

## ARTIKEL PENELITIAN

# Pengaruh *Human Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cell* terhadap Jumlah Sel Glia Otak Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Mengalami Kerusakan Otak Akibat Induksi Menggunakan Aluminium Klorida ( $\text{AlCl}_3$ )

Suci Berlian Hemilton<sup>1</sup>, Nita Afriani<sup>2</sup>, Dessy Arisanti<sup>3</sup>

1. S1 Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Andalas; 2. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas; 3. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

**Korespondensi:** Suci Berlian Hemilton; [sucibhemilton@gmail.com](mailto:sucibhemilton@gmail.com); 085271059673

### Abstrak

**Tujuan:** Mengetahui pengaruh *human wharton's jelly mesenchymal stem cell* (HWJ-MSC) terhadap jumlah sel glia otak tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang mengalami kerusakan otak akibat induksi menggunakan aluminium klorida ( $\text{AlCl}_3$ ). **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan 21 tikus Wistar yang dibagi kedalam 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), dan perlakuan (P). Kelompok K+ dan P diinduksi  $\text{AlCl}_3$  dosis 300 mg/kgBB peroral selama 5 hari. Pada hari ke-8 kelompok P diberi HWJ-MSC secara intraperitoneal dengan dosis  $1 \times 10^6$  sel dalam 300 ul medium komplit dan diamati selama 28 hari. Jumlah sel glia otak dihitung menggunakan aplikasi *Image J*. Analisis data menggunakan uji *One Way Anova* dan *Post-Hoc Bonferroni*. **Hasil:** Rerata jumlah sel glia otak tikus kelompok K-, K+, dan P berturut-turut adalah  $16,91 \pm 2,87$ ,  $45,88 \pm 7,03$ , dan  $20,83 \pm 4,86$ . Didapatkan perbedaan bermakna pada kelompok penelitian dengan nilai  $p < 0,05$ . **Kesimpulan:** Pemberian HWJ-MSC memengaruhi jumlah sel glia otak tikus yang mengalami kerusakan otak akibat induksi menggunakan  $\text{AlCl}_3$ .

**Kata kunci:** sel glia;  $\text{AlCl}_3$ ; HWJ-MSC; kerusakan otak

### Abstract

**Objective:** To determine the effect of *human wharton's jelly mesenchymal stem cell* (HWJ-MSC) on the number of glial cells in the brain of Wistar rats (*Rattus norvegicus*) that suffered brain damage due to induction using aluminum chloride ( $\text{AlCl}_3$ ). **Method:** This research is experimental with used 21 Wistar rats which were divided into three groups, namely negative control (K-), positive control (K+), and treatment (P). The K+ and P groups were induced using  $\text{AlCl}_3$  at a dose of 300 mg/kgBW orally for 5 days. On day 8, group P was given HWJ-MSC intraperitoneally at a dose of  $1 \times 10^6$  cells in 300 uL of complete medium and observed for 28 days. The number of brain glial cells was calculated using the *Image J*. *One Way Anova* and *Post-Hoc Bonferroni* tests were used for the data analysis. **Result:** The mean number of brain glial cells in the K-, K+, and P group rats were  $16.91 \pm 2.87$ ,  $45.88 \pm 7.03$ , and  $20.83 \pm 4.86$ , respectively. There was a significant difference in the study group with  $p < 0.05$ . **Conclusion:** the administration of HWJ-MSC affects the number of glial cells in the brain of rats with brain damage due to induction using  $\text{AlCl}_3$ .

**Keywords:** glial cells;  $\text{AlCl}_3$ ; HWJ-MSC; brain damage

## PENDAHULUAN

Aluminium merupakan logam yang sangat melimpah di alam dan manusia berpotensi besar untuk terpapar aluminium. Aluminium dapat ditemukan di air dengan jumlah yang rendah. Pelapukan material kerak yang mengandung aluminium serta aktivitas manusia seperti penambangan berkontribusi pada peningkatan kadar aluminium di lingkungan. Selain itu, kemungkinan terpapar aluminium juga semakin meningkat akibat penggunaan barang-barang seperti peralatan memasak, kosmetik, wadah minum, bahan tambahan makanan, dan produk farmasi.<sup>1</sup>

Aluminium dapat masuk ke dalam tubuh melalui berbagai cara, seperti inhalasi, ingesti, dan absorpsi dermal. Aluminium diabsorpsi melalui traktus gastrointestinal dan diekskresikan melalui urin. Pada fungsi ginjal normal, aluminium hampir seluruhnya dieliminasi di tubuh dan sangat sedikit akumulasi yang bisa terjadi.<sup>2</sup> Akumulasi aluminium meningkat seiring dengan penuaan dan adanya paparan jangka lama. Aluminium yang tidak diekskresikan akan beredar di tubuh dan dapat ditemukan di tulang, hati, ginjal, sistem hematopoietik dan otak.<sup>1</sup>

