

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stroke iskemik

2.1.1 Fisiologi otak

Berat otak manusia berkisar antara 1200 – 1400 gram merupakan 2% dari berat badan total manusia. Saat keadaan istirahat otak memerlukan oksigen sebanyak 20% dari seluruh kebutuhan oksigen tubuh dan memerlukan 70% glukosa tubuh. Setiap menit otak memerlukan 800 cc oksigen dan 100 mg glukosa sebagai sumber energi.³³

Otak memerlukan glukosa untuk menghasilkan energi melalui proses glikolisis dan siklus Krebs serta membutuhkan $\pm 4 \times 10^{21}$ ATP per menit. Glukosa merupakan sumber utama yang dibutuhkan sel otak selain oksigen. Kecepatan metabolisme glukosa di otak adalah 165 $\mu\text{mol}/100 \text{ gr otak}/\text{menit}$ atau 3,5 ml/100 gr otak/menit. Metabolisme glukosa terjadi terutama di mitokondria yang akan menghasilkan ATP.³⁴ Energi yang didapat ini akan dikelompokkan menjadi 2 fungsi, yaitu :

1. Energi diperlukan untuk mempertahankan integritas sel membran dan konsentrasi ion intra dan ekstra seluler, juga diperlukan untuk membuang produk toksik dari siklus biokimiawi molekuler.
2. Untuk sintesis, penyimpanan, transpor dan pelepasan neurotransmitter serta dalam mempertahankan respon elektrik.

Orang dewasa normal mempunyai aliran darah otak antara 50 – 55 ml/100 gr otak/menit^{2,33}. Bila kecepatan aliran darah otak turun di bawah kecepatan aliran normal akan terjadi peristiwa seperti yang termuat di dalam tabel 2 berikut :³³

Tabel 2. Ambang perfusi terhadap kejadian iskemia otak.

Kejadian	Kecepatan aliran darah otak
Kegagalan sintesis protein	0,55 ml/gr/menit
Glikolisis anaerob	0,35 ml/gr/menit
Pelepasan neurotransmitter glutamat di celah sinaps dan kegagalan metabolisme sel	0,2 ml/gr/menit
Depolarisasi anoksik, eksitotoksisitas glutamat, infark	0,15 ml/gr/menit

Sumber : Endress M.³³

2.1.2 Patofisiologi stroke iskemik

Menurut kriteria WHO tahun 1995, stroke didefinisikan sebagai gangguan fungsional otak yang terjadi mendadak dengan tanda dan gejala klinis baik fokal maupun global, berlangsung lebih dari 24 jam, atau dapat menimbulkan kematian, tanpa adanya penyebab lain yang jelas selain vaskuler.³⁵⁻³⁷ Proses vaskuler patologis yang dapat menyebabkan stroke iskemik yaitu emboli, trombosis, aterosklerosis, *hypertensive arteriosclerotic*, dan arteritis.^{2,38,39}

Mekanisme iskemia serebral fokal berbeda dari iskemia global. Pada iskemia global, bila secara absolut tidak ada aliran darah serebral maka akan terjadi kerusakan neuron secara ireversibel, sedangkan pada iskemia fokal selalu terdapat sirkulasi (melalui pembuluh kolateral), sehingga masih terdapat darah

yang mengandung oksigen dan glukosa yang mengalir ke regio serebral lain meskipun dalam derajat yang berbeda-beda. Infark serebral terdiri dari dua proses patofisiologis, pertama kurangnya suplai oksigen dan glukosa akibat oklusi vaskuler dan yang kedua karena perubahan metabolisme seluler akibat tidak adekuatnya energi yang tersedia selama proses iskemia serebral.²

2.1.2.1 Perubahan vaskuler

Secara makroskopik, daerah otak iskemik (penumbra) yang pucat akan dikelilingi oleh daerah yang hiperemis di bagian luar yaitu daerah yang disebut sebagai *luxury perfusion*. Hal ini terjadi karena aliran darah otak yang meningkat sebagai akibat mekanisme sistem kolateral yang mencoba mengatasi iskemia yang terjadi.^{8,36} Pada keadaan iskemia penyediaan oksigen, glukosa dan bahan makanan lain ke sel otak akan terganggu, sehingga akan menghambat mitokondria dalam menghasilkan ATP. Daerah otak dengan aliran darah otak yang kurang dari 10 ml/100 gr otak/menit secara cepat akan mengalami kerusakan ireversibel dalam waktu sekitar 6 – 8 menit, daerah ini dikenal sebagai *ischemic core*.^{5,40} Pada daerah *ischemic core* kematian sel sudah terjadi, sedangkan pada daerah penumbra sel neuron masih hidup namun apabila keadaan iskemia berlangsung berkepanjangan sel tidak dapat lagi mempertahankan integritasnya, sehingga akan terjadi kematian sel melalui proses apoptosis, suatu disintegrasi elemen-elemen seluler secara bertahap atau yang disebut juga dengan *programmed cell death*. Disintegrasi membran sel juga akan menghasilkan ion-ion radikal bebas yang dapat semakin memperburuk lingkungan seluler.^{5,41-43}

Perubahan lain yang terjadi ialah kegagalan autoregulasi di daerah iskemik, sehingga respon arteriol terhadap perubahan tekanan darah, oksigen dan karbondioksida menghilang. Aliran darah di hemisfer yang berlawanan (*diaschisis*) dengan *ischemic core* juga akan mengalami penurunan, namun dalam derajat yang lebih ringan. Perubahan ini merupakan reaksi global terhadap perubahan aliran darah otak dimana seluruh aliran darah otak berkurang. Mekanisme ini diduga karena adanya perubahan pengaturan neurotransmitter secara global.^{5,41}

2.1.2.2 Perubahan metabolisme seluler

Neurotransmitter eksitatorik ternyata berperan penting pada tahap awal kaskade iskemik. Pada jaringan dengan perfusi yang kurang dengan adanya kegagalan energi akan terjadi depolarisasi membran dan pelepasan neurotransmitter eksitatorik, seperti glutamat yang terdapat pada ruangan ekstraseluler, dimana terminal pre-sinaps melepaskan glutamat dan konsentrasinya akan meningkat hingga 20 kali lipat. Setelah dilepaskan, glutamat ditangkap oleh neuron dan sel glia. Sel glia akan mengubah glutamat menjadi glutamin oleh aktifitas enzim *glutamin sintetase*. Glutamin dapat dilepaskan dan diambil kembali oleh neuron untuk dihidrolisis menjadi glutamat. Tetapi pada keadaan iskemia terjadi pelepasan glutamat yang berlebihan dan terdapat adanya kegagalan pengambilan glutamat. Saat glutamat dilepaskan dari terminal pre-sinaps, glutamat berdifusi ke terminal post-sinaps dan berikatan dengan reseptor glutamat, menyebabkan influks Na^+ dan mendepolarisasi membran. Depolarisasi ini membuka kanal Ca^{2+} , sehingga menyebabkan Ca^{2+} memasuki sel pre-sinaps.

