

# Efek Mutasi K-RAS pada Kanker Kolorektal terhadap Terapi Antibodi Monoklonal anti EGFR

Farid Sastra Nagara, Ahmad R. Utomo, Ferry Sandra  
Cancer Division, Stem Cell and Cancer Institute,

## ABSTRAK

Kanker kolorektal merupakan salah satu jenis kanker yang banyak diderita oleh masyarakat dan dapat disembuhkan jika terdeteksi dini. Salah satu penyebab kanker adalah terjadinya mutasi pada gen-gen tertentu. Mutasi pada gen K-RAS sering ditemui pada tahap awal kanker kolorektal. Cetuximab dan Panitumumab merupakan contoh antibodi monoklonal yang telah digunakan dalam penanganan kanker kolorektal. Dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan, penanganan pasien kanker kolorektal menggunakan Cetuximab dan Panitumumab menunjukkan respon yang positif terhadap pasien yang tidak memiliki mutasi pada gen K-RAS. Pemberian Cetuximab atau Panitumumab pada pasien yang memiliki mutasi pada gen K-RAS memiliki kemungkinan kecil untuk mendapatkan manfaat klinis sehingga hal ini dapat menjadi pertimbangan dalam pemberian obat kepada pasien.

**Kata kunci:** KRAS, kanker kolorektal, antibodi anti EGFR

## ABSTRACT

*Colorectal cancer has good prognosis if detected early and mutation in K-RAS gene may contribute to the early development of colorectal cancer. Recently, monoclonal antibodies such as Cetuximab and Panitumumab which target EGFR (Epidermal Growth Factor) gene have been used against colorectal cancer. Recent clinical trials have shown that neither Cetuximab nor Panitumumab treatment confer benefit to colorectal patients who harbor mutated K-RAS gene in their tumors. On the other hand, patients without K-RAS mutation have significant clinical response to Cetuximab or Panitumumab. Therefore, identification of K-RAS mutation in colorectal cancer patients is highly recommended prior to the commencement of anti EGFR drugs.*

**Key words:** KRAS, colorectal, anti EGFR antibody

## PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian di dunia selain penyakit jantung dan *stroke*. Kanker kolorektal merupakan salah satu jenis kanker yang paling umum terjadi pada penduduk di seluruh dunia dan dapat disembuhkan jika terdeteksi dini.<sup>1</sup> Di seluruh dunia, penyakit ini diderita oleh hampir satu juta orang dan diperkirakan membunuh lebih dari lima ratus ribu orang setiap tahunnya.<sup>2</sup>

Penyakit kanker kolorektal terjadi akibat dari perubahan epitel colon yang normal hingga menjadi metastasis. Tahap perubahan ini melalui dua proses yaitu pembentukan tumor yang belum mendesak jaringan sekitarnya yang dikenal dengan istilah *benign adenoma* dan tahap tumor yang mulai mendesak jaringan sekitarnya yang dikenal dengan istilah *malignant adenocarcinoma*.<sup>3</sup> Perubahan genetika dan epigenetika sangat berperan penting dalam perubahan sel epitel normal hingga terjadinya metastasis ini.<sup>4</sup> Perubahan

## ALAMAT KORESPONDENSI

Ahmad R. Utomo, Phd  
Jl. Jend. Ahmad Yani No.2 Pulomas, Jakarta 13210  
Email: arhutomo@sci-indonesia.org

genetika ini biasanya terjadi melalui dua jalur: *Chromosomal instability* (CIN), dan *Microsatellite Instability* (MIN), sedangkan perubahan epigenetika terlihat dengan ditemukannya jalur CIMP (*CpG Island Methylator Phenotype*). *Chromosomal instability* yang salah satunya disebabkan oleh mutasi pada gen-gen tertentu seperti APC, K-RAS, dan p53 berperan dalam 85% kasus kanker kolorektal yang bersifat sporadis.<sup>5</sup> Salah satu mutasi yang sering ditemui pada jaringan kanker kolorektal adalah mutasi pada gen K-RAS terutama pada kodon 12 dan 13.<sup>6</sup>