Akumulasi aluminium di otak dapat menyebabkan terjadinya neurotoksisitas melalui berbagai mekanisme, diantaranya disfungsi mitokondria, stres oksidatif, inflamasi, dan apoptosis.<sup>3</sup> Disfungsi mitokondria memainkan peran penting pada patogenesis aluminium menginduksi terjadinya degenerasi neuron.<sup>4</sup> Disfungsi mitokondria berkaitan dengan kerusakan *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada otak.<sup>4,5</sup> *Reactive Oxygen Species* merupakan radikal bebas yang mengandung molekul oksigen, seperti *superoxide radical anion* (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), *hydroxyl*

*radical* (HO<sup>-</sup>), *nitric oxide* (NO) dan *peroxynitrite* (ONOO<sup>-</sup>). Produksi ROS dan antioksidan normalnya seimbang pada metabolisme seluler di mitokondria namun apabila terjadi ketidakseimbangan dimana ROS yang terbentuk berlebih dan tidak bisa dinetralisir oleh antioksidan akan berakibat terjadinya peningkatan stres oksidatif.<sup>6,7</sup> Stres oksidatif yang terjadi dapat menghambat mekanisme pertahanan antioksidan, mengganggu fungsi seluler, dan menyebabkan kerusakan struktural pada protein fungsional di otak.<sup>8</sup>

Neuron dan neuroglia sangat rentan terhadap kerusakan yang disebabkan oleh aluminium. Kondisi ini dapat dijelaskan karena aluminium merupakan zat yang bersifat neurotoksik yang dapat merusak sel-sel yang ada di otak. Sel glia merupakan salah satu sel di otak yang merespon terhadap kerusakan otak yang terjadi.<sup>9</sup> Ketika dirangsang oleh sinyal bahaya di otak akibat akumulasi aluminium menyebabkan sel glia mengalami aktivasi. Sel glia yang teraktivasi akan menginduksi terjadinya neuroinflamasi dengan dilepaskannya sitokin pro inflamasi seperti *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-6* (IL-6), *Tumor Necrosis Factor-α* (TNF-α), dan kemokin serta transkripsi gen proinflamasi.<sup>10</sup> Keadaan ini jika berlangsung terus menerus dapat menyebabkan toksisitas neuron dan berakhir dengan terjadinya degenerasi neuron.<sup>11</sup> Sel glia yang teraktivasi juga akan mengalami perubahan dalam hal morfologi, jumlah, dan fungsi sel. Sel glia akan bermigrasi dengan cepat ke lokasi jaringan yang mengalami kerusakan, sehingga pada gambaran histopatologis jaringan otak dapat dilihat adanya peningkatan jumlah sel glia (*gliosis*).<sup>12</sup>

Sel glia dapat dijadikan parameter dalam penelitian. Hal ini dikarenakan

adanya aktivasi sel glia berupa peningkatan jumlah merupakan tanda awal terjadinya disfungsi pada sistem saraf.<sup>13</sup> Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Firas H Bazzari dan kawan-kawan tahun 2019 dilaporkan bahwa induksi  $AlCl_3$  50 mg/kgBB/hari selama 6 minggu secara intraperitoneal pada tikus Wistar menunjukkan gambaran peningkatan infiltrasi sel glia (*gliosis*).<sup>14</sup> Peningkatan jumlah sel glia (*gliosis*) dapat berkontribusi pada patogenesis terjadinya degenerasi neuron. Adanya transplantasi *stem cell* dapat mengurangi kerusakan otak yang terjadi akibat induksi  $AlCl_3$ .

*Stem cell* merupakan terapi gen yang sedang berkembang akhir-akhir ini. *Mesenchymal stem cell* (MSC) merupakan tipe *stem cell* yang termasuk kedalam kelompok multipotent *stem cell*. *Mesenchymal stem cell* dapat berasal dari sumsum tulang, jaringan adiposa, plasenta, darah, dan *umbilical cord*.<sup>15</sup> *Mesenchymal stem cell* memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi dan beregenerasi menjadi berbagai jenis sel.<sup>16,17</sup> Efek parakrin dari MSC dapat menstimulasi terjadinya neurogenesis, synaptogenesis, angiogenesis, efek proteksi terhadap saraf, menggantikan sel, mengurangi stres oksidatif, dan apoptosis dengan mensekresikan faktor neutropik, kemokin, sitokin anti inflamasi dan efek imunomodulator.<sup>18</sup> *Mesenchymal stem cell* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *human wharton's jelly mesenchymal stem cell* (HWJ-MSC) yang berasal dari *umbilical cord*.

