

Refrat II

**Peranan modulator sinyal intraselular jalur AMPK dan mTOR
dalam regulasi metabolisme sel dan karsinogenesis, serta
potensinya sebagai terapi sitostatika**



Di susun oleh

Dr. Stevent Sumantri

0806484742

Peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis

Departemen Ilmu Penyakit Dalam

FK Universitas Indonesia/RSUPN Cipto Mangunkusumo

Jakarta, Juli 2011

Daftar Isi

Pendahuluan	2
Epidemiologi kanker	2
Kejadian kanker meningkat pada diabetes	2
Kegagalan terapi kanker	3
Peranan sel punca kanker terhadap kegagalan terapi.....	4
Patogenesis	6
Keterkaitan antara kanker, diabetes dan insulin	6
Disregulasi metabolisme sel sebagai mekanisme karsinogenesis	7
Peranan jalur AMPK dalam karsinogenesis.....	8
Peranan jalur mTOR dalam karsinogenesis	10
Regulasi metabolisme sel sebagai terapi kanker potensial	11
Peranan aktivator AMPK.....	11
Peranan inhibitor mTOR	13
Potensi metformin sebagai modulasi terapi di masa depan	15
Metformin sebagai sitostatika potensial melalui jalur AMPK/mTOR	15
Metformin sebagai sitostatika spesifik sel punca kanker	16
Studi-studi efektivitas metformin terpilih	17
Kesimpulan.....	20
Referensi	21

Pendahuluan

Obesitas, sindrom metabolik, diabetes melitus dan kanker saat ini telah menjadi epidemi global, baik di negara maju maupun negara berkembang prevalensinya terus menerus meningkat. Perubahan pola hidup dan semakin panjangnya usia manusia dikaitkan dengan meningkatnya prevalensi diabetes dan kanker di seluruh dunia. Baru-baru ini semakin terlihat bahwa ternyata ada keterkaitan antara diabetes dengan kanker, yang menuju ke hipotesis bahwa sebenarnya kanker sendiri merupakan suatu penyakit metabolisme, namun di tingkat selular.

Epidemiologi kanker

Jumlah kasus kanker yang baru terdiagnosis pada tahun 2007, diperkirakan berjumlah kurang lebih 12 juta kasus di seluruh dunia, di mana 5,4 juta terjadi di negara maju dan 6,7 juta di negara berkembang. Jumlah kematian kanker terkait diperkirakan 7,6 juta jiwa secara global; di mana 2,9 juta pada negara maju dan 4,7 juta pada negara berkembang. Angka-angka ini diperkirakan akan terus berkembang pesat, oleh karena peningkatan jumlah dan pertumbuhan penduduk usia tua serta perubahan gaya hidup ke arah gaya barat. Pada tahun 2050, diperkirakan akan terjadi 24 juta kasus baru dan lebih dari 16 juta kematian setiap tahunnya. Jumlah kasus baru dan kematian karena kanker terutama akan meningkat bersamaan dengan penuaan dan pertumbuhan penduduk, dan perkembangan ini akan meningkat terutama pada negara dengan tingkat ekonomi rendah dan menengah.¹⁻⁶

Prevalensi DM di dunia telah meningkat secara dramatis selama dua dekade terakhir. Sebagai contoh, antara tahun 1976 dan 1994, prevalensi DM pada orang dewasa di Amerika Serikat meningkat dari 8,9% menjadi 12,3%. Walaupun prevalensi DM tipe 1 dan DM tipe 2 meningkat di dunia, prevalensi DM tipe 2 diperkirakan akan meningkat lebih cepat akibat meningkatnya obesitas dan menurunnya tingkat aktivitas. Hasil penelitian di Jakarta (daerah urban) membuktikan adanya peningkatan prevalensi DM dari 1,7% pada tahun 1982 menjadi 5,7% pada tahun 1993 serta kemudian pada tahun 2001 di Depok, sub-urban Jakarta menjadi 12,8%.⁷⁻¹⁵

Dua pola temporal ditemukan pada tren insidens kanker dan laju mortalitas di seluruh dunia. Pertama, kanker yang dikaitkan dengan etiologi infeksi, sebagai contoh kanker lambung, hati dan serviks, secara umum insidensnya menurun secara global, meskipun tetap sering ditemukan di negara-negara berkembang. Tren global kedua adalah, peningkatan secara cepat timbulnya keganasan yang secara historis banyak ditemukan hanya di negara-negara maju, namun kini meningkat insidensnya di negara dengan tingkat ekonomi menengah dan rendah. Kanker-kanker jenis ini termasuk paru, payudara, prostat dan kolorektal. Penyebaran global dari kanker-kanker ini adalah akibat langsung dari penggunaan rokok global dan adopsi gaya hidup, diet dan inaktivitas fisik khas kehidupan barat.^{2, 5, 6, 16, 17}

Kejadian kanker meningkat pada diabetes

Beberapa metanalisis dan studi klinis terbaru menunjukkan bahwa risiko beberapa keganasan solid dan hematologik (termasuk hati, pankreas, kolorektal, ginjal, kandung kemih, endometrial, payudara dan limfoma non Hodgkin) meningkat pada pasien dengan diabetes (tabel 1). Bukti keterkaitan antara diabetes dengan keganasan lainnya belum tersedia, sedangkan untuk kanker prostat, nampak adanya penurunan insidens pada pasien diabetes. Pada pasien dengan diabetes, keganasan dapat

dipicu oleh beberapa sebab, diantaranya adalah: (1) mekanisme umum yang mempromosikan insiasi atau progresivitas kanker adalah oleh karena perubahan yang mempengaruhi semua jaringan (mis. hiperglikemia, hiperinsulinemia atau obat-obatan; dan (2) mekanisme spesifik situs yang mempengaruhi karsinogenesis organ tertentu.¹⁸⁻²⁰

Tabel 1. Risiko kanker terkait organ pada pasien dengan diabetes¹⁹

Cancer		RR (95% CI)
Liver (El-Serag <i>et al.</i> 2006)	13 case-control studies	2.50 (1.8–3.5)
	7 cohort studies	2.51 (1.9–3.2)
Pancreas (Huxley <i>et al.</i> 2005)	17 case-control studies	1.94 (1.53–2.46)
	19 cohort studies	1.73 (1.59–1.88)
Kidney ^a (Lindblad <i>et al.</i> 1999, Washio <i>et al.</i> 2007)	1 cohort study	1.50 (1.30–1.70)
	1 cohort study	2.22 (1.04–4.70)
Endometrium (Friberg <i>et al.</i> 2007)	13 case-control studies	2.22 (1.80–2.74)
	3 cohort studies	1.62 (1.21–2.16)
Colon-rectum (Larsson <i>et al.</i> 2005)	6 case-control studies	1.36 (1.23–1.50)
	9 cohort studies	1.29 (1.16–1.43)
Bladder (Larsson <i>et al.</i> 2006)	7 case-control studies	1.37 (1.04–1.80)
	3 cohort studies	1.43 (1.18–1.74)
Non-Hodgkin's lymphoma (Mitri <i>et al.</i> 2008)	5 cohort studies	1.41 (1.07–1.88)
	11 case-control studies	1.12 (0.95–1.31)
Breast (Larsson <i>et al.</i> 2007)	5 case-control studies	1.18 (1.05–1.32)
	15 cohort studies	1.20 (1.11–1.30)
Prostate (Kasper & Giovannucci 2006)	9 case-control studies	0.89 (0.72–1.11)
	10 cohort studies	0.81 (0.71–0.92)

^aData on kidney cancer were not obtained from meta-analysis.

Kegagalan terapi kanker

Sampai saat ini, satu-satunya kemungkinan kesembuhan total dari kanker yang telah terbukti adalah dengan cara pembedahan. Kemoterapi dan radioterapi, kecuali untuk keganasan tertentu seperti keganasan hematologik, belum mampu memberikan angka kesembuhan yang menjanjikan. Bahkan kemoterapi dan radioterapi cenderung lebih besar kemungkinan gagal dibandingkan berhasil dalam menangani kanker, baik itu karena toksisitas, gagal respons ataupun relaps dari kanker tersebut.

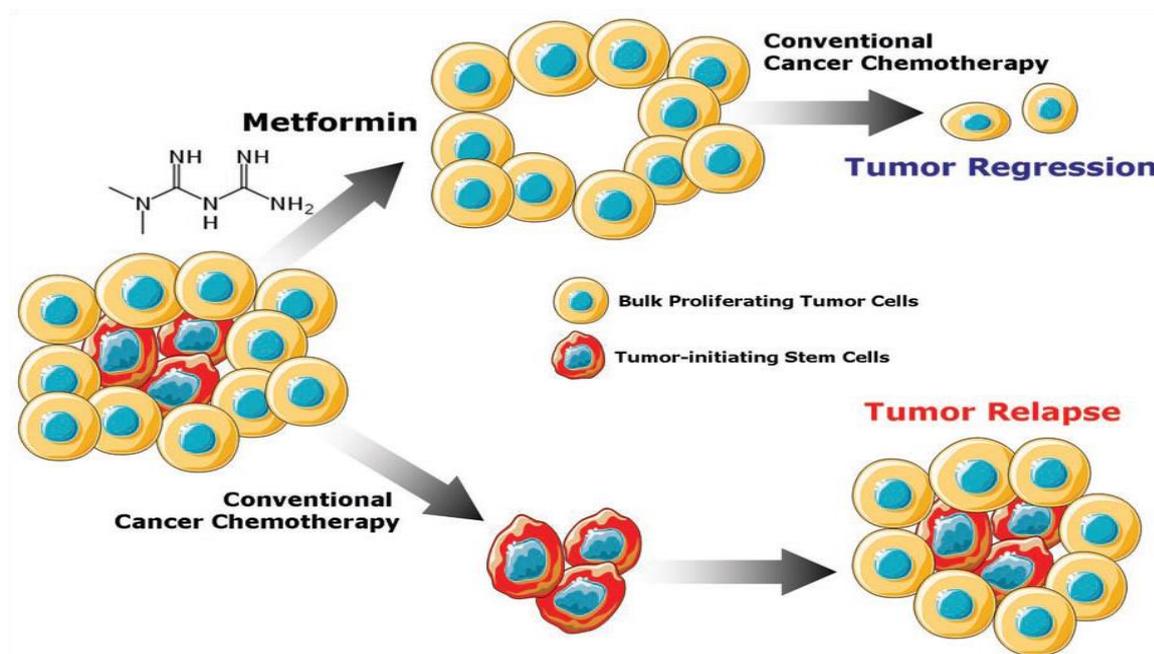
Terapi kanker kepala dan leher dengan menggunakan terapi kombinasi hanya memberikan laju respons komplit sebesar 23%, dengan efek samping kemoterapi yang besar. Demikian pula radioterapi pada kanker paru, dengan menggunakan mesin modern dan tatalaksana tiga dimensi hanya menghasilkan *recurrence free survival* sebesar 27%, atau hanya meningkat sebesar 9% bila dibandingkan tanpa radioterapi. Kanker payudara, dengan pilihan terapi yang luas dan multimodal, ternyata untuk kasus-kasus non surgikal hanya memberikan respons patologik komplit sebesar 15-25%. Pada pasien dengan kanker payudara inflamatorik kurang lebih 20% pasien yang telah diterapi dengan kemoterapi, radioterapi dan bahkan pembedahan tetap mengalami relaps lokal.^{1, 21-30}

Kegagalan terapi pada kanker sesuai dengan data di atas berlaku umum untuk semua keganasan. Berbagai cara sudah dilakukan untuk mencoba memperbaiki angka keberhasilan terapi pada kanker, mulai dari kemoterapi konvensional sampai dengan terapi target, namun kesemuanya belum berhasil memberikan hasil yang menggembirakan. Salah satu penyebab utama kegagalan terapi pada kanker, khususnya kemoterapi dan radioterapi, diperkirakan adalah oleh karena adanya sel punca kanker (SPK), yang mampu untuk memperbarui volume tumor bahkan setelah dilakukan kemo/radioterapi adekuat.^{22, 31, 32}

