPASS	Gefitinib vs carboplatin-paclitaxel	9,5 vs 6,3	21,6 vs 21,9	71,2 vs 47,3
WJTOG3405	Gefitinib vs cisplatin-docetaxel	9,2 vs 6,3	36 vs 39	62,1 vs 32,2
NEJ002	Gefitinib vs carboplatin-paclitaxel	10,8 vs 5,4	27,7 vs 26,6	73,7 vs 30,7
OPTIMAL	Erlotinib vs gemcitabine-carboplatin	13,1 vs 4,6	22,7 vs 28,9	83 vs 36
First-Signal	Gefitinib vs gemcitabine-cisplatin	8,0 vs 6,3	27,2 vs 25,6	84,6 vs 37,5
EURTAC	Erlotinib vs cis-docetaxel/gemcitabine	9,7 vs 5,2	19,3 vs 19,5	58 vs 15
LUX-Lung 3	Afatinib vs cisplatin-pemetrexed	11,1 vs 6,9	31,6 vs 28,2	56 vs 23
LUX-Lung 6	Afatinib vs gemcitabine-cisplatin	11,0 vs 5,6	23,6 vs 23,5	66,9 vs 23

Driver Mutations Sebagai Terapi Target

Penentuan pilihan terapi kanker paru didasarkan oleh stadium serta jenis histologinya (NSCLC dan SCLC).³⁶ Pemberian kemoterapi standar dengan kombinasi berbasis platinum untuk NSCLC stadium akhir telah mencapai efikasi yang *plateau*, walaupun pentingnya menentukan histologi secara spesifik dalam pemilihan terapi telah dibuktikan dalam berbagai penelitian dengan randomisasi, yaitu pada pasien NSCLC *non-squamous* penggunaan *pemetrexed* memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan *gemcitabine*.³⁷



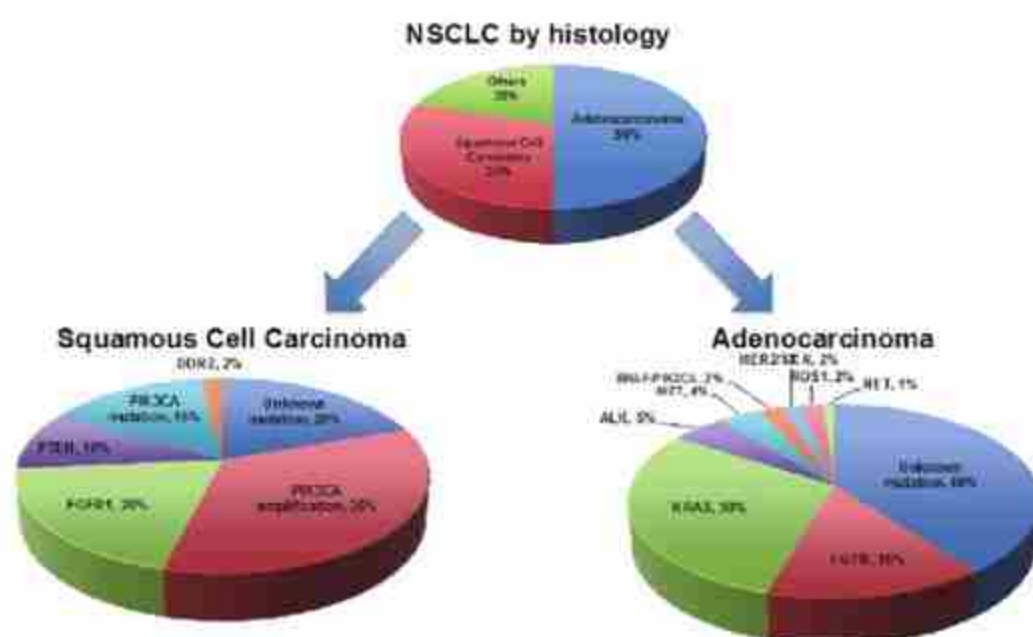
Gambar 6. Diagram evolusi dari pembagian histologi NSCLC.³⁶

Salah satu strategi penting dalam terapi kanker paru adalah dengan menentukan sub-divisi dari NSCLC berdasarkan *driver mutations* yang spesifik (Tabel 3). Mutasi ini terjadi pada gen yang mengkode protein pensinyalan yang penting dalam proliferasi serta ketahanan hidup dari sel. *Oncogene* mutan akan menstimulasi pembentukan tumor serta mempertahankan kemampuan tumor tersebut untuk terus hidup. Oleh karena itu, kanker dapat mengandalkan ekspresi *oncogene* mutan tersebut

untuk terus tumbuh, walaupun tidak ditemukan *tumor-suppressor genes*. Konsep ini disebut juga “adiksi onkogen”.^{38,39} Hal ini menunjukkan bahwa tumor yang memiliki kelainan tersebut memiliki kelemahan yang dapat diidentifikasi serta diobati dengan terapi target spesifik.

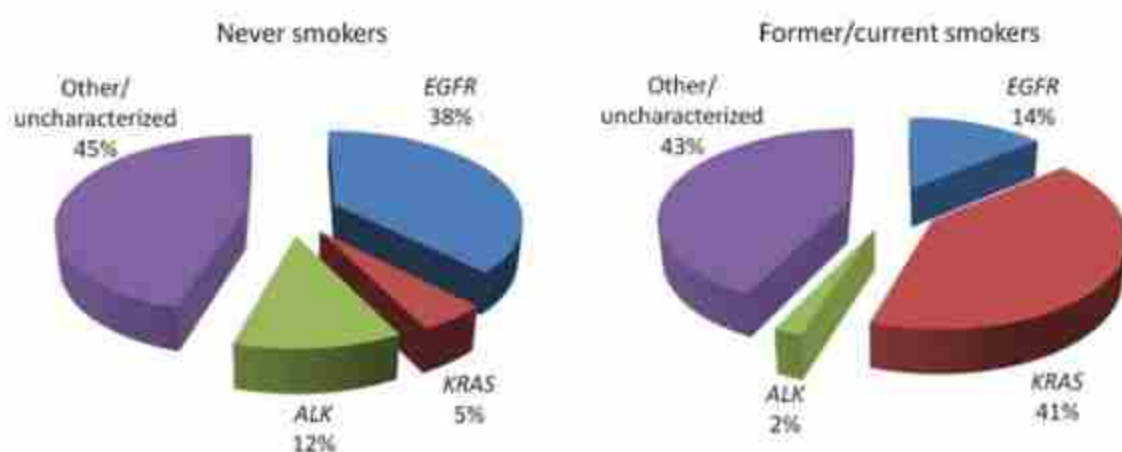
Tabel 3. *Driver mutations* yang umum ditemukan pada NSCLC.³⁹

	Tipe perubahan	Frekuensi
EGFR	Mutasi	10-35%
ALK	<i>Rearrangement</i>	3-7%
ROS1	<i>Rearrangement</i>	1%
RET	<i>Rearrangement</i>	1%
BRAF	Mutasi	1-3%
FGFR-1	Amplifikasi	20%
MET	Amplifikasi	2-4%

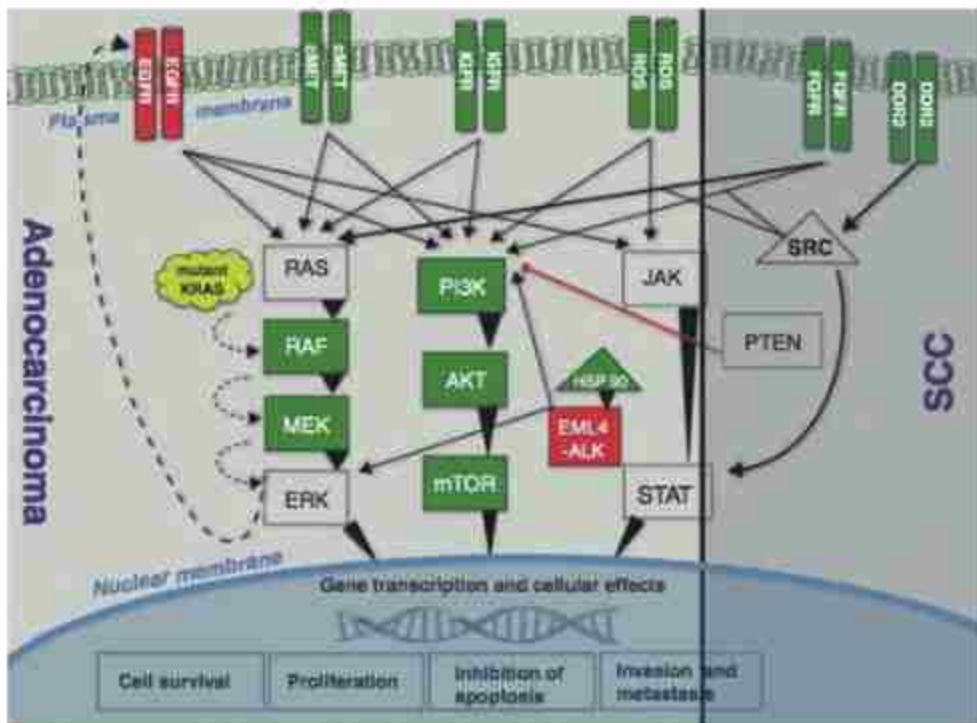


Gambar 7. Diagram perbandingan *driver mutations* berdasarkan jenis histologi NSCLC.⁴⁰

Secara sederhana, jenis NSCLC dibagi menjadi *adenocarcinoma*, *squamous cell carcinoma*, dan *large cell carcinoma*. Diketahui beberapa *driver mutations* pada *adenocarcinoma* (60%) dan pada *squamous cell carcinoma* (50-80%) (Gambar 7).⁴⁰ Setiap grup terdiri dari individu dengan mutasi yang berbeda, sehingga menentukan prognosis secara umum. Pada kasus *adenocarcinoma*, pasien perokok/mantan perokok dengan yang tidak pernah merokok bukan merupakan sub-grup yang homogen. Pasien yang tidak pernah merokok memiliki proporsi mutasi EGFR yang lebih tinggi, sedangkan pada perokok/mantan perokok memiliki proporsi mutasi KRAS yang lebih tinggi (Gambar 8).⁴¹



Gambar 8. Diagram perbandingan *driver mutations* pada kelompok perokok/mantan prokok dengan pasien yang tidak pernah merokok dengan histologi *adenocarcinoma*.⁴¹



Gambar 9. Ikhtisar jalur molekular dan target potensial pada NSCLC.⁴⁴

Mutasi pada reseptor atau protein kinase dapat menstimulasi kaskade dari jalur pensinyalan yang kompleks, seperti jalur *PI3K-AKT-mTOR*, *RAS-RAF-MEK-ERK* atau *MAPK*, atau *JAK-STAT*.^{42,43} Jalur-jalur tersebut menyebabkan pertumbuhan dan proliferasi yang tidak terkontrol, serta ketahanan hidup kanker (Gambar 9). Terapi target yang sukses melibatkan identifikasi dan inhibisi jalur yang mengalami peningkatan regulasi tersebut, baik dengan inhibitor molekul atau antibodi monoklonal reseptor.^{44,45}

Mutasi Epidermal Growth Factor Receptor

EGFR SIGNALING PATHWAY

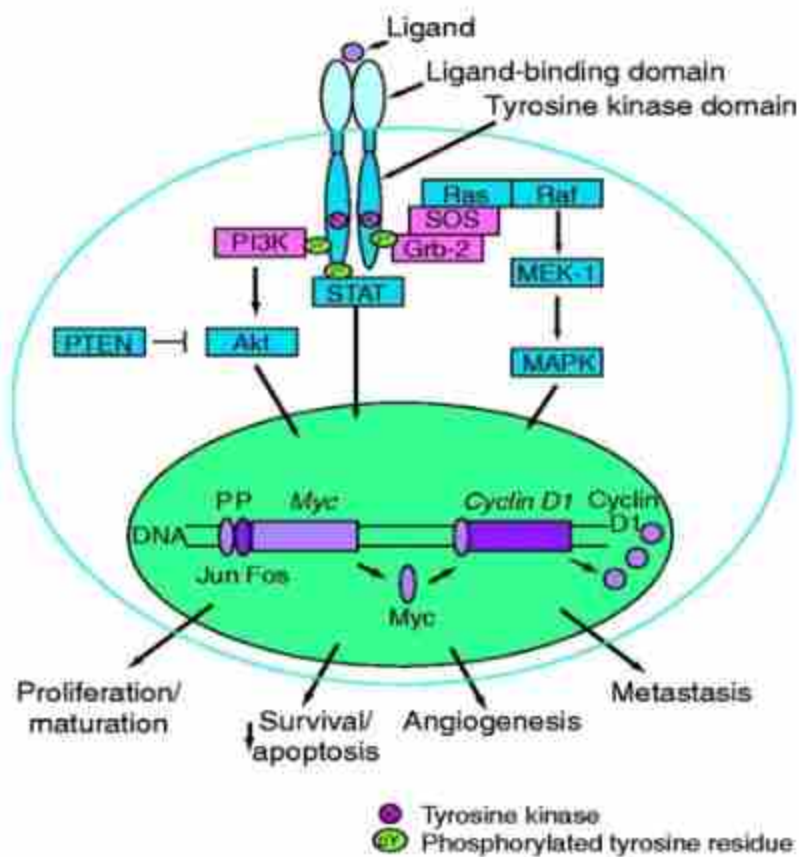
Dalam upaya untuk mencari zat anti kanker baru yang dapat membedakan sel maligna dan sel normal, para peneliti berupaya menyingkap misteri penyimpangan jalur metabolisme biokimiawi maupun molekuler yang membedakan kedua jenis sel tersebut. Tirosin kinase adalah protein yang berperan dalam pertumbuhan sel. Beberapa jenis famili tirosin kinase telah diidentifikasi, banyak di antaranya merupakan bagian integral dari suatu reseptor transmembran. Aktivitas tirosin kinase yang meningkat merupakan salah satu ciri sel kanker. Penelitian selanjutnya mengarah pada reseptor pada sel membran yang memiliki aktivitas tirosin kinase. Pertumbuhan dan perkembangan pada sel normal maupun sel kanker sangat tergantung pada aktivasi reseptor. Aktivasi tersebut yang selanjutnya akan mengendalikan jalur transduksi sinyal intraseluler, mengatur proliferasi sel dan apoptosis, adhesi, angiogenesis, dan pergerakan sel.⁴⁶

