

Deteksi Anaplastic Lymphoma Kinase Gene Rearrangement (ALK Gene Rearrangement) pada Adenokarsinoma Paru Sebagai Molekul Target Pengobatan pada Kanker Paru Jenis Karsinoma Bukan Sel Kecil

Ros Nirmawati
Endah Zuraidah
Yayi Dwina Billianti
Program Pendidikan Dokter Spesialis
Departemen Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran
Universitas Indonesia
Jakarta

ABSTRAK

Kanker paru merupakan penyebab kematian terbesar akibat kanker di dunia. Kanker paru diklasifikasikan sebagai karsinoma sel kecil dan karsinoma bukan sel kecil, sekitar 85% adalah kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil. Pasien dengan kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil, sekitar 70% terdiagnosis pada stadium lanjut. Adenokarsinoma paru dengan *anaplastic lymphoma kinase gene rearrangement* (ALK *gene rearrangement*) dengan pola fusi antara gen ALK dengan *echinoderm microtubule-associated protein-like 4* (EML4) paling banyak ditemukan. Pengobatan terapi target ALK *Tyrosine Kinase Inhibitor* saat ini telah berkembang. Pengobatan dengan terapi target ini berdasarkan panduan klasifikasi kanker paru *International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society* (IASLC/ATS/ERS) tahun 2011 dan pemeriksaan imunohistokimia dan *fluorescence in situ hybridization* (FISH) untuk pemeriksaan ALK *gene rearrangement*. Terapi target pengobatan adenokarsinoma dengan ALK *gene rearrangement* yang telah ditemukan saat ini antara lain Crizotinib (Xalkori), Ceritinib (Zykadia), Alectinib (Alecensa) dan Brigatinib (Alunbrig).

Kata kunci : adenokarsinoma paru, ALK *gene rearrangement*, klasifikasi IASLC/ATS/ERS

PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Data *Global Burden Cancer-International Agency for Research on Cancer* (GLOBOCAN-IARC) tahun 2012, melaporkan bahwa sebanyak 8,2 juta kematian disebabkan oleh kanker. Kanker paru, hati, lambung, kolorektal dan kanker payudara secara berturut-turut adalah penyebab kematian terbesar akibat kanker di dunia. Insiden kasus baru kanker paru di dunia adalah 1,8 juta (12,9%) dari total keseluruhan kanker. Angka kematian kanker paru di dunia sebanyak 1,59 juta/tahun (19,4%) dari total keseluruhannya.¹⁻³ Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia (BRK IAPI) tahun 2012 mencatat kanker paru sebagai tumor primer di seluruh senter di Indonesia dengan jumlah sebanyak 393 kasus. Kanker paru menduduki peringkat kesepuluh berdasarkan penggolongan tumor tersering menurut tumor primer pada laki-laki di seluruh senter di Indonesia tahun 2012. Insiden kasus kanker paru di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Dr. Cipto Mangunkusumo tahun 2014-2015 terdapat 98 kasus.

Keluhan dan gejala kanker paru tidak spesifik, seperti batuk darah, batuk kronik, berat badan menurun, dan gejala lain yang juga dapat dijumpai pada jenis penyakit paru lain. Penemuan

dini penyakit ini berdasarkan keluhan saja jarang terjadi, biasanya keluhan ringan terjadi pada mereka yang telah memasuki stadium II dan III. Di Indonesia kasus kanker paru terdiagnosis ketika penyakit ini telah berada pada stadium lanjut.⁴

Deteksi dini dapat dilakukan pada individu dengan risiko tinggi tanpa gejala klinis, risiko tinggi dengan gejala klinis, dan bukan golongan risiko tinggi namun memiliki gejala klinis seperti batuk kronik, sesak nafas, batuk darah, dan berat badan turun. Prosedur deteksi dini yang dapat dilakukan antara lain pemeriksaan radiologis seperti foto toraks, *CT-Scan*, dan jika dicurigai kanker paru dilanjutkan dengan pemeriksaan diagnostik khusus seperti bronkoskopi, biopsi aspirasi jarum halus, biopsi transtorakal, pemeriksaan invasif lainnya seperti torakoskopi dan tindakan bedah mediastinoskopi.⁴

Semua tindakan diagnosis untuk kanker diarahkan agar dapat menentukan jenis histologi, derajat (*staging*) dan *performance status*, sehingga jenis pengobatan dapat dipilih sesuai dengan kondisi penderita. Kanker paru mempunyai gambaran klinik, histologi dan molekular yang heterogen.⁴

Secara histologi kanker paru diklasifikasikan sebagai kanker paru karsinoma sel kecil (KPKSK atau *small cell lung cancer*, SCLL) dan kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil (KPKBSK atau *non small cell lung cancer*, NSCLC), lebih kurang 85% adalah KPKBSK. KPKBSK dibagi lagi menjadi yaitu antara lain adenokarsinoma, karsinoma sel skuamosa (*squamous cell carcinoma*), karsinoma adeno-skuamosa (*adenosquamous carcinoma*), karsinoma sel besar (*large cell carcinoma*), dan subtipe yang paling sering ditemukan adalah adenokarsinoma.⁵ Kurang lebih 70% pasien KPKBSK terdiagnosa pada stadium lanjut, dan secara klinis penyakit ini bersifat agresif.⁶⁻⁹

Beberapa tahun terakhir, komunitas onkologi melihat adanya pergeseran paradigma ke arah diagnosis molekular dan pengobatan terapi target (*targeted therapy*). Penemuan strategi pengobatan terbaru yang berdasarkan pada perubahan molekular yang spesifik atau penanda molekular, memberi kesempatan untuk pemberian terapi yang spesifik, pengobatan terapi target terutama yang berkembang pada adenokarsinoma paru seperti dengan adanya penemuan *anaplastic lymphoma kinase* (ALK)

inhibitor pada pasien dengan translokasi ALK (*ALK gene rearrangement*).⁶⁻⁷

Translokasi *anaplastic lymphoma kinase* (ALK) pertama kali dikenali pada *anaplastic large cell lymphomas* (ALCL). Pada karsinoma paru, *ALK gene rearrangement* banyak ditemukan pada pasien KPKBSK usia muda, tidak merokok atau merokok ringan, dan datang pada stadium yang sudah lanjut. Terapi target pada reseptor tersebut diharapkan memberikan hasil yang efektif untuk melawan kanker. Tujuan dari penulisan makalah ini adalah mempelajari morfologi kanker paru khususnya subtipe adenokarsinoma, aktivitas ALK *tyrosine kinase*, dan tatalaksana pasien dengan *ALK gene rearrangement*.

Sistem Klasifikasi Kanker Paru

Internasional Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society (IASLC/ATS/ERS) memperbaharui sistem klasifikasi adenokarsinoma paru pada tahun 2011, hal ini diperlukan untuk menyeragamkan terminologi dan kriteria diagnostik. Klasifikasi ini dipakai sebagai panduan untuk sampel jaringan yang berasal dari sediaan reseksi, biopsi kecil dan sitologi.⁸⁻¹²

I. Diagnosis Berdasarkan Sediaan Reseksi

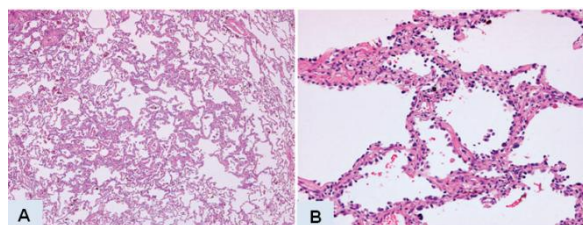
Klasifikasi diagnosis adenokarsinoma paru terbaru berdasarkan sediaan reseksi tidak lagi menggunakan terminologi *bronchioloalveolar carcinoma* (BAC), *mixed subtype adenocarcinoma*, *clear cell adenocarcinoma*, *signet ring adenocarcinoma* dan *mucinous cystadenocarcinoma*. Terdapat beberapa terminologi baru yang diperkenalkan seperti *adenocarcinoma in situ* (AIS), *minimally invasive adenocarcinoma* (MIA), *invasive mucinous adeno*, serta klasifikasi adenokarsinoma invasif yang bergantung pada pola subtipe yang lebih dominan dengan penilaian semikuantitatif (Tabel 1).⁸⁻¹¹

Tabel 1. Klasifikasi adenokarsinoma paru IASLC/ATS/ERS berdasarkan sediaan reseksi.¹¹

Preinvasive lesions
Atypical adenomatous hyperplasia -AAH
Adenocarcinoma in situ - AIS (sebelumnya disebut bronchiolo-alveolar carcinoma - BAC)
Nonmucinous
Mucinous
Mixed mucinous/nonmucinous
Minimally invasive adenocarcinoma - MIA
Nonmucinous
Mucinous
Mixed mucinous/nonmucinous
Invasive adenocarcinoma
Lepidic predominant (sebelumnya disebut pola BAC nonmucinous)
Acinar predominant
Papillary predominant
Micropapillary predominant
Solid predominant with mucin production
Variants of invasive adenocarcinoma
Invasive mucinous adenocarcinoma - IMA (sebelumnya dikenal sebagai mucinous BAC)
Colloid
Fetal (low and high grade)
Enteric

