

Penggunaan Khelator Besi dalam Terapi

The Use of Iron Chelator in Cancer Therapy

Isnatin Miladiyah

Department of Pharmacology, Islamic University of Indonesia School of Medicine,
Jogjakarta

Abstract

Iron is essential for numerous crucial biochemical reactions ranging from cellular respiration in mitochondria to DNA synthesis. Neoplastic cells have a high iron requirement because of their rapid rate of proliferation. The close linkage between cell proliferation and iron lead to suggestion that iron deprivation could be a useful strategy for inhibition of tumor cell growth. In vitro and in vivo studies showed that iron chelator desferrioxamine (DFO) that has been traditionally used in the treatment of iron overload, showed ability to limit growth of tumor cells. Iron chelators demonstrated ability to inhibit tumor cell growth by their activity to induce apoptosis and inhibit cell cycle progression, particularly the G₁/S transition. This article reviews role of iron in carcinogenesis and mechanism of actions of iron chelators in the treatment of cancer.

Keywords: carcinogenesis, iron, iron chelator, terapi kanker

Abstrak

Besi berperan dalam berbagai reaksi biokimia penting mulai dari respirasi seluler di mitokondria sampai sintesis DNA. Sel-sel neoplasma membutuhkan besi dalam jumlah besar karena pertumbuhannya cepat. Hubungan erat antara proliferasi sel dengan besi menimbulkan pemikiran bahwa pengurangan kadar besi mungkin dapat menjadi salah satu strategi dalam menghambat pertumbuhan tumor. Khelator besi desferrioksamin (DFO) yang secara tradisional telah digunakan secara luas untuk terapi keracunan besi ternyata mampu menghambat pertumbuhan berbagai sel kanker baik *in vitro* maupun *in vivo*. Khelator besi mampu menghambat pertumbuhan tumor melalui induksi apoptosis dan hambatan pada siklus sel terutama pada fase G₁/S. Tulisan ini bertujuan untuk menelaah lebih lengkap mengenai peran besi dalam proses karsinogenesis dan bagaimana mekanisme kerja khelator besi dalam terapi kanker.

Kata kunci: besi, karsinogenesis, khelator besi, terapi kanker

Pendahuluan

Besi merupakan kofaktor dalam berbagai proses biokimia penting misalnya transfer elektron untuk sintesis ATP dalam mitokondria, transfer oksigen oleh hemoglobin, bahkan aktivasi ribonukleotid reduktase (RR), yaitu enzim penting yang merupakan penentu laju sintesis DNA.¹ Jadi

dapat dipahami bahwa besi merupakan unsur penting yang terlibat dalam berbagai reaksi biokimia penting mulai dari respirasi seluler sampai sintesis DNA.

Meskipun besi sangat penting bagi kehidupan, namun apabila jumlahnya dalam tubuh berlebihan dapat timbul toksisitas yang menyebabkan penyakit. Misalnya

pasien yang mendapatkan transfusi darah berulang akan menyebabkan besi tertimbun dalam organ-organ vital dan cepat menimbulkan kematian karena gagal jantung. Besi yang berlebih juga merupakan mediator radikal bebas yang terlibat dalam beberapa patologi penyakit, di antaranya penyakit jantung iskemik dan kanker.²

Adanya tumor maligna yang diinduksi besi pertama kali dilaporkan pada tahun 1959, pada injeksi intramuskuler kompleks besi dekstran secara berulang pada tikus. Beberapa tahun kemudian ditemukan kejadian sarkoma pada pasien yang mendapat preparat besi. Sejak tahun 1980an, banyak studi epidemiologis baik prospektif maupun retrospektif menunjukkan bukti adanya hubungan antara paparan besi berlebihan dengan peningkatan risiko kanker.³ Dengan berbagai latar belakang tersebut, maka saat ini pengurangan kadar besi merupakan salah satu strategi untuk menghambat pertumbuhan tumor dan caranya adalah dengan mengikat besi menggunakan khelator besi.⁴ Tulisan ini bertujuan untuk mengupas mengenai peran besi dalam kejadian kanker dan penggunaan khelator besi dalam terapi kanker termasuk mekanisme kerja dan macam-macam khelator besi yang saat ini banyak dikembangkan.

Diskusi Peran besi dalam kejadian kanker

Kanker kolorektal. Telah banyak penelitian epidemiologis yang mempelajari hubungan antara paparan besi eksogen (besi dalam diet) dan besi endogen (simpanan besi dalam tubuh) dengan risiko kanker kolorektal. Kira-kira tiga perempat dari studi tersebut mendukung bukti bahwa besi meningkatkan risiko kanker kolorektal dan ada korelasi positif antara keduanya. Selain itu simpanan besi tubuh yang berlebihan terkait erat dengan timbulnya lesi prekanker kolon, adenoma, dan polip kolon³. Diduga besi yang berlebihan yang tidak diabsorpsi usus akan meningkatkan produksi radikal bebas dalam usus hingga mencapai kadar yang dapat menyebabkan kerusakan mukosa. Penelitian pada tikus

menunjukkan bahwa suplementasi besi berlebihan dapat menurunkan aktivitas enzim *Mn-superoxide dismutase* dalam mitokondria, meningkatkan peroksidasi lipid dan pembentukan radikal bebas dalam kolon dan sekum. *Mn-superoxide dismutase* berfungsi mempertahankan anion superoksid dan H₂O₂ dalam kadar normal pada kondisi fisiologis.^{3,5} Penelitian selama follow-up 14 tahun terhadap 41.276 pasien menunjukkan bahwa pasien dengan saturasi transferrin >60% (normalnya 32%) insidensi kejadian kanker kolorektal 3 kali lebih tinggi.⁶

