

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Stroke

2.1.1. Definisi

Secara klinis menurut kriteria WHO (1995), stroke di definisikan 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, disebabkan oleh gangguan peredaran darah otak.¹⁸

2.1.2. Klasifikasi

2.1.2.1. Menurut modifikasi Marshall², stroke diklasifikasikan menjadi :

2.1.2.1.1. Berdasarkan patologi anatomi dan penyebabnya :

1. TIA (Transient Ischemic Attack)
2. Trombosis serebri
3. Emboli serebri

2.1.2.1.2. Berdasarkan stadium/pertimbangan waktu :

1. TIA (Transient Ischemic Attack)
2. RIND (Reversible Ischemic Neurologic Deficit)
3. Progressing stroke atau Stroke-in –evolution
4. Completed stroke

2.1.2.1.3. Berdasarkan sistem pembuluh darah :

1. Sistem karotis
2. Sistem vertebrobasiler

2.1.3. Faktor Risiko¹⁹

2.1.3.1. Faktor risiko konvensional:

2.1.3.1.1. Tidak dapat dirubah:

1. Umur
2. Ras
3. Jenis kelamin
4. Riwayat keluarga (orang tua atau saudara) yang pernah
Mengalami stroke pada usia muda

2.1.3.1.2. Dapat dirubah

1. Hipertensi
2. Hiperkolesterolemia
3. Perokok
4. Diabetes melitus
5. Obesitas
6. Stres
7. Aktivitas fisik kurang

2.1.3.2. Faktor risiko generasi baru:

1. Defisiensi estrogen
2. Hiperhomosisteinemia
3. Hiperfibrinogenemia
4. Faktor VII
5. Tissue plasminogen activator (t-PA)
6. D-dimer
7. Infeksi
8. Genetik atau bawaan sebagai petanda genetik aterosklerosis.

Faktor risiko genetik pada stroke berfokus pada gen yang terlibat dalam proses aterosklerosis, termasuk di dalamnya gen yang bekerja dalam metabolisme lipid.⁴ Genetik diduga juga berperan dalam menentukan subtipe stroke tertentu^{4,20} Sebuah metaanalisis oleh Rao dkk tahun 2008 mendapatkan kesimpulan bahwa efek genetik pada subtipe stroke pembuluh darah besar dan kecil dapat berbeda walaupun bukti-buktinya masih sedikit.²⁰

2.1.4. Patofisiologi Stroke Iskemik

Terdapat banyak faktor yang bisa menjadi penyebab stroke. Salah satu yang terpenting adalah faktor aterosklerosis yang mengganggu homeostasis vaskuler. Terdapat 2 mekanisme yang dapat menimbulkan stroke iskemik akibat aterosklerosis, yaitu:²²

A. Trombosis

Berupa tersumbatnya arteri-arteri yang mendarahi otak, terutama arteri karotis interna, arteri serebri media, atau arteri basilaris.

B. Emboli

Stroke terjadi bila arteri yang mendarahi otak mendadak tersumbat oleh trombus dari jantung, arkus aorta, atau arteri-arteri lainnya.

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.²² Akibat adanya oklusi pembuluh darah akan terjadi penurunan aliran darah otak yang secara bertahap dikenal beberapa tingkat kritikal akibat penurunan aliran darah terhadap jaringan otak, yaitu:²³

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 menginhibisi sintesis protein, dengan adanya disagregasi ribosom.

2. Tingkat kritikal kedua

Terjadi bila aliran darah otak berkurang hingga 50% (hingga 35 ml/100 gr 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). Akan terjadi penurunan produksi ATP, defisit energi, serta adanya gangguan transport aktif ion, instabilitas membran sel, serta efluks neurotransmitter eksitatorik.

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

Hilangnya aliran darah otak selama 30 detik akan menyebabkan metabolisme otak berubah. Setelah 1 menit, neuronal tidak bisa berfungsi. Setelah 5 menit, anoksia akan memulai suatu rangkaian kejadian yang akan menuju pada infark serebri. Tahap-tahap ini terjadi dalam pembentukan infark serebri:

- (a). vasodilatasi lokal
- (b). stasis aliran darah disertai segmentasi sel darah merah, diikuti oleh
- (c). edema, dan
- (d). nekrosis jaringan otak

Kaskade iskemik merupakan rangkaian kejadian pada tingkat neuronal yang dapat menuju pada disfungsi dan kematian seluler. Kaskade iskemik dimulai dengan kegagalan pompa Na/K, depolarisasi membran neuronal, pelepasan neurotransmitter eksitatorik, dan pembukaan kanal Ca. Influks Ca merupakan akar jejas neuron selanjutnya akibat adanya kerusakan organela dan

destabilisasi metabolisme neuron. Ca dapat memasuki neuron melalui berbagai kanal baik yang *voltage-sensitive*, maupun yang *receptor-mediated* (misal reseptor NMDA). Neurotransmitter eksitatorik seperti glutamat dan glisin akan meningkatkan influks Ca melalui kanal-kanal tersebut.²⁴ Akibatnya kadar Ca intraseluler akan meningkat dan dapat mencapai keadaan toksik. Proses yang diaktifkan ion Ca meliputi pembentukan NO dan ROS (Reactive Oxygen Species) lain yang akan menyebabkan dibentuknya radikal bebas, disfungsi serta kerusakan mitokondria, aberrant cell signaling, aktivasi protease, penekanan perbaikan sel serta inflamasi, dan perubahan ekspresi gen. Semua proses ini akan menyebabkan disintegrasi elemen seluler yang vital seperti sitoskeleton, membran sel, dan DNA nukleus yang pada akhirnya akan menyebabkan kematian sel.²⁵

Daerah otak di mana aliran darah turun hingga kurang dari 10 ml/100 gr otak/menit yang secara cepat akan mengalami kerusakan ireversibel dalam waktu sekitar 6-8 menit, disebut sebagai pusat iskemik. Pada pusat iskemik sudah terjadi kematian sel yaitu nekrosis akibat kegagalan energi yang merusak dinding sel serta isinya sehingga mengalami sitolisis. Dalam beberapa jam, pusat iskemik ini akan dikelilingi jaringan yang masih hidup dengan aliran darah lebih dari 20 ml/100 gr otak/menit, yang disebut penumbra iskemik. Penumbra merupakan daerah perfusi “kritis”, di mana fungsi neuron dihambat akibat kebutuhan metaboliknya tidak terpenuhi, tetapi sel masih hidup dan morfologi serta homeostasisnya tetap terjaga. Daerah penumbra ini dapat diselamatkan dan fungsinya reversibel jika segera terjadi reperfusi yang cukup. Oleh sebab itu, penumbra merupakan target terapeutik utama dalam jam sampai hari-hari awal

setelah onset stroke. Berdasarkan penelitian pada tikus, reperfusi terapeutik yang terjadi dalam 48 jam setelah oklusi pembuluh darah dapat mengurangi ukuran lesi dan meningkatkan pemulihan fungsi otak. Penelitian eksperimental menggunakan MRI dan PET menunjukkan bahwa perubahan morfologis menjadi infark membutuhkan waktu yang cukup lama, yaitu sekitar 48-72 jam dari onset stroke. Akan tetapi waktu ini kadang-kadang memanjang, bahkan menurut Chiamulera, dkk, edema yang menyebabkan kerusakan daerah iskemik masih berlangsung sampai 1 minggu dari onset stroke. Penelitian lain menggunakan PET menunjukkan bahwa perubahan reversibel di daerah penumbra dapat berlangsung dalam beberapa jam bahkan beberapa hari setelah oklusi arteri.²³