Lesi Preinvasif-Atypical Adenomatous Hyperplasia

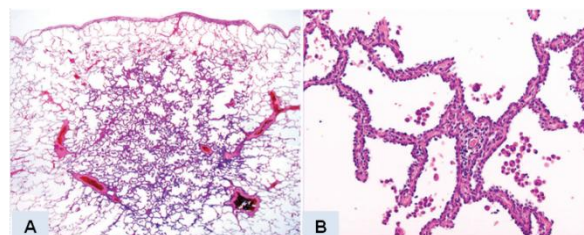
Atypical adenomatous hyperplasia (AAH) adalah lesi yang terlokalisir, berukuran kecil (biasanya berukuran 0,5 cm atau kurang), tersusun atas sel pneumosit tipe II/sel Klara tersusun melapisi dinding alveolus dan bronkiolus respiratorius, dengan inti atipik ringan hingga sedang (Gambar 1, A dan B). Sel-sel berbentuk bulat, kuboid, torak pendek, atau *peg cell* dengan inti sel berbentuk bulat sampai oval. Biasanya dapat ditemukan celah-celah sepanjang membran basalis biasanya dapat terlihat diantarsel.⁸⁻¹¹



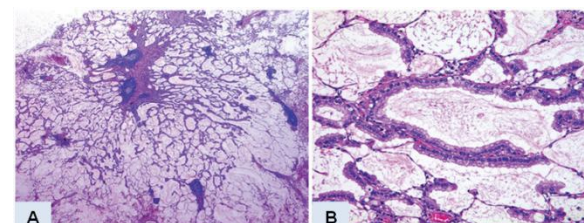
Gambar 1. *Atypical adenomatous hyperplasia*.¹¹ A. Lesi nodular 3 mm terdiri atas proliferasi pneumosit atipik, yang terdapat di dinding alveolar. Tidak terdapat komponen invasif. B. Pneumosit atipik ringan berbentuk kuboid dan menunjukkan gambaran celah diantara sel-sel. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 40x [A] dan 400x [B])¹¹

Adenocarcinoma In Situ (AIS), sebelumnya dikenal sebagai *bronchioloalveolar carcinoma* (BAC) adalah tumor yang berukuran kecil

(≤ 3 cm) dengan pertumbuhan neoplastik terbatas hanya pada struktur alveolar, atau disebut juga sebagai *lepidic growth pattern*. Pada AIS tidak ditemukan invasi stroma, vaskular atau pleural, dan tidak memiliki pola pertumbuhan invasif (asinar, papiler, mikropapiler, solid, koloidal, enterik, fetal). Hampir semua AIS adalah *non-mucinous* yang terdiri dari pneumosit tipe II dan atau sel Klara (Gambar 2, A dan B), jarang merupakan tipe *mucinous* yang terdiri atas sel kolumnar tinggi dengan nukleus di bagian basal dan sitoplasma mengandung banyak musin, terkadang tampak seperti sel goblet (Gambar 3, A dan B). Perbedaan antara AAH dengan AIS sulit dibedakan, AIS memiliki ukuran yang lebih besar (> 5 mm), dan gambaran yang lebih seluler, padat, homogen, kumpulan sel kuboid atau sel torak.⁸⁻¹¹



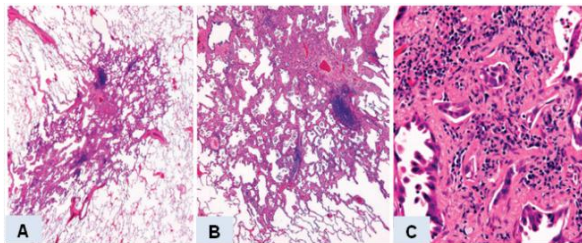
Gambar 2. *Non-mucinous adenocarcinoma in situ*.¹¹ A. Tumor *non-mucinous* sirkumskrip tumbuh dengan pola lepidik. Tidak tampak adanya fokus invasi ataupun jaringan parut. B. Tumor menunjukkan gambaran proliferasi pneumosit atipik sepanjang penebalan dan pada dinding alveolar tidak ditemukan invasi. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 40x [A] dan 400x [B])¹¹



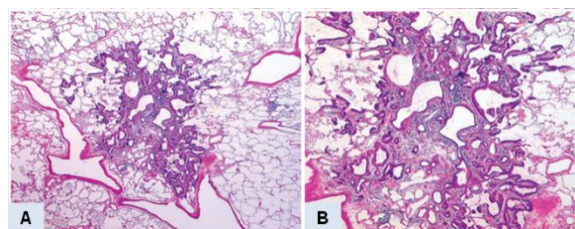
Gambar 3. *Mucinous adenocarcinoma in situ*.¹¹ A. AIS *mucinous* terdiri atas proliferasi nodular sel kolumnar musin saja yang tumbuh dengan pola lepidik. Tampak sedikit jaringan parut kecil di tengah, tidak tampak invasi jaringan ikat atau vaskular. B. Sel tumor terdiri dari sel kuboid sampai sel kolumnar dengan banyak musin apikal, nukleus terletak di basal. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 40x [A] dan 400x [B])¹¹

Minimally Invasive Adenocarcinoma (MIA), adalah tumor kecil soliter yang berukuran ≤ 3 cm dengan pola pertumbuhan lepidik yang

lebih dominan, namun memiliki fokus invasi kecil (≤ 5 mm). Fokus invasi adalah gambaran pola histologi selain pola lepidik antara lain asinar, papiler, mikropapiler dan atau solid, serta invasi stroma miofibroblastik. MIA tidak menginvasi sistem limfatik, pembuluh darah, pleura, serta tidak mengandung nekrosis. Seperti pada AIS, sebagian besar MIA adalah *non mucinous* (Gambar 4, A-C), jarang *mucinous* (Gambar 5, A dan B). Diagnosis AIS dan MIA dilakukan dengan *complete tumor sampling*, sehingga diperlukan sedian reseksi. Terkadang hasil CT-Scan preoperatif diperlukan untuk memastikan bahwa lesi telah direseksi seluruhnya. Pola lepidik biasanya digambarkan sebagai *ground glass opacity* di CT-Scan, dan komponen invasi tergambaran solid dalam hasil radiologi.⁸⁻¹¹



Gambar 4. *Nonmucinous minimally invasive adenocarcinoma*.¹¹ A. Tumor adenokarsinoma subpleura terdiri atas pertumbuhan lepidik dengan area invasi sentral kecil ($<0,5$ cm). B. Ke arah kiri adalah pola lepidik, dan sebelah kanan adalah area invasi asinar. C. Kelenjar asinar ini menginvasi ke stroma jaringan ikat. (hematoxylin-eosin, perbesaran 40x [A], 100x [B], dan 400x [C])¹¹



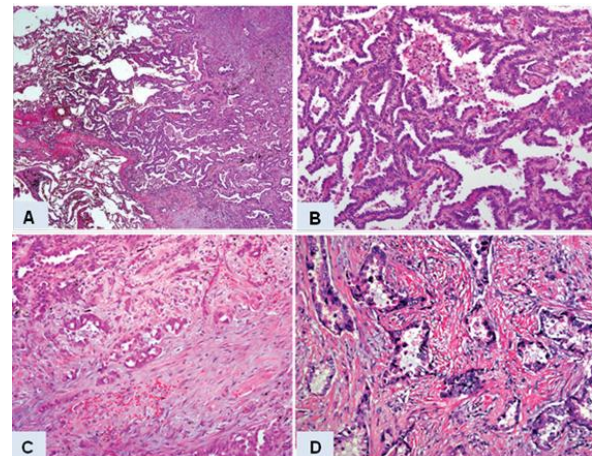
Gambar 5. *Mucinous minimally invasive adenocarcinoma*.¹¹ A. *Mucinous MIA* terdiri dari tumor dengan pola pertumbuhan lepidik dan area invasi kecil ($<0,5$ cm). B. Sel tumor terdiri atas sel kolumnar musinosa dengan pola pertumbuhan dominan lepidik sepanjang permukaan dinding alveolar. Tumor menginvasi area stroma yang fibrosis dengan pola asinar. (hematoxylin-eosin, perbesaran 40x [A] dan 100x [B])¹¹

Adenokarsinoma Invasif

Adenokarsinoma invasif adalah suatu keganasan epitelial yang memiliki diferensiasi glandular memproduksi musin atau mengekspresikan

penanda pneumosit. Adenokarsinoma invasif ditemukan sekitar 70-90% dari reseksi adenokarsinoma paru, dan seringkali terdiri dari pola histologik campuran yang kompleks dan heterogen. Saat ini adenokarsinoma invasif diklasifikasikan berdasarkan sub tipe histologik yang paling dominan.⁸⁻¹¹