Peranan sel punca kanker terhadap kegagalan terapi

Terapi kanker konvensional diarahkan pada populasi gumpalan (*bulk*) tumor, strategi ini seringkali mempunyai efektivitas terbatas oleh karena adanya resistensi obat intrinsik/akuisita dan/atau resistensi terhadap radiasi pengion. Mekanisme resistensi terapeutik termasuk peningkatan pengenalan dan perbaikan DNA yang dirusak oleh obat atau radiasi pengion, perubahan kendali siklus sel, gangguan jalur apoptosis fungsional dan penurunan akumulasi obat sebagai akibat peningkatan ekspresi transporter ABC yang mengeluarkan obat.^{22, 31}

Bukti-bukti telah timbul yang menunjukkan sel punca kanker (SPK) sebagai subpopulasi sel di dalam keganasan dengan sifat-sifat resistensi terhadap kemo dan radioterapi, yang menandakan pendekatan antikanker konvensional dapat seringkali gagal untuk mengeradikasi subset sel yang menginisiasi dan mempertahankan tumorigenesis (gambar 1). Sebagai contoh, resistensi SPK terhadap kemoterapi telah dilaporkan terdapat pada leukemia, melanoma maligna dan dalam kanker otak, payudara, pankreas dan kolorektal. Lebih lanjut lagi, resistensi SPK terhadap radioterapi juga telah diidentifikasi pada kanker otak dan payudara.^{22, 31}



Gambar 1. Metformin untuk membunuh sel punca kanker. Pada saat menggunakan kemoterapi konvensional, jumlah sel tumor menurun namun proporsi sel punca kanker lebih besar dibandingkan sebelum terapi, mengindikasikan bahwa sitotoksik secara efisien membunuh sel tumor namun sel punca kanker, secara alamiah resisten terhadap efek obat antikanker dan membuat pertumbuhan tumor kembali. Sebaliknya dengan metformin, pada saat digunakan bersama dengan kemoterapi sitotoksik tradisional, obat tersebut tidak hanya membunuh sel tumor yang berproliferasi, namun nampaknya juga mampu menyerang sel punca kanker, sehingga mencegah relaps tumor.³³

Apabila SPK memang merupakan penyebab utama dari perkembangan tumor dan bertanggungjawab terhadap resistensi terapeutik dan progresivitas pasien kanker, pendekatan terapi yang menargetkan SPK dapat secara potensial meningkatkan efektivitas regimen terapi yang saat ini tersedia dan menurunkan risiko relaps tumor dan metastasis.^{22, 31}

Refrat ini disusun untuk memberikan pengertian antara keterkaitan penyakit metabolik dengan kanker, di mana baru-baru ini bukti-bukti kuat semakin menunjukkan adanya hubungan kuat antara disregulasi metabolisme selular dengan karsinogenesis. Refrat ini juga bertujuan untuk memberikan

pemahaman terkini mengenai jalur sinyal intraselular yang mengatur metabolisme, terutama jalur AMPK-mTOR dan keterkaitannya dengan karsinogenesis dan metastasis. Selain itu, juga akan dibahas mengenai karakter unik dari obat lama, yakni metformin, yang ternyata mempunyai efek ganda baik sebagai aktivator AMPK dan juga inhibitor mTOR serta peranannya dalam perkembangan terapi sitostatika terutama efeknya pada SPK.

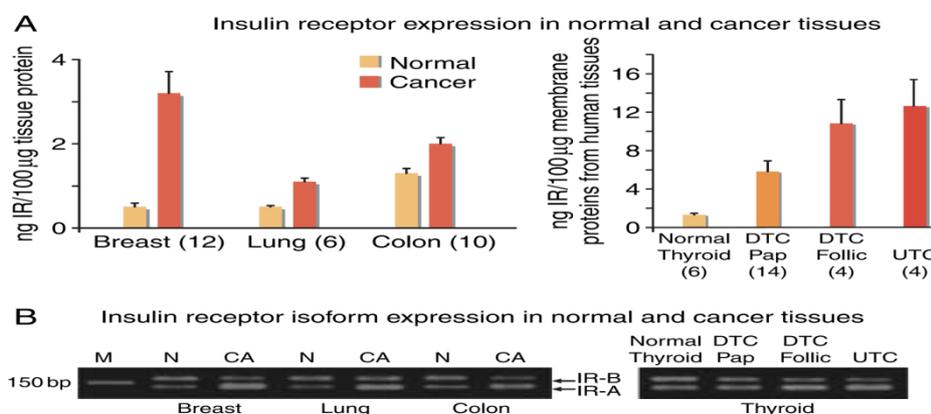
Patogenesis

Keterkaitan antara kanker, diabetes dan insulin

Diabetes dan kanker merupakan dua penyakit kronik yang heterogen, berat dan multifaktorial. Oleh karena frekuensi, pengaruh resiprokal – bahkan pengaruh minor – dapat mempunyai dampak besar. Studi epidemiologis secara jelas mengindikasikan beberapa tipe kanker (termasuk pankreas, hati, payudara, kolorektal, saluran kemih dan organ reproduktif wanita) meningkat pada pasien diabetik. Mortalitas juga meningkat secara moderat, dan beberapa faktor perancu, oleh karena relevansi terkait situs, membuat kesulitan dalam menilai secara akurat risiko kanker pada pasien diabetik. Faktor-faktor ini termasuk durasi diabetes, variabilitas kendali metabolik, obat-obatan berbeda untuk terapi dan kemungkinan adanya komplikasi kronik.^{18, 19}

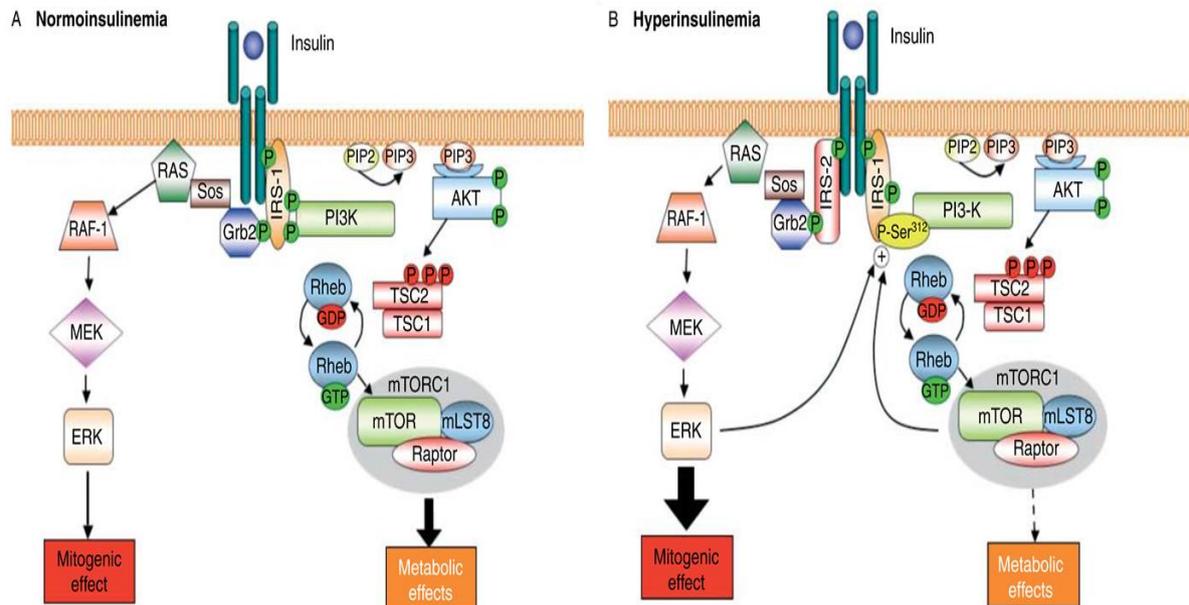
Hiperinsulinemia hampir pasti menyebabkan kanker pada pasien diabetik, oleh karena insulin merupakan faktor pertumbuhan dengan efek metabolik dan mitogenik yang nyata, serta kerjanya di dalam sel ganas disukai oleh mekanisme yang bekerja baik pada tingkatan reseptor maupun post-reseptor. Terdapat beberapa mekanisme kompleks yang potensial berperan dalam efek mitogenik insulin. Pertama, pada saat kadar insulin meningkat (seperti peningkatan insulin postprandial pada subyek resisten insulin atau setelah injeksi insulin), insulin dapat berikatan dan mengaktifasi reseptor terkait faktor pertumbuhan serupa insulin-1 (IGF-I), yang mempunyai homologi sebesar 80% dengan reseptor insulin, namun mempunyai aktivitas mitogenik dan pemicu transformasi yang lebih kuat. Lebih jauh lagi, insulin menurunkan protein pengikat IGF-I (IGF-BP1 dan mungkin IGF-BP2), dan hal ini akan meningkatkan IGF-I bebas, bentuk biologis aktif dari faktor pertumbuhan.^{19, 34, 35}

Kedua, banyak kanker mempunyai peningkatan jumlah IR (gambar 2 A). Reseptor insulin tersebut dapat diekspresikan dalam dua isoform berbeda, A dan B, yang diproduksi oleh pembelahan alternatif transkrip gen IR. Pada sel ganas, ekspresi isoform A (IR-A, gambar 2 B) predominan, dan aktivasinya, berbeda dengan isoform IR-B, menyebabkan efek mitogenik yang lebih besar dibandingkan metabolik. Dengan berikatan pada IR-A yang mengalami overekspresi, insulin dapat menyebabkan progresivitas kanker dan memfasilitasi pertumbuhan tumor, yang sebelumnya lebih mungkin tetap irelevan secara klinis dalam waktu panjang.^{19, 34-36}



Gambar 2. Kandungan IR dan ekspresi isoform IR dipasangkan pada spesimen sel normal dan ganas dari payudara, paru dan kolon manusia. (A) Kandungan IR total lebih tinggi signifikan pada jaringan ganas dibandingkan normal. (DTC - *differentiated thyroid cancer*, UTC - *undifferentiated thyroid cancer*). (B) Ekspresi IR-A dan IR-B pada jaringan normal dan ganas.^{34, 35}

Kemudian yang terakhir, aktivitas mitogenik insulin dapat ditingkatkan pada tingkatan selular oleh mekanisme molekular post-reseptor, termasuk waktu residensi insulin (atau analog sintetiknya) pada reseptor dan *up-regulation* jalur mitogenik insulin intraselular. Data eksperimental mengindikasikan bahwa jalur ini, tidak seperti jalur metabolik insulin, mungkin tidak ditumpulkan pada keadaan resistensi insulin yang banyak ditemukan pada diabetes (gambar 3).³⁷⁻³⁹



