

PENGARUH HOMOSISTEIN TERHADAP BERAT OTAK TIKUS MODEL PENYAKIT ALZHEIMER

Elita Marintan¹, Brian Wasita^{2*}, Adi Magna³

¹Program Studi Ilmu Gizi; Fakultas Pascasarjana; Universitas Sebelas Maret

²Bagian Patologi Anatomi; Fakultas kedokteran; Universitas Sebelas Maret

³Program Studi Peternakan; Fakultas Pertanian; Universitas Sebelas Maret

Email: elitaelle03@gmail.com; brianwasita@yahoo.com; adimagna@staff.uns.ac.id

Korespondensi:

Brian wasita

Bagian Patologi Anatomi; Fakultas kedokteran; Universitas Sebelas Maret

brianwasita@yahoo.com

Abstrak

Homosistein (hcy) adalah asam amino mengandung sulfur yang terbentuk selama metabolisme metionin asam amino esensial. Pemberian homosistein menyebabkan peningkatan stres oksidatif, kerusakan DNA, pemicu apoptosis dan eksitotoksisitas, yang penting dalam degenerasi saraf. Kadar homosistein yang meningkat menyebabkan neurotoksisitas dan atrofi otak pada Penyakit Alzheimer (AD). Penelitian ini bertujuan untuk mengamati bobot otak tikus Sprague Dawley yang diinduksi Hcy selama 7, 14 dan 21 hari. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorik dengan *posttest only group design*. Sembilan ekor tikus Sprague dawley umur 8-12 minggu dengan berat badan antara 150-200 gram dibagi secara acak menjadi 3 kelompok (n=3). Semua kelompok diberikan injeksi homosistein dengan dosis yang sama yaitu 0,4 mg / kg berat badan. Kelompok I, II dan III diinjeksi homosistein selama 7, 14, dan 21 hari untuk setiap kelompok secara berurutan. Pengamatan berat otak dilakukan setelah eutanasia pada hari ke 7, 14, dan 21 setelah perlakuan. Sampel berat otak diukur dengan menggunakan timbangan digital. Perbedaan berat otak antar kelompok dianalisis dengan menggunakan ANOVA. Hubungan antara berat otak dan lama injeksi homosistein dianalisis dengan menggunakan uji korelasi product-moment Pearson. Semua prosedur penelitian telah dilakukan dengan persetujuan dari Komite Etik Hewan Fakultas Kedokteran UNS No: 106/UN27.06.6.1/KEPK/EC/2020. Injeksi homosistein selama 7, 14 dan 21 hari tidak mengubah berat otak. Berat otak mengalami penurunan tetapi tidak signifikan secara statistik ($p=0,549$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kadar homosistein tidak mempengaruhi berat otak tikus model penyakit Alzheimer.

Kata Kunci: alzheimer; atrofi otak; berat otak; homosistein; neurodegenerasi

THE EFFECT OF HOMOCYSTEINE ON RAT BRAIN WEIGHT AS ALZHEIMER'S DISEASE MODEL

Abstract

Homocysteine (Hcy) is a sulfur-containing amino acid formed during the metabolism of the essential amino acid methionine. Administration of homocysteine can lead to increased oxidative stress, DNA damage, triggers for apoptosis and excitotoxicity, which are important in neurodegeneration. Elevated homocysteine levels induce neurotoxicity and brain atrophy in Alzheimer's Disease (AD). This study was aimed to observe Sprague

dawley rat brain weight induced by Hcy for 7, 14 and 21 days. This study use Experimental laboratory design with Posttest Only Group. Nine of Sprague dawley rats, at 8-12 weeks of age with weight ranging between 150-200 grams were used and divided randomly into 3 groups (n=3). All group were administered homocysteine injection with equal dose, 0,4 mg/kg of body weight. Group I, II and III were injected homocysteine for 7, 14, and 21 days for each group consecutively. Observation of brain weight was done by euthanasia on day 7, 14, and 21 after treatment. All of the sample brains weight were measure by using standardize weight scale. Brain weight differences among groups were analyzed with ANOVA. Correlation between brain weight and the duration of homocysteine injection were analyzed with Pearson product-moment correlation test. All of the research procedure was done with the approval and supervision of Animal Ethics Committee Faculty of Medicine UNS No: 106/UN27.06.6.1/KEPK/EC/2020. Homocysteine injection for 7, 14 and 21 days had not changed brain weight. Brain weight has decreased but not statistically significant at the brain weight values ($p=0.549$). This research showed that elevated homocysteine level did not interfere the rat brain weight as alzheimer's disease model.