Lepidic-predominant adenocarcinoma terdiri atas *bland pneumocytic cells* (pneumosit tipe II atau sel Klara) yang tumbuh sepanjang permukaan dinding alveolar dengan morfologi yang mirip dengan AIS dan MIA yang memiliki pola pertumbuhan lepidik (Gambar 6, A dan B). Adenokarsinoma invasif ditemukan minimal 1 fokus invasi lebih dari 5 mm, ukuran tumor lebih dari 3 cm, terdapat invasi limfatik, pembuluh darah atau pleura, dan adanya gambaran nekrosis tumor.⁸⁻¹¹

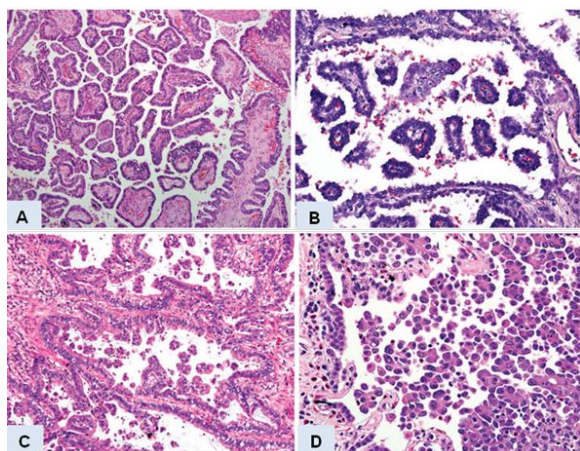


Gambar 6. *Lepidic predominant dan acinar predominant*.¹¹ A. *Lepidic predominant pattern* dengan gambaran terutama pola pertumbuhan lepidik (kanan) dan area kecil invasi *acinar adenocarcinoma* (kiri). B. Pola lepidik terdiri dari proliferasi sel pneumosit tipe II dan sel Klara sepanjang permukaan dinding alveolar. (hematoxylin-eosin, perbesaran 40x [A] dan 200x [B])¹¹ C. Area *invasive acinar adenocarcinoma* (tumor yang sama dengan gambar A dan B). D. *Acinar adenocarcinoma* terdiri atas sel-sel dengan inti bulat sampai dengan oval membentuk kelenjar maligna yang menginvasi stroma jaringan ikat. (hematoxylin-eosin, perbesaran 100x [C] dan 200x [D])¹¹

Acinar-predominant adenocarcinoma memiliki morfologi yang terdiri dari kelenjar berbentuk bulat dengan lumen dilapisi oleh sel-sel tumor (Gambar 6, C dan D). Struktur asinar juga terdiri dari agregat sel tumor yang bulat dengan polarisasi inti sel perifer dengan sitoplasma sentral tanpa lumen yang jelas. Ini

adalah subtype adenokarsinoma yang lazim ditemukan, sekitar lebih dari 40% dari keseluruhan kasus adenokarsinoma invasif. Adanya gambaran pola kribiformis adalah subset dari tumor asinar dengan prognosis yang buruk pada pasien reseksi adenokarsinoma paru stage I.⁸⁻¹¹

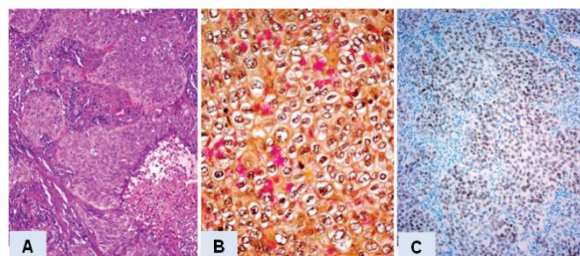
Papillary-predominant adenocarcinoma secara morfologi memberikan gambaran sel kelenjar yang tumbuh sepanjang *fibrovascular cores* (Gambar 7, A dan B). Gambaran ini harus dapat dibedakan dengan gambaran dinding alveolar pada *lepidic adenocarcinoma* yang dipotong secara tangensial. Apabila tumor memiliki gambaran pertumbuhan lepidik, namun ruang alveolar diisi dengan struktur papiler, maka diklasifikasikan sebagai *papillary adenocarcinoma*.⁸⁻¹¹



Gambar 7. *Papillary adenocarcinoma* dan *micropapillary adenocarcinoma*.¹¹ A. *Papillary adenocarcinoma* terdiri dari sel tumor kuboid sampai kolumnar ganas yang tumbuh sepanjang permukaan *fibrovascular cores*. B. *Papillary adenocarcinoma* terdiri atas struktur *intra-alveolar papillary* dengan *fibrovascular cores*. Meskipun didapatkan gambaran sel tumor kuboid dikelilingi ruang udara dengan pola lepidik, gambaran ini tetap diklasifikasikan sebagai *papillary adenocarcinoma*. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 40x [A] dan 200x [B])¹¹ C. *Micropapillary adenocarcinoma*. Tumor tumbuh dengan struktur papiler dengan *fibrovascular cores* yang minimal di dalam alveolus. Meskipun didapatkan beberapa area dengan gambaran papiler dengan *fibrovascular cores* dan beberapa sel tumor tumbuh lepidik sepanjang permukaan alveolus, secara garis besar pola ini diklasifikasikan sebagai *micropapillary*. D. *Micropapillary adenocarcinoma*. Tumor ini menyebar melalui ruang alveolar dengan struktur papiler kecil yang mengandung sedikit *fibrovascular cores* sampai dengan sel individual diskohesif. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 200x [C] dan 400x [D])¹¹

Micropapillary-predominant adenocarcinoma menampilkan sel tumor papiler yang berumbai tanpa disertai *fibrovascular cores* (Gambar 7, C dan D). Gambaran ini dapat terlihat terpisah dan atau menempel pada dinding alveolar. Sel-sel tumornya kecil berbentuk kuboid dengan atipia inti yang minimal. Struktur kelenjar seperti cincin dapat ditemukan di dalam ruang alveolus. Invasi stroma dan vaskuler sering terjadi. *Psammoma bodies* dapat ditemukan. Beberapa penelitian menemukan bahwa tumor jenis ini memiliki prognosis yang buruk.⁸⁻¹¹

Solid-predominant adenocarcinoma adalah tumor dengan komponen utama sel tumor berbentuk poligonal dan membentuk lembaran-lembaran, sehingga cukup sulit untuk diidentifikasi pola adenokarsinomanya (Gambar 8, A-C). Apabila tumor 100% solid, maka untuk mendiagnosis adenokarsinoma varian solid dibutuhkan musin intraselular ditemukan minimal 5 sel tumor pada 2 lapang pandang besar, dan dikonfirmasi dengan pewarnaan histokimia untuk mendeteksi musin (Gambar 8 B). *Solid adenocarcinoma* harus dapat dibedakan dengan *squamous cell carcinomas* dan *large cell carcinomas*, keduanya dapat memberikan gambaran beberapa sel dengan musin intraselular. Beberapa *solid adenocarcinoma* memberikan gambaran sitoplasma eosinofilik yang padat mirip dengan *squamous cell carcinomas*, namun tidak memiliki gambaran keratinisasi, mutiara keratin, atau jembatan interseluler dan hasil positif pada pemeriksaan imunohistokimia (IHK) *thyroid transcription factor-1* (TTF1).⁸⁻¹¹

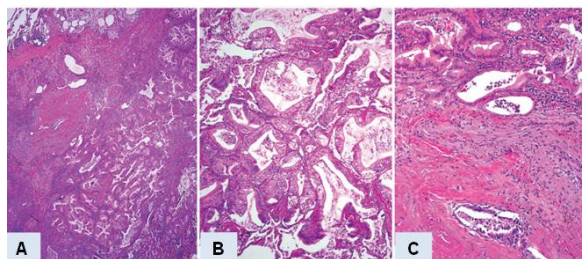


Gambar 8. *Solid adenocarcinoma*.¹¹ A. Tumor ini terdiri atas lembaran-lembaran sel tumor dengan sitoplasma yang banyak dan kebanyakan nukleusnya vesikular dengan beberapa anak inti yang mencolok. Tidak tampak adanya pola asinar, papiler, ataupun lepidik, dan tidak ditemukan adanya musin di sitoplasma sel tumor. B. Tumor memberikan gambaran fokus pewarnaan musin intrasitoplasma yang kuat pada beberapa sel tumor. C. *Thyroid transcription factor-1* (TTF-1) positif. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 100x [A], musikarmin, 400x [B], dan TTF-1 200x [C])¹¹

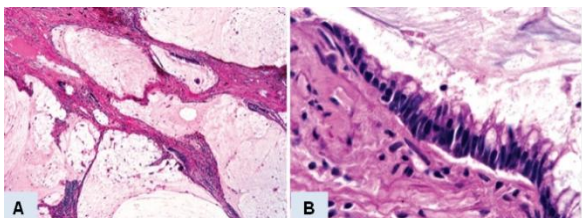
Variants of Invasive Adenocarcinomas (VIA)

