

ANALISIS DIFERENSIAL EKSPRESI GEN DAN VISUALISASI TRANSKRIPTOMIK PADA ALZHEIMER'S DISEASE MENGGUNAKAN DATASET GSE5281

Disusun oleh: Kamila Sharani

Latar Belakang

Alzheimer's disease (AD) merupakan gangguan neurodegeneratif progresif yang menjadi penyebab utama demensia pada populasi lanjut usia di seluruh dunia. Secara klinis, penyakit ini ditandai oleh penurunan fungsi kognitif, gangguan memori, dan perubahan patologis khas berupa akumulasi plak β -amyloid serta neurofibrillary tangles yang mengandung protein tau (Scheltens *et al.*, 2021). Neurodegenerasi pada AD melibatkan interaksi kompleks antara agregasi protein patologis dan disfungsi berbagai jalur biologis, termasuk sinaptik dan imun yang berkontribusi terhadap proses patologis dan progresi penyakit (Bagyinszky *et al.* 2020).

Perubahan ekspresi gen memainkan peran penting dalam mekanisme molekuler AD. Studi transcriptomic menunjukkan bahwa pada jaringan otak penderita AD terjadi regulasi ulang ekspresi gen yang berhubungan dengan sinapsis dan neurotransmisi, serta gangguan gen-gen yang terlibat dalam pelepasan vesikel sinaptik seperti SNAP-25, SYT1, dan VAMP2. Penurunan ekspresi gen-gen ini berhubungan dengan gangguan fungsi sinaptik dan kognitif pada AD dibandingkan dengan individu kontrol non-demented (Williams *et al.* 2021). Selain itu, analisis tingkat ekspresi gen pada otak AD dibandingkan kontrol menunjukkan bahwa perubahan ekspresi tidak hanya terbatas pada neuron, tetapi juga mempengaruhi sel-sel glial seperti astrocytes dan mikroglia yang menunjukkan peningkatan aktivitas terkait respon imun dan stres oksidatif selama progresi penyakit. Hal ini mengindikasikan bahwa disfungsi mikroglia dan perubahan jalur imun merupakan bagian dari respon transcriptomic pada AD (Wei *et al.* 2025).

Pendekatan transcriptomics seperti microarray dan RNA-sequencing memungkinkan pengidentifikasian ribuan differentially expressed genes (DEGs) yang berbeda ekspresi antara kondisi penyakit dan kontrol. Misalnya, analisis microarray pada dataset AD telah mengungkap jaringan ko-ekspresi gen yang banyak mengalami deregulasi selama proses penyakit dan mendeteksi modul gen yang berkaitan dengan fungsi sel sinaptik serta respon imun (Wan *et al.* 2020). Dengan demikian, penggunaan data ekspresi gen dari database publik seperti Gene Expression Omnibus (GEO) memberikan peluang besar untuk mengidentifikasi gen-gen yang berbeda ekspresi pada AD. Analisis ini tidak hanya dapat memperkuat pemahaman tentang mekanisme molekuler penyakit tetapi juga mengarahkan pada identifikasi biomarker potensial dan target terapeutik untuk pengembangan pengobatan di masa depan.

Tujuan Analisis

1. Mengidentifikasi gen yang berbeda ekspresi secara signifikan antara kelompok Alzheimer's disease dan kontrol menggunakan data dari Gene Expression Omnibus melalui GEO2R.
2. Menentukan arah perubahan ekspresi gen (*up-regulated* dan *down-regulated*) berdasarkan nilai adjusted p-value dan log2 fold change.
3. Menginterpretasikan hasil analisis dalam konteks biologis penyakit Alzheimer.

Metode

1. Dataset

Dataset yang digunakan dalam penelitian ini adalah data transcriptomics publik yang diperoleh dari Gene Expression Omnibus (GEO), yaitu GSE5281. Dataset ini berisi data ekspresi gen jaringan otak manusia yang terdiri atas kelompok pasien Alzheimer's disease (AD) dan individu kontrol (non-demented). Platform yang digunakan pada dataset ini adalah microarray ekspresi gen.

