

DAFTAR ISI

Sampul Luar	i
Sampul Dalam	ii
Sampul Awal Disertasi	iii
Halaman Prasyarat Gelar Doktor.....	iv
Lembar Pengesahan	v
Penetapan Panitia Penguji	vi
Ucapan Terima Kasih	vii
Ringkasan	xii
Summary	xiv
Abstract	xvi
Daftar Isi.....	xvii
Daftar Tabel	xx
Daftar Gambar	xxi
Daftar Lampiran	xxiii
Daftar Singkatan	xxiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan umum	6
1.3.2 Tujuan khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	7
1.4.2 Manfaat Praktis	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Iskemia otak.....	8
2.1.1 Epidemiologi iskemia otak	8
2.2 Patofisiologi iskemia otak.....	9
2.2.1 Pengaruh eksitasi asam amino	13
2.2.2 <i>Nitric oxide</i> dan radikal bebas	15
2.2.3 Disfungsi Mitokondria	16
2.2.4 Inflamasi ,mekanisme imun dan mikroglia.....	17
2.2.5 Kelebihan kalsium intraseluler	26
2.2.6 Apoptosis.....	28
2.2.7 Stres oksidatif dan MDA	34
2.3 Hipokampus.....	38
2.3.1 Struktur hipokampus	38
2.3.2 Fungsi hipokampus	40
2.3.3 Perkembangan hipokampus	41
2.4 Terapi sel punca	42

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

2.4.1	Sejarah sel punca	42
2.4.2	Definisi	43
2.4.3	Klasifikasi	43
2.4.4	Cara pemberian	45
2.4.5	Faktor yang menentukan keberhasilan terapi	47
2.4.6	<i>Adipose derived neural stem cell</i>	48
2.4.7	Mekanisme sel punca pada iskemia otak	50
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1	Kerangka konseptual.....	65
3.2	Hipotesis.....	67
BAB 4	METODE PENELITIAN	
4.1	Jenis dan rancangan penelitian	68
4.2	Unit penelitian	69
4.3	Identifikasi variabel dan definisi operasional	71
4.3.1	Identifikasi variabel	71
4.3.2	Definisi operasional.....	71
4.4	Bahan penelitian	75
4.4.1	Pembuatan adipose derived neural progenitor stem cell	75
4.4.2	Pemeriksaan imunohistokimia	80
4.4.3	Pemeriksaan imunositokimia	84
4.4.4	Pemberian label PKH 26	85
4.4.5	Pemeriksaan TUNEL <i>staining</i>	86
4.4.6	Prosedur ligasi arteri kartis komunis, hipoksia, reperfusi dan transplantasi intraserebral ADNCS	87
4.4.7	Prosedur pemeriksaan neurologi	89
4.5	Waktu dan tempat penelitian	89
4.5.1	Waktu penelitian	89
4.5.2	Tempat penelitian	90
4.6	Pengolahan dan analisa data	90
4.7	Alur penelitian	91
BAB 5	HASIL PENELITIAN	
5.1	Gambaran Umum Hasil Penelitian	94
5.2	Karakteristik dan Persiapan Hewan Coba	94
5.3	Pelabelan dengan PKH 26	96
5.4	Skor Neurologi	96
5.5	Ekspresi TNF- α	97
5.6	Ekspresi IL-10	99
5.7	Ekspresi NGF	101
5.8	Ekspresi MDA	103
5.9	Ekspresi Caspase 3	105
5.10	Ekspresi Sel yang mengalami Apoptosis	108

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

5.11	Analisis Jalur Hubungan Antar Variabel.....	110
5.11.1	Analisis Jalur Kelompok Normal dan Kelompok Ligasi	110
5.11.2	Analisis jalur kelompok ligasi dengan kelompok ADNSC	112
BAB 6	PEMBAHASAN	
6.1	Metode iskemia otak pada tikus	115
6.2	Adipose derived neural progenitor stem cell	120
6.3	Ekspresi TNF- α	123
6.4	Ekspresi IL-10	129
6.5	Ekspresi NGF	132
6.6	Ekspresi MDA	136
6.7	Ekspresi Caspase 3	139
6.8	Sel yang mengalami apoptosis	141
6.9	Analisis jalur	145
6.10	Temuan baru	151
6.11	Keterbatasan penelitian	152
BAB 7	PENUTUP	
6.1	Kesimpulan	154
6.2	Saran	155
	Daftar Pustaka	156