Epidermal growth factor receptor (EGFR) merupakan salah satu reseptor tersebut, yang termasuk dalam kelompok reseptor tirosin kinase *ErbB*. Terdapat empat macam reseptor yaitu: *ErbB1* atau *HER1* (EGFR), *ErbB2* atau *HER2/neu*, *ErbB3* atau *HER3*, dan *ErbB4* atau *HER4*.⁴⁷ Reseptor-reseptor tersebut adalah glikoprotein transmembran yang dapat dijumpai pada hampir semua jenis sel. Strukturnya terdiri dari satu *ligand-binding domain* ekstraseluler, satu domain transmembran, dan satu domain intraseluler yang memiliki aktivitas tirosin kinase untuk transduksi sinyal (Gambar 10).⁴⁸

Aktivasi EGFR akan terjadi bila suatu *ligand*, misalnya *epidermal growth factor* (EGF), *transforming growth factor- α* (TGF- α), atau *amphiregulin* berikatan dengan domain ekstraseluler. Beberapa jenis *ligand* EGFR yang lainnya yaitu *betacellulin*, *epiregulin*, *vaccinia virus growth factor* (VGF), dan *heparin-binding EGF* (HB-EGF). Ikatan antara ligand dan domain ekstraseluler menyebabkan dimerisasi antar dua monomer reseptor EGFR, atau antara satu reseptor EGFR dengan satu jenis reseptor *ErbB* lainnya. Berikutnya akan terjadi aktivasi protein tirosin kinase intrinsik berupa ikatan dengan satu molekul ATP dan otofosforilasi tirosin. Kedua proses tersebut memicu pengerahan (*recruitment*) dan fosforilasi beberapa substrat intraseluler, yang selanjutnya

mengaktifkan sinyal mitogenik dan beberapa aktivitas seluler lainnya.^{49,50}

Reseptor yang tidak memiliki fungsi kinase (misalnya akibat mutasi pada *ATP binding site*) tidak mampu menunjukkan respons biokimiawi yang sepenuhnya menyusul ikatan antara reseptor tersebut dengan ligannya. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas tirosin kinase dari reseptor diperlukan untuk transduksi sinyal seluler. Salah satu jalur transduksi sinyal yang penting pada kelompok reseptor *ErbB* adalah jalur protein kinase (*MEK-1, MAPK*) yang diaktifkan oleh *mitogen Ras-Raf*. Jalur lainnya meliputi *phosphatidylinositol 3-kinase – protein kinase Akt* dan jalur *JAK-STAT3/5*.⁴⁸



Gambar 10. Transduksi sinyal melalui EGFR.⁴⁸

Setelah mengalami aktivasi, *Akt* menghantarkan sinyal yang mengendalikan beberapa proses biologis antara lain: apoptosis, ekspresi gen, dan proliferasi sel. *Akt* mengirimkan sinyal *survival* (anti-apoptotik) kepada sel dengan cara memfosforilasi beberapa target tertentu, antara lain *BAD* (suatu faktor proapoptotik yang termasuk dalam famili *Bcl-2*) dan enzim *Caspase-9* (salah satu enzim yang berperan dalam jalur apoptosis sel). Selain itu *Akt* juga memiliki peran yang menonjol dalam mengendalikan progresi siklus sel.⁴⁸ Hasil akhir dari aktivasi jalur transduksi sinyal EGFR adalah

meningkatnya proliferasi sel, terhambatnya apoptosis, meningkatnya angiogenesis dan metastasis.

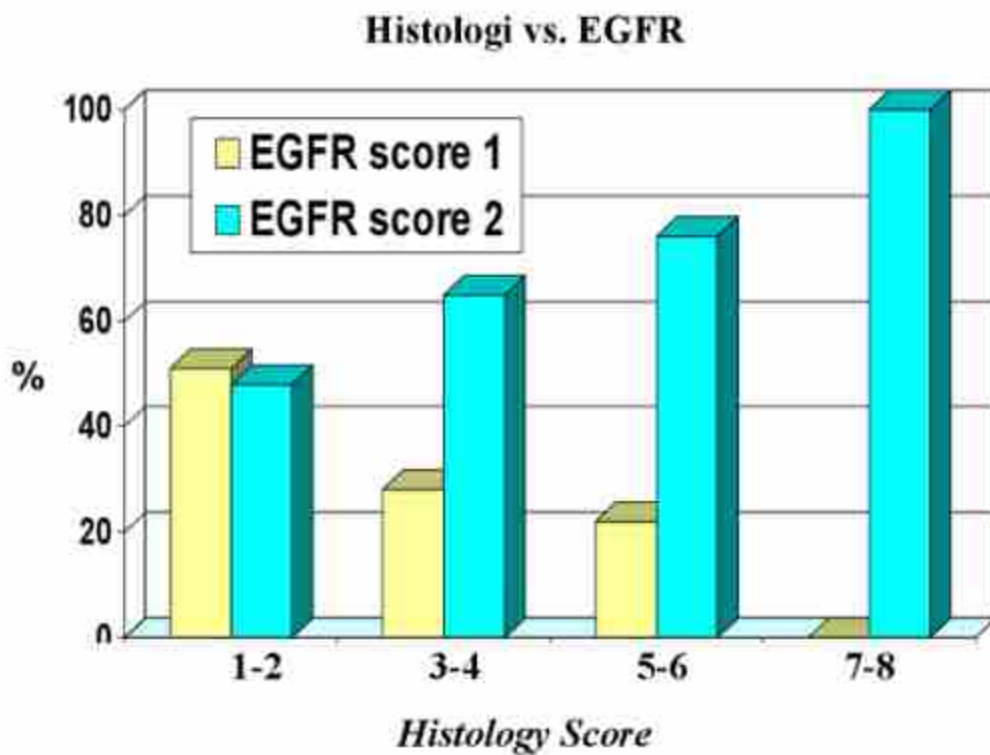
EKSPRESI EGFR PADA KANKER PARU

Transduksi sinyal melalui jalur EGFR mempengaruhi banyak aspek biologi kanker. Aktivasi EGFR terbukti meningkatkan pertumbuhan sel dan progresivitas kanker, peningkatan proliferasi sel, angiogenesis, invasi atau metastasis, dan hambatan proses apoptosis (Gambar 10). Ekspresi EGFR pada beberapa jenis kanker ternyata berkorelasi dengan progresivitas penyakit, ketahanan hidup yang pendek, dan timbulnya resistensi terhadap terapi sitotoksik.^{48,51} Ekspresi EGFR dalam jumlah tinggi dijumpai pada beberapa jenis kanker antara lain: paru (NSCLC), prostat, payudara, lambung, kolorektal, dan ovarium.

Selain ekspresi EGFR, terdapat mekanisme lain yang dapat mempengaruhi transduksi sinyal, antara lain adanya mutasi pada EGFR.⁴⁸ Mutan yang paling sering dijumpai adalah EGFRvIII. Mutan ini tidak memiliki *ligand-binding domain* eksternal, tetapi memiliki tirosin kinase yang selalu dalam keadaan teraktivasi walaupun lemah. Pada umumnya EGFRvIII diekspresikan secara berlebihan sebagai akibat amplifikasi gen dan dapat dijumpai pada kanker otak, kanker

paru (NSCLC), kanker payudara, kanker prostat dan lambung, tetapi belum pernah ditemukan pada sel-sel non-maligna.^{48,52} Mekanisme lain yang dapat menyebabkan penyimpangan aktivitas kinase EGFR antara lain: ekspresi *ligand* yang berlebihan, heterodimerisasi dengan *HER2*, dan aktivasi silang oleh jaringan transduksi sinyal lainnya.⁵³

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui ekspresi EGFR pada jaringan bronkial preneoplastik.^{54,55} Pada mukosa bronkial normal maupun pada daerah hiperplastik dan metaplastik, EGFR banyak diekspresikan pada lapisan sel basal, namun tidak pada sel luminal. Hasil perbandingan daerah mukosa bronkial normal dengan daerah hiperplasi epitel dan daerah kanker, ternyata ekspresi EGFRnya makin meningkat. Hal tersebut menyiratkan adanya peranan EGFR yang progresif dalam karsinogenesis paru (Gambar 11).⁵⁶



Gambar 11. Ekspresi EGFR pada epitel bronkial. Prosentasi over-ekspresi EGFR makin meningkat dengan makin meningkatnya derajat kelainan histologis. EGFR *score* 1= ekspresi EGFR normal, *score* 2= over-ekspresi EGFR. *Histology score* 1 dan 2= normal dan hiperplasia sel basal, 3 dan 4= metaplasia dan displasia ringan, 5 dan 6= displasia sedang dan berat, 7 dan 8= karsinoma *in situ* dan kanker invasif.⁵⁶

Ekspresi EGFR yang berlebihan didapatkan pada 49-89% penderita NSCLC. Sebagian besar didapatkan pada *squamous cell carcinoma* (70%), disusul *adenocarcinoma* (50%), dan *large cell carcinoma*. Jarang sekali ditemukan ekspresi EGFR pada *small-cell lung cancer*. Pada beberapa penelitian, adanya over-ekspresi EGFR bahkan dianggap sebagai faktor

prognostik buruk, namun untuk kanker paru pendapat ini masih dipertentangkan.⁵⁴

Ada berbagai metode untuk mengukur ekspresi EGFR, baik pada tingkat DNA, RNA, maupun protein, demikian pula tingkat aktivasi reseptor *in situ*. Metode yang umum dipakai pada tingkat protein adalah teknik imunohistokimia (IHC). Walaupun metode ini dapat memberikan informasi tentang distribusi EGFR dalam sel, namun masih banyak kelemahannya antara lain: belum ada sistem skoring yang standar; belum ada konsensus untuk menentukan *cut-off point* antara negatif, positif lemah, sedang, atau kuat; dan belum konsistennya antibodi monoklonal yang digunakan sehingga sensitivitas antar *assay* berubah-ubah. Metode lain yang dapat digunakan adalah *Western analysis* atau *enzyme immunoassay* (EIA). Pengukuran EGFR pada tingkat RNA dapat menggunakan *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR) dan *Northern analysis*. Pengukuran EGFR pada tingkat DNA dapat dilakukan dengan teknik *fluorescence in situ hybridization* atau PCR kuantitatif, yang memungkinkan deteksi perubahan gen EGFR, misalnya amplifikasi gen, mutasi atau delesi.⁵⁵

EGFR SEBAGAI SASARAN TERAPI ANTI KANKER PARU

Rasional

Seperti yang sudah dibahas dalam paragraf-paragraf sebelumnya, maka berikut ini alasan rasional EGFR menjadi sasaran dari terapi anti kanker:

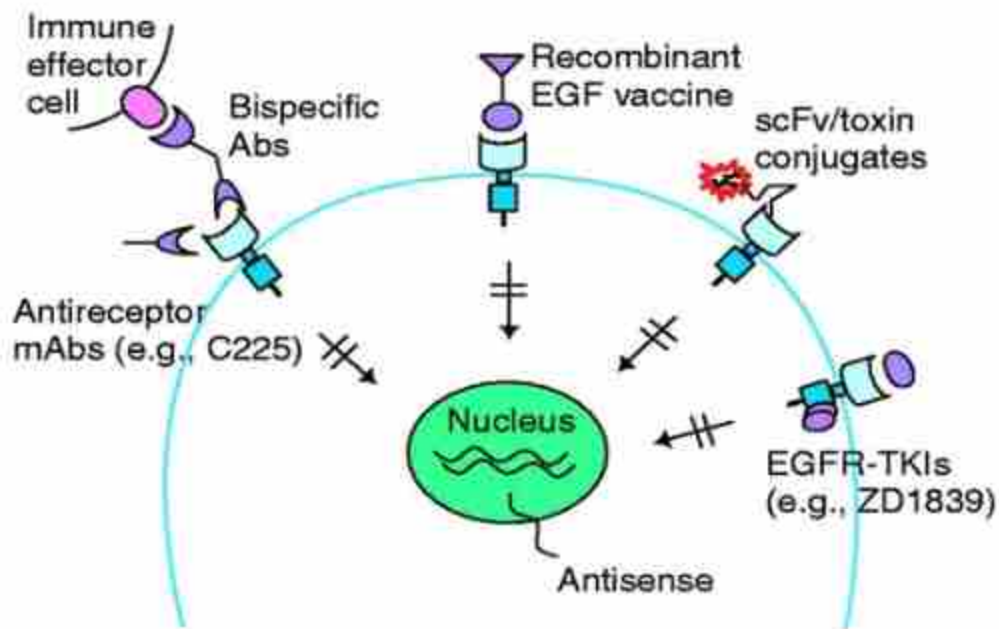
- Dibandingkan dengan jaringan normal, jaringan kanker ganas sebagian besar mengekspresikan EGFR yang lebih tinggi.^{56,57}
- Peningkatan proporsi tumor dengan EGFR positif yang sejalan dengan peningkatan ukuran tumor (47,6% pada T3-4 dibanding 21,4% pada T1-2), dan peningkatan stadium tumor (44,9% pada stadium III-IV dibanding 19,0% pada stadium I-II).⁵⁷
- Tingkat ekspresi EGFR dapat digunakan sebagai prognostik. Terdapat korelasi yang bermakna antara ekspresi EGFR dengan resistensi terhadap kemoterapi dan radiasi. Tingkat ekspresi yang tinggi mengindikasikan hasil akhir yang buruk, dan survival yang pendek.^{15,57}
- Beberapa *ligand* EGFR seperti EGF dan TGF- α turut berperan langsung terhadap pertumbuhan dan progresivitas kanker. Di antaranya yaitu menginduksi angiogenesis, menginduksi pelepasan sitokin, deposisi

matriks ekstraseluler, mempengaruhi lingkungan pertumbuhan sel kanker, dan lain-lain.^{15,48}