Pada keadaan iskemik, kejadian ini menjadi berlebihan, hal inilah yang disebut dengan *glutamate-calcium cascade*.⁵

Terdapat 2 bentuk reseptor glutamat, yaitu :

1. Reseptor ionotropik, mengatur permeabilitas kanal ion dan diklasifikasikan berdasarkan sensitivitasnya terhadap ligan *N-methyl-d-aspartate* (NMDA), *α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxasol propionate* (AMPA), kainat dan *L-2-amino-4-phosphobutyric acid* (L-AP4). Reseptor ionotropik ini memainkan peranan penting dalam penghantaran sinyal neurotransmitter eksitatorik. Eksitasi yang berlebihan dari reseptor NMDA oleh glutamat menyebabkan pembukaan kanal Ca^{2+} yang banyak dan selanjutnya ion influks ion Ca^{2+} ke dalam neuron sehingga konsentrasinya melewati ambang batas.
2. Reseptor metabotropik, berhubungan dengan protein G dan mengaktivasi metabolisme intraseluler. Memainkan peranan penting dalam mengatur arus Ca^{2+} yang disebabkan aktivasi NMDA. Pada jangka panjang mempengaruhi fungsi sel, messenger intrasel, *diacylglycerol* (DAG) dan *inositol-1,4,5-triphosphate* (IP3), yang juga berperan dalam reaksi iskemia otak ini.⁵

Berkurangnya ATP di daerah otak yang mengalami iskemia akan mengaktivasi glikolisis anaerob dan selanjutnya akan menghasilkan laktat dan peningkatan H^+ . Berkurangnya ATP neuronal akan menginaktivasi enzim Na^+/K^+ -*ATPase* yang dibutuhkan untuk transpor ion. Gangguan pada transpor ion akan mengakibatkan K^+ keluar dari sel secara pasif dan influks Ca^{2+} , sehingga terjadi

depolarisasi membran sel. H^+ terus berakumulasi di dalam sel dan juga terjadi gangguan untuk mengeluarkan Ca^{2+} dari intraseluler. Akumulasi Ca^{2+} intraseluler menyebabkan stres pada mitokondria, sehingga mengakibatkan fosforilasi oksidatif, aktivasi reseptor calmodulin yang selanjutnya akan mengaktivasi protein *kinase*, *lipase*, dan *endonuklease* yang berakhir dengan fragmentasi DNA dan kematian sel. Semua proses yang terkait dengan Ca^{2+} juga akan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS), dimana telah diyakini apabila ROS terdapat dalam jumlah yang banyak maka akan memberikan efek yang merugikan terhadap mitokondria.^{5,44}

2.1.3 Faktor risiko stroke iskemik

Faktor risiko adalah berbagai macam keadaan yang dapat memungkinkan terjadinya stroke iskemik. Faktor risiko ini dikelompokkan menjadi .^{38,45-54}

1. Tidak dapat dimodifikasi

1. Riwayat orangtua atau saudara yang pernah mengalami atau meninggal karena stroke pada usia muda.
2. Jenis kelamin laki-laki (laki-laki lebih berisiko dibanding dengan wanita)

2. Dapat dimodifikasi

1. Hipertensi
2. Diabetes
3. Dislipidemia
4. Merokok

5. Konsumsi alkohol
6. Obesitas
7. Aktivitas fisik yang kurang
8. Stenosis arteri karotis
9. Stenosis arteri vertebrobasilaris
10. Atrial fibrilasi
11. Trombus ventrikel kiri
12. Infark miokard akut
13. Kardiomiopati
14. Penyakit katup jantung
15. Hiperhomosisteinemia

2.2 Kadar glukosa darah sewaktu

Glukosa darah berasal dari karbohidrat yang asalnya dari makanan yang dikonsumsi setiap hari. Selain itu juga diperoleh melalui proses glukoneogenesis dan glikogenolisis.⁵⁵

Sebagian besar karbohidrat yang dapat dicerna di dalam makanan akhirnya akan membentuk glukosa. Karbohidrat di dalam makanan yang dicerna secara aktif mengandung residu glukosa, galaktosa dan fruktosa yang akan dilepas di intestinum. Zat-zat ini lalu diangkut ke hati lewat vena porta hati. Galaktosa dan fruktosa segera dikonversi menjadi glukosa di hati.⁵⁵

Glukosa dibentuk dari senyawa-senyawa glukogenik yang mengalami glukoneogenesis. Senyawa ini dapat digolongkan ke dalam 2 kategori :

1. Senyawa yang melibatkan konversi netto langsung menjadi glukosa tanpa daur ulang yang bermakna, seperti beberapa asam amino serta propionat.
2. Senyawa yang merupakan produk metabolisme parsial glukosa pada jaringan tertentu dan yang diangkut ke hati serta ginjal untuk disintesis kembali menjadi glukosa.

Selain itu proses glikogenolisis juga menjadi sumber glukosa di dalam darah. Glikogenolisis berarti pemecahan glikogen yang disimpan sel untuk menghasilkan kembali glukosa di dalam sel.⁵⁵

Tubuh mempunyai mekanisme tertentu untuk mempertahankan kadar glukosa darah dalam batas normal, sehingga proses-proses tersebut di atas dapat berjalan dengan normal. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi kadar glukosa darah sewaktu itu adalah :

1. Autoregulasi
2. Regulasi hormonal
3. Regulasi neural

2.2.1 Autoregulasi

Meningkatnya absorpsi glukosa oleh saluran cerna akan meningkatkan kadar glukosa intrahepatik secara paralel. Melalui proses enzimatik, hiperglikemia ini secara langsung menekan produksi glukosa endogen. Setelah terjadi penghambatan aktivitas enzim fosforilase dan glukosa 6 fosfatase, maka enzim glikogen sintetase akan diaktifkan. Walaupun berbagai jaringan tubuh mempunyai enzim glikogen sintetase untuk mensintesis glikogen dan enzim fosforilase untuk

hidrolisis glikogen, hanya hati dan ginjal yang memiliki glukosa ke dalam sirkulasi.⁵⁶

2.2.2 Regulasi hormonal

Hormon-hormon yang berperan dalam glukoregulasi :

