

ABSTRAK

**PENGARUH PRAKONDISI HIPOKSIA TERHADAP EKSPRESI
*HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR (HIF) 1- α , B-CELL LYMPHOMA-2 (BCL-2), DAN MAMMALIAN TARGET OF RAPAMYCIN (mTOR) PADA
KULTUR ADIPOSED-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELL (AMSCs)***

Shafira Nadia, I Gde Rurus Suryawan, Andrianto

Latar Belakang : Kemajuan terbaru pada pengobatan *stem cells* telah memberi harapan baru untuk kerusakan miokard dengan mengeksplorasi *pluripotency* dari *stem cells* untuk regenerasi dan perbaikan jantung. Tetapi rendahnya kemampuan untuk proliferasi dan *survival* yang rendah, tetap merupakan hambatan yang besar untuk penggunaan klinis. Kondisi stres yang beragam seperti paparan terhadap stres oksidatif selama isolasi dapat menimbulkan apoptosis. Oleh karena itu diperlukan suatu strategi untuk dapat mengoptimalkan terapi *stem cells* ini. Strategi prakondisi dengan hipoksia untuk meningkatkan aktivitas AMSCs muncul sebagai alternatif strategi yang lebih aman dan sesuai dengan klinis untuk meningkatkan *viabilitas* pada *stem cells*, dan mengurangi kerusakan sel dan apoptosis dibawah stimulasi kondisi iskemik, juga meningkatkan proliferasi dan *selfrenewal* pada *stem cells*

Tujuan Penelitian : Untuk membuktikan manfaat prakondisi hipoksia pada kultur *adipose-derived mesenchymal stem cells* (AMSCs) terhadap kemampuan survival dan angiogenic AMSCs yang direpresentasikan oleh peningkatan ekspresi HIF-1 α , BCL-2 dan mTOR.

Metode Penelitian : Penelitian ini kami lakukan secara *in vitro true experimental posttest only with control group design* pada kultur AMSCs. AMSCs yang telah diisolasi dari *lipoaspirate (minimal invasive)* kemudian dilakukan identifikasi AMSCs terlebih dahulu dengan melihat ekspresi CD90⁺, CD105⁺ dan tidak terkspresinya CD45⁻ kemudian dikultur sampai dengan pasasi sel ke 4. Hasil kultur ini kemudian dipanen dan dijadikan 16 sampel per kelompok. Sampel ini kemudian dibagi dalam 2 kelompok kultur yaitu kelompok kultur normoksia (kontrol) dengan konsentrasi oksigen 21% dan kelompok perlakuan (P1) dengan konsentrasi oksigen 1% dimana kedua kelompok dikultur dalam waktu 24 jam. Setelah itu, sampel kemudian dilakukan observasi ekspresi HIF-1 α , dan ekspresi mTOR menggunakan metode *immunofluorescence* dan ekspresi BCL-2 dengan menggunakan metode *immunocytokimia*. Hasil eksperimen ditentukan distribusi datanya kemudian diuji tes beda untuk melihat signifikansi hasil eksperimen.

Hasil: Pemeriksaan dengan metode *immunofluorescence* menunjukkan peningkatan bermakna ekspresi HIF-1 α dengan pemberian prakondisi hipoksia O₂

1% dibandingkan normoksia O₂ 21% (301,13 ± 116,360 pg/ml vs 206,50 ± 46,941 pg/ml) dengan dengan nilai p<0.007, dan peningkatan sangat signifikan ekspresi mTOR dengan stimulasi prakondisi hipoksia O₂ 1% dibandingkan dengan kondisi normoksia O₂ 21% (450,25 ± 93,365 pg/ml vs 258,13 ± 76,797 pg/ml) dengan nilai p<0.0001. Pemeriksaan ekspresi BCL-2 dengan metode *immunocytochimia* juga menunjukkan peningkatan bermakna dengan pemberian stimulasi prakondisi hipoksia O₂ 1% dibandingkan dengan kondisi normoksia (5,19 ± 6,327 pg/ml vs 1,25 ± 3,568 pg/ml) dengan nilai p 0,012.

Kata kunci: *Mesenchymal Stem Cells, Hypoxia Preconditioning, Hypoxia Inducible Factor 1 α , B-Cell Lymphoma 2, Mammalian Target of Rapamycin*