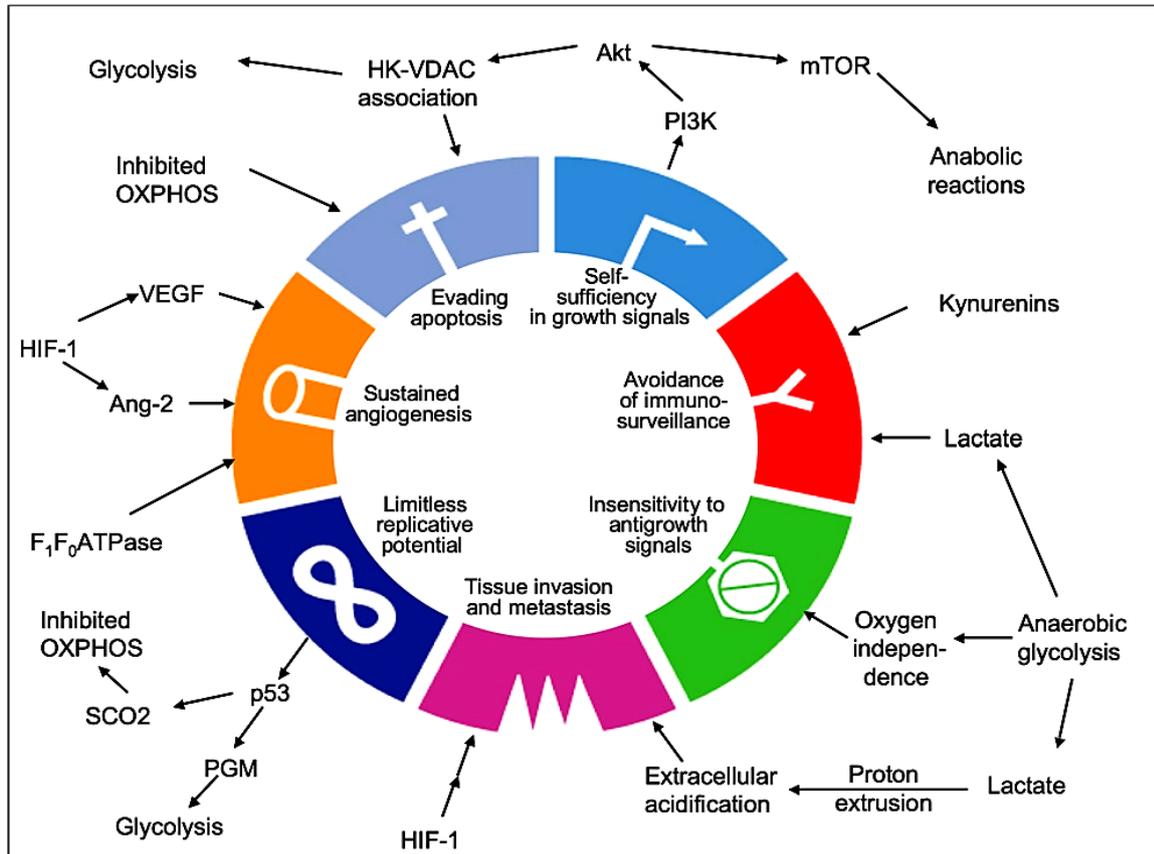
Gambar 3. Paradox resistensi insulin. Pada subyek normoinsulinemik (A), jaringan target berespons kepada insulin dengan efek metabolik melalui aktivasi jalur kinase PI3. Sebaliknya pada subyek hiperinsulinemik (B), sinyal IR mengalami atenuasi dengan cabang metabolik, namun tidak untuk cabang mitogenik. Ketidakimbangan sinyal IR ini mempunyai efek berbeda pada berbagai jenis jaringan, tergantung mekanisme enzimatik predominan pada sel: dapat menyebabkan gangguan homeostasis glukosa pada jaringan target insulin seperti hati, otot dan jaringan adiposa, sedangkan di sisi sebaliknya akan mengakibatkan peningkatan proliferasi sel pada jaringan lain, termasuk ovarium dan sel kanker.^{34, 35, 37}

Disregulasi metabolisme sel sebagai mekanisme karsinogenesis

Selama proliferasi, sel harus meningkatkan biomassa dan mereplikasi genom sebelum membelah menjadi dua sel turunan. Oleh karenanya, sel harus membentuk cukup energi dan memperoleh atau mensintesis biomolekul dalam laju yang mencukupi untuk memenuhi kebutuhan proliferasi. Kanker secara esensi merupakan penyakit di mana sel telah kehilangan kendali atas titik periksa normal dalam proliferasi. Sehingga, tidak mengherankan apabila sel tumor, dalam kebutuhannya untuk memenuhi kebutuhan proliferasi yang meningkat, menunjukkan perubahan fundamental dalam metabolisme energi dan asupan nutrisi. Otto Warburg pertamakali mengajukan teori ini pada tahun 1920, bahwa defek dalam metabolisme energi, terutama fungsi mitokondrial mungkin adalah akar dari kanker.⁴⁰⁻⁴³

Beberapa mutasi yang menyebabkan kanker juga terlibat dalam perubahan metabolisme sel kanker. Perubahan metabolik fundamental ini (transformasi metabolik) dapat memberikan keuntungan pertumbuhan selektif dan/atau resistensi terhadap apoptosis, yang memberikan kemampuan kepada sel kanker dalam mempertahankan bioenergetik dan integritas mitokondrial selama pertumbuhan serta proliferasi sel. Meskipun demikian, peningkatan potensi metabolik, walaupun bermanfaat untuk pertumbuhan tak terkendali, memberikan tantangan inheren untuk sel ganas.

Sementara tumor bertumbuh dengan kebutuhan metabolisme yang melebihi suplai nutrisi, tumor tersebut harus membuat strategi baru dalam mempertahankan bioenergetik selular, bila tidak maka pertumbuhan, proliferasi atau viabilitasnya akan terganggu. Tanpa strategi tersebut, sel akan mengalami apoptosis. Oleh karenanya sel tumor akan menghadapi dua tantangan metabolisme: (1) bagaimana memodifikasi metabolisme selular mereka untuk mendukung pertumbuhan dan proliferasi sel, dan (2) bagaimana membuat strategi adaptasi metabolisme untuk bertahan dalam periode stres metabolik dan mempertahankan viabilitas seiring dengan akumulasi sel.^{40-42, 44}

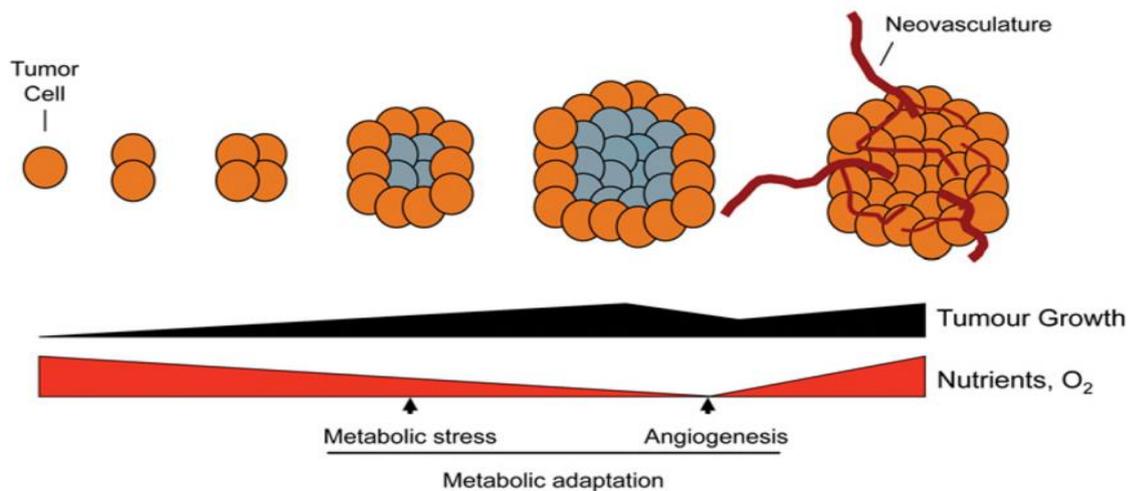


Gambar 4. Tujuh tanda kanker dan hubungannya dengan metabolisme tumor. Hubungan hipotesis antara perubahan metabolisme dan tujuh tanda nonmetabolik neoplasia digambarkan di sini. Panah sentripetal (menunjuk dari dalam ke luar) menggambarkan bagaimana tujuh tanda kanker dapat mempengaruhi metabolisme. Sedangkan, panah sentrifugal (menunjuk dari luar ke dalam) menggambarkan bagaimana pemrograman ulang metabolik terkait neoplasia dapat berkontribusi terhadap akuisisi ketujuh tanda tersebut. Ang-2, angiopoietin-2; GLUT, glucose transporter; HIF, hypoxia-inducible factor; HK, hexokinase; OXPHOS, oxidative phosphorylation; PGM, phosphoglycerate mutase; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; SCO2, synthesis of cytochrome c oxidase 2; VDAC, voltage-dependent anion channel; VEGF, vascular endothelial growth factor.^{40, 41, 44}

Peranan jalur AMPK dalam karsinogenesis

Peningkatan potensi metabolik, walaupun mendukung pertumbuhan tak terkontrol, memberikan suatu tantangan metabolik untuk sel tumor. Saat tumor yang bertumbuh melewati suplai nutriennya, tumor tersebut harus membuat strategi baru untuk mempertahankan bioenergetik selular (gambar 5). Oleh karenanya, cara tumor dalam membentuk strategi untuk bertahan terhadap stres dapat berkontribusi dalam hal progresivitas dan hasil luaran kanker (mis. metastasis). Sensor metabolik intraselular mewakili titik-titik persilangan kunci antara lingkungan dan fisiologi.^{33, 44-47}

Kinase protein AMP-teraktivasi (AMPK) merupakan suatu kompleks kinase protein heterotrimerik yang memainkan peranan penting dalam regulasi homeostasis energi selular, mengatur status bioenergetik sel terhadap beberapa fungsi biologis penting yang bertujuan untuk mempertahankan energi dan viabilitas selular. Sebagai sensor selular kadar AMP, AMPK diaktivasi pada keadaan stres energetik, seperti yang dipicu oleh kekurangan energi dan hipoksia. Pengikatan AMP kepada subunit γ mempromosikan baik peningkatan aktivasi kinase pada subunit α dan fosforilasi pada Thr-172 oleh kinase-kinase hulu. Tiga kinase hulu AMPK telah diidentifikasi (mis. supresor tumor LKB1, kinase b kinase protein dependen kalmodulin atau CamKKb dan kinase 1 - faktor transformasi pertumbuhan b atau TGFb-TAK1). Kinase LKB1 dibutuhkan untuk aktivasi AMPK pada keadaan stres bioenergetik termasuk putus glukosa.



Gambar 5. Stres metabolik saat pertumbuhan tumor. Solid tumor dapat melewati suplai nutrisi dan oksigennya pada saat tumbuh, menyebabkan stres metabolik (tumor yang mengalami stres metabolik digambarkan di tengah). Sebagai akibatnya, sel tumor harus mengalami periode adaptasi metabolik untuk bertahan terhadap stres metabolik ini atau mengalami apoptosis. Angiogenesis dan neovaskularisasi tumor merupakan salah satu strategi adaptasi metabolik tumor yang digunakan untuk meredakan stres ini.^{33,44}

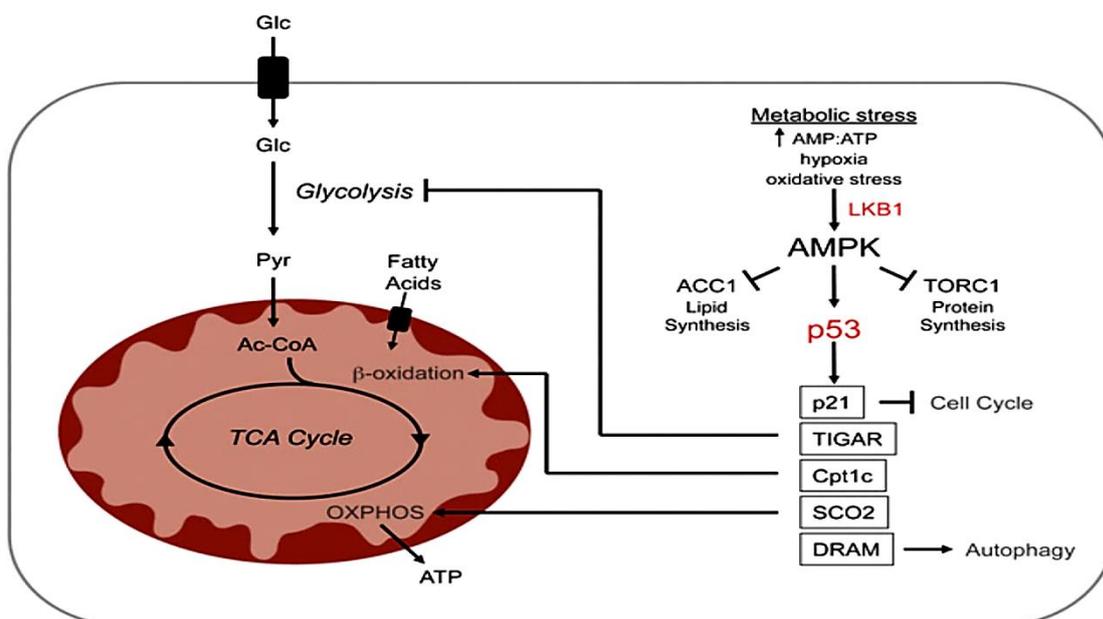
AMPK nampaknya berfungsi dalam evolusi sebagai titik periksa keadaan energi rendah, yang memicu beberapa adaptasi biologis untuk mempertahankan energi dan beradaptasi terhadap stres metabolik sebelum sel mencapai keadaan katastrofik bioenergetik yang memicu kematian sel. AMPK meregulasi homeostasis energi pada sel mamalia melalui beberapa jalur (gambar 6). Interaksi AMPK dengan beberapa faktor transkripsi juga mengindikasikan bahwa regulasi transkripsional dapat berperan penting terhadap respons stres dependen-AMPK.