1. Insulin, dikeluarkan oleh sel β pankreas yang berfungsi untuk menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan ambilan glukosa di jaringan. Hal ini terjadi disebabkan oleh peningkatan transpor glukosa dari bagian dalam sel ke membran sel.
2. Glukagon, dikeluarkan oleh sel α pankreas. Hormon ini meningkatkan enzim fosforilase. Hormon ini juga meningkatkan glukoneogenesis dari asam amino dan laktat dengan menghasilkan cAMP. Hal ini akan mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah.
3. Glukokortikoid, disekresikan oleh korteks adrenal. Hormon ini meningkatkan glukoneogenesis. Hal ini terjadi, karena peningkatan katabolisme di jaringan, peningkatan ambilan asam amino oleh hati dan peningkatan enzim transaminase serta enzim lainnya yang berhubungan dengan glukoneogenesis.
4. Epinefrin, disekresikan oleh medula adrenal. Hormon ini menyebabkan glikogenolisis di hati serta otot, karena stimulasi enzim fosforilasi dengan menghasilkan cAMP.
5. *Growth hormone*, disekresikan oleh kelenjar hipofisis anterior. Hormon ini menurunkan ambilan glukosa di jaringan tertentu. Sebagian efek ini

tidak langsung, karena hormon ini memobilisasi asam lemak bebas dari jaringan adiposa dan asam lemak itu menghambat penggunaan glukosa.

Bila terjadi hipoglikemia maka sekresi hormon glukagon, epinefrin, glukokortikoid dan *growth hormone* yang juga dikenal sebagai *counterregulatory hormone* akan meningkat.⁵⁵

2.2.3 Regulasi neural

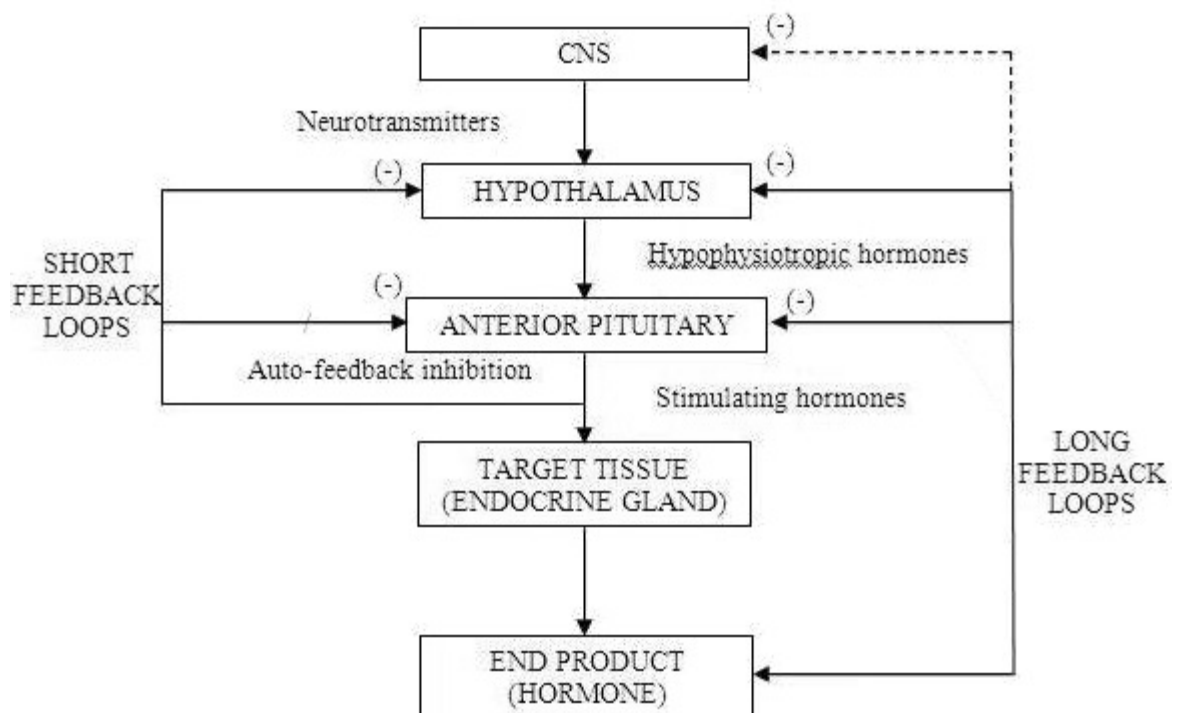
Perangsangan saraf simpatis pada hati akan menurunkan cadangan glikogen dalam hati dan akan meningkatkan produksi glukosa endogen hati sehingga terjadi hiperglikemia. Sebaliknya perangsangan saraf parasimpatis akan meningkatkan cadangan glikogen hati serta menurunkan produksi glukosa endogen hati. Pada tingkat organ target, faktor neural ini diperankan oleh norepinefrin sebagai neurotransmitter simpatetik akson terminal. Mekanisme kerjanya serupa dengan epinefrin yaitu melalui siklik AMP (cAMP).^{56,57}

Regulasi neural, pada tingkat yang lebih tinggi dari organ target, diatur oleh hipotalamus. Bagian nukleus ventromedialis hipotalamus (VMH) bersifat simpatetik sedangkan nukleus lateralis hipotalamus (LH) bersifat parasimpatetik. Kedua nukleus hipotalamus ini berpengaruh langsung terhadap enzim fosforilase dan glikogen sintetase di hati.⁵⁶

2.2.3.1 Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis

Bekerja melalui lobus anterior kelenjar hipofisis, hipotalamus mengendalikan 5 aksis endokrin. Kelima aksis neuroendokrin tersebut mengatur aspek-aspek metabolisme, reproduksi, perkembangan, dan pertumbuhan. Salah satu dari aksis tersebut ialah aksis hipotalamus-hipofisis-adrenal (*HPA axis*).⁵⁸

HPA axis mengatur sintesis dan sekresi glukokortikoid, sekelompok hormon steroid yang berperan dalam pengaturan metabolisme substrat energi. Glukokortikoid yang paling penting pada manusia ialah kortisol. Sel-sel di nukleus paraventrikel (PVN) hipotalamus mensekresikan *corticotrophin releasing hormone* (CRH), yang bersama dengan *arginin vasopresin* (AVP) bekerja sinergis untuk merangsang sel-sel kortikotrofin agar mengeluarkan *adrenocorticotrophic hormone* (ACTH). Sebagai respon terhadap ACTH, sel-sel yang terdapat di korteks adrenal mensintesis dan mensekresikan glukokortikoid. Umpan balik negatif oleh glukokortikoid di hipokampus, hipotalamus dan hipofisis mengatur sekresi dari steroid, hal ini seperti yang tampak pada gambar 1 di bawah ini.⁵⁸



Gambar 1. Umpan balik negatif yang mengendalikan neuroendokrin.