Invasive mucinous adenocarcinoma (IMA) memiliki gambaran morfologi sel goblet atau kolumnar dengan musin intrasitoplasma yang banyak (Gambar 9, A-C). Inti sel atipik ringan. Ruang alveolar biasanya terisi musin. Jika terjadi invasi stroma, sel maligna tampak lebih atipik dan musin sitoplasma sedikit (Gambar 9, C). Tumor ini dapat dibedakan dari *mucinous AIS* dan *MIA* oleh 1 kriteria atau lebih, yaitu ukuran (>3 cm), invasi ($>0,5$ cm), nodul multipel, atau penyebaran milier ke parenkim paru dengan tepi tidak tegas.⁸⁻¹¹

Colloid adenocarcinoma memiliki gambaran kelompok-kelompok musin ekstraselular yang banyak, dikenal sebagai kolam musin, menyebabkan ruang alveolar tampak melebar dan merusak dinding (Gambar 10, A dan B). Kolam musin terdiri atas musin ekstraseluler dengan kelompokan-kelompokan sel tumor penghasil musin, diantaranya sel tumor dapat berupa sel goblet atau sel lain yang mensekresi musin. Inti sel biasanya hanya terlihat mengalami atipia ringan.⁸⁻¹¹



Gambar 9. *Invasive mucinous adenocarcinoma*.¹¹ A. Area ini menggambarkan pola lepidik, asinar dan papiler. Terdapat fokus fibrotik yang terdiri dari tumor invasif dengan stroma desmoplastik. B. Tumor terdiri atas sel kolumnar dengan inti atipik di daerah basal serta banyak musin dalam sitoplasma. Secara garis besar area ini memperlihatkan pertumbuhan lepidik, disertai area cenderung pola asinar. C. Fokus invasi dengan stroma desmoplastik. Area invasi memperlihatkan pola asinar dan sel tumor dengan musin sitoplasmik minimal. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 40x [A], 100x [B], dan 200x [C])¹¹

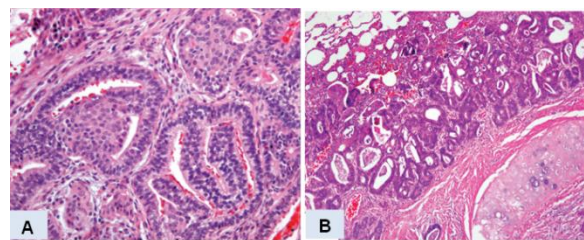


Gambar 10. *Colloid adenocarcinoma*.¹¹ A. Tumor terdiri dari kolam musin yang banyak memenuhi dan membengkakkan ruang udara. Setempat terdapat

pertumbuhan epitel kelenjar musin berdifferensiasi baik sepanjang permukaan septum fibrosis dan didalam kolam-kolam musin. B. Permukaan dinding fibrotik dilapisi epitel musin kolumnar dan kuboid berdifferensiasi baik. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 100x [A] dan 400x [B])¹¹

Fetal adenocarcinoma adalah adenokarsinoma berbentuk kelenjar kaya akan glikogen, sel-sel tidak bersilia mirip dengan tubulus paru fetus pada fase *pseudoglandular* (Gambar 11A). Dapat ditemukan vakuola subnukleus yang merupakan tanda khas varian ini. Pada lumen dapat ditemukan *squamoid morules*, terutama pada *fetal adenocarcinoma low grade*.

Enteric differentiation memiliki gambaran morfologi dan imunohistokimia yang serupa dengan *colorectal adenocarcinoma*. Tipe ini terdiri dari struktur kelenjar dan atau papiler, terkadang pola kribiformis (Gambar 11B), dilapisi sel tumor kolumnar tinggi dengan inti sel psuedostratifikasi, nekrosis luminal, dan debris inti sel yang prominen. Sulit untuk membedakan tumor ini dengan metastasis dari organ gastrointestinal, karena morfologi dan pola pulasan imunohistokimia yang mirip.⁸⁻¹¹



Gambar 11. *Fetal adenocarcinoma* dan *Enteric adenocarcinoma*.¹¹ A. *Fetal adenocarcinoma* terdiri dari sel kelenjar maligna berbentuk tubular dan papiler dengan morfologi endometrioid dan terdapat *squamoid morules*. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 200x).¹¹ B. *Enteric adenocarcinoma* secara morfologi menyerupai gambaran *colonic adenocarcinoma* dengan struktur *back to back* dan asinar bersudut. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 100x).¹¹

II. Diagnosis Berdasarkan Biopsi Kecil dan Sitologi

Lebih dari 70% pasien kanker paru pada saat ditemukan, didiagnosa sebagai kanker paru stadium lanjut. Sampel jaringan yang sering digunakan berasal dari biopsi kecil dan sitologi. Pemeriksaan KPKBSK berdasarkan biopsi kecil dan sitologi, jika memungkinkan wajib ditelusuri sampai tipe yang spesifik seperti adenokarsinoma atau karsinoma sel skuamosa karena akan menentukan terapi yang diberikan.

Terminologi *Non-small cell carcinoma, not otherwise specified* (NSCLC-NOS) sebaiknya dihindari. Terminologi NSCLC-NOS hanya digunakan apabila penegakan diagnosis berdasarkan morfologi dan atau pewarnaan khusus tidak memungkinkan.^{8-10,12}

Perubahan klasifikasi ini mempengaruhi beberapa hal antara lain penggunaan pewarnaan khusus yang lebih sering untuk mengklasifikasi kasus sulit ke subtype yang lebih spesifik,

diagnosis menggunakan sample jaringan yang sedikit, dan kemampuan mengelola jaringan secara tepat guna untuk pemeriksaan molekuler. Ringkasan terminologi yang digunakan pada biopsi kecil dan sitologi dapat dilihat pada Tabel 2. Penegakkan diagnosis perlu diperjelas didapatkan hanya berdasarkan mikroskop cahaya atau diperlukan tambahan pewarnaan khusus.^{8-10,12}

Tabel 2. IASLC/ATS/ERS Classification for Small Biopsies/Cytology¹²

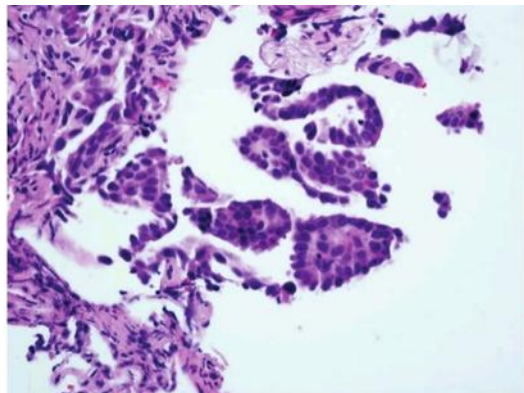
2004 WHO Classification	Small Biopsy/Cytology : IASLC/ATS/ERS
Adenocarcinoma	Morphologic adenocarcinoma patterns clearly present : Adenocarcinoma, describe identifiable patterns present (including micropapillary pattern not included in 2004 WHO classification)
Mixed subtype	
Acinar	
Papillary	
Solid	If pure lepidic growth-mention an invasive component cannot be excluded in this small specimen
Bronchioloalveolar carcinoma (nonmucinous)	Adenocarcinoma with lepidic pattern (if pure, add note : an invasive component cannot be excluded)
Bronchioloalveolar carcinoma (mucinous)	Mucinous adenocarcinoma (describe pattern present)
Fetal	Adenocarcinoma with fetal pattern
Mucinous (colloid)	Adenocarcinoma with colloid pattern
Signet ring	Adenocarcinoma with (describe patterns present) and signet ring features
Clear cell	Adenocarcinoma with (describe patterns present) and clear cell features
No 2004 WHO counterpart-most will be solid adenocarcinomas	Morphologic adenocarcinoma patterns not present(supported by special stains) : Non-small cell carcinoma, favor adenocarcinoma
Squamous Cell Carcinoma	Morphology squamous cell patterns clearly present : squamous cell carcinoma
Papillary	
Clear cell	
Small cell	
Basaloid	
No 2004 WHO counterpart	Morphology squamous cell patterns clearly not present (supported by stains): Non-small cell carcinoma, favor squamous cell carcinoma
Small cell carcinoma	Small cell carcinoma
Large cell carcinoma	Non-small cell carcinoma, not otherwise specified (NOS)
Large cell neuroendocrine carcinoma (LCNEC)	Non-small cell carcinoma with neuroendocrine (NE) morphology (positive NE markers), possible LCNEC
Large cell carcinoma with NE morphology (LCNEM)	Non-small cell carcinoma with NE morphology (negative NE markers). This is a non-small cell carcinoma where LCNEC is suspected, but stains failed to demonstrate NE differentiation
Adenosquamous carcinoma	Morphologic squamous cell and adenocarcinoma patterns present: Non-small cell carcinoma, with squamous cell and adenocarcinoma patterns. This could represent adenosquamous carcinoma.
No counterpart in 2004 WHO classification	Morphologic squamous cell or adenocarcinoma patterns not present but immunostains favor separate glandular and adenocarcinoma components Non-small cell carcinoma, NOS, (specify the results of the immunohistochemical stains and the interpretation) This could represent adenosquamous carcinoma
Sarcomatoid carcinoma	Poorly differentiated NSCLC with spindle and/or giant cell carcinoma (mention if adenocarcinoma or squamous carcinoma are present)

