

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Metabolisme otak**

Berat otak manusia normal berkisar antara 1200 – 1400 gram, merupakan 2% dari berat badan total manusia. Dalam keadaan istirahat otak memerlukan oksigen sebanyak 20% dari seluruh kebutuhan oksigen tubuh dan memerlukan 70% glukosa tubuh. Adanya kebutuhan oksigen yang tinggi tersebut disertai dengan aktifitas metabolik otak yang terjadi secara terus menerus memerlukan aliran darah yang konstan ke dalam otak, sehingga otak memerlukan makanan yang cukup dan teratur. Dalam setiap menit otak memerlukan 800 cc oksigen dan 100 mg glukosa sebagai sumber energi. Bekurang atau hilangnya suplai darah ke otak dalam beberapa menit akan menimbulkan adanya gangguan pada jaringan otak yang bervariasi dari ringan hingga yang berat berupa kematian sel otak.

Secara normal 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 disamping oksigen. Kecepatan metabolisme glukosa di otak adalah 30  $\mu\text{mol}/100 \text{ g otak}/\text{menit}$  atau 5 mg/100 g otak/menit. Kecepatan metabolisme oksigen di otak adalah 165  $\mu\text{mol}/100 \text{ g otak}/\text{menit}$  atau 3,5 ml/100 g otak/menit. Metabolisme glukosa terjadi terutama di mitokondria yang akan menghasilkan senyawa fosfat berenergi tinggi seperti ATP<sup>7</sup>. Maka jaringan otak sangat rentan terhadap gangguan suplai glukosa dan oksigen. Kebutuhan akan glukosa dan oksigen dihantarkan melalui aliran darah secara konstan.

Neuron-neuron otak mendapatkan seluruh sediaan energi dari metabolisme oksidatif glukosa. Untuk melakukan fungsi-fungsinya otak memerlukan seperempat kebutuhan oksigen yang digunakan oleh tubuh per menit. Neuron yang menggunakan energi yang besar ini dibangkitkan dalam mitokondria, untuk dua kelompok fungsi :

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 melakukan peran serebral dalam sintesis, penyimpanan, transport dan pelepasan neurotransmitter serta dalam mempertahankan respon elektrik.

Metabolisme aerob glukosa sangat efektif untuk menghasilkan energi yang diperlukan. Satu molekul glukosa menghasilkan 38 molekul ATP, sedangkan metabolisme anaerob hanya menghasilkan 2 molekul ATP dengan adanya kerugian dihasilkannya ion laktat dengan konsekuensi adanya perubahan pH intrasel.

Kebutuhan energi neuron bervariasi menurut aktivitasnya. Peningkatan penggunaan energi memerlukan pengiriman oksigen dan glukosa dari darah. Hal ini dapat tercapai dengan meningkatkan aliran darah ke daerah tersebut dengan meningkatkan aktivitas atau dengan meningkatkan ekstraksi oksigen dari darah. Kebutuhan otak secara umum adalah konstan, tetapi secara lokal bervariasi dan mampu beradaptasi terhadap pasokan darah. Hal ini mencegah perubahan-perubahan yang mungkin timbul dalam tekanan perfusi yang dipengaruhi oleh sistem sirkulasi sentral dengan autoregulasi. Hal ini dapat dicapai melalui

kontraksi otot polos terhadap berbagai tingkat resistensi arteri dan arteriole sesuai dengan tekanan luminal. Hal ini diduga akibat respon langsung mekanisme distensi dari otot polos atau suatu reflek neurogenik sistem simpatis. Melalui autoregulasi yang memungkinkan neuron dapat mempertahankan aliran darah otak total diatas rentang yang luas dari tekanan perfusi.

Pada orang dewasa normal mempunyai aliran darah otak antara 50-55 mL/100 gr otak/menit. Bila aliran darah otak turun hingga kurang dari 18 ml/100 gr/menit merupakan ambang atas dari gagalnya pompa ion. Bila aliran darah serebral 8 ml/100 gr/menit merupakan ambang bawah gagalnya pompa ion. Penumbra iskemik adalah keadaan iskemik otak diantara kedua ambang tersebut, dimana neuron-neuron secara fungsional tidak melakukan aktifitas namun secara struktural masih intak dan masih bisa diselamatkan.<sup>8</sup>

## **2.2 Stroke**

Menurut WHO pada tahun 1995 definisi stroke adalah tanda-tanda klinis yang berkembang cepat akibat gangguan fungsi otak fokal (atau global) dengan gejala-gejala yang berlangsung selama 24 jam atau lebih atau menyebabkan kematian. Tanpa adanya penyebab lain yang jelas selain vaskuler.<sup>1,2,3</sup>

Pada dasarnya terdapat 2 mekanisme patofisiologi pada infark serebri, yaitu hilang atau berkurangnya suplai oksigen dan glukosa yang terjadi sekunder akibat oklusi vaskuler, serta adanya perubahan pada metabolisme seluler akibat gangguan proses produksi energi akibat oklusi sebelumnya<sup>3,4,5</sup>.