Sumber : Herman JP⁵⁸

Efek dari glukokortikoid diperantarai oleh 2 reseptor berbeda, yaitu : reseptor mineralokortikoid (MR = *Mineralocorticoid Receptor*, tipe I) yang mempunyai afinitas tinggi terhadap kortisol dan reseptor glukokortikoid (GR = *Glucocorticoid Receptor*, tipe II) yang mempunyai afinitas rendah bahkan hingga 10 kali lipat terhadap kortisol. Reseptor mineralokortikoid terdapat dalam jumlah yang besar pada sistem limbik. Reseptor glukokortikoid terletak lebih menyebar dan diekspresikan pada glia sebagaimana halnya dengan neuron; reseptor menduduki sel yang sama di hipokampus. Pada sekresi kortisol keadaan basal reseptor mineralokortikoid banyak ditempati, sedangkan reseptor glukokortikoid ditempati hanya saat konsentrasi kortisol meninggi, misalnya saat pagi hari.⁵⁸

MR dan GR merupakan anggota dari kelompok besar reseptor yang meliputi reseptor untuk steroid lainnya (reseptor estrogen, reseptor progesteron, reseptor androgen), reseptor hormon tiroid, dan reseptor vitamin D3 dan asam retinoat. Glukokortikoid bersifat lipofilik dan akibatnya dapat berdifusi melalui membran plasma sel. MR dan GR terdapat di sitoplasma, membentuk kompleks dengan *heat shock protein* yang bersifat sebagai penghantar molekuler, menyeimbangkan reseptor agar tetap pada susunan fungsionalnya. Mengikat suatu ligan kepada reseptornya menyebabkan ligan tersebut mengalami translokasi ke dalam nukleus dimana selanjutnya ligan tersebut mengikat rangkaian DNA tertentu, yang disebut dengan *hormone responsive elements*, sehingga menyebabkan meningkat atau menurunnya transkripsi dari gen tertentu.⁵⁸

Sel-sel kortikotrofin yang terdapat di hipofisis anterior, sel-sel di nukleus paraventrikel yang mensekresikan CRH dan neuron-neuron hipokampus mengekspresikan GR. Ketika konsentrasi glukokortikoid meningkat, GR teraktivasi dan menyebabkan terhambatnya transkripsi gen untuk CRH dan AVP. Hal inilah yang menjadi mekanisme umpan balik negatif terhadap konsentrasi glukokortikoid.⁵⁸

2.2.3.2 Respon stres

HPA axis diaktivasi oleh keadaan stres. Namun belum ada penjelasan yang memuaskan mengenai definisi dari stres itu sendiri. Stresor fisiologis seperti rasa lapar, haus, aktivitas fisik ataupun trauma bersifat umum, mengancam homeostasis dan respon fisiologis yang akan terjadi (termasuk aktivasi HPA) merupakan suatu tindakan untuk mempertahankan atau mengembalikan homeostasis. Stresor psikologis tidak secara langsung mengacaukan homeostasis, ataupun individunya dan respon stres yang terjadi dapat dipelajari. Stresor psikologis menghasilkan perasaan emosional : gelisah, takut, marah, frustrasi, depresi, dan sebagainya, dimana timbulnya dan besarnya perasaan tersebut bergantung pada penilaian seseorang terhadap suatu keadaan. Definisi lain yang sering dipakai mengenai stres ialah suatu keadaan dimana terdapat peningkatan konsentrasi ACTH dan glukokortikoid yang berkepanjangan.^{58,59}

Peningkatan sekresi glukokortikoid sangat berguna dalam keadaan stres. Glukokortikoid memobilisasi lemak dan asam amino dari lemak dan sel otot yang selanjutnya akan digunakan sebagai substrat untuk glukoneogenesis di hepar. Sebagian besar dari glukosa yang baru tersebut kemudian diubah menjadi

glikogen melalui glikogenolisis dan disimpan. Sebagai tambahan, glukokortikoid mempunyai efek potensiasi dengan katekolamin.⁵⁸

Aktivasi *HPA axis* pada keadaan stres terjadi sebagai akibat adanya berbagai input yang mempengaruhi sel-sel di nukleus paraventrikel yang mensekresikan CRH. Input-input tersebut ialah :^{8,58}

1. Timbulnya bangkitan stres dapat mengaktifkan neuron-neuron noradrenergik yang terdapat di lokus seruleus yang berjalan menuju nukleus paraventrikel.
2. Sensasi viseral yang berhubungan dengan rasa lapar dan haus dijalarkan melalui nervus glosofaringeus (IX) dan vagus (X) ke nukleus di traktus solitarius dan daerah yang berbatasan dengan medula. Rangkaian ini menyebabkan akson-akson katekolaminergik mengaktifasi nukleus paraventrikel.
3. Input dari organ vaskular lamina terminalis dan organ subforniks, yang memberikan respon terhadap peningkatan osmolalitas dan angiotensin II, berjalan menuju sel-sel di nukleus paraventrikel yang mensekresikan CRH dan akibatnya membuka suatu jalan untuk mengaktifasi *HPA axis* saat keadaan dehidrasi.
4. Neuron-neuron yang terdapat di mesensefalon dan pons, kebanyakan diantaranya kolinergik, mengarah ke nukleus paraventrikel dan diduga menjalankan input yang berasal dari visual, pendengaran, dan somatosensorik (termasuk nosiseptif) yang berhubungan dengan keadaan stres (misalnya suara keras yang mengejutkan).

5. Kebanyakan nukleus-nukleus di hipotalamus berjalan menuju nukleus paraventrikel dan hubungan ini diduga merupakan suatu saluran informasi mengenai keadaan stres yang dikumpulkan dari korteks prefrontal dan struktur limbik seperti amigdala atau hipokampus.

Konsentrasi glukokortikoid yang tinggi yang terlihat saat keadaan stres menyebabkan ditempatinya 50% dari reseptor-reseptor glukokortikoid di nukleus paraventrikel dan hipokampus dan menyebabkan terhentinya respon stres melalui mekanisme umpan balik negatif. *HPA axis* sangat lebih sensitif terhadap aktivasi stres dan mekanisme inhibisi umpan balik negatif ketika konsentrasi glukokortikoid darah pada kadar terendah.⁵⁸

Aktivasi *HPA axis* yang berlarut-larut karena stres kronik mengakibatkan efek yang merusak. Konsentrasi kortikosteroid yang tinggi yang bekerja melalui reseptor glukokortikoid akan meningkatkan transmisi asam amino eksitatorik dan meningkatkan influks kalsium ke dalam sel-sel hipokampus melalui pompa Ca^{2+} *voltage-dependent*, sehingga akibatnya mematikan sel-sel tersebut. Kemungkinan hal ini yang mengakibatkan ditemukannya pengurangan jumlah sel-sel piramidal di hipokampus tikus yang berusia lanjut, yang disertai juga dengan ditemukannya pengurangan reseptor glukokortikoid sehingga membuat efektivitas umpan balik glukokortikoid berkurang; baik pada tikus dan manusia yang berusia lebih tua konsentrasi kortikosteroid untuk kembali ke keadaan basal membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan yang berusia lebih muda.⁵⁸