Kanker hati. Hati merupakan organ utama untuk penyimpanan dan metabolisme besi. Sampel jaringan hati pasien hemokromatosis menunjukkan kadar besi yang tinggi dibandingkan dengan jaringan hati normal. Adanya akumulasi besi yang berlebihan dalam hepatosit ini dikaitkan dengan patologi hepatoseluler di antaranya fibrosis, sirosis, dan hepatoma. Secara singkat dapat dikatakan bahwa apabila terjadi timbunan besi berlebihan di hepar, maka timbul fibrosis. Apabila berlanjut, fibrosis menyebabkan sirosis meskipun mekanismenya belum diketahui dengan pasti. Timbulnya sirosis meningkatkan risiko hepatoma sampai 200 kali daripada tanpa sirosis.³ Dalam suatu penelitian longitudinal retrospektif yang mengukur kadar ferritin serum pada 249 pasien dengan infeksi virus Hepatitis B kronis di Seoul National University Hospital, analisis multivariat menunjukkan bahwa kadar ferritin tinggi dalam jangka waktu lama (>300 mg/ml) secara signifikan terkait erat dengan karsinoma hepatoseluler. Laki-laki dengan infeksi virus Hepatitis B kronis dan kadar ferritin serum >300 mg/ml kemungkinan menderita karsinoma hepatoseluler 50%, sedangkan apabila kadar ferritin serum normal risikonya hanya 20%.⁵

Kanker ginjal. Ginjal merupakan salah satu organ utama untuk metabolisme besi. Beberapa penelitian menunjukkan peningkatan risiko kanker ginjal pada pekerja industri besi dan baja. Misalnya penelitian *multicenter population-based case control* internasional menemukan

risiko relatif kejadian kanker ginjal pada pekerja industri besi dan baja sebesar 1,6 (95% confidence interval 1,2-2,2). Hasil ini menunjukkan bahwa faktor pekerjaan dapat menjadi salah satu etiologi kejadian karsinoma sel ginjal.³

Kanker paru dan lambung. Diduga besi merupakan salah satu bahan karsinogenik utama yang terdapat dalam udara inhalasi sehingga meningkatkan risiko kanker paru pada pekerja industri besi dan baja. Peningkatan risiko kanker lambung diperkirakan karena ingesti debu yang mengandung inhalan yang sama, dari sistem respirasi ke dalam lambung.³ Penelitian selama *follow up* 14 tahun terhadap 41.276 pasien dengan kadar saturasi transferrin >60% (normalnya 32%), insidensi kanker paru 1,5 kali lipat dibandingkan normal⁶. Besi saat ini banyak diteliti sebagai salah satu target dalam terapi kanker karena peran pentingnya dalam sisi aktif banyak enzim, termasuk enzim untuk sintesis DNA yaitu ribonukleotid reduktase (RR). Enzim RR ini berperan mengkatalisis reduksi ribonukleotida menjadi deoksiribonukleotida, yaitu langkah pertama dalam sintesis DNA.⁷ Enzim RR terdiri dari 2 subunit yaitu R1 yang berfungsi untuk mengikat ribonukleotida dan sebagai sisi efektor allosterik, sedangkan subunit R2 mengandung radikal tirosil bebas yang distabilkan oleh besi (Fe). Besi dalam subunit R2 inilah yang penting untuk aktivitas katalitiknya dan merupakan target beberapa obat kemoterapi.⁸

Mekanisme karsinogenesis oleh besi

Mekanisme molekuler karsinogenesis oleh besi diduga melalui beberapa hal berikut ini:

Kerusakan oksidatif oleh besi. Dalam sistem biologis, besi yang berikatan dengan khelator berat molekul rendah seperti sitrat atau ATP dapat menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) melalui reaksi Fenton (pembentukan hidrogen peroksida/H₂O₂) atau reaksi Haber-Weiss (pembentukan superoksida). Biomolekul yang menjadi target ROS adalah lipid, protein, dan DNA. ROS yang dihasilkan

oleh besi ini secara spesifik merupakan target beberapa *tumor suppressor gen*.³ Sebenarnya hidrogen peroksida itu sendiri tidak toksik, namun apabila bergabung dengan besi maka akan mengalami reaksi Fenton sehingga dihasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif dan merusak DNA⁹. Besi, terutama dalam ikatan non-protein dan bentuk berat molekul rendah, bereaksi dengan H₂O₂ dalam inti sel sehingga menghasilkan radikal hidroksil, akibatnya terjadi peroksidasi lipid dan timbul kerusakan DNA. Oleh karena itu pembentukan radikal bebas ini diyakini bersifat mutagenik dan karsinogenik.¹⁰

Faktor transkripsi yang responsif terhadap oksidatif oleh besi. Karena ROS dari besi dapat secara langsung mengenai DNA, diduga besi dapat menginduksi jalur signaling awal yang dapat memodulasi aktivitas beberapa faktor transkripsi yang peka terhadap oksidatif, misalnya aktivator protein-1 (AP-1).³