*Wharton's jelly* merupakan jaringan ikat mukoid yang disusun oleh komponen matriks ekstraseluler terdiri dari protein glikosaminoglikan, serat kolagen, myofibroblast, dan kadang-kadang sel mast. *Wharton's jelly* mengelilingi pembuluh darah arteri dan vena *umbilical*.

*Wharton's jelly* paling banyak terdapat di perivaskular dan hanya sebagian kecil terdapat di intervaskular dan subamniotik.<sup>19</sup> *Human wharton's jelly mesenchymal stem cell* dipilih karena memiliki kemampuan proliferasi yang tinggi, tingkat imunogenesitas yang rendah, tidak memerlukan tindakan yang infasif, dan tidak ada permasalahan etik dalam penggunaannya.<sup>20</sup>

Studi preklinik 5 tahun terakhir menunjukkan peran MSC terhadap otak. Pemberian MSC pada tikus dapat memodulasi peradangan saraf melalui pengaktifan sel glia, mencegah pelepasan sitokin inflamasi, menghentikan kematian sel saraf, dan menyebabkan berkurangnya defisit kognitif. Penelitian yang dilakukan oleh Cui dkk tahun 2017 dilaporkan bahwa dengan pemberian *human umbilical cord mesenchymal stem cell* (hUC-MSC) secara intravena pada tikus model dapat memperbaiki fungsi kognitif yang disertai dengan penurunan stres oksidatif dan mempromosikan neurogenesis pada daerah hipokampus.<sup>21</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Naaldijk dkk tahun 2016 dilaporkan bahwa pada tikus APP/PS1 dengan pemberian MSC selama 28 hari dosis  $1 \times 10^6$  sel menunjukkan penurunan jumlah dan ukuran sel glia.<sup>13</sup> Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian MSC menyebabkan peningkatan jumlah sel glia.<sup>20,22-24</sup> Namun, penelitian lain juga menunjukkan bahwa terdapat penurunan signifikan jumlah sel glia setelah diberikan MSC.<sup>13,25,26</sup>

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jumlah sel glia otak tikus yang mengalami kerusakan otak akibat induksi  $AlCl_3$ , pengaruh HWJ-MSC terhadap jumlah sel glia otak, serta perbedaan jumlah sel glia otak pada kelompok penelitian.

## METODE

Penelitian ini merupakan *true experimental* dengan studi design *the post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi Universitas Andalas dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas yang dilaksanakan pada bulan November 2020 sampai Juli 2021. Penelitian dilakukan setelah lolos kaji etik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dengan nomor 333/UN.16.2/KEP-FK/2021.

Populasi penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar. Sampel yang digunakan tikus berumur 2-3 bulan dengan berat 200- 300 gram. Penentuan besar sampel didasarkan pada kriteria yang telah ditetapkan oleh WHO, bahwasanya jumlah sampel minimal yang dibutuhkan tiap kelompok adalah 5 ekor tikus. Untuk mencegah terjadinya *drop out* di tengah-tengah penelitian, maka dilakukan koreksi sampel dengan rumus :

$$n' = \frac{n}{(1-f)}$$

Sehingga didapatkan jumlah sampel minimal tiap kelompok adalah 6 ekor tikus. Untuk menghindari kemungkinan adanya kriteria eksklusi, peneliti menggunakan 7 ekor tikus pada tiap kelompok. Pengambilan sampel dilakukan secara acak (*simple random sampling*).

Sebelum diberikan perlakuan, tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari di dalam ruang hewan coba laboratorium. Tikus dipelihara dengan standar pengelolaan laboratorium dan dipaparkan dengan siklus gelap terang selama 12 jam masing-masingnya. Pada saat melakukan aklimatisasi, tikus ditimbang di awal dan di akhir. Tikus yang dipakai dalam penelitian

ini adalah tikus yang berat badannya tidak turun lebih dari 10 % dan berperilaku normal. Jika terdapat tikus yang sakit atau yang mati selama aklimatisasi, tikus diganti dengan kriteria yang sama dan diambil secara acak. Aklimatisasi ini berguna dalam mencegah hasil yang tidak diinginkan pada penelitian dikarenakan tikus tidak sehat.