Walaupun fakta-fakta pada kanker paru (NSCLC) belum sepenuhnya menjanjikan, namun setidaknya terdapat peluang bahwa manipulasi jalur transduksi sinyal EGFR dapat dipakai sebagai terobosan baru terapi anti kanker.^{15,48}

Strategi

Beberapa strategi yang berpotensi untuk digunakan menghambat transduksi sinyal melalui jalur EGFR antara lain: penghambatan domain *ligand-binding* ekstraseluler, penghambatan domain tirosin kinase intraseluler, penghambatan terhadap *ligand*, dan penghambatan terhadap sintesis EGFR (Gambar 12).^{15,48}



Gambar 12. Strategi penghambatan transduksi sinyal EGFR. (mAbs= *monoclonal antibodies*; EGF= *epidermal growth factor*, scFv= *single-chain fragment variable*; EGFR-TKI= *epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor*).⁴⁸

Penghambatan domain *ligand-binding* ekstraseluler dapat dilakukan dengan menggunakan antibodi monoklonal yang menghalangi ikatan dengan *ligand*. Beberapa contoh antibodi monoklonal yang saat ini tengah dikembangkan antara lain *IMC-C225* dan *ABX-EGF*. Strategi lain yang juga diteliti adalah mempermudah sel-sel imunokompeten (*NK cell*) untuk mengenali sel kanker dengan cara “membuat” antibodi bispesifik (misalnya *MDX-447*) yang memiliki kemampuan mengikat domain *ligand-binding* ekstraseluler maupun *epitope* yang berada pada permukaan sel-sel imunokompeten. Antibodi juga dapat dikonjugasikan dengan toksin. *Single-chain*

fragment variable (scFv) misalnya, dapat dikonjugasikan dengan *pseudomonas endotoxin A* (ETA) atau toksin lainnya, menjadi scFv-14e1-ETA-*fusion toxin*, yang mampu berikatan dengan EGFR dan EGFRvIII dengan afinitas yang sama, namun dengan toksisitas yang 100 kali lipat terhadap tumor yang mengekspresikan.⁴⁸

Molekul *EGFR tyrosine kinase inhibitor* (EGFR-TKI) dapat digunakan untuk menghambat domain tirosin kinase intraseluler dengan menghalangi terjadinya ikatan ATP dan domain tirosin kinase. Hal tersebut akan menghambat aktivitas tirosin kinase dan otoposforilasi, serta menghambat transduksi sinyal melalui jalur EGFR. Beberapa contoh molekul jenis ini antara lain adalah *ZD1839* (*gefitinib*) dan *OSI-774* (*erlotinib*) yang telah melewati fase penelitian klinis.^{15,48,58}

Gefitinib adalah senyawa *anilinoquinazoline* dengan berat molekul ~447Da. *Gefitinib* mampu menghambat EGFR *tyrosine kinase* dengan *50% inhibitory concentration* sebesar 0,27–33 $\mu\text{mol/L}$, atau 100 kali lebih kecil daripada konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat kinase *HER2*, *KDR*, *MEK-1*, atau *MEK-2*. Senyawa ini aktif secara oral dengan bioavailabilitas sekitar 60%. Kadar puncak plasma dicapai 3–7 jam setelah dosis oral. Konsentrasi *steady state* dicapai setelah

10 hari. Eliminasi *gefitinib* melalui metabolisme di hati terutama melalui *CYP3A4* dan diekskresi dalam *faeces*. Ekskresi melalui ginjal sangat kecil (< 4%). Obat-obat lain yang dimetabolisme melalui *CYP3A4* (seperti *rifampicin*, *phenytoin*, *ketoconazole*, atau *itraconazole*) juga warfarin, ranitidin dan cimetidin berpotensi menimbulkan interaksi dengan *gefitinib*.⁵⁹

Validasi Preklinik

Baik penelitian *in vitro* maupun *in vivo* membuktikan bahwa EGFR-TKI dapat menghambat proses pertumbuhan dan progresi kanker yakni: proliferasi, apoptosis, metastasis, dan angiogenesis. *Gefitinib* mampu menghentikan siklus pertumbuhan sel, meningkatkan apoptosis, dan memiliki efek anti-angiogenik pada suatu penelitian *in vitro*.⁶⁰ *Gefitinib* mampu menghalangi migrasi sel kanker dengan cara menghambat aktivitas *p21-activated kinase 1* yang berperan penting menentukan arah pergerakan dan *survival* sel.

Penelitian-penelitian *in vivo* pada beberapa jenis kanker (antara lain: prostat, payudara, ovarium, usus besar, dan NSCLC) juga mendukung hasil penelitian *in vitro*.^{60,61} Uji preklinik menunjukkan bahwa *gefitinib* berpotensi untuk

digunakan secara kombinasi dengan kemoterapi sitotoksik atau *ionizing* radioterapi.^{62,63}

Validasi Klinik

Data-data penelitian klinis menunjukkan bahwa *gefitinib* bermanfaat untuk beberapa jenis tumor solid. Efek samping yang sering dijumpai adalah diare, ruam kulit (*rash*) ringan dan reversibel.^{64,65} Hasil uji klinis fase II membuktikan manfaatnya pada kanker kepala dan leher, serta NSCLC. Saat ini *gefitinib* telah melewati uji klinis fase III yang mengevaluasi terapi kombinasi *gefitinib* dengan kemoterapi sitotoksik pada penderita NSCLC.⁶⁴ Selain anti-proliferatifnya (menghasilkan *stable disease*) yang telah diprediksi sebelumnya, beberapa penderita bahkan berhasil mencapai respons parsial.

Pada penderita NSCLC, *gefitinib* hanya diindikasikan untuk stadium IIIB (*locally advance*) dan stadium IV (metastasis). Tiga dari empat uji klinis fase I pada penderita NSCLC yang gagal dengan beberapa macam regimen kemoterapi, ternyata melaporkan adanya perbaikan radiologis pada 10% penderita diikuti dengan perbaikan gejala klinis.^{64,66} Selanjutnya pada uji klinis fase II didapatkan perbaikan radiologis pada 14%, dan perbaikan gejala klinis pada 39% penderita.^{67,68} Hanya dalam

waktu satu minggu setelah awal pengobatan, dicapai perbaikan radiologis dan menetap dengan median durasi 12 bulan (rentang waktu: 4 bulan hingga > 60 bulan). Diperoleh perbaikan kualitas hidup sebesar 40,3–43,1% dari hasil pengukuran menggunakan kuesioner *Functional Assessment of Cancer Therapy – Lung Cancer Subscale (FACT-L)*.⁶⁹

Pada uji klinis fase III (multinasional, random, buta ganda, dengan kontrol plasebo) yang menggabungkan *gefitinib* dengan kemoterapi kombinasi *cisplatin+gemcitabine*, dan *carboplatin + paclitaxel* (INTACT 1 dan INTACT 2) ternyata tidak didapatkan perbaikan yang bermakna dibandingkan pengobatan tunggal kemoterapi. Diduga kedua modalitas terapi tersebut bekerja terhadap sasaran yang sama sehingga tidak menimbulkan efek aditif bila digabungkan. Kemungkinan yang lain adalah adanya faktor tertentu (misalnya *sequencing*) yang menentukan hasil interaksi antara *gefitinib* dengan kemoterapi.⁷⁰

Dari analisis grafik *Kaplan-Meier* pada penelitian INTACT 2, ada kemungkinan bahwa *gefitinib* mampu mempertahankan respons terhadap kemoterapi setelah kemoterapi tersebut dihentikan. Dengan demikian maka ada kemungkinan bahwa manfaat maksimal pemberian *gefitinib* adalah apabila

diberikan secara bergantian dengan kemoterapi. Dosis optimal *gefitinib* pada penelitian-penelitian tersebut adalah 250 mg per hari.⁶⁹

Hasil penelitian banyak menunjukkan bahwa respons hanya didapatkan pada sebagian penderita. Oleh karena itu, para peneliti berusaha untuk melakukan identifikasi mengenai faktor-faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan terapi *gefitinib* (Tabel 4). Pada penelitian internasional IDEAL 1⁶⁷ dan IDEAL 2⁶⁸ respons yang lebih baik didapatkan pada penderita suku bangsa Jepang, jenis kelamin wanita, status *performance* 0-1, gambaran histologi adenokarsinoma, dan yang tidak pernah merokok. Selain itu sensitivitas terhadap *gefitinib* tampaknya juga ditentukan oleh jenis mutasi domain tirosin kinase dari EGFR. Delesi atau substitusi asam amino pada exon 18, 19, dan 21 diduga kuat sebagai prediktor sensitivitas terhadap *gefitinib*. Data-data tersebut perlu dipertimbangkan dengan seksama sebelum mulai memberikan *gefitinib* pada penderita NSCLC.⁶⁴

Tabel 4. Faktor-faktor klinis pre-pengobatan yang memprediksi sensitivitas terhadap *gefitinib*.⁷⁰

Faktor-faktor yang memprediksi sensitivitas terhadap Gefitinib

Tidak pernah merokok

Hasil PA adenokarsinoma tipe bronkioloalveolar

Jenis kelamin wanita

Dilahirkan di / suku bangsa Asia Timur

Faktor yang tidak memprediksi sensitivitas terhadap Gefitinib

Jenis kemoterapi yang diberikan sebelumnya

Jumlah siklus regimen kemoterapi sebelumnya

Intensitas pewarnaan EGFR pada spesimen PA (IHC)

RESISTENSI TERHADAP EGFR-TKI

Saat ini identifikasi mutasi gen EGFR pada pengobatan NSCLC menjadi penting karena mutasi EGFR berfungsi sebagai faktor prediktif untuk kepekaan obat. Di sisi lain, muncul masalah klinis baru yang akhir-akhir ini banyak diteliti, yaitu adanya resistensi terhadap agen EGFR-TKI. Terdapat dua mekanisme terjadinya resistensi EGFR-TKI yaitu resistensi primer dan resistensi yang didapat (*acquired resistance*). Adanya mutasi insersi pada exon 20 gen EGFR dan adanya mutasi KRAS serta aktivasi jalur sinyal paralel VEGF, diyakini merupakan penyebab terjadinya resistensi primer terhadap terapi EGFR-TKI. Sedangkan resistensi yang didapat biasanya terjadi dalam waktu 6-12 bulan setelah

mendapat terapi awal dengan EGFR-TKI. Penyebab terjadinya resistensi yang didapat yaitu adanya mutasi sekunder T790M pada gen EGFR, amplifikasi gen MET dan adanya overekspresi dari *hepatocyte growth factor* (HGF).⁷¹

Mutasi sekunder T790M pada gen EGFR

Mutasi sekunder dari gen EGFR dilaporkan sebagai mekanisme pertama terjadinya resistensi EGFR-TKI pada tahun 2005. Mutasi sekunder terjadi akibat perubahan *threonine* menjadi *methionine* pada kodon 790 (T790M). Sebuah pemodelan struktur kristal menunjukkan bahwa T790 terletak di regio katalitik tempat ikatan ATP dengan *gefitinib* atau *erlotinib*. Adanya mutasi sekunder tersebut menyebabkan obat tidak dapat berikatan dengan ATP sehingga proses transduksi sinyal EGFR akan terus terjadi. Sebuah analisis baru-baru ini menunjukkan bahwa mutasi T790M tidak berpengaruh langsung terhadap afinitas ikatan EGFR dan EGFR-TKI tetapi justru meningkatkan afinitas ikatan EGFR dan ATP sehingga menyebabkan penurunan relatif dalam mengikat EGFR-TKI. Hal tersebut sesuai dengan banyak penelitian yang melaporkan bahwa peningkatan afinitas ATP adalah mekanisme utama di mana mutasi T790M memberikan resistensi obat.^{71,72}

Mekanisme bagaimana mutasi sekunder T790M bisa terjadi pada gen EGFR, sampai sekarang belum dapat dijelaskan. Penelitian melaporkan bahwa sebelum terapi *gefitinib* diberikan, sebenarnya mutasi sekunder T790M telah terjadi dengan frekuensi rendah, namun tidak terdeteksi karena diselubungi oleh sel kanker. Setelah mendapat terapi *gefitinib*, jumlah sel kanker berkurang akibatnya perlahan-lahan mutasi sekunder T790M mulai tampak.^{72,73}

