

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stroke Iskemik

2.1.1 Pengertian Stroke Iskemik

Dalam dokumen *An Updated Definition of Stroke for the 21st Century, The Stroke Council of the American Heart Association/American Stroke Association* (2013) mendefinisikan infark sistem saraf pusat sebagai kematian sel otak, medula spinalis, atau retina akibat iskemik, berdasarkan :

1. bukti neuropatologis, bukti neuroimaging, dan/atau bukti objektif lainnya adanya cedera iskemik fokal pada otak, medulla spinalis, atau retina sesuai dengan distribusi vaskuler, atau
2. bukti klinis adanya cedera iskemik fokal pada otak, medula spinalis, atau retina berdasarkan gejala yang menetap ≥ 24 jam atau hingga mengalami kematian, dengan faktor penyebab lain disingkirkan.¹⁰

Stroke iskemik adalah episode disfungsi neurologis yang disebabkan oleh cedera iskemik fokal, medulla spinalis, atau retina.¹⁰ Terjadinya lesi iskemik parenkim otak disebabkan oleh gangguan suplai darah otak yang persisten, biasanya oleh blokade pembuluh darah yang memberikan suplai (arterial), atau yang lebih jarang oleh hambatan aliran vena yang menyebabkan statis darah di otak dengan gangguan sekunder pada penghantaran oksigen dan nutrisi otak.¹¹

2.1.2 Patofisiologi Stroke Iskemik

Patofisiologi stroke iskemik merupakan suatu proses yang kompleks, melibatkan mekanisme eksotoksitas, jalur inflamasi, kerusakan oksidatif, ketidakseimbangan ion, apoptosis, angiogenesis, dan neuroprotektif. Kaskade iskemik yang terjadi pada stroke akut menghasilkan kematian sel neuron dan kerusakan fungsional yang permanen. Strategi terapi stroke berkembang menjadi dua tujuan utama; mengembalikan aliran darah otak dan meminimalisir efek iskemik yang menyebabkan kematian neuron.¹²

Sistem saraf pusat memiliki kebutuhan energi yang sangat tinggi dan hanya dapat dipenuhi oleh suplai substrat metabolik yang terus menerus dan tidak terputus. Pada keadaan normal, energi tersebut hanya berasal dari metabolisme aerob glukosa. Otak tidak memiliki persediaan energi untuk digunakan saat terjadi gangguan penghantaran substrat. Sehingga tanpa suplai glukosa dan oksigen yang adekuat, fungsi neuron akan menurun dalam beberapa detik.¹¹

Untuk mempertahankan jaringan otak intak secara struktural dan untuk membuatnya tetap berfungsi membutuhkan sejumlah energi yang berbeda. Kebutuhan aliran darah minimal untuk memelihara struktur otak adalah sekitar 5-8 ml/100 g/menit (pada jam pertama iskemik). Sementara, kebutuhan aliran darah minimal untuk berlanjutnya fungsi adalah 20 ml/100 g/menit. Karena itu, dapat terlihat adanya defisit fungsional tanpa terjadinya kematian jaringan (infark).¹¹

Terdapat dua mekanisme patofisiologi pada iskemik otak yaitu hilang atau berkurangnya suplai oksigen dan glukosa yang terjadi sekunder akibat oklusi vaskuler, serta perubahan metabolisme seluler akibat gangguan proses produksi energi. Oklusi menyebabkan gangguan hemodinamik aliran darah otak yang secara bertahap dikenal beberapa *critical level* berdasarkan beratnya oklusi, yaitu:¹³

1) Tingkat kritikal pertama

Apabila aliran darah otak/CBF (*cerebral blood flow*) menurun hingga 70-80% (kurang dari 50-55 ml/100 gr/menit), respon pertama otak adalah terjadinya gangguan sintesa protein karena adanya disagregasi ribosom.¹³

2) Tingkat kritikal kedua

Apabila CBF berkurang hingga 50% (hingga 35 ml/100 gr/menit), akan terjadi aktivasi glikolisis anaerob dan peningkatan konsentrasi laktat yang selanjutnya berkembang menjadi asidosis laktat dan edema sitotoksik¹³

