



***1-hydroxymethyl Harmine-TGF β SF Inhibitor*: Inovasi Terapi Diabetes Melitus Terbaru Melalui Inisiasi Proses Regenerasi Sel β Pankreas pada Penderita DM Tipe 1 dan 2**

Ghea Mangkuliguna, Glenardi, Rexel Kuatama

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta

ABSTRAK

Latar Belakang: Diabetes Melitus (DM) tipe 1 maupun tipe 2 merupakan penyakit metabolik kronis yang paling banyak ditemukan di seluruh dunia. Walaupun memiliki proses patogenesis yang berbeda, namun kedua tipe DM ini ternyata memiliki kesamaan, yaitu terjadinya penurunan kuantitas sel β pankreas. Sayangnya, kemampuan regenerasi sel β pankreas manusia telah terhenti semenjak tahun pertama masa neonatal. Untuk menangani permasalahan tersebut, para peneliti menemukan sebuah molekul bernama *harmine* yang terbukti efektif menginisiasi proses regenerasi sel β pankreas. Selanjutnya, untuk meningkatkan efektifitas dari *harmine* agar lebih baik lagi, peneliti kemudian mengkombinasikan *harmine* dengan *TGF β SF inhibitor*. Sedangkan, untuk meningkatkan selektivitas dari *harmine*, peneliti menambahkan gugus 1-hidroksimetil pada molekul tersebut. **Tujuan:** Evaluasi potensi *1-hydroxymethyl harmine-TGF β SF inhibitor* sebagai terapi utama bagi semua penderita DM. **Metode:** Penelitian dilakukan dengan melakukan tinjauan pustaka dari beberapa *database* jurnal, yakni *PubMed*, *Google Scholar*, *ScienceDirect* dan *ProQuest* dengan kriteria literatur dipublikasikan dalam kurun waktu 2015-2019. **Pembahasan:** Studi literatur ini menunjukkan bahwa *harmine-TGF β SF inhibitor* telah terbukti mampu meningkatkan proliferasi sel β pankreas manusia hingga mencapai 18%/hari atau setara dengan 18 kali kecepatan embriogenesis pada sel normal. Selain itu, penambahan gugus 1-hidroksimetil pada *harmine* juga telah terbukti tidak hanya mampu meningkatkan selektivitas dari molekul tersebut, tetapi juga mampu menurunkan efek toksisitasnya, sehingga aman digunakan sebagai terapi anti-diabetes terbaru. **Kesimpulan:** *1-hydroxymethyl harmine-TGF β SF inhibitor* memiliki potensi yang menjanjikan untuk menjadi terapi baru bagi semua tipe penderita DM.

Kata Kunci: diabetes mellitus, *harmine*, proliferasi sel β , *TGF β SF inhibitor*

ABSTRACT

Background: Type 1 and 2 diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disease most commonly affects millions of people worldwide. Despite the differences in pathogenesis, both share one thing in common - that is the drastic depletion in the number of pancreatic β cells. Unfortunately, physiological proliferation of β cells has come to a halt starting from the first year of neonatal. To overcome this problem, researchers have been searching for molecules with the ability to induce β cells proliferation. Upon extensive screening, only *harmine* was proven to be the most potent β cells proliferation inducer. Furthermore, combination of *harmine* with *TGF β SF inhibitor* was found to boost *harmine*'s effectivity even more. Another development was also made to improve *harmine*'s selectivity by incorporating 1-hydroxymethyl group. **Objective:** Evaluate the potency of 1-hydroxymethyl *harmine-TGF β SF inhibitor* as a novel therapy for DM. **Method:** A systematic literature study was conducted with the database from Pubmed, Google Scholar, ScienceDirect, and Proquest for articles published within 2015-2019. **Discussion:** This literature review yields result that *harmine-TGF β SF inhibitor* is proven to induce β cells proliferation up to 18%/day or equal to 18 times the normal cell proliferation rate during embryogenesis. Moreover, incorporating 1-hydroxymethyl group into *harmine* is proven not only to improve selectivity but also lessen the toxicity, making 1-hydroxymethyl *harmine* safe as a novel therapy for diabetes. **Conclusion:** 1-hydroxymethyl *harmine-TGF β SF inhibitor* display promising potential as a novel therapy for all type of diabetes patients.

Keywords: diabetes mellitus, *harmine*, *TGF β SF inhibitor*, β cell proliferation

Received [01 May 2020] | Revised [24 Dec 2020] | Accepted [25 Dec 2020]

Corresponding author: Ghea Mangkuliguna

Corresponding author at: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta

Contact: mangkuligunaVG1402@yahoo.com

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa dalam darah atau keadaan hiperglikemia. Menurut *International Diabetes Foundation*, penyakit ini telah menjadi salah satu masalah kesehatan global yang paling mengkhawatirkan, karena telah menyerang lebih dari 463 juta orang pada tahun 2019.^[1] DM termasuk ke dalam 10 penyakit paling mematikan menurut *World Health Organization* karena telah menyebabkan kematian langsung pada 1,6 juta orang di seluruh dunia.^[2] Bahkan, Indonesia sendiri merupakan negara dengan kasus DM tertinggi ke-7 sedunia.^[1] Meskipun jumlah penderita DM terus meningkat setiap tahunnya, namun sampai saat ini belum ada terapi yang mampu menyembuhkan penyakit ini.^[3]

Selama beberapa dekade terakhir, berbagai macam terapi anti-diabetes telah berhasil dikembangkan. Namun, kebanyakan dari terapi anti-diabetes yang tersedia hanya mampu membantu mengontrol glukosa darah pasien, tetapi tidak menyembuhkan. Kebutuhan akan suatu terapi baru bagi para penderita DM telah menjadi suatu urgensi global yang harus segera ditangani. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, para peneliti kemudian mencoba berbagai cara untuk mengembangkan suatu terapi baru.^[1,2,3]

Beberapa tahun belakangan, para peneliti menemukan bahwa ternyata sel β pada pankreas dapat menjadi target terapi baru bagi obat-obat anti-diabetes. Menurut berbagai penelitian, terapi berbasis sel β pankreas ini tidak hanya mampu menjadi terapi yang efektif bagi penyakit DM tipe 1, tetapi juga pada DM tipe 2.^[4,5,6,7] Walaupun proses patogenesis DM tipe 1 dan 2 berbeda, namun ternyata kedua penyakit ini memiliki satu kesamaan dalam proses perkembangan penyakitnya, yaitu terjadinya penurunan yang drastis pada jumlah sel β . Sayangnya, ketika kita sudah mencapai kondisi tersebut tubuh kita tidak

dapat lagi diperbaikinya. Hal ini disebabkan karena kemampuan regenerasi sel β pankreas pada manusia yang telah terhenti semenjak kita melewati masa embriogenesis.^[5] Penurunan jumlah sel β pankreas ini sangatlah berbahaya karena jika tidak segera ditangani, pankreas akan kehilangan fungsinya untuk mensekresi insulin dan pada akhirnya dapat memperparah kondisi DM yang dapat berujung pada kematian.^[5,6]