Amplifikasi gen MET

Dana-Farber Institute melaporkan bahwa amplifikasi gen *MET* berhubungan dengan resistensi terhadap *gefitinib* pada tahun 2007. *MET* adalah reseptor tirosin kinase yang afinitasnya tinggi terhadap *hepatocyte growth factor* (HGF) dan terlibat dalam metastasis, invasi dan angiogenesis tumor. *MET* menyebabkan fosforilasi reseptor *ErbB3*, sehingga transduksi sinyal jalur *PI3K/Akt* tetap teraktivasi (Gambar 9). Karena fenomena tersebut, sinyal proliferasi sel kanker akan terus berjalan walaupun fosforilasi EGFR telah dihambat *gefitinib*, akibatnya sel kanker menjadi resisten terhadap *gefitinib*. Namun apabila sinyal *MET* pada sel yang resisten dihambat, maka sel akan kembali sensitif terhadap *gefitinib*.^{72,74}

Insiden terjadinya amplifikasi gen *MET* pada pasien yang mengalami resistensi yang didapat yaitu sekitar 21%, sedangkan insiden pada pasien yang tidak mendapat terapi lebih jarang yaitu hanya 3%. Adanya temuan bahwa amplifikasi gen *MET* juga dapat terjadi pada pasien yang tidak diterapi, menimbulkan suatu kemungkinan bahwa sel yang telah mengalami amplifikasi gen *MET* sebelum pengobatan, jumlahnya bertambah setelah mendapat terapi dengan EGFR-TKI, mekanisme tersebut sama dengan terjadinya mutasi sekunder T790M.^{71,74}

Overekspresi HGF

Pada tahun 2008 sebuah kelompok riset Jepang melaporkan bahwa overekspresi *hepatocyte growth factor* (HGF), suatu *ligand* spesifik *MET*, ternyata berhubungan dengan resistensi terhadap EGFR-TKI. *Hepatocyte growth factor* (HGF) mengaktifasi sinyal jalur *PI3K/Akt* melalui fosforilasi *MET*. Menariknya, meskipun *MET* mengaktifkan sinyal *downstream* melalui reseptor *ErbB3* dan HGF menginduksi aktivasi sinyal melalui *MET*, namun aktivasi sinyal yang dilakukan HGF tidak tergantung oleh *ErbB3* atau EGFR (Gambar 9).⁷²

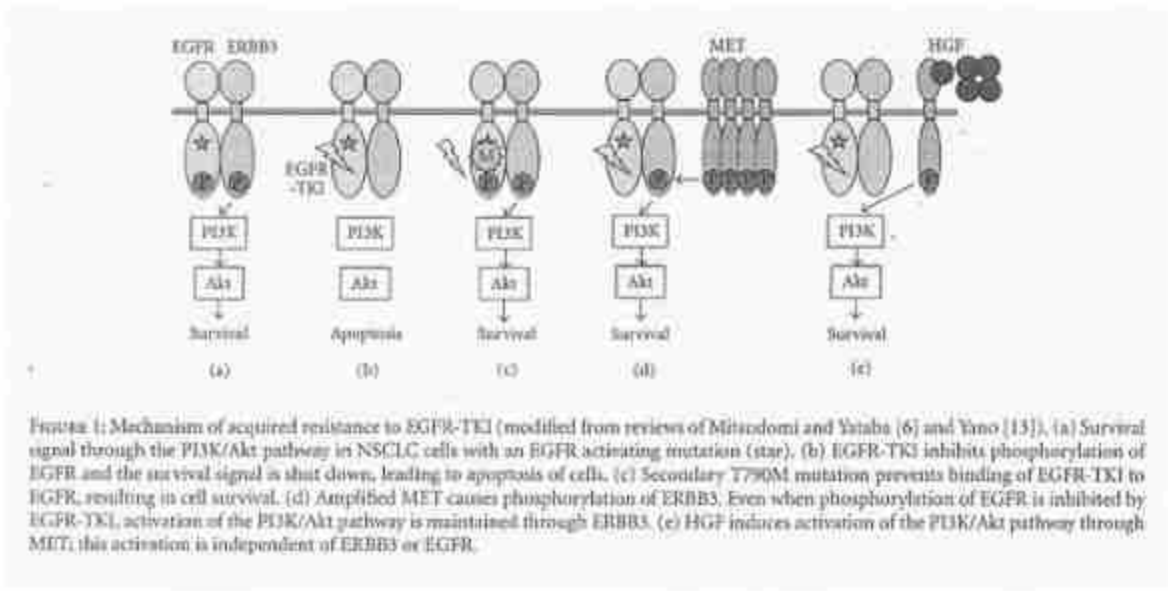


FIGURE 1: Mechanism of acquired resistance to EGFR-TKI (modified from reviews of Mitsudomi and Yanai (6) and Yano (13)). (a) Survival signal through the PI3K/Akt pathway in NSCLC cells with an EGFR activating mutation (star). (b) EGFR-TKI inhibits phosphorylation of EGFR and the survival signal is shut down, leading to apoptosis of cells. (c) Secondary T790M mutation prevents binding of EGFR-TKI to EGFR, resulting in cell survival. (d) Amplified MET causes phosphorylation of ERBB3. Even when phosphorylation of EGFR is inhibited by EGFR-TKI, activation of the PI3K/Akt pathway is maintained through ERBB3. (e) HGF induces activation of the PI3K/Akt pathway through MET; this activation is independent of ERBB3 or EGFR.

Gambar 13. Mekanisme resistensi yang didapat (*acquired resistance*) terhadap EGFR-TKI.⁷²

STRATEGI UNTUK MENGATASI RESISTENSI YANG DIDAPAT

Gefitinib dan *erlotinib* merupakan golongan EGFR-TKI yang bersifat reversibel, yang juga dikenal sebagai generasi pertama dari EGFR-TKI. Sebaliknya, generasi kedua dari EGFR-TKI atau disebut juga ireversibel EGFR-TKI merupakan obat yang saat ini sedang dikembangkan untuk mengatasi adanya resistensi. Tidak seperti generasi pertama EGFR-TKI, generasi kedua ini berikatan secara kovalen dan ireversibel dengan residu sistein reseptor EGFR. Hal tersebut menyebabkan

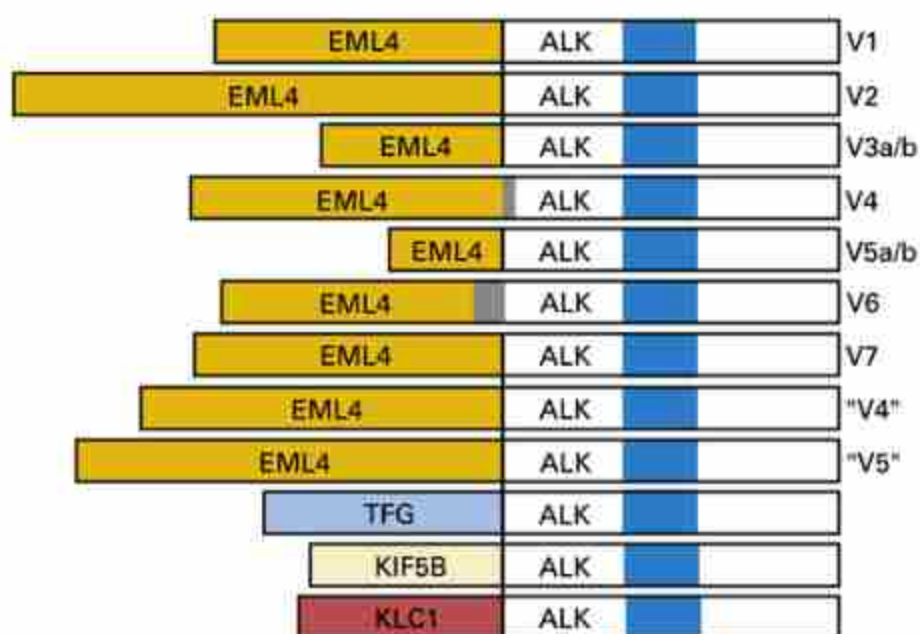
terjadinya hambatan aktivitas EGFR kinase walaupun terdapat mutasi sekunder T790M.⁷³

Pada suatu studi preklinik, agen inhibitor ireversibel tersebut telah menunjukkan aktivitas melawan mutasi sekunder T790M. Beberapa agen inhibitor ireversibel yang saat ini sedang dalam uji klinis antara lain *HKI-272* dan *BIBW 2992*, keduanya merupakan inhibitor ganda melawan EGFR dan *HER2*, agen lainnya yaitu *PF-00299804* yang merupakan suatu multi inhibitor terhadap EGFR, *HER2* dan *HER4*.⁷⁴

Anaplastic Lymphoma Kinase Gene Rearrangement

ALK SIGNALING PATHWAY

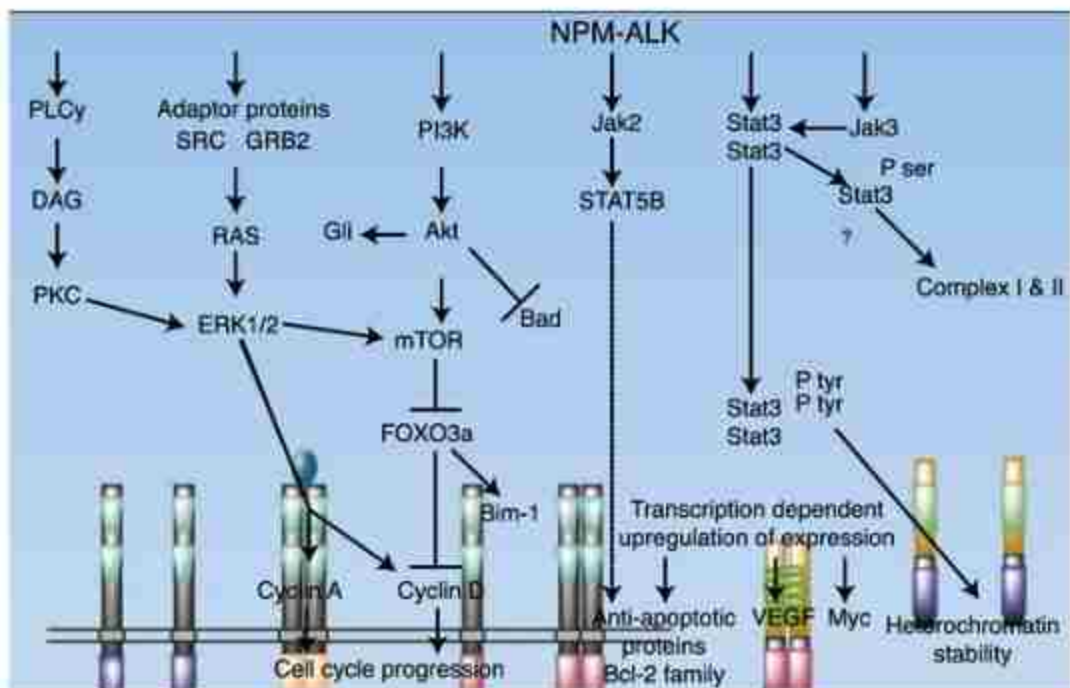
Anaplastic lymphoma kinase (ALK) pertama kali ditemukan sebelum tahun 1996. Merupakan *oncogene* yang berfusi dengan *nucleophosmin (NPM)* pada subset *anaplastic large-cell lymphomas (ALCLs)*.⁷⁵ *Nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase (NPM-ALK)* berasal dari translokasi yang melibatkan kromosom 2p, yang mengandung ALK, dan kromosom 5q, yang mengandung NPM.⁷⁶ Pada tahun 2007, ditemukan suatu fusi ALK baru, yaitu dengan *echinodermmicrotubule-associated protein-like 4 (EML4-ALK)* sebagai *gene arrangement* somatik yang ditemukan pada kanker paru di Jepang.⁷⁷ *Echinodermmicrotubule-associated protein-like 4 (EML4-ALK)* merupakan fusi ALK yang dominan pada kanker paru (jenis fusi yang lain antara lain KIF5B-ALK, TFG-ALK, dan KLC1-ALK).^{78,79}



Gambar 14. Berbagai protein yang berfusi dengan ALK yang diidentifikasi pada NSCLC.⁸⁰

Jenis ALK *wild type* (atau *non-rearranged*) mengkode reseptor tirosin kinase (RTK) yang berperan pada perkembangan sistem saraf.⁸¹ Pada dewasa ekspresi ALK kebanyakan terbatas pada sistem saraf. Pada level selular, ALK meregulasi jalur pensinyalan yang juga diatur oleh RTK lain, seperti *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K)-AKT, *RAS-mitogen activated protein kinase* (MAPK), dan jalur JAK-STAT. Protein yang berfusi dengan ALK bersifat onkogenik dan menyebabkan transformasi baik *in vitro* maupun *in vivo*.⁷⁷ Berbagai mekanisme yang menyebabkan pensinyalan pada ALK pada kanker antara lain adalah translokasi atau

perubahan struktur, amplifikasi, mutasi, dan ekspresi berlebihan dari gen ALK (Gambar 15).⁸²



Gambar 15. Aktivasi jalur ALK.⁸²

Diperkirakan sekitar 2-7% penderita NSCLC memiliki ALK *rearrangement*.⁸³ Penderita tersebut resisten terhadap EGFR TKI, namun memiliki karakteristik klinis yang mirip dengan penderita EGFR mutasi, yaitu dengan histologi adenokarsinoma, tidak pernah merokok atau perokok ringan, tetapi mayoritas terjadi pada pria dan usia yang lebih muda.⁸⁴ ALK *rearrangement* pada NSCLC berhubungan kuat dengan riwayat tidak pernah merokok atau perokok ringan (< 10 pak/tahun). Pada data dasar penelitian *crizotinib* yang

melibatkan 255 pasien, pasien yang tidak pernah merokok dan perokok ringan terdiri dari 70% dan 28% per kasus.^{85,86} ALK *rearrangement* jarang ditemukan pada penderita *squamous cell carcinoma*.⁸⁷