3) Tingkat kritikal ketiga

Terjadi bila CBF berkurang hingga 30% (hingga 20 ml/100 gr/menit). Pada keadaan ini akan terjadi berkurangnya produksi *adenosine triphosphate* (ATP), defisit energi, gangguan transport aktif ion, instabilitas membran sel, serta dilepaskannya neurotransmitter eksitatorik yang berlebihan.¹³

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

kurang dari 10 ml/100 gr/menit akan terjadi kerusakan neuron yang ireversibel secara cepat dalam waktu 6-8 menit. Daerah ini disebut inti infark (*ischemic core*).¹³

2.1.3 Kaskade Iskemik

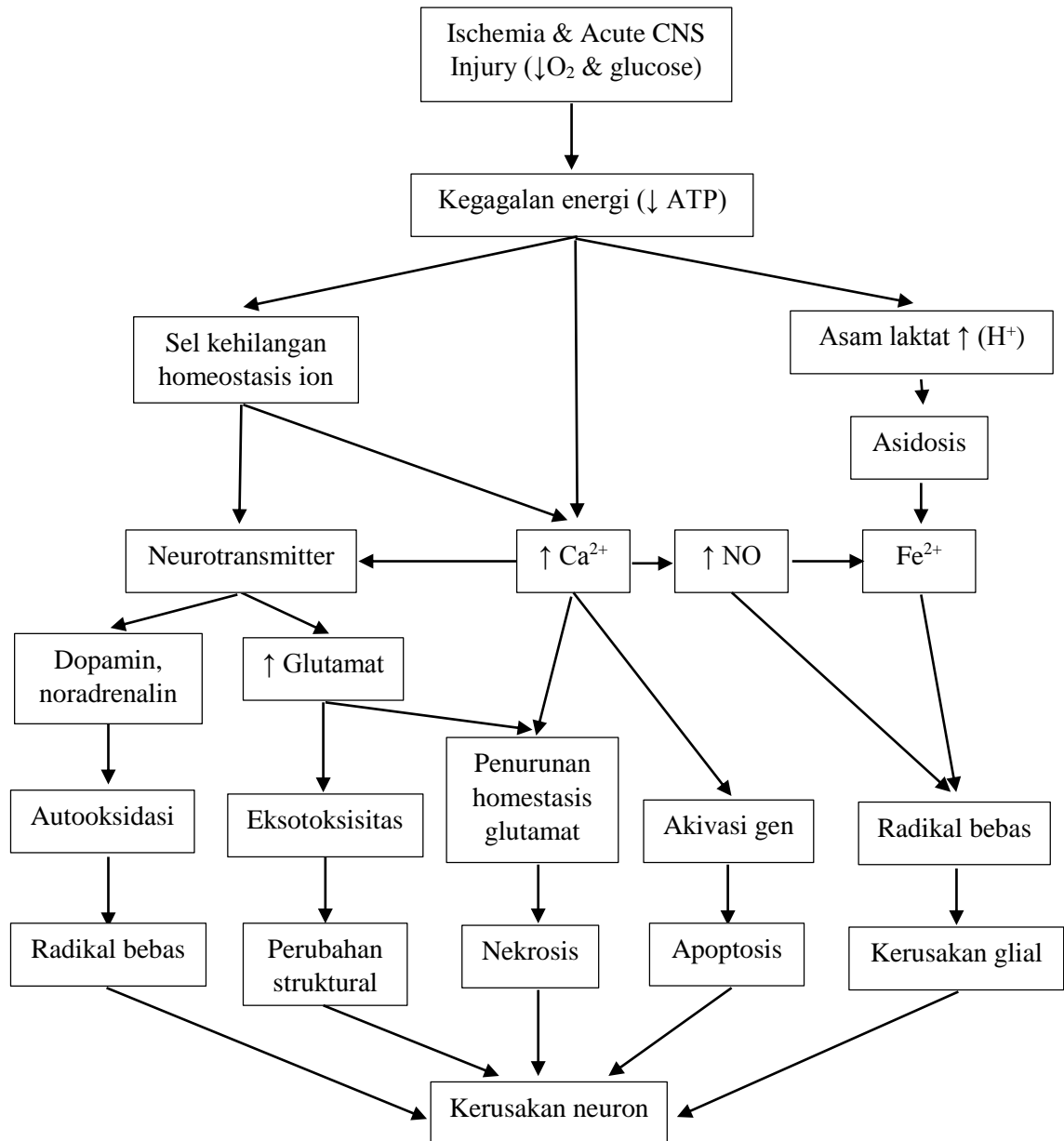
Kaskade iskemik mengacu pada serangkaian proses neurokimia yang terjadi saat iskemia serebral fokal baik sementara/*transient ischemic attack* (TIA) atau permanen (stroke iskemik).¹⁴ Proses kunci kegagalan bioenergi seluler adalah akibat hipoperfusi serebral fokal, diikuti oleh eksitotoksisitas, stress oksidatif, disfungsi sawar darah otak, cedera mikrovaskuler, aktivasi hemostatik, inflamasi pasca iskemik dan akhirnya kematian sel neuron, glia dan sel endotel.¹⁵ (Gambar. 1)