Diagnosis Morfologi Berdasarkan Mikroskop Cahaya

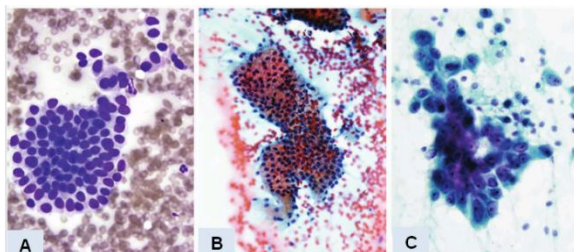
Adenokarsinoma memperlihatkan gambaran differensiasi kelenjar dengan manifestasi 1 atau lebih gambaran lepidik, asinar, papiler, mikropapiler atau pola solid (Gambar 12). Sitologi adenokarsinoma memberikan gambaran berupa lembaran datar, kumpulan sel berbentuk bola 3

dimensi, agregat pseudopapiler atau gambaran papiler sejati dengan *central fibrovascular cores*, kumpulan struktur asinar yang saling melekat (Gambar 13A), "*picket fence*" serta "*drunken honeycomb*" (Gambar 13B). Sel tumor memiliki inti sel yang terletak eksentrik dengan kromatin sangat halus sampai dengan kromatin kasar dan distribusi yang irreguler. Tumor kebanyakan

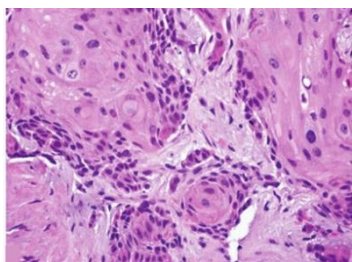
memiliki satu makronukleus. Sitoplasma cenderung basofilik, homogen, granular, berbuih, translusen, dan bervakuol (Gambar 13C).^{8-10,12}



Gambar 12. Adenokarsinoma dan karsinoma sel skuamosa dari biopsi kecil.¹² Pada gambar ini memperlihatkan potongan adenokarsinoma dengan struktur papiler. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 400x).¹²



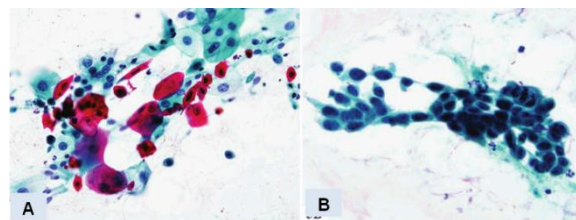
Gambar 13. Adenokarsinoma, sitologi.¹² A. Sel kelenjar berbentuk mendatar, seperti lembaran-lembaran seragam yang menyatu, dengan penanda khas ukuran inti sel sedikit variasinya, sitoplasma yang sangat halus dan terdapat gangguan polaritas. B. Gambar ini menunjukkan sitoplasma jernih terisi musin dan inti sel yang tidak beraturan dalam bentuk *honeycombing*, yang tidak beraturan. C. Tampak lumen dikelilingi sel-sel kelenjar dengan sitoplasma yang halus/terang dan seringkali inti sel terletak eksentrik, dengan anak inti yang terlihat jelas. Perhatikan gambaran mitosis. (*Papanicolau*, perbesaran 400x [A]; *Diff Quik*, perbesaran 400x [B] dan [C]).¹²



Gambar 14. Karsinoma sel skuamosa dari biopsi kecil.¹² Pada gambar ini memperlihatkan sarang-

sarang sel-sel tumor berupa keratinisasi dan mutiara-mutiara keratin. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 400x).¹²

Gambaran morfologi karsinoma sel skuamosa terdiri atas gambaran keratinisasi, mutiara keratin dan jembatan interseluler (Gambar 14). Pada pewarnaan Papanicolau, keratin terwarnai oranye sampai kuning terang atau merah (Gambar 15A). Gambaran ini harus dapat dibedakan dengan gambaran sitoplasma eosinofilik karena keringnya jaringan dalam proses pulasan Giemsa. Pada pewarnaan Giemsa, keratinisasi berwarna biru seperti *robin's egg blue color*. Sitoplasma opak atau padat. Sel dapat berbentuk bulat sampai oval bisa juga memanjang dengan batas tegas, dapat ditemukan sel dengan gambaran ekor sitoplasma memanjang dan gambaran *tadpole*. Inti sel bersifat soliter, terpusat ditengah, dan hiperkromatin, dengan tepi terluar berbentuk dendritik dan membentuk persegi (Gambar 15B).^{8-10,12}



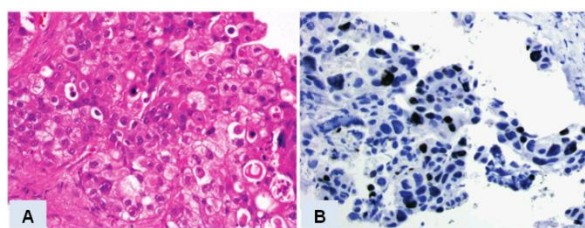
Gambar 15. Karsinoma sel skuamosa, sitologi.¹² A. Sel tumor bermanifestasi dengan gambaran sitoplasma keratin yang padat, berwarna *glassy red* sampai dengan oranye. Setiap sel memiliki inti sel yang hiperkromatin, dan membran inti ireguler. Tampak pula sel-sel ganas yang tidak mengalami keratinisasi dengan sitoplasma basofilik. B. Sel epitel yang ganas membentuk seperti lembaran mosaik yang mendatar, yang ditandai oleh sitoplasma yang padat atau opak. Inti sel hiperkromatik berukuran kecil dengan kromosenter, dan atau anak inti kecil. Mitosis dapat ditemukan. (*Papanicolau*, perbesaran 400x [A]; *Diff Quik*, perbesaran 400x [B]).¹²

III. Diagnosis dengan Imunohistokimia

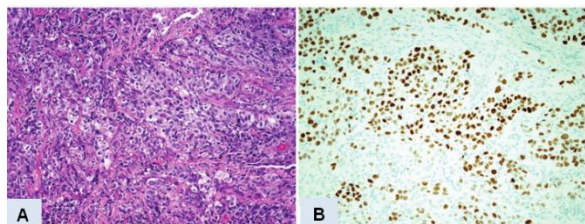
Pada kasus dengan gambaran KPKBSK yang tidak dapat ditentukan morfologi lebih mengarah ke adenokarsinoma atau karsinoma sel skuamosa, disarankan untuk melanjutkan pemeriksaan imunohistokimia untuk menegakkan diagnosis. TTF-1, pada saat ini, merupakan penanda terbaik untuk pemeriksaan adenokarsinoma. TTF-1 dapat dipakai sebagai penanda sel pneumosit untuk menegakkan sekitar 75-85% adenokarsinoma paru. *Transformation related*

protein 63 (p63), *polyclonal p40*, dan *cytokeratin 5/6* (CK5/6) dapat digunakan sebagai penanda karsinoma sel skuamosa. Penanda *cytokeratin 7*, 34 β E12, dan S100A7, dapat dipakai juga namun kurang sensitif dan spesifik.¹²

Bila ditemukan hasil TTF-1 positif, p40 atau p63 negatif, pada pemeriksaan imunohistokimia, maka diklasifikasikan sebagai NSCLC *favor adenocarcinoma* (Gambar 16, A dan B). Pemeriksaan imunohistokimia dengan hasil TTF-1 negatif, p40 atau p63 positif, maka diklasifikasikan sebagai NSCLC *favor squamous cell carcinoma* (Gambar 17, A dan B).¹²



Gambar 16. *Non-small cell lung carcinoma, favor adenocarcinoma*.¹² A. Tumor menunjukkan gambaran pola pertumbuhan solid, tidak tampak gambaran asinus, papiler, lepidik dan tidak tampak musin intrasitoplasma. Morfologi sebelum imunohistokimia disebut sebagai *pseudosquamous*. B. TTF-1 positif pada inti. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 200x [A]; imunohistokimia TTF-1, perbesaran 400x [B])¹²



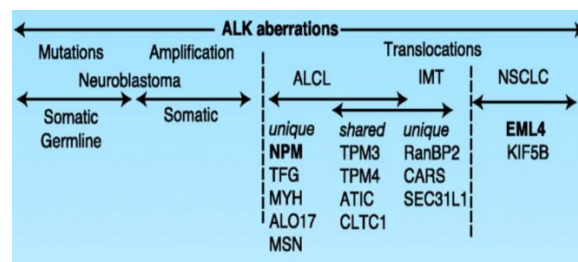
Gambar 17. *Non-small cell lung carcinoma, favor squamous cell carcinoma*.¹² A. Hasil biopsi menunjukkan gambaran sarang-sarang sel tumor yang solid, tidak tampak jelas *glandular* dan diferensiasi skuamosa. B. p40 menunjukkan gambaran inti sel yang terwarnai positif kuat. (*hematoxylin-eosin*, perbesaran 200x [A]; IHC p40, perbesaran 400x [B])¹²

Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK)

Anaplastic lymphoma kinase (ALK) adalah reseptor tirosin kinase yang termasuk dalam superfamili reseptor insulin. Gen ALK terletak pada lengan pendek kromosom 2 dan pertama kali ditemukan sebagai onkogen yang diaktifkan oleh peristiwa translokasi kromosom t(2;5)(p23;q35) pada pasien *anaplastic large cell lymphoma* (ALCL). Hasil analisis hibridisasi *in*

situ ALK messenger RNA (mRNA) pada mencit menunjukkan bahwa ALK muncul didominasi pada regio sistem saraf yang spesifik, seperti pada thalamus dan otak tengah, yang menunjukkan bahwa ALK memiliki peranan penting dalam perkembangan dan pemeliharaan sistem saraf pusat dan sistem saraf tepi.¹³

Penyimpangan-penyimpangan ALK yang dapat terjadi antara lain *chromosomal rearrangement*, mutasi, dan amplifikasi, dikatakan berhubungan dengan proses tumorigenesis dan berhubungan secara langsung dengan perkembangan beberapa tumor tertentu seperti KPKBSK, kanker payudara dan neuroblastoma (Gambar 18).^{14,15}



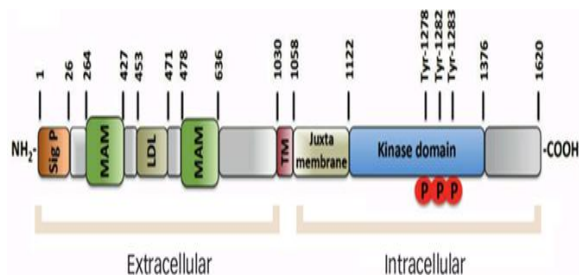
Gambar 18. Perubahan yang dapat terjadi pada gen ALK.¹⁵

Struktur *Anaplastic Lymphoma Kinase Receptor*

Human gene ALK mengkode protein 176 kDa setelah mengalami modifikasi translasi, seperti pada *N-glycosylation*, yang mengubah migrasi kurang lebih 220 kDa pada *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS/PAGE). ALK reseptor adalah *singlepass* protein transmembran yang terdiri atas regio ekstraselular asam amino 1.030 bp, yang mengandung *N-terminal signal peptide*, dua meprin, *A-5 protein*, reseptor *protein tyrosine phosphatase mu* (MAM) yang dipisahkan oleh *low-density lipoprotein* kelas A (LDL-A), dan juga mengandung *glycine-rich region* proksimal dari domain transmembran yang menghubungkan regio ekstraselular dengan regio intraselular.^{13,15}

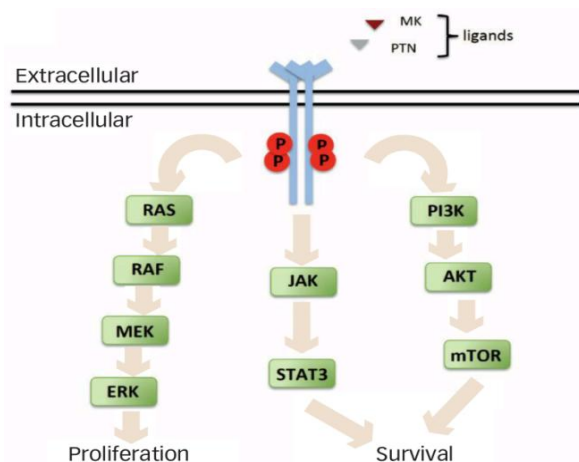
Domain MAM tersusun dari 160 asam amino dan berperan dalam interaksi sel ke sel, namun fungsi LDL-A masih belum diketahui, diduga terlibat dalam mengenali ligan. Regio intraselular terdiri dari domain juxtamembran dan domain tirosin kinase. Fungsi dari domain juxtamembran masih belum diketahui, namun perannya di reseptor lain adalah sebagai modulator aktivitas katalitik kinase. Domain kinase terdiri dari tiga lokasi autofosforilasi pada

tirosine residue 1278, 1282, dan 1283, yang dikenal sebagai motif YXXYY, fosforilasi meregulasi aktivitas kinase ALK. (Gambar 19).^{14,16-20}



Gambar 19. Struktur ALK.¹⁴

Sinyal transduksi ALK diinisiasi oleh ligan, yang memicu terjadinya dimerisasi dan transfosforilasi. Ligan ALK adalah *midkine* (MK) dan *pleiotrophin* (PTN), yang dapat berperan sebagai *autocrine/paracrine signaling molecules*. MK dan PTN terekspresikan selama pertumbuhan sistem saraf dan terekspresi tinggi pada beberapa kanker, MK dan PTN bertindak sebagai faktor angiogenesis yang mendorong terjadinya invasi dan metastasis.^{14,21}



Gambar 20. Signaling Pathway ALK.¹⁴

MK adalah *heparin-binding growth factor* dengan berat molekul 13 kDa, yang meregulasi perkembangan organ paru, ginjal, tulang dan sistem saraf. Stoica dkk.,²² melaporkan bahwa MK merangsang fosforilasi ALK dan mengaktifkan sinyal transduksi *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) dan sinyal transduksi *mitogen-activated protein kinase* (MAP Kinase) atau sinyal *extracellular signal-regulated kinase* (ERK). PTN adalah protein dengan berat 18 kDa yang bertugas sebagai *growth factor*, meregulasi

neurite outgrowth dan proliferasi fibroblas dan sel endotelial. Stoica dkk.,²³ melaporkan bahwa PTN terikat pada regio ALK ekstraselular, yang memicu terjadinya fosforilasi dan mengaktifkan jalur selanjutnya (Gambar 20).^{14,21} Reseptor ALK menyebabkan aktivasi beberapa jalur sinyal transduksi, yaitu jalur Ras/ERK, JAK/STAT, dan PI3K/AKT, jalur tersebut berperan dalam proliferasi sel, migrasi sel dan *cell survival* (Gambar 20).^{13,14,24}

Extracellular signal-regulated kinase (ERK) mengendalikan proses seluler seperti diferensiasi, proliferasi dan migrasi sel. Sinyal ERK teraktivasi oleh berbagai sinyal ekstraseluler seperti faktor-faktor pertumbuhan. Stimulasi RTK, seperti contohnya pada ALK, mendorong pertukaran GDP untuk GTP pada Ras GTPase, yang selanjutnya akan merekrut Raf kinase ke membran plasma untuk mengaktifkannya. Setelah itu MEK akan teraktivasi melalui proses fosforilasi. MEK yang sudah aktif akan memfosforilasi ERK menjadi residu treonin dan tirosin, ERK yang terfosforilasi akan ditranslokasikan ke nukleus untuk memodulasi ekspresi gen melalui fosforilasi faktor transkripsi.¹³

Signal transducers and activator of transcription (STAT) adalah famili faktor transkripsi sitoplasmik laten yang teraktivasi pada banyak kasus oleh reseptor faktor pertumbuhan, seperti contohnya ALK. Fungsi STAT adalah meregulasi berbagai macam proses yang mengarah pada onkogenesis, termasuk proses angiogenesis, juga pada proliferasi dan survival dengan meregulasi ekspresi berbagai macam gen. *Janus protein tyrosine kinase* (JAKs) adalah enzim yang memediasi aktivasi STAT yang distimulasi oleh faktor pertumbuhan. STAT terlibat dalam proliferasi sel dan *cell survival*.¹³

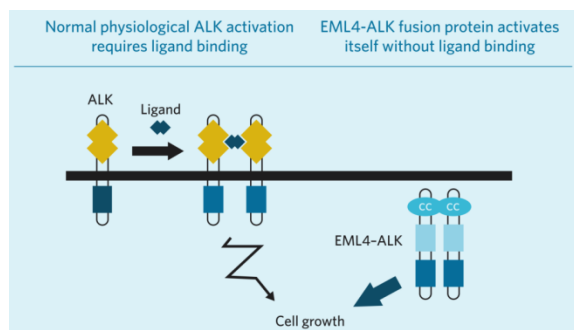
PI3K adalah lipid kinase, yang teraktivasi oleh RTK. PI3K menghasilkan *phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate second messenger* yang melengkapi protein dengan *pleckstrin homology domain* (PH domain) ke membran plasma. AKT adalah serin/treonin kinase dengan PH domain yang berperan penting dalam proses seluler seperti proliferasi, migrasi dan *cell survival*. AKT diaktifkan oleh fosforilasi di dua tempat, treonin 308 dan serin 473, oleh *phosphoinositide-dependent kinase* (PDK1) dan *hypothetical PDK2 kinase*, secara terpisah.^{13,14,24}