Untuk menghindari terjadinya hal tersebut, para peneliti kemudian mulai mengembangkan dua jenis terapi regeneratif baru untuk sel β pankreas, yaitu terapi transplantasi dengan sel pendonor dan sel punca. Akan tetapi, kedua jenis terapi ini masih dinilai kurang memuaskan, karena belum dapat memperbaiki kondisi penderita DM secara konsisten.^[7] Selain itu, menurut berbagai penelitian, kedua jenis terapi ini juga dinilai kurang aman karena dapat menimbulkan beberapa risiko dan efek samping yang berbahaya, seperti timbulnya reaksi penolakan terhadap sel β pankreas pendonor dan tidak terkontrolnya diferensiasi sel punca yang pada akhirnya dapat menjadi sel kanker.^[7,8,9] Dengan permasalahan keamanan yang telah dihadapi pada 2 terapi ini, peneliti kemudian mulai mencari terapi lain yang tidak hanya mampu menginduksi proliferasi sel β pankreas secara efektif, tetapi juga aman.^[10]

Belakangan, peneliti telah menemukan sebuah terapi baru yang dapat digunakan untuk meningkatkan jumlah sel β pankreas secara efektif dan aman. Terapi baru ini mampu meregenerasi kembali jumlah sel β pankreas pada penderita DM dengan cara meningkatkan kecepatan replikasi sel β pankreas tersebut. Peningkatan kecepatan replikasi sel β pankreas tersebut dapat dicapai melalui bantuan stimulasi dari molekul-molekul tertentu. Molekul - molekul ini merupakan sebuah golongan molekul baru, yang telah ditemukan mampu menginisiasi proliferasi pada sel β pankreas.^[10,11,12] Dari berbagai molekul yang telah ditemukan, sebuah molekul kecil

bernama *harmine* merupakan molekul yang paling poten, karena telah menjadi satu-satunya molekul yang dapat menginduksi replikasi pada sel β pankreas secara cepat, aman, dan stabil.^[5,11,13,14]

Berbeda dengan molekul-molekul lainnya, *harmine* telah diuji coba secara *in vitro*, *in vivo* maupun *ex vivo* dan telah terbukti lebih unggul dari molekul-molekul lainnya dalam hal meningkatkan laju replikasi sel β pankreas.^[13,14] Kelompok sel β pankreas yang diterapi dengan *harmine* telah ditemukan memiliki laju replikasi yang sangat tinggi, yaitu 2,5-3 kali lipat lebih tinggi dibanding kelompok sel β pankreas yang diterapi dengan molekul-molekul lain.^[13] Selain itu, untuk meningkatkan efektivitas dari *harmine* agar lebih poten lagi, peneliti kemudian mengkombinasikan molekul ini dengan sebuah molekul baru berjenis *transforming growth factor beta superfamily* (TGF β SF) inhibitor.^[15,16] Kombinasi dari *harmine-TGF β SF inhibitor* telah terbukti mampu meningkatkan kecepatan replikasi sel β pankreas manusia hingga mencapai 18 kali lipat kecepatan sel normal.^[15] Dengan hasil penelitian yang mengagumkan tersebut, *harmine-TGF β SF inhibitor* telah menjadi molekul penginduksi proliferasi sel β pankreas yang terbaik pada saat ini.

Selanjutnya, untuk dapat meningkatkan selektivitas dari *harmine* agar lebih aman, peneliti kemudian menambahkan gugus 1-hidroksimetil pada cincin piridine molekul tersebut. Hasil dari penambahan gugus ini pun sangat memuaskan, dimana gugus 1-hidroksimetil tidak hanya terbukti mampu meningkatkan selektivitas dari *harmine*, tetapi juga mampu menurunkan efek toksisitasnya, sehingga aman digunakan sebagai terapi anti-diabetes terbaru.^[14] Pada studi literatur ini, kami akan menjabarkan kemampuan *1-hydroxymethyl harmine - TGF β SF inhibitor* dalam melakukan regenerasi sel β pankreas dan potensinya dalam menjadi terapi utama bagi semua penderita DM di dunia.

METODE

Metode penelitian dalam penulisan ini adalah studi literatur sistematis. Pencarian literatur didapat melalui sumber referensi dari *PubMed*, *ScienceDirect*, *Google Scholar*, dan *Proquest* dengan kriteria literatur dipublikasikan dalam kurun waktu lima tahun terakhir (2015 - 2019). Literatur dicari menggunakan kata kunci: *diabetes mellitus*, *β cell proliferation*, *harmine*, *TGF β SF inhibitor*. Kriteria inklusi dalam studi literatur ini adalah: (1) Penelitian yang membahas mengenai hubungan antara diabetes mellitus dengan disfungsi sel β pankreas; (2) Penelitian klinis mengenai potensi *harmine* sebagai molekul penginduksi proliferasi sel β pankreas; (3) Penelitian klinis mengenai kemampuan kombinasi *harmine* dan TGF β SF dalam menginduksi proliferasi sel β pankreas.; (4) Penelitian klinis mengenai optimalisasi *harmine* dengan gugus 1-hidroksimetil dalam rangka meningkatkan efektivitas dan selektivitas; (5) Literatur – literatur yang memenuhi kriteria, pertama kali ditinjau berdasarkan judul dan abstrak yang tertera. Kemudian pembahasan diperiksa lebih lanjut dengan membaca teks secara lengkap untuk dinilai kesesuaiannya dengan topik. Berdasarkan hasil peninjauan akhir, kami menyimpulkan terdapat 28 artikel yang sesuai dengan kriteria studi literatur ini.

PEMBAHASAN

Potensi Regenerasi Sel β pankreas sebagai Terapi Terbaru Bagi Penderita DM tipe 1 dan 2

Pada awalnya, DM tipe 1 maupun tipe 2 dianggap sebagai 2 jenis penyakit yang berbeda karena memiliki etiologi penyakit yang berbeda pula. Pada DM tipe 1, kondisi hiperglikemia disebabkan oleh kurangnya jumlah sel β pankreas akibat destruksi yang berlebihan oleh sistem imun tubuh penderita. Sedangkan pada DM tipe 2, kondisi hiperglikemia disebabkan oleh keadaan resistensi insulin dan ketidakmampuan sel β pankreas untuk

memenuhi kebutuhan hormon insulin tubuh.^[4] Namun ternyata menurut berbagai penelitian, kedua tipe penyakit DM ini pada akhirnya akan menyebabkan suatu kondisi yang sama, yaitu terjadinya kematian yang masif pada sel β pankreas akibat keadaan hiperglikemia yang dideritanya.^[4,5,8] Penelitian dari Chen dkk menunjukkan bahwa, jumlah sel β pankreas pada penderita DM telah terbukti dapat mengalami penurunan hingga 65% setelah menderita penyakit DM selama 5 – 10 tahun.^[4] Bukan hanya itu saja, kemampuan sekresi sel β pankreas yang masih tersisa pun juga ikut mengalami menurun.^[2,4,6] Chen dkk menyatakan bahwa kemampuan sekresi hormon insulin oleh sel β pankreas telah ditemukan menurun hingga 97% pada semua tipe penderita DM.^[4] Hal ini tentu sangat disayangkan, karena kemampuan regenerasi sel β pankreas pada manusia hampir tidak lagi terjadi setelah kita melewati masa embriogenesis. Padahal, para penderita DM justru memerlukan kemampuan regenerasi tersebut untuk dapat meningkatkan jumlah sel β pankreasnya.