Pada penelitian ini, 21 tikus Wistar dibagi kedalam 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), dan perlakuan (P). Kelompok K- hanya diberi pakan standar. Kelompok K+ dan P diinduksi  $AlCl_3$  dosis 300 mg/kgBB peroral selama 5 hari. Pada hari ke-8 kelompok P diberi HWJ-MSC secara intraperitoneal dengan dosis  $1 \times 10^6$  sel dalam 300 ul medium komplit dan diamati selama 28 hari.

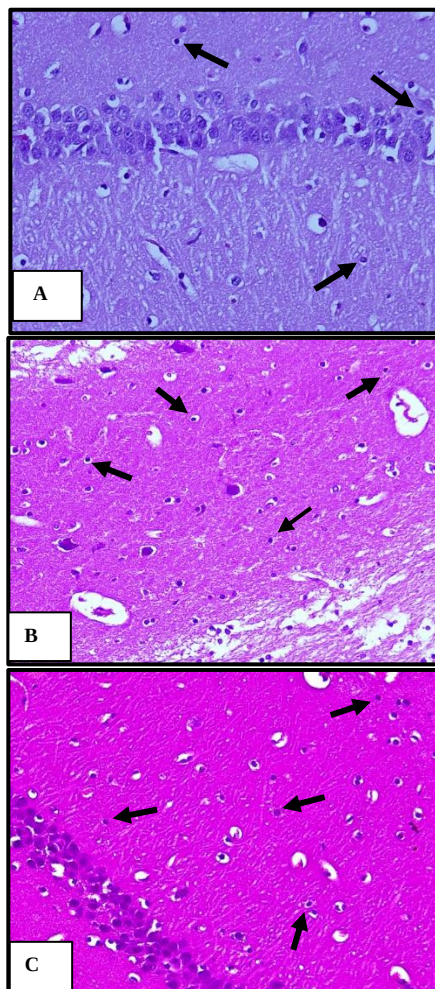
Terminasi dilakukan pada hari ke-36 setelah perlakuan terhadap hewan coba. Terminasi menggunakan pembiusan dengan ketamin dosis 50 mg/kg yang diberikan secara inhalasi. Otak yang telah diambil segera dicuci menggunakan larutan NaCl fisiologis 0,9 % yang telah didinginkan. Kemudian otak tikus direndam kedalam larutan formalin 10 %. Sampel dikirim ke bagian patologi anatomi untuk dibuatkan preparat histologi dengan menggunakan metode blok parafin dan pewarnaan hematoksin eosin. Bagian otak yang diambil dalam penelitian ini adalah hipokampus yaitu dengan cara organ otak dipotong melintang pada 1/3 bagian belakang setebal 3-5 mm. Setelah itu preparat dibaca menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x. Gambaran yang dipilih adalah daerah yang mewakili perubahan jumlah sel glia paling banyak dan representatif yaitu dipilih 3 lapang pandang dari setiap kelompok penelitian dengan 2x penghitungan setiap lapang pandang untuk mendapatkan hasil yang akurat lalu dirata-ratakan.

Perhitungan jumlah sel glia menggunakan aplikasi *ImageJ* 2018 versi 1.52a

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* dan *Post-Hoc Bonferroni* karena data terdistribusi normal dan terdapat kesamaan antar varian data.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran mikroskopis hipokampus dari masing-masing kelompok hewan coba didapatkan dengan menggunakan mikroskop olympus BX31 perbesaran 400x (Gambar 1). Terlihat adanya gambaran sel glia otak yang berbentuk inti bulat utuh.



**Gambar 1.** Gambaran mikroskopis hipokampus perbesaran 400x. Pewarnaan H&E. (A) Kelompok K-. Terlihat tanda panah merupakan sel glia dengan inti bulat utuh. Jumlah sel glia pada kelompok ini

normal. (B) Kelompok K+. Terlihat dengan tanda panah telah terjadi peningkatan jumlah sel glia. (C) Kelompok P. Terlihat dengan tanda panah sel glia yang jumlahnya mengalami penurunan.

Perhitungan jumlah sel glia otak menggunakan aplikasi *ImageJ* 2018 versi 1.52a. Perhitungan dilakukan pada setiap kelompok penelitian. Hasil dari perhitungan jumlah sel glia otak pada kelompok K-, K+, dan P tersebut didapatkan nilai rerata jumlah sel glia (Tabel 1).

