

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Karsinoma kandung kemih (KKK) adalah keganasan paling umum pada saluran kemih dan salah satu kanker penyebab kematian pada pria dewasa. Data dari *Global Cancer Statistic* (GLOBOCAN) 2018 menempatkan kanker kandung kemih di peringkat ke-10 kanker dengan angka kejadian terbesar di seluruh dunia dengan perkiraan sekitar 549.000 kasus dan 200.000 kematian setiap tahunnya (Ferlay *et al.*, 2019). Terapi standar karsinoma kandung kemih saat ini adalah (Akbari *et al.*, 2008; Burger *et al.*, 2013; Ferlay *et al.*, 2019) kemoterapi kombinasi, tetapi responnya tidak bertahan lama dan tumor sering residif, karenanya diperlukan agen terapi baru yang efektif (Zhang *et al.*, 2013).

Pertumbuhan dan perkembangan sel kanker sangat bergantung pada siklus sel, proliferasi dan diferensiasi sel kanker. Siklus sel dan proliferasi sel kanker dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain *cyclin* D1, keluarga CDK, gen penekan tumor, apoptosis, serta metabolisme energi yang mendukung semua proses tersebut seperti AMPK, mTOR serta IGF 1R. Sel kanker mengonsumsi nutrisi berlebih dan mengalihkan nutrisi tersebut untuk mendukung proliferasi sel yang tinggi, karena itu jalur metabolisme harus menyiapkan keseimbangan proses biosintesis dengan produksi ATP yang cukup untuk mendukung pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel (Vander Heiden, 2011).

Sel KKK, seperti sel kanker lain, membutuhkan energi untuk metabolisme, sintesis protein dan proliferasi. Studi klinis telah menghubungkan perubahan meta-

bolisme seluruh tubuh dengan perkembangan kanker dengan hasil pengobatan yang buruk, seperti obesitas, hiperglikemia dan resistensi insulin, yang semuanya terkait dengan peningkatan risiko kanker pada pasien dengan kanker, namun peran perubahan metabolisme organisme pada tingkat sel dan pengaruhnya terhadap metabolisme sel kanker dan jumlah sel kanker masih kontroversial (Vander Heiden, 2011).

Sebagian besar KKK menunjukkan mutasi pada alel yang tersisa dapat menonaktifkan TP53 sehingga menyebabkan fungsi untuk menekan tumor hilang. Kerusakan DNA (p53 yang berubah) pada sel *urothelial* dapat menyebabkan ketidakselarasan fase S dan M siklus sel, mengakibatkan apoptosis (Mitra and Cote, 2009), demikian juga dengan *cyclin D1* yang sangat mempengaruhi siklus sel. *Cell line 5637* yang merupakan sel karsinoma *urothelial* kandung kemih *grade II* yang diperoleh dari *American Type Culture Collection (ATCC® HTB-9TM)* Manassas Virginia, mempunyai gen yang diekspresikan dan miRNA yang berbeda jalur fungsi dan jalur kanker yang terlibat (Xu *et al.*, 2015).

Mikro RNA atau miRNA memainkan peran penting dalam diferensiasi, pematangan, dan metabolisme sel dan efek berbagai obat, yang terbukti berperan dalam sintesis lipid, metabolisme, transportasi dan penyimpanan. Metformin menekan pematangan preadiposit manusia *in vitro* dan mengubah profil sel, termasuk miR-4257. *Down regulasi* miR-4257 terjadi signifikan pada *cell line 5637* KKK, yang menunjukkan berperan dalam tumorigenesis dan perkembangan tumor (Xu *et al.*, 2015). Banyak target dimiliki miR-4257, salah satunya mRNA IGF 1R (“Gene Set - hsa-miR-4257,” 2019), membuat miR-4257 menempel pada mRNA

IGF 1R, sehingga terjadi pembelahan dan penekanan proses translasi yang mengakibatkan penurunan protein IGF IR yang ada.

Metformin (N', N'-dimethylbiguanide) merupakan obat antidiabetes golongan *biguanide* dari agen hipoglikemik oral dan yang banyak digunakan kurang lebih 120 juta orang di dunia untuk pengobatan *diabetes mellitus* tipe 2 (Sahra *et al.*, 2010). Metformin, menarik perhatian pertama kali pada tahun 2005 yang tidak hanya dapat menekan kadar glukosa serum tetapi juga menekan kejadian berbagai kanker. Beberapa studi menunjukkan diabetes dapat meningkatkan angka kejadian kanker sebesar 35%, termasuk kanker kandung kemih. Pemberian antidiabetik oral ini dapat digunakan untuk mencegah kanker dan dapat mengurangi kematian akibat kanker di antara pasien diabetes. Hal tersebut merupakan gagasan baru penggunaan metformin untuk kanker kandung kemih (El-Arabey, 2017). Metformin dapat menghambat pertumbuhan berbagai sel kanker *in vitro* dan *in vivo*, termasuk kanker payudara (Anisimov *et al.*, 2005; Zakikhani *et al.*, 2006), kanker ovarium (Rattan *et al.*, 2011), kanker prostat (Sahra *et al.*, 2008) dan kanker pankreas (Kato *et al.*, 2016). Beberapa penelitian epidemiologi, hewan, dan sel tentang metformin sebagai anti-neoplastik, menunjukkan bahwa metformin secara langsung mempengaruhi proliferasi sel kanker (Sahra *et al.*, 2010).

