

ARTIKEL PENELITIAN

## Pengaruh Pemberian *Mesenchymal Stem Cells Wharton Jelly* Terhadap Ekspresi Gen Glut-4 Pada Tikus Alzheimer

Berlianisa<sup>1</sup>, Yuliarni Syafrita<sup>2</sup>, Hirowati Ali<sup>3</sup>

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

Korespondensi: Hirowati Ali; Email: [hirowatiali@med.unand.ac.id](mailto:hirowatiali@med.unand.ac.id); No.HP: 081276163526

### Abstrak

**Tujuan:** Melihat ekspresi gen Glut-4 pada otak tikus yang mengalami Alzheimer dengan induksi  $AlCl_3$ , setelah diberikan *Mesenchymal Stem Cells-Wharton's Jelly* (MSC-WJ). **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan the post test only control group design yang menggunakan 18 sampel RNA hewan coba yang dibagi menjadi 3 kelompok (K-, K+, dan P). Nilai rata-rata ekspresi gen Glut-4 didapatkan dari perbandingan gen Glut-4 terhadap gen GAPDH menggunakan metode semikuantitatif dengan ImageJ. Analisis data menggunakan uji One Way ANOVA. Dikatakan bermakna bila nilai  $p < 0,05$ . **Hasil:** Rata-rata ratio ekspresi gen Glut-4 yang didapatkan pada kelompok K-, K+, P berturut-turut adalah 2,28, 2,82, dan 3,13. Didapatkan tidak ada perbedaan yang bermakna setiap kelompok hewan coba dengan nilai  $p = 0,099$  ( $p > 0,05$ ). **Kesimpulan:** tidak ditemukan perbedaan ekspresi gen Glut-4 pada otak tikus Alzheimer yang diberikan MSC-WJ dibandingkan yang tidak diberikan MSC-WJ.

**Kata kunci:** Beta Amyloid; Glut-4; Aluminium klorida ( $AlCl_3$ ); *Mesenchymal Stem Cells Wharton's Jelly* (MSC-WJ), Alzheimer

### Abstract

**Objective:** To observe gene expression of Glut-4 in the brains of Alzheimer's rat with  $AlCl_3$  induction, after being given *Mesenchymal Stem Cells-Wharton's Jelly* (MSC-WJ). **Method:** This research is an experimental study with the post-test only control group design which was used 18 experimental RNA animals which were divided into 3 groups (K-, K+, and P). The average value of Glut-4 gene expression was obtained from the comparison of the Glut-4 gene to GAPDH gene using a semiquantitative method with ImageJ. Data analysis using One Way ANOVA test. It is said to be meaningful if the p value  $< 0.05$ . **Result:** The average ratio gene expression Glut-4 obtained in the K-, K+, P groups were 2.28, 2.82, and 3.13. There was no significant difference in each group with p value = 0.099 ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** no significant difference in Glut-4 gene expression in the brains of Alzheimer's rat given MSC-WJ compared to those not given MSC-WJ.

**Keywords:** Beta Amyloid; Glut-4; Aluminum chloride ( $AlCl_3$ ); *Mesenchymal Stem Cells Wharton's Jelly* (MSC-WJ); Alzheimer's

## PENDAHULUAN

Menurut *World Health Organization* (WHO), demensia adalah sindrom neurodegeneratif yang timbul karena adanya kelainan yang bersifat kronis dan progresif disertai dengan gangguan fungsi luhur multipel seperti memori, kalkulasi, kapasitas belajar, bahasa, dan mengambil keputusan.<sup>1</sup> Gangguan tersebut terjadi karena kerusakan dan kematian dari sel-sel saraf di bagian otak. Berberapa bentuk penyakit neurodegeneratif yang menyebabkan demensia adalah penyakit Alzheimer, demensia vascular, demensia frontotemporal, demensia dengan badan Lewy, dan demensia campuran.<sup>2</sup> Penyakit Alzheimer merupakan demensia yang paling umum ditemukan dengan prevalensi sekitar 60-80%. Karakteristik yang paling mencolok pada penyakit Alzheimer adalah gangguan memori, disorientasi dan perilaku emosional.<sup>3</sup>

Kejadian demensia di seluruh dunia menimpa sekitar 50 juta orang dengan penambahan 10 juta kasus baru setiap tahunnya. Pada tahun 2030 jumlah penderita demensia diperkirakan mencapai 82 juta dan 152 juta pada tahun 2050.<sup>3</sup> Di Amerika, demensia Alzheimer merupakan penyebab kematian kelima orang yang berusia lebih dari 65 tahun dan sudah menimpa sekitar 5,4 juta orang. Hampir dua pertiga orang Amerika yang terkena AD adalah wanita dan sepertiganya adalah laki-laki. Penyakit ini menjadi masalah global dengan jumlah kasus yang terus meningkat.<sup>4</sup>

Berdasarkan data riset kesehatan dasar (Riskesdas) tahun 2013 melaporkan bahwa kasus gangguan mental emosional yang ditandai dengan gejala depresi serta kecemasan pada usia produktif tercatat sebanyak 14 juta jiwa atau 6% penduduk