Penderita dengan adenokarsinoma paru sebaiknya diperiksa ALK *gene arrangement*, baik dengan riwayat merokok maupun tidak. Deteksi ALK *rearrangement* pada spesimen tumor dapat dilakukan menggunakan imunohistokimia (IHC), *fluorescence in situ hybridization* (FISH), dan *reverse transcription polymerase chain reaction* dari cDNA (RT-PCR).⁸⁸ Di Amerika, IHC dan FISH adalah jenis pemeriksaan yang digunakan untuk identifikasi NSCLC dengan ALK positif.⁸⁹

INHIBITOR ALK

Generasi pertama inhibitor ALK

Crizotinib, suatu inhibitor TKI multi-target (ALK, MET, dan ROS1), bersifat efektif dalam tatalaksana pasien NSCLC stadium lanjut dengan ALK-positif.⁹⁰ Pada penelitian fase I (PROFILE 1001), 149 penderita NSCLC stadium lanjut dengan ALK-positif mendapatkan *crizotinib* 250 mg dua kali sehari. Sebagian besar pasien (71%) tidak pernah merokok dan

97% memiliki histologi adenokarsinoma. Median *progression free survival* (PFS) 9,7 bulan dan *overall response rate* (ORR) 60,8%. Estimasi *overall survival* (OS) pada 6 bulan dan 12 bulan adalah 87,9% dan 74,8%.⁹¹ Efek samping yang sering dilaporkan adalah gangguan penglihatan, *nausea*, dan diare. Penelitian global fase II (PROFILE 1005) mengenai *crizotinib* sebagai terapi NSCLC stadium lanjut ALK-positif yang mengalami progresi setelah menggunakan kemoterapi sitotoksik, menunjukkan ORR 59,8% dan median PFS 8,1 bulan.⁹²

Penelitian fase III (PROFILE 1007) membandingkan *crizotinib* dengan *pemetrexed* atau *docetaxel* setelah gagal dengan lini pertama kemoterapi berbasis platinum. Total 347 penderita NSCLC stadium lanjut dengan ALK-positif diacak, kemudian didapatkan bahwa median PFS secara signifikan lebih panjang pada grup *crizotinib* (7,7 bulan) dibandingkan grup kemoterapi (3,0 bulan). ORR 65% pada grup *crizotinib* dan 20% pada grup kemoterapi. Pasien pada grup *crizotinib* dilaporkan memiliki pengurangan gejala terkait kanker dan perbaikan kualitas hidup yang lebih baik dibandingkan grup kemoterapi.⁹³ Pada grup *crizotinib*, efek samping level 3 atau 4 yang banyak dilaporkan adalah peningkatan aminotransferase (16%) dan neutropenia (13%). Pada grup kemoterapi, ORR dan PFS

berbeda antara *pemetrexed* (29% dan 4,2 bulan) dan *docetaxel* (7% dan 2,6 bulan).⁹⁴

Aktivitas *crizotinib* pada metastasis sistem saraf pusat masih merupakan kontroversi.⁹⁵ Banyak strategi terapi telah dilaporkan untuk mengatasi metastasis sistem saraf pusat, seperti *crizotinib* dosis tinggi dan *crizotinib* dosis tinggi yang dikombinasi dengan *pemetrexed* dosis tinggi.^{96,97} Beberapa ahli menganjurkan progresi kelainan sistem saraf pusat setelah *crizotinib* agar diterapi dengan radioterapi sambil melanjutkan *crizotinib*.⁹⁸ Pada penelitian PROFILE 1001 dan PROFILE 1005 menunjukkan bahwa 62% pasien melanjutkan *crizotinib* setelah dinyatakan mengalami progresi. Sebagian besar memiliki status performa yang baik dan 51% memiliki metastasis otak sebagai satu-satunya penyebab progresi.⁹⁹

Mekanisme resistensi *crizotinib*

Walaupun terapi *crizotinib* memberikan respons pada awal terapi, terjadinya progresi tidak dapat dihindari setelah periode tertentu. Mekanisme resistensi *crizotinib* antara lain mutasi sekunder dari domain kinase ALK, seperti mutasi L1196M. Resistensi lain yang telah ditemukan antara lain mutasi C1156Y dan G1202R. Selain mutasi sekunder, aktivasi jalur alternatif (EGFR dan KIT), amplifikasi ALK, *insulin-like*

growth factor 1 receptor (IGF-1R), dan *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) juga menyebabkan resistensi *crizotinib*.^{100,101,102} Pada beberapa pasien, mekanisme resistensi masih belum diketahui.¹⁰³

Berbagai pendekatan untuk mengatasi resistensi *crizotinib* telah dikembangkan. Strategi yang paling sering digunakan adalah menggunakan generasi kedua inhibitor ALK untuk mengatasi resistensi yang dimediasi mutasi ALK sekunder. Strategi lain seperti kombinasi terapi dengan inhibitor Hsp90, inhibitor EGFR, inhibitor KIT (seperti *imatinib*), atau inhibitor IGF-1R.^{104,105} Melanjutkan terapi *crizotinib* setelah terjadinya progresi merupakan strategi lain untuk memperpanjang keuntungan terapi *crizotinib*.¹⁰⁶

Generasi kedua inhibitor ALK

Generasi kedua inhibitor ALK dirancang untuk memiliki aktivitas yang lebih poten, mengatasi mutasi resisten *crizotinib*, dan mengatasi metastasis sistem saraf pusat. Obat golongan ini yang telah dikenal adalah *ceritinib* dan *alectinib*. *Ceritinib* adalah inhibitor ALK poten yang diberikan secara oral.¹⁰⁷ Pada penelitian preklinik, *ceritinib* menunjukkan potensi antitumor yang lebih baik dibandingkan *crizotinib*, serta adanya

aktivitas melawan berbagai mutasi resistensi *crizotinib* (L1196M, G1269A, S1206Y, I1171T, dan V1180L).¹⁰⁸

Pada penelitian fase I (ASCEND-1), 750 mg sekali sehari adalah dosis maksimal yang dapat ditoleransi. Di antara 114 pasien yang menerima *ceritinib* minimal 400 mg/hari, nilai ORR 58% dan PFS 7,0 bulan. Di antara 80 pasien yang sebelumnya menerima *crizotinib*, nilai ORR 56% dan 19 pasien dengan resistensi *crizotinib* dilakukan biopsi tumor sebelum diberikan *ceritinib*. Mutasi ALK dan amplifikasi ALK ditemukan pada sebagian responden, namun pada sebagian lainnya tidak ditemukan. Di antara pasien yang tidak pernah mendapatkan *crizotinib* dan diterapi *ceritinib* dengan dosis minimal 400 mg/hari, nilai ORR 62%. Jenis efek samping level 3 atau 4 yang sering ditemukan antara lain peningkatan *aspartate aminotransferase* (AST) (11%) dan diare (7%). Semua efek samping membaik setelah pemberhentian *ceritinib*.¹⁰⁹

Pada penelitian ASCEND-1, total 246 pasien dengan NSCLC ALK-positif dilibatkan, termasuk 163 pasien yang sebelumnya diterapi inhibitor ALK (*crizotinib* atau *alectinib*) dan 83 pasien tanpa riwayat penggunaan inhibitor ALK. Nilai ORR adalah 58,5%, 54,6%, dan 66,3% pada seluruh populasi, grup dengan

riwayat inhibitor ALK, dan grup tanpa riwayat ALK inhibitor. Median PFS adalah 8,2 dan 6,9 bulan pada seluruh populasi dan grup dengan riwayat inhibitor ALK. Schubungan dengan aktivitas pada sistem saraf pusat, 124 pasien memiliki metastasis otak saat sebelum terapi. ORR intrakranial adalah 40% dan 70% pada grup dengan riwayat inhibitor ALK dan grup tanpa riwayat inhibitor ALK. *Ceritinib* memberikan respons yang lebih baik serta PFS yang lebih lama pada grup dengan riwayat inhibitor ALK dan grup tanpa riwayat inhibitor ALK. *Ceritinib* menunjukkan aktivitas yang lebih baik pada pasien dengan metastasis otak.¹¹⁰

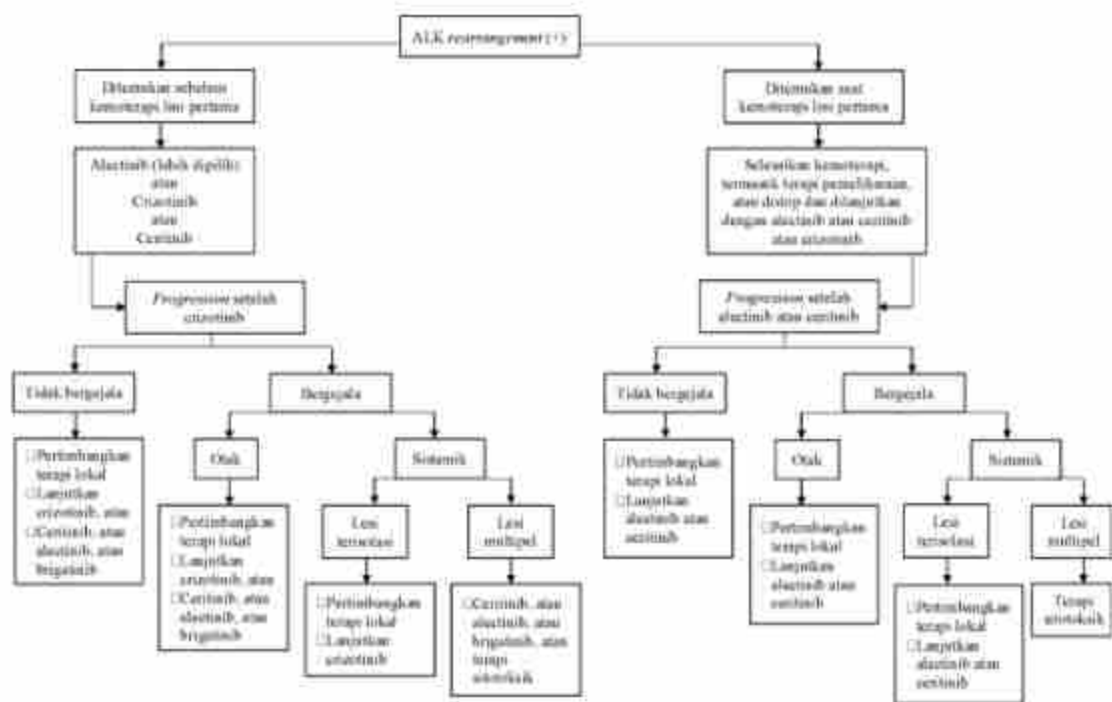
Alectinib adalah inhibitor ALK yang selektif dan memiliki aktivitas dalam melawan berbagai mutasi resistensi *crizotinib* (L1196M, C1156Y, G1202R, G1269A, S1206Y, L1152R, F1174L, 1151T-ins).^{111,112,113} Suatu penelitian di Jepang yang melibatkan 35 pasien NSCLC ALK-positif, 29 pasien (83%) memiliki riwayat diterapi dengan inhibitor ALK. Pada 28 pasien dengan riwayat *crizotinib* sebelumnya, *alectinib* memberikan ORR 58,3%. Dua pasien dengan metastasis di otak mengalami respons komplit. Di Amerika, penelitian fase I/II (AF-002JG), pemberian *alectinib* 600 mg dua kali sehari menjadi dosis yang direkomendasikan pada fase II untuk pasien NSCLC ALK-positif dengan resistensi *crizotinib*. Nilai

ORR yang didapat adalah 55%. Dari 32 pasien dengan metastasis sistem saraf pusat, nilai ORR adalah 52%.¹¹⁴ Mutasi V1180L dan I1171T merupakan penyebab resistensi terhadap *alectinib*. *Ceritinib* dapat digunakan untuk mengatasi mutasi tersebut.¹¹⁵

Tabel 5. Karakteristik ALK inhibitor generasi kedua.¹⁰⁸

Drugs	Targets other than ALK	Activity against L1196M resistance mutation	Activity against C1156Y resistance mutation	Activity against G1202R resistance mutation	Activity against other crizotinib-resistant mutations	Lack of activity against resistance mutations
Ceritinib	IGF-R1, InsR, ROS1	Yes	No	No	G1269A, I1171T, S1206Y, L1152R, F1174L, V1180L	G1202R, F1174C
Alectinib	LTK, GAK	Yes	Yes	No	G1269A, S1206Y, L1152R, F1174L, I151T-ins	G1202R, V1180L, I1171T
Brigatinib	ROS1, EGFR	Yes	Yes	Yes	G1269A, S1206Y, I151T-ins, F1174C, I1171T, D1203N, E1210K, F1245C	NA
Entrectinib	TrkA, TrkB, TrkC, ROS1	Yes	Yes	NA	NA	NA
PF-06463922	ROS1	Yes	NA	Yes	G1269A	NA
TSR-011	TrkA, TrkB, TrkC	Yes	NA	NA	NA	NA
ASP3026	ROS1, ACK	Yes	NA	NA	F1174L	NA
X-396	MET	Yes	Yes	NA	NA	NA
CEP-37440	FAK	NA	NA	NA	NA	NA

ALK, anaplastic lymphoma kinase; NA, not available.