Pada stroke akut, terjadi perubahan pada aliran darah otak. Pada daerah yang mengalami iskemik, aliran darah menurun secara signifikan. Secara mikroskopik daerah yang iskemik (penumbra) yang pucat akan dikelilingi oleh

daerah yang hiperemis dibagian luar yaitu daerah yang disebut sebagai *luxury perfusion*, karena melebihi kebutuhan metabolik sebagai akibat mekanisme sistem kolateral yang mencoba mengatasi keadaan iskemia. Akibat oklusi akan terjadi gangguan hemodinamik aliran darah otak yang secara bertahap dikenal beberapa *critical level* berdasarkan beratnya oklusi, yaitu:

### **1. Tingkat kritikal pertama**

Terjadi bila aliran darah otak menurun hingga 70-80% (kurang dari 50-55 ml/100 gr otak/menit). Pada keadaan ini respon pertama otak adalah dengan menghambat sintesis protein, dengan adanya disgregasi ribosom (Hossmann).

### **2. Tingkat kritikal kedua**

Terjadi bila aliran darah otak berkurang hingga 50% (hingga 35 ml/100gr otak/ menit). Akan terjadi aktivasi glikolisis anaerob dan peningkatan konsentrasi laktat yang selanjutnya berkembang menjadi asidosis laktat dan edema sitotoksik.

### **3. Tingkat kritikal ketiga**

Terjadi bila aliran darah otak berkurang hingga 30% (hingga 20 ml/100 gr otak/menit). Pada keadaan ini akan terjadi berkurangnya produksi ATP, defisit energi, serta adanya gangguan transport aktif ion, instabilitas membran sel serta efluks neurotransmitter eksitatorik.

Pada saat aliran darah otak mencapai hanya 20% dari nilai normal (10-15 ml/100 gr otak/menit), maka neuron-neuron otak mengalami hilangnya gradien ion dan selanjutnya terjadi depolarisasi anoksik dari membran.

Hingga saat ini hal yang terakhir itulah yang dipercaya sebagai penyebab terjadinya kerusakan sel otak secara ireversibel.

Daerah otak dimana aliran darah otak turun hingga kurang dari 10 ml/100 g otak/menit secara cepat akan mengalami kerusakan ireversibel dalam waktu sekitar 6-8 menit, daerah ini dikenal sebagai *ischemic core*.<sup>6-10</sup>

Pada daerah *ischemic core*, kematian sel sudah terjadi sehingga mengalami nekrosis akibat kegagalan energi yang merusak dinding sel beserta isinya sehingga mengalami lisis (sitolisis), sedangkan pada daerah penumbra sel neuron masih hidup, tetapi metabolisme oksidatif sangat berkurang serta pompa ion sangat minimal mengalami proses depolarisasi neuronal, yang bila terjadi secara berkepanjangan sel tidak lagi dapat mempertahankan integritasnya sehingga akan terjadi kematian sel yang secara akut timbul melalui proses apoptosis, suatu disintegrasi elemen-elemen seluler secara bertahap dengan kerusakan dinding sel yang disebut *programmed cell death*. Konsep penumbra tersebut merupakan sandaran dasar pengobatan stroke, karena merupakan manifestasi terdapatnya struktur seluler neuron yang masih hidup dan mungkin masih reversibel apabila dilakukan pengobatan yang cepat dan tepat.

Disamping neuron-neuron yang sensitif terhadap iskemia, kematian sel dapat langsung terjadi pada iskemi berat dengan hilangnya energi secara total dari sel karena terhentinya aliran darah. Disamping itu disintegrasi sitoplasma dan disrupsi membran sel juga menghasilkan ion-ion radikal bebas yang dapat makin memperburuk keadaan lingkungan seluler.<sup>10,11</sup>

### Iskemik kaskade

Neurotransmitter eksitatorik ternyata berperan pada tahap awal iskemik kaskade. 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 presinap melepaskan glutamat, dan konsentrasinya akan meningkat hingga 20 kali lipat<sup>12,13</sup>. Setelah dilepaskan, glutamat dapat 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. Dalam keadaan normal, glutamat dengan cepat diklirens dari sinapsis dan kadarnya menjadi normal kembali. Tetapi pada keadaan iskemik terjadi pelepasan glutamat yang berlebihan dan terdapat adanya kegagalan pengambilan glutamat<sup>14</sup>.

Terdapat 2 bentuk reseptor glutamat, yaitu :

1. Reseptor metabotropik, dimana reseptornya bergandengan dengan protein G dan memodulasi *second messenger* dalam sel seperti inositol trifosfat, Ca dan nukleotid siklik.
2. Reseptor inotropik, yang terdiri atas reseptor yang mempunyai hubungan langsung dengan saluran ion membran. Reseptor ini terbagi lagi dalam reseptor N-methyl-d-aspartate (NMDA), reseptor a-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA) dan kainat.

Pada stroke iskemik terdapat kekurangan oksigen dan glukosa dalam sel, sehingga produksi ATP dan Na-K-ATPase berkurang. Akibatnya konsentrasi Na

dalam sel meningkat sehingga timbul pembengkakan sel, serta pelepasan glutamat karena depolarisasi membran sel. Rangsangan pada setiap reseptor glutamat ionotropik akan menyebabkan depolarisasi membran oleh karena masuknya ion yang bermuatan positif dan secara tidak langsung merangsang *voltage gated calcium ion*. Reseptor NMDA dapat memasukkan Ca dan Na kedalam sel, rangsangan yang berlebihan akan menyebabkan kelebihan Ca dalam neuron. Sedangkan reseptor AMPA dan Kainat juga berhubungan dengan saluran ion, tetapi kurang permeabel terhadap Ca. Akibat stroke, uptake dari glutamat akan berkurang, sifat reseptor glutamat berubah, mengakibatkan terjadinya *abberant cell signalling*, terjadi peningkatan kadar kalsium, dan pada akhirnya terjadi kematian sel.