Indonesia dan meningkat menjadi 7% penduduk di tahun 2018.<sup>5</sup> Pada tahun 2015 Indonesia masuk dalam sepuluh negara dengan demensia tertinggi di dunia dan Asia Tenggara. Menurut *Alzheimer's Disease International* (ADI) pada tahun 2016 penderita demensia Alzheimer di Indonesia diperkirakan sekitar 1.2 juta orang, dan akan meningkat menjadi 2 juta orang pada tahun 2030 serta 4 juta orang pada tahun 2050.<sup>6</sup> Biaya untuk perawatan orang demensia di Indonesia cukup tinggi yaitu mencapai 28,6 milyar per tahun.<sup>6</sup>

Demensia Alzheimer adalah salah satu bentuk demensia yang paling banyak dilaporkan.<sup>7</sup> Demensia Alzheimer dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok yang menderita pada usia 65 tahun kebawah (onset cepat) dan kelompok yang menderita pada usia 65 tahun keatas (onset lambat).<sup>8</sup> Faktor genetik juga berperan penting pada perkembangan AD seperti adanya mutasi gen apolipoprotein E menjadi faktor resiko genetik utama dari demensia Alzheimer onset lambat ( tipe sporadis ).<sup>9</sup> Sedangkan, demensia Alzheimer onset cepat (tipe familial) berhubungan dengan mutasi dari 3 gen yaitu amyloid precursor protein (APP), presenilin-1 (PSEN1), dan presenilin-2 (PSEN2).<sup>9</sup> Mutasi ini terjadi karena produksi yang berlebih atau adanya peningkatan agregasi dari *Beta-Amyloid* (A $\beta$ ).<sup>10</sup>

Demensia Alzheimer secara histopatologis ditandai dengan terbentuknya plak amiloid atau *neuritic plaque* ekstraseluler yang mengandung *Beta-Amyloid* (A $\beta$ ), dan *intracellular neurofibrillary tangles* (NFTs) yang terbentuk dari hiperfosforilasi protein tau.<sup>11</sup> *Beta-Amyloid* merupakan salah satu jenis protein dalam tubuh yang dihasilkan dari APP dan merupakan komponen soluble dari plasma dan cairan

serebrospinal. Deposit *Beta-Amyloid* yang tidak larut akan membentuk plak amiloid. *Intracellular neurofibrillary tangles* (NFTs) merupakan buntalan filamen protein dalam sitoplasma sel saraf yang mengelilingi sel saraf.<sup>12</sup> Agregasi plak amiloid dan kusut neurofibrillary intraseluler juga akan mendorong aktivasi dari mikroglia, reaktif astrosit, dan respons inflamasi.<sup>12</sup>

Mikroglia dan astrosit adalah dua komponen sel utama sistem saraf pusat yang berperan penting dalam kerusakan sel neuron. Keduanya berperan dalam memelihara homeostasis neurologis melalui pembentukan sawar darah otak.<sup>13</sup> Mikroglia yang diaktifkan akan mencetuskan sitokin proinflamasi, seperti faktor nekrosis tumor (TNF)- $\alpha$ , interleukin (IL)- $1\beta$ , dan oksida nitrat (NO), yang dapat memperburuk kerusakan saraf.<sup>14</sup> Kerusakan sel neuron pada AD berawal dari daerah *hippocampus* sehingga menimbulkan manifestasi klinis penurunan fungsi kognitif berupa gangguan memori. Penelitian yang dilakukan pada hewan coba juga menunjukkan hal yang sama, sehingga daerah *hippocampus* dapat menjadi parameter terjadinya kerusakan sel saraf akibat penginduksian Alzheimer.

Penelitian yang sudah banyak dilakukan pada hewan coba dapat menggambarkan hewan coba seperti model Alzheimer, penelitian tersebut menginduksi hewan coba menggunakan zat kimia Aluminium Klorida ( $AlCl_3$ ). Aluminium (Al) merupakan zat neurotoksik yang berperan penting dalam perkembangan plak amiloid. Mekanisme  $AlCl_3$  diketahui dapat meningkatkan ekspresi gen *Amyloid Precursor Protein* (APP) yang secara signifikan dapat meningkatkan pembentukan  $A\beta$  dan gangguan memori pada model tikus sehingga tikus/hewan coba tersebut dapat

menggambarkan model seperti Alzheimer.<sup>15</sup>

Perkembangan terapi untuk AD cukup berkembang pesat seperti terapi psikososial dan farmakoterapi, tetapi angka mortalitas dan biaya yang dikeluarkan pemerintah masih tinggi. Di Indonesia perkembangan terapi untuk Alzheimer sangat terbatas karena mekanisme penyakit ini yang beragam dan diperberat oleh salah satunya ketidakmampuan sel saraf otak beregenerasi sendiri maka pendekatan terapi hanya bertujuan untuk memperlambat kerusakan otak dan memperbaiki kualitas hidup tanpa memperbaiki kerusakan fungsional yang ditimbulkan oleh penyakit Alzheimer. Terapi berbasis sel memiliki potensi yang besar untuk meregenerasi jaringan saraf yang rusak pada penyakit Alzheimer.<sup>14</sup>