Aktivasi AMPK dapat positif atau negatif terhadap pertumbuhan tumor tergantung pada konteks p53. Apabila p53 ada, AMPK menginduksi titik periksa siklus sel metabolik yang merestriksi proliferasi sel. Di lain pihak, pada saat tidak ada p53, tetapi dengan obat penurun glukosa metformin, suatu inhibitor respirasi mitokondrial, menghambat progresi tumor, menunjukkan bahwa aksis sinyal AMPK-p53 sangat penting untuk tumor dapat beradaptasi kepada stres metabolik *in vivo*.^{37, 44, 48}

Peranan jalur mTOR dalam karsinogenesis

Banyak mutasi dominan yang diamati pada kanker juga mengendalikan metabolisme sel, sehingga mengarahkan kepada teori bahwa jaringan onkogen dan supresor tumor mempengaruhi pergeseran metabolik dalam kanker. Sebuah regulator sentral metabolisme, baik pada sel non-transformasi dan transformasi adalah *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K), suatu kinase lipid yang mengatur level *phosphatidylinositol* terfosforilasi (PIP3) pada membran plasma.

Aktivasi PI3K terkait faktor pertumbuhan menyebabkan aktivasi efektor hilir, termasuk Akt dan target rapamicin mamalia (mTOR – *mammalian target of rapamycin*), yang mengkoordinasi aktivitas metabolik pendukung biosintesis selular. Pada sel normal, aktivasi PI3K dikendalikan ketat dengan defosforilasi PIP3 oleh fosfatase PTEN, suatu supresor tumor poten. Aktivitas jalur ini mengalami deregulasi pada kanker melalui beberapa mekanisme, termasuk mutasi aktivasi pada PI3K atau kehilangan PTEN.⁴⁹⁻⁵²



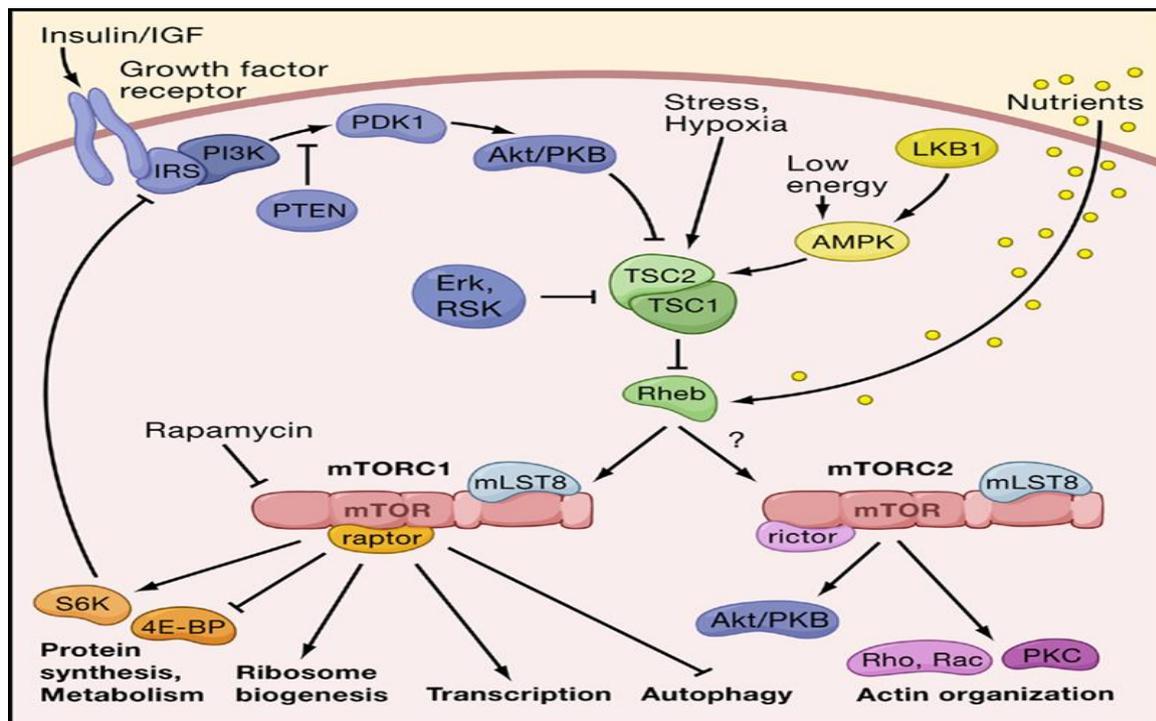
Gambar 6. Jalur AMPK-p53 dalam adaptasi metabolik. Aktivasi supresor tumor p53 oleh AMPK mempromosikan adaptasi fisiologis terhadap stres metabolik melalui berbagai mekanisme. Aktivasi p53 dependen-AMPK secara negatif meregulasi progresi siklus sel melalui inhibitor p21 kinase dependen siklin (cdk). Gangguan fluks glikolitik oleh TIGAR, dimobinasikan dengan peningkatan aktivasi betaoksidasi dan transpor elektron melalui ekspresi palmitoiltransferase karnitin (CPT1c) dan SCO2, menyebabkan perubahan metabolik dependen-53 ke arah OXPHOS. Regulasi transkripsional DRAM oleh p53 menyebabkan autofagi, produk yang juga dapat memberikan bahan bakar untuk OXPHOS.^{33,44}

Secara keseluruhan, mutasi-mutasi sinyal PI3K menyebabkan salah satu kelompok mutasi tersering pada tumor manusia. Sinyal PI3K/Akt yang meningkat mempromosikan transformasi metabolik melalui berbagai jalur^{51,53}, termasuk:

- Meningkatkan ekspresi permukaan transporter nutrisi, sehingga menyebabkan peningkatan asupan glukosa, asam amino dan nutrisi lain;
- Stimulasi dependen-Akt dari hexokinase dan fosfofruktokinase untuk meningkatkan glikolisis;
- Meningkatkan transkripsi gen yang terlibat dalam glikolisis dan lipogenesis; dan
- Meningkatkan translasi protein melalui aktivasi mTOR dependen-Akt.

Translasi protein penting untuk pertumbuhan tumor, dan gangguan translasinya dapat menyebabkan efek tumorigenik. Jalur mTOR mengkoordinasi sintesis protein dengan mengatur asupan asam amino, pengisian tRNA dan inisiasi translasi. Jalur mTOR juga berfungsi sebagai kinase sentral melalui dua kompleks multiprotein berbeda, yang dikenal sebagai kompleks TOR1 (TORC1) dan kompleks TOR2 (TORC2), di mana keduanya mempunyai perbedaan dalam komposisi serta fungsi fisiologisnya.

Transduksi sinyal oleh mTOR mempromosikan peningkatan asupan asam amino dengan meregulasi naik dan mempertahankan ekspresi permukaan transporter asam amino. Asam amino dapat secara langsung mempengaruhi laju sintesis protein dengan stimulasi mTOR. Keadaan ini dimediasi oleh keluarga Rag dari GTPase kecil, yang berinteraksi dengan TORC1 dan mempromosikan aktivasinya sebagai respons terhadap sinyal asam amino.^{43, 44, 54, 55}



Gambar 7. Model jalur sinyal mTOR pada sel mamalia. Jalur sinyal mTOR terdiri atas dua cabang utama, yang dimediasi oleh kompleks mTOR spesifik (mTORC). Cabang mTORC1 mengendalikan beberapa jalur yang secara kolektif menentukan ukuran sel. Cabang mTORC2 mengendalikan sitoskeleton aktin dan oleh karenanya menentukan bentuk sel. Cabang mTORC1 dan mungkin pula mTORC2 berespons terhadap faktor pertumbuhan (insulin/IGF1), status energi sel, nutrisi (asam amino) dan stress. Kompleks mTORC1 (dan juga kemungkinan mTORC2) bersifat multimerik, meskipun digambarkan sebagai monomer. Panah mewakili aktivasi di mana batang mewakili inhibisi.^{43, 44, 55}

Regulasi metabolisme sel sebagai terapi kanker potensial

Peranan aktivator AMPK

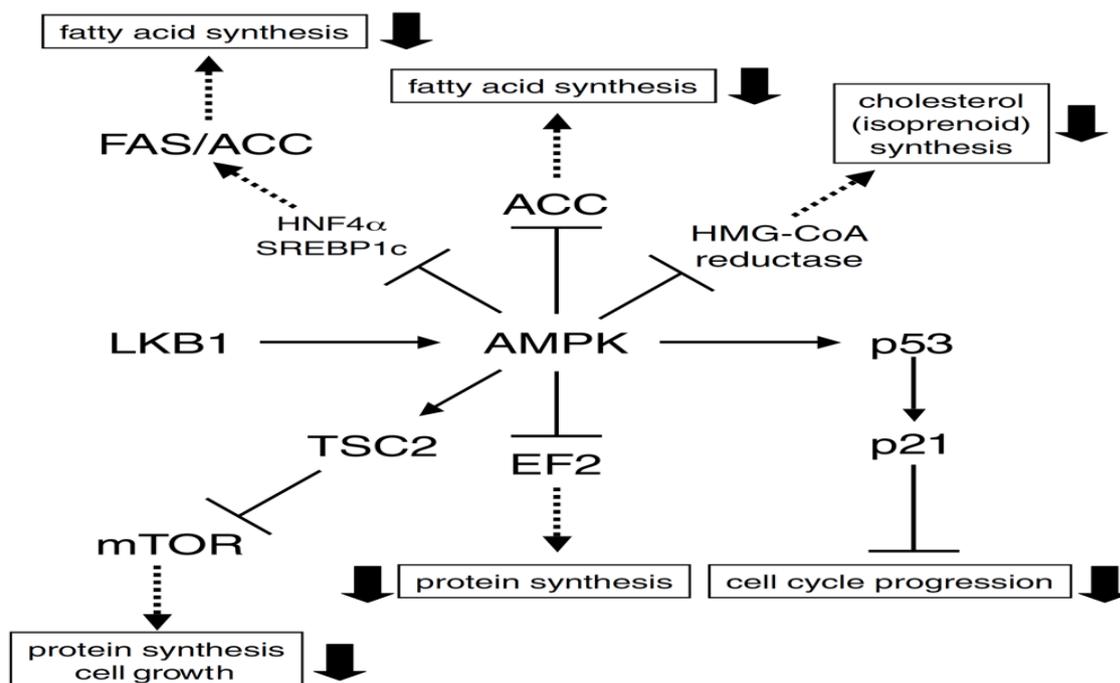
Sementara sistem AMPK secara tradisional dianggap sebagai sensor status energi selular dan regulator metabolisme, penemuan terkini bahwa sebuah tumor supresor LKB1 ditemukan berada di hulu dan dua tumor supresor berbeda p53 dan TSC2 di hilir, kini memberikan bukti baru bahwa sistem AMPK dapat berfungsi sebagai supresor proliferasi sel. AMPK mempromosikan pemeliharaan fenotip sel istirahat pada jaringan matur, yang tidak memerlukan proliferasi dalam mempertahankan fungsinya dan juga membantu menjaga sel mengalami transformasi akibat stimulus onkogenik.