Kekhususan reseptor NMDA terletak pada kemampuannya memasukkan ion Ca dan adanya ion Mg ekstraseluler yang menutup saluran ion tersebut pada keadaan hiperpolarisasi membran. Saluran ion yang dibentuk oleh reseptor NMDA hanya terbuka bila Mg yang menutupi saluran lepas karena depolarisasi akibat adanya input eksitatori yang cukup besar. Depolarisasi setelah iskemik menyebabkan terbukanya saluran ion pada reseptor NMDA yang mengakibatkan pemasukan ion Ca yang berlebihan kedalam sitoplasma<sup>10,11,12</sup>.

Konsentrasi tinggi kalsium intraseluler akan menimbulkan terjadinya kerusakan membran sel dan rangka sel (Cytoskeleton). Hal ini akan memicu terjadinya aktivasi dari protease yang dapat menghancurkan struktur protein, selain itu diaktifkan pula lipid peroksidase yang menyerang sel membran serta aktivasi endonuklease yang akan merusak DNA.

Selama kondisi iskemik proses yang terkait dengan kalsium akan menghasilkan *reactive oxygen species (ROS)*, dimana telah diyakini bahwa mitokondria merupakan sumber utama pembentukan radikal bebas ini segera dan selama setelah stroke. ROS dalam jumlah yang lebih banyak daripada sistem antioksidan endogen memiliki efek yang merugikan. Lipid, protein dan DNA adalah yang banyak terkena akibat adanya radikal bebas, sehingga radikal bebas dikatakan memainkan peranan yang signifikan pada stroke akut<sup>12,13,14</sup>.

### **2.3. Radikal bebas dan stres oksidatif**

Radikal bebas didefinisikan sebagai setiap atom atau senyawa yang memiliki setidaknya satu elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Hal ini menyebabkan molekul tersebut menjadi sangat reaktif untuk mendapatkan kestabilan ion. Sel organisme memerlukan energi dari proses respirasi aerob yang terjadi dalam mitokondria melalui proses oksidasi yang memerlukan oksigen. Dalam keadaan normal, radikal bebas dihasilkan oleh sel selama proses oksidasi. Radikal bebas mengandung oksigen dan atau nitrogen yang diproduksi terus-menerus. Perubahan oksigen menjadi air dan ATP pada rantai transport elektron mitokondria menghasilkan superoksida ( $O_2^{\bullet}$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikal ( $OH^{\bullet}$ ) yang umumnya dikenal sebagai *Reactive Oxygen Species (ROS)* karena yang menjadi pusat adalah atom oksigen, serta *Reactive Nitrogen Species (RNS)* seperti Nitric Oxide ( $NO^{\bullet}$ ) dan nitrogen dioksida ( $NO_2^{\bullet}$ ) karena yang menjadi pusat senyawa adalah atom Nitrogen<sup>11</sup>.



Superoksida ( $O_2^{\bullet}$ ) merupakan radikal bebas yang sebenarnya. Ia akan menghasilkan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Radikal hidroksil ( $OH^{\bullet}$ ) ditimbulkan dari hidrogen peroksida dengan adanya ion besi atau melalui transisi metal lain pada reaksi katalis metal Haber Weis. Pada reaksi ini, peranan superoksida adalah penting, karena ia akan mereduksi transisi metal, yang kemudian akan dioksidasi dan menghasilkan radikal hidroksil, suatu senyawa yang sangat reaktif dan memiliki masa hidup yang singkat. Superoksida diproduksi melalui berbagai reaksi enzimatik atau melalui auto oksidasi dari komponen jaringan<sup>11,12</sup>

Interaksi antara radikal oksigen dengan komponen jaringan lain dapat menghasilkan varietas radikal lain. Antara lain, interaksi antara superoksida dengan nitrit oksida akan memproduksi asam peroksinitrit. Interaksi ini merupakan sumber dari radikal hidroksil yang dikatalisis oleh serum besi. Antara non radikal dengan radikal juga dapat terjadi reaksi yang menghasilkan reaksi rantai yang membentuk radikal bebas yang lain dari senyawa non radikal itu, misalnya reaksi antara radikal hidroksil dengan fosfolipid membran akan menghasilkan peroksida lipid.

Radikal oksigen dibentuk terutama didalam sel, memiliki waktu paruh yang singkat sehingga sulit untuk diukur secara langsung. Pada beberapa penelitian digunakan marker oksidasi protein, yaitu 3 nitro-tyrosine yang akan meningkat pada daerah *ischemic core* dan pada daerah penumbra terutama 2 jam setelah iskemi dan 3 jam setelah reperfusi pada binatang percobaan. Peneliti lain mengukur kadar kholesteril ester hidroperoksida (CEOOH) yang merupakan marker radikal bebas yang menginduksi oksidasi ester kolesterol pada pasien dengan stroke kortikal dan lakunar, 24 jam setelah awitan dan di observasi selama

10 hari. Ternyata didapatkan bahwa kadar CEOOH meningkat secara signifikan pada penderita stroke kortikal antara hari pertama awitan hingga hari ke tujuh dari awitan. Data-data ini menunjukkan bahwa produksi radikal bebas akan meningkat selama iskemia otak dan proses ini dapat terdeteksi melalui plasma darah <sup>11,12</sup>.