Pada beberapa penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer, terapi sel punca/stroma mesenkim (MSC) adalah sel multipoten dengan potensi aplikasi yang menjanjikan dalam pengobatan regenerative, imunomodulasi, dan anti-inflamasi.<sup>16</sup> Sumber sel punca dapat berasal dari darah tepi, tali pusat, plasenta, jaringan adiposa, sumsum tulang belakang, dan lain sebagainya. Salah satu sumber sel punca yang mudah didapatkan adalah sel punca yang berasal dari tali pusat karena tindakan pengambilan yang tidak invasif, merupakan organ fetus yang pada akhirnya dibuang dan tali pusat juga mudah ditemukan, karena angka kelahiran terus meningkat setiap tahunnya. Tali pusat memiliki beberapa struktur umum yaitu selaput membran tali pusat, lapisan *wharton's jelly*, vena umbilikalis, dan arteri umbilikalis. Lapisan *wharton's jelly* terbukti menjadi lapisan terbaik dari bagian tali pusat untuk diisolasi menjadi

*Mesenchymal Stem Cells Wharton's Jelly* (MSC-WJ).<sup>16</sup>

*Mesenchymal Stem Cells Wharton Jelly* (MSC-WJ) merupakan sel yang berasal dari jaringan tali pusat bayi dari pasien sehat yang menjalani persalinan baik dalam persalinan normal maupun sesar. *Mesenchymal Stem Cells Wharton Jelly* banyak memiliki manfaat klinis seperti memiliki lebih sedikit kontaminan sel *non-stem cell*, dapat dihasilkan dalam jumlah besar dengan kultur yang minimal untuk menghindari perubahan fenotip, isolasinya mudah dan cepat untuk di standarisasikan. Selain itu, MSC-WJ juga memiliki tingkat proliferasi yang sangat tinggi dan efek imunomodulator terkuat, sehingga menjadikannya salah satu sumber alternatif pengobatan di masa depan yaitu penyakit Alzheimer.<sup>16</sup>

Menurut Lee dkk terapi dengan MSC-WJ dianggap sebagai pilihan pengobatan terbaik untuk DA karena telah menunjukkan berbagai efek seperti efek perbaikan terhadap fungsi kognitif, modulasi peradangan saraf, peningkatan neurogenesis endogen, dan juga peningkatan kinerja perilaku AD.<sup>17</sup> Namun ada juga yang menyatakan hasil penelitiannya tidak menunjukkan peningkatan fungsi kognitif serta tidak memiliki manfaat secara klinis pada penyakit Alzheimer seperti menggunakan *Human Chorionic* (HC)-MSC.<sup>18</sup> Penelitian terbaru mengenai MSC-WJ diketahui MSC-WJ dapat memproteksi sel saraf tikus Alzheimer dari stress oksidatif, mengurangi penumpukan *Beta-Amyloid* (A $\beta$ ) dan hiperfosforilasi protein tau serta meningkatkan memori pada tikus.<sup>19</sup>

Sel neuron di otak mendapatkan suplai energi dari glukosa. Jika kadar glukosa di otak menurun maka sel saraf otak akan kekurangan energi sehingga lama kelamaan mengalami kerusakan.

Glukosa dibawa oleh transporter glukosa ke dalam kapiler dan sel-sel otak. Untuk pengambilan glukosa ke dalam sel otak, transporter glukosa diekspresikan ke dalam neuron, astrosit, sel oligodendroglial, dan sel mikroglial.<sup>20</sup> Transporter glukosa di otak terdiri dari Glut1-6 dan Glut-8, dan kotransporter Na<sup>+</sup> - D -glukosa SGLT1.<sup>21</sup>

Menurut Marko dkk berdasarkan penelitiannya Glut-1 banyak ditemukan di sel endotel mikrovaskuler dan astrosit, Glut-3 adalah transporter glukosa neuronal kanonik, dan Glut-4 diekspresikan di beberapa daerah otak tetapi pada umumnya ditemukan di dalam korteks dan hipokampus otak.<sup>21</sup> Glukosa transporter 4 (Glut-4) adalah suatu protein spesifik yang dikenal sebagai transporter glukosa utama dan responsif terhadap insulin di dalam jaringan otot rangka, otak, jantung dan adiposa. Penelitian yang dilakukan oleh McNay dkk melaporkan bahwa pengurangan aktivasi transporter glukosa responsif insulin Glut-4 dapat menyebabkan terjadinya penurunan kognitif pada penderita diabetes melitus tipe 2 dan penyakit Alzheimer.<sup>22</sup> Perubahan ekspresi transporter glukosa di otak, dan kekurangan energi terkait transporter neuron yang dapat berkontribusi pada patogenesis AD.<sup>20</sup>

Penyerapan glukosa yang dimediasi Glut-4 di hipokampus dilaporkan memiliki peran yang sangat penting untuk pembentukan memori.<sup>23</sup> Translokasi Glut-4 ke membran plasma untuk meningkatkan penyerapan glukosa seluler diatur oleh beberapa molekul sinyal pasca-reseptor yang penting untuk mempertahankan memori jangka panjang seperti insulin (PI3K / Akt), *AMP-activated protein kinase* (AMPK), protein kinase C-zeta, protein asetilasi histon, protein kinase A, dan Ca<sup>2+</sup> /calmodulin kinase II.<sup>21,22</sup> Penelitian

lain juga melaporkan bahwa kadar Glut-4 mengalami penurunan pada AD yang mengakibatkan berkurangnya translokasi transporter glukosa ke dalam membran.<sup>24</sup> Hal ini dapat menyebabkan keadaan hipometabolisme glukosa di otak sehingga dapat mendahului timbulnya defisit kognitif berupa penurunan memori.<sup>24</sup>