Peran ALK pada Keganasan Adenokarsinoma Paru

Pada tahun 2007, Soda dkk., menemukan fusi gen ALK dengan protein *echinoderm microtubule-associated protein-like 4* (EML4) pada pasien dengan adenokarsinoma paru. Kedua gen ini, EML4 dan ALK, berlokasi di lengan pendek kromosom 2. Fusi dari kedua gen ini terjadi sekunder akibat adanya inversi di kromosom 2 yang menyebabkan *amino terminus* EML4 bergabung dengan domain ALK katalitik intraselular. Fusi EML4 dan ALK dapat terjadi ditempat yang berbeda-beda sepanjang kromosom 2 ALK, hal inilah yang menyebabkan variasi fusi protein EML4-ALK. Telah ditemukan 11 variasi EML4-ALK, namun apakah variasi ini berhubungan dengan tampilan klinis yang berbeda masih belum diketahui (Gambar 21).^{13,14,16,20,24,25}

Fusi EML4-ALK menghasilkan aktivasi ALK yang menyebabkan disregulasi jalur sinyal selanjutnya yang berfungsi mengontrol proliferasi sel dan apoptosis. Gangguan ini menyebabkan sinyal apoptosis dihambat dan menyebabkan proliferasi sel yang berlebihan, yang berkontribusi dalam perkembangan adenokarsinoma paru. ALK *gene rearrangement* ditemukan pada sekitar 3-5% pasien adenokarsinoma paru.^{13,14,16,20,24,25}

Protein ALK fisiologis berlokasi di membran plasma, protein fusi EML4-ALK berlokasi di sitoplasma dan membentuk dimer melalui *coiled coil portion of* EML4. Hal inilah yang mengaktifkan sinyal mitogenik persisten. *Gene rearrangement* ini yang mengaktifkan *chimeric protein* dengan *ligand-independent tyrosine kinase activity*. Sinyal ini yang memicu terjadinya pertumbuhan kanker melalui siklus sel survival, proliferasi dan metastasis (Gambar 21).^{21,26}



Gambar 21. Aktivitasi ALK fisiologis dan aktivitas protein fusi EML4-ALK.²¹

Pemeriksaan ALK pada Adenokarsinoma Paru

Diagnosis patologi kanker paru saat ini adalah suatu proses yang bertahap, diawali dengan diagnosis morfologi untuk mengetahui tipe histologik, dilanjutkan dengan imunohistokimia, lalu diikuti pemeriksaan molekular yang sesuai dengan karakteristik tumor. Peran dari tim multidisiplin, termasuk spesialis bedah thorak, spesialis radiologi, spesialis patologi anatomik, spesialis onkologi dan spesialis pulmonologi, sangat diperlukan didalam menentukan pendekatan terbaik bagi setiap pasien. Sampel jaringan dari tumor primer dapat diperoleh melalui bronkoskopi, *video-assisted thoracoscopic surgery*, thorakotomi *image-guided* perkutaneus *transthoracic* biopsi, tehnik transbronkial, dan tehnik transesophageal.^{15,28}

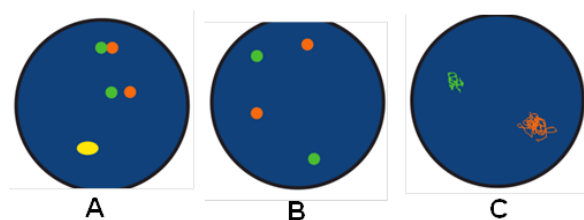
Panduan pengujian ALK *gene rearrangement* adalah sebagai berikut :

1. Pengujian ALK *gene rearrangement* sebaiknya dilakukan secara sistematis pada pasien yang akan diterapi ALK *targeted tyrosine kinase inhibitor*, dan pasien dengan adenokarsinoma paru tidak dieksklusi berdasarkan karakteristik klinis.²⁷
2. Pada pemeriksaan dengan spesimen reseksi, pemeriksaan ALK *gene rearrangement* dapat dilakukan pada adenokarsinoma dan kanker paru tipe campuran yang mengandung komponen adenokarsinoma.²⁷
3. Pada pemeriksaan dengan spesimen kanker paru yang terbatas (biopsi dan sitologi) dan komponen adenokarsinoma tidak dapat dieksklusi, maka pemeriksaan ALK *gene rearrangement* dapat dilakukan pada kasus dengan hasil histologi karsinoma skuamosa atau karsinoma sel kecil namun memiliki kriteria klinis yang sesuai seperti usia muda, tidak memiliki riwayat merokok atau perokok ringan.²⁷
4. Pemeriksaan ALK *gene rearrangement* saat awal diagnosis pada pasien dengan stadium lanjut (stadium IV) yang memungkinkan dilakukan terapi target atau pada pasien yang mengalami rekurensi atau masuk ke stadium lebih lanjut.²⁷
5. Pemeriksaan ALK *gene rearrangement* pada pasien dengan stadium I, II, dan III yang masih memungkinkan untuk dilakukan reseksi dapat dilakukan, namun keputusannya dilakukan berdasarkan kebijakan masing-masing laboratorium berkolaborasi dengan tim onkologinya.²⁷

6. Hasil pemeriksaan selesai dalam waktu 10 hari kerja sejak sampel diterima oleh laboratorium.²⁷

Pemeriksaan ALK *gene rearrangement* dapat dilakukan dengan *fluorescence in situ hybridization* (FISH) *assay-dual-labeled break apart probe*, imunohistokimia (dapat menjadi skrining untuk melakukan FISH). Pemeriksaan dengan *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR) dapat dilakukan namun tidak direkomendasikan sebagai alternatif FISH untuk menyeleksi pasien yang akan diberikan ALK *inhibitor therapy*.^{14,18,20,23} Saat ini berkembang juga pemeriksaan dengan *next generation sequencing* dan *exon array profiling for EML4-ALK fusion*.²⁰

Vysis LSI ALK dual-labeled break apart FISH probe adalah campuran dari dua warna yaitu *vysis LSI 3'-ALK* spektrum orange dan *vysis LSI 5'-ALK* spektrum hijau. Pada ALK yang normal akan tampak warna orange dan hijau yang berdekatan atau fusi warna orange-hijau (kuning) (Gambar 22A). Pada ALK *rearrangement* sinyal warna orange dan hijau tidak akan bersatu atau berjauhan (Gambar 22, B dan C). Penilaian dilakukan berdasarkan pengamatan dari 50 nukleus yang terwarnai hijau, orange dan kuning. Hasil penilaian dinyatakan positif jika ditemukan sinyal warna orange dan hijau berjauhan diatas 15%.^{16,24,29} Pemeriksaan dengan FISH adalah baku emas untuk pemeriksaan ALK *gene rearrangement*. Namun tantangannya adalah biaya yang cukup tinggi, interpretasi yang akurat membutuhkan pengalaman dan kemampuan untuk membaca hasil FISH, tidak memberikan gambaran yang spesifik mengenai tipe translokasinya, hasil pulasan akan pudar dalam jangka waktu tertentu dan *turn-around time* yang cukup lama.²⁰



Gambar 22. Hasil FISH.¹⁶ A. ALK normal. B dan C. ALK *rearrangement*.¹⁶

Pada pemeriksaan imunohistokimia yang dideteksi adalah ekspresi protein ALK, namun ekspresi protein ALK ini cenderung rendah. Oleh karena itu penggunaan *primary*

anti-ALK antibodies (D5F3, ALK1, Clone 5A4) biasanya dikonjugasikan dengan sistem *enhanced detection* untuk mengamplifikasi sinyal. Tantangan yang dihadapi adalah persiapan jaringan, pemilihan antibodi, *signal enhancement systems* dan sistem penilaian optimal. Kelebihan dari imunohistokimia adalah biaya yang lebih murah dibandingkan FISH, implementasinya relatif mudah, interpretasi lebih mudah dilakukan, dan *turn-around time* yang lebih pendek.^{20,24,30} Sensitivitas dan spesifisitas IHK dibandingkan dengan FISH³⁰ dengan antibodi D5F3 (*Cell Signaling*) dan 5A4 (*Novocastra*), didapatkan hasil sensitivitas 100% dan spesifisitas 5A4 87,5% dan D5F3 75%, dan tidak ditemukan hasil negatif palsu. Paik, dkk,^{31,32} melalui penelitiannya dengan antibodi 5A4 (*Novocastra*), dengan skor penilaian yang sama, didapatkan hasil sensitivitas 100% dan spesifisitas 95,8%, dengan nilai prediktif negatif sebesar 100% dan nilai prediktif positif sebesar 51,9%.