Perawatan kanker kolorektal selama ini meliputi bedah, radiasi, dan penggunaan obat atau senyawa kemoterapi. Terapi atau obat antikanker yang ideal adalah mampu membunuh atau melumpuhkan sel-sel kanker tanpa harus merusak sel-sel normal secara berlebihan. Salah satu terapi yang bekerja dengan prinsip tersebut adalah terapi berbasis antibodi monoklonal sebagai hasil riset molekuler, yang menargetkan penanda yang khusus diekspresikan oleh sel kanker. Salah satu antibodi monoklonal yang digunakan untuk menargetkan gen EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) yang sering di ekspresikan berlebihan oleh sel kanker dan telah diijinkan penggunaannya oleh *Food and Drug Administration* (FDA) untuk indikasi kanker kolorektal adalah Cetuximab.<sup>3</sup>

## TERAPI ANTIBODI MONOKLONAL ANTI EGFR

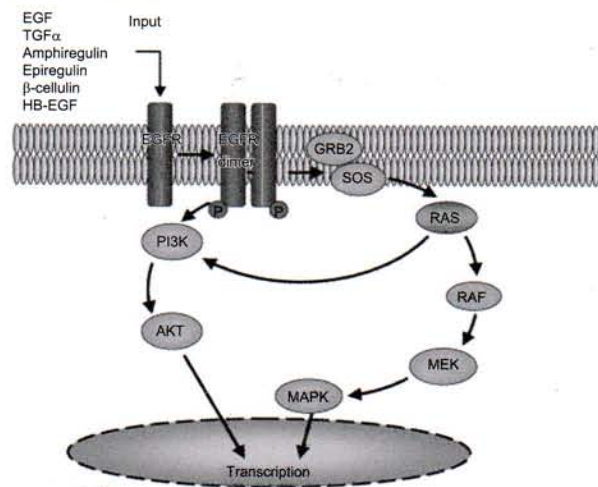
Aktifitas produk gen EGFR diduga penting bagi dan diperlukan oleh sel kanker seperti kanker kolorektal dalam meningkatkan tingkat proliferasi sel. Gen EGFR menyandi protein reseptor transmembran yang berfungsi dalam *signal transduction* yang berakhir pada peningkatan proliferasi dan/ atau penghambatan apoptosis.<sup>7</sup> Protein EGFR yang telah terfosforilasi pada asam amino tirosin akibat berikatan dengan *ligand* pro-proliferasi seperti EGF menjadi teraktifasi dengan melakukan dimerisasi lalu memicu aktifitas gen lainnya yang terletak di jalur MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinase*) sebagai pemicu proliferasi dengan melibatkan gen K-RAS, yang juga akan bercabang pada aktivasi jalur PI3K dengan melibatkan gen AKT sebagai pendorong sinyal kesintasan/ anti-apoptosis (Gambar 1).<sup>7</sup>

Cetuximab dan Panitumumab keduanya adalah antibodi monoklonal, yang masing-masing bertipe IgG1 dan IgG2, yang sudah digunakan dalam penanganan beberapa jenis kanker termasuk kanker kolorektal. Cetuximab dan Panitumumab menargetkan EGFR pada sisi ekstraseluler sehingga EGFR tidak lagi mampu menerima atau mengikat ligan-ligan yang menstimulasi proliferasi seperti EGF (Gambar 2). Pengikatan antibodi pada sisi sitoplasmik EGFR ini menyebabkan sisi ekstraseluler gen EGFR pada gugus asam amino tirosin tidak bisa terfosforilasi (Gambar 3). Tanpa fosforilasi tirosin, EGFR gagal atau tidak mampu meneruskan

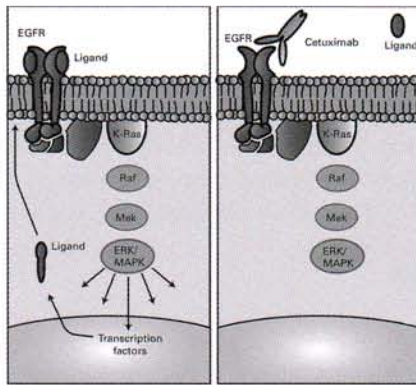
sinyal proliferasi ke inti sel untuk melakukan transkripsi gen-gen yang penting untuk persiapan memasuki siklus sel. Akibatnya, penghambatan aktivasi EGFR berakhir kepada penghentian siklus sel dan menjadi lebih rawan untuk mengalami apoptosis akibat tidak adanya sinyal dari AKT.<sup>8</sup>