Pada AD telah dilaporkan adanya gangguan pensinyalan insulin hipokampus bersama dengan hipometabolisme otak dan akumulasi *Beta-Amyloid* (A $\beta$ ). Penelitian terbaru juga menunjukkan bahwa gangguan pensinyalan insulin berupa *Insulin Resistance* (IR) membentuk mekanisme *loop feed-forward* dengan pembentukan oligomer A $\beta$  dan hiperfosforilasi protein tau di area temporo-parietal otak.<sup>25</sup> Hal ini menyebabkan gangguan kognitif yang cepat, penurunan metabolisme glukosa lokal, dan gangguan translokasi transporter glukosa yang diatur insulin Glut-4, tetapi tidak berpengaruh pada Glut-1 atau Glut-3.<sup>22</sup> Sejauh ini penelitian yang membahas tentang pemberian MSC-WJ terhadap ekspresi gen Glut-4 ini masih sangat sedikit sehingga membutuhkan informasi yang lebih jelas dan lebih banyak lagi. Oleh sebab itu, peneliti tertarik melakukan penelitian terkait "Pengaruh Pemberian *Mesenchymal Stem Cells Wharton's Jelly* terhadap Ekspresi Gen Glut-4 pada Tikus Alzheimer".

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan the post-test only control group design. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang dilaksanakan pada bulan September 2021 sampai Januari 2022. Penelitian dilaksanakan setelah lolos kaji etik Fakultas

Kedokteran Universitas Andalas dengan nomor 501/UN.16.2/KEP-FK/2021.

Penelitian dimulai dari tahap isolasi RNA jaringan otak hewan coba yang diambil secara acak kemudian dilakukan sintesis cDNA. Pada hari ke-2 dilanjutkan mengukur tingkat kemurnian dan konsentrasi DNA menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Selanjutnya dilakukan proses amplifikasi fragmen DNA primer yang akan diteliti yaitu gen Glut-4 dan gen GAPDH sebagai housekeeping. Hasil elektroforesis tersebut dihitung menggunakan aplikasi ImageJ dan dilakukan perbandingan antara gen Glut-4 dengan GAPDH untuk mengetahui ekspresi gen Glut-4 pada setiap sampel.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan One Way Anova karena data terdistribusi normal dan terdapat kesamaan anatr varian data. Populasi penelitian adalah seluruh sampel dari bahan biologis tersimpan berupa RNA jaringan otak hewan coba Alzheimer yang diterapi dengan MSC-WJ dengan dosis 1 x 10<sup>6</sup>/ tikus dalam 300 ul3. Pada penelitian ini menggunakan 18 sampel RNA jaringan otak hewan coba yang dibagi ke dalam 3 kelompok yaitu 6 sampel sebagai kontrol negatif, 6 sampel sebagai kontrol positif yang diberikan AlCl<sub>3</sub>, dan 6 sampel sebagai perlakuan dengan pemberian MSC-WJ.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kemurnian dan konsentrasi DNA dari masing-masing kelompok hewan coba didapatkan hasil yang beragam namun secara keseluruhan DNA yang digunakan itu murni karena nilai rasio A 260/280 rata-rata dalam rentang 1.7 – 2.0 (Tabel 1).

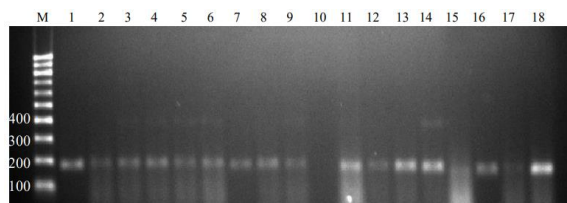
Proses amplifikasi fragmen DNA primer gen Glut-4 dan gen GAPDH terletak pada *basepair* 200 (Gambar 1,2). Hasil



amplifikasi elektroforesis dihitung menggunakan aplikasi *ImageJ* dan dilakukan perbandingan antara gen *Glut-4* dengan *GAPDH* untuk mengetahui ekspresi gen *Glut-4* pada setiap sampel (Tabel 2).