Parenkim serebral dan endotel vaskuler memiliki kemampuan potensial untuk memproduksi radikal bebas. Terdapat suatu perhatian akan adanya hubungan antara konsentrasi oksigen dengan terbentuknya radikal bebas. Adalah jelas bahwa pada keadaan tidak terdapat oksigen secara total maka radikal oksigen tidak akan terbentuk. Sedangkan pada daerah penumbra masih terdapat sedikit aliran darah dan sedikit oksigen, bila diikuti dengan reperfusi maka dapat terjadi peningkatan pembentukan radikal bebas yang dramatik. Pada keadaan iskemik atau hipoksia dalam waktu yang tidak terlalu lama, kerusakan jaringan yang terjadi dapat kembali menjadi normal dengan adanya reperfusi. Namun, reperfusi ternyata dapat memperburuk keadaan jaringan yang sebagian besar dimediasi oleh ROS. Pada keadaan reperfusi tersebut akan terjadi pelepasan xantin oksidase setelah dikonversi oleh xantin dehidrogenase, dan ion logam katalitik transisi kedalam sirkulasi sitemik yang menyebabkan kerusakan jaringan bertambah luas. Xantin oksidase akan berikatan dengan sel endotel dan menghasilkan radikal superoksida, peroksinitrit dan hidrogen peroksida <sup>12-16</sup>

Radikal bebas dapat merusak berbagai molekul yang fungsional dalam sel seperti membran fosfolipid, membran protein, serta asam nukleat. Reaksi rantai yang sangat merusak dari radikal bebas ialah reaksi oleh radikal hidroksil, yang merupakan radikal bebas yang sangat reaktif dengan waktu paruh yang sangat singkat, sehingga umumnya reaksi yang terjadi akan terlokalisir. Tetapi bila

terbentuk radikal yang lain maka akan terjadi propagasi karena reaksi rantai, akibatnya akan terjadi *remote effect*. Fosfolipid membran dapat mengalami peroksidasi menjadi peroksida lipid. Peroksidasi lipid merupakan kerusakan asam lemak tak jenuh jamak (Polyunsaturated fatty acid – PUFA) karena oksidasi.

Peroksida yang dibentuk radikal hidroksil selanjutnya dapat diubah menjadi alkohol oleh enzim peroksidase lain dan dapat dikeluarkan dari membran oleh enzim fosfolipase sehingga membran menjadi utuh kembali. Tetapi bila kerusakan meluas dan enzim peroksidase tidak mencukupi, kerusakan membran tersebut dapat menimbulkan kematian sel. Peroksidasi lipid ini berperan dalam mekanisme terjadinya proses aterosklerosis seperti pada stroke. Radikal hidroksil juga menyerang molekul ribosa, deoksiribosa, purin dan pirimidin yang menjadi tulang punggung DNA dan RNA. Ikatan silang yang terjadi antara radikal bebas dengan protein inti akibat radikal bebas akan menyebabkan terganggunya proses transkripsi, translasi dan “repair” dari DNA, sehingga dapat menimbulkan mutasi dan neoplasia . Proses pengrusakan yang ditimbulkan radikal bebas terdiri dari beberapa tahap yaitu :

1. Tahap inisiasi, yaitu tahapan yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas
2. Tahap propagasi, yaitu tahapan dimana radikal bebas yang terjadi akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang lain yang kemudian akan menyerang senyawa non radikal lain secara terus-menerus (reaksi rantai)

3. Tahap reaksi terminasi, yaitu tahapan bila terjadi reaksi antara radikal bebas dengan radikal bebas lain atau antara radikal bebas dengan senyawa pembasmi radikal (scavenger)<sup>15</sup>.

Pada konsentrasi yang besar, radikal oksigen dapat menyebabkan kematian sel dan kerusakan jaringan. Superoksida, hidrogen peroksida, dan peroksinitrit bersifat vasodilator serebral reversibel pada konsentrasi yang rendah. Superoksida mendilatasi arteriole serebral melalui pembukaan *Calcium-activated potassium channels*. Radikal oksigen juga dapat meningkatkan agregasi platelet serta meningkatkan permeabilitas endotel.

Glutamat yang menstimulasi reseptor NMDA akan mengaktifkan Nitric Oxide syntase yang akan memproduksi Nitric Oksida (NO) Sedangkan glutamat yang mengaktifkan reseptor AMPA akan memproduksi superoksida ( $O_2^-$ ). Interaksi antara NO dengan superoksida didalam sel akan menghasilkan peroksinitrit, yang dapat menimbulkan suatu injury. Peroksinitrit akan di inaktivasi secara cepat dan tidak dilepaskan ke ruang ekstra seluler, karena tidak terdapat vasodilatasi pada keadaan ini.

Inaktivasi pada salah satu dari mekanisme ini atau adanya mekanisme yang lain akan menimbulkan vasodilatasi, karena akan terjadi pelepasan NO pada saat reseptor AMPA diinaktifkan atau pelepasan super oksida beserta derivatnya pada saat reseptor NMDA atau NOS di inaktifkan<sup>16,17,18</sup>.