**Tabel 1.** Rerata Jumlah Sel Glia pada Kelompok Penelitian

| Kelompok | Rerata Jumlah Sel Glia $\pm$ SD |
|----------|---------------------------------|
| K-       | 16,91 $\pm$ 2,87                |
| K+       | 45,88 $\pm$ 7,03                |
| P        | 20,83 $\pm$ 4,86                |

Data yang diperoleh kemudian diuji dengan derajat kepercayaan 95 % dan taraf signifikansi 0,05 ( $p = 0,05$ ). Hasil analisis ini akan dilakukan uji normalitas dan uji komparabilitas data. Hasil perhitungan jumlah sel glia otak masing-masing kelompok penelitian selanjutnya dianalisis secara statistik. Pengujian yang dilakukan adalah uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk Test* dan didapatkan bahwa data terdistribusi normal dengan  $p > 0,05$ . Sebelum dilakukan uji *One Way Anova*, terlebih dahulu dilakukan uji kesamaan varian data dengan menggunakan *Homogeneity of Variances*. Hasil pengujian didapatkan  $p = 0,536$  ( $p > 0,05$ ), sehingga disimpulkan terdapat kesamaan varian data.

Selanjutnya data dianalisis menggunakan uji *One Way Anova*. Hasil pengujian didapatkan terdapat perbedaan rerata jumlah sel glia otak pada semua kelompok penelitian secara bermakna dengan nilai  $p < 0,05$ . Selanjutnya dilakukan analisis lebih lanjut untuk

mengetahui perbedaan rerata jumlah sel glia masing-masing kelompok penelitian dengan menggunakan uji *Post-Hoc Bonferroni* (Tabel 2). Hasil analisis menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna  $p < 0,001$  jumlah sel glia otak kelompok K+ dengan K- dan kelompok K+ dengan P.

**Tabel 2. Hasil Analisis *Post-Hoc Bonferroni***

| Kelompok Penelitian |    | P      |
|---------------------|----|--------|
| K-                  | K+ | 0,000* |
|                     | P  | 0,637  |
| K+                  | K- | 0,000* |
|                     | P  | 0,000* |
| P                   | K- | 0,637  |
|                     | K+ | 0,000* |

Keterangan : \*Perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ )

Hasil penelitian ini menunjukkan telah terjadi kerusakan pada otak tikus yang salah satu parameternya ditandai dengan peningkatan jumlah sel glia pada kelompok K+. Penelitian ini hanya menilai jumlah sel glia otak karena berbagai tipe sel glia sulit dibedakan satu sama lain dengan menggunakan kebanyakan metode mikroskop cahaya rutin.<sup>27</sup> Kerusakan otak yang terjadi disebabkan oleh induksi  $AlCl_3$  yang dapat mempromosikan stres oksidatif, merusak sistem pertahanan antioksidan, dan mengubah neurokimia otak yang dapat bertindak sebagai agen neurotoksik.<sup>28</sup> Toksisitas yang dihasilkan oleh aluminium dapat dilihat pada gambaran histopatologi otak tikus. Penelitian yang dilakukan oleh Hala Attia dkk yang menggunakan  $AlCl_3$  untuk menginduksi tikus mengalami kerusakan otak ditandai dengan agregasi sel inflamasi dan degenerasi neuron.<sup>29</sup> Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Firas H Bazzari dkk bahwa dengan induksi  $AlCl_3$  50 mg/kgBB/hari selama 6 minggu secara intraperitoneal pada tikus Wistar

menunjukkan gambaran peningkatan infiltrasi sel glia (*gliosis*).<sup>14</sup>

Aluminium klorida merupakan zat yang bersifat neurotoksik dan dapat merusak sel-sel otak melalui mekanisme seluler dan molekuler baik secara langsung maupun tidak langsung dan bisa mengenai jenis sel apa saja yang ada di otak.<sup>9</sup> Sel glia merupakan salah satu sel yang berada di otak dan berespon terhadap kerusakan otak yang terjadi. Sel glia bertugas dalam mempertahankan fungsi homeostasis seperti perkembangan, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel neuron. Glia berperan dalam mengenali dan membersihkan debris ekstraseluler untuk mempertahankan homeostasis otak pada kondisi fisiologis dan patologis.<sup>30,31</sup> Ketika dirangsang oleh sinyal bahaya di lingkungan mikro, glia mengalami perubahan dalam hal morfologi, jumlah, dan fungsi sel. Adanya peningkatan jumlah sel glia (*gliosis*) merupakan respon terhadap toksisitas yang dihasilkan oleh aluminium dan berkontribusi pada patogenesis terjadinya neuroinflamasi dan degenerasi neuron.<sup>12,32</sup>