Berangkat dari permasalahan tersebut, para peneliti kemudian mulai mengembangkan suatu terapi jenis baru yang bertujuan untuk meregenerasi jumlah sel β pankreas pada penderita DM. Pada awal perkembangannya, terdapat 2 jenis terapi regeneratif, yaitu terapi yang menggunakan sel β pankreas pendonor, dan terapi yang berbasis sel punca.^[6] Pada terapi regeneratif dengan metode transplantasi sel β pankreas pendonor, para penderita DM akan mendapatkan donor sel islet pankreas dari *cadaver*. Walaupun telah melewati uji pre-klinik sebelumnya, namun para peneliti menemukan bahwa terapi dengan metode ini masih dinilai kurang aman, karena masih terdapat banyak penderita DM yang mengalami reaksi penolakan setelah 1-12 bulan melakukan prosedur transplantasi ini.^[6,8] Selanjutnya pada terapi berbasis sel punca, para peneliti juga menemukan masalah keamanan yang bahkan lebih parah daripada terapi

sebelumnya. Pada terapi ini, molekul-molekul yang digunakan untuk menginduksi diferensiasi dari sel *human pluripotent stem cell-derived* (hPSC-derived) di pankreas telah terbukti mampu menginduksi proses diferensiasi dan proliferasi secara berlebihan, sehingga berisiko tinggi untuk mengubahnya menjadi sel kanker.^[6,8,9]

Oleh karena itu, para peneliti kemudian mulai mencari terapi regeneratif lain yang tidak hanya mampu menginduksi proliferasi sel β pankreas secara efektif, tetapi juga aman. Baru-baru ini, peneliti telah menemukan beberapa molekul yang telah terbukti mampu menginduksi proliferasi dari sel β pankreas secara aman dan efektif. Berbeda dari terapi-terapi sebelumnya, molekul pada terapi ini bekerja secara spesifik pada jalur-jalur transduksi sinyal pertumbuhan sel β pankreas dan mengaktifkannya.^[10,12] Akibatnya, molekul ini mampu menginduksi replikasi pada sel β pankreas yang masih tersisa dan meningkatkan jumlahnya pada penderita DM. Terapi regeneratif dengan kelompok molekul ini telah terbukti tidak hanya efektif dalam menginduksi proliferasi dari sel β pankreas, tetapi juga aman untuk diterapkan sebagai terapi anti-diabetes di masa yang akan datang.

***Harmine* sebagai Molekul Ampuh Penginduksi Proliferasi Sel Beta Pankreas**

Pada saat ini, terdapat beberapa jenis molekul kecil yang telah terbukti berhasil menginduksi proliferasi sel β pankreas, seperti WS6, 5-IT, *harmine*, GNF7156, GNF4877, osteoprotegerin (OPG), denosumab, dan serpin-b1.^[10,12] Namun setelah dilakukan beberapa studi lebih lanjut, sebuah molekul kecil bernama *harmine*-lah yang telah ditemukan paling efektif dan aman dalam menginduksi proliferasi sel β pankreas manusia.^[9,13,14,17,18] *Harmine* (7-methoxy-1-methyl-9H-pyrido[3,4-b]indole) merupakan senyawa golongan β -carboline

alkaloid yang banyak ditemukan pada ekstrak biji tanaman *Peganum harmala* di negara-negara Timur Tengah, Asia Tengah dan Amerika Selatan. Setelah diteliti lebih dalam, ternyata *harmine* memiliki kemampuan yang efektif dalam menginduksi proliferasi pada sel β di pankreas.^[11-14] Hal ini dapat terjadi, karena *harmine* merupakan inhibitor yang poten terhadap protein DYRK1a, yang merupakan regulator utama dalam jalur transduksi sinyal sel β pankreas. Pada DYRK1a kinase, *harmine* bekerja sebagai inhibitor kompetitif pada tempat pelekatan ATP. *Harmine* membentuk dua ikatan hidrogen dengan orientasi sedemikian rupa dengan rantai samping Lys188 dan backbone Leu241.^[13,14] Beberapa analog *harmine* seperti *harmane*, *norharmane*, *harmaline*, dan *harmalol* tidak memiliki kemampuan inhibisi DYRK1a. Hal ini dikarenakan kurangnya salah satu kelompok akseptor ikatan hidrogen (*harmane* dan *norharmane*) atau posisi akseptor ikatan hidrogen yang tidak sesuai (*harmaline* dan *harmalol*).^[13] Di kalangan analognya maupun senyawa inhibitor DYRK1a lainnya, *harmine* merupakan senyawa yang paling poten dan aman tersedia secara oral.^[14,19]

DYRK1a terlibat dalam transduksi sinyal Calcineurin-NFAT yang berujung pada proliferasi sel β . Sinyal proliferasi dari luar sel akan memicu influks kalsium ke dalam sel dan mengaktifkan calcineurin. Calcineurin yang aktif akan mendefosforilasi NFAT (*Nuclear Factor of Activated T cells*) dan mengaktifkannya. NFAT yang ter-defosforilasi akan bergerak menuju nukleus dan menjalankan ekspresi gen proliferasi. DYRK1a-lah yang berperan memfosforilasi kembali NFAT ke bentuk yang tidak aktif dan menghentikan sinyal proliferasi.^[9,10,13,23] Kemampuan menghambat DYRK1a membuat retensi NFAT yang teraktivasi sehingga ekspresi gen proliferasi seperti c-Myc terus aktif. Melalui mekanisme inilah, *harmine* berpotensi sebagai terapi induksi proliferasi sel β bagi penderita diabetes.^[9,10,13,14,17]