Pemberian Cetuximab bisa diberikan secara monoterapi atau dikombinasikan dengan kemoterapi. Dalam studi klinis acak fase II di Eropa, tingkat respon pada kombinasi Cetuximab dan Irinotecan adalah 22.9% dibandingkan cetuximab monoterapi sekitar 10.8%.<sup>9</sup> Meski pada awalnya cetuximab dan panitumumab menargetkan kanker kolorektal yang khususnya mengoverekspresikan EGFR, beberapa studi fase II menunjukkan bahwa tinggi rendahnya ekspresi gen EGFR bukan faktor prediktif untuk respon klinis yang baik.<sup>10</sup> Pasien dengan ekspresi EGFR rendah memiliki respon klinis antara 11-30%.<sup>11,12</sup> Dengan demikian, ekspresi EGFR rendah yang terlihat dengan teknik imunohistokimia tidak lagi bisa menjadi faktor eksklusi bagi pemberian anti EGFR antibodi.<sup>13</sup>

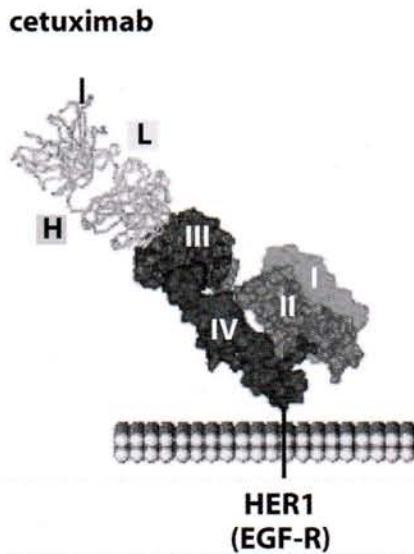
Tingkat kesembuhan yang relatif rendah dan ekspresi EGFR yang gagal memprediksi tingkat keberhasilan terapi anti EGFR ini memicu studi retrospektif dengan menganalisa status beberapa gen yang ada pada jalur aktivasi MAPK-RAS-RAF dan PI3K-AKT. Hingga saat ini kontribusi jalur PI3K dalam resistensi terhadap Cetuximab masih dalam tahap penelitian terutama secara *in vitro*<sup>14</sup> dan memerlukan validasi pada studi klinis berikutnya.<sup>15</sup> Di lain pihak, kontribusi gen di jalur RAS-MAPK lebih banyak diketahui dan mutasi gen K-RAS bisa menjelaskan resistensi terhadap Cetuximab dan Panitumumab.<sup>7</sup>



**Gambar 1.** Stimulasi EGFR oleh *ligand* pro-proliferasi EGF, *amphiregulin*, dan TGF-*alpha* mengakibatkan aktivasi EGFR dengan mekanisme dimerisasi dan fosforilasi tirosin. Aktifasi EGFR diteruskan pada jalur RAS-RAF-MAPK dan bercabang pada PI3K-AKT. Aktivasi AKT menghambat apoptosis dan RAF memicu proliferasi sel.<sup>7</sup>



**Gambar 2.** Cetuximab dan K-RAS mempengaruhi sinyal proliferasi dari jalur EGFR. Pengikatan EGF pada EGFR akan memicu sinyal proliferasi melalui jalur RAS/MAPK ke berbagai target dibawahnya. Keberadaan Cetuximab menghalangi pengikatan EGF sehingga sinyal proliferasi terhambat.<sup>8</sup>



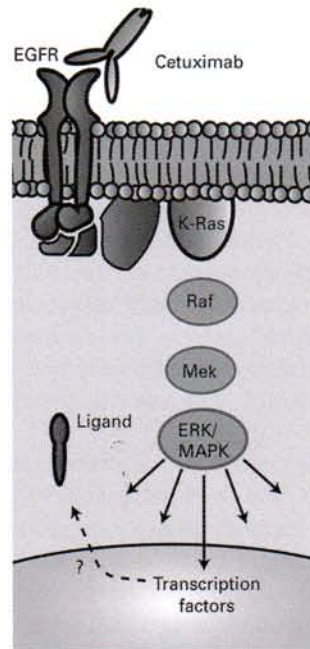
**Gambar 3.** Pengikatan Cetuximab antibodi monoklonal pada EGFR. Rantai Berat (H) dan Rantai Ringan (L) dari Cetuximab mengikat pada EGFR di domain III.<sup>3</sup>