Pemberian HWJ-MSC dapat menurunkan rerata jumlah sel glia otak pada gambaran mikroskopisnya. Hal ini terlihat dari rerata jumlah sel glia otak kelompok P lebih rendah dibandingkan dengan kelompok K+, yaitu secara berturut-turut  $20,83 \pm 4,86$  dan  $45,88 \pm 7,03$ . Hal ini menunjukkan bahwa pemberian HWJ-MSC dapat memperbaiki kerusakan otak yang disebabkan oleh induksi menggunakan  $AlCl_3$ . Mekanisme ini didasari karena kemampuan MSC dalam mempromosikan neurogenesis dan memiliki efek imunomodulator yang berkontribusi terhadap perbaikan jaringan dan menekan kerusakan inflamasi.<sup>33</sup>

Salah satu karakteristik penting dari MSC adalah kemampuan untuk menuju ke

setiap jaringan yang mengalami kerusakan. *Mesenchymal stem cell* dapat melewati sawar darah otak dengan aman tanpa menunjukkan tanda bahaya. Hal ini dipengaruhi oleh reseptor kemokin yang dipresentasikan oleh HWJ-MSK seperti CXCR3, CXCR4, dan CXCR6.<sup>34</sup> *Human wharton's jelly mesenchymal stem cell* resisten terhadap stres oksidatif karena memiliki enzim antioksidan yang lebih tinggi sehingga dapat berkerja dengan baik pada lingkungan inflamasi yang meningkat.<sup>35</sup> Efek parakrin dari HWJ-MSK dapat meningkatkan *neuroprotection factor* seperti SIRT 1, BDNF, dan SYN serta mampu menurunkan stres oksidatif yang ditimbulkan oleh mikroglia fenotip M1 serta mengaktivasi mikroglia fenotip M2 untuk menghasilkan sitokin anti inflamasi seperti *interleukin-10* (IL-10) yang memfasilitasi perbaikan jaringan.<sup>20,36,37</sup> Hal ini menyebabkan lingkungan jaringan otak yang mengalami kerusakan tidak berada pada lingkungan pro inflamasi dan secara histopatologis dapat ditemukan penurunan jumlah sel glia atau jumlah sel glia yang mendekati keadaan normal.

Keberhasilan dari transplantasi HWJ-MSK juga sangat bergantung pada waktu administasi HWJ-MSK.<sup>16,17,34</sup> Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Xie dkk bahwa pada tikus transgenik APP terjadi peningkatan aktivasi sel glia pada hari pertama setelah injeksi HWJ-MSK dengan dosis  $2 \times 10^6$  sel dan terjadi penurunan aktivasi sel glia setelah 4 minggu injeksi HWJ-MSK. Temuan ini menunjukkan bahwa HWJ-MSK yang diinjeksikan mampu merekrut sel glia selama tahap akut awal dan pada tahap lebih lanjut, HWJ-MSK mempertahankan jumlah sel glia yang aktif dalam keadaan lebih rendah meskipun masih berada pada lingkungan proinflamasi.<sup>20</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Naaldijk dkk juga

menunjukkan bahwa dengan pemberian MSC dosis  $1 \times 10^6$  sel terjadi penurunan jumlah dan ukuran mikroglia yang signifikan di daerah korteks setelah 28 hari. Penurunan juga terjadi pada daerah hipokampus setelah 28 hari meskipun tidak bermakna secara statistik.<sup>13</sup>

## SIMPULAN

Jumlah sel glia otak pada tikus yang mengalami kerusakan otak akibat induksi menggunakan  $\text{AlCl}_3$  lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang tidak diinduksi  $\text{AlCl}_3$ . Pemberian HWJ-MSK dengan dosis  $1 \times 10^6$  sel dapat memperbaiki jaringan dan menekan kerusakan inflamasi pada otak yang ditandai dengan penurunan jumlah sel glia. Terdapat perbedaan bermakna jumlah sel glia otak tikus antara kelompok tikus yang hanya diberikan  $\text{AlCl}_3$  dengan kelompok tikus yang diberikan  $\text{AlCl}_3$  dan HWJ-MSK.