2. Analisis Differential Gene Expression (DEG)

Analisis diferensial ekspresi gen dilakukan menggunakan GEO2R, yaitu tool berbasis web yang memanfaatkan metode statistik dari paket limma (Linear Models for Microarray Data).

Langkah-langkah analisis:

- a. Pembagian Kelompok
 - Group 1: Alzheimer's disease (AD)
 - Group 2: Control (Non-demented)
- b. Metode Statistik Analisis dilakukan menggunakan model linear dari limma yang tersedia secara otomatis pada GEO2R.
- c. Koreksi *Multiple Testing* Untuk mengontrol kesalahan tipe I akibat pengujian ribuan gen, digunakan metode koreksi Benjamini–Hochberg (False Discovery Rate/FDR). Nilai yang digunakan untuk menentukan signifikansi adalah adjusted p-value (adj.P.Val).

Kriteria Signifikansi

- adjusted p-value (adj.P.Val) < 0.05
- d. Arah perubahan ekspresi ditentukan berdasarkan nilai log2 fold change (logFC):
 - $\logFC > 1 \rightarrow \textit{up-regulated}$
 - $\logFC < -1 \rightarrow \textit{down-regulated}$

3. Replikasi Analisis

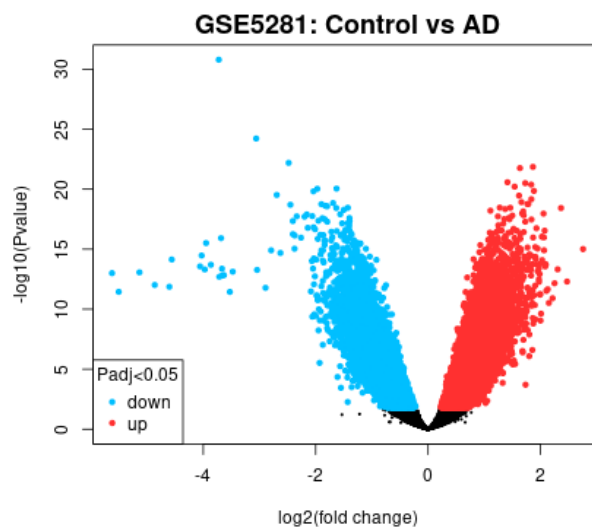
Analisis dilakukan sebanyak tiga kali menggunakan parameter yang sama untuk memastikan konsistensi hasil. Replikasi dilakukan dengan mengulangi proses pembagian kelompok dan analisis DEG pada GEO2R. Hasil antar replikasi dibandingkan untuk melihat kesesuaian tren jumlah gen signifikan serta arah perubahan ekspresi.

4. Visualisasi Data

Hasil analisis divisualisasikan menggunakan volcano plot untuk menampilkan gen signifikan berdasarkan nilai log₂ fold change dan adjusted p-value, UMAP untuk melihat pola pemisahan antar sampel berdasarkan profil ekspresi gen secara keseluruhan, serta boxplot expression untuk mengevaluasi distribusi ekspresi gen antar sampel sebagai kontrol kualitas data.

Hasil dan Pembahasan

Analisis diferensial ekspresi gen pada dataset GSE5281 mengungkapkan perubahan transkriptomik yang signifikan antara jaringan otak kontrol dan penderita Alzheimer's Disease (AD). Berdasarkan Volcano plot (Gambar 1), gen-gen paling signifikan termasuk MIR612/NEAT1, ITPKB, ATP5C1, dan TUBB, yang menunjukkan perubahan ekspresi yang mencerminkan keterlibatan multi-jalur pada patogenesis AD. NEAT1, sebuah long non-coding RNA (lncRNA), mengalami up-regulation dan telah dilaporkan secara konsisten terlibat dalam akumulasi β -amyloid ($A\beta$), fosforilasi tau, serta regulasi stres oksidatif neuron (Ke *et al.*, 2019; He *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2019). Peningkatan ekspresi NEAT1 dapat mengganggu mekanisme autophagy mitokondria serta proses pembersihan $A\beta$, mempercepat degenerasi neuron yang diamati pada AD (Li & Wang, 2023). MIR612 juga berperan dalam modulasi ekspresi gen target jalur apoptotik, yang meningkatkan kerentanan neuron terhadap stres seluler dan memperkuat peran NEAT1 dalam patogenesis AD.