Pada pemeriksaan dengan *multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) dapat dideteksi varian fusi gen ALK, namun pemeriksaan ini sulit dilakukan dengan menggunakan *formalin-fixed paraffin-embedded* (FFPE) karena dibutuhkan kualitas RNA yang bagus. Kelebihan yang sangat signifikan adalah bahwa RT-PCR dapat digunakan untuk memeriksa jaringan yang berasal dari darah, efusi pleura dan cairan bilasan bronkus yang tidak dapat dibuat menjadi FFPE.³³

ALK Tyrosine Kinase Inhibitor

Pengobatan adenokarsinoma dengan ALK *gene rearrangement* yang telah ditemukan saat ini adalah Crizotinib (Xalkori), Ceritinib (Zykadia), Alectinib (Alecensa) dan Bragitinib (Alunbrig).³⁴ Crizotinib sudah mendapatkan persetujuan dari U.S Food and Drug Administration (FDA *oncology approval*) sejak Agustus 2011. Crizotinib adalah lini pertama pengobatan adenokarsinoma dengan ALK *gene rearrangement*.³⁴

RINGKASAN

Kanker paru merupakan salah satu penyebab kematian terbesar akibat kanker di dunia. Adenokarsinoma paru merupakan salah satu jenis kanker paru jenis karsinoma bukan sel kecil. ALK *gene rearrangement* ditemukan pada sekitar 3-5% pasien adenokarsinoma paru. Pengobatan terapi target ALK *gene rearrange-*

ment saat ini telah ditemukan. Panduaan pemberian pengobatan terapi target berdasarkan klasifikasi IASLC/ATS/ERS sebagai penentu diagnosis histologik adenokarsinoma paru dan dilanjutkan dengan pemeriksaan ALK *gene rearrangement*. Adenokarsinoma paru dengan ALK *gene rearrangement* diharapkan responsif terhadap pengobatan terapi target ALK *Tyrosine Kinase Inhibitor*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada dr. Yayi Dwina B, M.Biomed, SpPA dan Endah Zuraidah, S.Si, MEpid. atas bimbingan, kesabaran, waktu dan pengetahuan yang diberikan dalam penyelesaian tinjauan pustaka ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada teman-teman Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Anatomi yang telah memberikan masukan, dukungan, dan semangat dalam pembuatan makalah ini. Semoga tinjauan pustaka ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

DAFTAR PUSTAKA

1. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: world summary statistics. IARC. 2016. [diunduh 17 Agustus 2016]. Tersedia dari: <http://globocan.iarc.fr/old/factsheet.asp>
2. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: all cancer (excluding non melanoma skin cancer) estimated incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. IARC. 2016. [diunduh 17 Agustus 2016]. Tersedia dari: <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/all-new.asp>
3. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: lung cancer estimated incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. IARC. 2016. [diunduh 17 Agustus 2016]. Tersedia dari: <http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/lung-new.asp>
4. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. Kanker paru pedoman diagnosis dan penatalaksanaan di Indonesia. PDPI. 2003.1-40.
5. Cheng L, Alexander RE, MacLennan GT, Cummings OW, Montironi R, Beltran AL, et al. Molecular pathology of lung cancer: key to personalized medicine. *Modern Pathology*. 2012; 25. 347-69.
6. Korpanty GJ, Graham DM, Vincent MD, and Leighl NB. Biomarkers that currently affect clinical practice in lung cancer: EGFR, ALK, MET, ROS-1, and KRAS. *Frontiers in Oncology*. 2014; 4. 1-8.
7. Sholl LM. Biomarkers in lung adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2015; 139. 469-77.
8. Zugazagoitia J, Enguita AB, Nunez JA, Iglesias L, and Ponce S. The new IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification from a clinical perspective: current concepts and future prospects. *J Thorac Dis*. 2014; 6(S5). S526-36.
9. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, et al. The 2015 world health organization classification of lung tumors impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. *J Thorac Oncol*. 2015; 10(9). 1243-57.
10. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, et al. International association for the study of lung cancer/American thoracic society/European respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2011; 6(2). 244-85.
11. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger K, Yatabe Y, et al. Diagnosis of lung adenocarcinoma in resected specimens implications of the 2011 international association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society classification. *Arch Pathol Lab Med*. 2013; 137. 685-705.
12. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger K, Yatabe Y, et al. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology implications of the 2011 international association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society classification. *Arch Pathol Lab Med*. 2013; 137. 668-84.
13. Regalado AG, and De La Rosa CHG. The role of anaplastic lymphoma kinase in human cancers. *Oncology & Hematology Review (US)*. 2013;9(2).149-53.
14. Mosse YP, Wood A, and Maris JM. Inhibition of ALK signaling for cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2009. 2009; 15(18). 5609-14.
15. Solomon B, Garcia MV, and Camidge DR. ALK gene rearrangements a new therapeutic target in a molecularly defined subset of non-

- small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2009; 4 (12). 1450-55.
16. Palmer RH, Verneris E, Grabbe C and Hallberg B. Anaplastic lymphoma kinase : signaling in development and disease. *Biochem J*. 2009; 420. 345-61.
 17. Genetic home reference. ALK anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase. U.S National Library of Medicine. 2016. [diunduh 1 Juli 2016]. Tersedia dari <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/ALK>.
 18. Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology. ALK (anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase). 2016. [diunduh 3 Juli 2016]. Tersedia dari <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/ALK/DI16.html>.
 19. Shackelford RE, Vora M, Mayhall K, Cotelingam J. ALK rearrangement and testing methods in non small cell lung cancer: a review. *Gene&Cancer*. 2014; 5(1-2). 1-14.
 20. Mano H. Non-solid oncogenes in solid tumors: EML4-ALK fusion genes in lung cancer. *Cancer Sci*. 2008; 99(12). 2349-55.
 21. Stoica GE, Kuo A, Powers C, Bowden ET, Sale EB, Riegel AT, *et al*. Midkine binds to anaplastic lymphoma kinase (ALK) and acts as growth factor for different cell types. *J Biol Chem*. 2002; 277(39). 35990-98.
 22. Stoica GE, Kuo A, Aigner A, Sunitha I, Souttou B, Malerczyk C, *et al*. Identification of anaplastic lymphoma kinase as a receptor for the growth factor pleiotrophin. *J Biol Chem*. 2001; 276(20). 16772-9.
 23. Sasaki T, Rodig SJ, Chirieac LR, and Janne PA. The biology and treatment of EML4-ALK non small cell lung cancer. *Eur J Cancer*. 2010; 46(10). 1773-80.
 24. Casaluze F, Sgambato A, Maione P, Rossi A, Ferrara C, Napolitano A, *et al*. ALK inhibitors: a new targeted therapy in the treatment of advanced NSCLC. *Targ Oncol*. 2013;8.55-67.
 25. Moran T, Quiroga V, Gil Mdl, Vila L, Pardo N, Carcereny E, *et al*. Targeting EML4-ALK driven non small cell lung cancer (NSCLC). *Trans Lung Cancer Res*. 2013; 2(2). 128-41.
 26. Lideman NI, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, *et al*. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitor. *Arch Pathol Lab Med*. 2013; 137. 828-52.
 27. Kerr KM, Bubendorf L, Edelman MJ, Marchetti A, Mok T, Novello S, *et al*. Second ESMO consensus conference on lung cancer : pathology and molecular biomarkers for non small cell lung cancer. *Annals of Oncology*. 2014; 25. 1681-90.
 28. Abbott Laboratories. Vysis ALK break apart FISH probe kit. 2011. 1-10. [Diunduh 13 Desember 2016]. Tersedia dari <http://www.abbottmolecular.com/en-us/staticAssets/pdfs/us/vysis-alk-fish-probe-kit.pdf>
 29. Weickhard AJ, Aisner DL, Franklin WA, Garcia MV, Doebele RC, and Camidge DR. Diagnostic assays for identification of anaplastic lymphoma kinase-positive non small cell lung cancer. *Cancer*. 2013.1467-77.
 30. Conklin CMJ, Craddock KJ, Have C, Laskin J, Couture C, and Ionescu DN. Immunohistochemistry is a reliable screening tool for identification of ALK rearrangement in non small cell lung carcinoma and is antibody dependent. *J Thorac Oncol*. 2013;8.45-51.
 31. Paik JH, Choe G, Kim H, Cohe JH, Lee HJ, Lee CT, *et al*. Screening of anaplastic lymphoma kinase rearrangement by immunohistochemistry in non small cell lung cancer correlation with fluorescence in situ hybridization. *J Thorac Oncol*. 2011;6.466-72.
 32. Yi ES, Chung JH, Kulig K, Kerr KM. Detection of anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene rearrangement in non small cell lung cancer and related issues in ALK inhibitor therapy. *Mol Diagn Ther*. 2012;16(3).143-50.
 33. Teixido C, Karachaliou N, Peg V, Capitan AG, Rosell R. Concordance of IHC, FISH and RT-PCR for EML4-ALK rearrangements. *Transl Lung Cancer Res*. 2014;3(2).70-74.
 34. American Cancer Society. 2017. [Diunduh tanggal 1 Juli 2017] Tersedia dari <http://www.cancer.org/cancer/non-small-cell-lung-cancer/treating/targeted-therapies.html>.