Tabel 1. Uji Kemurnian dan Konsentrasi Larutan DNA pada Sampel Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

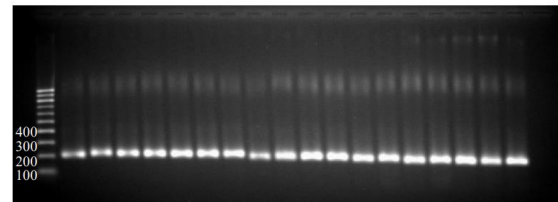
Sampel	Rataan Kemurnian (A 260/280)	Rataan Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )
K-1	1,8	2207,3
K-2	2	957,75
K-3	1,9	1828,75
K-4	1,9	1585,15
K-5	2	1742,85
K-6	2	1642,35
K+1	1,7	2061,8
K+2	2	2438,45
K+3	1,9	1287,25
K+4	1,9	2172
K+5	2	822,8
K+6	2	1821,25
P1	2	1015,3
P2	2	1100
P3	1,8	136,05
P4	1,8	1678,7
P5	2	378,75
P6	2	912,25



Gambar 1. Visualisasi hasil amplifikasi fragmen DNA gen *Glut-4* pada gel agarose 1.5%, (M) Marker 100 bp (basepare), sampel kontrol negatif (1-6), kontrol positif(7-12), dan perlakuan (12-18)

Data yang didapat kemudian diuji dengan interval kepercayaan 95% dan taraf signifikansi 0,05 ( $p = 0,05$ ). Hasil analisis ini diuraikan dalam uji normalitas data dan uji komparabilitas. Hasil pengukuran ekspresi gen *Glut-4* pada

masing-masing kelompok selanjutnya dianalisis secara statistik. Pengujian yang dilakukan adalah uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk Test* dan didapatkan bahwa data terdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$ . Sebelum dilakukan uji *One Way Anova*, terlebih dahulu dilakukan uji kesamaan varian data dengan menggunakan *Homogeneity of Variances*. Hasil pengujian didapatkan nilai  $p = 0,349$  ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data antar kelompok sama.



Gambar 2. Visualisasi hasil amplifikasi fragmen DNA gen *GAPDH* pada gel agarose 1.5%, (M) Marker 100 bp (basepare), sampel kontrol negatif (1-6), kontrol positif(7-12), dan perlakuan (12-18)

Selanjutnya data dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA*. Hasil pengujian didapatkan tidak terdapat perbedaan ratio ekspresi gen *Glut-4* pada semua kelompok penelitian secara tidak bermakna dengan nilai  $p > 0,05$ .

Hasil penelitian ini menunjukkan telah terjadi kerusakan sel saraf pada otak tikus yang salah satu parameternya ditandai dengan terbentuknya plak *beta-amyloid* ( $A\beta$ ) namun belum mempengaruhi ekspresi dari gen *Glut-4* pada kelompok K+. Kerusakan otak yang terjadi disebabkan oleh induksi  $AlCl_3$  dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif dan akumulasi oksigen reaktif (ROS) di dalam sel otak. Hal ini akan mendorong pemrosesan dari gen APP amiloidogenik yang dipecah menjadi

A $\beta$  oleh enzim  $\beta$ -secretase dan  $\gamma$ -secretase.<sup>15</sup>

Tabel 2. Ratio Ekspresi gen Glut-4

Kelompok	No Sampel	Ratio	
<b>Kontrol</b>	1	2,68	
	<b>Negatif</b>	2	2,70
		3	2,63
		4	1,54
		5	1,89
		6	2,25
Rata-rata		2,28	
<b>Kontrol</b>	1	2,66	
	<b>Positif</b>	2	3,31
		3	2,96
		4	2,63
		5	2,03
		6	3,34
Rata-rata		2,82	
<b>Perlakuan</b>	1	2,42	
	2	3,00	
	3	2,87	
	4	2,30	
	5	4,66	
	6	3,56	
Rata-rata		3,13	

Mutasi ganda pada gen APP akan meningkatkan pemecahan APP sehingga A $\beta$  yang dihasilkan juga meningkat. Kegagalan *clearance mechanisms* dari A $\beta$  di otak mengakibatkannya tidak larut dan menumpuk. Penumpukan dari A $\beta$  akan membentuk agregasi oligomer A $\beta$ . Agregasi oligomer A $\beta$  pada kaskade amiloid bersifat neurotoksik sehingga dapat menyebabkan disfungsi sinap dan

kerusakan sel saraf yang berimplikasi terhadap penurunan fungsi kognitif berupa gangguan memori.<sup>47</sup> Selanjutnya agregasi oligomer A $\beta$  akan membentuk plak A $\beta$  yang dapat menyebabkan disfungsi mitokondria dan memicu Tau patologis melalui penurunan aktivitas *superoksida dismutase* yang terkait dengan A $\beta$  dan aktivasi *sintase kinase* yang akhirnya membentuk kusut neurofibrillary.

Pada penelitian De La Monte dkk terdapat suatu mekanisme umpan balik positif yang menghubungkan antara *insulin resistance*, patologi A $\beta$  yang menghasilkan plak A $\beta$  dan hiperfosforilasi protein tau. Resistensi insulin berkontribusi terhadap degenerasi saraf yang memicu peradangan saraf dan peningkatan ekspresi protein precursor A $\beta$  (A $\beta$ PP). Glukosa transporter-4 (Glut-4) adalah suatu protein spesifik yang dikenal sebagai transporter glukosa utama dan responsif terhadap insulin di dalam jaringan otot rangka, otot jantung, adiposa, dan otak.<sup>50</sup> Ekspresi Glut-4 dalam membran plasma sangat bergantung pada insulin.<sup>48</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Blazquez dkk melaporkan bahwa Glut-4 terletak di area selektif otak, termasuk bulbus olfaktorius, dentate gyrus hipokampus, hipotalamus, dan korteks dengan jumlah yang rendah dibandingkan dengan isoform lainnya.<sup>48</sup>