Kaskade ini biasanya berlangsung selama berjam-jam hingga beberapa hari, bahkan setelah pemulihan sirkulasi. Meskipun reperfusi jaringan otak iskemik sangat penting untuk memulihkan fungsi normal, dapat terjadi efek paradoks yang mengakibatkan kerusakan sekunder, disebut cedera reperfusi.¹⁵

2.1.3.1 Kegagalan Metabolisme Energi

Dengan adanya oksigen, glukosa dimetabolisme oleh mitokondria menjadi ATP. Otak normal membutuhkan 500 cc O₂ dan 75-100 mg glukosa setiap menitnya (total sekitar 125 mg glukosa per harinya). ATP yang dihasilkan secara eksklusif tergantung pada proses fosforilasi oksidatif, digunakan untuk membuat dan mempertahankan komponen dan fungsi sel serta memacu fungsi motor, kognitif dan memori. Suplai produksi ATP secara

konstan penting untuk mempertahankan integritas neuron dengan mayoritas kation Ca^{2+} , Na^+ ekstraseluler dan K^+ intraseluler.^{12,15}



Gambar 1. Kaskade Iskemik

Sumber : Sherki YG, Rosenbaum Z, Melamed E, Offen D.¹⁶

Hipoperfusi fokal menghambat penghantaran substrat penting dan menyebabkan proses normal sel-sel otak untuk memproduksi energi ATP gagal. Kegagalan ini dengan cepat menyebabkan disfungsi pompa transportasi ion tergantung energi serta depolarisasi neuron dan glia.¹⁴

Terhambatnya penyediaan glukosa, oksigen dan bahan makanan lain ke sel otak menghambat produksi ATP, sehingga terjadi gangguan fungsi seluler, serta aktivasi berbagai proses toksik. Bila hal ini tidak dikoreksi pada waktunya, iskemik dapat menyebabkan kematian sel.¹³

Elevasi laktat bukan hanya sebagai penanda terjadinya metabolisme anaerob pada stroke, tetapi juga memungkinkan menjadi penyebab cedera sekunder dengan ekspansi volume infark serta *outcome* yang buruk, terutama pada infark kortikal.^{14,15}

2.1.3.2 Homeostasis Kalsium and Eksitotoksisitas

Kegagalan bioenergi seluler menyebabkan penurunan fungsi $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase yang mengakibatkan terjadinya peningkatan konsentrasi Na^+ intrasel sehingga timbul pembengkakan sel, serta pelepasan glutamat akibat depolarisasi membran sel. Depolarisasi ini menyebabkan rangsangan pada berbagai reseptor glutamat dan masuknya ion bermuatan positif serta secara tak langsung merangsang pembukaan kanal Ca^{2+} *voltage-dependent*.¹⁵ Tingginya kadar kalium ekstraseluler menambah efek stimulasi protein transport ion yang mengakibatkan pembengkakan sel osmotik, terutama astrosit, dengan penurunan reuptake asam amino eksitatori (EAA) pada glial sebagai konsekuensinya.^{15,17}