**MUTASI K-RAS SEBAGAI FAKTOR RESISTENSI**

Gen RAS terdiri dari 3 famili yaitu H-RAS, K-RAS, dan N-RAS yang menghasilkan 3 macam protein serupa yang memiliki ukuran berkisar 21 Kd.<sup>16</sup> Gen RAS ini pada dasarnya berperan dalam menghasilkan protein yang mengikat dan menghidrolisis GTP. Protein-protein yang dihasilkan ini bekerja sebagai mediator dalam transduksi *signal* ekstraseluler seperti *growth factor*, sitokin, dan hormon menuju sitoplasma dan nukleus.<sup>17</sup> Dalam hal ini, protein-protein tersebut berperan penting dalam proses pertumbuhan, diferensiasi, dan apoptosis sel.<sup>18</sup>

Mutasi yang spesifik pada gen RAS akan menyebabkan perubahan formasi dari protein yang dihasilkan sehingga membuat protein RAS (GTPase) selalu aktif<sup>19</sup> Hal ini menyebabkan transduksi signal ekstraseluler terganggu sehingga akan mengganggu proliferasi sel yang terjadi. Pada kanker kolon, lebih dari 90% mutasi yang terjadi pada gen RAS adalah gen K-RAS.<sup>20</sup> Mutasi K-RAS umumnya dijumpai pada kodon 12, 13, dan 61. Namun mutasi pada kodon 61 lebih jarang ditemui.<sup>21</sup>

Konsekuensi adanya mutasi pada gen K-RAS adalah penyandian protein K-RAS yang akan selalu aktif, terlepas ada tidaknya hambatan pada EGFR. Dengan kata lain, sel kanker yang memiliki mutasi pada K-RAS akan tetap mampu berproliferasi (Gambar 4).<sup>8</sup> Mutasi pada gen K-RAS umumnya terdeteksi dengan menggunakan metoda PCR yang diikuti oleh sekuensing DNA, atau dengan menggunakan *Allele Specific Real-Time PCR*.<sup>7</sup> Rata-rata jumlah pasien kanker kolorektal yang mengalami mutasi gen K-RAS berkisar sekitar 36% (287 dari 791 pasien).<sup>7</sup>



**Gambar 4.** Adanya mutasi K-RAS menyebabkan aktivasi jalur MAPK yang berkelanjutan secara mandiri dari pengaruh EGFR. Keberadaan Cetuximab tidak mempengaruhi tingkat proliferasi akibat sinyal proliferasi yang terus diturunkan akibat mutasi K-RAS yang membuatnya tetap aktif.<sup>8</sup>

**STUDI KLINIS STATUS K-RAS**

Beberapa studi klinis telah melaporkan perbedaan respon terhadap anti EGFR terapi pada pasien kanker kolorektal yang terbagi menurut status mutasi gen K-RAS (Tabel 1). Pemberian anti EGFR (Cetuximab atau Panitumumab) secara monoterapi memberikan respon

klis rata-rata sebesar 30% pada pasien yang memiliki gen K-RAS normal (total pasien 480)<sup>7,8,22-26</sup> Di lain pihak, pasien dengan mutasi gen K-RAS memberikan respon sekitar 3% saja dari total pasien 283. Dengan demikian diperkirakan ada peningkatan efektifitas terapi anti EGFR rata-rata dari 24% pasien tidak terseleksi ke 30-36% dari pasien terseleksi pada status K-RAS.<sup>7</sup>

**Tabel 1.** Rangkuman studi klinis tentang tingkat respon pemberian anti EGFR antibodi monoklonal Cetuximab atau Panitumumab pada pasien kanker kolorektal dengan atau tanpa mutasi gen K-RAS.