Bila terjadi anoksia yang berkepanjangan, sel-sel di daerah penumbra tidak lagi dapat mempertahankan integritasnya sehingga akan terjadi kematian sel yang secara akut timbul melalui proses apoptosis atau *programmed cell death*, suatu proses “bunuh diri” dari sel, berupa disintegrasi elemen-elemen seluler secara bertahap disertai kerusakan dinding sel yang sudah terprogram.²⁶

Klasifikasi menurut *The Oxfordshire Community Stroke Classification* (atau klasifikasi Bamford) mengelompokkan stroke iskemik dalam 4 kategori. Dari kategori tersebut dapat diketahui volume infark (ukuran stroke), daerah teritorial vaskuler yang mungkin terlibat dan mekanisme yang mendasarinya, serta kemungkinan prognosis.²⁷

Tabel 2. Sindroma Stroke ²⁷

| Sindroma | TACS 15% | PACS 35% | LACS 25% | PACS 25% |
|------------------------------|--|---|--|--|
| Gambaran Klinis | 1. Defisit motoris/sensoris meliputi 2/3 wajah, ekstremitas atas dan bawah 2. Disfungsi korteks (afasia, apraksia, neglek) 3. Hemianopia | 1. 2/3 gambaran TACS 2. Disfungsi korteks saja 3. Defisit motoris/sensoris lebih terbatas daripada LACS | 1. Defisit motoris/sensoris meliputi 2/3 wajah, ekstremitas atas dan bawah 2. Hemiparesis ataksik tanpa hemianopia atau 3. disfungsi korteks | 1. Paresis saraf kranial dengan defisit motorik/sensorik kontralateral 2. Defisit motoris/sensoris bilateral 3. Defisit lapang pandang terisolasi 4. Gangguan gerak mata terkonjugasi 5. Gangguan serebeler tanpa defisit motoris/sensoris ipsilateral |
| Mekanisme | Emboli 70-80% | Emboli 70-80% | Gangguan pembuluh darah kecil | Trombosis insitu 80% Emboli 20% |
| Prognosis (dalam 1 tahun) | 60% meninggal (40% dalam 30hari) 35% dependen <5% independen | 15% meninggal (5% dalam 30 hari) 30% dependen 55% independen | 10% meninggal (5% dalam 30 hari) 30% dependen 60% independen | 20% meninggal (<10% dalam 30 hari) 20% dependen 60% independen |

Keterangan :

TACS: *Total Anterior Circulation Syndromes*

PACS: *Partial Anterior Circulation Syndromes*

LACS: *Lacunar Syndromes*

POCS: *Posterior Circulation Syndromes*

2.2. Polimorfisme gen apolipoprotein E (APOE)

Gen ApoE terletak pada kromosom 19q13.2, memiliki panjang 3,7 kilobasa, terdiri dari 4 ekson dan 3 intron dan memproduksi polipeptida 299 asam amino. Gen ApoE berkaitan dengan gen ApoC-I dan pseudogen ApoC-I. Gen reseptor LDL dan ApoC-II juga terletak dalam kromosom 19, tetapi tidak terkait satu sama lain maupun dengan ApoE. Jumlah terbanyak m-RNA ApoE ditemukan di hati yang merupakan sumber utama produksi ApoE, sekitar dua pertiga sampai tiga perempat dari total ApoE plasma. Konsentrasi m-RNA ApoE terbesar kedua adalah di otak, sekitar sepertiga dari kadar yang dihasilkan hati. Struktur gen ApoE polimorfik dengan 3 alel yang sering, yaitu alel $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, dan $\epsilon 4$. Ketiga alel tersebut mengkode 3 isoform protein, yaitu masing-masing E2, E3, dan E4. Ketiga isoform ini berbeda dalam urutan asam amino pada posisi 112 dan 158. ApoE3 terdiri dari sistein pada posisi 112 dan arginin pada posisi 158. ApoE2 terdiri dari sistein pada posisi 112 dan 158, sedangkan ApoE4 terdiri dari arginin pada kedua posisi tersebut. Ketiga alel gen ApoE juga menentukan 6 genotipe, yaitu 3 homozigous, berupa $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 4/\epsilon 4$, dan 3 heterozigous, berupa $\epsilon 4/\epsilon 3$, $\epsilon 4/\epsilon 2$, $\epsilon 3/\epsilon 2$.⁶ Alel $\epsilon 3$ merupakan gen yang paling banyak ditemukan di seluruh populasi, karena itu ApoE3 yang dihasilkannya dianggap sebagai protein normal, sedangkan ApoE2 dan ApoE4 dianggap sebagai variannya.^{6,28,29}

Genotip yang paling sering ditemukan di seluruh populasi, mulai dari yang tersering adalah ϵ_3/ϵ_3 (60%), ϵ_4/ϵ_3 (22%), ϵ_3/ϵ_2 (12%), ϵ_4/ϵ_4 (3%), ϵ_4/ϵ_2 (2%), dan ϵ_2/ϵ_2 (1%).²⁸ Distribusi alel ApoE ϵ_2 , ϵ_3 dan ϵ_4 pada populasi Melayu (penelitian pada orang Malaysia yang tinggal di Singapura tahun 1991) masing-masing sebesar 0,114, 0,767, dan 0,119, sedangkan di Jepang masing-masing sebesar 0,081, 0,849, dan 0,067.^{7 30}

Keenam genotip ApoE menghasilkan enam fenotip, yaitu masing-masing E3/3, E4/3, E3/2, E4/4, E4/2, dan E2/2.^{6,7} Untuk menyederhanakan, fenotip yang dihasilkan dari genotip homozigot, cukup disebut E4, E3, dan E2. ApoE disintesis terutama di hati, tetapi juga disintesis oleh jaringan tubuh lain seperti limpa, ginjal, adrenal, gonad, otak, makrofag, dan glia astrositik. Apolipoprotein E (ApoE) berperan penting dalam metabolisme lipid plasma dan merupakan komponen dari beberapa partikel plasma lipoprotein-lipid. ApoE mempunyai peran penting dalam perjalanan penyakit aterosklerosis cerebrovascular disease (CVD) yang berhubungan dengan kadar lipoprotein dalam plasma. Diperkirakan 60 persen dari variasi kadar kolesterol plasma ditentukan secara genetik dan hampir 14 persen dari variasi kolesterol plasma tersebut berhubungan dengan polimorfisme APOE.⁶ ApoE normal, dalam hal ini ApoE3 bersifat ateroprotektif, baik dalam metabolisme lipid maupun melalui mekanisme di luar itu.^{6,31}