Gambar 16. Algoritma terapi pada ALK *rearrangement* (+).¹¹⁰

Driver Mutations Lain Pada Non-Small Cell Lung Cancer

K-RAS

K-RAS (*Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog*) berasal dari keluarga GTPase yang mentransduksi sinyal pertumbuhan dari berbagai tirosin kinase, termasuk EGFR dan MET.¹¹⁶ Mutasi KRAS ditemukan pada 30% *adenocarcinoma* dan 4% *squamous cell carcinoma*.^{117,118} Mutasi KRAS lebih sering ditemukan pada orang kaukasia, riwayat merokok atau perokok aktif.¹¹⁹ Pasien dengan kelainan ini memiliki prognosis yang lebih buruk serta resisten terhadap kemoterapi dan EGFR TKI.^{120,121} Dibandingkan dengan KRAS *wild-type*, pasien dengan mutasi KRAS memiliki ketahanan hidup yang lebih pendek, sehingga mutasi KRAS dapat digunakan sebagai biomarker prognosis (165,167). Mutasi KRAS secara umum tidak terjadi bersamaan dengan mutasi EGFR, ALK *rearrangement*, atau ROS1.^{122,123} Walaupun KRAS adalah salah satu *driver mutation* yang paling awal ditemukan pada

NSCLC¹²⁴, terapi target masih menjadi tantangan. *Selumatinib*, suatu inhibitor MEK1/MEK2, menunjukkan keuntungan PFS untuk pasien dengan mutasi KRAS ketika dikombinasi dengan *docetaxel* pada suatu penelitian fase II.¹²⁵

ROS1 REARRANGEMENTS

ROS1 adalah reseptor tirosin kinase yang termasuk ke dalam golongan insulin. Dengan kemiripannya dengan ALK, ROS1 menstimulasi proliferasi dan mencegah apoptosis. ROS1 *rearrangement* didapatkan pada 1-2% pasien NSCLC dan lebih sering terjadi pada wanita usia lebih muda dengan *adenocarcinoma*, tidak pernah merokok, dan mutasi EGFR, KRAS, serta ALK negatif.^{126,127} *Crizotinib* sangat efektif untuk pasien dengan ROS1 *rearrangement* dan memberikan ORR 70%, termasuk respons komplit.¹²⁸

BRAF

BRAF merupakan bagian Raf kinase yang mengatur jalur kinase MAP. BRAF diketahui lebih banyak berperan pada melanoma, dan didapatkan pada 1-4% kasus adenokarsinoma paru.¹²⁸ Beberapa mutasi telah teridentifikasi, dan yang paling signifikan secara klinis adalah mutasi titik V600E. Mutasi ini menyebabkan fosforilasi tanpa sinyal normal dan terjadi pertumbuhan sel yang tidak terkontrol. V600E mencakup 90%

dari melanoma BRAF-positif, namun hanya 50% pada adenokarsinoma paru.¹²⁹

MET

Amplifikasi MET ditemukan pada 2-4% NSCLC yang belum diterapi, namun dapat mencapai 20% pada NSCLC mutasi EGFR-positif yang telah mengalami resisten terhadap TKI.¹³⁰ Berbagai penelitian menunjukkan bahwa amplifikasi MET adalah salah satu penyebab penting terjadinya resistensi TKI.¹³¹ MET terletak di kromosom 7 dan amplifikasi bisa terdeteksi dari FISH. Pada penelitian fase I, *crizotinib* menunjukkan manfaat pada NSCLC dengan amplifikasi MET, serta memiliki *response rate* 33%.¹³²

ERBB2 (HER2)

Frekuensi mutasi HER2 meningkat pada pasien NSCLC wanita, tidak pernah merokok, berasal dari Asia, serta lebih sering terjadi pada jenis adenokarsinoma. Mutasi HER2 dilaporkan terjadi pada 2% kasus NSCLC. Mutasi ini melibatkan *inframe insertions* pada exon 20. Mutasi HER2 biasanya terjadi bersamaan dengan tumor yang memiliki mutasi EGFR atau KRAS.¹³³ Beberapa penelitian menunjukkan sel-sel yang memiliki mutasi HER2 mengalami aktivasi dan fosforilasi kontinu, serta menunjukkan resistensi

terhadap EGFR-TKI. Terapi dengan TKI yang menarget aktivitas kinase dari EGFR dan HER2, seperti *lapatinib*, terbukti efektif.¹³⁴

AKT

Gen AKT1 mengkode protein kinase B, suatu *serine threonine kinase* yang diaktivasi oleh PI3K- α dan memediasi PI3K *signaling*. Frekuensi mutasi AKT1 yang dilaporkan terjadi 1% pada NSCLC dan diidentifikasi hanya pada *squamous cell carcinoma*.^{135,136}

PIK3CA

Regio kromosom 3q (3q25-27) merupakan lokasi PIK3CA (3q26) yang sering mengalami amplifikasi pada kanker paru, khususnya *squamous cell carcinoma*. *Adenocarcinoma* dengan mutasi PIK3CA yang memiliki mutasi gen lain menunjukkan bahwa mutasi PIK3CA tidak cukup untuk menjelaskan patogenesisnya. Pada kebanyakan *squamous cell carcinoma*, mutasi PIK3CA tidak disertai mutasi lain. Hal ini menunjukkan peran penting mutasi PIK3CA dalam patogenesis *squamous cell carcinoma*.¹³⁷

FGFR1

Fibroblast growth factor receptor-1 merupakan tirosin kinase lain yang berperan dalam proliferasi sel. Berlawanan dengan mutasi lain, amplifikasi FGFR1 berhubungan dengan riwayat/status merokok serta angka ketahanan hidup yang lebih buruk. Amplifikasi FGFR1 terjadi pada 15-20% *squamous cell carcinoma*.¹³⁸ TKI untuk mutasi ini sedang dikembangkan pada penelitian fase I. Suatu penelitian TKI “BGJ398” pada pasien *squamous cell carcinoma* paru dengan amplifikasi FGFR1 menunjukkan respons parsial pada 15% pasien.¹³⁹

RET

Pada keadaan normal, RET (suatu tirosin kinase) berespons terhadap faktor pertumbuhan dan menyebabkan proliferasi sel. Mutasi RET terjadi pada 1-2% *adenocarcinoma* paru dan tidak ditemukan pada *squamous cell carcinoma*. Jalur ini lebih dipahami pada kelainan kanker tiroid dan agen yang telah disahkan untuk mutasi ini adalah inhibitor kinase multipel *vandetanib*, namun untuk RET-positif pada NSCLC masih belum ada terapi yang direkomendasikan.¹⁴⁰

Daftar Pustaka

1. Grilli R, Oxman AD, Julian JA. Chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer: how much benefit is enough? *J Clin Oncol* 1993; 11: 1866-1872.
2. Howlader N, Noone A, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013: National Cancer Institute; 2016.
3. Wright G, Manser RL, Byrnes G, Hart D, Campbell DA. Surgery for non-small-cell lung cancer: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Thorax* 2006; 61: 597-603.
4. Marino P, Pampallona S, Preatoni A, Cantoni A, Invernizzi F. Chemotherapy vs. supportive care in advanced non-small-cell lung cancer: results of a meta-analysis of the literature. *Chest* 1994;106: 861-865.
5. Non-small-Cell Lung Cancer Collaborative Group. Chemotherapy in non-small-cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomized clinical trials. *BMJ* 1995; 311: 899-909.
6. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2002; 346: 92-98.
7. Baselga J. Why the epidermal growth factor receptor? The rationale for cancer therapy. *The oncologist*. 2002; 7 (Suppl 4): 2-8.
8. Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *The New England journal of medicine*. 2008; 358 (11): 1160-74.
9. Raymond E, Faivre S, Armand JP. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase as a target for anticancer therapy. *Drugs* 2000; 60 (Suppl. 1): 15-23.
10. Arteaga CL. Epidermal growth factor receptor dependence in human tumors: more than just expression? *The Oncologist* 2002; 7 (Suppl. 4): 31-39.
11. Maione P, Gridelli C, Troiani T, Ciardiello F. Combining targeted therapies and drugs with multiple targets in the treatment of NSCLC. *The Oncologist* 2006; 11: 274-284.
12. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. Kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil: pedoman diagnosis dan penatalaksanaan di Indonesia. Edisi III. Badan Penerbit FK UI. Jakarta. 2011: p 1-5.
13. American Cancer Society. Lung cancer (non-small cell). 2011. <http://www.cancer.org/acs/groups/cid>
14. Malvezzi M, Bertuccio P, Rosso T et al. European cancer mortality predictions for the year 2015: does lung cancer have the highest death rate in EU women? *Ann Oncol* 2015; 26: 779-786.

15. Jemal A, Ma J, Rosenberg P Setal. Increasing lung cancer death rates among young women in southern and midwestern states. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2739–2744.
16. International Agency for Research on Cancer (IARC). <http://www.iarc.fr/>
17. Hung RJ, McKay JD, Gaborieau V et al. A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25. *Nature* 2008; 452: 633–637.
18. Wang Y, Broderick P, Webb E et al. Common 5p15.33 and 6p21.33 variants influence lung cancer risk. *Nat Genet* 2008; 40: 1407–1409.
19. Torre LA, Bray F, Siegel RL et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 87–108.
20. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin* 2017; 67: 7-30.
21. GLOBOCAN. 2012 Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide [database online]. <http://www-dep.iarc.fr/>
22. Jemal A, Ma J, Rosenberg P Setal. Increasing lung cancer death rates among young women in southern and midwestern states. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2739–2744.
23. Toh CK, Gao F, Lim WT et al. Never-smokers with lung cancer: epidemiologic evidence of a distinct disease entity. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2245–2251.
24. Couraud S, Souquet PJ, Paris C et al. BioCAST/IFCT-1002: epidemiological and molecular features of lung cancer in never-smokers. *Eur Respir J* 2015; 45: 1403–1414.
25. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JH, Beasley MB. The 2015 world health organization classification of lung tumors. *Journal of thoracic oncology*.
26. Jett JR, Schild SE, Kesler KA, Kalemkerian GP. Treatment of small cell lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2013; 143: e400S-419S.
27. Herbs RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer, molecular origins of cancer. *N Engl J Med* 2008; 359: 1367-1380.
28. Mayo Clinic. Lung cancer. Mayo Foundation for Medical Education and Research (MFMER). Accessible at: <http://www.mayoclinic.com/health/lungcancer/DS00038>.
29. Skillrud DM, Offord KP, Miller RD. Higher risk of lung cancer in chronic obstructive pulmonary disease: a prospective, matched, controlled study. *Ann Intern Med* 1985; 105: 503-507.
30. Cooper GM. Eukaryotic cell cycle. *The cell: a molecular approach*. 2000.

31. Bracci L, Schiavoni G, Sistigu A, Belardelli. Immune-based mechanism of cytotoxic chemotherapy. *Cell death differ.* 2014; 21(1): 15-25.
32. Socinski MA. Cytotoxic chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *Clinical cancer research.* 2004.
33. Liang YH, Shao YY, Liao BC, Lee HS, Yang JC, Cheng HM, et al. Cytotoxic chemotherapy as first-line therapy for advanced non-small cell lung cancer in Taiwan. *Journal of cancer.* 2016; 7 (11): 1515-1523.
34. Zhang JW, Zhao YY, Guo Y, Xue C, Hu ZH, Huang Y, et al. The impact of both platinum-based chemotherapy and EGFR-TKI on overall survival of patients with advanced NSCLC. *Chinese journal of cancer.*
35. Zhou C, Yao LD. Strategies to improve outcome of patients with EGFR-mutant NSCLC. *Journal of thoracic oncology* 2016; 11: 174-186.
36. World Health Organization. WHO histological classification of tumours of the lung. In: Travis WB, Brambilla A, Muller-Hermelinck HK, Harris CC. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart.* Lyon, France: IARC Press 2004: 10.
37. Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naïve patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3543-551.
38. Weinstein IB. Cancer. Addiction to oncogenes—the Achilles heel of cancer. *Science* 2002; 297: 63-64.
39. Fisher GH, Wellen SL, Klimstra D, et al. Induction and apoptotic regression of lung adenocarcinomas by regulation of a K-Rastransgene in the presence and absence of tumor suppressor genes. *Genes Dev* 2001; 15: 3249-62.
40. Weinstein IB, Begemann M, Zhou P, et al. Disorders in cell circuitry associated with multistage carcinogenesis: exploitable targets for cancer prevention and therapy. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 2696-702.
41. Paik PK, Johnson ML, D'Angelo SP, Sima CS, Ang D, Dogan S, et al. Driver mutations determine survival in smokers and never smokers with stage IIIB/IV lung adenocarcinoma. *Cancer.* 2012 December 1; 118(23): 5840-5847.
42. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-74.
43. Dearden S, Stevens J, Wu YL, et al. Mutation incidence and coincidence in non small-cell lung cancer: meta-analyses by ethnicity and histology (mutMap). *Ann Oncol* 2013; 24: 2371-6.