Pemberian MSC-WJ dapat mengurangi deposit A $\beta$  dan hiperfosforilasi protein tau, meningkatkan neurogenesis dan mengurangi inflamasi dengan faktor yang disekresikan.<sup>37</sup> Hal ini terlihat dari ratio rata-rata ekspresi gen Glut-4 kelompok P lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K+ dan K-, yaitu secara berturut 3,13; 2,82 dan 2,28. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian MSC-WJ dapat meningkatkan ekspresi gen Glut-4 pada otak tikus Alzheimer. Mekanisme ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan

oleh Lian dkk melaporkan bahwa MSC-WJ juga memiliki peningkatan sensitivitas insulin dan pemulihan fungsi sel pankreas yang rusak karena memproduksi insulin secara berlebihan.<sup>57</sup>

*Mesenchymal Stem Cells Wharton's Jelly* diketahui mampu mengeluarkan vesikel ekstraseluler (MSC-EVs) yang dapat melewati sawar darah otak sehingga sangat cocok diaplikasikan untuk membantu proliferasi sel-sel saraf yang sudah rusak pada jaringan otak. Vesikel ini dikeluarkan oleh MSC-WJ dengan ukuran, morfologi yang berbeda dan molekul bioaktif yang terdapat didalamnya seperti messenger RNA (mRNA), microRNAs (miRNAs), sitokin, kemokin, faktor imunomodulator yang mengatur fenotip dan fungsi tertentu dari interaksi yang dihasilkan.<sup>53</sup> Transplantasi MSC-WJ dapat mengaktifkan mikroglia (mikroglia mirip M2) sebagai neuroprotektif atau neurodestruktif untuk melindungi neuron dengan meningkatkan pembersihan A $\beta$  sehingga dapat mengurangi penumpukan *Beta-Amyloid* di jaringan otak.<sup>56</sup> Salah satu karakteristik penting dari MSC adalah kemampuan untuk menuju ke jaringan yang mengalami kerusakan.

## SIMPULAN

Eksresi gen Glut-4 pada RNA tikus yang telah diinduksi menggunakan AlCl<sub>3</sub>

## DAFTAR PUSTAKA

1. Wahyuni A, Nisa K. Pengaruh Aktivitas dan Latihan Fisik terhadap Fungsi Kognitif pada Penderita Demensia. *Majority*. 2016;5(4):12-16.
2. Raz L, Knoefel J, Bhaskar K. The neuropathology and cerebrovascular mechanisms of dementia. *J Cereb Blood Flow*

memiliki hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan RNA tikus yang tidak diinduksi menggunakan AlCl<sub>3</sub>. Pemberian MSC-WJ dengan dosis 1 x 10<sup>6</sup> sel dapat meningkatkan ekspresi gen Glut-4 pada RNA tikus Alzheimer dibandingkan dengan RNA tikus Alzheimer tanpa pemberian MSC-WJ. Tidak terdapat perbedaan bermakna ekspresi gen Glut-4 antara kelompok tikus yang hanya diberikan AlCl<sub>3</sub> dengan kelompok tikus yang diberikan AlCl<sub>3</sub> dan MSC-WJ.

## DUKUNGAN FINANSIAL

Penelitian ini merupakan pendanaan dari PNBP 2021.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada dr. Hirowati Ali, PhD yang sudah membimbing dan memberikan kesempatan untuk bergabung penelitian sepayung, Dr. dr. Yuliarni Syafrita, Sp.S(K) yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan saran dalam penelitian. Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K), Dr. dr. Daan Khambri, Sp.B(K)Onk, M. Kes, dan Dr. Dessy Arisanty, M.Sc yang telah memberikan arahan dan evaluasi dalam penelitian.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada.

*Metab*. 2016;36(1):172-186.

3. Kakutani S, Watanabe H, Murayama N. Green tea intake and risks for dementia, Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and cognitive impairment: A systematic review. *Nutrients*. 2019;11(5).
4. Serrano-Pozo A, Growdon JH. Is Alzheimer's Disease Risk Modifiable? *J Alzheimer's Dis*.