Keywords: *alzheimer; brain weight; brain atrophy; homocysteine; neurodegeneration*

PENDAHULUAN

Homocysteine (Hcy) adalah asam amino yang mengandung sulfur yang berperan dalam metabolisme metionin yang akan terdegradasi melalui jalur remetilasi dan akan dirubah melalui jalur trans-sulfurasi menjadi sistein¹. Hcy merupakan senyawa endogen yang bersifat neurotoksik yang menginduksi kerusakan saraf dan mengakibatkan kehilangan sel melalui eksitotoksisitas dan apoptosis^{1,2}. Hal ini mengakibatkan ketidakmampuan jaringan otak untuk metabolisme Hcy melalui betaine dan jalur transsulfuration, dengan demikian terjadi akumulasi Hcy di sistem saraf².

Penyakit Alzheimer (AD) adalah penyakit neurodegeneratif ditandai dengan kerusakan progresif dalam memori yang terjadi pada orang tua³. Penyakit Alzheimer dikaitkan dengan patologis perubahan di otak, termasuk adanya amiloid plak pikun dan neurofibrillary tangle, yaitu terkait dengan penurunan kepadatan saraf dan karenanya terjadi atrofi jaringan otak⁴including 410 with a primary diagnosis of Alzheimer's disease, 230 with synucleinopathies, 157 with TDP-43 proteinopathies, 144 with tauopathies and 59 with normal ageing. More than 77% of subjects with Alzheimer's disease had grossly apparent circle of Willis atherosclerosis, a percentage that was significantly higher than normal (47%. Efek homosistein telah diteliti secara ekstensif, dan bukti saat ini menunjukkan bahwa homosistein mempercepat cedera endotel, aterosklerosis, dan deposisi amiloid otak, yang merupakan proses patologis utama pada demensia^{2,5}. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa homosistein adalah faktor risiko demensia, yang meningkat pada

penyakit Alzheimer (AD)^{3,6}. Selain itu, telah dilaporkan bahwa peningkatan kadar homosistein menginduksi neurotoksisitas dan dikaitkan dengan atrofi kortikal global^{5,6}. Studi pada hewan model tikus yang menunjukkan penurunan serapan glutamat di korteks parietal pada hiperhomosisteinemia menyebabkan eksitotoksisitas saraf dan kematian⁶.

Pada otak, homosistein dapat menyebabkan neurotoksisitas pada regio hippocampus dan korteks⁷. Kerusakan yang terjadi dapat berkaitan dengan adanya stres oksidatif, apoptosis dan eksitotoksisitas yang berperan penting dalam neurodegenerasi^{5,6,7}. Akibat kerusakan yang terjadi dan kematian sel otak inilah yang menyebabkan kemungkinan adanya penurunan berat otak^{7,8,9}.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah tikus jantan *Sprague Dawley*, pakan standar *Comfeed AD II*, Aquades, *homocystein (Sigma Chemical)*. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang pemeliharaan tikus yang berbahan dasar plastik, spuit injeksi, timbangan digital