## DUKUNGAN FINANSIAL

Pendanaan dari PNBTP Tahun 2021.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada dr. Hirowati Ali, PhD yang sudah memberikan kesempatan untuk bergabung penelitian sepayung, dr. Tofrizal, M. Biomed, Sp. PA., PhD yang telah membimbing dalam pembacaan preparat, dr. Yuliarni Syafrita, Sp. S(K), Prof. Dr. dr. Aisyah Elliyanti, Sp. KN-TM (K), M. Kes, dan dr. Fika Tri Anggraini, M. Sc, PhD yang telah memberikan arahan dan evaluasi dalam penelitian.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Penelitian ini tidak ada konflik kepentingan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Nam SM, Kim JW, Yoo DY, Kim W, Jung HY, Choi JH, et al. Effects of aluminum on the reduction of neural stem cells, proliferating cells, and differentiating neuroblasts in the dentate gyrus of d-galactose-treated mice via increasing oxidative stress. *J Vet Sci.* 2016;17(2):127–36.
2. Farhat SM, Mahboob A, Iqbal G, Ahmed T. Aluminum-Induced Cholinergic Deficits in Different Brain Parts and Its Implications on Sociability and Cognitive Functions in Mouse. *Biol Trace Elem Res.* 2017;177(1):115–21.
3. Nam SM, Kim JW, Yoo DY, Jung HY, Choi JH, Hwang IK, et al. Reduction of adult hippocampal neurogenesis is amplified by aluminum exposure in a model of type 2 diabetes. *J Vet Sci.* 2016;17(1):13–20.
4. Sood PK, Verma S, Nahar U, Nehru B. Neuroprotective Role of Lazaroids Against Aluminium Chloride Poisoning. *Neurochem Res.* 2015;40(8):1699–708.
5. Tobore TO. On the central role of mitochondria dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurol Sci.* 2019;40(8):1527–40.
6. Tönnies E, Trushina E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. *J Alzheimer's Dis.* 2017;57(4):1105–21.
7. Islam MT. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurol Res.* 2017;39(1):73–82.
8. Yin S, Ran Q, Yang J, Zhao Y, Li C. Nootropic effect of neferine on aluminium chloride-induced Alzheimer's disease in experimental models. *J Biochem Mol Toxicol.* 2020;34(2):1–8.
9. Hasanuddin U, Kuliah M, Disertasi P, Doktor P. Mata Kuliah Penunjang Disertasi ( Mkpdp ) Fakultas Kedokteran Makassar. 2019.
10. Bhat AH, Dar KB, Anees S, Zargar MA, Masood A, Sofi MA. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight. *Biomed Pharmacother.* 2015;74:101–10.
11. Raskin J, Cummings J, Hardy J, Schuh K, Dean R. Neurobiology of Alzheimer's Disease: Integrated Molecular, Physiological, Anatomical, Biomarker, and Cognitive Dimensions. *Curr Alzheimer Res.* 2015;12(8):712–22.
12. Prakash D, Gopinath K, Sudhandiran G. Fisetin enhances behavioral performances and attenuates reactive gliosis and inflammation during aluminum chloride-induced neurotoxicity. *NeuroMolecular Med.* 2013;15(1):192–208.
13. Naaldijk Y, Jäger C, Fabian C, Leovsky C, Blüher A, Rudolph L, et al. Effect of systemic transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on neuropathology markers in APP/PS1 Alzheimer mice. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2017;43(4):299–314.
14. Bazzari FH, Abdallah DM, El-Abhar HS. Chenodeoxycholic acid ameliorates AlCl<sub>3</sub>-induced Alzheimer's disease neurotoxicity and cognitive deterioration via enhanced insulin signaling in rats. *Molecules.* 2019;24(10).
15. Chakari-Khiavi F, Dolati S, Chakari-Khiavi A, Abbaszadeh H, Aghebati-Maleki L, Poursak T, et al. Prospects for the application of mesenchymal