Iskemia mengaktifkan kanal Ca^{2+} *voltage dependent*, memfasilitasi masuknya arus besar Ca^{2+} ke dalam sel. Setelah iskemia, jumlah Ca^{2+} neuronal dapat meningkat hingga 150 persen dibanding kontrol. Peningkatan Ca^{2+} intraseluler memberi banyak efek merugikan pada sel-sel. Kelebihan Ca^{2+} merangsang pelepasan EAA, seperti glutamat, yang mengarah ke eksotoksisitas. Hal ini diperparah oleh kegagalan penyerapan EAA pra-sinaptik, yang berlanjut pada akumulasi glutamat.¹⁸

Pada keadaan normal reseptor α amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) merupakan yang paling reaktif terhadap efek glutamat. Penelitian melaporkan bahwa reseptor N-Metil-D-Aspartat (NMDA) merupakan yang paling banyak teraktifkan pada kejadian iskemik fokal.¹⁵ Glutamat mengaktifkan kanal NMDA.¹⁸ Saluran ion yang dibentuk oleh reseptor NMDA hanya terbuka bila Mg^{2+} yang menutupi saluran lepas karena depolarisasi akibat adanya input eksitatori yang cukup besar.¹⁵ Magnesium (Mg^{2+}) biasanya berfungsi sebagai bloker endogen saluran NMDA.¹⁸ Depolarisasi setelah iskemik menyebabkan terbukanya saluran ion pada reseptor NMDA yang mengakibatkan masuknya ion Ca^{2+} yang berlebihan ke dalam sitoplasma.^{15,19}

Pasca stroke, kadar Mg^{2+} berkurang, sehingga memungkinkan aktivasi reseptor NMDA. Hal ini memungkinkan masuknya lebih lanjut dari Ca^{2+} , yang mengarah ke kaskade kejadian merugikan. Ca^{2+} menyebabkan stimulasi fosfolipase C (PLC) dan inositol fosfat (IP3), serta aktivasi enzim proteolitik yang mendegradasi komponen intraseluler seperti laminin,

spektrin dan aktin, yang menyebabkan hilangnya struktur dan integritas selular. Selanjutnya, Ca^{2+} dapat mengaktifkan fosfolipase A2 (PLA2) yang mengakibatkan produksi radikal bebas di luar kapasitas mekanisme *scavenger*. Peningkatan radikal bebas menyebabkan peroksidasi lipid pada membrane fosfolipid bilayer dan kerusakan membran sel.¹⁸

Selain itu, gangguan pada *inner-membrane* mitokondria menyebabkan kebocoran, sehingga terjadi pembengkakan mitokondria difasilitasi permeabilitas transisi pori dan penghentian produksi ATP, yang kemudian menyebabkan produksi radikal bebas, penglepasan sitokrom c dan apoptosis mitokondria. Radikal bebas menginduksi gen pro-inflamasi, menyebabkan peradangan pasca iskemik yang berkontribusi terhadap cedera neuronal.¹⁸

Peningkatan Ca^{2+} pada sitoplasma akan menstimulasi enzim *neuronal nitric oxide synthase* (nNOS) yang akan memacu terbentuknya *nitric oxide* (NO). Dalam keadaan normal NO adalah molekul *messenger* namun ketika konsentrasi NO meningkat, zat ini berkompetisi dengan *superoxide dysmutase* (SOD) untuk mengikat superoksida (O_2^-), SOD mengkatalisis reaksi O_2^- menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) sedangkan reaksi antara NO dengan O_2^- akan membentuk peroksinitrit (ONOO^-) yang merupakan oksidan yang poten yang menyebabkan pembentukan *free radical hydroxyl*. Peroksinitrit beraksi langsung dengan berbagai struktur intraselular termasuk lipid, protein dan DNA.¹⁵