Besi mengaktivasi NF-κB (nuclear factor kappa-B). Besi intraseluler berperan dalam aktivasi suatu faktor inti sel yang disebut NF-κB (*nuclear factor kappa-B*), yaitu faktor transkripsi prototipik pada sel-sel eukariotik yang berfungsi dalam transaktivasi promotor gen untuk inflamasi, respon imun, dan mekanisme anti-apoptotik.¹¹ NF-κB berperan dalam berbagai fungsi seluler, di antaranya regulasi siklus sel dan ekspresi gen imunoglobulin, dan bekerja sebagai signal antiapoptotik.¹² Aktivasi NF-κB dikaitkan dengan hambatan apoptosis melalui aktivasi transkripsional berbagai gen dan induksi proliferasi sel melalui interaksi dengan cyclin D, salah satu famili cyclin yang berperan dalam regulasi siklus sel. Aktivasi NF-κB ini juga menyebabkan transformasi sel.¹³

Penurunan daya tahan tubuh. Besi yang berlebihan dalam tubuh menurunkan daya tahan tubuh melalui penghambatan aktivitas limfosit CD4 dan supresi aktivitas tumorisidal makrofag.¹⁴

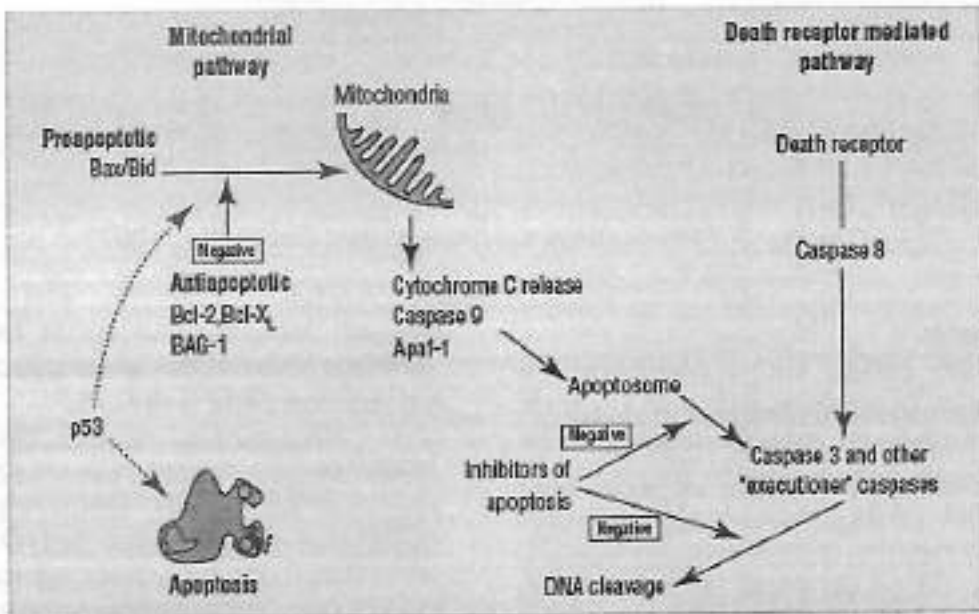
Produksi asam nukleat virus. Besi meningkatkan produksi asam nukleat virus dalam sel pejamu, yang diduga terlibat dalam perkembangan beberapa jenis kanker.¹⁴

Khelator besi dalam terapi kanker

Sel-sel kanker umumnya mempunyai kadar reseptor transferin (TfR1) pada permukaan sel lebih tinggi dibandingkan dengan sel normal dan ambilan terhadap besi lebih tinggi. Kebutuhan sel kanker terhadap besi yang tinggi ini ditunjukkan dengan kenyataan bahwa beberapa antibodi yang dapat menghambat pengikatan transferrin ke sel kanker akan menghambat ambilan besi dan pertumbuhan tumor.^{4,8} Oleh karena itu

pengurangan kadar besi dengan obat-obat khelator besi/pengikat besi (*iron chelator*) merupakan salah satu strategi yang ditujukan untuk menghambat perkembangan tumor. Diharapkan dengan mengikat Fe, maka pembentukan deoksiribonukleotida dari ribonukleotida terhambat sehingga sintesis DNA terganggu dan sel tidak dapat menyelesaikan siklusnya.¹⁵

Mekanisme penghambatan pertumbuhan tumor karena khelator besi diduga melalui mekanisme berikut ini: *Induksi apoptosis*. Skema apoptosis dapat dilihat pada Gambar 1 berikut ini



Gambar 1. Skema apoptosis (diambil dari Parton, dkk, 2001)

Penjelasan:

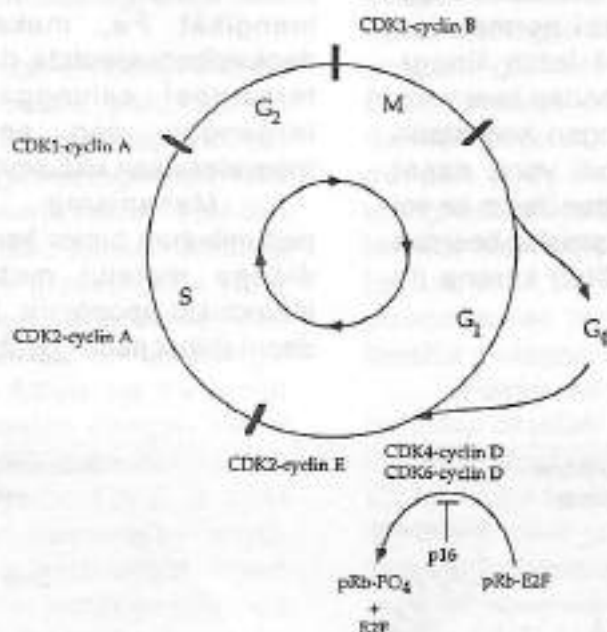
Dalam jalur mitokondria, sebagai *death factor* adalah Bax dan Bid, yang akan meningkatkan permeabilitas mitokondria dan pelepasan sitokrom c. Faktor *survival* sel Bcl-2, Bcl-X_L, dan BAG-1 menghambat aksi Bax dan Bid pada mitokondria. Suatu mediator apoptosis yang disebut dengan Apaf-1, bersama dengan sitokrom c, akan bergabung dengan caspase 9 (disebut dengan apoptosom) dalam sitoplasma dan memulai aktivasi. Apoptosom ini mengawali kaskade caspase efektor, termasuk caspase 3, 6, dan 7. Caspase 3 yang aktif

akan mengaktifasi faktor fragmentasi DNA dan memacu pemecahan DNA internukleosomal. Jalur *death receptor* dipicu oleh anggota dari superfamili *death receptor* misalnya CD95 dan reseptor *tumor necrosis factor*. Pembentukan kompleks signaling ini menginduksi aktivasi caspase 8 dan kaskade caspase.¹⁶

Beberapa khelator besi dapat menginduksi apoptosis dengan cara memacu pelepasan sitokrom c dan aktivasi terhadap kaskade caspase, baik caspase-9, -8, maupun -3. Jadi apoptosis yang terjadi bisa melalui jalur mitokondria atau

death receptor. Proses apoptosis karena khelator besi ini dapat tergantung pada p53 atau tanpa p53.

Penghambatan pada siklus sel. Skema siklus sel dapat dilihat pada Gambar 2 berikut ini.



Gambar 2. Skema siklus sel (diambil dari Collin, dkk, 1997)

Penjelasan:

Dalam setiap siklus pembelahan, kromosom bereplikasi satu kali (sintesis DNA atau fase S), menghasilkan sel anak yang identik secara genetik (mitosis atau fase M). Ada jeda waktu antara pertumbuhan dan reorganisasi (fase gap G₁ dan G₂). Siklus sel dapat terhenti setelah pembelahan, memasuki keadaan G₀. Perkembangan selama siklus sel ini diregulasi oleh aktivasi berbagai kompleks *cyclin dependent kinase (cdk)-cyclin*.¹⁷

Ada beberapa kelompok cyclin yang telah diidentifikasi dan diberi nama cyclin A sampai J. Perkembangan sel menuju fase G₁ pada siklus sel dipengaruhi oleh cyclin D, E, dan A; perkembangan menuju fase S terutama dipengaruhi oleh cyclin A; sedangkan fase G₂ dan M terutama dipengaruhi oleh cyclin B.¹⁵ Penghambatan pada siklus sel karena khelator besi disebabkan karena:

Hambatan pada enzim RR yaitu pada subunit R2 sehingga aktivitasnya menurun. Penurunan aktivitas RR inilah yang menyebabkan reduksi ribonukleotida

menjadi deoksiribionukleotida terhambat, sehingga sintesis DNA terganggu dan siklus sel tertahan pada fase G₁/S.

Khelator besi menurunkan ekspresi molekul-molekul penting yang terlibat dalam regulasi siklus sel, terutama cyclin-dependent protein kinase (cdk).

Penelitian mengenai pengaruh khelator besi terhadap siklus sel menunjukkan bahwa penghambatan siklus sel bisa terjadi pada fase yang berbeda-beda, tergantung pada tipe sel kanker dan konsentrasi serta lamanya paparan terhadap khelator besi. Misalnya sel-sel neuroblastoma dapat tertahan pada fase G₁ akhir, sedangkan sel kanker payudara akan mengalami hambatan pada fase transisi G₁/S. Efek ini terjadi melalui penghambatan cyclin A dan atau induksi pada cdk.¹⁸

Pembentukan radikal bebas yang merusak DNA sel tumor. Penelitian terhadap khelator besi derivat ortho-fenantrolin yaitu bis(4,7-dimetil-1,10-fenantrolin) sulfatooxovanadium (IV) atau METVAN menunjukkan bahwa senyawa ini menyebabkan pembentukan *reactive*

oxygen species (ROS), deplesi glutation, dan depolarisasi membran mitokondria.¹⁹ Senyawa 1,10-fenantrolin dengan garam vanadium lainnya yaitu bis(peroxo)vanadium (V) fenantrolin menyebabkan peroksidasi lipid dan pemisahan rantai DNA juga melalui pembentukan ROS dari reduksi intraseluler, namun mekanisme pembentukan ROS dan pemisahan DNA itu sendiri sampai saat ini juga belum diketahui dengan pasti.²⁰ Khelator besi dapat dibedakan menjadi empat kelas berdasarkan perbedaan sifat permeabilitasnya ke dalam membran sel