Aktivasi AMPK telah dilaporkan dapat menekan proliferasi pada berbagai tipe sel. Temuan-temuan ini mengindikasikan bahwa sistem AMPK memainkan peranan penting dalam regulasi proliferasi sel.^{44, 46, 54, 56}

Oleh karena AMPK dapat meregulasi berbagai variasi jalur sinyal seperti telah disebutkan di atas, menarik untuk menentukan jalur-jalur mana yang diregulasi oleh AMPK yang terlibat paling banyak dalam inhibisi proliferasi sel (gambar 8). AMPK mempunyai efek pleiotropik yang dapat mempengaruhi proliferasi sel, termasuk:

- Inhibisi ACC yang menyebabkan supresi sintesis asam lemak;
- Inhibisi reduktase HMG-CoA yang menyebabkan supresi sintesis mevalonat dan produk jalur sintesis kolesterol lainnya, selain kolesterol itu sendiri;
- Inhibisi jalur mTOR sehingga menyebabkan hambatan terhadap sintesis protein; dan
- Inhibisi progresivitas siklus sel dengan aktivasi aksis p53-p21.

Sebagai catatan, sampai saat ini belum ada data yang menyediakan cukup informasi untuk menentukan seberapa banyak dan lama aktivasi AMPK dapat berfungsi untuk menekan sintesis protein, asam lemak dan juga DNA. Studi lanjutan dibutuhkan untuk lebih mengerti mengenai permasalahan ini. Meskipun demikian, aktivasi AMPK telah muncul sebagai target penting dalam pencegahan dan terapi atherosclerosis dan juga berpotensi sebagai terapi kanker.^{44, 46, 56, 57}



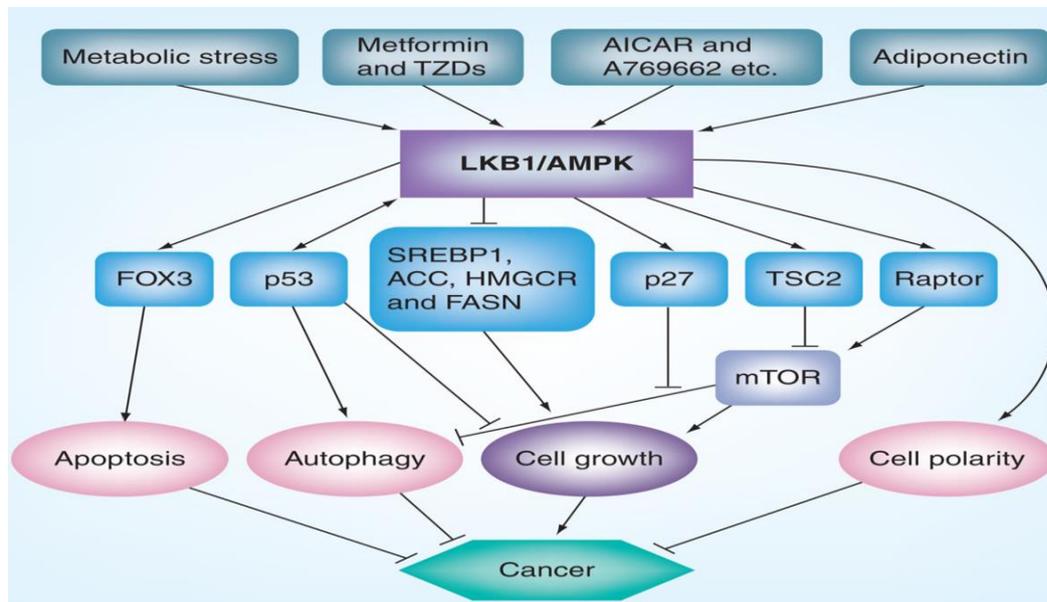
Gambar 8. Berbagai jalur dalam regulasi AMPK yang dapat memodulasi proliferasi sel. Aktivasi AMPK dapat meregulasi proliferasi sel, tidak hanya dengan aktivasi aksis p53-p21 dan inhibisi sinyal mTOR, namun juga dengan penekanan jalur sintesis mevalonat dan asam lemak de novo. Pada saat AMPK teraktivasi, beberapa jalur yang diindikasikan dengan garis titik-titik mengalami supresi.⁴⁴

Beberapa studi telah menunjukkan bahwa olah raga, AICAR dan metformin, di mana kesemuanya menyebabkan aktivasi AMPK, dapat menurunkan sekresi insulin dan produksi IGF1 serta memperbaiki hiperlipidemia dan hiperglikemia. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa AICAR juga menekan ekspresi IGF1 dan reseptornya pada sel kanker prostat, sementara ekspresi mutan AMPK negatif dominan menyebabkan regulasi meningkat. Sebagai tambahan, AMPK mengurangi

spesies oksigen reaktif, yang dapat menyebabkan kerusakan DNA dan menginduksi mutagenesis. Studi-studi ini menunjukkan peranan penting AMPK dalam pencegahan tumor. Kinase protein teraktivasi AMP merupakan target menjanjikan untuk terapi kanker, oleh karena beberapa studi telah menunjukkan bahwa beberapa aktivator AMPK, seperti metformin, fenformin, AICAR dan A769662, dapat menekan atau memperlambat onset tumor pada model hewan coba (gambar 8).

Peranan inhibitor mTOR

Sayangnya, perkembangan klinis mengindikasikan bahwa rapamycin, hanya memberikan harapan pada beberapa kanker, terutama limfoma sel mantle, kanker endometrial dan karsinoma sel ginjal. Secara keseluruhan, respons terapi terhadap rapamycin sangat bervariasi, menandakan bahwa penanda biologis yang mampu memprediksi sel mana yang akan berespons terhadap terapi rapamycin sangat dibutuhkan. Walaupun hasil-hasil terkini membuat frustrasi, kemungkinan hasil tersebut lebih merefleksikan fakta bahwa masih banyak yang belum diketahui mengenai aksi rapamycin ataupun sirkuit mTOR.

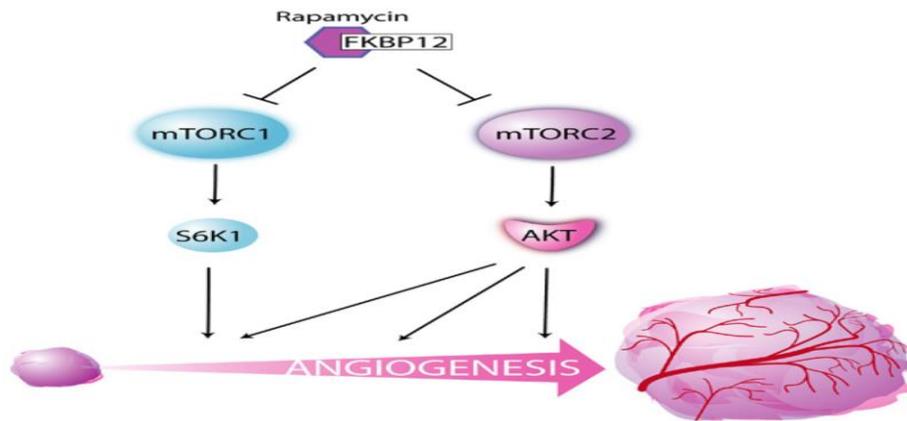


Gambar 9. Peranan esensial jalur LKB1/AMPK dalam mengendalikan pertumbuhan sel dan tumorigenesis. Jalur LKB1/AMPK dengan meregulasi mTORC1, p53 dan molekul penting lainnya, mengendalikan proses selular seperti titik periksa siklus sel, apoptosis, autofagi dan polaritas sel. Disregulasi LKB1/AMPK dapat menyebabkan kehilangan titik-titik kontrol ini dan kemudian menyebabkan pertumbuhan tidak terkendali.^{44,46}

Meskipun demikian, turunan rapamycin kemungkinan merupakan inhibitor mTOR pertama yang akan dipasarkan sebagai terapi kanker. Rapamycin merupakan inhibitor universal fosforilasi S6K1 dependen-mTORC1, namun adanya umpan balik negatif kuat dari S6K1 terhadap sinyal AKT menggambarkan adanya permasalahan terapeutik potensial, oleh karena kehilangan inhibisi umpan balik AKT dapat mempromosikan kesintasan sel dan kemoresistensi. Efek samping yang tentu saja tidak diinginkan. Temuan bahwa terapi rapamycin berkepanjangan menghambat rangkaian mTORC2 dan fosforilasi AKT pada beberapa tipe sel menunjukkan ide menarik dan mungkin provokatif, bahwa beberapa respons klinis rapamycin berasal dari penghambatan kedua mTORC.^{41, 58-63}

Inhibisi ganda jalur PI3K atau lainnya dan mTOR dapat menjadi suatu strategi yang efektif. Strategi ini menghindari konsekuensi potensial adanya umpan balik yang merugikan. Beberapa obat-obatan yang sedang dipertimbangkan sebagai terapi kombinasi termasuk gefitinib, imatinib, tamoxifen dan

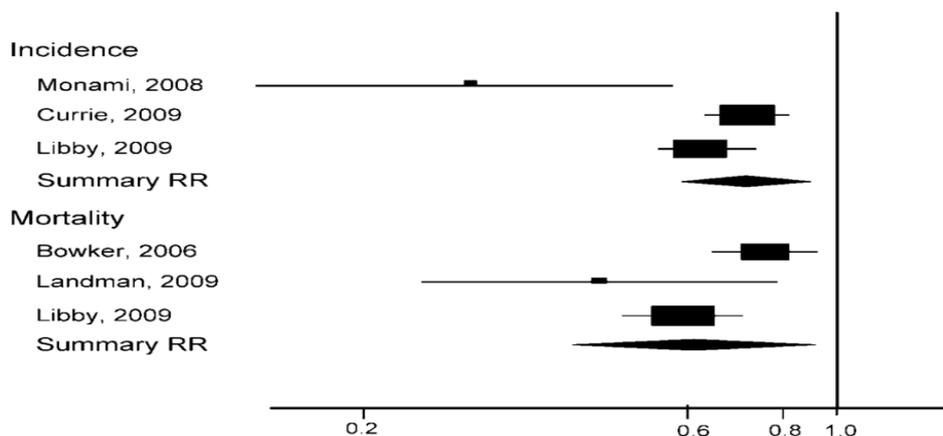
paclitaxel. Oleh karena aktivasi AKT ditemukan meluas pada kanker, juga terdapat rationale bahwa menciptakan inhibitor mTORC2 akan bermanfaat (gambar 10). Selain itu juga dipertimbangkan bahwa inhibitor mTORC2 spesifik akan mempunyai potensi terapeutikal yang baik, terutama pada kanker yang kecanduan terhadap peningkatan sinyal PI3K. Namun demikian, meskipun menarik untuk membicarakan beberapa strategi yang dapat dilakukan, nampaknya fakta dari studi klinis menunjukkan bahwa masih banyak misteri mengenai jalur mTOR yang harus diselidiki.^{41, 58, 59, 61, 62, 64, 65}



Gambar 10. Rapamycin dapat menghambat angiogenesis patologis dengan melakukan inhibisi baik terhadap mTORC1 dan juga mTORC2. Kerja inhibitotik ganda rapamycin pada mTORC1 dan mTORC2 dapat menjadi kunci bagi sifat antiangiogenik ini.^{53, 64}

Potensi metformin sebagai modulasi terapi di masa depan

Diabetes mellitus tipe 2 dikaitkan dengan peningkatan risiko keganasan (terutama pankreas, payudara, kolon, endometrium dan kandung kemih). Sebagai tambahan, terdapat bukti-bukti yang menunjukkan bahwa terapi antidiabetik sendiri dapat mempengaruhi risiko kanker. Lebih jauh lagi, metformin saat ini muncul sebagai obat yang mempunyai potensi melindungi dari kanker. Studi populasi telah menunjukkan bahwa metformin dikaitkan dengan reduksi neoplasia secara umum dan kanker payudara serta prostat khususnya. Suatu meta-analisis yang melibatkan 11 studi, 4.042 kejadian kanker dan 529 kematian karena kanker menunjukkan, penurunan sebesar 31% risiko relatif kejadian dan kematian karena kanker pada subyek yang mendapatkan metformin dibandingkan dengan yang tidak.^{19, 36}