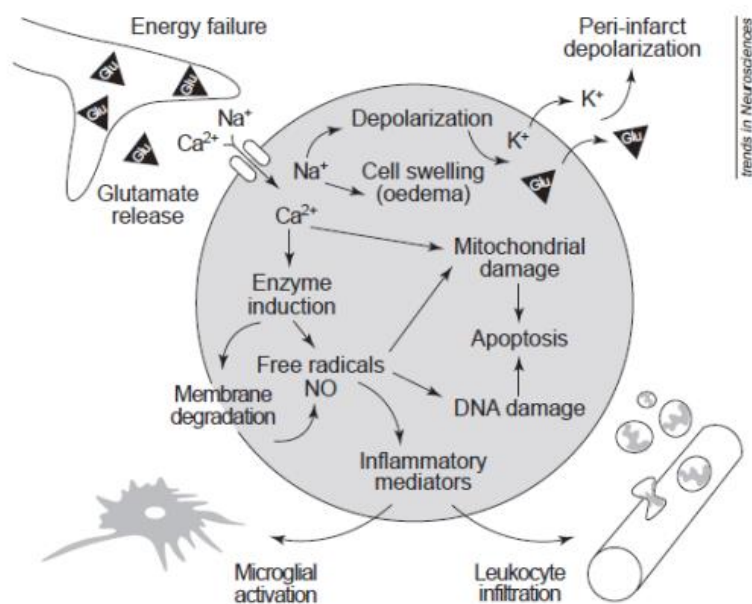
Pengeluaran Ca^{2+} dari retikulum endoplasma juga akan memacu translokasi Bax ke membran mitokondria. Bax adalah salah satu anggota *Bcl-2 family* yang bersifat proapoptotik sedangkan Bcl-2 adalah protein antiapoptosis pada membran mitokondria. Pada keadaan iskemia, sintesis ATP dalam mitokondria sangat menurun dan ATP dirusak menjadi ADP, AMP dan adenosin. Kemudian terjadi degradasi menjadi inosin, *hypoxanthine* dan *xanthine*. Reaksi yang terakhir ini dikatalisis oleh *xanthine oxidase* (XO), yang dikonversi dari *xanthine dehydrogenase* oleh proses Ca^{2+} dependent. Pembentukan *xanthine* dari *hypoxanthine* menghasilkan *anion superoxide*, suatu spesies oksigen reaktif (ROS).¹⁵

Mitokondria merupakan sumber utama dari ROS selama dan segera setelah stroke. Pada keadaan Ca^{2+} overload dan penurunan fungsi rantai transport elektron, kebocoran elektron juga berkontribusi pada pembentukan *anion superoxide*. Enzim SOD akan mengkatalisis H_2O_2 yang sebagian besar akan diubah menjadi H_2O oleh katalase. Namun apabila terdapat ion Fe, H_2O_2 akan membentuk *hydroxyl radical* (.OH), suatu ROS yang lain.¹⁵

Peran NO pada iskemia serebri cukup kompleks. NO dapat memberikan efek protektif maupun efek merusak pada sel. Dalam keadaan iskemia, 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 *inducible* NOS (iNOS) yang dihasilkan oleh makrofag terlibat dalam proses inflamasi dan bersifat sitotoksik yang menyebabkan kematian sel endotel melalui mekanisme

apoptosis, juga menyebabkan disfungsi sel endotel yang menghasilkan disregulasi vaskular dan mempercepat iskemik. NO yang dihasilkan oleh *endothelial* NOS (eNOS) mempunyai efek protektif yaitu menurunkan agregasi trombosit, mencegah adhesi leukosit dan meningkatkan vasodilatasi pembuluh darah arteri dan aliran darah serta mengatur kontraktilitas. Penurunan glukosa dan oksigen dapat menginduksi ekspresi iNOS pada sel endotel.¹⁵

Penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kadar metabolit NO berkorelasi dengan keparahan kerusakan sel otak. Meskipun penurunan aliran darah serebri pada daerah sentral iskemik merupakan faktor utama yang bertanggung jawab terhadap kerusakan nekrotik, faktor lain yang juga terlibat adalah derajat metabolik, densitas kapiler, eksitotoksisitas asam amino dan perbedaan aktifitas NOS lokal.¹⁵