2.2.1. Peran apolipoprotein e pada pembuluh darah serebro vaskular

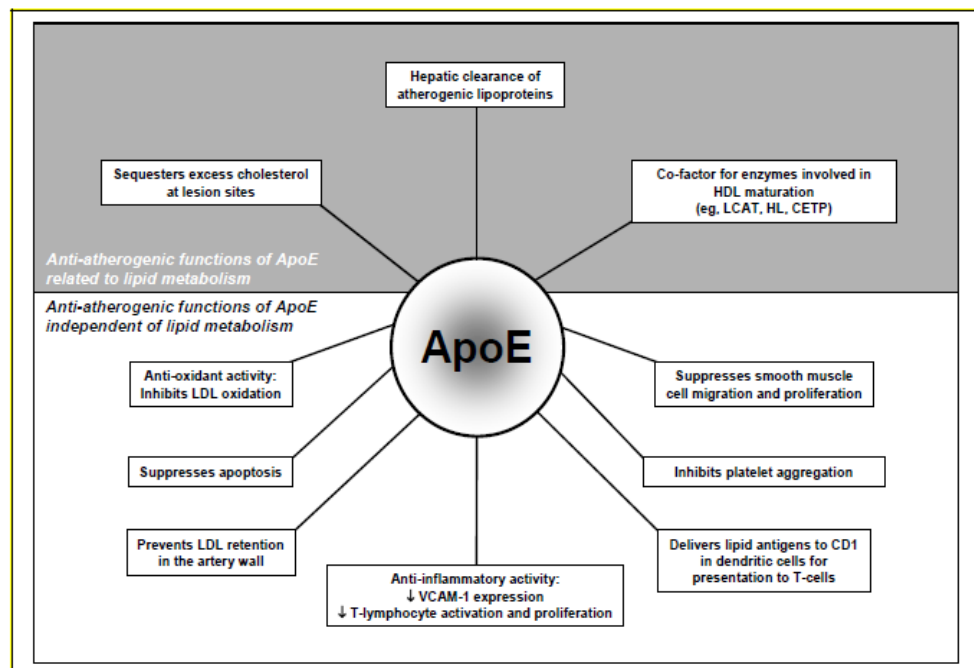
2.2.1.1. Fungsi ateroprotektif ApoE dalam metabolisme lipid

ApoE terlibat dalam metabolisme lipid makanan, yang akan memasuki sirkulasi darah dalam bentuk partikel kilomikron yang kaya trigliserida. Setelah proses lipolisis selesai, maka akan terbentuk residu yang kaya kolesterol dan mempunyai potensi atherogenik, pembersihan residu ini amat tergantung pada peran ApoE dalam melakukan pembersihan melalui reseptor LDL (LDLR) dan protein pengikat reseptor LDL (LRP). ApoE3 dan ApoE4 mempunyai kemampuan pengikatan yang sama, tetapi ApoE2 hanya mempunyai kemampuan pengikatan pada LDLR sebesar 2% dan terhadap LRP sebesar 40%. Fungsi tersebut dibuktikan dengan terjadinya hiperkolesterolemia dan atheroma prematur pada mencit defisiensi ApoE (ApoE^{-/-}), atau pada mencit transgenik yang mengalami disfungsi ApoE. ApoE juga memiliki beberapa peran dalam “transportasi terbalik kolesterol”, yaitu jalur atheroprotektif yang tak tergantung HDL dimana kelebihan kolesterol pada jaringan perifer termasuk pada arteri-arteri dibawa ke hepar untuk diekskresikan dalam cairan empedu.³¹

2.2.1.2. Fungsi ateroprotektif ApoE yang tidak berkaitan dengan metabolisme lipid

Beberapa fungsi biologis ApoE yang tak berkaitan dengan transport lipid telah diketahui, sebagian besar adalah peran penting pada aktivitas antiatherogenik. Fungsi ini meliputi inhibisi agregasi trombosit yang diperantarai ApoE dan migrasi serta proliferasi sel otot polos, juga berbagai aksi untuk menekan berbagai tingkat respon inflamasi. ApoE juga mampu mencegah penumpukan LDL subendotel, yang merupakan proses proaterogenik awal, dan mampu melindungi dari stres oksidatif. Kemaknaan patofisiologi pengamatan ini

didukung oleh penelitian pada mencit transgenik dimana ekspresi ApoE yang rendah merupakan fungsi atheroprotektif pada hewan ApoE^{-/-} tanpa harus menurunkan hiperlipidemia. Selain itu, Raffai dkk juga menemukan bukti kuat bahwa ApoE juga memicu regresi lesi atherosklerotik yang sudah terbentuk dengan cara menurunkan kolesterol plasma.³¹



Gambar 1. Berbagai fungsi ateroprotektif ApoE

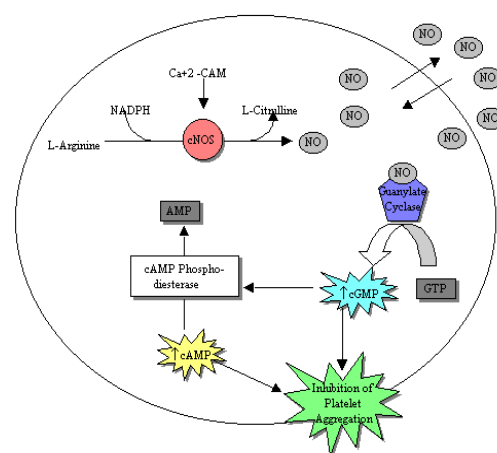
(diambil dari Harris JD, Evans V &, Owen JS. ApoE gene therapy to treat hyperlipidemia and atherosclerosis. *Current Opinion in Molecular Therapeutics* 2006 8(4))³¹

2.2.1.3. Apo E dan inhibisi agregasi trombosit

Peran Apo E dalam inhibisi agregasi trombosit juga mempengaruhi pembentukan lesi atherosklerotik. Hal ini terjadi bila Apo E berikatan dengan HDL, membentuk HDL-E yang berperan sebagai inhibitor agonis yang

menginduksi agregasi trombosit melalui interaksi dengan lokasi jenuh dari permukaan trombosit (Desai). Terdapat bukti bahwa Apo E unsur aktif utama dari HDL – E. HDL sendiri tidak mempunyai efek inhibisi trombosit, tetapi bila dikombinasikan dengan Apo E dapat mengurangi agregasi hingga 26% dari kadar kontrol sebesar 1 mg/ml (Desai).³²

Para peneliti meyakini bahwa inhibisi trombosit terjadi melalui jalur L-Arginine : Nitric Oxide. Melalui jalur ini endotel vaskuler mensintesis NO dari terminal atom nitrogen guanidin dari L-Arginin menggunakan enzim yang beredar dalam darah yang disebut NO Sintase. NO kemudian berikatan dengan guanylate siklase yang beredar dalam darah untuk memproduksi CGMP, yang mempunyai efek inhibisi pada agregasi trombosit. Peningkatan kadar CGMP juga mengurangi sejumlah CAMP phosphodiesterase, enzim yang merubah CAMP menjadi AMP. Penurunan CAMP phosphodiesterase menyebabkan peningkatan CAMP, dan CAMP juga mempunyai efek inhibisi agregasi trombosit (Riddell).³³