Terapi	Total	Normal K-RAS		Mutasi K-RAS		Referensi
		Total	%RR	Total	%RR	
C	114	78	44	36	0	(22) (23)
C	80	50	10	30	0	(8)
C or P	48	32	31	16	6	(24)
C	108	66	41	42	0	(26)
C	65	38	37	27	7	(7)
P	208	124	17	84	0	(25)
C	81	49	27	32	6	(7)
C+Oxaliplatin/Irinotecan	59	43	28	16	0	(27)
C+FOLFOX	233	134	61	99	33	(28)
C+Irinotecan	45	19	21	19	0	(29)
Ch+Irinotecan	44	28	46	11	0	(29)

C = Cetuximab, P = Panitumumab, %RR = Tingkat Respon, Ch = Cetuximab dengan dosis tinggi FOLFOX = 5-Fluorouracil, Leucovorin, Oxaliplatin<sup>7</sup>

Sementara itu kombinasi Cetuximab dengan kemoterapi juga memberikan efek yang berbeda pada pasien kanker kolorektal yang memiliki status gen K-RAS yang berbeda. Pasien yang memiliki K-RAS normal rata-rata memberikan respon sebesar 43% dari total pasien 181 dibandingkan 11% pada pasien dengan mutasi gen KRAS dari total pasien 129 ketika anti EGFR dikombinasikan dengan kemoterapi (Irinotecan, FOLFOX/5-Fluorouracil, Leucovorin, Oxaliplatin, atau FOLFIRI).<sup>27-29</sup>

Data Tabel 1 menunjukkan bahwa mutasi gen K-RAS memiliki *Negative Predictive Value* (NPV) yang cukup tinggi sekitar 97%. Artinya pasien yang memiliki mutasi gen K-RAS akan sangat kecil kemungkinannya untuk mendapatkan manfaat klinis dari terapi anti EGFR.<sup>7</sup> Dengan demikian, metoda diagnostik untuk mendeteksi mutasi gen K-RAS menjadi penting sebagai bagian dari strategi terapi anti EGFR.

#### K-RAS PADA KANKER KOLOREKTAL DI INDONESIA

Hingga saat ini belum ada laporan genetik molekuler tentang kanker kolorektal di Indonesia. Mutasi gen yang terlibat dalam kanker kolorektal seperti K-RAS, BRAF, p53, MLH1, MSH2 dan APC belum dilakukan dengan menggunakan teknik genomik. Akan sangat menarik untuk mencermati apakah pasien kanker kolorektal di Indonesia yang memiliki latar belakang genetik, diet, dan gaya hidup yang sangat beragam juga mempengaruhi profil genetik pada kanker kolorektal

yang timbul. Saat ini data molekuler sangat diperlukan untuk melihat prevalensi mutasi gen-gen tersebut sehingga mampu mendukung praktisi klinis dan pasiennya dalam membuat keputusan mengenai alternatif pengobatan kanker kolorektal. Di samping itu perlu dilakukan suatu studi untuk menerapkan teknik diagnostik yang bisa dilakukan secara rutin.

#### KESIMPULAN

Pemberian anti EGFR terapi pada pasien kanker kolorektal hanya akan efektif bekerja pada pasien dengan gen K-RAS normal. Pada pasien dengan mutasi K-RAS, pemberian anti EGFR tidak akan memberikan efek yang signifikan. Hal ini diharapkan dapat menjadi pertimbangan dalam pengobatan pasien sehingga dapat mencegah pemberian obat-obatan yang kurang efektif bagi mereka dan dapat menjadi riset berkelanjutan untuk penanggulangan kasus kanker kolorektal yang disebabkan oleh mutasi K-RAS.

#### KEPUSTAKAAN

1. Markowitz AJ, Winawer SJ. Screening and surveillance for colorectal cancer. *Seminars in oncology* 1999;26:485-98.
2. Levin B. Molecular screening testing for colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:5014-7.
3. Weinberg R. *The Biology of Cancer*. New York: Garland Science, Taylor and Francis; 2007.
4. Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 1993;9:138-41.
5. Abbaszadegan MR, Tavasoli A, Velayati A, et al. Stool-based DNA testing, a new noninvasive method for colorectal cancer screening, the first report from Iran. *World J Gastroenterol* 2007;13:1528-33.
6. Zhu D, Keohavong P, Finkelstein SD, et al. K-ras gene mutations in normal colorectal tissues from K-ras mutation-positive colorectal cancer patients. *Cancer research* 1997;57:2485-92.
7. Raponi M, Winkler H, Dracopoli NC. KRAS mutations predict response to EGFR inhibitors. *Curr Opin Pharmacol* 2008;8:413-8.
8. Khambata-Ford S, Garrett CR, Meropol NJ, et al. Expression of Epiregulin and Amphiregulin and K-ras Mutation Status Predict Disease Control in Metastatic Colorectal Cancer Patients Treated With Cetuximab. *J Clin Oncol* 2007;25:3230-7.
9. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab Monotherapy and Cetuximab plus Irinotecan in Irinotecan-Refractory Metastatic Colorectal Cancer. *N Engl J Med* 2004;351:337-45.
10. Jean GW, Shah SR. Epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies for the treatment of metastatic colorectal cancer. *Pharmacotherapy* 2008;28:742-54.