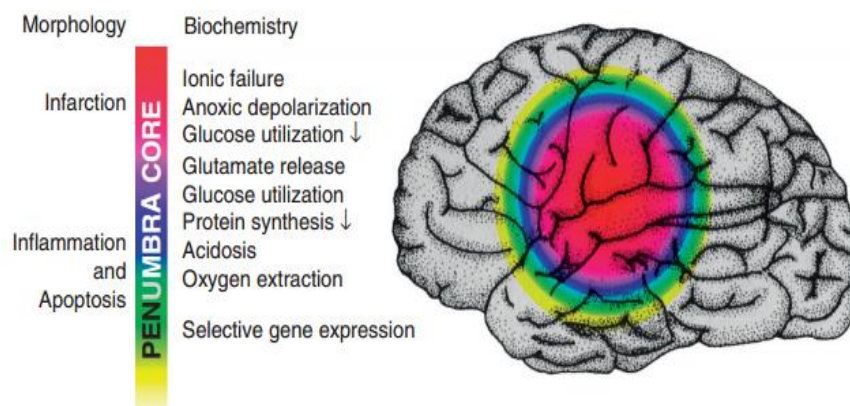


Gambar 2. Mekanisme pelepasan glutamat, kalsium, dan depolarisasi penumbra³⁵

2.1.4 Kematian Sel Pasca Stroke Iskemik

Dalam beberapa menit terjadi stroke iskemik fokal, area inti infark otak terkena gangguan aliran darah yang paling dramatis mengalami cedera fatal dan nekrosis sel. Inti nekrotik ini dikelilingi oleh zona jaringan yang mengalami gangguan fungsional tetapi tetap aktif secara metabolik, dikenal sebagai penumbra iskemik. Penumbra dapat terjadi pada setengah dari total volume lesi pada tahap awal iskemia, dan merupakan wilayah target penyelamatan pada terapi pasca stroke..²⁰

Berbeda dengan nekrosis, apoptosis merupakan suatu proses yang relatif teratur, kematian sel terprogram tergantung energi untuk membuang sel-sel yang rusak. Sel-sel yang mengalami apoptosis, dibongkar dengan cara yang terorganisir untuk meminimalkan kerusakan dan gangguan terhadap sel tetangga..²⁰



Gambar 3. Penumbra Iskemik. Regio otak dengan perfusi rendah yang telah kehilangan potensial membran (core) dikelilingi area dengan gangguan perfusi intermediet (penumbra)²¹

2.1.4.1 Nekrosis

Nekrosis merupakan salah satu mekanisme kematian sel baik di inti infark maupun penumbra. Selama nekrosis sel awalnya membengkak, kemudian menyusut dan dapat diamati sebagai bentuk piknotik kecil. Proses ini diakhiri oleh mikroglia dan makrofag membuang debris dari sel mati. Jika nekrosis mencakup glia berdekatan dan matriks struktural, akan terbentuk kista terbentuk, proses ini disebut pan nekrosis.²²

Cedera seperti hipoglikemia, anoksia dan paparan eksitotoksin membunuh sel-sel melalui proses nekrosis. Kematian sel nekrotik jelas terkait dengan peningkatan Ca^{2+} intraseluler, yang telah dibuktikan dalam kultur irisan otak dan otak utuh. Setelah pembengkakan sel pada fokal atau global iskemia, neuron menjadi eosinofilik dalam 2-8 jam. Piknotik, atau penyusutan neuron terjadi dalam waktu 24-36 jam. Fagositosis neuron, astrosit dan matriks sekitarnya terjadi pada hitungan hari. Sekali jalur kematian nekrotik sel terjadi, proses sulit untuk dihentikan. Pada area iskemik berat terbentuk kista setelah fagositosis dan pembuangan semua elemen otak. Di area penumbra beberapa sel rusak dibuang, terjadi perkembangan astrosit, meninggalkan zona infark inkomplit yang neuronnya habis tetapi tidak kistik.²²