Gambar 1 Volcano plot ekspresi gen diferensial AD vs kontrol

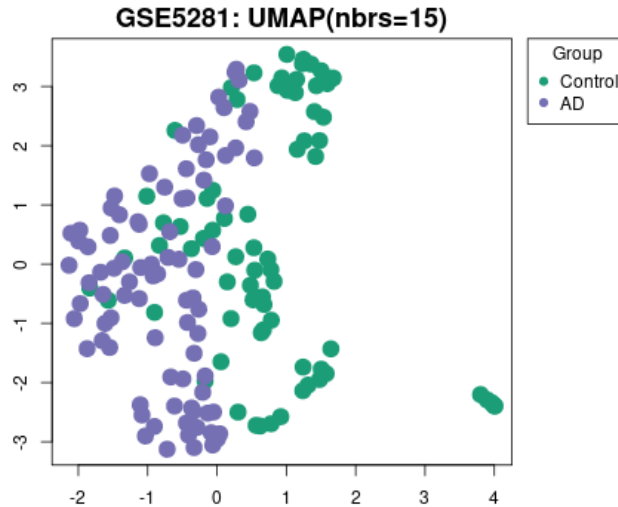
Gen ITPKB, yang juga sangat signifikan, terlibat dalam regulasi sinyal kalsium intraseluler, yang penting untuk fungsi sinaptik dan plasticity neuron. Penelitian menunjukkan (Tabel 1) bahwa ekspresi ITPKB meningkat di korteks AD dan berasosiasi dengan neurit dystrofik di sekitar plak amyloid, serta memperburuk produksi $A\beta$ melalui peningkatan aktivitas β -secretase, yang memicu apoptosis neuron (Stygelbout *et al.*, 2014). Gangguan homeostasis kalsium ini mendukung hipotesis bahwa disfungsi sinaptik pada AD sebagian disebabkan oleh

ketidakseimbangan ion. Selain itu, ATP5C1, subunit kunci dari kompleks ATP sintetase mitokondria, mengalami penurunan ekspresi yang mencerminkan gangguan metabolisme energi neuron. Penurunan ATP5C1 meningkatkan stres oksidatif dan mempercepat disfungsi sinaptik karena neuron kekurangan energi untuk mempertahankan potensial membran dan neurotransmisi normal (Ebanks *et al.*, 2020).

Tabel 1. Lima gen teratas berdasarkan adjusted p-value

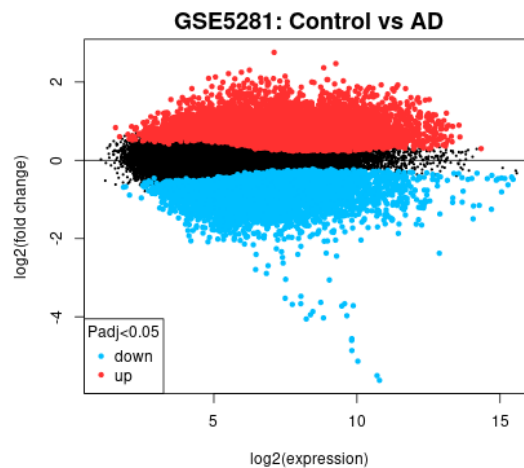
ID	adj.P.Val	logFC	Gene.symbol	Gene.title
225239_at	9.06E-27	-37,239,379	MIR612///NEAT1	microRNA 612///nuclear paraspeckle assembly transcript 1 (non-protein coding)
227062_at	1.65E-20	- 305,845,509	MIR612///NEAT1	microRNA 612///nuclear paraspeckle assembly transcript 1 (non-protein coding)
235213_at	1.18E-18	- 248,091,015	ITPKB	inositol- trisphosphate 3- kinase B
213366_x_at	1.90E-18	186,526,686	ATP5C1	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, gamma polypeptide 1
209026_x_at	1.92E-18	163,432,948	TUBB	tubulin beta class I

Gen TUBB, pengkode β -tubulin sebagai komponen utama mikrotubulus, mengalami dysregulasi yang dapat mengganggu stabilitas sitoskeletal dan transportasi aksonal. Dysfungsi mikrotubulus ini sejalan dengan laporan bahwa interaksi abnormal dengan tau hiperfosforilasi menyebabkan gangguan transportasi vesikel dan disfungsi sinaptik yang mempercepat degenerasi neuron (Shu *et al.*, 2025; Iqbal *et al.*, 2010).