Konsentrasi glukokortikoid yang menetap dalam jumlah yang sangat tinggi dapat menekan kerja dari sel-sel sistem imunitas tubuh. Stres dalam tingkat yang tinggi dapat meningkatkan risiko terjadinya infeksi.⁵⁸

2.3 Efek hiperglikemia terhadap kerusakan otak

Banyak penelitian, baik pada hewan coba ataupun pada manusia yang menunjukkan hiperglikemia dihubungkan dengan hasil akhir yang buruk pada penderita stroke iskemik.^{11-13,24-26,60} Hal ini disebabkan karena reperfusi yang efektif setelah rekanalisasi pembuluh yang tersumbat mengalami gangguan.

2.3.1 Biokimia hiperglikemia pada endotel

Hiperglikemia menimbulkan bermacam-macam perubahan biokimia di dalam sel endotel. Sel endotel, termasuk yang terdapat di dalam pembuluh darah serebral, mengangkut glukosa melalui *GLUT-1 transpoter*. Hiperglikemia intraseluler meningkatkan glikolisis dan selanjutnya meningkatkan piruvat, yang menggerakkan siklus *tricarboxylic acid* (TCA). Peningkatan aliran yang melalui siklus TCA menyebabkan peningkatan aktivitas transpor elektron dan sebagai akibatnya peningkatan gradien proton yang melintasi membran sisi dalam mitokondria. *Reactive oxygen species* (ROS) yang terbentuk akan mengaktivasi enzim *poly(ADP-ribose) polymerase* (PARP), yang selanjutnya akan menghambat enzim *glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase* (GAPDH). Inhibisi dari enzim GAPDH tersebut akan menghambat mekanisme glikolisis di tahap akhir, membatasi aliran yang melalui siklus TCA dan menyebabkan membesarnya substrat yang terlibat di dalam mekanisme glikolisis di tahap awal. Keberadaan

substrat tersebutlah yang akan mempengaruhi proses biokimia dan jalur metabolisme lainnya, meliputi : jalur pentosa fosfat (PPP = *pentose phosphate pathway*) yang menghasilkan *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH), jalur *diacylglycerol* (DAG) yang mengaktivasi *protein kinase C* (PKC), jalur *hexosamine* (*hexosamine pathway*) dan *methylglyoxal* yang akan memodifikasi protein intrasel, dan jalur polyol yang meningkatkan rasio NADH:NAD⁺. Berbagai proses tersebut diilustrasikan pada gambar 2.⁶⁰

2.3.2 *Hexosamine pathway* (Jalur *hexosamine*)

Jalur *hexosamine* mensintesis *uridine 5'-diphospho N-acetylglucosamine* (UDP-GlcNAc), yang digunakan untuk proses *O-acetylglucosamination* terhadap protein nukleoplasma, menggunakan substrat *glutamine* dan *fructose-6-phosphate*. Sel endotel di seluruh sistem vaskuler yang terpapar glukosa dengan kadar yang tinggi akan menghasilkan UDP-GlcNAc yang berlebihan. Jadi, hiperglikemia akan secara cepat meningkatkan keberadaan substrat yang akan digunakan untuk proses modifikasi protein melalui peristiwa *O-acetylglucosamination*.⁶⁰

Meningkatnya aliran air yang melalui jalur *hexosamine* akan mempengaruhi pembuluh darah karena akan terjadi perubahan fungsi protein. Protein yang mengalami perubahan fungsi tersebut itu ialah enzim *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) dan Sp1.^{60,61}

Enzim eNOS merupakan enzim yang aktif dan merupakan sumber *nitric oxide* (NO) vaskuler yang utama pada keadaan yang normal. NO mempunyai banyak fungsi, yaitu : menstimulasi produksi cGMP yang berguna untuk vasodilatasi, menghambat adhesi leukosit dan trombosit ke dinding pembuluh

darah, dan menghambat aktivasi *nuclear factor κ B* (NF κ B). Hilangnya keberadaan NO ini ditemukan pada sejumlah keadaan patologis termasuk hiperglikemia. Dalam 48 jam setelah timbulnya hiperglikemia, produksi NO yang berasal dari eNOS akan berkurang. Perubahan fungsi ini, yang disebabkan karena hiperglikemia, dapat dicegah dengan cara menghambat enzim yang bertanggungjawab untuk peristiwa jalur *hexosamine : fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFAT).⁶⁰

Keadaan hiperglikemia ini juga akan meningkatkan ekspresi gen *transforming growth factor beta 1* (TGF- β 1) dan *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1), inhibitor tPA endogen yang utama. Baik perubahan fungsi protein Sp1 maupun peningkatan ekspresi PAI-1 dan TGF- β 1 akibat hiperglikemia dapat dicegah dengan cara menghambat aliran yang terlibat di dalam jalur *hexosamine*. Penelitian ini menunjukkan bahwa proses *O-acetylglucosamination* yang terjadi sebagai akibat hiperglikemia mempengaruhi transkripsi gen yang bertanggungjawab terhadap PAI-1 dan juga mempengaruhi fungsi protein eNOS. Meskipun peristiwa ini berlangsung hanya 48 jam sampai 96 jam, namun hiperglikemia secara drastis meningkatkan substrat yang menjadi produk akhir dari jalur *hexosamine : UDP-N-acetylglucosamine*. Jadi sangat mungkin terjadi perubahan fungsi protein akibat perubahan aliran yang terlibat di jalur *hexosamine* yang meningkatkan proses *O-acetylglucosamination* yang terjadi sebagai konsekuensi dari keadaan hiperglikemia pada penderita stroke.⁶⁰

2.3.3 *Pentose phosphate pathway (Jalur pentose phosphate = PPP)*

Sel endotel yang terpapar kadar glukosa yang tinggi dapat menyebabkan berkurangnya NADPH melalui proses inhibisi PPP. Dari penelitian yang dilakukan terhadap sel endotel sapi, paparan glukosa dapat menyebabkan inhibisi enzim *glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PD, enzim yang menghubungkan *glucose-6-phosphate* yang berada di dalam proses glikolisis ke dalam PPP), yang berakibat pengurangan *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) sebanyak 50% dalam waktu 3 jam. NADPH merupakan kofaktor terhadap sejumlah enzim, termasuk *glutathione reductase*, *NAD(P)H oxidase*, eNOS dan *dihydrofolate reductase* yang diperlukan untuk biosintesis *tetrahydrobiopterin* (BH₄). Selama ini diketahui bahwa NADPH merupakan suatu antioksidan, terutama karena kemampuannya mengikat enzim atau makromolekul lainnya sehingga mencegah terjadinya kerusakan oksidatif.⁶⁰