Radikal bebas Nitrit oksida (NO) dihasilkan 3 jenis isoform *Nitric Oxide Synthase (NOS)* yaitu neuronal NOS (nNOS), *inducible NOS (iNOS)*, dan endotelial NOS (eNOS). eNOS dan nNOS merupakan enzim yang aktifitasnya tergantung pada kalsium dan stimulasi terhadap enzim tersebut dapat

menghasilkan NO dalam jumlah kecil. iNOS adalah enzim yang tidak tergantung kalsium dan diinduksi oleh sitokin yang akan menghasilkan NO dalam jumlah yang besar. Terdapat isoform ke-empat, yaitu mitochondrial NOS (mtNOS), tetapi hingga saat ini belum dapat dikarakteristikkan dengan jelas. mtNOS dilokalisasi di mitokondria dengan menggunakan teknik mikro sensor biokimia dan teknik iminohistokimia. Beberapa sumber mengatakan bahwa mtNOS diidentifikasi sebagai isoform alfa dari nNOS. Aktivitasnya tergantung ion Calcium. Fungsinya belum diketahui secara pasti, namun diduga berhubungan dengan kontrol respirasi mitokondria, mengontrol potensial transmembran mitokondria, dan melindungi mitokondria dari *Ca overload*.<sup>19,20,21</sup> Peran NO pada iskemia serebral adalah kompleks. NO dapat memberikan efek protektif maupun efek merusak pada sel. Dalam keadaan iskemik, NO yang dihasilkan oleh nNOS melalui aktivasi Ca dapat merusak sel-sel otak melalui reaksi NO dengan superoksida yang menghasilkan peroksinitrit yang sangat reaktif, sedangkan iNOS yang dihasilkan oleh makrofag terlibat dalam proses inflamasi dan bersifat sitotoksik yang menyebabkan kematian sel. NO yang dihasilkan oleh eNOS mempunyai efek protektif yaitu menurunkan agregasi trombosit, mencegah adhesi leukosit dan meningkatkan vasodilatasi pembuluh darah arteri dan aliran darah serta mengatur kontraktilitas.

Dalam keadaan normal, otak dapat menghasilkan NO yang berperan pada pengontrolan aliran darah, perfusi jaringan, trombogenesis dan modulasi aktifitas neuronal<sup>21,22,23</sup>.

Aktivasi eNOS menghasilkan peningkatan produksi NO didalam sel endotel. NO berdifusi keluar dari sel endotel ke dalam sel otot polos dimana NO

akan mengaktifkan guanilat siklase yang akan menyebabkan relaksasi sel otot, vasodilatasi, dan peningkatan aliran darah serebral. Pelepasan NO juga dapat menurunkan agregasi dan perlekatan trombosit dan leukosit serta menghambat *Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1)*

Pada tempat inflamasi akan dihasilkan iNOS yang akan menghasilkan NO yang dapat bereaksi dengan radikal superoksida membentuk peroksinitrit yang kemudian bereaksi dengan protein dan menyebabkan fragmentasi protein. Penurunan glukosa dan oksigen dapat menginduksi ekspresi iNOS pada sel endotel. Sedangkan sejumlah besar NO yang dihasilkan oleh iNOS akan menyebabkan kematian sel endotel melalui mekanisme apoptosis, juga menyebabkan disfungsi sel endotel yang menghasilkan disregulasi vaskular dan mempercepat iskemik.

Penelitian menunjukkan bahwa pada stroke iskemik akut, peningkatan kadar metabolit NO berkorelasi dengan keparahan kerusakan sel otak. Meskipun penurunan aliran darah serebral pada daerah sentral selama iskemik merupakan faktor utama yang bertanggung jawab terhadap kerusakan nekrotik, faktor lain yang juga terlibat adalah derajat metabolik, densitas kapiler, eksitotoksisitas asam amino dan mungkin perbedaan dari aktifitas NOS lokal<sup>24,25</sup>.

Stress oksidatif merupakan suatu keadaan ketidak seimbangan antara produksi radikal bebas dengan antioksidan. Stres oksidatif dapat merusak sel atau sel dapat beradaptasi terhadap keadaan tersebut.

Jaringan otak dan saraf sangat mudah terserang oleh stres oksidatif, karena antara lain :

1. Tingginya lalu lintas Ca melewati membran neuron yang melakukan interferensi dengan transport ion-ion lainnya dapat meningkatkan Ca bebas intra seluler.
2. Adanya asam amino eksitatorik seperti glutamat yang bila berlebihan akan menjadi toksin neuron.
3. Tingginya konsumsi O<sub>2</sub> per unit masa jaringan seperti pada mitokondria.
4. Banyaknya senyawa neurotransmitter yang mudah dioksidasi.
5. Lipid membran neuron yang banyak mengandung asam lemak tak jenuh (PUFA)
6. Pertahanan antioksidan jaringan otak yang sangat terbatas.

Akibat adanya stress oksidatif maka akan timbul konsekuensi terhadap neuron dan glia melalui beberapa mekanisme, yaitu :

1. Peningkatan peroksidasi lipid pada membran sel.
2. Kerusakan oksidatif terhadap DNA antara lain berupa modifikasi basa purin atau pirimidin.
3. Kerusakan protein, menyebabkan perubahan konformasi, polimerisasi dan fragmentasi protein.
4. Induksi apoptosis dan nekrosis.