(lipofilisitas) dan afinitas pengikatannya, apakah afinitasnya lebih besar terhadap Fe(II) atau Fe(III).²¹ Sifat lipofilisitas dikaitkan dengan kemampuan khelator besi dalam hal permeabilitasnya ke dalam sel dan mencapai target *iron pool*-nya. Sedangkan afinitas pengikatan terhadap Fe(II) atau Fe(III) dikaitkan dengan selektivitas dan keamanannya secara biologis. Klasifikasi khelator besi berdasarkan perbedaan sifat permeabilitas membran (lipofilisitas) dan afinitasnya terhadap Fe dapat dilihat dalam Tabel 1 berikut ini

Tabel 1. Sifat-sifat khelator besi²²

Klas	Permeabilitas membran	Afinitas pengikatan utama		Contoh
		Fe(II)	Fe(III)	
I	+	+	-	PIH, L1, DFO
II	-	+	-	DTPA, EDTA
III	-	-	+	BPS
IV	+	-	+	DP

Keterangan:

Fe: besi, +: positif, -: negatif; PIH: pyridoxal isonicotinoyl hydrazone; L1: 1,2-dimethyl-3-hydroxy-pyrid-4-one; DFO: desferrioksamin; DTPA: diethylenetriaminepenta-acetic-acid; EDTA: ethylenediaminetetra-acetic acid; BPS: bathophenanthroline disulphonic acid; DP: alpha alpha-dipyridyl.²¹

Beberapa khelator besi yang sudah diteliti adalah:

Desferrioksamin (DFO). Merupakan khelator besi alami karena diisolasi dari *Streptomyces pilosus*, dan saat ini telah digunakan secara luas untuk mengatasi keracunan besi misalnya pada hemokromatosis. Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa selain dapat memobilisasi besi intraseluler, DFO juga berefek antiproliferatif dan memacu apoptosis. DFO terbukti mampu menghambat pertumbuhan tumor pada tikus yang diimplantasi dengan sel-sel

karsinoma hepatoseluler. Secara signifikan, DFO menyebabkan penurunan pertumbuhan tumor sampai 60%.³ Penelitian *in vitro* lanjutan dan uji klinik menunjukkan bahwa DFO berefek sitotoksik kuat terhadap sel-sel neuroblastoma, leukemia, dan limfoma. Khelator besi ini juga terbukti mampu menahan siklus sel pada transisi fase G₁/S.^{4,15} Meskipun DFO tampaknya menjanjikan sebagai khelator besi yang dapat digunakan dalam terapi kanker, namun sayangnya sampai saat ini masih mempunyai banyak kerugian yang membatasi penggunaannya sebagai antikanker. Di antaranya adalah biaya tinggi, waktu paruh dalam plasma singkat, permeabilitas membran terbatas, absorpsi dari usus buruk, dan perlu penggunaan jangka panjang secara sub kutan yaitu selama 12-24 jam/hari selama 5-6 kali/minggu.^{8,15} DFO termasuk khelator besi kelas I, yaitu membran permeabel dan afinitasnya terutama terhadap Fe(III).

Khelator ini dapat menghambat proliferasi sel dan ambilan Fe pada sel-sel hepatoma.^{21,22}

O-Trensox (TRX). Merupakan senyawa sintetik larut air, dapat mengikat baik Fe(II) maupun Fe(III) dan Zn(II), namun tidak menginduksi kerusakan radikal. TRX bersifat inhibitor poten terhadap proliferasi sel HepG2 (sel karsinoma hati) dengan menurunkan replikasi DNA dan aktivitas mitosis, serta menghambat siklus sel pada fase G₁ dan G₂. TRX juga menginduksi apoptosis pada sel HepG2 melalui aktivasi caspase-3. Aktivitas penghambatan proliferasi dan induksi apoptosis pada sel HepG2 karena TRX ini saling independen atau tidak tergantung satu sama lain.¹⁸

PIH (pyridoxal isonicotinoyl hydrazone). Termasuk khelator besi klas I, sifatnya membran permeabel dan lipofilik, afinitasnya terutama terhadap Fe(II). Khelator ini mampu menghambat proliferasi sel dan ambilan Fe dari transferin dalam hepatosit. Saat ini telah banyak disintesis analog PIH, dan efek antiproliferasinya bahkan lebih kuat daripada PIH itu sendiri. Sebagian besar analog PIH efektif dalam mencegah ambilan Fe dari transferin, memobilisasi Fe dari sel-sel yang sudah dilabel. Beberapa analog mampu menginduksi apoptosis, di antaranya analog PIH 206 yang dapat menginduksi apoptosis pada sel neuroblastoma (SK-N-MC) setelah pemberian selama 48 jam.^{21,22} Analog PIH 311 menghambat pertumbuhan sel leukemia CCRF-CEM, dengan besar efek tergantung pada dosis dan lama paparan, demikian juga terhadap sel kanker payudara, kandung kemih, dan tumor kepala dan leher. Aktivitas sitotoksik 311 lebih poten daripada DFO, dan dapat menghambat baik sel kanker hemopoetik maupun non hemopoetik. Aktivitas induksi apoptosis 311 ini tidak tergantung pada p53.²³