44. Alameer M, Ganju V, Watkins DN. Novel therapeutic targets in non-small cell lung cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2013; 13: 394-401.
45. Arteaga CL. The epidermal growth factor receptor: from mutant oncogene in nonhuman cancers to therapeutic target in human neoplasia. *J Clin Oncol* 2001; 19: 328-40S.
46. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70.
47. Yarden Y, Slikowski MX. Untangling the ErbB signaling network. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 127-137.
48. Baselga J. Why the epidermal growth factor receptor? The rationale for cancer therapy. *The Oncologist* 2002; 7 (Suppl. 4): 2-8.
49. Yarden Y, Slikowski MX. Untangling the ErbB signaling network. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 127-137.
50. Muthuswamy SK, Gilman M, Brugge S. Controlled dimerization of ErbB receptors provides evidence for differential signaling by homo- and heterodimers. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 6845-6857.
51. Brabender J, Danenberg KD, Metzger R, et al. Epidermal growth factor receptor and HER2-neu mRNA expression in non-small cell lung cancer is correlated with survival. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1850-1855.
52. Moscatello DK, Holgado-Madruga M, Godwin AK, et al. Frequent expression of a mutant epidermal growth factor receptor in multiple human tumors. *Cancer Res* 1995; 55: 5536-5539.
53. Janmaat ML, Giaccone G. Small-molecule epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *The Oncologist* 2003; 8: 576-586.
54. Piythilake CJ, Frost AR, Manne U, et al. Differential expression of growth factors in squamous cell carcinoma and precancerous lesions of the lung. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 734-744.
55. Franklin WA, Vee R, Hirsch FR, Helfrich BA, Bunn PA Jr. Epidermal growth factor receptor family in lung cancer and premalignancy. *Semin Oncol* 2002; 29: 3-14.
56. Scagliotti GV, Selvaggi G, Novello S, Hirsch FR. The biology of epidermal growth factor receptor in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10 (Suppl.): 4227s-4232s.
57. Santini J, Formento JL, Francoual M, et al. Characterization, quantification, and potential clinical value of the epidermal growth factor receptor in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 1991; 13: 132-139.
58. Maione P, Gridelli C, Troiani T, Ciardiello F. Combining targeted therapies and drugs with multiple targets in the treatment of NSCLC. *The Oncologist* 2006; 11: 274-284.
59. Cohen MH, Williams GA, Sridhara R, et al. FDA drug approval summary: Gefitinib (ZD1839) (Iressa®) tablets. *Oncologist* 2004; 22:

303-306.

60. Ciardiello F, Caputo R, Bianco R, et al. Inhibition of growth factor production and angiogenesis in human cancer cells by ZD1839 (Iressa), a selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1459-1465.
61. Sirotlak F, Zakowski MF, Miller VA, et al. Potentiation of cytotoxic agents against human tumors in mice by ZD1839 (Iressa), an inhibitor of EGFR tyrosine kinase, does not require high levels of expression of EGFR. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2000; 41: 482a.
62. Raben D, Helfrich BA, Chan D, et al. ZD1839, a selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, alone and in combination with radiation and chemotherapy as a new therapeutic strategy in non-small-cell lung cancer. *Semin Oncol* 2002; 29 (Suppl.4): 37-46.
63. Ciardiello F, Caputo R, Damiano V, et al. Potentiation of cytotoxic drug activity in human cancer cells by ZD1839 (Iressa) an EGFR-selective tyrosine kinase inhibitor. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2000; 41: 11a.
64. Ranson M, Hammond LA, Ferry D, et al. ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, is well tolerated and active in patients with solid, malignant tumors: results of a phase I trial. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2240-2250.
65. Baselga J, Rischin D, Ranson M, et al. Phase I safety, pharmacokinetic, and pharmacodynamic trial of ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor in patients with five selective solid tumor types. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4292-4302.
66. Herbst RS, Maddox AM, Rothenberg ML, et al. Selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 is generally well-tolerated and has activity in non-small-cell lung cancer and other solid tumors. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3815-3825.
67. Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, et al. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2237-2246.
68. Kris MG, Natale RB, Herbst R, et al. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small-cell lung cancer. *JAMA* 2003; 290: 2149-2158.
69. Lynch T. Clinical benefit in NSCLC: the evidence for gefitinib (Iressa, ZD1839). *EJC* 2003; 8 (Suppl.1): 17-22.
70. Pao W, Miller V, Zakowski M, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancer from "never smokers" and are associated with

- sensitivity of tumors to gefitinib (Iressa) and erlotinib (Tarceva). *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 13306-13311.
71. Kosaka T, Yamaki E, Mogi A, Kuwano H (2011). Mechanism of resistance to EGFR-TKIs and development of a new generation of drugs in non-small-cell lung cancer. *J. of Biomed. Biotech.*
 72. Uramoto H, Mitsudomi T (2007). Which biomarker predict benefit from EGFR-TKI treatment for patient with lung cancer? *B. J. Cancer* 96 (6): 857-863.
 73. Inukai M, Toyooka S, Ito S, Asano H, Ichihara S, Soh J et al (2006). Presence of epidermal growth factor receptor gene T790M mutation as a minor clone in non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 66: 7854-7858.
 74. Zhang X, Chang A (2008). Molecular predictors of EGFR-TKI sensitivity in advanced non-small cell lung cancer. *Int. J. Med. Sci.* 5 (4): 209-217.
 75. Morris SW, Kirstein MN, Valentine MB, et al: Fusion of a kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science* 263: 1281-1284, 1994.
 76. Lawrence B, Perez-Atayde A, Hibbard MK, et al: TPM3-ALK and TPM4-ALK oncogenes in inflammatory myofibroblastic tumors. *Am J Pathol* 157: 377-384, 2000.
 77. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al: Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 448: 561-566, 2007.
 78. Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y, et al: KIF5B-ALK, a novel fusion oncokinin identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for ALK-positive lung cancer. *Clin Cancer Res* 15: 3143-3149, 2009.
 79. Togashi Y, Soda M, Sakata S, et al: KLC1-ALK: A novel fusion in lung cancer identified using a formalin-fixed paraffin-embedded tissue only. *PLoS One* 7: e31323, 2012.
 80. Horn L, Pao W: EML4-ALK: Honing in on a new target in nonsmall-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 27: 4232-4235, 2009.
 81. Chiarle R, Voena C, Ambrogio C, et al: The anaplastic lymphoma kinase in the pathogenesis of cancer. *Nat Rev Cancer* 8:11-23, 2008.
 82. Mathas S, Kreher S, Meaburn KJ, et al. Gene deregulation and spatial genome reorganization near breakpoints prior to formation of translocations in anaplastic large cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 5831-6.
 83. Fossella FV, Putnam JB, Komaki R, eds. *Lung Cancer*. M.D. Anderson Cancer Care Series. New York: Springer, 2003: 316.
 84. Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4247-4253.

85. Shaw AT, Solomon B. Targeting anaplastic lymphoma kinase in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2081.
86. Solomon B, Varella-Garcia M, Camidge DR. ALK gene rearrangements: a new therapeutic target in a molecularly defined subset of non-small cell lung 12.
87. Wong DW, Leung EL, So KK, et al. The EML4-ALK fusion gene is involved in various histologic types of lung cancers from nonsmokers with wild-type EGFR and KRAS. *Cancer* 2009; 115: 1723-1733.
88. Weickhardt, A., Doebele, R., Purcell, W., Bunn, P., Oton, A., Rothman, M. et al. (2013) Symptomatic reduction in free testosterone levels secondary to crizotinib use in male cancer patients. *Cancer* 119: 2383–2390.
89. Ignatius Ou SH, Azada M, Hsiang DJ, et al. Next-generation sequencing reveals a Novel NSCLC ALK F1174V mutation and confirms ALK G1202R mutation confers high-level resistance to alectinib (CH5424802/RO5424802) in ALK-rearranged NSCLC patients who progressed on crizotinib. *J Thorac Oncol* 2014; 9: 549.
90. Cui, J., Tran-Dubé, M., Shen, H., Nambu, M., Kung, P., Pairish, M. et al. (2011) Structure based drug design of crizotinib (PF-02341066), a potent and selective dual inhibitor of mesenchymal-epithelial transition factor (c-MET) kinase and anaplastic lymphoma kinase (ALK). *J Med Chem* 54: 6342–6363.
91. Camidge, D., Bang, Y., Kwak, E., Iafrate, A., Varella- Garcia, M., Fox, S. et al. (2012) Activity and safety of crizotinib in Patients with ALK-positive non-small- cell lung cancer: updated results from a phase I study. *Lancet Oncol* 13: 1011–1019.
92. Kim, D., Ahn, M., Shi, Y., De Pas, T., Yang, P., Riely, G. et al. (2012) Results of a global phase II study with crizotinib in advanced ALK-positive non-small cell lung cancer (NSCLC). *ASCO Meeting Abstracts* 30: abstract 7533.
93. Shaw, A., Kim, D., Nakagawa, K., Seto, T., Crinó, L., Ahn, M. et al. (2013) Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 368: 2385–239.
94. Hanna, N., Shepherd, F., Fossella, F., Pereira, J., De Marinis, F., Von Pawel, J. et al. (2004) Randomised phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with chemotherapy. *J Clin Oncol* 22: 1589–1597.
95. Gainor, J. and Shaw, A. (2013) Emerging paradigms in the development of resistance to tyrosine kinase inhibitors in lung cancer. *J Clin Oncol* 31: 3987–3996.
96. Gandhi, L., Drappatz, J., Ramaiya, N. and Otterson, G. (2013) High-dose pemetrexed in combination with high-dose crizotinib for the treatment of refractory CNS metastases in ALK-rearranged non-

- small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 8: e3–e5.
97. Kim, Y., Ozasa, H., Nagai, H., Sakamori, Y., Yoshida, H., Yagi, Y. et al. (2013c) High-dose crizotinib for brain metastases refractory to standard-dose crizotinib. *J Thorac Oncol* 8: e85–e86.
 98. Takeda, M., Okamoto, I. and Nakagawa, K. (2013) Clinical impact of continued crizotinib administration after isolated central nervous system progression in patients with lung cancer positive for ALK rearrangement. *J Thorac Oncol* 8: 654–657.
 99. Ou, S., Jänne, P., Bartlett, C., Tang, Y., Kim, D., Otterson, G. et al. (2014a) Clinical benefit of continuing ALK inhibition with crizotinib beyond initial disease progression in patients with advanced ALK-positive NSCLC. *Ann Oncol* 25: 415–422.
 100. Katayama, R., Shaw, A., Khan, T., Mino-Kenudson, M., Solomon, B., Halmos, B. et al. (2012) Mechanisms of acquired crizotinib resistance in ALK-rearranged lung cancers. *Sci Transl Med* 4: 120ra117.
 101. Tanizaki, J., Okamoto, I., Okabe, T., Sakai, K., Tanaka, K., Hayashi, H. et al. (2012) Activation of her family signaling as a mechanism of acquired resistance to ALK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 18: 6219–6226.
 102. Yamada, T., Takeuchi, S., Nakade, J., Kita, K., Nakagawa, T., Nanjo, S. et al. (2012) Paracrine receptor activation by microenvironment triggers bypass survival signals and ALK inhibitor resistance in EML4-ALK lung cancer cells. *Clin Cancer Res* 18: 3592–3602.
 103. Kobayashi, Y., Sakao, Y., Ito, S., Park, J., Kuroda, H., Sakakura, N. et al. (2013) Transformation to sarcomatoid carcinoma in ALK-rearranged adenocarcinoma, which developed acquired resistance to crizotinib and received subsequent chemotherapies. *J Thorac Oncol* 8: e75–e78.
 104. Katayama, R., Friboulet, L., Koike, S., Lockerman, E., Khan, T., Gainor, J. et al. (2014) Two novel ALK mutations mediate acquired resistance to the next-generation ALK inhibitor alectinib. *Clin Cancer Res* 20: 5686–5696.
 105. Sasaki, T., Okuda, K., Zheng, W., Butrynski, J., Capelletti, M., Wang, L. et al. (2010) The neuroblastoma-associated F1174I ALK mutation causes resistance to an ALK kinase inhibitor in ALK-translocated cancers. *Cancer Res* 70: 10038–10043.
 106. Ou, S., Jänne, P., Bartlett, C., Tang, Y., Kim, D., Otterson, G. et al. (2014a) Clinical benefit of continuing ALK inhibition with crizotinib beyond initial disease progression in patients with advanced ALK-positive NSCLC. *Ann Oncol* 25: 415–422.
 107. Galkin, A., Melnick, J., Kim, S., Hood, T., Li, N., Li, L. et al. (2007) Identification of NVP-TAE684, a potent, selective, and efficacious inhibitor of NPM-ALK. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 270–275.