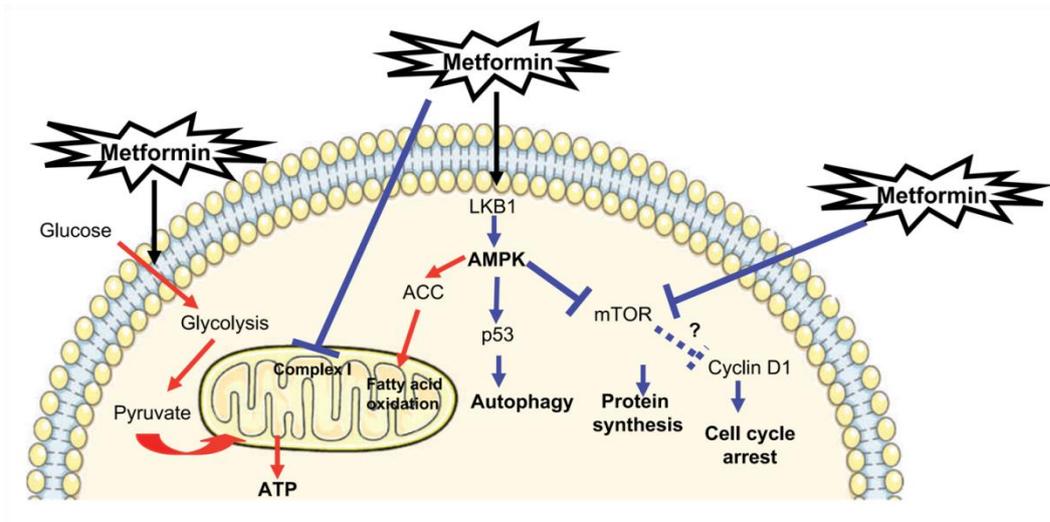


Gambar 11. Diagram Forrest yang menunjukkan subyek yang mendapatkan metformin mempunyai risiko relatif kejadian dan kematian kanker yang lebih kecil secara signifikan dibandingkan yang tidak.^{19, 20}

Metformin sebagai sitostatika potensial melalui jalur AMPK/mTOR

Pada level selular, metformin mengaktifasi AMPK, suatu sensor energi yang terlibat dalam regulasi metabolisme sel, yang teraktivasi dengan peningkatan kadar AMP intraselular. Metformin secara tidak langsung mengaktifasi AMPK dengan mengganggu kompleks I rantai pernapasan mitokondria, yang mengakibatkan penurunan sintesis AMP dan peningkatan rasio AMP:ATP selular. Efek antikanker metformin dikaitkan baik dengan efek langsung (insulin-independen) dan tidak langsung (insulin-dependen), lihat gambar 12. Efek tidak langsung, dependen insulin dimediasi oleh kemampuan AMPK untuk menghambat transkripsi gen glukoneogenesis kunci di hati dan menstimulasi asupan glukosa di otot, sehingga menurunkan kadar glukosa darah puasa dan insulin.^{33, 44}

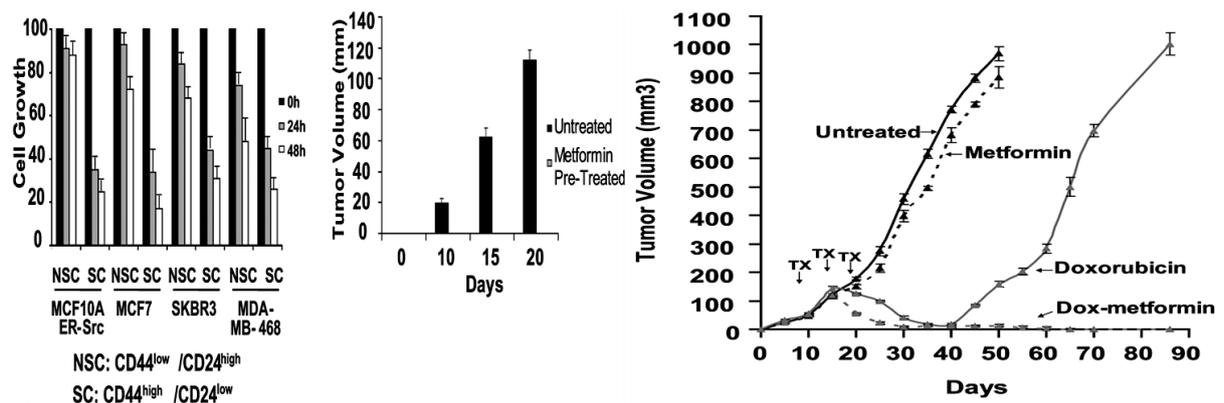
Efek menurunkan insulin dari metformin memainkan peranan besar dalam aktivitas antikankernya, oleh karena insulin mempunyai efek mitogenik dan prokesintasan serta sel tumor seringkali mengekspresikan reseptor insulin dalam jumlah besar, menandakan sensitivitas potensial terhadap efek merangsang pertumbuhan hormon tersebut. Lebih jauh lagi obesitas dan kadar insulin tinggi merupakan faktor prognostik negatif untuk beberapa kanker, terutama payudara, prostat dan kolon. Akibatnya, metformin dapat meminimalisir efek negatif insulin pada perkembangan dan pertumbuhan tumor. Metformin telah dibuktikan mampu menekan efek stimulatorik kegemukan dan hiperinsulinemia pada pertumbuhan tumor paru di mencit dengan memperbaiki sensitivitas insulin, menurunkan insulin dalam sirkulasi dan mengaktifasi sinyal AMPK.^{36, 66-68}



Gambar 12. Mekanisme potensial metformin pada metabolisme dan proliferasi selular. Metformin meningkatkan asupan glukosa dan glikolisis. Metformin juga mengaktifasi AMPK sehingga menyebabkan fosforilasi ACC dan akhirnya meningkatkan oksidasi asam lemak. Metformin kemudian dapat pula menghambat kompleks mitokondrial 1, selain itu metformin juga mempengaruhi pertumbuhan sel melalui: induksi autofagi dependen-p53, menghambat mTOR dan sintesis protein serta menginduksi penghentian siklus sel melalui penurunan kadar protein cyclin-D1.⁴⁴

Beberapa laporan terakhir juga menunjukkan kemungkinan bahwa metformin mampu memediasi efek antikanker tambahan, terlepas dari AMPK, LKB1 dan TSC2. Metformin mampu mereduksi sinyal mTOR terlepas dari AMPK dan TSC2 dengan menghambat aktivasi melalui jalur yang dimediasi oleh Rag GTPase. Secara paradoks, kehilangan fungsi LKB1 pada sel membuat sel tersebut mengalami sensitisasi terhadap kerja metformin pada keadaan glukosa rendah. Lebih lanjut lagi, metformin mampu menurunkan glukoneogenesis hepar dengan menurunkan kadar energi hepatic pada ketiadaan AMPK dan LKB1. Sementara efek-efek tambahan ini menjanjikan, supresi sinyal mTOR dependen-LKB1 tetap merupakan kandidat kunci kerja antitumor metformin.^{44, 54, 69-72}

Metformin sebagai sitostatika spesifik sel punca kanker



Gambar 13. Efek metformin terhadap sel punca kanker dan kerja sinergistik dengan doxorubicin dalam mencegah relaps massa tumor.⁷³

Efek antitumor metformin, nampaknya secara mengejutkan tergantung pada kompartemen sel kanker. Sebuah studi monumental oleh Hirsch et al, menunjukkan bahwa sel punca kanker yang membentuk tumor dan terus memperbaharui diri serta resisten terhadap kemoterapi, ternyata sangat sensitif terhadap metformin. Pada penelitian mereka, dosis rendah metformin (0,1 atau 0,3

mmol/L) gagal untuk secara signifikan mempengaruhi viabilitas non sel punca atau sel kanker berdiferensiasi baik. Namun demikian, menariknya adalah ternyata metformin kadar rendah ini secara selektif membunuh sel punca kanker. Konsisten pula dengan hipotesis dandelion, di mana baik sel kanker berdiferensiasi maupun sel punca kanker harus diterapi untuk mencegah relaps, terapi konkuren metformin dengan doxorubicin ditemukan mampu untuk mereduksi massa tumor dan mencegah relaps jauh lebih efektif dibandingkan dengan terapi tunggal pada model mencit (gambar 13).^{73, 74}

Lebih lanjut lagi IGF-1 harus dipertimbangkan sebagai mitogen sel kanker potensial dan dapat diprediksikan bahwa peningkatan kadar IGF-1 dapat memicu ekspansi cadangan sel punca kanker. Metformin yang bekerja sistemik untuk secara tidak langsung menurunkan kadar insulin dapat secara signifikan menurunkan jumlah target berisiko (mis. sel punca kanker) untuk mengalami transformasi onkogenik. Sehingga, data ini memberikan suatu penjelasan molekular yang sebelumnya tidak diketahui, terhadap penelitian epidemiologis monumental yang menunjukkan risiko mortalitas kanker lebih rendah pada pasien yang diterapi dengan metformin dan adanya penurunan terkait dosis untuk insidens kanker pada diabetesi yang diterapi metformin.^{67, 68, 75}

Terlepas relevansi dosis terhadap target molekular metformin pada kedua kompartemen sel kanker (IGF-1/IGF1-R1, AMPK/mTOR atau keduanya), temuan-temuan ini jelas menunjukkan bahwa bersamaan dengan terapi konvensional, tambahan metformin dapat menyediakan suatu strategi sukses untuk mencegah rekurensi dan memperbaiki kesintasan jangka panjang. Kemampuan metformin untuk menyerang SPK dapat menjelaskan kemampuan dosis standar obat tersebut, untuk secara signifikan meningkatkan laju respons patologikal komplisit pada pasien kanker payudara diabetik yang menerima metformin dan kemoterapi neoadjuvan.

Studi-studi efektivitas metformin terpilih

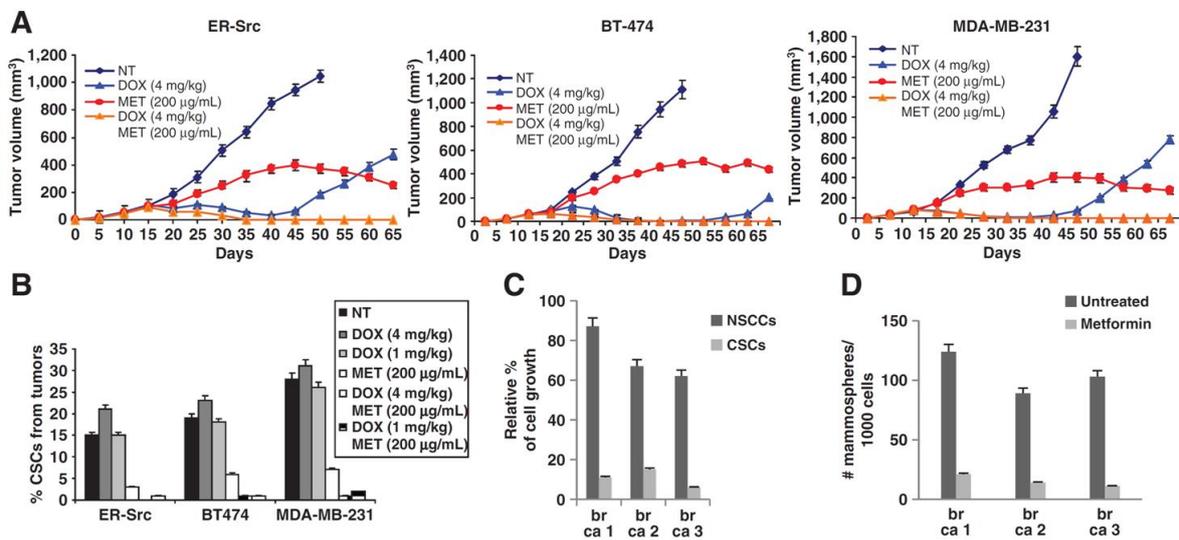
Banyak studi, baik in vivo maupun in vitro, telah dilakukan untuk menguji kerja metformin sebagai terapi antikanker potensial. Berikut akan kami sajikan beberapa studi terpilih untuk memperlihatkan potensi metformin sebagai terapi antikanker potensial di masa depan.