Tachpyridine (N, N', N''-tris(2-dipyridylmethyl)-cis, cis-1,3,5-triaminocyclohexane). Tachpyridine (tachpyr) merupakan molekul lipofilik sehingga mampu menembus membran biologis, dan bereaksi dengan Fe(III) sehingga menghasilkan suatu kompleks tachpyr-Fe(II) melalui suatu proses redoks

yang mengoksidasi tachpyr. Efek sitotoksik tachpyr lebih kuat daripada DFO, ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ yang lebih rendah. Hal ini mungkin karena permeabilitasnya lebih baik daripada DFO sehingga mampu mencapai *pool* besi intraseluler lebih baik. Dengan demikian, tachpyr dapat menghambat sintesis feritin karena translasi mRNA feritin diregulasi oleh besi intraseluler yang dapat dihelasi.²⁴ Penelitian lain menunjukkan bahwa efek sitotoksik dan antiproliferatif tachpyr melalui induksi apoptosis tanpa tergantung p53. Karena lebih dari 50% kanker mengalami gangguan pada p53, maka kemampuan tachpyridine untuk menginduksi apoptosis tanpa melalui p53 ini merupakan keuntungan dan bermanfaat dalam terapi kanker.⁴ Tachpyridine mampu mengaktifkan banyak jalur caspase baik caspase yang berperan dalam jalur mitokondria (caspase 8) maupun jalur *death receptor* (caspase 9), juga caspase 3 yang berfungsi sebagai caspase eksekutor.²³

Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone). Saat ini triapine sudah memasuki uji klinik fase I sebagai antikanker, dengan mekanisme kerja sebagai inhibitor RR. Efektivitas triapine 2 kali lebih besar daripada DFO, namun lebih rendah daripada 311. Triapine juga dapat memobilisasi Fe dari sel.⁵ Beberapa bukti menunjukkan bahwa kompleks triapine-Fe bekerja melalui redoks aktif, yaitu: (a) triapine meningkatkan hidrosilasi benzoat dengan adanya Fe(II), (b) triapine meningkatkan oksidasi askorbat dengan adanya Fe(III), (c) dengan adanya Fe(II), triapine menghasilkan degradasi DNA plasmid bahkan dalam konsentrasi rendah sekali pun, (d) inkubasi dengan triapine menghasilkan penurunan GSH tereduksi dalam sel.⁵

L1 (1,2-dimethyl-3-hydroxy-pyrid-4-one). Merupakan khelator besi klas I, bersifat lipofilik dan membran permeabel, dan afinitasnya terhadap Fe(III) lebih besar daripada terhadap Fe(II). L1 lebih efektif daripada DFO dalam hal hambatan terhadap proliferasi seluler. Pada kondisi tertentu, L1 dapat menggeser Fe secara langsung dari transferin dan mengikat Fe

dari *pool* Fe intraseluler pada sel melanoma, juga dapat menggeser Fe dari feritin.^{21,22} Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa L1 dapat menyebabkan potensiasi atau hambatan pada pembentukan radikal bebas, tergantung pada rasio L1:besi. L1 baru berefek antikanker apabila rasio L1:besi lebih besar daripada 3:1; apabila konsentrasi L1 lebih rendah maka justru akan mempotensiasi kerusakan DNA dan memacu progresivitas tumor.¹⁰

Dipyridyl (DP). Termasuk khelator besi klas IV. Afinitasnya terutama terhadap Fe(II) dan bersifat membran permeabel sehingga akses terhadap *pool* besi intraseluler besar, mampu menghambat proliferasi sel dan ambilan Fe pada sel hepatoma dan leukemia. Efek sitotoksik DP terjadi melalui induksi pemecahan rantai DNA. Pada sel hepatoma, DP menyebabkan hambatan sintesis selama fase S. Selain efektif terhadap sel hepatoma, DP juga aktif terhadap sel retikulosit dan sel-sel eritrolekemia, dan bekerja dengan penghambatan parsial pada proses endositosis dan daur ulang Fe.^{21,22} DP dapat memutus ambilan Fe normal dengan mempengaruhi siklus transferin dan kemungkinan dengan mengikat Fe(II).²¹ Analog di-2-pyridylthiosemicarbazone (DpT) dapat menginduksi apoptosis dan menghambat pertumbuhan karsinoma paru *in vivo* sampai 47% dibandingkan dengan kontrol. Aktivitas ini tidak disertai dengan gangguan hematologi sistemik bermakna, sehingga dapat dikatakan bahwa khelator ini selektif. Selain menghambat pertumbuhan tumor, DpT juga menginduksi pelepasan Fe dan mencegah ambilan Fe. Aktivitas khelasi ini setara dengan 311 dan lebih besar daripada DFO. Derivat dipyridyl menunjukkan bahwa khelator besi meningkatkan pelepasan sitokrom c dari mitokondria, dan hal ini terjadi bersamaan dengan aktivasi caspase-3, -8, dan -9. Pada saat pelepasan sitokrom c ini juga terjadi peningkatan ROS.²⁵

BPS (bathophenanthroline disulphonate). Merupakan derivat orthophenanthroline, termasuk khelator besi klas III yang bersifat membran impermeabel

dan afinitasnya terutama terhadap Fe(II). Terapi dengan BPS menunjukkan adanya hambatan dalam transpor elektron transplasma, yaitu dengan menghambat NADH ferisianid reduktase dan NADH oksidase dalam membran plasma.²⁶ Sistem transpor elektron trans-plasma yang berfungsi untuk mengoksidasi NADH sitosolik berkaitan erat dengan stimulasi proliferasi sel. Karena sistem ini terletak di permukaan sel dan dapat dihambat oleh BPS yang sifatnya impermeabel, maka diduga di lokasi inilah terjadi khelasi besi oleh BPS.^{21,26}