Gambar 2 : Jalur L-Arginin: NO inhibisi agregasi trombosit
(diambil dari Riddell, et al)³³

2.2.2. ApoE pada Susunan Saraf Pusat

ApoE dalam susunan saraf pusat diproduksi terutama oleh astrosit, walaupun neuron dan mikroglia juga turut memproduksi ApoE. Pada susunan saraf pusat ApoE berperan dalam transpor kolesterol dari sel selama pembentukan membran dan pertumbuhan panjang neurit serta perbaikan neuron. Tampaknya ApoE alel $\epsilon 4$ mempunyai dampak merugikan dibandingkan dengan alel $\epsilon 3$. ApoE3 terbukti meningkatkan pertumbuhan dan percabangan neurit, sedangkan ApoE4 berefek sebaliknya. ApoE $\epsilon 2$ belum diketahui efek protektifnya kecuali pada penyakit Alzheimer. Keseluruhan mekanisme hubungan antara genotip ApoE dan penyakit serebrovaskuler belum diketahui. Kemungkinan ApoE mempengaruhi keluaran pasca jejas serebral melalui perbedaan efek isoform terhadap perbaikan sinap, remodeling, dan proteksi.^{34,35}

Mekanisme tentang bagaimana isoform ApoE $\epsilon 4$ berpengaruh terhadap keluaran yang lebih buruk dan menghambat pemulihan kemungkinan melalui : penurunan efisiensi transpor lipid, akumulasi amiloid beta dan terdapatnya deposit amiloid beta luas sebelum jejas, lebih banyak inflamasi di otak, kurangnya kemampuan proteksi terhadap jejas oksidatif, perfusi otak pasca jejas lebih buruk, sitoskeleton lebih rentan terhadap kerusakan, berkurangnya pertumbuhan dan percabangan neurit sehingga pemulihan lebih buruk, sembab serebral lebih besar, penyakit aterosklerosis sebelum sakit lebih banyak, pemulihan dalam kondisi metabolisme anaerob lebih lambat, dan eksitotoksisitas N-methyl-D-aspartat lebih buruk^{34,35}

ApoE $\epsilon 4$ juga mempunyai efek proteksi. Protein ApoE4 mengaktivasi kaskade kinase ekstraseluler yang diatur sinyal untuk menghasilkan aktivasi respon bagian cAMP yang terikat protein dan induksi berbagai macam gen, termasuk gen protektif Bcl-2. Mekanisme protektif lain mungkin melalui kolesterol. Karier ApoE $\epsilon 4$ diketahui mempunyai kadar low density lipoprotein (LDL) dan kolesterol total yang tinggi, sehingga meningkatkan γ -glutamil-transferase yang bersifat protektif terhadap efek neurotoksik asam amino eksitotoksik. ApoE $\epsilon 4$ juga lebih berefek positif terhadap neurogenesis pada tikus transgenik dibandingkan dengan tikus dengan ApoE $\epsilon 3$.^{34,35}

2.2.2.1. ApoE dan Inflamasi

Terdapat bukti-bukti bahwa ApoE berperan dalam modulasi sistem imunitas, namun mekanisme pastinya belum jelas. Aktivasi astrosit dan mikroglia setelah jejas dengan hasil pelepasan mediator-mediator inflamasi diperkirakan merusak sawar darah otak dan menyebabkan sebab serebral. Pada susunan saraf pusat yang mengalami jejas, ApoE mungkin mengurangi aktivasi glia dan respon inflamasi endogen. Isoform ApoE4 kurang efektif dalam mengurangi peran sitokin-sitokin inflamasi daripada ApoE3, baik di perifer maupun dalam otak, sehingga ApoE4 menyebabkan respon inflamasi lebih besar daripada ApoE3. ApoE juga mempunyai kemampuan mengikat reseptor yang kuat dan memulai respon pensinyalan yang tergantung kalsium pada sel-sel yang imunokompeten. perbedaan spesifik masing-masing isoform menunjukkan peningkatan penyebaran dan aktivasi mikroglia pada pasien yang membawa alel ApoE $\epsilon 4$ ^{34,35}

2.2.2.2. ApoE dan Jejas Oksidatif

ApoE mempunyai efek protektif terhadap jejas oksidatif yang menyebabkan peroksidasi lipid yang berperan dalam patogenesis kerusakan saraf pada jejas otak akut maupun pada penyakit Alzheimer. Hal ini sesuai dengan penemuan bahwa lipoprotein plasma pada tikus defisiensi ApoE lebih rentan terhadap oksidasi in vitro daripada tikus wild-type. Tikus dengan defisiensi ApoE juga menunjukkan pemulihan yang lebih buruk pasca trauma kepala tertutup, dan hal ini terbukti berhubungan dengan penurunan kemampuan untuk melindungi sel terhadap stres oksidatif. Akumulasi 4-HNE (hidroksinonenal) (suatu produk peroksidasi lipid) dalam sitoplasma neuron dan kekusutan neurofibril berkurang dengan pemberian infus lipid yang terkonjugasi dengan ApoE pada tikus yang dibuat defisiensi ApoE setelah episode iskemia global. Sebagai tambahan, antioksidan vitamin E mengurangi aterosklerosis pada tikus defisiensi ApoE. Aktivitas antioksidan ApoE ini juga bersifat isoform spesifik, dimana pada penelitian in vitro ApoE4 kurang efektif dalam melindungi neuron dari toksisitas hidrogen peroksida dibandingkan dengan ApoE2 dan ApoE3.^{34,35}

2.2.2.3. ApoE dan perbaikan, *remodeling*, serta regenerasi sinaps

Plastisitas otak adalah perubahan dalam fungsi dan struktur otak yang muncul dalam berbagai konteks. Plastisitas otak merupakan bagian penting dalam pemulihan stroke baik secara spontan maupun yang dipicu oleh pengobatan. Plastisitas otak mencakup kemampuan sirkuit neural untuk merubah pengaturan fungsional otak sebagai respon terhadap peristiwa dan hal ini merupakan komponen penting dalam pemulihan pasca cedera dan kemampuan

belajar pada individu sehat. Seluruh fase awal dari stroke dan rehabilitasinya, jaringan saraf secara bertahap dipulihkan sampai beberapa derajat disekitar lesi itu sendiri, sedangkan daerah sekunder diotak dalam jaringan yang terdistribusi sering dipakai untuk kompensasi yang progresif dan tergantung pada tingkat kerusakan suatu wilayah otak tertentu, mungkin bisa mengambil beberapa fungsi daerah yang rusak.^{36,37}