Salah area studi yang banyak menarik minat adalah di bidang kanker ovarium, kanker ginekologik paling letal pada wanita, dengan tingkat mortalitas tinggi (68%) dan fakta bahwa 75% pasien berada pada stadium lanjut (>III) pada saat diagnosis serta terbatasnya pilihan terapi yang ada. Sehingga jelas dibutuhkan terapi baru untuk memperbaiki hasil terapi pada kanker ovarium.

Pada studi dengan mencit yang diinjeksikan dengan sel kanker ovarium, terapi metformin menunjukkan reduksi pertumbuhan tumor, disertai dengan inhibisi proliferasi tumor (dinilai dengan pewarnaan imunohistokimia Ki-67 dan cyclin D1) dan juga penurunan ukuran tumor serta hitung mitosis sel. Aktivasi AMPK/inhibisi mTOR oleh metformin juga disertai dengan penurunan densitas pembuluh darah mikro dan ekspresi faktor pertumbuhan endotel vaskular. Lebih jauh lagi, metformin juga mampu menghambat pertumbuhan nodul metastatik di paru dan secara signifikan mempotensiasi sitotoksitas terinduksi-cisplatin, yang menyebabkan reduksi hingga 90% pertumbuhan tumor dibandingkan dengan obat tunggal.^{71, 76, 77}

Percobaan lain dengan menggunakan xenograft pada mencit yang diinokulasi dengan sel kanker payudara, prostat dan paru juga menunjukkan bahwa metformin bekerja sinergistik dengan kemoterapi konvensional. Pada studi ini, metformin kombinasi dengan doxorubicin, paclitaxel atau

carboplatin terbukti mampu menurunkan dosis kemoterapi, mencegah relaps dan mempunyai efek yang komparabel dalam hal regresi tumor. Metformin bahkan mampu menurunkan dosis doxorubicin sampai 4 kali lipat, sehingga potensial untuk mencegah efek toksik yang tidak diinginkan dari doxorubicin, seperti gagal jantung. Kemampuan metformin dalam mencegah relaps pada penelitian ini, lebih lanjut membuktikan efektivitas metformin terhadap SPK (gambar 14).^{73, 78}



Gambar 14. Efektivitas metformin untuk menurunkan dosis doxorubicin, mencegah relaps dan menurunkan volume tumor pada mencit yang diinokulasikan dengan sel kanker payudara.⁷⁸

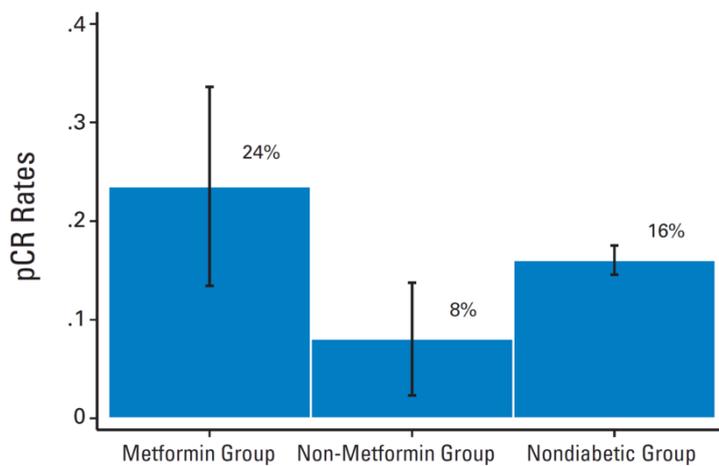
Studi lain pada mencit dengan karsinoma sel ginjal, dengan menggunakan pemeriksaan formasi koloni dan sitometri aliran untuk menilai pertumbuhan dan perubahan siklus sel, menunjukkan hasil yang menjanjikan. Metformin terbukti menghambat proliferasi sel, meregulasi turun ekspresi cyclin D1 dan menginduksi henti siklus sel G0/G1 pada galur sel 786-O dan OS-RC-2RCC. Studi lebih lanjut pada mencit ini dengan menggunakan analisis imunoblot menunjukkan bahwa metformin bekerja melalui aktivasi AMPK dan inhibisi mTOR.⁷⁹

Studi-studi in vivo pada mencit tersebut mendorong para ahli untuk lebih lanjut mengeksplorasi cara kerja metformin. Melalui suatu studi untuk menilai dampak ekspresi gen dari metformin, penelitian yang menggunakan metode *whole human genome arrays*, menunjukkan bahwa dosis metformin yang menyebabkan aktivasi AMPK tidak hanya meregulasi menurun gen yang mengkode protein ribosomal, namun juga menekan beberapa gen. Menariknya, gen yang tertekan adalah gen-gen yang terkait dengan mitosis dan metastasis, seperti kinesin, tubulin, histon, aurora dan kinase serupa-polo. Studi ini mendukung lebih lanjut keterkaitan antara status AMPK dengan titik periksa kromosomal dan sitoskeletal mitosis sel pada tingkatan transkripsional.^{33, 80}

Sementara studi-studi di atas merupakan studi in vivo pada hewan coba atau in vitro, beberapa studi telah mencoba untuk mengevaluasi hubungan antara metformin dengan kanker pada manusia, sebagian besar dilakukan pada pasien kanker payudara dengan diabetes. Suatu studi observasional pada 2.529 pasien yang mendapatkan kemoterapi neoadjuvan untuk kanker payudara stadium dini, berupaya mengevaluasi keterkaitan antara penggunaan metformin dengan respons patologik komplisit. Terbukti pada pasien kanker payudara diabetik yang menggunakan metformin mempunyai laju respons patologik komplisit lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan yang tidak mendapatkan metformin (24% vs. 8%; $p=0,007$), lihat gambar 15. Penggunaan metformin juga dikaitkan secara independen dengan prediksi respons patologik komplisit (OR 2,95; $p = 0,04$) setelah

penyesuaian terhadap diabetes, indeks massa tubuh, usia, stadium, derajat, status reseptor dan penggunaan taxane neoadjuvan.^{81, 82}

Studi-studi di atas menunjukkan potensi metformin sebagai agen alternatif untuk kemoterapi sangat besar, namun sampai sekarang penggunaan metformin sebagai kemoterapi definitif masih menghadapi hambatan. Salah satu hambatan yang dijumpai adalah belum adanya studi klinis dengan rancangan baik untuk menguji efektivitas metformin secara langsung, baik dalam setting neoadjuvan ataupun sebagai terapi salvage. Namun demikian, sisi baiknya adalah, saat ini telah ada puluhan studi yang terdaftar di register penelitian klinis dunia, yang berupaya untuk meneliti potensi metformin sebagai kemoterapi. Daftar penelitian tersebut ekstensif, mulai dari kanker payudara, paru, prostat, kepala leher dan kolorektal.



Gambar 15. Metformin memberikan angka respons patologik komplis yang lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan tanpa metformin, pada pasien kanker payudara diabetik.

Penelitian-penelitian tersebut bertujuan untuk secara definitif menguji hipotesis-hipotesis di atas, dan menggunakan kesintasan bebas penyakit (*DFS-disease free survival*) untuk dapat merefleksikan aktivitas metformin terhadap SPK dengan cara terbaik (titik uji utama), namun cara ini akan membutuhkan studi panjang dengan jumlah pasien besar. Titik uji sekunder dapat dengan secara serial mengukur sel punca kanker pada model preklinis *in vitro*, untuk mendapatkan hasil yang lebih cepat. Diharapkan dengan kemajuan dari penelitian klinis terhadap metformin sebagai sitostatika potensial ini, maka penggunaannya di masa mendatang dapat lebih diperjelas.

Kesimpulan

Data-data klinis yang ada menunjukkan bahwa terdapat keterkaitan yang erat antara gangguan metabolisme selular dengan karsinogenesis. Data epidemiologis lebih lanjut menunjukkan hubungan yang erat antara diabetes, hiperinsulinemia dengan risiko beberapa kanker utama seperti payudara, kolorektal, paru dan ginjal. Kanker saat ini dipandang sebagai penyakit disregulasi metabolisme sel, di mana insulin sebagai faktor pertumbuhan, jalur AMPK sebagai sensor energi dan jalur mTOR sebagai jalur sintesis protein mempunyai peranan penting.

Aktivasi jalur AMPK dan inhibisi jalur mTOR telah terbukti mempunyai potensi sitostatika yang besar. Jalur AMPK pada saat diaktivasi telah terbukti mampu untuk menghambat angiogenesis dan pertumbuhan sel tumor, begitupula dengan jalur mTOR. Pada beberapa kasus jalur mTOR dan inhibisinya juga dikaitkan dengan hambatan terhadap metastasis kanker. Namun demikian, mekanisme tepat dari inhibisi mTOR masih belum jelas, sehingga inhibitor mTOR spesifik seperti rapamycin masih memerlukan studi lanjut untuk menentukan peranannya dalam kemoterapi.

Metformin sebuah obat antidiabetik lama, baru-baru ini ditemukan mempunyai aktivitas terhadap aktivasi AMPK dan inhibisi mTOR baik langsung maupun tidak langsung. Beberapa studi in vitro dan in vivo pada hewan coba telah menunjukkan potensi metformin sebagai kemoterapi spesifik untuk sel punca kanker. Metformin juga mempunyai efek sinergistik terhadap obat sitostatika lainnya, sehingga mempunyai potensi menurunkan dosis obat tersebut. Studi-studi epidemiologis juga mengaitkan metformin dengan manfaat yang besar pada kemoterapi pasien kanker payudara diabetik. Namun demikian, masih diperlukan studi lanjutan terutama untuk pasien non-diabetik dalam mengevaluasi peranan metformin sebagai kemoterapi potensial.

Referensi

1. Dhar M, Lahiri S, Takiar R, Ashok NC, Murthy NS. An indirect study of cancer survival in the context of developing countries. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008;9:479-86.
2. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol* 2006;24:2137-50.
3. Quinn M, Babb P. Patterns and trends in prostate cancer incidence, survival, prevalence and mortality. Part II: individual countries. *BJU Int* 2002;90:174-84.
4. Quinn M, Babb P. Patterns and trends in prostate cancer incidence, survival, prevalence and mortality. Part I: international comparisons. *BJU Int* 2002;90:162-73.
5. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001;94:153-6.
6. Doll R. Epidemiological evidence of the effects of behaviour and the environment on the risk of human cancer. *Recent Results Cancer Res* 1998;154:3-21.
7. Chan JC, Malik V, Jia W, et al. Diabetes in Asia: epidemiology, risk factors, and pathophysiology. *JAMA* 2009;301:2129-40.
8. Soebardi S, Purnamasari D, Oemardi M, Soewondo P, Waspadji S, Soegondo S. Dyslipidemia in newly diagnosed diabetes mellitus: the Jakarta primary non-communicable disease risk factors surveillance 2006. *Acta Med Indones* 2009;41:186-90.
9. Amarapurkar DN, Hashimoto E, Lesmana LA, Sollano JD, Chen PJ, Goh KL. How common is non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region and are there local differences? *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:788-93.
10. Cockram CS. The epidemiology of diabetes mellitus in the Asia-Pacific region. *Hong Kong Med J* 2000;6:43-52.
11. Sutanegara D, Budhiarta AA. The epidemiology and management of diabetes mellitus in Indonesia. *Diabetes Res Clin Pract* 2000;50 Suppl 2:S9-S16.
12. Cheah JS, Wang KW, Sum CF. Epidemiology of diabetes mellitus in the Asia-Pacific region. *Ann Acad Med Singapore* 1990;19:501-5.
13. Diabetes registries in Asia. Diabetes Epidemiology Research International Registry Group. *Bull World Health Organ* 1987;65:897-903.
14. Zimmet P. The global epidemiology of diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med* 1983;141 Suppl:41-54.
15. Waspadji S, Ranakusuma AB, Suyono S, Supartondo S, Sukaton U. Diabetes mellitus in an urban population in Jakarta, Indonesia. *Tohoku J Exp Med* 1983;141 Suppl:219-28.
16. De Angelis R, Valente F, Frova L, et al. Incidence, mortality and prevalence of stomach cancer in Italian regions. *Tumori* 1996;82:314-20.
17. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006;118:3030-44.
18. Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, et al. Diabetes and cancer: a consensus report. *Diabetes Care* 2010;33:1674-85.
19. Vigneri P, Frasca F, Sciacca L, Pandini G, Vigneri R. Diabetes and cancer. *Endocr Relat Cancer* 2009;16:1103-23.
20. Vigneri R. Diabetes: diabetes therapy and cancer risk. *Nat Rev Endocrinol* 2009;5:651-2.
21. Sankaranarayanan R, Black RJ, Swaminathan R, Parkin DM. An overview of cancer survival in developing countries. *IARC Sci Publ* 1998:135-73.