DTPA (diethylenetriaminepenta-acetic-acid) dan EDTA (ethylenediaminetetra-acetic acid). Kedua khelator ini serupa baik dalam struktur maupun sifatnya, dan termasuk dalam khelator besi klas II, yaitu membran impermeabel dan sama-sama dapat mengikat Fe(II) dan Fe(III), meskipun afinitas terhadap Fe(III) lebih besar. Keduanya dapat menurunkan ambilan Fe namun tidak mampu menggeser Fe dari transferin.^{21,22} DTPA mampu menghambat proliferasi sel-sel TA3H2 tanpa menghambat RR. DTPA juga dapat menghambat pertumbuhan sel Chang pada konsentrasi 6 mM namun tanpa mempengaruhi sintesis DNA atau *pool* dATP atau dTTP, yang menunjukkan bahwa penetrasinya ke dalam sel rendah.²⁶ Aktivitas DTPA lebih besar daripada EDTA, kemungkinan karena DTPA juga dapat mengikat kation lain yang penting dalam proliferasi sel, yaitu Zn(II) dan Ca(II). Pada pH 7,4, DTPA dan EDTA membentuk spesies ionik yang berbeda dalam larutan. Dengan demikian bentuk DTPA pada pH fisiologis menjadikan DTPA sebagai khelator besi yang lebih efektif dalam mengikat Fe yang terlibat dalam pembelahan sel.^{21,22}

Parabactin. Termasuk khelator besi lipofilik dengan afinitas terutama terhadap Fe(III). Parabactin merupakan khelator besi yang dapat menghambat pertumbuhan tumor melalui hambatan terhadap enzim RR, yaitu pada gugus radikal bebas tirosil pada subunit R2. Efek penghambatan pada R2 ini mungkin karena parabactin dapat menggeser Fe secara pasif dari mediumnya, yang akan mencegah

pembentukan gugus radikal besi, bukan dengan secara aktif membuang Fe dari gugus besi pada protein (ferritin atau transferrin).⁷

Saat ini pengembangan khelator besi lebih ditekankan pada kemampuannya mengikat Fe(III) daripada Fe(II). Semakin besar afinitas suatu khelator besi terhadap Fe(III), maka dikatakan lebih selektif dan lebih aman.^{21,27} Khelator yang secara spesifik berikatan dengan Fe(III) dan bersifat membran permeabel, maka dapat mencegah fungsi besi-radikal tirosil dalam enzim RR dengan mengikat gugus besi.²⁸ Obat kemoterapi yang bermanfaat dalam klinik adalah yang selektif, yaitu mampu membunuh atau menghambat tumor namun efek terhadap sel normal rendah. Dalam hal ini khelator besi dianggap cukup selektif, misalnya penggunaan triapine, DFO dan 311 yang selektif terhadap neuroepithelioma SK-N-MC, namun tidak banyak berpengaruh terhadap fibroblas. Aktivitas antiproliferatif terhadap fibroblas jauh lebih rendah. Bahkan khelator besi 311 dan triapine kurang berefek antiproliferatif terhadap sel-sel progenitor sumsum tulang dibanding dengan cisplatin dan doksorubisin.⁸

Kesimpulan

Peran kunci besi dan protein besi (transferrin, ferritin) dalam proliferasi sel memungkinkan besi menjadi salah satu target potensial dalam terapi kanker. Beberapa strategi untuk mengurangi kadar besi maupun menurunkan kadar protein besi terbukti mampu menghambat proliferasi sel tumor. Khelator besi bersifat menginduksi apoptosis dan antiproliferatif, sehingga menghambat pertumbuhan tumor dan bermanfaat dalam terapi kanker. Selektivitas khelator besi terhadap berbagai sel kanker tidak sama karena adanya perbedaan sifat, yaitu permeabilitas membran atau lipofilisitasnya dan afinitasnya terhadap besi, apakah afinitas lebih besar terhadap Fe(II) atau Fe(III).

Daftar Pustaka

1. Yoon G., Kim H.J., Yoon Y.S., Cho H., Lim I.K, and Lee J.H. 2002. Iron

- chelation-induced senescence-like growth arrest in hepatocyte cell lines: association of transforming growth factor β 1 (TGF- β 1)-mediated p27^{Kip1} expression. *Biochem J* 366: 613-621
2. Andreau G.P., Delgado R., Velho J.A., Curti C., and Vercesi AE. 2005. Iron complexing activity of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthine, inhibits mitochondrial lipid peroxidation induced by Fe²⁺-citrate. *Eur J of Pharm* 513: 47-55
3. Huang X. 2003. Iron overload and its association with cancer risk in humans: evidence for iron as a carcinogenic metal. *Mutation Res* 533: 153-171
4. Abeysinghe R.D., Greene B.T., Haynes R., Willingham M.C., Turner J., Planalp R.P., Brechbiel M.W., Torti F.M., and Torti S.V. 2001. p53-independent apoptosis mediated by tachpyridine, an anticancer iron chelator. *Carcinogenesis* 22 (10): 1607-1614
5. Zhao Y dan Xu JX. 2004. The operation of alternative electron-leak pathways mediated by cytochrome c in mitochondria. *Biochem and Biophys Res Comm* 317: 980-987
6. Hann HMW. 2002. Prevention on Hepatocellular Carcinoma: antiviral therapy, preneoplastic markers and iron nutrition. *The Korean Journal of Gastroenterology* 39:105-109
7. Nyholm, S., Mann, G.J., Johansson, A.G., Bergeron, R.J., Graslund, A., and Thelander, L. 1993. Role of Ribonucleotide Reductase in Inhibition of Mammalian Cell Growth by Potent Iron Chelators. *J of Biol Chem* 268 (35): 26200-26205
8. Chaston T.B., Lovejoy, D.B., Watts, R.N., and Richardson D.R. 2003. Examination of the Antiproliferative Activity of Iron Chelators: Multiple Cellular Targets and the Different Mechanisms of Action of Triapine Compared with Desferrioxamine and the Potent Pyridoxal Isonicotinoyl Hydrazone Analogue 311. *Clin Cancer Res* 9: 402-414
9. Bouzyk E., Gradzka I., Iwanenko T., Kruszewski M., Sochanowicz B., and