DAFTAR TABEL

5.1	Karakteristik subyek penelitian	95
5.2	Skor neurologi pasca ligasi AKK	97
5.3	Uji Normalitas Distribusi Data Ekspresi TNF- α pada masing-masing Kelompok.....	97
5.4	Perbandingan Ekspresi TNF- α antar kelompok	97
5.5	Uji Normalitas distribusi data ekspresi IL-10 pada tikus masing – masing kelompok.....	100
5.6	Perbandingan Ekspresi IL 10 antar kelompok	100
5.7	Uji Normalitas Distribusi Data Ekspresi NGF pada masing-masing Kelompok.....	102
5.8	Perbandingan ekspresi NGF antar kelompok	102
5.9	Uji Normalitas Distribusi Data Ekspresi MDA masing-masing kelompok	104
5.10	Perbandingan Ekspresi MDA antar kelompok.....	104
5.11	Uji Normalitas distribusi data ekspresi Caspase 3 masing-masing kelompok	106
5.12	Perbandingan Ekspresi Caspase 3 antar kelompok	106
5.13	Uji Normalitas distribusi data sel yang mengalami Apoptosis masing-masing Kelompok	108
5.14	Perbandingan Sel yang mengalami Apoptosis antar kelompok	108
5.15	Koefisien jalur dan kemaknaan antar variabel pada kelompok normal dan kelompok ligasi	110
5.16	Koefisien jalur dan kemaknaan antar variabel pada kelompok ligasi dan kelompok ADNCS	112

DAFTAR GAMBAR

2.1	Pembentukan ATP dalam sel yang mengalami anoksia atau hipotermia	11
2.2	Skema peristiwa yang terjadi pada cedera otak akibat iskemia	13
2.3	Skema kematian neuron eksitotoksik pada cedera otak hipoksik iskemia	14
2.4	Jalur-jalur penyebab kematian sel pada iskemia-reperfusi	17
2.5	Kaskade inflamasi pada otak setelah HI	19
2.6	Mediator seluler utama dan <i>soluble</i> dari respon imun yang Ditimbulkan oleh HI	19
2.7	Iskemia meningkatkan ekspresi IL-10 dan reseptor IL-10 pada Tikus.....	25
2.8	Disfungsi mitokondria dan kalsium menyebabkan kematian sel pada iskemia-reperfusi otak	27
2.9	Jalur ekstrinsik keterlibatan caspase 3 pada mekanisme apoptosis	34
2.10	Jalur intrinsik keterlibatan caspase 3 pada mekanisme apoptosis.....	34
2.11	Proses peroksidase lipid	37
2.12	Pembentukan dan metabolisme MDA	37
2.13	Penampang inferomedial dari hemisfer kanan.....	39
2.14	Konfigurasi dari badan dan ekor hipokampus.....	41
2.15	Vaskularisasi hipokampus.....	41
2.16	Sel punca sumsum tulang	45
2.17	<i>Stem cell replacement</i>	51
2.18	Jalur perkembangan sel punca dan tipe sel punca	51
2.19	Transplantasi sel untuk cedera neuron	52
2.20	MSC dapat di induksi untuk berdiferensiasi menjadi sel <i>NSC-like</i>	52
2.21	Efek dari transplantasi mesenchymal stem cells (MSC) pada ukuran lesi	54
2.22	Transplantasi NSC menginduksi axonal sprouting	57
2.23	Diferensiasi pasca terapi MSC pada HI	57
2.24	Transplantasi sel punca mesenkimal pada Hipoksi Iskemia Ensefalopati.....	57
2.25	Jumlah mRNA sitokin pro-inflamasi dan kemokin pada jaringan otak setelah 48 jam pemberian terapi LPS dengan PCR.....	58
2.26	Jumlah mRNA sitokin pro-inflamasi pada jaringan otak sesudah 48 jam pemberian MSC ditentukan dengan PCR	59
2.27	Ekspresi NGF, BDNF dan bFGF	61
2.28	Grafik batang menunjukkan kadar faktor neurotropik NGF, BDNF bFGF pada tikus yang mendapat terapi dan tikus kontrol.....	62
2.29	Ekspresi NGF meningkat setelah transplantasi MSC pada tikus Dengan TBI.....	63
2.30	Immunostaining NGF menunjukkan protein NGF yang diekspresikan pada kultur SMS	63
2.31	<i>Enzyme-linked immunoabsorbent assay</i> (ELISA) pada protein	