Metformin banyak tersedia di pasaran dan berharga murah, sehingga memicu untuk dilakukan penelitian yang memanfaatkan metformin menjadi obat yang dapat digunakan untuk pengobatan kanker, disamping obat yang ada dan menjadi pilihan utama belum bisa memberikan hasil yang baik untuk penderita kanker kandung kemih. Zang *et al.*, menyatakan bahwa metformin dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kandung kemih (Zhang *et al.*, 2013).

Sebagian besar penelitian metformin juga menunjukkan bahwa metformin menekan pertumbuhan tumor dengan mengganggu metabolisme energi sel melalui jalur sumbu AMPK/mTOR (Ben Sahra *et al.*, 2010). Metformin menyebabkan peningkatan *AMP-activated protein kinase* (AMPK) dan menghambat *glukoneogenesis*, sehingga mengakibatkan kadar glukosa darah menurun, peningkatan sensitivitas insulin, dan penurunan insulin (Vander Heiden, 2011). Aktivasi AMPK ini dapat merangsang apoptosis sel melalui modulasi target *downstream* termasuk p53 dan hambatan pada mTOR (*Mammalian Target Of Rapamycin*) kompleks 1 (*mTORC1*) (Zheng *et al.*, 2012). Metformin juga menginduksi apoptosis dan mengganggu siklus sel pada G0/G1 atau fase S berhenti sementara pada tingkatan sel, dengan menurunkan protein *cyclin* D1 pada sel kanker (Sahra *et al.*, 2010). Metformin juga dapat menurunkan regulasi protein IGF IR. Reseptor *insulin-like growth factor* (IGF IR) yang mempunyai fungsi mempromosikan perkembangan dan progresivitas kanker dan berperan dalam mengintegrasikan sinyal nutrisi dan stres menjadi pergeseran energi dari proses anabolik (seperti pertumbuhan dan reproduksi) menuju keadaan katabolik serta mempertahankan responsnya (Hartog *et al.*, 2007).

Metformin dapat menghambat sel KKK melalui berbagai jalur antara lain: merangsang hambatan pertumbuhan sel, regulasi insulin dan glukosa, merangsang kematian sel, meningkatkan potensi sitotoksitas obat kemoterapi, perlindungan terhadap efek kerusakan DNA, dan efek autofagi. Berbagai alasan tersebut mengakibatkan metformin dieksplorasi untuk aktivitas anti-tumor, termasuk pada kandung kemih yang mendapatkan *IC50* metformin selama 24 jam sebesar 15 mM (Lumbangaol *et al.*, 2020) dan 48 jam (Zhang *et al.*, 2013). Uraian tersebut juga

menunjukkan metformin dapat menjadi kandidat potensial untuk pengembangan agen terapi baru untuk KKK. Mekanisme efek anti-kanker metformin pada karsinoma kandung kemih sayangnya belum terungkap dan belum sepenuhnya jelas, sehingga perlu diselidiki pada *cell line* 5637 karsinoma kandung kemih.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dari penelitian ini, maka rumusan masalah yang diajukan pada penelitian ini sebagai berikut :

1. Apakah terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat meningkatkan regulasi ekspresi relatif miR-4257 pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih?
2. Apakah terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat meningkatkan ekspresi protein AMPK pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih?
3. Apakah terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat menurunkan ekspresi protein IGF 1R pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih?
4. Apakah terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat meningkatkan ekspresi protein p53 *wild* pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih?
5. Apakah terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat menurunkan ekspresi protein *cyclin* D1 pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih?

6. Apakah terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat menurunkan viabilitas pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih?
7. Bagaimana mekanisme hubungan antara miR-4257, ekspresi protein AMPK, IGF 1R, p53 *wild*, *cyclin* D1 dan viabilitas pada pemberian metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan umum

Menjelaskan mekanisme kerja metformin 15 mM sebagai anti kanker yang diberikan pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih.

#### 1.3.2 Tujuan khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah :

1. Membuktikan terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat meningkatkan regulasi ekspresi relatif miR-4257 pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih.
2. Membuktikan terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat meningkatkan ekspresi protein AMPK pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih.
3. Membuktikan terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat menurunkan ekspresi protein IGF 1R pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih.

4. Membuktikan terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat meningkatkan ekspresi protein p53 *wild* pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih.
5. Membuktikan terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat menurunkan ekspresi protein *cyclin* D1 pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih.
6. Membuktikan terapi metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam dapat menurunkan viabilitas pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih.
7. Menganalisis mekanisme hubungan antara miR-4257, ekspresi protein AMPK, IGF 1R, p53 *wild*, *cyclin* D1 dan viabilitas pada pemberian metformin 15 mM 24 jam dan 48 jam pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1 Manfaat teoritik**

Temuan pada penelitian ini memberikan kontribusi keilmuan berupa informasi ilmiah baru efek pemberian metformin 15 mM pada *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih selama 24 jam dan 48 jam serta mekanisme kerjanya sebagai antikanker dalam menghambat pertumbuhan *cell line* 5637 karsinoma *urothelial* kandung kemih yang dapat bermanfaat untuk penanggulangan kanker kandung kemih.

#### 1.4.2 Manfaat praktis

Hasil temuan pada penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar literatur dan acuan untuk dilanjutkan sampai tingkat uji klinis lengkap kepada penderita dan diharapkan berguna untuk pengobatan kanker kandung kemih yang diperlukan masyarakat.