Plastisitas merupakan bagian yang penting dalam pemulihan dan pembelajaran, tetapi laju dan cakupan dari pemulihan dan belajar berbeda antar individu. Beberapa faktor individu seperti ukuran lesi dan lokasi dan demografi seperti umur mempengaruhi cakupan dan laju penyembuhan, mekanisme neural yang mendasari belum sepenuhnya dipahami.³⁸ Terdapat banyak peristiwa molekuler yang terkait dengan pemulihan, sehingga sejumlah gen telah diduga sebagai variabilitas penting dalam pemulihan stroke. Variasi genetik dalam salah satu komponen dapat mempengaruhi kapasitas untuk plastisitas otak masing-masing individu dan bisa menjelaskan variabilitas yang ditemui pada efikasi rehabilitasi motorik. Individu – individu dengan kapasitas yang lebih besar untuk beradaptasi dan mengubah koneksi kortikal mempunyai keuntungan teoritikal yang berkaitan dengan pemulihan stroke. Lebih lanjut, perbedaan genetik mungkin juga mempengaruhi jumlah atau tipe terapi rehabilitasi yang diperlukan untuk memacu plastisitas kortikal dan pemulihan pemulihan fungsional yang serentak.³⁹

Plastisitas otak dalam susunan saraf pusat dapat digambarkan pada beberapa tingkatan yang berbeda. Pada tingkat seluler, plastisitas dapat diamati

sebagai perubahan dalam jumlah dan kekuatan sinaps – sinaps yang dapat berubah menjadi tingkat jaringan saraf . Di tingkat sinaps plastisitas dapat terjadi dalam hubungan meningkatkan pembentukan spina dendritik, pemotongan dan *remodeling*, pengaturan kanal kalsium, perubahan reseptor NMDA dan perubahan pertukaran reseptor AMPA. Baik secara langsung maupun tidak faktor genetik mungkin berpengaruh dalam berbagai proses yang berhubungan dengan plastisitas otak. Berbagai hubungan variabel non genetik yang telah terbukti mempengaruhi plastisitas otak adalah umur, pengalaman, *mood*, ciri cedera susunan saraf pusat, intensitas latihan, pengaruh pengobatan, faktor – faktor sosial dan siklus menstruasi.³⁹

Genom pada manusia mempunyai sejumlah polimorfisme tipe umum atau yang berbeda yang mempengaruhi plastisitas melalui beragam mekanisme. Variasi genetik ini yang membolehkan identifikasi marker – marker yang memprediksi kapasitas individu untuk plastisitas otak dan penyembuhan setelah cedera susunan saraf pusat seperti stroke. Dua gen spesifik yang berperan dalam plastisitas otak adalah *Brain Derived Neurothrophic Factor* (BDNF) dan *Apolipoprotein E* (APOE) dengan varian gen $\epsilon 2-4$. Apo E terutama terlibat dalam pengangkutan lemak dari satu bentuk sel atau jaringan ke sel atau jaringan lainnya, juga mempunyai peran penting dalam pertumbuhan dan regenerasi jaringan susunan saraf pusat maupun perifer dan mengatur perbaikan neuronal, *remodelling*, dan proteksi.³⁹ Pada penelitian, ditemukan bahwa pasca jejas pada korteks entorinal yang merupakan daerah rentan pada penyakit Alzheimer maupun trauma kepala, terdapat peningkatan ekspresi ApoE dalam astrosit dan reseptor

ApoE seiring dengan proliferasi dendrit dan regenerasi sinaps. Peningkatan ekspresi ApoE bersama reseptor setelah jejas mencerminkan transpor kolesterol dan lipid yang dibutuhkan untuk remodeling dendrit dan sinaptogenesis. Bukti lain yang mendukung adalah penurunan regenerasi sinaps pasca lesi entorinal pada tikus defisiensi ApoE, dan pemberian rekombinan ApoE3 atau ApoE4 manusia memperbaiki respon sinaps dan mengurangi defisit kognitif pada tikus tua dengan defisiensi ApoE. ApoE juga diperkirakan berperan dalam pembersihan produk-produk degenerasi pasca jejas. Perubahan ekspresi ApoE paralel dengan pembuangan produk-produk degenerasi pasca jejas, dan sistem ini terganggu pada tikus defisiensi ApoE. Individu dengan alel ApoE $\epsilon 4$ tidak dapat mengkompensasi kehilangan neuron terkait usia. Pada pasien Alzheimer dengan karier alel ApoE $\epsilon 4$ mekanisme kompensasi ini sangat terganggu. Konsentrasi ApoE lebih rendah pada pasien Alzheimer dengan karier alel $\epsilon 4$ daripada karier genotip alel $\epsilon 3$. Rendahnya konsentrasi ApoE ini berefek pada homeostasis lipid dan mendasari buruknya kompensasi sinaptogenesis.^{35,36}

Bukti *in vitro* konsisten dengan peran neurotropik ApoE yang dipengaruhi jenis isoformnya. Pada percobaan biakan neuron ganglion radiks dorsal kelinci dan sel neuroblastoma, ditemukan bahwa terdapat peningkatan pertumbuhan neurit pada sel yang diinkubasi dengan apolipoprotein E3, namun terhambat oleh pemberian apolipoprotein E4. Hasil serupa juga didapat pada sel-sel yang dibuat untuk memproduksi ApoE. Diduga, hal ini berhubungan dengan efek spesifik isoform ApoE terhadap sitoskeleton, dimana ApoE $\epsilon 3$ menstabilkan pembentukan mikrotubulus, dan ApoE $\epsilon 4$ berefek sebaliknya.^{35,36}

Plastisitas sinaps berkurang pada tikus transgenik yang memproduksi ApoE4 manusia, dibandingkan dengan yang memproduksi ApoE3. Protein ApoE3 bersifat protektif terhadap neurodegenerasi yang diinduksi asam kainat, sedangkan ApoE4 tidak. Perbedaan serupa ditemukan pada neurodegenerasi yang terkait umur. ApoE berperan terhadap transpor kolesterol ke sel saraf untuk pertumbuhan neurit dan sinaptogenesis, pembersihan produk-produk degenerasi, aktivasi mikroglia, dan mempertahankan sistem kolinergik.^{35,36}

Penelitian pada hewan coba dan kultur sel menyatakan bahwa Apo E mempunyai peran penting dalam plastisitas susunan saraf pusat. Tikus yang dibuat *knockout* Apo E menunjukkan perlambatan dan berkurangnya pemulihan sinaps setelah lesi bulbus olfactorius dibandingkan dengan tikus normal (*wild type*).⁴⁰ Sebuah studi yang memeriksa plastisitas sinaps menggunakan lesi korteks entorhinal menemukan bahwa tikus transgenik mengekspresi ApoE4 manusia memiliki sedikit kompensasi substansi *sprouting* dan sinaptogenesis reaktif dibandingkan tikus yang mengekspresi ApoE3.⁴¹ Kultur sel saraf manusia yang ditambahkan *Nerve Growth Factor* (NGF) dan ApoE3 meningkatkan pertumbuhan neurit, dibandingkan sel saraf yang ditambahkan NGF dan Apo E4.³⁹ Dalam sebuah studi yang meneliti 241 pasien stroke yang diikuti sebagai bagian dari uji klinis, genotip ApoE berhubungan dengan keluaran pada bulan pertama dan ketiga setelah stroke, dimana ApoE ϵ 4 berhubungan dengan keluaran yang buruk.⁴² Meskipun hubungan antara polimorfisme gen ApoE dan plastisitas pasca stroke belum dipelajari secara langsung pada manusia, studi pada hewan percobaan dan pemulihan stroke akut menunjukkan pentingnya plastisitas

dan pemulihan sehingga diperlukan studi lebih lanjut untuk menjelaskan peran genotip ApoE pada plastisitas dan keluaran pasca stroke.³⁹