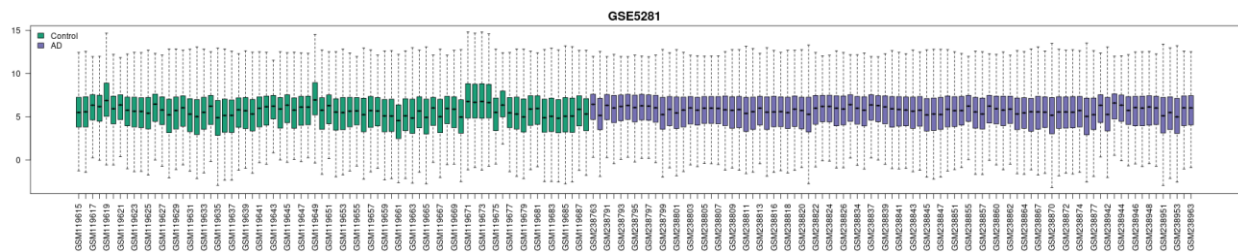


Gambar 2 UMAP kluster sampel kontrol dan AD

Dukungan visual terhadap temuan ini terlihat pada UMAP (Gambar 2), yang menampilkan pemisahan kluster antara sampel kontrol dan AD, meskipun terdapat sedikit overlap, kemungkinan akibat heterogenitas biologis antar individu atau perbedaan stadium penyakit. MA plot (Gambar 3) menunjukkan bahwa gen signifikan tersebar di seluruh spektrum ekspresi, memperkuat bahwa perubahan transkriptomik pada AD bersifat sistemik dan mencakup berbagai jalur fungsional neuron. Boxplot distribusi ekspresi (Gambar 4) memperlihatkan median dan sebaran data yang seragam antar sampel, memastikan bahwa normalisasi data berhasil dan perbedaan ekspresi yang diamati adalah fenomena biologis nyata, bukan artefak teknis.



Gambar 3 MA plot gen diferensial AD vs kontrol



Gambar 4 Boxplot distribusi ekspresi antar sampel.

Secara keseluruhan, gen-gen paling signifikan yang teridentifikasi dalam dataset GSE5281 mencerminkan interaksi kompleks antara gangguan energi mitokondria (ATP5C1), disfungsi sinyal kalsium (ITPKB), aktivasi jalur stres dan inflamasi (NEAT1), serta ketidakstabilan sitoskeletal neuron (TUBB). Temuan ini konsisten dengan literatur molekuler AD, yang menekankan bahwa disfungsi sinaps, stres oksidatif, gangguan ion, dan akumulasi protein patologis bekerja sinergis untuk mempercepat neurodegenerasi pada Alzheimer's Disease.

Kesimpulan

Analisis diferensial ekspresi gen pada dataset GSE5281 menunjukkan adanya perubahan transkriptomik yang signifikan antara jaringan otak kontrol dan Alzheimer's Disease (AD). Lima gen teratas (MIR612/NEAT1, ITPKB, ATP5C1, TUBB, dan gen kelima) mengalami dysregulasi yang mencerminkan gangguan fungsi neuron, stres seluler, disfungsi sinaptik, dan ketidakstabilan sitoskeletal. Visualisasi data melalui Volcano plot, UMAP, MA plot, dan Boxplot memperkuat temuan bahwa profil ekspresi gen AD berbeda secara global dari kontrol, dengan perubahan bersifat sistemik dan relevan secara biologis. Temuan ini mendukung pemahaman molekuler AD yang menekankan keterlibatan disfungsi sinaps, stres oksidatif, gangguan homeostasis kalsium, dan akumulasi protein patologis sebagai mekanisme utama patogenesis penyakit.