Berkurangnya NADPH dapat menyebabkan berkurangnya *glutathione* (GSH), yang berguna untuk proses komunikasi reduksi-oksidasi serta reaksi detoksifikasi/konjugasi. Menunjang pernyataan bahwa PPP merupakan pelindung dari ancaman stres oksidatif, adanya gangguan terhadap gen G6PD dapat menyebabkan sel endotel rentan terhadap stres oksidatif yang ringan sekalipun.⁶⁰

Stres oksidatif yang dicetuskan oleh hiperglikemia terjadi karena peristiwa *eNOS uncoupling*. *eNOS uncoupling* ialah kemampuan enzim untuk menghasilkan superoksida daripada NO. Pada keadaan yang optimal, elektron mengalir dari NADPH menuju inti *heme* eNOS untuk menghasilkan substrat *ferrous-dioxygen* yang selanjutnya akan mengoksidasi *L-arginine* untuk membentuk NO dan *L-*

citrulline. Saat eNOS menjadi tidak berpasangan (*uncoupled*), *ferrous-dioxygen* akan membentuk superoksida. Jadi eNOS dapat menghasilkan baik superoksida maupun NO. Sejumlah faktor fisiologis, meliputi modifikasi protein dan dimerisasi interaksi dengan substrat lain dapat mempengaruhi *eNOS uncoupling* dan oleh karena itu superoksida dan NO selalu diproduksi dengan proporsi tertentu. Adanya kadar BH₄ yang adekuat sangat penting untuk mempertahankan dimerisasi eNOS dan mencegah eNOS untuk mengalami *eNOS uncoupling* (menjadi tidak berpasangan).⁶⁰

Sejumlah penelitian menunjukkan hubungan antara hiperglikemia dengan *eNOS uncoupling*. Kebanyakan dari penelitian tersebut menggunakan kultur sel endotel aorta dan retina untuk selanjutnya dikenakan paparan glukosa yang tinggi selama 1 hingga 5 hari. Hasilnya ialah terdapat penurunan aktivitas eNOS, yang digambarkan dengan produksi NO, sebanyak 30% hingga 80%.^{62,63} Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas enzimatik eNOS untuk menghasilkan NO mengalami penurunan pada keadaan hiperglikemia. Dan sebagai respon terhadap hiperglikemia, produksi superoksida meningkat hingga 3x lipat^{64,65} dan kadar BH₄ menurun 25% hingga 60%.⁶⁶ Penelitian yang dilakukan pada manusia menunjukkan bahwa *eNOS uncoupling* yang disebabkan hiperglikemia dapat mengganggu vasodilatasi dalam waktu kurang dari 1 jam.⁶⁰

Hiperglikemia dapat menyebabkan *eNOS uncoupling* melalui inhibisi PPP, dengan cara menginhibisi G6PD. Meskipun penelitian yang melibatkan vaskuler intra serebral belum banyak namun penelitian yang sudah dilakukan mendukung pernyataan ini.

2.3.4 Aktivasi *protein kinase C*

Hiperglikemia dapat meningkatkan sintesis *diacylglycerol* (DAG) dan sintesis DAG tersebut sepertinya menyebabkan aktivasi PKC. Aktivasi PKC sebagai respon terhadap kondisi hiperglikemia telah ditemukan berulang kali dalam jaringan vaskuler sebagai akibat paparan glukosa yang berkepanjangan.⁶⁰

Aktivasi PKC sebagai respon terhadap hiperglikemia telah dihubungkan dengan stimulasi produksi ROS oleh *NAD(P)H oxidase*, ekspresi gen-gen pro inflamasi melalui aktivasi NF κ B dan *vascular endothelial growth factor* terkait PKC.^{60,67}

2.3.4.1 *Reactive oxygen species (ROS)* terkait *protein kinase C*

Peningkatan ROS sebagai respon terhadap hiperglikemia telah dihubungkan dengan aktivitas *NAD(P)H oxidase* baik itu dalam sirkulasi sistemik ataupun sirkulasi intraserebral.⁶⁸ Ekspresi *NAD(P)H oxidase* meningkat 30% hingga 50% pada hewan coba tikus yang mengalami oklusi arteri serebri media selama 2 jam. Peningkatan ekspresi *NAD(P)H oxidase* ini dihubungkan dengan luas infark, perburukan defisit neurologis dan edema otak yang lebih hebat.^{60,67}

Reaksi antara superoksida, yang dihasilkan dari *NAD(P)H oxidase*, dengan NO menghasilkan peroksinitrit, jadi akibat dari aktivasi *NAD(P)H oxidase* yang berlebihan meliputi pemakaian NO dan pembentukan peroksinitrit.⁶⁹ Penggunaan NO oleh superoksida telah diyakini sebagai faktor perusak yang utama dari *NAD(P)H oxidase* dalam kondisi hiperglikemia dan aktivitas *NAD(P)H oxidase* juga mengganggu vasodilatasi yang diperantarai NO dalam kurun waktu beberapa jam setelah terjadi paparan hiperglikemia.⁷⁰

Peroksinitrit juga mempengaruhi aktivitas serebrovaskuler dengan cara menghambat enzim *prostacyclin synthase* (PGIS) dan kanal *calcium-dependent K⁺* (K^+ terkait kalsium = BK_{Ca}). *Prostacyclin synthase* cukup rentan terhadap inaktivasi oleh peroksinitrit. *Prostacyclin synthase* diekspresikan di pembuluh darah intraserebral dan berkurangnya transkripsi enzim ini dihubungkan dengan peningkatan risiko kejadian stroke iskemik. Penelitian pada sel endotel manusia mengungkapkan bahwa inaktivasi PGIS menyebabkan berkurangnya produksi prostasiklin dan meningkatnya produksi tromboksan.⁶⁴ Inhibisi *prostacyclin synthase* menyebabkan akumulasi PGH₂, yang juga merupakan substrat untuk *thromboxane A2 synthase*, dan meningkatkan sintesis *thromboxane A2* (TxA₂) sebagai vasokonstriktor yang poten. Yang penting juga ialah PGH₂ juga dapat mengaktifasi reseptor TxA₂ hingga menyebabkan vasokonstriksi dan menyebabkan agregasi trombosit.^{60,67}

2.3.4.2 Aktivasi *nuclear factor κB* (NFκB) yang disebabkan *protein kinase C*

Saat NO menghambat aktivasi NFκB, pemakaian NO oleh superoksida akan menyebabkan aktivasi NFκB. NFκB secara cepat dan dramatis teraktivasi sebagai respon terhadap hiperglikemia. Penelitian mengenai sel endotel yang terkena paparan glukosa yang tinggi menunjukkan peningkatan aktivasi NFκB terkait PKC dalam waktu 1 jam dan mencapai puncaknya dalam waktu 4 jam. Dalam penelitian yang dilakukan tahun 1998, Morigi menunjukkan bahwa aktivasi NFκB sebagai respon terhadap peningkatan glukosa menyebabkan peningkatan adhesi leukosit sebanyak 458%, yang diperantarai oleh *intracellular adhesion molecul 1* (ICAM-1), *vascular cellular adhesion molecule 1* (VCAM-1) dan *E-selectin*.