#### **2.4 Antioksidan**

Antioksidan merupakan suatu sistem perlindungan tubuh terhadap aktifitas radikal bebas yang dihasilkan baik secara endogen maupun eksogen yang dimiliki setiap sel normal. Antioksidan didefinisikan sebagai komponen/senyawa yang meskipun terdapat dalam jumlah sangat sedikit bila dibandingkan dengan

senyawa/komponen yang dilindunginya dapat melindungi senyawa/komponen tersebut terhadap proses oksidasi yang mengubahnya menjadi radikal bebas. Pertahanan antioksidan di otak terutama untuk menjaga agar kadar oksigen intraseluler serendah mungkin, konsisten dengan fungsi normalnya. Kadar oksigen yang rendah akan menurunkan reaksi auto oksidasi, kebocoran elektron dari rantai transport elektron dalam mitokondria dan aktifitas monoamin oksidase<sup>26,27</sup>.

Terdapat 2 kelompok antioksidan dalam tubuh, antara lain

#### **2.4.1 Antioksidan primer (endogen)**

Bekerja dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas yang baru.

##### **2.4.1.1 Superoksida dismutase (SOD)**

Ditemukan di banyak sel dan dapat mengubah superoksida menjadi  $H_2O_2$ . Kelompok ini meliputi MnSOD dalam mitokondria dan CuZnSOD dalam sitosol. Semua daerah di otak mengandung CuZnSOD dan MnSOD. Pemberian CuZnSOD pada serebral dapat menunda apoptosis, sedangkan pemberian MnSOD akan menghambat saluran kalsium dan aktifasi efek neuroproteksi SOD.

##### **2.4.1.2 Glutation peroksidase (GPx)**

Merubah hidrogen peroksida dan lipid peroksida menjadi molekul yang kurang berbahaya sebelum mereka membentuk radikal bebas. Merupakan enzim utama pada miokardium.

##### **2.4.1.3 Katalase**

Dapat menguraikan hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air.

#### **2.4.2 Antioksidan eksogen**

##### **2.4.2.1 Asam askorbat (Vitamin C)**



Merupakan vitamin yang larut dalam air, yang akan diekskresikan melalui urin. Askorbat merupakan inhibitor pembentukan radikal bebas. Penelitian menunjukkan bahwa efek asam askorbat pada stroke adalah melalui penurunan tekanan darah. Asam askorbat dapat berfungsi sebagai antioksidan bila tidak terdapat ion logam katalitik transisi (Fe dan Cu), karena dapat menimbulkan radikal bebas melalui reaksi fenton yang menghasilkan radikal hidroksil.

#### **2.4.2.2 Tokoferol (Vitamin E)**

Merupakan vitamin yang larut dalam lemak. Berperanan sebagai antioksidan pemecah rantai radikal bebas (scavenger). Merupakan senyawa penting di otak yang berfungsi menurunkan agregasi trombosit, menghambat oksidasi asam lemak tak jenuh di membran sel dan menghambat pembentukan NO.

#### **2.4.2.3 Beta karoten (Pro Vitamin A)**

Merupakan antioksidan yang larut dalam lemak yang dapat melindungi membran sel terhadap stres oksidatif. Dalam tubuh beta karoten diangkut oleh protein retinol yang dibentuk di hati dan memiliki waktu paruh yang pendek. Kadarnya akan menurun dengan segera pada stroke fase akut<sup>28,29</sup>.

### **2.5 Vitamin E**

Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak, yang banyak didapatkan pada telur, susu, daging, buah-buahan, kacang-kacangan seperti kecambah dan sayuran seperti selada dan bayam. Vitamin E diabsorpsi oleh usus halus dan terjadi bila vitamin E telah dipecah oleh esterase yang terletak pada lapisan gaster. Vitamin E tidak memerlukan *specific carrier protein* pada aliran darah, tetapi ia akan di pindahkan melalui mekanisme hepatic dan limfatik yang

memerlukan lipoprotein. Tanpa perlindungan barrier lipoprotein, vitamin E akan terkena radikal oksidatif pada aliran darah. Masuknya vitamin E ke jaringan (tissue uptake) melalui salah satu dari 2 mekanisme, yaitu melalui lipase yang mencerna konstituen lipoprotein atau melalui perantara reseptor, dengan mengikat lipoprotein pada reseptor jaringan yang spesifik. Produk akhir dari tokoferol adalah tokoferilquinon yang akan terbentuk setelah vitamin E berperanan sebagai antioksidan. Eliminasi dari produk ini akan dibuang terutama melalui feses, dan sebagian kecil melalui urin<sup>30,31,32</sup>.

Sebagai antioksidan, vitamin E berperanan dalam memecah reaksi rantai radikal bebas. Memiliki beberapa fungsi, antara lain menghambat oksidasi asam lemak tak jenuh di membran sel, menghambat pembentukan NO serta menurunkan agregasi trombosit.