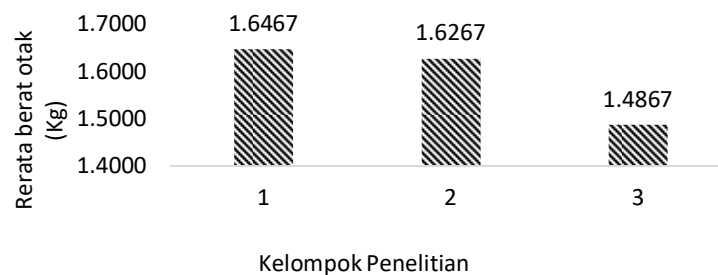
Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pusat studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gajah Mada Yogyakarta pada bulan Agustus 2020. Penelitian ini merupakan eksperimen laboratorium dengan *posttest only control group design*. Sembilan ekor tikus *Sprague dawley* umur 8-12 minggu dengan berat badan 150-200 gram digunakan dan dibagi secara acak menjadi 3 kelompok (n=3). Kelompok II diinjeksi homosistein selama 14 hari dan kelompok III diinjeksi homosistein selama 21 hari. Semua kelompok diberikan injeksi homosistein melalui vena kaudalis dengan dosis yang sama yaitu 0,4 mg/kg berat badan. Hewan ditempatkan dalam kandang individu berukuran 20x30 cm, pakan standar dan air minum diberikan ad libitum. Lingkungan kandang diatur agar tidak lembab, suhu ruangan berkisar 27-29°C, ventilasi yang memadai dengan 12 jam cahaya terang dan 12 jam gelap. Pengamatan dilakukan setelah eutanasia hewan coba dari masing-masing kelompok. Setelah semua subjek di eutanasia secara etis, jaringan otak diperoleh dan diamati. Semua jaringan otak segera diukur untuk bobot awalnya. Sampel berat otak diukur dengan menggunakan timbangan standar. Semua prosedur penelitian telah dilakukan dengan persetujuan dan supervisi dari Komite Etik Hewan Fakultas Kedokteran UNS No: 106/UN27.06.6.1/KEPK/EC/2020.

Analisis statistika perbedaan berat otak antar kelompok dilakukan dengan menggunakan ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Hubungan antara berat otak dan lama injeksi homosistein dianalisis dengan menggunakan uji korelasi product-moment Pearson, dengan tingkat kemaknaan $p < 0,050$ dianggap bermakna secara statistika.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis statistik dari berat otak tikus terhadap pemberian homosistein menunjukkan perbedaan rata-rata yang tidak signifikan ($p=0,549$). Uji korelasi Pearson-Product Moment menunjukkan korelasi positif lemah, namun tidak signifikan ($r=-0,918$, $p=0,130$). Data ditampilkan dalam rata-rata kelompok perlakuan, dalam data tersebut menunjukkan rata-rata berat otak terjadi sedikit penurunan dari hari ke 7, hari ke 14 sampai hari ke 21.



Gambar 1. Rata-rata berat otak pada setiap kelompok penelitian

Pada penelitian ini, penurunan berat otak tidak signifikan antara satu kelompok dengan kelompok lain, berat otak kelompok perlakuan 7 hari, 14 hari dan 21 hari secara statistik tidak mengalami penurunan. Hal ini bisa disebabkan karena atrofi otak pada tikus yang diinjeksi homosistein hanya terjadi pada regio tertentu saja seperti di hipokampus dan korteks. Oleh karena itu untuk berat basah otak secara keseluruhan tidak mengalami penurunan yang signifikan. Kekurangan ini dikaitkan dengan ukuran sampel yang kecil ($n=9$) yang mungkin tidak cukup untuk mendeteksi perbedaan berat otak.

Studi sebelumnya telah menemukan hubungan antara homosistein dan atrofi di daerah otak tertentu¹⁰. Kadar homosistein yang meningkat dikaitkan dengan volume otak keseluruhan yang lebih rendah¹¹ dan atrofi dalam struktur subkortikal pada MRI, tetapi pola anatomi yang rinci dari efek ini belum diketahui¹². Literatur pencitraan menunjukkan bahwa peningkatan homosistein dikaitkan dengan atrofi hipokampus pada orang lanjut usia yang secara kognitif normal¹³ dan dengan tingkat atrofi lobus temporal medial yang lebih cepat pada penyakit alzheimer¹⁴. Studi sebelumnya menunjukkan hubungan yang signifikan antara