2.2.3. Hubungan Alel Gen ApoE dan Stroke

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mencari hubungan antara Apo E baik gen maupun proteinnya terhadap penyakit serebrovaskular khususnya stroke. Latar belakang yang mendasari penelitian - penelitian tersebut diantaranya adalah ketiga jenis isoform ApoE memiliki kadar kolesterol dan LDL yang berbeda. Alel $\epsilon 2$ berhubungan dengan kadar kolesterol total dan LDL yang rendah sedangkan alel $\epsilon 4$ berhubungan dengan kadar kolesterol total dan LDL yang lebih tinggi. Banyak penelitian yang telah dilakukan dan mendukung adanya hubungan antara genotip alel gen ApoE dengan kadar lipoprotein plasma. Sebagian besar penelitian tersebut menunjukkan bahwa alel $\epsilon 4$ berhubungan dengan peningkatan kadar kolesterol total dan kadar kolesterol LDL plasma, beberapa penelitian juga menunjukkan adanya hubungan antara alel $\epsilon 4$ dengan peningkatan kadar trigliserida plasma. Sebaliknya, alel $\epsilon 2$ berhubungan dengan penurunan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL plasma dibandingkan dengan alel $\epsilon 3$.^{6,43,44} Utermann, dkk adalah yang pertama mengamati bahwa pada populasi normal, individu sebagai karier alel $\epsilon 2$ mempunyai kadar kolesterol total dan kolesterol LDL plasma yang rendah dari pada orang dengan genotip $\epsilon 3/\epsilon 3$. Bouthillier dkk dan Davignon dkk adalah yang pertama menunjukkan bahwa individu karier alel $\epsilon 4$ memiliki kadar kolesterol total dan kolesterol LDL plasma yang lebih tinggi dibandingkan dengan individu yang memiliki alel $\epsilon 3$ homozigot.^{6,7} Hal ini menjelaskan sebagian mengapa $\epsilon 4$ *carrier* meningkatkan

risiko penyakit jantung iskemik dan di beberapa studi ditunjukkan dengan hubungan penanda aterosklerosis. Hubungan ini juga menyatakan bahwa $\epsilon 4$ *carrier* seharusnya juga meningkatkan risiko stroke iskemik, khususnya stroke aterotrombosis.^{45,46}

Meta-analisis yang dilakukan oleh Cathie Suldow dkk menyatakan adanya hubungan kuat antara alel Apo $\epsilon 4$ dengan kejadian stroke iskemik pada populasi Asia dibandingkan kulit putih atau lainnya. Pada beberapa penelitian alel gen ApoE pada cedera otak traumatik telah membuktikan bahwa polimorfisme ApoE berpengaruh terhadap keluaran. Sorbi et al menunjukkan alel $\epsilon 4$ merupakan faktor prognostik untuk pasien koma post traumatik.⁴⁷ Penelitian Teasdale et al menunjukkan hubungan yang bermakna hubungan alel ApoE $\epsilon 4$ dengan keluaran yang buruk paska cedera otak traumatik. Pasien dengan alel $\epsilon 4$ memiliki kecenderungan lebih dari dua kali lipat mempunyai keluaran yang buruk setelah 6 bulan paska trauma.⁴⁸

Berdasarkan peran ApoE alel $\epsilon 4$ pada respon dan penyembuhan dari cedera otak traumatik, maka alel $\epsilon 4$ juga diduga berperan pada keluaran stroke. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat pengaruh polimorfisme Apo E pada risiko maupun keluaran penyakit stroke baik stroke iskemik maupun stroke perdarahan. Penelitian Remy Couderc dan kawan-kawan menemukan fenotip Apo E merupakan prediktor independen pada penyakit stroke iskemik.⁸ Metaanalisis dari berbagai penelitian genetik yang dilakukan pada pasien stroke iskemik di Cina membuktikan alel ApoE $\epsilon 2-4$ berhubungan dengan risiko stroke iskemik.⁴⁹ Hal ini memperkuat penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh

Margaglioni dkk dan Mc Carron dkk yang menunjukkan prevalensi alel $\epsilon 4$ yang lebih tinggi pada pasien stroke iskemik dibandingkan grup kontrol. Penelitian pada hewan percobaan yang telah dilakukan diantaranya oleh Peidrahitia dkk dan Laskowitz dkk, yang mempelajari peran ApoE pada keluaran stroke dengan menggunakan hewan tikus. Pada tikus yang mendapat perlakuan iskemia fokal dan reperfusi dengan oklusi sementara arteri cerebri media menunjukkan tikus dengan defisiensi ApoE secara signifikan mempunyai volume infark yang lebih luas dibandingkan kontrol. Penelitian lain yang dilakukan oleh Horsburgh dkk menunjukkan tikus dengan defisiensi ApoE terjadi peningkatan kerusakan neuron yang bermakna pasca episode iskemia global dibandingkan tikus kontrol.⁹

Penelitian retrospektif yang dilakukan Basun dkk dengan melihat hubungan antara genotip ApoE dan insidens stroke tromboembolik didapatkan bahwa tidak ada hubungan antara kejadian stroke dengan genotip ApoE, tetapi dijumpai lebih banyak pasien selamat dari stroke mempunyai frekuensi alel E3/E4 yang sedikit sehingga hasil penelitian ini mendukung hipotesis genotip ApoE tidak mempengaruhi risiko stroke namun berpengaruh terhadap pemulihannya. Studi terbaru yang dilakukan oleh cramer dkk terhadap 241 pasien menunjukkan genotip ApoE $\epsilon 4$ berhubungan dengan keluaran yang buruk setelah satu dan tiga bulan pasca stroke⁴³

Alel ApoE diduga juga berperan pada stroke hemoragik, penelitian yang dilakukan oleh Albert dkk pada pasien dengan perdarahan intraserebral non aneurisma dijumpai pasien-pasien dengan alel ApoE $\epsilon 4$ mempunyai mortalitas yang lebih tinggi dibandingkan pasien yang mempunyai alel E2/E3 atau E3/E3.

