

## ABSTRAK

### Pemanfaatan Produk Sekretom MSC dari Tali Pusat Manusia yang Dikultur dalam Kondisi Hipoksia pada Model Degenerasi Hippocampus

**Latar Belakang:** Metode terapi sel punca merupakan salah satu strategi yang menjanjikan untuk berbagai jenis masalah kesehatan, termasuk penyakit degenerasi jaringan saraf. Faktor pertumbuhan dalam produk sekretom sel punca yang berperan pada terapi penyakit degenerasi jaringan saraf antara lain adalah *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), *nerve growth factor* (NGF), dan *vascular endothelial growth factors* (VEGF). Optimasi kondisi kultur sel punca diharapkan dapat meningkatkan kadar faktor pertumbuhan dalam sekretomnya sehingga akan meningkatkan potensi terapinya.

**Metode:** Penelitian ini adalah penelitian eksperimental 2 tahap. Tahap 1 adalah pencarian kondisi hipoksia dan durasi inkubasi yang paling optimal. Kultur MSC dari tali pusat manusia dilakukan pada berbagai kadar oksigen (21%, 10%, 5%, dan 1%) dan durasi inkubasi (48 jam, 72 jam, dan 96 jam) dalam media kaya asam amino, tanpa tambahan serum. Pemilihan kondisi kultur optimal dilakukan berdasarkan jumlah dan morfologi sel, serta sekresi faktor pertumbuhan BDNF, NGF, dan VEGF dalam produk sekretom MSC. Tahap 2 adalah uji manfaat pemberian produk sekretom MSC pada hewan coba model degenerasi hippocampus yang diinduksi TMT. Injeksi produk sekretom MSC sebanyak 1-2 mL per hari melalui vena lateral ekor mulai diberikan pada hari ke-15 hingga hari ke-21 pasca injeksi TMT. Uji *Morris Water Maze* (MWM) dilakukan mulai hari ke-22 sampai hari ke-27. Uji *Y-Maze* dilakukan pada hari ke-27. Pada hari ke-28, tikus dikorbankan dan dilakukan pengambilan jaringan hippocampus untuk pemeriksaan volume hippocampus, jumlah sel piramidal dan kadar BDNF.

**Hasil:** Sekresi BDNF pada kondisi normoksia terinduksi pada durasi inkubasi 48 jam, dan setelah itu meningkat sampai mencapai kadar tertingginya pada rerata  $181,9 \pm 13,01$  pg/mL pada durasi 96 jam. Kadar BDNF pada kondisi hipoksia tidak setinggi pada kondisi normoksia. Sekresi NGF tidak terdeteksi pada semua durasi inkubasi baik pada kondisi normoksia maupun hipoksia. Sekresi VEGF hampir tidak terdeteksi pada kondisi normoksia, tetapi mencapai kadar tertingginya pada rerata  $7707,55 \pm 2110,85$  pg/mL pada kondisi hipoksia 5% dan durasi inkubasi 96 jam. Pemberian produk sekretom sebanyak 1-2 mL per hari selama 7 hari dapat meningkatkan kadar BDNF dalam hippocampus, tetapi belum dapat memperbaiki memori spasial tikus model degenerasi hippocampus berdasarkan uji MWM dan *Y-Maze*.

**Simpulan:** Kombinasi media kaya asam amino dan kondisi hipoksia dapat meningkatkan sekresi VEGF, khususnya pada kondisi hipoksia 5%. Kombinasi tersebut tidak mempengaruhi sekresi NGF dan BDNF. Pemberian produk sekretom sebanyak 1-2 mL per hari secara intravena selama 7 hari pada model degenerasi hippocampus belum dapat memperbaiki memori spasial tikus model degenerasi hippocampus.

**Kata kunci:** produk sekretom, MSC, tali pusat manusia, BDNF, NGF, VEGF, degenerasi hippocampus, memori spasial

## ABSTRACT

### *Application of Hypoxia Preconditioned Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Secretome to Hippocampal Degeneration Model*

**Background:** Stem cell therapy is a promising strategy for many health problems, including neurodegeneration diseases. Some of the growth factors in the secretome of mesenchymal stem cell which has therapeutic potential for neurodegeneration diseases are brain-derived neurotrophic factor (BDNF), nerve growth factor (NGF), and vascular endothelial growth factors (VEGF). Optimization of the culture condition of the stem cells were expected to enhance the secretion of those growth factors in the stem cells's secretome, which will enhance the secretome's therapeutic potential.

**Methods:** This is a 2-phase experimental study. First phase is the optimization of the hypoxic condition and incubation duration. hUC-MSCs were cultured in normoxic and various hypoxic (1%, 5%, 10%) conditions in an amino acid-rich culture medium. The end-point parameters (cell proliferation and survival, cell morphology and growth factor secretion) were measured at 3 time-points (48 h, 72 h, and 96 h). ELISA-based methods were used for BDNF, VEGF, and NGF detection. The second phase is the application of the secretome to TMT induced hippocampal degeneration animal model. The secretome was given 1-2 mL intravenously through tail vein per day from day-15 to day-21 post-TMT injection. Morris Water Maze were conducted from day-22 to day-27. The animal model were sacrificed on day-28 and the hippocampal organ were collected for volume and cell's number analysis using stereological methods and BDNF detection using ELISA-based methods

**Results:** NGF secretion was not detectable at any time points both in normoxia and hypoxia. BDNF secretion under normoxia was induced at 48 h time point and reached the highest level at an average of  $181.9 \pm 13.01$  pg/mL at 96 h, whereas hypoxia exposure to hUC-MSCs only induced the BDNF secretion at low level. VEGF secretion was barely detectable in normoxic condition. However, VEGF secretion reached the highest level at an average of  $7707.55 \pm 2110.85$  pg/mL in 5% hypoxia at 96 h. The application of the secretome enhanced the BDNF in the hippocampus, but had no effect on the spatial memory.

**Conclusion:** Combination of amino acid-rich culture medium and hypoxia condition dramatically induced high VEGF secretion by hUC-MSCs, especially at 5% hypoxia. However, such combination did not have any significant effect toward the secretion of NGF and BDNF. The injection of 1-2 mL hUC-MSCs' secretome per day intravenously for 7 days to hippocampal degeneration model had no effect on the recovery of spatial memory.

**Key words:** secretome, mesenchymal stem cell, human umbilical cord, BDNF, NGF, VEGF, hippocampal degeneration, spatial memory