	NGF media dari kultur SMS	64
2.32	ELISA protein NGF pada cairan cerebrospinal (CSF) dari tikus setelah injeksi intraventrikular SMS	64
3.1	Kerangka konseptual	65
4.1	Rancangan penelitian	68
4.2	Proses pengambilan lemak tikus	75
4.3	MSC tampak konfluen setelah 16 hari kultur.....	77
4.4	Marker positif untuk MSC	78
4.5	Marker negatif untuk MSC	78
4.6	Morfologi <i>adipose derived neural progenitor stem cell</i>	79
4.7	Marker positif untuk <i>Adipose derived Neural Progenitor Stem Cell</i>	80
4.8	Hewan coba tikus yang dilakukan ligasi AKK	88
4.9	Proses transplantasi intraserebral APNSC	89
4.10	Alur Penelitian.....	93
5.1	ADNSC yang dilabel dengan PkH 26	96
5.2	Gambar box-plot ekspresi TNF- α masing-masing kelompok	98
5.3	Gambaran mikroskopis ekspresi TNF- α pada pewarnaan IHK	99
5.4	Gambar box-plot ekspresi IL-10 pada masing-masing kelompok	100
5.5	Gambaran mikroskopis ekspresi IL-10 pada pewarnaan IHK	101
5.6	Gambar box-plot ekspresi NGF masing-masing kelompok	102
5.7	Gambaran mikroskopis ekspresi NGF pada pewarnaan IHK	103
5.8	Gambar box-plot ekspresi MDA masing-masing kelompok	105
5.9	Gambaran mikroskopis ekspresi MDA pada pewarnaan IHK	105
5.10	Gambar box-plot ekspresi Caspase-3 masing-masing kelompok	107
5.11	Gambaran mikroskopis ekspresi Caspase-3 pada pewarnaan IHK	107
5.12	Gambar box-plot sel yang mengalami Apoptosis masing-masing kelompok	109
5.13	Gambaran mikroskopis Sel yang mengalami Apoptosis dengan TUNEL <i>Assay</i>	109
5.14	Analisis jalur kelompok normal dan kelompok ligasi	111
5.15	Ringkasan analisis jalur kelompok normal dan kelompok ligasi	111
5.16	Analisis jalur kelompok ligasi dengan kelompok ADNSC	113
5.17	Ringkasan analisis jalur kelompok ligasi dengan kelompok ADNSC.....	113
6.1	Patofisiologi iskemia otak dan proses apoptosis serta peran ADNSC	152

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Sertifikat Laik Etik	173
Lampiran 2 Hasil Analisa Statistik	174
Lampiran 3 Reagen Laboratorium	199
Lampiran 4 Publikasi Penelitian	217

DAFTAR SINGKATAN

A	: Alveus
AIF	: <i>Apoptosis Inducing Factor</i>
AKK	: Arteri Karotis Komunis
Akt	: Protein Kinase B
AMPA	: <i>α-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid</i>
ADNSC	: <i>Adipose derived Neural Progenitor Stem Cell</i>
AS	: <i>Anterior Calcarine Sulcus</i>
ASPP	: <i>Apoptosis Stimulating Protein P</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
Bad	: <i>Bcl-xl/Bcl-2 associated death protomer</i>
Bax	: <i>BCL-2 associated X</i>
BBB	: <i>Blood brain barrier</i>
Bcl-2	: <i>B-Cell Lymphoma 2</i>
BDNF	: <i>Brain Derived Nerve Factor</i>
BFGF	: <i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
BMSc	: <i>Bone Marrow Stem Cell</i>
C	: Crus of Fornix
Ca	: Calcium
CARD	: <i>Caspase Recruitment domain</i>
CBF	: <i>Cerebral blood flow</i>
CD	: <i>Cluster of differentiation</i>
CEC	: <i>Cerebral Endothelial Cell</i>
CG	: <i>Cingulate Gyrus</i>
CoS	: <i>Collateral Sulcus</i>
CS	: <i>Cingulate Sulcus</i>
DAMP	: <i>Danger Associated Molecular Pattern</i>
DED	: <i>Death Effector Domain</i>
DG	: <i>Dentate Gyrus</i>
DISC	: <i>Death Inducing Signaling Complex</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EA	: <i>Entorhinal Area</i>
EAA	: <i>Excitatory Amino Acids</i>
EC	: <i>Entorhinal Cortex</i>
EEG	: Electroensefalografi
EHI	: Ensefalopati Hipoksik Iskemik
EPC	: <i>Endotelial Progenitor Cells</i>
ESWT	: <i>Extra Corporeal Shock Wave</i>
F	: Fimbria
FADD	: <i>Fas Associated Death Domain</i>
FasL	: Fas ligan
Fc	: <i>fasciola cinerea</i>
G	: Gyrus fasciolaris
GDNF	: <i>Glial cell line-derived Neurotrophic Factor</i>