Vitamin E merupakan antioksidan pemecah rantai yang melindungi adanya aktivitas propagasi radikal bebas, merupakan *scavenger* dari peroksid radikal dan terutama memproteksi asam lemak tak jenuh pada membran fosfolipid dan plasma lipoprotein (LDL) terhadap pengaruh oksidasi. Vitamin E dikatakan juga memiliki efek proteksi terhadap *reactive nitrogen species*.<sup>33-36</sup>

Beberapa mekanisme telah diajukan mengenai peranan vitamin E sebagai anti aterogenik. Oksidasi LDL merupakan kunci pada tahap awal proses aterogenesis. Oksidasi LDL menyebabkan terjadinya uptake LDL yang teroksidasi (oxLDL) oleh monosit yang akan menimbulkan pembentukan sel busa, mempromosikan terjadinya apoptosis oleh oxLDL, menginduksi kerusakan sel endotel serta menstimulasi sitokin dan pelepasan faktor pertumbuhan dari sel ke dinding arteri. LDL yang mengandung  $\alpha$  tokoferol yang menghambat proses

oksidasi LDL dan akumulasi oxLDL pada dinding arteri, akan mengurangi terjadinya *oxLDL-induced apoptosis* pada sel endotelial. Dosis vitamin E minimal yang diperlukan untuk mencapai efek yang menguntungkan terhadap LDL ini adalah 400 IU/hari.<sup>34,37</sup>

Kemampuan vitamin E dalam hal menghambat protein kinase C (PKC), yang terlibat dalam proliferasi sel otot polos, akan menimbulkan inhibisi proliferasi sel otot polos yang terlibat dalam proses aterosclerosis. Inhibisi PKC oleh  $\alpha$ -tokoferol berhubungan dengan efeknya yang melemahkan proses pembentukan *membrane-derived diacylglycerol*, suatu lipid yang memfasilitasi translokasi PKC yang akan meningkatkan aktivitasnya. *Mitogen-activated protein kinase (MAPK)* juga terlibat dalam proliferasi sel otot polos, dan  $\alpha$ -tokoferol menghambat aktivitas ini<sup>34,37</sup>

Vitamin E dikatakan memiliki sifat menghambat adhesi, agregasi dan reaksi pelepasan platelet. Hal ini mungkin karena adanya peningkatan pelepasan prostaglandin. Telah diketahui bahwa agregasi platelet tersebut diperantarai oleh suatu mekanisme yang meliputi pengikatan fibrinogen terhadap kompleks glikoprotein IIb/IIIa dari platelet. GPIIb/IIIa merupakan reseptor membran protein utama yang berperan sentral pada respon agregasi platelet. GPIIb merupakan subunit alfa pada membran protein platelet. Pada kultur, tampak bahwa  $\alpha$ -tokoferol pada dosis tertentu menghambat aktifitas pengikatan GPIIb. Keadaan ini akan mengurangi ekspresi protein GPIIb dan menurunkan agregasi platelet. Steiner menyimpulkan bahwa pemakaian vitamin E dengan dosis diatas 200 IU/hari dapat menurunkan adhesi platelet. Pada penderita dengan hiperkolesterolemia pemberian vitamin E 600 IU/hari selama 2 minggu akan menurunkan adhesi

platelet. Pada penelitian yang lain, terhadap 100 pasien dengan stroke iskemik, setelah pemberian vitamin E 400 IU/hari menunjukkan penurunan adhesi platelet yang signifikan. Freedman menegaskan bahwa pemberian vitamin E 400 IU/hari menghambat proses agregasi trombosit melalui mekanisme PKC<sup>34,37,38</sup>.

Pemberian vitamin E pada kultur sel endotel akan menurunkan ekspresi dari *Intracellular cell adhesion molecule (ICAM)-1* dan *Vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1*, keduanya diinduksi akibat terpapar oleh oxLDL, akan menurunkan adhesi komponen sel darah pada endotelium. Vitamin E meningkatkan ekspresi dari fosfolipase A2 dan sikooksigenase (COX)-1 sitosolik. Peningkatan ekspresi kedua enzim ini pada kaskade asam arakhidonat menjelaskan bahwa vitamin E pada dosis tertentu akan meningkatkan prostasiklin, suatu faktor vasodilatasi dan inhibitor agregasi platelet pada manusia.