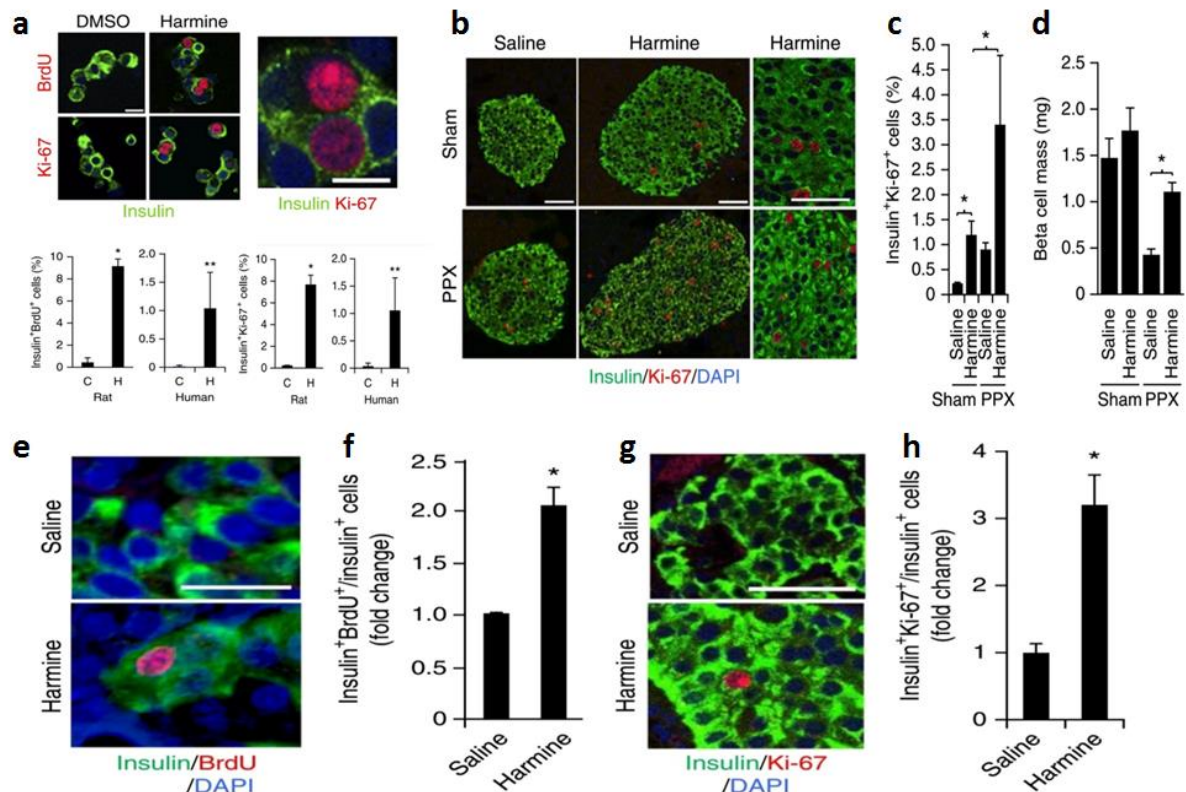
Harmine terbukti memiliki kemampuan yang luar biasa dalam menginduksi proliferasi sel β , baik pada manusia maupun hewan. Hal ini dapat dibuktikan dari beberapa hasil studi *in vitro*.^[11,13,14,17,18,24] Proliferasi sel β pankreas ditunjukkan dengan adanya peningkatan penanda proliferasi seperti BrdU⁺ dan Ki-67⁺. Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Wang dkk, *harmine* diketahui dapat meningkatkan proliferasi sel β pankreas hingga 8-9%/hari pada tikus dan 1%/hari pada manusia (Gambar 1a).^[13] Selain itu, penelitian serupa oleh Abdolazimi dkk^[24] juga mendukung hal yang sama. Bahkan, menurut penelitian *in vitro* terbaru oleh Villani dkk, *harmine* terbukti mampu menginduksi proliferasi sel β manusia hingga mencapai ~7%/hari.^[17]

Bukan hanya itu saja, *harmine* ternyata mampu menginduksi proliferasi sel β secara *in vivo* seperti yang ditunjukkan oleh mencit yang diberi perlakuan 60% *partial pancreatectomy* (PPX). Studi yang dilakukan oleh Wang dkk memperlihatkan bahwa pemberian *harmine* dapat meningkatkan proliferasi sel β pankreas mencit hingga 3.5%/hari (Gambar 1b-c).^[13] Efek lain yang tidak kalah penting adalah kemampuan *harmine* untuk mengembalikan massa sel β pankreas mendekati normal (Gambar 1d).^[13,25] Penelitian yang dilakukan oleh Dirice dkk juga menunjukkan hasil yang serupa.^[18] Ditambah lagi, *harmine* adalah molekul pertama yang terbukti mampu menginduksi proliferasi sel islet manusia yang ditransplantasikan pada mencit. Studi *ex vivo* oleh Wang *et al* menunjukkan bahwa proliferasi sel β manusia meningkat hingga 2-3 kali lipat dibandingkan kontrol dan bersifat konstan (Gambar 1e-h).^[13]

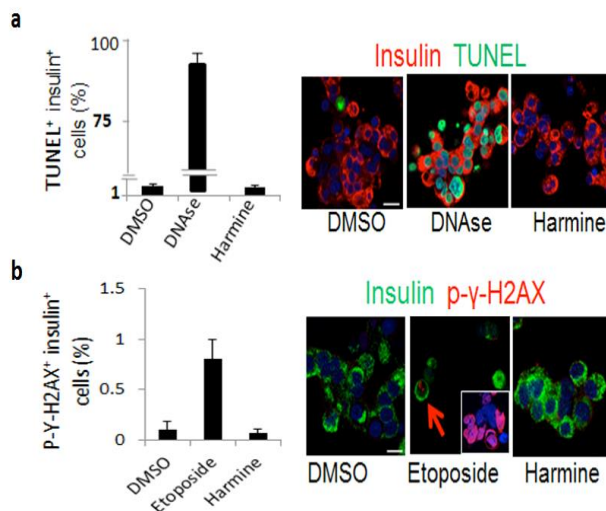
Harmine tidak hanya terbukti efektif dalam menginduksi proliferasi sel β pankreas dan menurunkan kadar glukosa darah pada penderita DM, tetapi senyawa ini juga aman dalam melakukan kerjanya. Pada uji *immunostaining* dengan biomarker *Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-mediated dUTP biotin nick end* (TUNEL)

dan *phospho- γ -H2AX*, yang merupakan biomarker untuk kerusakan DNA. Kelompok sel *islet* pankreas yang diterapi dengan *harmine* terbukti aman, karena tidak menimbulkan kerusakan apapun pada sel *islet* pankreas, yang dibuktikan dengan tidak ditemukannya TUNEL (Gambar 2a) dan *phospho- γ -H2AX* (Gambar 2b) pada

kelompok penelitian tersebut.^[13] Hal tersebut berbeda, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, yaitu pada kelompok DNase. Studi serupa juga menunjukkan kisaran dosis efektif *harmine* yang dapat menginduksi proliferasi sel β pankreas, yakni 1-10 μ M.^[13,14]