108. Friboulet, L., Li, N., Katayama, R., Lee, C., Gainor, J., Crystal, A. et al. (2014) The ALK inhibitor ceritinib overcomes crizotinib resistance in non-small cell lung cancer. *Cancer Discov* 4: 662-673.
109. Shaw, A., Kim, D., Mehra, R., Tan, D., Felip, E., Chow, L. et al. (2014) Ceritinib in ALK-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 370: 1189-1197.
110. Kim, D., Mehra, R., Tan, D., Felip, E., Chow, L., Camidge, D. et al. (2014) Ceritinib in advanced anaplastic lymphoma kinase (ALK)-rearranged (ALK+) non-small cell lung cancer (NSCLC): results of the ASCEND-1 trial. *ASCO Meeting Abstracts* 32: abstract 8003.
111. Sakamoto, H., Tsukaguchi, T., Hiroshima, S., Kodama, T., Kobayashi, T., Fukami, T. et al. (2011) CH5424802, a selective ALK inhibitor capable of blocking the resistant gatekeeper mutant. *Cancer Cell* 19: 679-690.
112. Kinoshita, K., Asoh, K., Furuichi, N., Ito, T., Kawada, H., Hara, S. et al. (2012) Design and synthesis of a highly selective, orally active and potent anaplastic lymphoma kinase inhibitor (CH5424802). *Bioorg Med Chem* 20: 1271-1280.
113. Kodama, T., Tsukaguchi, T., Yoshida, M., Kondoh, O. and Sakamoto, H. (2014b) Selective ALK inhibitor alectinib with potent antitumor activity in models of crizotinib resistance. *Cancer Lett* 351: 215-221.
114. Gadgeel, S., Gandhi, L., Riely, G., Chiappori, A., West, H., Azada, M. et al. (2014) Safety and activity of alectinib against systemic disease and brain metastases in patients with crizotinib-resistant ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (AF-002JG): results from the dose-finding portion of a phase 1/2 study. *Lancet Oncol* 15: 1119-1128.
115. Katayama, R., Friboulet, L., Koike, S., Lockerman, E., Khan, T., Gainor, J. et al. (2014) Two novel ALK mutations mediate acquired resistance to the next-generation ALK inhibitor alectinib. *Clin Cancer Res* 20: 5686-5696.
116. Alameer M, Ganju V, Watkins DN. Novel therapeutic targets in non-small cell lung cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2013; 13: 394-401.
117. Guin S, Ru Y, Wynes MW, et al. Contributions of KRAS and RAL in non-small-cell lung cancer growth and progression. *J Thorac Oncol* 2013; 8: 1492-501.
118. Suda K, Tomizawa K, Mitsudomi T. Biological and clinical significance of KRAS mutations in lung cancer: an oncogenic driver that contrasts with EGFR mutation. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 49-60.
119. Gainor JF, Varghese AM, Ou SH, et al. ALK rearrangements are mutually exclusive with mutations in EGFR or KRAS: an analysis of 1,683 patients with non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*

2013; 19: 4273-81.

120. Macerelli M, Caramella C, Faivre L, et al. Does KRAS mutational status predict chemoresistance in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC)? *Lung Cancer* 2014; 83: 383-8.
121. Pao W, Wang TY, Riely GJ, et al. KRAS mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib. *PLoS Med* 2005; 2: e17.
122. Sholl LM, Aisner DL, Varella-Garcia M, et al. Multi-institutional Oncogenic Driver Mutation Analysis in Lung Adenocarcinoma: The Lung Cancer Mutation Consortium Experience. *J Thorac Oncol* 2015; 10: 768-777.
123. Ali G, Proietti A, Pelliccioni S, et al. ALK rearrangement in a large series of consecutive non-small cell lung cancers: comparison between a new immunohistochemical approach and fluorescence in situ hybridization for the screening of patients eligible for crizotinib treatment. *Arch Pathol Lab Med* 2014; 138: 1449-1458.
124. Santos E, Martin-Zanca D, Reddy EP, et al. Malignant activation of a K-ras oncogene in lung carcinoma but not in normal tissue of the same patient. *Science* 1984; 223: 661-4.
125. Jänne PA, Shaw AT, Pereira JR, et al. Selumetinib plus docetaxel for KRAS-mutant advanced non-small-cell lung cancer: a randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2013; 14: 38-47.
126. Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2014; 371: 1963-1971.
127. Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol* 2012; 30: 863-870.
128. Cardarella S, Ogino A, Nishino M, et al. Clinical, pathologic, and biologic features associated with BRAF mutations in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2013; 19 (16): 4532-40.
129. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002; 417 (6892): 949-54.
130. Bean J, Brennan C, Shih JY, et al. MET amplification occurs with or without T790M mutations in EGFR mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib or erlotinib. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104 (52): 20932-7.
131. Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science*. 2007; 316 (5827): 1039-43.
132. Camidge DR et al. Efficacy and safety of crizotinib in patients with advanced c-MET-amplified non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 32: 5s, 2014.
133. Wang SE, Narasanna A, Perez-Torres M, Xiang B, Wu FY, Yang S,

Carpenter G, Gazdar AF, Muthuswamy SK, Arteaga CL (2006) HER2 kinase domain mutation results in constitutive phosphorylation and activation of HER2 and EGFR and resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Cell* 10: 25–38.

134. Perera SA, Li D, Shimamura T, Raso MG, Ji H, Chen L, Borgman CL, et al (2009) HER2 YVMA drives rapid development of adenosquamous lung tumors in mice that are sensitive to BIBW2992 and rapamycin combination therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 474–479.
135. Ding L, Getz G, Wheeler DA et al (2008) Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature* 455: 1069–1075.
136. Malanga D, Scrima M, De Marco C et al (2008) Activating E17K mutation in the gene encoding the protein kinase AKT1 in a subset of squamous cell carcinoma of the lung. *Cell Cycle* 7: 665–669.
137. Zou ZQ, Zhang XH, Wang F, Shen QJ, Xu J, Zhang LN, Xing WH, Zhuo RJ, Li D (2009) A novel dual PI3Kalpha/mTOR inhibitor PI-103 with high antitumor activity in non-small cell lung cancer cells. *Int J Mol Med* 24: 97–101.
138. Dutt A, Ramos AH, Hammerman PS, et al. Inhibitor-sensitive FGFR1 amplification in human non-small cell lung cancer. *PLoS ONE*. 2011; 6 (6): e20351.
139. Heist RS, Sequist LV, Engelman JA. Genetic changes in squamous cell lung cancer: a review. *J Thorac Oncol*. 2012; 7 (5): 924-33.
140. Wells SA, Gosnell JE, Gagel RF, et al. Vandetanib for the treatment of patients with locally advanced or metastatic hereditary medullary thyroid cancer. *J Clin Oncol*. 2010; 28 (5): 767-72.

New_Terapi Target Pada Kanker Paru

ORIGINALITY REPORT

33%
SIMILARITY INDEX

32%
INTERNET SOURCES

20%
PUBLICATIONS

25%
STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	www.tlcr.org Internet Source	2%
2	www.rimed.org Internet Source	2%
3	www.spectral-imaging.com Internet Source	2%
4	solunum.org.tr Internet Source	1%
5	theoncologist.alphamedpress.org Internet Source	1%
6	link.springer.com Internet Source	1%
7	www.jthoracdis.com Internet Source	1%
8	www.ncbi.nlm.nih.gov Internet Source	1%
9	www.dovepress.com Internet Source	1%
10	Bin-Chi Liao, Chia-Chi Lin, Jin-Yuan Shih, James Chih-Hsin Yang. " Treating patients with -positive non-small cell lung cancer: latest evidence and management strategy ", Therapeutic Advances in Medical Oncology, 2015 Publication	1%

11	Internet Source	1%
12	www.cell.com Internet Source	1%
13	www.biomedcentral.com Internet Source	1%
14	www.cancerdiscovery-digital.org Internet Source	1%
15	Submitted to University of Durham Student Paper	1%
16	R. Vijayalakshmi. "Targetable "Driver" Mutations in Non Small Cell Lung Cancer", Indian Journal of Surgical Oncology, 12/17/2011 Publication	1%
17	media4.asco.org Internet Source	1%
18	lebanesemedicaljournal.org Internet Source	1%
19	Submitted to University College London Student Paper	<1%
20	pbc.gda.pl Internet Source	<1%
21	era.library.ualberta.ca Internet Source	<1%
22	www.wjgnet.com Internet Source	<1%
23	Submitted to University of Cumbria Student Paper	<1%
24	www.spandidos-publications.com Internet Source	<1%

25	bentham.org Internet Source	<1%
26	www.termedia.pl Internet Source	<1%
27	academic.oup.com Internet Source	<1%
28	cjcjournal.biomedcentral.com Internet Source	<1%
29	Hudak, Lukasz. "Molekulare Analysen zum Einfluss der kombinierten "targeted"-Therapie beim Prostatakarzinom in-vitro und in-vivo", Publikationsserver der Goethe-Universität Frankfurt am Main, 2011. Publication	<1%
30	Submitted to University of Newcastle upon Tyne Student Paper	<1%
31	clincancerres.aacrjournals.org Internet Source	<1%
32	171.66.121.246 Internet Source	<1%
33	www.thieme-connect.de Internet Source	<1%
34	www.gov.uk Internet Source	<1%
35	www.msdlatinamerica.com Internet Source	<1%
36	jcancer.org Internet Source	<1%
37	Submitted to Kyungsung University Student Paper	<1%

38	Furrukh , Muhammad Al-Moundhri , Mansour Zahid , Khawaja F. Kumar , Shyam Burney , Ikram. "Customised , Individualised Treatment of Metastatic Non-Small-Cell Lung Carcinoma (NSCLC) = العلاج الفردي و المخصص لسرطان الرئة المنتشر \\\ من الخلايا غير الصغيرة \\ Sultan Qaboos University Medical Journal .- 2013 , Vol. 13 , No. 2 , pp. 202 - 217.", Sultan Qaboos University, 2013. Publication	<1%
39	Submitted to Napier University Student Paper	<1%
40	molecularcasestudies.cshlp.org Internet Source	<1%
41	intl-annonc.oxfordjournals.org Internet Source	<1%
42	infomedik.info Internet Source	<1%
43	www.copasosdecolombia.co Internet Source	<1%
44	jco.ascopubs.org Internet Source	<1%
45	www.labome.com Internet Source	<1%
46	Submitted to University of Dundee Student Paper	<1%
47	annonc.oxfordjournals.org Internet Source	<1%
48	www.tandfonline.com Internet Source	<1%
49	www.nejm.org Internet Source	<1%

50	ebooks.cambridge.org Internet Source	<1%
51	prostatecancer.theoncologist.com Internet Source	<1%
52	ats.ctsnetjournals.org Internet Source	<1%
53	Submitted to Nottingham Trent University Student Paper	<1%
54	www.webweaver.be Internet Source	<1%
55	www.nature.com Internet Source	<1%
56	Submitted to The University of Manchester Student Paper	<1%
57	intl-theoncologist.alphamedpress.org Internet Source	<1%
58	www.medsci.org Internet Source	<1%
59	Submitted to Hong Kong Baptist University Student Paper	<1%
60	Shaw, A. T., and J. A. Engelman. "ALK in Lung Cancer: Past, Present, and Future", <i>Journal of Clinical Oncology</i> , 2013. Publication	<1%
61	www.thieme-connect.com Internet Source	<1%
62	jurnalrespirologi.org Internet Source	<1%
63	onlinelibrary.wiley.com Internet Source	<1%

64	www.jcancer.org Internet Source	<1%
65	www.scribd.com Internet Source	<1%
66	www.hematologyandoncology.net Internet Source	<1%
67	Submitted to University of Queensland Student Paper	<1%
68	www.pfizer.com.cn Internet Source	<1%
69	Submitted to University of Nottingham Student Paper	<1%
70	www.communityoncology.net Internet Source	<1%
71	www.ijbs.com Internet Source	<1%
72	www.uptodate.com Internet Source	<1%
73	Submitted to Weber State University Student Paper	<1%
74	mdpi.com Internet Source	<1%
75	Submitted to Staffordshire University Student Paper	<1%
76	Submitted to University of California, Merced Student Paper	<1%
77	journals.sagepub.com Internet Source	<1%
78	Submitted to Padjadjaran University Student Paper	<1%

79	amedeo.com Internet Source	<1%
80	Submitted to Monash University Student Paper	<1%
81	err.ersjournals.com Internet Source	<1%
82	docshare.tips Internet Source	<1%
83	tlcr.amegroups.com Internet Source	<1%
84	www.medmk.com Internet Source	<1%
85	www.impactjournals.com Internet Source	<1%
86	www.cancernetwork.com Internet Source	<1%
87	www.biocancer.com Internet Source	<1%
88	www.mdpi.com Internet Source	<1%
89	pdm-mipa.ugm.ac.id Internet Source	<1%
90	Submitted to University of Southampton Student Paper	<1%
91	www.ifct.fr Internet Source	<1%
92	dotto-ro-unhas.blogspot.com Internet Source	<1%
93	docobook.com Internet Source	<1%

94 "Abstracts", Journal of Thoracic Oncology, 2009 <1%

Publication

95 Lynch, Thomas J., Daphne W. Bell, Raffaella Sordella, Sarada Gurubhagavatula, Ross A. Okimoto, Brian W. Brannigan, Patricia L. Harris, Sara M. Hasserlat, Jeffrey G. Supko, Frank G. Haluska, David N. Louis, David C. Christiani, Jeff Settleman, and Daniel A. Haber. "Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib", New England Journal of Medicine, 2004. <1%

Publication

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off

New_Terapi Target Pada Kanker Paru

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/0

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11

PAGE 12

PAGE 13

PAGE 14

PAGE 15

PAGE 16

PAGE 17

PAGE 18

PAGE 19

PAGE 20

PAGE 21

PAGE 22

PAGE 23

PAGE 24

PAGE 25

PAGE 26

PAGE 27

PAGE 28

PAGE 29

PAGE 30

PAGE 31

PAGE 32

PAGE 33

PAGE 34

PAGE 35

PAGE 36

PAGE 37

PAGE 38

PAGE 39

PAGE 40

PAGE 41

PAGE 42

PAGE 43

PAGE 44

PAGE 45

PAGE 46

PAGE 47

PAGE 48

PAGE 49

PAGE 50

PAGE 51

PAGE 52

PAGE 53

PAGE 54

PAGE 55

PAGE 56

PAGE 57

PAGE 58

PAGE 59

PAGE 60

PAGE 61

PAGE 62

PAGE 63

PAGE 64

PAGE 65

PAGE 66

PAGE 67

PAGE 68

PAGE 69

PAGE 70

PAGE 71

PAGE 72

PAGE 73

PAGE 74

PAGE 75

PAGE 76

PAGE 77

PAGE 78

PAGE 79

PAGE 80

PAGE 81