GFAP	: <i>Glial Fibrillary Acidic Protein</i>
GFP	: <i>Green Fluorescens Protein</i>
GMFM	: <i>Gross Motor Function Measurement</i>
GSH-Px	: <i>Glutathion Peroksidase</i>
GSK-3	: <i>Glikogen Sintase Kinase-3</i>
hAECs	: <i>Human Amniotic Epithelial Cells</i>
HI	: <i>Hipoksik Iskemia</i>
hMSC	: <i>human Mesenchymal Stem Cell</i>
HSC	: <i>Haemopoetic Stem Cells</i>
HSP	: <i>Heat Shock Protein</i>
hUC-MSc	: <i>Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell</i>
ICAD	: <i>Inhibitor Caspase-Aktivated Deoxyribonuklease Inhibitor</i>
ICAM	: <i>Intercellular Adhesion Molecule</i>
ICM	: <i>Inner Cell Mass</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
iPSC	: <i>Induced pluripotent Stem Cells</i>
Is	: <i>Isthmus</i>
JNK	: <i>Jun N-terminal Kinase</i>
LCF	: <i>Leukocyte Chemotacting Factor</i>
LMWH	: <i>Low Molecular Weight Heparin</i>
M	: <i>Margo denticulatus</i>
MAC	: <i>Membrane Attack Complex</i>
MAP	: <i>Microtubule-associated protein</i>
MAPK	: <i>Mitogen activated protein kinase</i>
MBP	: <i>Myelin Basic Protein</i>
MCA	: <i>Middle Cerebral Artery</i>
MCAo	: <i>Middle Cerebral Artery Occlusion</i>
MCP	: <i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MDA	: <i>Malondealdehyde</i>
MMP	: <i>Metalloproteinase</i>
MRNA	: <i>Messenger Ribo Nucleic Acid</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cell</i>
MSCF	: <i>Macrofag Colony Stimulating Factor</i>
Na	: <i>Natrium</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NFκB	: <i>Nuclear Factor Kappa-B</i>
NGF	: <i>Nerve Growth Factor</i>
NMDA	: <i>N-Methyl-D-aspartate</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
NOS	: <i>Nitric Oxide Sintase</i>
NOX	: <i>NADPH Oxidase</i>
NPC	: <i>Neural Precursor Cell</i>
NRF2	: <i>Nuclear factor erythroid-derived 2</i>
NSC	: <i>Neural Stem Cell</i>
NT – 3	: <i>Neurotrophin-3</i>

PAF	: <i>Platelet Activating Faktor</i>
PARP	: <i>Poly ADP-Ribose Polymerase</i>
PDK	: <i>Phosphoinositide-dependent protein kinase</i>
PI3K	: <i>Phosphatidylinositol-3-Kinase</i>
PIG	: <i>p53 Inducible Gene</i>
PS	: <i>Palsi Serebral</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
R	: <i>Gyrus of Andreas Retzius</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen spesies</i>
RS	: <i>Rhinal Sulcus</i>
S	: <i>Subiculum</i>
SC	: <i>Subcallosal Sulcus</i>
SCI	: <i>Spinal Cord Injury</i>
SG	: <i>Subcallosal Gyrus</i>
SHRSP	: <i>Stroke-prone spontaneously hypertensive</i>
SMS	: <i>Sel Marrow Stromal</i>
SOD	: <i>Superoxide dismutase</i>
Sp	: <i>Splenium dari corpus callosum</i>
SS	: <i>Subparietal Sulcus</i>
SSP	: <i>Sistem Saraf Pusat</i>
TBARS	: <i>Thiobarbituric acid-reactive substances</i>
TBI	: <i>Traumatic Brain Injury</i>
TGF	: <i>Transforming Growth Factor</i>
Th	: <i>T Helper</i>
ThV	: <i>Temporal Horn Ventrikel Lateralis</i>
TLR-4	: <i>Toll Like Receptor-4</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TNFR1	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor 1</i>
TNFR2	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor 2</i>
TRADD	: <i>TNF-Reseptor Associated Death Domain protein</i>
TRAIL	: <i>TNF-Related Apoptosis Inducing Ligan</i>
TrkA	: <i>Tropomyosin kinase receptor A</i>
TUNEL	: <i>Terminal deoxycucleotidyl transferase-mediated 2 deoxyuridine 5-triphosphate nick-end labeling</i>
U	: <i>Uncus</i>
UCB	: <i>Umbilical Cord Blood</i>
VCAM	: <i>Vascular cell adhesion molecule</i>
VDAC	: <i>Voltage-gated-kanal anion</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>
WT	: <i>Wild type</i>