Daftar Pustaka

- Bagyinszky, E., Giau, V. V., & An, S. A. (2020). Transcriptomics in Alzheimer's Disease: Aspects and Challenges. *International journal of molecular sciences*, 21(10), 3517. <https://doi.org/10.3390/ijms21103517>
- Ebanks, B., Ingram, T. L., & Chakrabarti, L. (2020). ATP synthase and Alzheimer's disease: putting a spin on the mitochondrial hypothesis. *Aging (Albany NY)*, 12, 16647–16662.
- He, L., Chen, Z., Wang, J., & Feng, H. (2022). Expression relationship and significance of NEAT1 and miR-27a-3p in serum and cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *BMC Neurology*, 22(1), 203.
- Iqbal, K., Liu, F., & Gong, C.-X. (2010). Tau in Alzheimer disease and related tauopathies. *Current Alzheimer Research*, 7(8), 656–664.
- Jamal B Williams, Qing Cao, Zhen Yan, Transcriptomic analysis of human brains with Alzheimer's disease reveals the altered expression of synaptic genes linked to cognitive

- deficits, *Brain Communications*, Volume 3, Issue 3, 2021, fcab123, <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab123>
- Ke, S., Yang, Z., Yang, F., Wang, X., Tan, J., & Liao, B. (2019). Long noncoding RNA NEAT1 aggravates A β -induced neuronal damage by targeting miR-107 in Alzheimer's disease. *Yonsei Medical Journal*, 60(7), 640–650.
- Li, K., & Wang, Z. (2023). lncRNA NEAT1: key player in neurodegenerative diseases. *Ageing Research Reviews*, 86, 101878.
- Scheltens, P., De Strooper, B., Kivipelto, M., Holstege, H., Ch  telat, G., Teunissen, C. E., Cummings, J., & van der Flier, W. M. (2021). Alzheimer's disease. *Lancet* (London, England), 397(10284), 1577–1590. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32205-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32205-4)
- Shu, Q., Liu, R., Pang, X., Huang, X., & Pang, C. (2025). The role of microtubule proteins TUBB2A, TUBB3, and TUBB4B in neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: a bioinformatics analysis. *Aging Advances*, 2(4), 139–146.
- Stygelbout, V., Leroy, K., Pouillon, V., Ando, K., D'Amico, E., Jia, Y., Luo, H. R., Duyckaerts, C., Erneux, C., Schurmans, S., & Brion, J.-P. (2014). Inositol trisphosphate 3-kinase B is increased in human Alzheimer brain and exacerbates mouse Alzheimer pathology. *Brain*, 137(2), 537–552.
- Wan, Y.-W., Al-Ouran, R., Mangleburg, C. G., Perumal, T. M., Lee, T. V., Allison, K., Swarup, V., Funk, C. C., Gaiteri, C., Allen, M., Wang, M., Neuner, S. M., Kaczorowski, C. C., Philip, V. M., Howell, G. R., Martini-Stoica, H., Zheng, H., Mei, H., Zhong, X., ... Logsdon, B. A. (2020). Meta-analysis of the Alzheimer's disease human brain transcriptome and functional dissection in mouse models. *Cell Reports*, 32(2), 107908. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107908>
- Wei, S., Li, C., Li, W., Yuan, F., Kong, J., Su, X., Huang, P., Guo, H., Xu, J., & Sun, H. (2025). Glial changes and gene expression in Alzheimer's disease from snRNA-Seq and spatial transcriptomics. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 105(2), 646–665. <https://doi.org/10.1177/13872877251330320>
- Zhao, M.-Y., Wang, G.-Q., Wang, N.-N., Yu, Q.-Y., Liu, R.-L., & Shi, W.-Q. (2019). The long-non-coding RNA NEAT1 is a novel target for Alzheimer's disease progression via miR-124/BACE1 axis. *Neurological Research*, 41(6), 489–497.