Antioksidan mencegah aktivasi NFκB yang disebabkan hiperglikemia dan peningkatan ekspresi VCAM-1 yang diperantarai hiperglikemia dapat dihambat dengan *PKC inhibitor* yang spesifik (*isoform-specific PKC inhibitor*), hal ini menunjukkan stres oksidatif dan aktivasi PKC sebagai mekanisme penyebabnya.⁴³ Jadi, aktivasi NFκB sebagai respon terhadap hiperglikemia terjadi dalam endotel pro-inflamasi dan perubahan ini dapat turut berperan menambah perburukan iskemia.^{60,71-73}

Iskemia akan mengaktivasi NFκB dalam waktu 2 jam setelah oklusi arteri serebri media. Pada sel endotel intraserebral manusia, aktivasi NFκB akibat hipoksia dapat meningkatkan ICAM-1, VCAM-1 dan *E-selectin*. Hal ini memberi kesan aktivasi NFκB dapat meningkatkan kemampuan adhesi leukosit pada sel endotel serebral sama halnya dengan sel endotel yang terdapat di bagian tubuh lainnya. Aktivasi NFκB juga berperan dalam menimbulkan gangguan fungsi dilatasi NO.^{60,72}

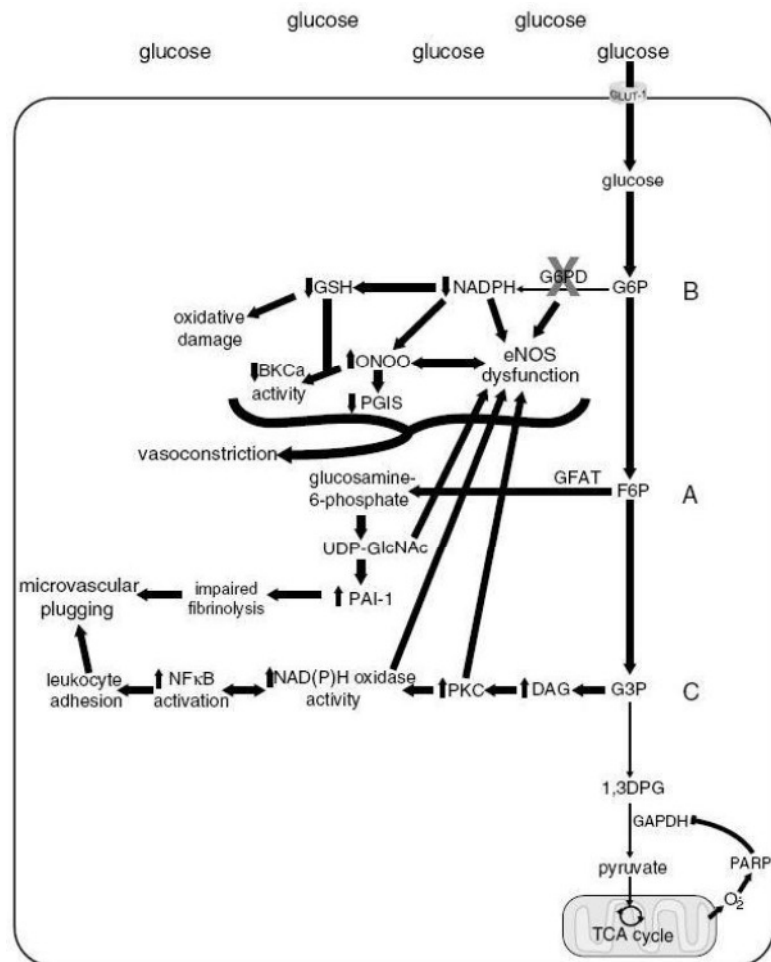
2.3.4.3 Ekspresi *plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)* terkait *protein kinase C*

Pada sel endotel otak manusia PKC menyebabkan peningkatan ekspresi PAI-1. PAI-1 akan mengikat tPA atau *urokinase plasminogen activator* sekaligus menjadikannya inaktif dengan perbandingan 1:1. Percobaan dengan sel otot vaskuler menunjukkan peningkatan PAI-1 sebagai respon terhadap keadaan hiperglikemia akut terjadi dengan sangat cepat : ekspresi mRNA PAI-1 mulai meningkat dalam waktu 2 jam dan mencapai puncaknya dalam waktu 4 jam, kemudian kadarnya kembali turun seperti semula setelah 24 jam.⁶⁰

Peningkatan aktivitas PAI-1 mencakup gangguan makrovaskuler, yaitu terganggunya trombolisis dan juga gangguan mikrovaskuler, yaitu pembentukan dan penyumbatan oleh fibrin, dapat mengganggu reperfusi yang efektif.^{60,72,67}

2.3.4.4 Perubahan tonus vasomotor terkait *protein kinase C*

Sebelumnya telah dibahas mengenai proses *O-acetylglucosamination*, inhibisi PPP, dan proses *uncoupling* sebagai mekanisme yang dapat menurunkan aktivitas eNOS. PKC juga memainkan peranan besar dalam mengganggu fungsi dilatasi NO. Bagaimana mekanisme yang tepat belum diketahui secara jelas namun diduga mengganggu fungsi protein eNOS : aktivasi PKC menstimulasi defosforilasi eNOS pada *Ser1177* dan fosforilasi pada *Thr495*, yang keduanya akan menurunkan produksi NO. Mekanisme lainnya, PKC dapat mengganggu fungsi eNOS secara tidak langsung melalui gangguan terhadap enzim *NAD(P)H oxidase*, seperti yang telah dijelaskan di atas sebelumnya. Jadi terlihat banyak mekanisme yang terjadi yang dapat mempengaruhi ketersediaan NO vaskuler pada keadaan hiperglikemia.⁶⁰



Gambar 2. Jalur-jalur gangguan biokimia endotel akibat hiperglikemia.