- 2019;67(3):795-819.
5. Bare Y. Analisis senyawa fitosterol *Cymbopogon citratus* dan *Curcuma longa*. 2021;7.
  6. Siska EM. Darmabakti Cendekia : Caregiver Training on Care for People With. 2020;2:1-3.
  7. Rosenberg A, Mangialasche F, Ngandu T, Solomon A, Kivipelto M. Multidomain Interventions to Prevent Cognitive Impairment, Alzheimer's Disease, and Dementia: From FINGER to World-Wide FINGERS. *J Prev Alzheimer's Dis*. 2020;7(1):29-36.
  8. Ary K, Pattni M, Udayana U. Beta-Amyloid As Pathogenesis of Alzheimer Disease. *e-Jurnal Med Udayana*. 2013;2(8):1306-1317.
  9. Nisa KM, Lisiswanti R. Faktor Risiko Demensia Alzheimer. *Majority*. 2016;5(4):86.  
<http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/890>
  10. Pattni K. Beta-Amyloid sebagai Patogenesis pada Penyakit Alzheimer. Published online 2014:12.
  11. Wilson H, Pagano G, Politis M. Dementia spectrum disorders: lessons learnt from decades with PET research. *J Neural Transm*. 2019;126(3):233-251.
  12. Tiwari S, Venkata A, Kaushik A, Adriana Y NM. Alzheimer's Disease Diagnostics And Therapeutics Market. [Enfermedad de Alzheimer: patogenia, diagnóstico y terapéutica]. *Int J Nanomedicine*. 2019;Jul 2019(14):5541-5554.
  13. Ada N, Wilson WT, Zhang MW, Ho CS, Husain SF. IL-1  $\beta$  , IL-6 , TNF-  $\alpha$  and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease : Systematic Review and Meta-Analysis. 2018;(August 2017):1-12.
  14. Duncan T, Valenzuela M. Alzheimer's disease, dementia, and stem cell therapy. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):1-9.
  15. Mustafa HN. Neuro-amelioration of cinnamaldehyde in aluminum-induced Alzheimer's disease rat model. *J Histotechnol*. 2020;43(1):11-20.
  16. Sun C, Wang L, Wang H, et al. Single-cell RNA-seq highlights heterogeneity in human primary Wharton's jelly mesenchymal stem / stromal cells cultured in vitro. Published online 2020:1-16.
  17. Lee J, Kwon SJ, Kim JH, et al. Cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease patients as an optimal formulation for therapeutic application of mesenchymal stem cells in Alzheimer's disease. *Sci Rep*. 2019;(January 2018):1-9.
  18. Lee M, Ban JJ, Yang S, Im W, Kim M. The exosome of adipose-derived stem cells reduces  $\beta$ -amyloid pathology and apoptosis of neuronal cells derived from the transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Res*. 2018;1691:87-93.
  19. Bodart-santos V, Carvalho LRP De, Godoy MA De, 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. 2019;5:1-13.
  20. Koepsell H. Glucose transporters in brain in health and disease. *Pflugers Arch Eur J Physiol*. 2020;472(9):1299-1343.

21. Marko DM, Foran G, Vlavcheski F, et al. Interleukin-6 Treatment Results in GLUT4 Translocation and AMPK Phosphorylation in Neuronal SH-SY5Y Cells. *Cells*. 2020;9(5).
22. McNay EC, Pearson-Leary J. GluT4: A central player in hippocampal memory and brain insulin resistance. *Exp Neurol*. 2020;323:113076.
23. Pearson-Leary J, McNay EC. Novel roles for the insulin-regulated glucose transporter-4 in hippocampally dependent memory. *J Neurosci*. 2016;36(47):11851-11864.
24. Das TK, Chakrabarti SK, Zulkipli IN, Abdul Hamid MRW. Curcumin Ameliorates the Impaired Insulin Signaling Involved in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease in Rats. *J Alzheimer's Dis Reports*. 2019;3(1):59-70.
25. Mullins RJ, Diehl TC, Chia CW, Kapogiannis D. Insulin Resistance as a Link between Amyloid-Beta and Tau Pathologies in Alzheimer's Disease. 2017;9(May):1-16.
26. Isaacson RS, Ganzer CA, Hristov H, et al. The clinical practice of risk reduction for Alzheimer's disease: A precision medicine approach. *Alzheimer's Dement*. 2018;14(12):1663-1673.
27. Xuefeng Chen, et al 2011. Female Sex and Alzheimer's Risk: The Menopause Connection. *Physiol Behav*. 2011;176(10):139-148.
28. Robinson M, Lee BY, Hane FT. Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 2: Genetics and Epidemiology. *J Alzheimers Dis*. 2017;57(2):317-330.
29. Aisen PS, Cummings J, Jack CR, et al. On the path to 2025: Understanding the Alzheimer's disease continuum. *Alzheimer's Res Ther*. 2017;9(1):1-10.
30. Crous-Bou M, Minguillón C, Gramunt N, Molinuevo JL. Alzheimer's disease prevention: From risk factors to early intervention. *Alzheimer's Res Ther*. 2017;9(1):1-9.
31. Tumminia A, Vinciguerra F, Parisi M, Frittitta L. Type 2 diabetes mellitus and alzheimer's disease: Role of insulin signalling and therapeutic implications. *Int J Mol Sci*. 2018;19(11).
32. Budiman HM, Berawi KN, Bustomi EC, et al. Mekanisme Rokok dalam Meningkatkan Risiko Penyakit Alzheimer Smoking Mechanism in Increasing Risk of Alzheimer's Disease. *J Kedokt*. 2018;7(3):234-240.
33. Thakur AK, Kamboj P, Gosmawi K, Ahuja K. Pathophysiology and management of alzheimer's disease. 2018;(an overview. *J Anal Pharm Res*.):7(2):226-235.
34. Cummings J, Feldman HH, Scheltens P. The "rights" of precision drug development for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res Ther*. 2019;11(1):1-14.
35. Jin H, Guan S, Wang R, et al. The Distribution of Urinary Alzheimer-Associated Neuronal Thread Protein and Its Association with Common Chronic Diseases in the General Population. *J Alzheimers Dis*. 2018;65(2):433-442.
36. Reza-Zaldivar EE, Hernández-Sapiéns MA, Minjarez B, Gutiérrez-Mercado YK, Márquez-Aguirre AL, Canales-Aguirre AA. Potential Effects of MSC-Derived Exosomes in Neuroplasticity in Alzheimer's