22. Eyler CE, Rich JN. Survival of the fittest: cancer stem cells in therapeutic resistance and angiogenesis. *J Clin Oncol* 2008;26:2839-45.
23. Aziz Z, Iqbal J, Akram M. Effect of social class disparities on disease stage, quality of treatment and survival outcomes in breast cancer patients from developing countries. *Breast J* 2008;14:372-5.
24. Shulman LN, Willett W, Sievers A, Knaul FM. Breast cancer in developing countries: opportunities for improved survival. *J Oncol*;2010:595167.
25. Hong WK, Bromer RH, Amato DA, et al. Patterns of relapse in locally advanced head and neck cancer patients who achieved complete remission after combined modality therapy. *Cancer* 1985;56:1242-5.
26. Loimu V, Collan J, Vaalavirta L, et al. Patterns of relapse following definitive treatment of head and neck squamous cell cancer by intensity modulated radiotherapy and weekly cisplatin. *Radiother Oncol*;98:34-7.
27. Duprez F, Bonte K, De Neve W, Boterberg T, De Gerssem W, Madani I. Regional relapse after intensity-modulated radiotherapy for head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;79:450-8.
28. Paclitaxel plus bevacizumab increases disease-free survival in women with advanced breast cancer. *Womens Health (Lond Engl)* 2006;2:327-9.
29. Cerfolio RJ, Bryant AS. Predictors of survival and disease-free survival in patients with resected N1 non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2007;84:182-8; discussion 9-90.
30. Hunt I, Siva M, Southon R, Treasure T. Does lung cancer screening with low-dose computerised tomography (LDCT) improve disease-free survival? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2006;5:612-5.
31. Frank NY, Schatton T, Frank MH. The therapeutic promise of the cancer stem cell concept. *J Clin Invest* 2010;120:41-50.
32. Ludovini V, Pistola L, Gregorc V, et al. Plasma DNA, microsatellite alterations, and p53 tumor mutations are associated with disease-free survival in radically resected non-small cell lung cancer patients: a study of the perugia multidisciplinary team for thoracic oncology. *J Thorac Oncol* 2008;3:365-73.
33. Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraro C, Lopez-Bonet E, Menendez JA. AMPK: Evidence for an energy-sensing cytokinetic tumor suppressor. *Cell Cycle* 2009;8:3679-83.
34. Frasca F, Pandini G, Scalia P, et al. Insulin receptor isoform A, a newly recognized, high-affinity insulin-like growth factor II receptor in fetal and cancer cells. *Mol Cell Biol* 1999;19:3278-88.
35. Vella V, Pandini G, Sciacca L, et al. A novel autocrine loop involving IGF-II and the insulin receptor isoform-A stimulates growth of thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:245-54.
36. Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, et al. Diabetes and cancer: a consensus report. *CA Cancer J Clin* 2010;60:207-21.
37. Maddocks OD, Vousden KH. Metabolic regulation by p53. *J Mol Med (Berl)* 2011;89:237-45.
38. Ludovini V, Bellezza G, Pistola L, et al. High coexpression of both insulin-like growth factor receptor-1 (IGFR-1) and epidermal growth factor receptor (EGFR) is associated with shorter disease-free survival in resected non-small-cell lung cancer patients. *Ann Oncol* 2009;20:842-9.
39. Corbould A, Zhao H, Mirzoeva S, Aird F, Dunaif A. Enhanced mitogenic signaling in skeletal muscle of women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 2006;55:751-9.
40. Jones RG, Thompson CB. Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth. *Genes Dev* 2009;23:537-48.
41. Choo AY, Blenis J. Not all substrates are treated equally: implications for mTOR, rapamycin-resistance and cancer therapy. *Cell Cycle* 2009;8:567-72.
42. Kroemer G, Pouyssegur J. Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. *Cancer Cell* 2008;13:472-82.
43. Wullschlegel S, Loewith R, Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 2006;124:471-84.

44. Luo Z, Zang M, Guo W. AMPK as a metabolic tumor suppressor: control of metabolism and cell growth. *Future Oncol* 2010;6:457-70.
45. Shell SA, Lyass L, Trusk PB, Pry KJ, Wappel RL, Bacus SS. Activation of AMPK is necessary for killing cancer cells and sparing cardiac cells. *Cell Cycle* 2008;7:1769-75.
46. Fruman DA, Edinger AL. Cancer therapy: staying current with AMPK. *Biochem J* 2008;412:e3-5.
47. Hadad SM, Fleming S, Thompson AM. Targeting AMPK: a new therapeutic opportunity in breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;67:1-7.
48. Gottlieb E, Vousden KH. p53 regulation of metabolic pathways. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010;2:a001040.
49. Sokolosky ML, Stadelman KM, Chappell WH, et al. Involvement of Akt-1 and mTOR in Sensitivity of Breast Cancer to Targeted Therapy. *Oncotarget*.
50. Kinross KM, Brown DV, Kleinschmidt M, et al. In Vivo Activity of Combined PI3K/mTOR and MEK Inhibition in a KrasG12D;Pten Deletion Mouse Model of Ovarian Cancer. *Mol Cancer Ther*.
51. O'Regan R, Hawk NN. mTOR inhibition in breast cancer: unraveling the complex mechanisms of mTOR signal transduction and its clinical implications in therapy. *Expert Opin Ther Targets*;15:859-72.
52. Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, et al. Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *Aging (Albany NY)*;3:192-222.
53. Coutte L, Dreyer C, Sablin MP, Faivre S, Raymond E. PI3K-AKT-mTOR pathway and cancer. *Bull Cancer*.
54. Huang X, Wullschleger S, Shpiro N, et al. Important role of the LKB1-AMPK pathway in suppressing tumorigenesis in PTEN-deficient mice. *Biochem J* 2008;412:211-21.
55. van Veelen W, Korsse SE, van de Laar L, Peppelenbosch MP. The long and winding road to rational treatment of cancer associated with LKB1/AMPK/TSC/mTORC1 signaling. *Oncogene*;30:2289-303.
56. Zhou J, Huang W, Tao R, et al. Inactivation of AMPK alters gene expression and promotes growth of prostate cancer cells. *Oncogene* 2009;28:1993-2002.
57. Fogarty S, Hardie DG. Development of protein kinase activators: AMPK as a target in metabolic disorders and cancer. *Biochim Biophys Acta*;1804:581-91.
58. Zhou H, Huang S. mTOR signaling in cancer cell motility and tumor metastasis. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2010;20:1-16.
59. Foster KG, Fingar DC. Mammalian target of rapamycin (mTOR): conducting the cellular signaling symphony. *J Biol Chem* 2010;285:14071-7.
60. Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraros C, del Barco S, Martin-Castillo B, Menendez JA. mTOR inhibitors and the anti-diabetic biguanide metformin: new insights into the molecular management of breast cancer resistance to the HER2 tyrosine kinase inhibitor lapatinib (Tykerb). *Clin Transl Oncol* 2009;11:455-9.
61. Guertin DA, Sabatini DM. Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell* 2007;12:9-22.
62. Souza EC, Ferreira AC, Carvalho DP. The mTOR protein as a target in thyroid cancer. *Expert Opin Ther Targets*.
63. Mabuchi S, Hisamatsu T, Kimura T. Targeting mTOR Signaling Pathway in Ovarian Cancer. *Curr Med Chem*;18:2960-8.
64. Advani SH. Targeting mTOR pathway: A new concept in cancer therapy. *Indian J Med Paediatr Oncol*;31:132-6.
65. Carew JS, Kelly KR, Nawrocki ST. Mechanisms of mTOR inhibitor resistance in cancer therapy. *Target Oncol*;6:17-27.
66. Zakikhani M, Dowling R, Fantus IG, Sonenberg N, Pollak M. Metformin is an AMP kinase-dependent growth inhibitor for breast cancer cells. *Cancer Res* 2006;66:10269-73.

67. Wysocki PJ, Wierusz-Wysocka B. Obesity, hyperinsulinemia and breast cancer: novel targets and a novel role for metformin. *Expert Rev Mol Diagn*;10:509-19.
68. Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F. Metformin: a therapeutic opportunity in breast cancer. *Clin Cancer Res*;16:1695-700.
69. Green AS, Chapuis N, Lacombe C, Mayeux P, Bouscary D, Tamburini J. LKB1/AMPK/mTOR signaling pathway in hematological malignancies: From metabolism to cancer cell biology. *Cell Cycle*;10.
70. Vucicevic L, Misirkic M, Janjetovic K, et al. Compound C induces protective autophagy in cancer cells through AMPK inhibition-independent blockade of Akt/mTOR pathway. *Autophagy*;7:40-50.
71. Rattan R, Giri S, Hartmann LC, Shridhar V. Metformin attenuates ovarian cancer cell growth in an AMP-kinase dispensable manner. *J Cell Mol Med*;15:166-78.
72. Zakikhani M, Blouin MJ, Piura E, Pollak MN. Metformin and rapamycin have distinct effects on the AKT pathway and proliferation in breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*;123:271-9.
73. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsiachlis PN, Struhl K. Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Res* 2009;69:7507-11.
74. Martin-Castillo B, Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraros C, Menendez JA. Metformin and cancer: doses, mechanisms and the dandelion and hormetic phenomena. *Cell Cycle*;9:1057-64.
75. Malki A, Youssef A. Antidiabetic drug metformin induces apoptosis in human MCF breast cancer via targeting ERK signaling. *Oncol Res*;19:275-85.
76. Gotlieb WH, Saumet J, Beauchamp MC, et al. In vitro metformin anti-neoplastic activity in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2008;110:246-50.
77. Rattan R, Graham RP, Maguire JL, Giri S, Shridhar V. Metformin suppresses ovarian cancer growth and metastasis with enhancement of cisplatin cytotoxicity in vivo. *Neoplasia*;13:483-91.
78. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. *Cancer Res*;71:3196-201.
79. Liu J, Li M, Song B, et al. Metformin inhibits renal cell carcinoma in vitro and in vivo xenograft. *Urol Oncol*.
80. Oliveras-Ferraros C, Vazquez-Martin A, Menendez JA. Genome-wide inhibitory impact of the AMPK activator metformin on [kinesins, tubulins, histones, auroras and polo-like kinases] M-phase cell cycle genes in human breast cancer cells. *Cell Cycle* 2009;8:1633-6.
81. Jiralerspong S, Palla SL, Giordano SH, et al. Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:3297-302.
82. Liu B, Fan Z, Edgerton SM, et al. Metformin induces unique biological and molecular responses in triple negative breast cancer cells. *Cell Cycle* 2009;8:2031-40.