- stem cells in Alzheimer's disease treatment. *Life Sci.* 2019;231.
16. Kang JM, Yeon BK, Cho SJ, Suh YH. Stem Cell Therapy for Alzheimer's Disease: A Review of Recent Clinical Trials. *J Alzheimer's Dis.* 2016;54(3):879–89.
17. Hosseini SA, Mohammadi R, Noruzi S, Mohamadi Y, Azizian M, Mousavy SM, et al. Stem cell- and gene-based therapies as potential candidates in Alzheimer's therapy. *J Cell Biochem.* 2018;119(11):8723–36.
18. Alipour M, Nabavi SM, Arab L, Vosough M, Pakdaman H, Ehsani E, et al. Stem cell therapy in Alzheimer's disease: possible benefits and limiting drawbacks. *Mol Biol Rep.* 2019;46(1):1425–46.
19. Katarzyna O, Hutchings G, Popis M. Human Wharton ' s Jelly — Cellular Specificity , Stemness Potency , Animal Models , and Current Application in Human Clinical Trials. *J Clin Med.* 2020.
20. Xie ZH, Liu Z, Zhang XR, Yang H, Wei LF, Wang Y, et al. Wharton's Jelly-derived mesenchymal stem cells alleviate memory deficits and reduce amyloid- $\beta$  deposition in an APP/PS1 transgenic mouse model. *Clin Exp Med.* 2016;16(1):89–98.
21. Cui YB, Ma SS, Zhang CY, Cao W, Liu M, Li DP, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation improves cognitive function in Alzheimer's disease mice by decreasing oxidative stress and promoting hippocampal neurogenesis. *Behav Brain Res.* 2017;320:291–301.
22. Kim JY, Kim DH, Kim JH, Lee D, Jeon HB, Kwon SJ, et al. Soluble intracellular adhesion molecule-1 secreted by human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell reduces amyloid-B plaques. *Cell Death Differ.* 2012;19(4):680–91.
23. Kim KS, Kim HS, Park JM, Kim HW, Park M kyung, Lee HS, et al. Long-term immunomodulatory effect of amniotic stem cells in an alzheimer's disease model. *Neurobiol Aging.* 2013;34(10):2408–20.
24. Ma T, Gong K, Ao Q, Yan Y, Song B, Huang H, et al. Intracerebral transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells alternatively activates microglia and ameliorates neuropathological deficits in Alzheimer's disease mice. *Cell Transplant.* 2013;22:113–26.
25. Zhang Q, Wu HH, Wang Y, Gu GJ, Zhang W, Xia R. Neural stem cell transplantation decreases neuroinflammation in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2016;136(4):815–25.
26. Lee IS, Jung K, Kim IS, Lee H, Kim M, Yun S, et al. Human neural stem cells alleviate Alzheimer-like pathology in a mouse model. *Mol Neurodegener.* 2015;10(1):1–16.
27. Mescher AL. Jaringan Saraf & Sistem Saraf. In: *Histologi Dasar Junquiera: teks & atlas.* 17th ed. 2016. p. 150.
28. Liaquat L, Sadir S, Batool Z, Tabassum S, Shahzad S, Afzal A, et al. Acute aluminum chloride toxicity revisited: Study on DNA damage and histopathological, biochemical and neurochemical alterations in rat brain. Vol. 217, *Life Sciences.* Elsevier Inc; 2019. 202–211 p.
29. Attia H, Albuhayri S, Alaraidh S, Alotaibi A, Yacoub H, Mohamad R, et al. Biotin, coenzyme Q10, and their combination ameliorate aluminium chloride-induced Alzheimer's

- disease via attenuating neuroinflammation and improving brain insulin signaling. *J Biochem Mol Toxicol.* 2020;34(9):1–13.
30. Udeochu JC, Shea JM, Villeda SA. Microglia communication: Parallels between aging and Alzheimer's disease. *Clin Exp Neuroimmunol.* 2016;7(2):114–25.
31. Shen Z, Li X, Bao X, Wang R. Microglia-targeted stem cell therapies for Alzheimer disease: A preclinical data review. *J Neurosci Res.* 2017;95(12):2420–9.
32. Sadek KM, Lebda MA, Abouzed TK. The possible neuroprotective effects of melatonin in aluminum chloride-induced neurotoxicity via antioxidant pathway and Nrf2 signaling apart from metal chelation. *Environ Sci Pollut Res.* 2019;26(9):9174–83.
33. Denu RA, Hematti P. Effects of Oxidative Stress on Mesenchymal Stem Cell Biology. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016.
34. Joerger-Messerli MS, Marx C, Oppliger B, Mueller M, Surbek D V., Schoeberlein A. Mesenchymal Stem Cells from Wharton's Jelly and Amniotic Fluid. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2016;31:30–44.
35. Bodart-Santos V, De Carvalho LRP, De Godoy MA, Batista AF, Saraiva LM, Lima LG, et al. Extracellular vesicles derived from human Wharton's jelly mesenchymal stem cells protect hippocampal neurons from oxidative stress and synapse damage induced by amyloid- $\beta$  oligomers. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):1–13.
36. Lo Furno D, Mannino G, Giuffrida R. Functional role of mesenchymal stem cells in the treatment of chronic neurodegenerative diseases. *J Cell Physiol.* 2018;233(5):3982–99.
37. Abd El Fattah LI, Zickri MB, Aal LA, Heikal O, Osama E. The effect of thymoquinone,  $\alpha 7$  receptor agonist and  $\alpha 7$  receptor allosteric modulator on the cerebral cortex in experimentally induced Alzheimer's disease in relation to MSCs activation. *Int J Stem Cells.* 2016;9(2):230–8.