2.1.4.2 Apoptosis

Cedera akibat kelebihan radikal bebas atau iskemia ringan pada kultur sel menyebabkan kematian sel melalui serangkaian proses apoptosis. Diawali dengan peristiwa penyusutan inti dan sitoplasma, kondensasi kromatin diikuti

oleh fragmentasi inti, dan pemisahan tonjolan membran sel tonjolan. Tanda khasnya terjadi pembelahan DNA dengan endonuklease menjadi segmen panjang non-random yang menghasilkan "*laddering*" pada isolasi DNA gel. Pada akhirnya sel memisahkan menjadi kecil, piknotik yang difagositosis oleh sel residen dalam jaringan. Terdapat sedikit atau tidak ada infiltrasi inflamasi yang terkait dengan apoptosis.²²

2.1.4.3 Penumbra Iskemik

Stroke iskemik dimulai dengan hipoperfusi fokal parah, cedera otak kontinu selama beberapa jam atau bahkan berhari-hari. Jumlah kerusakan permanen tergantung pada tingkat dan durasi iskemia. Daerah otak yang aliran darahnya sangat terganggu, mengalami cedera irreversibel disebut sebagai inti iskemik. Sel di inti dibunuh secara cepat oleh lipolisis, proteolisis, disagregasi mikrotubulus, kegagalan total bioenergi dan pemecahan homeostasis ion.¹⁴

Wilayah dengan jaringan fungsional terganggu tetapi intak secara struktural terletak di antara inti infark dan jaringan otak normal disebut area penumbra. Berasal dari Bahasa Yunani yang berarti "bayangan". Di wilayah ini CBF terganggu tetapi tetap pada tingkat yang cukup untuk mempertahankan fungsi saraf dasar, termasuk produksi ATP.¹⁸ Pada akhirnya jika tidak segera diterapi, penumbra iskemik bergabung dengan inti infark, terjadi dalam beberapa jam setelah onset stroke. Namun, penumbra dapat diselamatkan dengan meningkatkan aliran darah dan /atau mencegah proses kaskade iskemik. Penyelamatan jaringan ini dikaitkan dengan peningkatan

outcome neurologis dan pemulihan yang merupakan target untuk terapi stroke akut.¹⁴

Perkembangan penumbra dapat dipercepat oleh kegagalan pemulihan aliran darah, miskinnya sirkulasi kolateral miskin dan kondisi hiperglikemia. Dalam penumbra terjadi pula peningkatan ekstraksi O², ekspresi gen selektif, asidosis laktat dan penurunan sintesis protein. Sel dapat bertahan hidup selama berjam-jam untuk hari setelah iskemik awal, namun akhirnya mati oleh apoptosis.¹⁸

2.1.5 Reperfusi Injury

Cedera reperfusi adalah kerusakan jaringan disebabkan oleh kembalinya suplai darah ke jaringan setelah periode iskemik. Tidak adanya oksigen dan nutrisi dari darah selama periode iskemik menciptakan kondisi di mana pemulihan hasil sirkulasi justru menyebabkan suatu peradangan dan kerusakan melalui induksi stres oksidatif, bukan pemulihan fungsi menjadi normal.²³

Reperfusi jaringan iskemik sering dikaitkan dengan cedera mikrovaskuler, terutama karena peningkatan permeabilitas kapiler dan arteriol yang menyebabkan peningkatan difusi dan filtrasi cairan di jaringan. Aktivasi sel endotel menghasilkan banyak ROS tetapi sedikit NO diikuti reperfusi, dan ketidakseimbangan menyebabkan respon inflamasi berikutnya. Respon inflamasi ikut bertanggung jawab atas kerusakan cedera reperfusi. Leukosit dibawa ke daerah cedera oleh aliran darah kembali yang baru, merilis sejumlah faktor inflamasi serta radikal bebas dalam merespon

kerusakan jaringan. Aliran darah baru ini memaparkan kembali oksigen pada sel yang mengalami kerusakan protein seluler, DNA, dan membran plasma.²³