Sumber : Brownlee.⁶⁰

2.4 Status neurologis

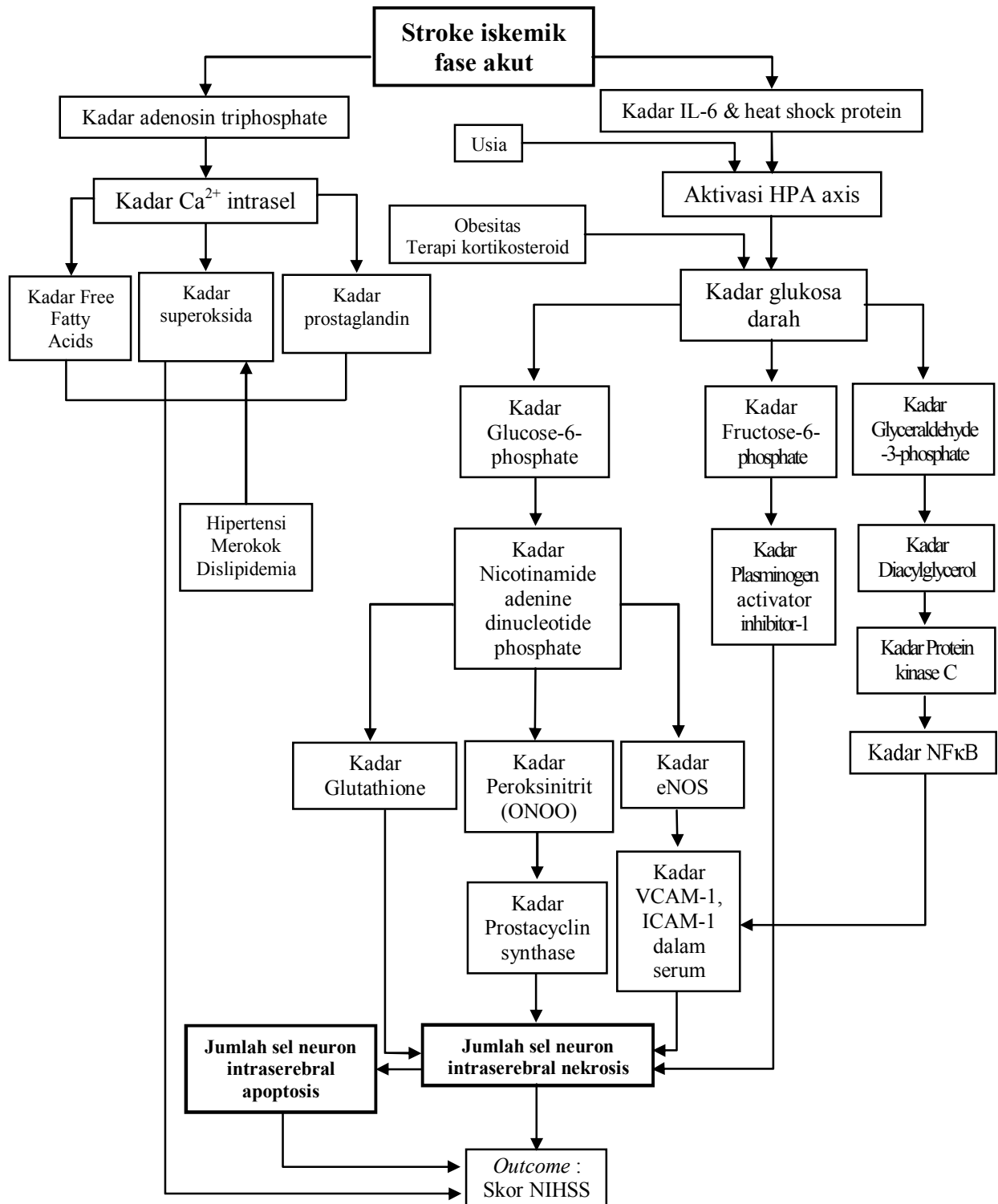
Hingga saat ini terdapat banyak instrumen yang dapat digunakan untuk menilai status neurologis penderita stroke, diantaranya ialah : skor Orgogozo, indeks Barthel, *Modified Rankin Scale*, *Scandinavian Stroke Scale*, dan *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS). Penilaian status neurologis berdasarkan NIHSS memiliki keunggulan dibandingkan dengan instrumen status neurologis lainnya, karena cakupan NIHSS cukup luas sehingga penilaiannya dapat

menggambarkan fungsi otak secara keseluruhan. NIHSS dianggap valid untuk menilai ukuran lesi dan menilai derajat keparahan stroke. NIHSS dapat meramalkan *outcome* penderita stroke baik jangka panjang maupun jangka pendek. Data yang didapatkan dari penelitian yang menggunakan skor ini juga dapat digunakan sebagai informasi untuk tenaga kesehatan lainnya yang merawat penderita stroke ini.^{29,31,32,40}

Skor NIHSS dibuat sesederhana mungkin sehingga dapat digunakan sehari-hari secara konsisten baik oleh tenaga dokter, perawat, ataupun fisioterapis. Adapun pemeriksaan status neurologis tersebut meliputi : tingkat kesadaran, bahasa, neglek, lapangan pandang, kekuatan motorik, ataksia, disartria, dan gangguan sensorik.²⁹⁻³²

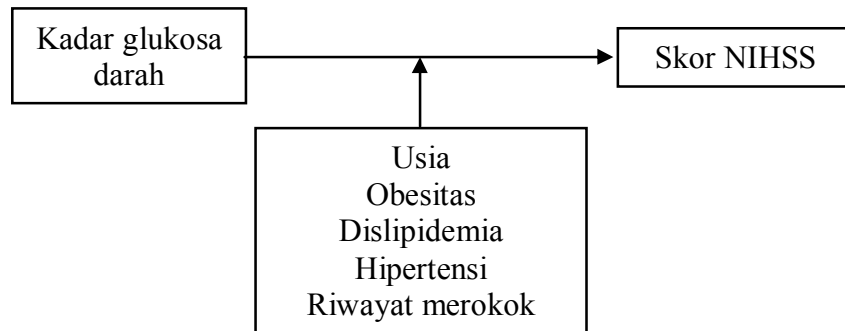
Rentang nilai pada skor NIHSS adalah 0-82, diklasifikasikan menjadi : ringan (< 5), sedang (5 - 14), berat (15 - 25) dan sangat berat (> 25). Semakin kecil nilai yang didapat maka status neurologis penderita stroke semakin mendekati normal.²⁹

2.5 Kerangka Teori



Gambar 3. Bagan kerangka teori penelitian

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 4. Bagan kerangka konsep penelitian

2.7 Hipotesis

- Terdapat pengaruh kadar glukosa darah sewaktu masuk rumah sakit dengan *outcome* neurologik.