- Szumiel I. 2000. The response of L5178Y lymphoma sublines to oxidative stress: Antioxidant defence, iron content and nuclear translocation of the p65 subunit of NF- κ B. *Acta Biochimica Polonica* 47 (4): 881-888
10. Cragg, L., Hebbel, R.P., Miller, W., Solovey, A., Selby, S., and Enright, H. 1998. The Iron Chelator L1 Potentiates Oxidative DNA Damage in Iron-Loaded Liver Cells. *Blood* 92 (2): 632-638
11. Xiong S., She H., Takeuchi H., Han B., Engelhardt J.F., Barton C.H., Zandi E., Giulivi C., and Tsukamoto H. 2003. Signaling Role of Intracellular Iron in NF- κ B Activation. *J of Biol Chem* 278 (20): 17646-17654
12. Sellers, W.R, and Fisher, D.E. 1999. Apoptosis and cancer drug targeting. *J of Clin Invest* 104 (12): 1655-1661.
13. Harris G.K, and Shi X. 2003. Signaling by carcinogenic metals and metal-induced reactive oxygen species. *Mutation Res* 533: 183-200
14. Simonart, T. 2004. Iron: a target for the management of Kaposi's sarcoma? *BMC Cancer* 4 (1)
15. Gao J. and Richardson D.R. 2001. The potential of iron chelators of the pyridoxal isonicotinoyl hydrazone class as effective antiproliferative agents, IV: the mechanisms involved in inhibiting cell-cycle progression. *Neoplasia* 98 (3): 842-850
16. Parton, M., Dowsett, M., and Smith, I. 2001. Studies of apoptosis in breast cancer. *BMJ* 322: 1528-1532
17. Collins K., Jacks T., and Pavletich N.P. 1997. The cell cycle and cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 2776-2778
18. Rakba, N., Loyer, P., Gilot, D., Delcros, J.G., Glaise, D., Baret, P., Pierre, J.L., Brissot, P., and Lescoat, G. 2000. Antiproliferative and apoptotic effects of O-Trensox, a new synthetic iron chelator, on differentiated human hepatoma cell lines. *Carcinogenesis* 21 (5): 943-951
19. Narla R.K., Chen C.L., Dong Y., and Uckun F.M. 2001. *In vivo* Antitumor Activity of Bis(4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline) Sulfatoxovanadium (IV) {METVAN [VO(SO₄)(Me₂-Phen)₂]}. *Clin Cancer Res* 7: 2124-2133
20. Sam M., Hwang J.H., Chanfreau G, and Abu-Omar M.M. 2004. Hydroxyl Radical is the Active Species in Photochemical DNA Strand Scission by Bis(peroxo)vanadium (V) Phenanthroline. *Inorg Chem* 43: 8447-8455
21. Kicic A., Chua ACG, and Baker E. 2001. Effect of Iron Chelators on Proliferation and Iron Uptake in Hepatoma Cell. *Cancer* 92 (12): 3093-3110
22. Kicic A., and Baker E. 1998. *The Effects of Iron Chelator Upon Cellular Proliferation and Iron Transport in Hepatoma Cells*. Presented at INABIS '98 – 5th Internet World Congress on Biomedical Sciences at McMaster University, Canada, Dec 7-16th. Invited Symposium.
23. Greene, B.T., Thorburn, J., Willingham, M.C., Thorburn, A., Planalp, R.P., Brechbiel, M.W., Jennings-Gee, J., Wilkinson IV, J., Torti, F.M., and Torti, S.V. 2002. Activation of Caspase Pathway during Iron Chelator-mediated Apoptosis. *J of Biol Chem* 277 (28): 25568-25575
24. Torti S.V., Torti F.M., Whitman S.P., Brechbiel M.W., and Planalp R.P. 1998. Tumor Cell Cytotoxicity of a Novel Metal Chelator. *Blood* 92 (4): 1384-1389
25. Yuan J., Lovejoy D.B., and Richardson D.R. 2004. Novel di-2-pyridyl-derived iron chelators with marked and selective antitumor activity: *in vitro* and *in vivo* assessment. *Blood* 104 (5): 1450-1458
26. Alcaín F.J., Low H., and Crane F.L. 1994. Iron reverses impermeable chelator inhibition of DNA synthesis in CCl 39 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 7903-7906
27. Planalp RP., Przyborowska AM., Park G., Ye N., Lu FH., Rogers RD., Broker GA., Torti SV., and Brechbiel MW. 2002. Novel cytotoxic chelators that bind iron(II) selectively over zinc(II) under aqueous aerobic conditions. *Biochem Soc Transactions* 30 (4): 758-762