Diantara pasien yang selamat dari perdarahan yang tidak mempunyai alel ApoE $\epsilon 4$ mengalami peningkatan pemulihan fungsional. Greenberg dkk menyimpulkan pemulihan pasien dengan stroke hemoragik berhubungan kuat dengan genotip ApoE. Penelitian James dkk menunjukkan keberadaan alel ApoE $\epsilon 4$ pada pasien dengan stroke hemoragik berhubungan dengan keluaran fungsional yang buruk. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Albert dkk dan Mc Carron dkk. Penelitian pada pasien dengan perdarahan subaraknoid yang dilakukan oleh Gallek dkk juga menunjukkan adanya alel ApoE4 berhubungan dengan keluaran yang buruk. Penelitian patologi pembuluh darah serebral pada otopsi dan biopsi otak yang dilakukan Mc Carron dkk menunjukkan ApoE mempengaruhi *cerebral amyloid angiopathy* (CAA) yang meningkatkan kejadian perdarahan lobar intracerebral pada usia lanjut. Pada penelitian ini juga didapatkan alel $\epsilon 4$ meningkatkan deposisi amyloid dalam pembuluh darah, sedangkan alel apo $\epsilon 2$ merupakan predisposisi perubahan vaskulopati yang menyebabkan ruptur pembuluh darah yang mengandung amyloid. Sehingga dapat disimpulkan carrier $\epsilon 2$ dan $\epsilon 4$ meningkatkan suseptibilitas perdarahan intraserebral khususnya perdarahan lobar.¹⁴

Peran ApoE dalam perbaikan sistem saraf pusat diduga melalui berbagai mekanisme, yang sebagian besar dikenal sebagai isoform yaitu : (1) Membantu memelihara cytoskeleton dendrit, yang ditunjukkan oleh studi pada tikus dengan defisiensi ApoE homozigot menunjukkan kehilangan sinaps-sinaps yang signifikan dan kerusakan dendrit yang ditandai dengan umur.⁵⁰ (2) Apo E mempunyai efek antioksidan dimana ApoE3 lebih efisien dibandingkan ApoE4

dalam proteksi neuron. (3) Isoform E4 mendorong deposisi protein β amyloid, yang dikenal sebagai perusak sel-sel endotel dengan memproduksi *superoxide* radikal.⁵¹ (4) ApoE juga terlibat dalam mekanisme *down regulation* pada respon inflamasi sistem saraf pusat yang ditunjukkan oleh supresi tumor necrosis factor- α (TNF α) yang disekresi sel glia, dengan berkurangnya mediator-mediator inflamasi ini dapat mengurangi *injury* iskemik.⁵²

Beberapa penelitian lain juga menunjukkan hasil yang berbeda khususnya pada stroke iskemik. Penelitian yang dilakukan oleh Sturgeon dkk menyatakan ApoE bukan merupakan faktor risiko stroke iskemik . Metaanalisis yang dilakukan oleh Martinez dan Sudlow menunjukkan tidak ada hubungan antara genotip ApoE dan risiko maupun keluaran stroke. Penelitian yang dilakukan oleh Dlugosz dkk juga menunjukkan tidak adanya pengaruh genotip ApoE pada mortalitas atau keluaran yang buruk pada pasien pasca stroke iskemik.⁵³

2.3 Keluaran (*Outcome*) Stroke

Secara garis besar, keluaran stroke dapat dikategorikan ke dalam *neurologic impairment* (tanda yang diperoleh dengan pemeriksaan yang disebabkan penyakit), *disability* (efek fungsional dari perburukan) dan *handicap* (konsekuensi sosial dari disabilitas). Berbagai studi proses penyembuhan spontan dari stroke menunjukkan sebagian besar terjadi dalam 3 bulan setelah onset, dimana penyembuhan yang paling dramatis terjadi dalam 30 hari setelah onset. Hal ini juga berlaku pada pasien dengan defisit neurologis yang berat, pasien dengan defisit neurologis yang lebih ringan akan lebih cepat pulih dibandingkan pasien dengan defisit yang berat. Berbagai pola penyembuhan dapat terjadi yang

melibatkan berbagai domain pada pasien yang sama. Suatu studi pada disabilitas lengan pada pasien stroke menunjukkan perbaikan fungsi yang maksimum pada 80% pasien terjadi dalam tiga minggu, dan pada 95% pasien terjadi dalam sembilan minggu setelah onset stroke.⁵⁴

Faktor –faktor yang dapat mempengaruhi keluaran stroke :

1. Umur

Umur penderita yang lebih muda berhubungan dengan keluaran fungsional yang lebih baik dibandingkan umur yang lebih tua⁵⁵ Studi yang dilakukan Nakayama dkk th 1994 menunjukkan umur mempengaruhi keluaran fungsional stroke (Barthel index) secara independen⁵⁶

2. Jenis kelamin

Jenis kelamin masih kontroversi dalam mempengaruhi keluaran stroke. Appelros dkk melakukan *review* berbagai penelitian yang mempengaruhi keluaran stroke, hasil menunjukkan jenis kelamin memiliki pengaruh terhadap keluaran stroke dimana jenis kelamin perempuan memiliki keluaran fungsional stroke yang lebih buruk dibandingkan laki-laki⁵⁷

3. Lokasi infark

Infark di daerah kortikal mempunyai keluaran fungsional yang lebih baik dibandingkan sub kortikal⁵⁵

4. Beberapa faktor risiko stroke yang merupakan komorbid seperti hipertensi, diabetes mellitus dan penyakit jantung dapat mempengaruhi keluaran stroke menjadi lebih buruk.^{55,58}