11. Lenz HJ, Van Cutsem E, Khambata-Ford S, et al. Multicenter phase II and translational study of cetuximab in metastatic colorectal carcinoma refractory to irinotecan, oxaliplatin, and fluoropyrimidines. *J Clin Oncol* 2006;24:4914-21.
12. Vincenzi B, Santini D, Tonini G. New issues on cetuximab mechanism of action in epidermal growth factor receptor-negative colorectal cancer: the role of vascular endothelial growth factor. *J Clin Oncol* 2006;24:1957; author reply -8.
13. Chung KY, Shia J, Kemeny NE, et al. Cetuximab Shows Activity in Colorectal Cancer Patients With Tumors That Do Not Express the Epidermal Growth Factor Receptor by Immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2005;23:1803-10.
14. Jhawer M, Goel S, Wilson AJ, et al. PIK3CA Mutation/PTEN Expression Status Predicts Response of Colon Cancer Cells to the Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitor Cetuximab. *Cancer research* 2008;68:1953-61.
15. Perrone F, Lampis A, Orsenigo M, et al. PI3KCA/PTEN deregulation contributes to impaired responses to cetuximab in metastatic colorectal cancer patients. *Ann Oncol* 2008.
16. Bos JL. ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer research* 1989;49:4682-9.
17. Berndt C, Haubold K, Wenger F, et al. K-ras mutations in stools and tissue samples from patients with malignant and nonmalignant pancreatic diseases. *Clinical chemistry* 1998;44:2103-7.
18. Nagasaka T, Sasamoto H, Notohara K, et al. Colorectal cancer with mutation in BRAF, KRAS, and wild-type with respect to both oncogenes showing different patterns of DNA methylation. *J Clin Oncol* 2004;22:4584-94.
19. Van Engeland M, Roemen GM, Brink M, et al. K-ras mutations and RASSF1A promoter methylation in colorectal cancer. *Oncogene* 2002;21:3792-5.
20. Mixich F, Ioana M, Voinea F, Saftoiu A, Ciurea T. Noninvasive detection through REMS-PCR technique of K-ras mutations in stool DNA of patients with colorectal cancer. *J Gastrointestin Liver Dis* 2007; 16:5-10.
21. Bazan V, Migliavacca M, Zanna I, et al. Specific codon 13 K-ras mutations are predictive of clinical outcome in colorectal cancer patients, whereas codon 12 K-ras mutations are associated with mucinous histotype. *Ann Oncol* 2002;13:1438-46.
22. Lievre A, Bachet JB, Le Corre D, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer research* 2006;66:3992-5.
23. Lievre A, Bachet J-B, Boige V, et al. KRAS Mutations As an Independent Prognostic Factor in Patients With Advanced Colorectal Cancer Treated With Cetuximab. *J Clin Oncol* 2008;26:374-9.
24. Benvenuti S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, et al. Oncogenic activation of the RAS/RAF signaling pathway impairs the response of metastatic colorectal cancers to anti-epidermal growth factor receptor antibody therapies. *Cancer research* 2007;67:2643-8.
25. Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26:1626-34.
26. De Roock W, Piessevaux H, De Schutter J, et al. KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Ann Oncol* 2008;19:508-15.
27. Di Fiore F, Blanchard F, Charbonnier F, et al. Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by Cetuximab plus chemotherapy. *British Journal of cancer* 2007; 96:1166-9.
28. Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann JT, et al. KRAS status and efficacy of first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) with FOLFOX with or without cetuximab: The OPUS experience. *ASCO Meeting Abstracts* 2008;26:4000-.
29. Tejpar S, Peeters M, Humblet Y, et al. Relationship of efficacy with KRAS status (wild type versus mutant) in patients with irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer (mCRC), treated with irinotecan (q2w) and escalating doses of cetuximab (q1w): The EVEREST experience (preliminary data). *ASCO Meeting Abstracts* 2008;26:4001-.