Gambar 1. Kemampuan *Harmin* untuk Menginduksi Proliferasi Sel β Pankreas secara (a) *In Vitro*, (b-d) *In Vivo*, dan (e-h) *Ex Vivo*.^[13]



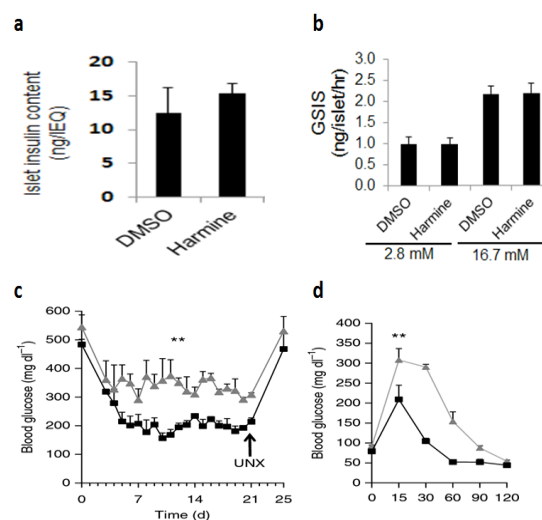
Gambar 2. Efek *Harmin* terhadap Kerusakan DNA pada sel *islet* manusia melalui (a) Uji TUNEL dan (b) *phospho- γ -H2AX*.^[13]

Potensi *Harmine* sebagai Obat Pilihan untuk Penderita Diabetes

Seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya, *harmine* terbukti dapat menginduksi proliferasi sel β pankreas *in vitro* dan *in vivo* sekaligus mengembalikan massa sel β pankreas menjadi normal. Oleh karena itu, *harmine* sangatlah menjanjikan untuk dijadikan obat anti-diabetes.

Penelitian *in vitro* dari Wang dkk menunjukkan bahwa *harmine* tidak hanya mampu menginduksi proliferasi sel β pankreas pada penderita DM, tetapi juga menghasilkan sel β pankreas baru yang fungsional. Hal ini ditandai dengan adanya peningkatan ekspresi biomarker pertumbuhan sel β pankreas, seperti *PDX1* dan *NKX6.1* sebesar 10 kali lipat lebih tinggi. Selain itu, ekspresi MAFA yang merupakan biomarker sekresi insulin juga mengalami peningkatan sebesar 7 kali lipat.^[13,17,26] Bahkan, penelitian lain yang dilakukan oleh Villani dkk dan Aamodt dkk juga menunjukkan bahwa sel β pankreas baru yang dihasilkan dari terapi juga ditemukan memiliki sekresi hormon insulin yang tidak jauh berbeda dengan sel β pankreas pada umumnya.^[11,17] Sel β pankreas yang baru ini terbukti sensitif terhadap rangsangan glukosa dan mampu mensekresikan hormon insulin sebesar ~1-2 kali lipat lebih tinggi dari kontrol untuk menurunkan kadar glukosa tersebut (Gambar 3a-b).^[13]

Bukti-bukti tersebut diperkuat oleh penelitian *in vivo* yang dilakukan oleh Wang dkk. *harmine* terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus DM dari rata – rata 500 mg/dL menjadi mendekati batas normal di 140 mg/dL. Hasil tersebut dapat dicapai hanya dalam waktu 10 hari pemberian *harmine* 10 mg/kg dan dapat terus dipertahankan secara stabil selama diberikan *harmine* dalam 21 hari percobaan (Gambar 3c). Bukan hanya itu saja, *harmine* juga terbukti mampu menurunkan glukosa darah *postprandial* tikus DM dari 200 mg/dL menjadi 100 mg/dL hanya dalam waktu 15 menit setelah pemberian senyawa ini (Gambar 3d).^[13]



Gambar 3. Kemampuan Sel β Pankreas Baru dalam (a,b) Mensekresikan Hormon Insulin dan (c,d) Menurunkan Glukosa Darah.^[13]

Keunggulan lainnya yang dimiliki *harmine* sebagai terapi anti-diabetes adalah tidak munculnya efek samping onkogenik. Hal ini didukung oleh beberapa hal. Pertama, peningkatan ekspresi c-Myc yang diinduksi *harmine* berada dalam batas wajar. Peningkatan ekspresi c-Myc hingga 50-150 kali lipat dilaporkan berdampak pada resiko munculnya tumor yang ditandai dengan berbagai kematian sel beta.^[22] Disisi lain, studi dari Wang dkk melaporkan bahwa *harmine* hanya mengakibatkan ekspresi c-Myc sebanyak 2 kali lipat.^[13] Kedua, secara fisiologis, sel beta hanya berproliferasi pada tahun pertama masa neonatal. Persentase jumlah proliferasi sel beta yang diinduksi *harmine* (1-1.5%) juga sama dengan proliferasi fisiologis saat masa awal neonatal.^[11] Ketiga, *harmine* tidak ditemukan menimbulkan kerusakan DNA dan de-diferensiasi sel beta.^[13] Hal-hal ini mengurangi risiko timbulnya mutasi dan pertumbuhan sel yang tidak wajar.

Kombinasi *Harmine* dan inhibitor TGF- β SF meningkatkan kemampuan proliferasi sel beta secara signifikan

Seperti yang sudah dipaparkan sebelumnya, inhibisi DYRK1a dengan *harmine* telah berhasil meningkatkan laju

proliferasi sel β yang sama seperti pada masa awal neonatal.^[13,14] Meskipun penemuan ini sudah menjadikan *harmine* berpotensi sebagai terapi anti-diabetes, ternyata penggunaan *harmine* dengan *transforming growth factor β superfamily* (TGF β SF) inhibitor telah dilaporkan menghasilkan efek proliferasi sel β yang jauh lebih tinggi lagi.^[15]

Ada beberapa alasan TGF β SF inhibitor dipilih sebagai target terapi untuk kerja sinergis dengan *harmine*. Pertama, jalur TGF β SF-SMAD sendiri sebenarnya merupakan jalur transduksi sinyal yang berperan penting dalam meregulasi proses mitogenesis sel β pankreas pada manusia. Aktivasi jalur TGF β SF-SMAD akan menyebabkan meningkatnya aktivitas gen-gen tertentu, seperti CDKN2B, CDKN2A, CDKN1C, dan CDKN1A. Peningkatan aktivitas gen – gen tersebut, akan meningkatkan pula ekspresi protein-protein yang berperan sebagai inhibitor siklus sel, seperti p21CIP, p57KIP, p15INK4, dan p16INK4a. Dengan demikian, inhibisi dari jalur TGF β SF-SMAD akan menyebabkan penurunan protein – protein inhibitor tersebut sehingga siklus sel dapat tetap berjalan dan laju replikasi sel β pankreas pun ikut meningkat.^[16]