2.3.1 National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS)

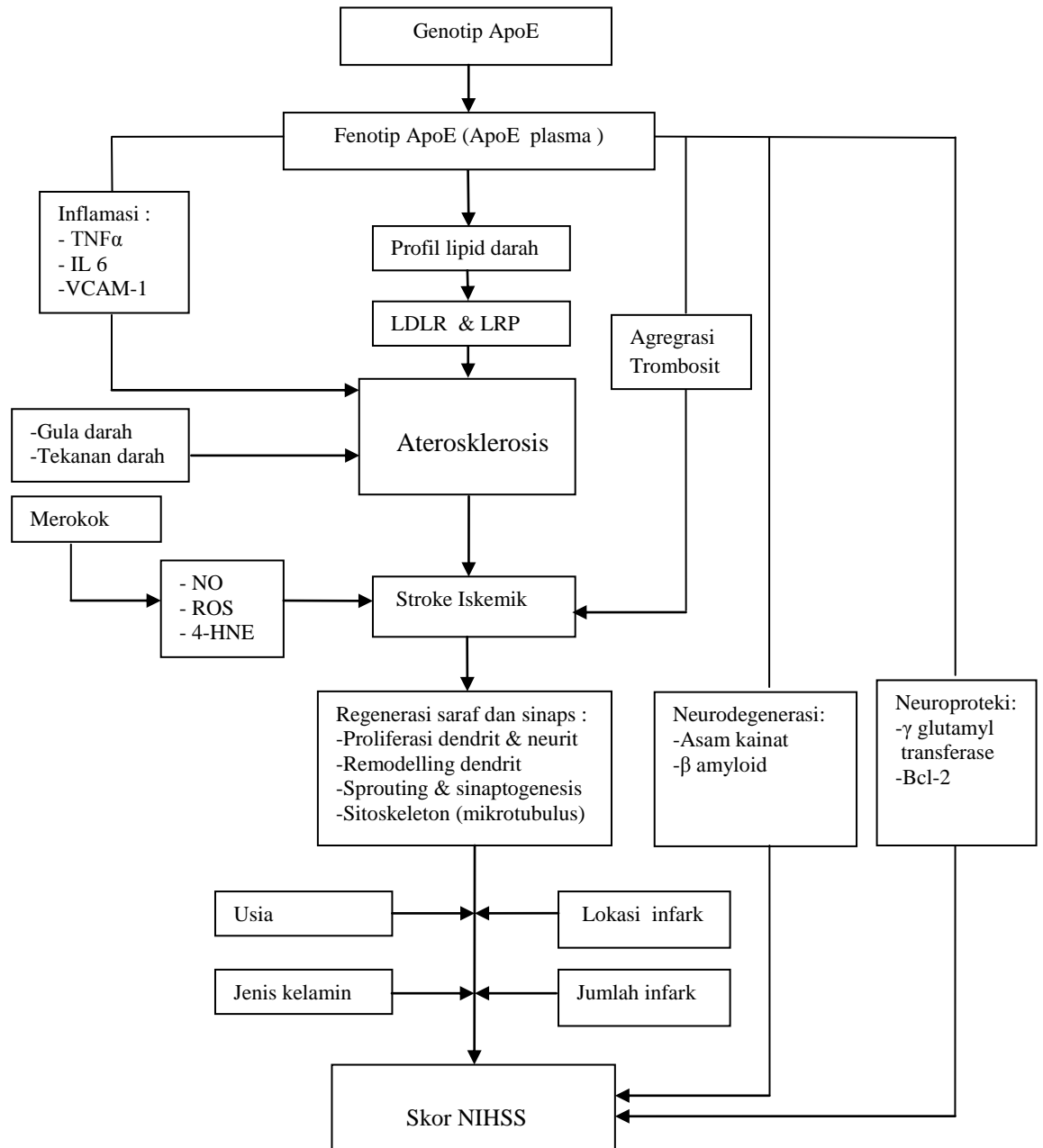
Adalah suatu instrumen yang digunakan untuk menilai gangguan neurologis penderita stroke dan telah distandarisasi. Penilaian dilakukan dengan pemeriksaan fisik neurologis. NIHSS telah direkomendasikan untuk menilai defisit neurologis saat penderita masuk perawatan, menilai perkembangan terapi dan rehabilitasi. Penelitian Young dkk menyatakan reliabilitas antara pemeriksa cukup tinggi. Skala NIHSS mengukur semua derajat perburukan neurologis dan merupakan salah satu instrumen pengukuran klinis yang paling dipercaya dan tepat pada stroke⁵⁹. Studi yang dilakukan Kelly-Hayes dkk membandingkan penggunaan 4 skala perburukan neurologis (NIHSS, Canadian Neurological Scale, Middle Cerebral Artery Neurological score, Guy's Prognostic Score) pada pemeriksaan awal (*baseline*) menunjukkan bahwa NIHSS adalah prediktor keluaran yang paling baik pada 3 bulan (hidup di rumah, hidup dalam perawatan atau kematian). Skala ini dapat diulang, mudah dan cepat dilakukan (10 menit) dan berhubungan dengan volume infark dan keluaran fungsional 3 bulan setelah stroke⁶⁰

Pemeriksaan defisit neurologis pada pasien stroke mempunyai sifat kuantitatif yang terdiri dari 11 item pertanyaan (skala 0-42) dan meliputi pemeriksaan: derajat kesadaran, respon terhadap pertanyaan, respon terhadap perintah, gerakan mata konjugat horizontal, lapangan pandang, berat paresis wajah, kekuatan motorik, ataksia, sensorik, bahasa, disartria dan neglek. Penilaian Skor NIHSS menurut modifikasi Lyden digolongkan menjadi tiga kategori yaitu nilai <4 ringan, 4-15 sedang, dan >15 berat.^{1,61}

2.4. Penyakit yang berhubungan dengan kromosom 19

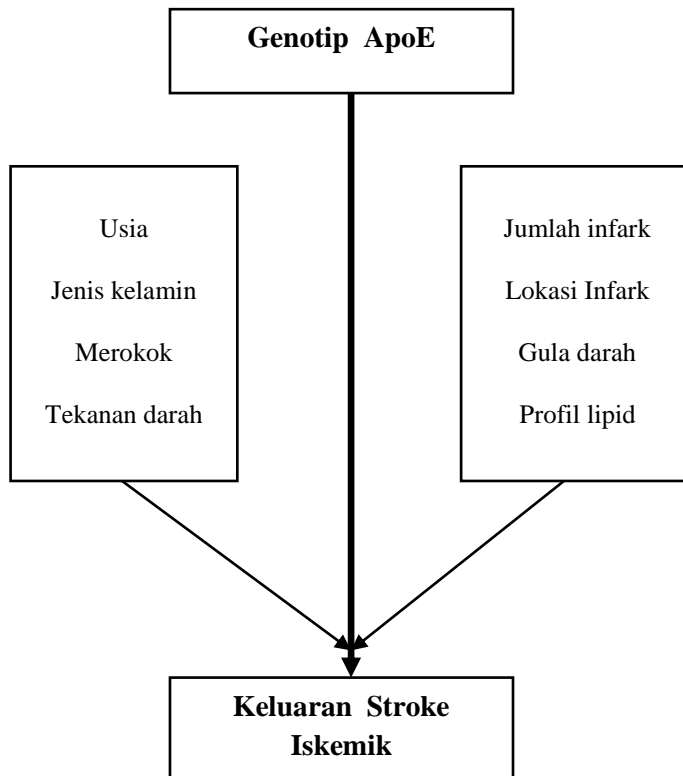
Gen ApoE terletak dalam kromosom 19, juga diketahui adanya penyakit-penyakit lain, terutama di bidang ilmu penyakit saraf yang disebabkan kelainan pada gen di kromosom 19. Mutasi pada gen subunit $\beta 1$ *voltage-gated sodium channel* pada kromosom 19q13.1 ditemukan pada keluarga dengan gambaran klinis epilepsi yang disebut *generalized epilepsy with febrile seizures plus* (GEFS+). GEFS+ merupakan suatu kondisi di mana ada beberapa anggota keluarga yang mengalami kejang demam dan kejang tetap ada setelah usia lebih dari 6 tahun dan dapat timbul sebagai bangkitan umum tanpa demam.^{65,66} Selain itu, migren hemiplegik familial, ataksia episodik tipe 2, dan ataksia spinocerebellar tipe 6 juga berhubungan dengan kelainan di kromosom 19p13, di gen kanal kalsium sub unit alfa 1 (CACNA1A).⁶⁷

2.5. Kerangka Teori



Bagan 1. Kerangka teori penelitian

2.6. Kerangka Konsep



Bagan 2. Kerangka konsep penelitian

2.6 Hipotesis

2.6.1 Hipotesis Mayor

Terdapat asosiasi antara genotip ApoE dengan keluaran pada pasien pasca stroke iskemik.

2.6.2 Hipotesis Minor

2.6.2.1 Terdapat asosiasi genotip ApoE ϵ 4 dengan skor NIHSS pada pasien pasca stroke iskemik

2.6.2.2 Terdapat asosiasi genotip ApoE non ϵ 4 dengan skor NIHSS pada pasien pasca stroke iskemik

2.6.3.3 Terdapat asosiasi antara faktor risiko stroke yaitu usia, jenis kelamin, profil lipid, tekanan darah, gula darah, merokok, jumlah dan lokasi infark dengan skor NIHSS pasien pasca stroke iskemik.