peningkatan kadar homosistein dengan pengurangan volume materi putih dan abu-abu di antara subjek dengan gangguan kognitif ringan dan penyakit alzheimer, dan dengan atrofi hipokampus pada subjek komunitas lansia¹⁵. Selain itu, peningkatan homosistein dapat pula dikaitkan dengan atrofi materi putih, penipisan kortikal parietal, dan subkortikal lebih kecil struktur dalam populasi Asia non-demensia multi-etnis¹⁵.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian ini peningkatan kadar homosistein tidak mengganggu bobot otak tikus, injeksi homosistein selama 7, 14 dan 21 hari tidak menyebabkan bobot otak berkurang secara signifikan.

Studi lebih lanjut dengan subjek yang lebih besar masih diperlukan untuk merepresentasikan perubahan berat otak.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Smith AD, Refsum H, Bottiglieri T, Fenech M, Hooshmand B, McCaddon A, et al. Homocysteine and Dementia: An International Consensus Statement. *J Alzheimer's Dis.* 2018;62(2):561–70.
2. de Jager CA. Critical levels of brain atrophy associated with homocysteine and cognitive decline. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2014;35(SUPPL.2):S35–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.040>
3. Suzhen D, Yale D, Feng G, Yinghe H, Zheng Z. Advances in the pathogenesis of Alzheimer's disease: a re-evaluation of amyloid cascade hypothesis. *Transl Neurodegener.* 2012;1(1):18.
4. Yarchoan M, Xie SX, Kling MA, Toledo JB, Wolk DA, Lee EB, et al. Cerebrovascular atherosclerosis correlates with Alzheimer pathology in neurodegenerative dementias. *Brain.* 2012;135(12):3749–56.
5. Kim J, Park MH, Kim E, Han C, Jo SA, Jo I. Plasma homocysteine is associated with the risk of mild cognitive impairment in an elderly Korean population. *J Nutr.* 2007;137(11):2487.
6. Ho PI, Ortiz D, Rogers E, Shea TB. Multiple aspects of homocysteine neurotoxicity: Glutamate excitotoxicity, kinase hyperactivation and DNA damage. *J Neurosci Res.* 2002;70(5):694–702.
7. Nevmerzhytska NM, Orzheshkovskiy V V., Dzevulska I V., Savosko SI. Mechanisms of Toxic Effects of Homocysteine on the Nervous System. *Neurophysiology.* 2019;51(5):379–87.
8. Bathina S, Das UN. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical Implications. *Arch Med Sci.* 2015;11(6):1164–78.
9. Deture MA, Dickson DW. The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener.* 2019;14(1):1–18.

10. Bleich S, Kornhuber J, Sachdev P. Relationship between plasma homocysteine levels and brain atrophy in healthy elderly individuals [1] (multiple letters). *Neurology*. 2003;60(7):1220.
11. Park SH, Kim H, Lee KJ. Correlations between homocysteine and grey matter volume in patients with Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics*. 2015;15(2):116–22.
12. Rajagopalan P, Hua X, Toga AW, Jack CR, Weiner MW, Thompson PM. Homocysteine effects on brain volumes mapped in 732 elderly individuals. *Neuroreport*. 2011;22(8):391–5.
13. Den Heijer T, Vermeer SE, Clarke R, Oudkerk M, Koudstaal PJ, Hofman A, et al. Homocysteine and brain atrophy on MRI of non-demented elderly. *Brain*. 2003;126(1):170–5.
14. Sarah K. Madsen, Priya Rajagopalan, Shantanu HJ, W TA, Thompson PM, the Alzheimer's Disease, et al. Higher homocysteine associated with thinner cortical gray matter in 803 participants from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Bone* [Internet]. 2014;23(1):1–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
15. Tan B, Venketasubramanian N, Vrooman H, Cheng CY, Wong TY, Ikram MK, et al. Homocysteine and Cerebral Atrophy: The Epidemiology of Dementia in Singapore Study. *J Alzheimer's Dis*. 2018;62(2):877–85.