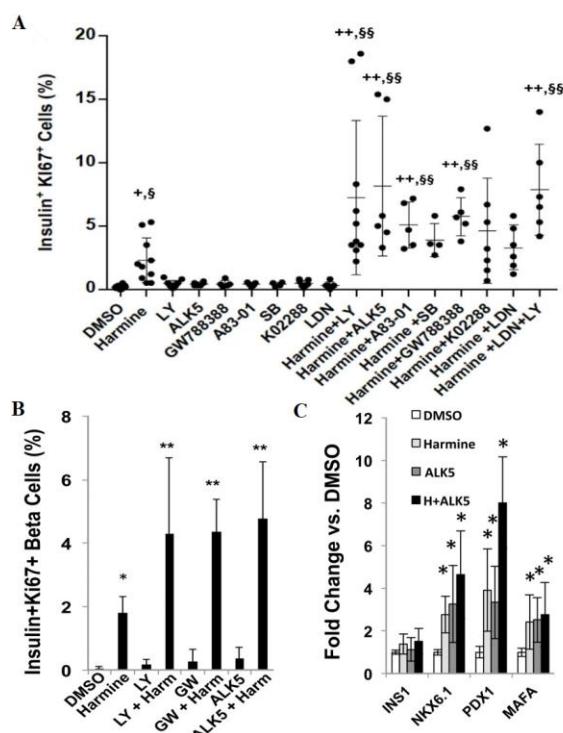
Tingginya kemampuan *harmine-TGF β SF inhibitor* disebabkan karena kedua molekul tersebut dapat berkerja secara bersinergi.^[15] Pada penjelasan sebelumnya, *harmine* bekerja dengan menghambat DYRK1a, diikuti dengan retensi NFAT yang terus menerus mengaktifkan berbagai siklin, cdk, dan berbagai aktivator siklus sel.^[9,10,13,23] Secara bersamaan, inhibisi TGF β SF mengakibatkan penurunan jumlah penghambat siklus sel seperti CDKN1A pengkode p21CIP, CDKN1C pengkode p57KIP, and CDKN2B pengkode p15INK4.^[15,16] *Harmine* sendiri memiliki efek represi terbatas pada penghambat siklus sel. Kehadiran inhibitor TGF β SF yang menurunkan ekspresi berbagai penghambat siklus sel melengkapi kinerja *harmine* yang meningkatkan ekspresi

aktivator siklus sel. Pada akhirnya laju proliferasi sel beta dapat meningkat secara drastis.^[15]

Alasan kedua adalah karena uji *fluorescence-activated cell sorting* (FACS) telah menunjukkan bahwa TGF β SF banyak diekspresikan pada isolasi sel beta manusia. Hal ini membuat TGF β SF dapat menjadi target terapi yang efektif karena jumlah dan perannya yang besar dalam sel beta manusia.^[15,16]

Ketiga, penggunaan kombinasi *harmine-TGF β SF inhibitor* seperti LY364947, ALK5, and GW788388 telah menunjukkan peningkatan yang besar terhadap proliferasi sel β secara *in vitro*. Studi yang dilakukan Peng Wang dkk menunjukkan bahwa kombinasi *harmine* dengan *TGF β SF inhibitor* telah berhasil menginduksi proliferasi sel β pankreas manusia hingga mencapai 18%/hari. Hal ini berbeda jauh dengan terapi tunggal *harmine* yang memiliki rerata proliferasi sebanyak 2%/hari (Gambar 4a). Selanjutnya, *harmine-TGF β SF Inhibitor* juga telah menunjukkan hasil yang memuaskan pada uji coba *in vitro* dengan sel β pankreas manusia penderita DM. Pada penelitian ini, *harmine-TGF β SF Inhibitor* terbukti berhasil menginduksi proliferasi sel β pankreas penderita DM hingga mencapai 5%/hari. Hasil tersebut lebih tinggi dari terapi tunggal *harmine* yang hanya mampu menginduksi sekitar 1,8%/hari (Gambar 4b).^[15]

Harmine-TGF β SF Inhibitor tidak hanya mampu menginduksi proliferasi sel β pankreas pada penderita DM, tetapi juga sel β pankreas yang dihasilkan dari terapi tersebut telah ditemukan memiliki kemampuan sekresi hormon insulin yang sangat baik dan tidak berbeda dengan sel β pankreas normal. Hal tersebut dapat dilihat dengan tingginya ekspresi dari protein-protein biomarker bagi maturasi dan kemampuan sel β pankreas, yaitu *PDX1*, *NKX6.1*, *INS1* dan *MAFA* (Gambar 4c).^[15,26]



Gambar 4. Perbandingan *Harmine*, Berbagai Inhibitor TGF β SF, dan Kombinasi Keduanya terhadap Ekspresi Ki67 $^{+}$ pada (a) Sel β Normal dan (b) Sel β Penderita DM Tipe 2; (c) Peningkatan jumlah marker dan faktor transkripsi sel beta pada paparan kombinasi *Harmine*-ALK5.^[15]

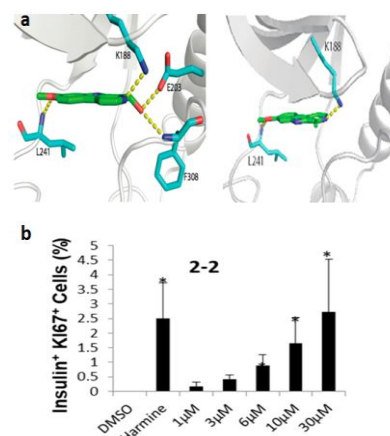
Keempat, penggunaan kombinasi *harmine*-TGF β SF inhibitor juga dilaporkan tidak menghasilkan kerusakan DNA, dediferensiasi sel β , ataupun kematian sel β sehingga menghilangkan risiko onkogenik akibat induksi proliferasi.^[15]

Optimalisasi *Harmine* melalui Hidroksilasi Gugus Metil pada Cincin Piridine

Setelah membuktikan *harmine* sebagai molekul yang poten untuk menginduksi proliferasi sel, peneliti berupaya untuk melakukan optimalisasi pada *harmine* dengan tujuan untuk mendapatkan hasil yang lebih efektif dan selektif. Berdasarkan data penelitian dari Bálint dkk, modifikasi *harmine* melalui hidroksilasi gugus metil pada cincin piridine dapat menginhibisi DYRK1a.^[27] Seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya, *harmine* berikatan dengan DYRK1a hanya melalui Leu241 dan

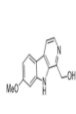
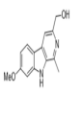
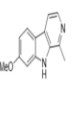
Lys188. Studi yang dilakukan oleh Kumar dkk berhasil menunjukkan adanya residu pada DYRK1a yang dapat menjadi tempat berikatan tambahan, seperti Glu203 dan Phe308. Diketahui bahwa kedua residu ini berada pada sisi DYRK1a yang berhadapan dengan posisi 1 dari *harmine*.^[14] Atas dasar inilah, maka peneliti gencar melakukan beberapa modifikasi pada posisi 1 *harmine* dan pada tahun 2018 silam, peneliti berhasil menemukan senyawa turunan *harmine*, 1-*hydroxymethyl harmine* yang jauh lebih poten dan selektif dibandingkan molekul awal.