- Disease. *Front Cell Neurosci.* 2018;12(September):1-16.
37. Vasic V, Barth K, Schmidt MHH. Neurodegeneration and neuro-regeneration— Alzheimer’s disease and stem cell therapy. *Int J Mol Sci.* 2019;20(17).
  38. Stefanska K. Human Wharton’s Jelly—Cellular Specificity, Stemness Potency, Animal Models, and Current Application in Human Clinical Trials. Published online 2020:9.
  39. Dabrowska S, Sypecka J, Jablonska A, et al. Neuroprotective Potential and Paracrine Activity of Stromal Vs . Culture-Expanded hMSC Derived from Wharton Jelly under Co-Cultured with Hippocampal Organotypic Slices. Published online 2017.
  40. Kangari P, Talaei-Khozani T, Razeghian-Jahromi I, Razmkhah M. Mesenchymal stem cells: amazing remedies for bone and cartilage defects. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):1-21.
  41. Putra MR. Hubungan Antara Tingkat Keparahan Neuropati Diabetik Dengan Gangguan Fungsi Kognitif Pada Penderita Diabetes Melitus. Published online 2019:1-95.
  42. Kim H, Na DL, Lee NK, Kim AR. Intrathecal Injection in A Rat Model : A Potential Route to Deliver Human Wharton ’ s Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells into the Brain. :1-12.
  43. Aboelwafa HR, El-Kott AF, Abd-Ella EM, Yousef HN. The possible neuroprotective effect of silymarin against aluminum chloride-prompted alzheimer’s-like disease in rats. *Brain Sci.* 2020;10(9):1-21.
  44. Dwi Yarni S. *Pengaruh Pemberian Mesenchymal Stem Cell Wharton Jelly Terhadap Ekspresi Gen Calm1 Dan Casp9 Pada Tikus Alzheimer.;* 2021.
  45. Indriati M. Deteksi kandungan babi pada produk olahan daging menggunakan metode multipleks pcr di kabupaten pandeglang. *J Biol dan Pembelajarannya.* 2021;16(1):1-10.
  46. Wang L. Entry and Deposit of Aluminum in the Brain. :39-51.
  47. Yu H, Yuan B, Chu Q, Wang C, Bi H. Protective roles of isoastilbin against Alzheimer’s disease via Nrf2-mediated antioxidation and anti-apoptosis. *Int J Mol Med.* 2019;43(3):1406-1416.
  48. Blázquez E, Velázquez E, Hurtado-Carneiro V, Ruiz-Albusac JM. Insulin in the brain: Its pathophysiological implications for states related with central insulin resistance, type 2 diabetes and alzheimer’s disease. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2014;5(OCT):1-21.
  49. De La Monte SM. Contributions of brain insulin resistance and deficiency in amyloid-related neurodegeneration in alzheimers disease. *Drugs.* 2012;72(1):49-66.
  50. Saleh RA, Eissa TF, Abdallah DM, Saad MA. Peganum harmala enhanced GLP - 1 and restored insulin signaling to alleviate - Alzheimer - like pathology model. *Sci Rep.* Published online 2021:1-14.
  51. MacKnight C, Rockwood K, Awalt E, McDowell I. Diabetes mellitus and the Risk of Dementia , Alzheimer ’ s Disease and Vascular Cognitive Aging. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2002;1:77–83.
  52. Costa LA, Eiro N, Fraile M, et al. Functional heterogeneity of

- mesenchymal stem cells from natural niches to culture conditions: implications for further clinical uses. *Cell Mol Life Sci.* 2021;78(2):447-467.
53. Harrell CR, Jovicic N, Djonov V, Arsenijevic N, Volarevic V. Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes and Other Extracellular Vesicles as New Remedies in the Therapy of Inflammatory Diseases. *Cells.* 2019;8(12).
54. Wang AYL, Loh CY, Shen HH, et al. Human wharton's jelly mesenchymal stem cell-mediated sciatic nerve recovery is associated with the upregulation of regulatory t cells. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):1-14.
55. Liang J, Wu S, Zhao H, et al. Neuroscience Letters Human umbilical cord mesenchymal stem cells derived from Wharton ' s jelly differentiate into cholinergic-like neurons in vitro. *Neurosci Lett.* 2013;532:59-63.
56. Yang H, Xie ZH, Wei LF, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived neuron-like cells rescue memory deficits and reduce amyloid-beta deposition in an A $\beta$ PP/PS1 transgenic mouse model. *Stem Cell Res Ther.* 2013;4(4).
57. Gao LR, Zhang NK, L. W, Y. Z, H.H. T. Overexpression of apelin in Wharton' jelly mesenchymal stem cell reverses insulin resistance and promotes pancreatic  $\beta$  cell proliferation in type 2 diabetic rats 11 Medical and Health Sciences 1103 Clinical Sciences. *Stem Cell Res Ther.* (1):1-14.