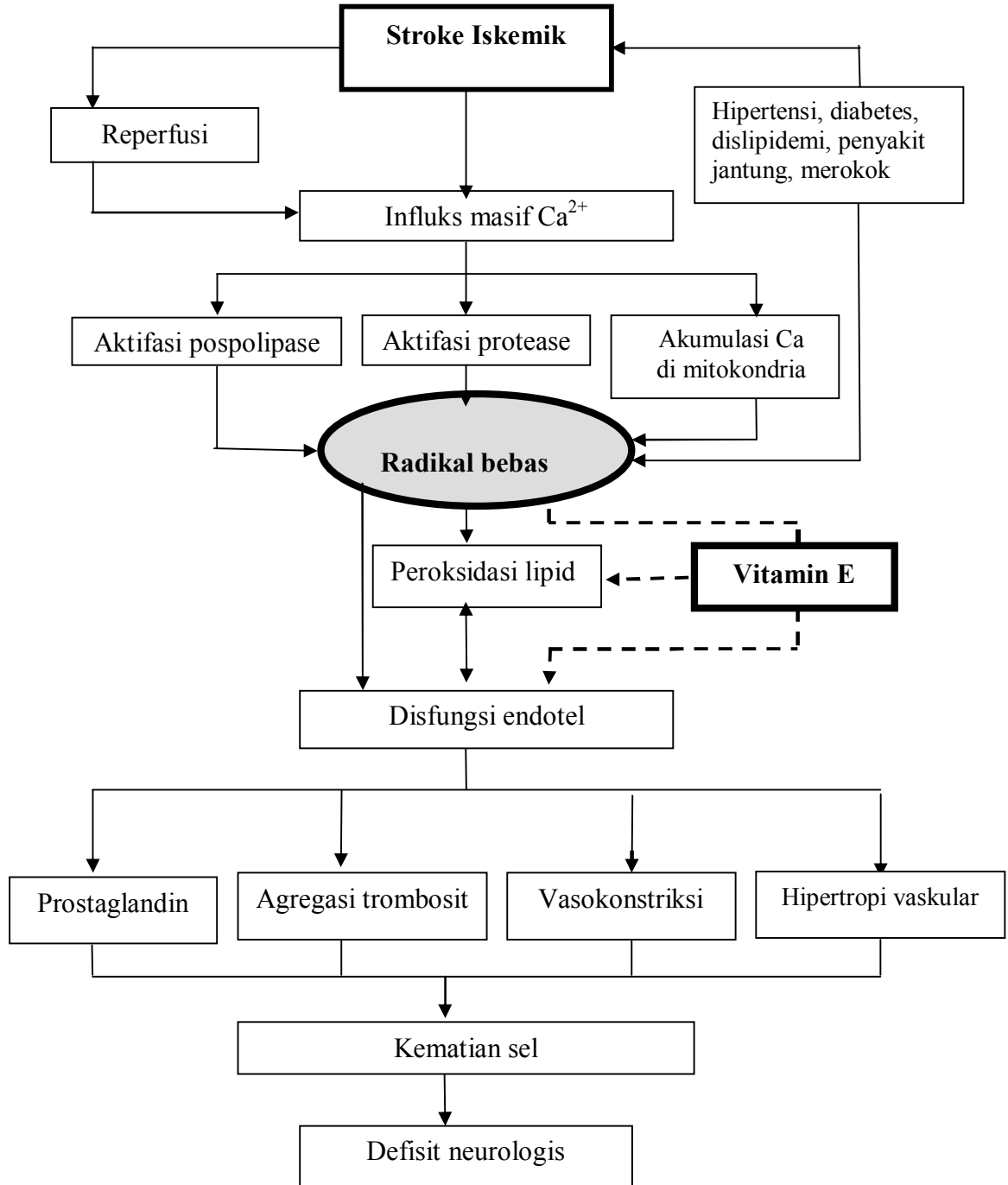
Pada kultur, vitamin E akan menurunkan produksi trombin plasma, suatu protein yang berikatan dengan platelet dan menginduksi timbulnya agregasi. Vitamin E-quinone yang merupakan metabolit dari vitamin E dan merupakan antikoagulan yang poten. Metabolit ini akan menghambat *vitamin K dependent carboxylase*, suatu enzim utama pada kaskade koagulasi<sup>37,38</sup>.

Dosis harian yang dianjurkan baik pada dewasa adalah 15 mg/hari. Untuk mengkonversi satuan mg ke dalam Internasional Unit diperlukan perkalian dengan faktor konversi 1.49. Dosis maksimal yang masih dapat ditoleransi adalah sebesar 1 gram perhari. Efek samping yang ditimbulkan adalah jarang, namun kadang terjadi efek samping seperti sakit kepala, mual, kelemahan otot, dan yang terberat adalah perdarahan serebral. Sangat jarang ditemukan kasus terjadi *overdoses* dari suplementasi vitamin E per oral.

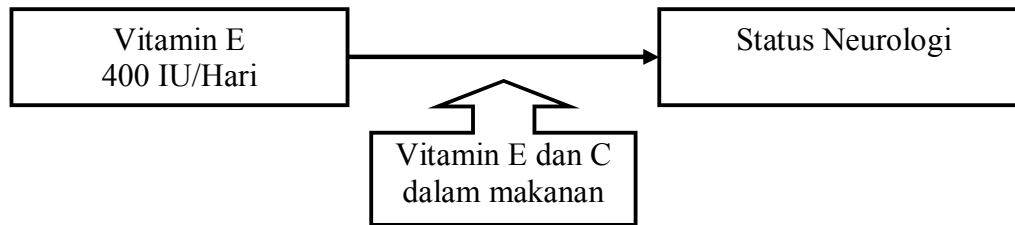
## 2.6 Skala Orgogozo

Skala Orgogozo merupakan skala yang telah dikembangkan untuk menilai defisit neurologis pada pasien stroke, terutama defisit motorik. Skala ini tidak menilai gangguan sensorik dan kognitif yang dapat bersifat subyektif pada pasien. Terdiri atas 10 item penilaian yang meliputi pemeriksaan kesadaran, komunikasi verbal, deviasi kepala dan mata, pergerakan wajah, mengangkat lengan, pergerakan tangan, tonus lengan, mengangkat tungkai, dorsofleksi kaki dan tonus tungkai. Rentang nilai antara 0-100. Untuk penilaian klinis pada penelitian ini dibandingkan adanya peningkatan skor setelah pemberian vitamin E pada hari 1, 7, 14, 21 dan 28 perawatan pada terapi standar stroke iskemik. Hasil penelitian sebelumnya melaporkan bahwa Skor Orggozo memiliki korelasi yang hampir sama dengan Skor NIHSS terhadap kecacatan, *handicap* dan *Sickness Impact Profile*. Berdasarkan hal tersebut pada penelitian ini digunakan Skor Orgogozo yang lebih sederhana tetapi memiliki nilai diagnostik yang baik<sup>39</sup>.

## 2.7 Kerangka teori



## 2.8 Kerangka konsep



## 2.9 Hipotesis

Status neurologi kelompok yang mendapat tambahan vitamin E 400 IU lebih baik daripada kelompok yang hanya memperoleh terapi standar.