Penambahan gugus hidroksimetil pada posisi 1 *harmine* membawa efek yang sangat luar biasa. Hal ini hanya dapat tercapai karena penambahan gugus 1-hidroksimetil menyebabkan kerangka awal berputar 180° secara horizontal sehingga dapat membentuk dua buah ikatan hidrogen baru dengan Glu203 dan Phe308, yang semula tidak dapat dijangkau oleh *harmine* (Gambar 5a).^[14,27] Perbedaan inilah yang menyebabkan 1-*hydroxymethyl harmine* memiliki selektivitas yang sangat baik. Studi yang dilakukan oleh Kumar dkk, 1-*hydroxymethyl harmine* (10 μ M) memperlihatkan profil kinome yang sangat baik ditunjukkan dari berkurang jauhnya tingkat inhibisi pada jalur DYRK1B, CSNK1G2, CSNK2A1, HIPK2, HIPK3, IRAK1, IRAK3, dan VPS3 (Tabel 1).^[14]



Gambar 5. (a) Ikatan antara 1-*hydroxymethyl Harmine* dan DYRK1a (kiri) serta *Harmine* dan DYRK1a (kanan); (b) Kemampuan 1-*hydroxymethyl Harmine* dalam Menginduksi Proliferasi Sel β Pankreas Manusia.^[14]

Tabel 1. Perbandingan Profil Kinome *Harmine* dan *1-hydroxymethyl Harmine*.^[14]

Target			
	2-2	2-8	Harmine
CDK11	98	4.8	83
CDK7	27	0.65	21
CDK8	94	0	55
CDK5	100	6.1	100
CIT	44	8.1	29
CLK1	3.5	7.2	0.35
CLK2	5.5	1.8	2.4
CLK4	17	5	13
CSNK1A1	10	7.8	15
CSNK1D	17	8	13
CSNK1E	6.5	1	1.7
CSNK1G2	30	18	19
CSNK1A1	34	8.3	11
CSNK2A2	37	2.3	23
DAPK1	85	8.8	78
DAPK2	80	2.8	72
DAPK3	81	1.4	69
DRAK2	88	11	73
DYRK1A	0	0	0
DYRK1B	66	0.35	6.1
DYRK2	6.5	4.1	3.2
HASPIN	4.8	0.75	2
HIPK1	30	2.7	21
HIPK2	30	1.3	8.6
HIPK3	21	2.1	9.4
IRAK1	32	18	17
IRAK3	39	70	15
PIKACB	3.7	19	12
PIM1	65	19	45
PIM2	58	4.7	39
PP2C	28	5	36
RPS6KA4(Kin.Dom.2-C-terminal)	54	1	40
TGFBR2	91	17	78
VPS34	53	28	13



Selain meningkatkan selektivitas, *1-hydroxymethyl harmine* juga tidak mengurangi potensi *harmine* dalam menginduksi sel β pankreas. Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Bálint dkk dan Kumar dkk, *1-hydroxymethyl harmine* terbukti mampu menghambat DYRK1a hanya dengan IC₅₀ 55 nM dan mencapai tingkat proliferasi sel β hingga >2.5%, setara dengan kemampuan *harmine* pada konsentrasi yang sama (Gambar 5b).^[14,27] Molekul ini juga sangat aman dikarenakan menurunkan toksisitas pada sel *islet* pankreas lainnya.^[13,14]

Semua bukti-bukti yang dipaparkan menunjukkan bahwa optimalisasi melalui penambahan gugus 1-hidroksimetil memungkinkan *harmine* untuk bekerja tepat pada sasarannya dalam menginduksi proliferasi sel β pankreas manusia secara poten.

KESIMPULAN

Selama beberapa dekade terakhir, pengobatan yang tersedia bagi para penderita DM telah dinilai kurang maksimal dalam melakukan kerjanya. *Harmine* telah terbukti secara *in vitro*, *in vivo*, maupun *ex vivo* dapat menginduksi proliferasi pada sel β pankreas. Bukan hanya itu saja, dalam penerapannya sebagai terapi anti-diabetes, *harmine* telah terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah ke batas normal, hanya dalam waktu yang singkat. Selain itu, *harmine* juga telah terbukti aman dan selektif dalam melakukan kerjanya, terutama setelah dilakukan penambahan gugus 1-hidroksimetil pada struktur kimianya. Kombinasi *harmine* dengan *TGF β SF inhibitor* juga telah membuat efektifitas molekul ini menjadi sangat baik, bahkan yang terbaik di terapi sekelasnya. Dengan segala keunggulan yang dimiliki, dapat disimpulkan bahwa *1-hydroxymethyl harmine - TGF β SF inhibitor* memiliki potensi yang menjanjikan untuk menjadi terapi baru bagi semua penderita DM tipe 1 maupun tipe 2.

SARAN

Penemuan *harmine* sebagai molekul yang dapat menginduksi proliferasi sel β pankreas masih tergolong sangat baru. Kami menyarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut berkaitan dengan topik ini, terutama mengenai kombinasi *1-hydroxymethyl harmine - TGF β SF inhibitor* sebagai terapi anti-diabetes terbaru. Selain itu, kami juga menyarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode pemberian atau *drug delivery system* yang efektif bagi kombinasi molekul ini, agar dapat bekerja dengan efektif dan menjadi terapi utama bagi para penderita DM di masa yang akan datang.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 9th ed. Brussels. Belgium: International Diabetes Federation; 2019. <http://www.diabetesatlas.org>
- [2] World Health Organization. Global report on diabetes. Geneva: World Health Organization; 2016.
- [3] Basu S, Yudkin JS, Kehlenbrink S, Davies JI, Wild SH, Lipska KJ, Sussman JB, Beran D. Estimation of global insulin use for type 2 diabetes. 2018–30: a microsimulation analysis. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2019 Jan 1;7(1):25–33. doi: [10.1016/S2213-8587\(18\)30303-6](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30303-6)
- [4] Chen C, Cohrs CM, Stertmann J, Bozsak R, Speier S. Human beta cell mass and function in diabetes: Recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis. *Molecular metabolism*. 2017 Sep 1;6(9):943–57. doi: [10.1016/j.molmet.2017.06.019](https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.06.019)
- [5] Aguayo-Mazzucato C, Bonner-Weir S. Pancreatic β cell regeneration as a possible therapy for diabetes. *Cell Metab*. 2018;27(1):57–67. doi: [10.1016/j.cmet.2017.08.007](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.08.007)
- [6] Baeyens L, Lemper M, Staels W, Groef SD, Leu ND, Heremans Y, et al. (Re)generating human beta cells: status, pitfalls, and perspectives. *Physiol Rev*. 2018;98:1143–67. doi: [10.1152/physrev.00034.2016](https://doi.org/10.1152/physrev.00034.2016)
- [7] Saunders D, Powers AC. Replicative capacity of β -cells and type 1 diabetes. *Journal of Autoimmunity*. 2016 Jul 1;71:59–68. doi: [10.1016/j.jaut.2016.03.014](https://doi.org/10.1016/j.jaut.2016.03.014)
- [8] Singh SP, Ninov N. The triumvirate of beta-cell regeneration: solutions and bottlenecks to curing diabetes. *Int. J. Dev. Biol*. 2018 Jun 21;62:453–64. doi: [10.1387/ijdb.180067nn](https://doi.org/10.1387/ijdb.180067nn)
- [9] Benthuyssen JR, Carrano AC, Sander M. Advances in β cell replacement and regeneration strategies for treating diabetes. *J Clin Invest*. 2016 Oct 3;126(10):3651–60. doi: [10.1172/JCI87439](https://doi.org/10.1172/JCI87439)
- [10] Shirakawa J, Kulkarni RN. Novel factors modulating human β -cell proliferation. *Diabetes Obes Metab*. 2016 Sep;18(S1):71–7. doi: [10.1111/dom.12731](https://doi.org/10.1111/dom.12731)
- [11] Aamodt KI, Aramandla R, Brown JJ, Fiaschi-Taesch N, Wang P, Stewart AF, et al. Development of a reliable automated screening system to identify small molecules and biologics that promote human-cell regeneration. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2016 Sep 13;311:E859–68. doi: [10.1152/ajpendo.00515.2015](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00515.2015)
- [12] Menhaji-Klotz E, Price DA. Small molecules that promote regenerative repair for pancreatic and cardiovascular health. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2015 Dec 1;25(23):5465–71. doi: [10.1016/j.bmcl.2015.10.054](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.10.054)
- [13] Wang P, Alvarez-Perez JC, Felsenfeld DP, Liu H, Sivendran S, Bender A, et al. A high-throughput chemical screen reveals that harmine-mediated inhibition of DYRK1a increases human pancreatic beta cell replication. *Nat Med*. 2015;21(4):383–8. doi: [10.1038/nm.3820](https://doi.org/10.1038/nm.3820)
- [14] Kumar K, Wang P, Sanchez R, Swartz EA, Stewart AF, DeVita RJ. Development of kinase-selective, harmine-based DYRK1A inhibitors that induce pancreatic human β -cell proliferation. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2018;61(17):7687–99. doi: [10.1021/acs.jmedchem.8b00658](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b00658)
- [15] Wang P, Karakose E, Liu H, Swartz E, Ackeifi C, Zlatanovic V, et al. Combined inhibition of DYRK1A, SMAD, and trithorax pathways synergizes to induce robust replication in adult human beta cells. *Cell Metab*. 2018. doi:

- [10.1016/j.cmet.2018.12.005](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.12.005)
- [16] Dhawan S, Dirice E, Kulkarni RN, Bhushan A. Inhibition of TGF- β signaling promotes human pancreatic β -Cell replication. *Diabetes*. 2016;65(5):1208. doi: [10.2337/db15-1331](https://doi.org/10.2337/db15-1331)
- [17] Villani TS, Gardner G, Johnson M, Yesildag B, Mir J. 3D high content imaging of optically-cleared microtissues for screening islet cell proliferation. *Visikol*;2017:1-4.
- [18] Dirice E, Walpita D, Vetro Amedeo, Meier BC, Kahraman S, Hu J, et al. Inhibition of DYRK1A stimulates human B-cell proliferation. *Diabetes*. 2016;65:1660-71. doi: [10.2337/db15-1127](https://doi.org/10.2337/db15-1127)
- [19] Kumar K, Ung PM, Wang P, Wang H, Li H, Andrews MK, et al. Novel selective thiadiazine DYRK1A inhibitor lead scaffold with human pancreatic β -cell proliferation activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2018. doi: [10.1016/j.ejmech.2018.08.007](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.08.007)
- [20] Javeed M, Rasul A, Hussain G, Jabeen F, Rasool B, Riaz A, Kaukab G, Ali M. Harmine and its derivatives: Biological activities and therapeutic potential in human diseases. *Bangladesh Journal of Pharmacology*. 2018 Jul 1;13(3):203-13. doi: [10.3329/bjp.v13i3.34990](https://doi.org/10.3329/bjp.v13i3.34990)
- [21] Davies M, inventor; University of Limerick, assignee. Pharmaceutical compositions and methods for the treatment of diabetes. United States patent application US 15/474,430. 2017 Oct 5.
- [22] Tiwari S, Roel C, Tanwir M, Wills R, Perianayagam N, Wang P, Fiaschi-Taesch NM. Definition of a Skp2-c-Myc pathway to expand human beta-cells. *Sci Rep*. 2016 Jul 6;6:28461. doi: [10.1038/srep28461](https://doi.org/10.1038/srep28461)
- [23] Belgardt B, Lammert E. DYRK1A: a promising drug target for islet transplant-based diabetes therapies. *Diabetes*. 2016;65:1496-98. doi: [10.2337/db16-0013](https://doi.org/10.2337/db16-0013)
- [24] Abdolazimi Y, Lee S, Xu H, Allegretti P, Horton TM, Yeh B, et al. CC-401 promotes β -cell replication via pleiotropic consequences of DYRK1A/B inhibition. *Endocrinology*. 2018 Sep 1;159(9):3143-57. doi: [10.1210/en.2018-00083](https://doi.org/10.1210/en.2018-00083)
- [25] Karakose E, Ackeifi C, Wang P, Stewart AF. Advances in drug discovery for human beta cell regeneration. *Diabetologia*. 2018;61:1693–99. doi: [10.1007/s00125-018-4639-6](https://doi.org/10.1007/s00125-018-4639-6)
- [26] Kaneto H, Matsuoka T. Role of pancreatic transcription factors in maintenance of mature β -cell function. *Int. J. Mol. Sci*. 2015;16:6281-97. doi: [10.3390/ijms16036281](https://doi.org/10.3390/ijms16036281)
- [27] Bálint B, Wéber C, Cruzalegui F, Burbridge M, Kotschy A. Structure-based design and synthesis of harmine derivatives with different selectivity profiles in kinase versus monoamine oxidase inhibition. *ChemMedChem*. 2017;12:932-9. doi: [10.1002/cmdc.201600539](https://doi.org/10.1002/cmdc.201600539)