Kerusakan membran sel akan menyebabkan pelepasan radikal bebas. ROS pada reaksi redoks secara tidak langsung mengaktifkan apoptosis. Leukosit juga dapat menempel pada endotel kapiler kecil, membuat obstruksi dan menyebabkan iskemia yang lebih parah. Hipotesis lain mengatakan, jaringan mengandung *scavenger* radikal bebas untuk menghindari kerusakan dengan mengoksidasi spesies reaktif yang biasanya terkandung dalam darah. Jaringan iskemik akan mengalami penurunan fungsi *scavenger* ini akibat cedera sel. Setelah aliran darah kembali, spesies oksigen yang terkandung dalam darah akan merusak jaringan iskemik karena penurunan *scavenger*.²³

2.2 Inflamasi Pada Stroke Iskemik

Inflamasi didefinisikan sebagai respon fisiologis berupa reaksi lokal jaringan terhadap infeksi atau cedera¹¹ Inflamasi setelah proses iskemia ditandai oleh aktivasi cepat sel mikroglia dan proses infiltrasi dari sel neutrofil serta makrofag pada daerah yang mengalami kerusakan, beberapa mekanisme antara lain *second messenger* yang teraktivasi oleh karena ion kalsium, peningkatan radikal bebas, oksigen dan hipoksia akan mencetuskan beberapa gen proinflamasi melalui beberapa faktor transkripsi.²⁴

Iskemia mempengaruhi sel vaskuler dan non vaskuler menghasilkan sitokin dan kemokin, yang mengaktifkan sel endotel dan sel inflamatori, serta bersifat neurotoksik. Sitokin adalah mediator peptida yang memodulasi berbagai fungsi seluler, melalui rangkaian otokrin, parakrin dan endokrin.

Peptida ini mempunyai peran fisiologik dan patofisiologik yang mungkin bisa menguntungkan dan merugikan, dan penting dalam inflamasi dan regulasi umum.¹¹

2.2.1 Sel Inflamasi

Leukosit

Peningkatan infiltrasi leukosit perifer ke jaringan otak diobservasi terjadi dalam hitungan jam hingga beberapa hari pasca kasus stroke iskemik.²⁵

Mikroglia/Makrofag

Mikroglia adalah sel residen yang berperan sebagai makrofag di otak dan medulla spinalis. Mikroglia bertindak sebagai pertahanan utama sistem imunitas aktif dalam sistem saraf pusat dan memiliki kemampuan fagositosis, yang berfungsi sebagai sel *scavenger* pada cedera jaringan dan infeksi.²⁵

Setelah diaktifkan, mikroglia mengalami transformasi morfologis menjadi sel fagosit, hampir tidak bisa dibedakan dengan makrofag yang beredar di sirkulasi. Price *et al* menunjukkan aktivasi mikroglia signifikan setelah 72 jam, hingga 30 hari, di daerah inti infark, hemisfer kontralateral, dan zona penumbra pasien stroke, meskipun aktivasinya hanya minimal sebelum 72 jam. Mikroglia diaktifkan setelah iskemia dan melepaskan berbagai zat, banyak yang bersifat sitotoksik dan/atau sitoprotektif.²⁵

2.2.2 Sitokin dan Kemokin

Sitokin

Beberapa studi klinis menunjukkan peningkatan ekspresi IL-6, namun studi lainnya menunjukkan peningkatan ekspresi *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1, atau CCL2) dan interleukins (IL)-1 β , IL-8, and IL-10.²⁵

Perbedaan ekspresi sitokin yang terjadi setelah stroke tergantung pada waktu sampling dan inflamasi perifer yang sudah ada sebelumnya. Banyak penelitian telah melaporkan peningkatan kadar plasma sitokin setelah stroke berkorelasi dengan *outcome* yang buruk. Peningkatan konsentrasi IL-6 dimulai pada 24 jam sampai 7 hari. Tarkowski *et al* menemukan bahwa peningkatan sitokin di cairan serebrospinal (LCS), tetapi bukan IL-6, berkorelasi dengan *outcome* stroke. Selanjutnya, peningkatan kadar IL-1 β diamati pada LCS. Hasil yang sama diperoleh dari pasien pada 4 jam setelah onset stroke, yang mengalami peningkatan dalam serum IL-6. Kadar TNF- α serum dan CSF meningkat dalam 24 jam pertama setelah stroke tetapi tidak berkorelasi dengan ukuran lesi atau gangguan neurologis.²⁵

Interleukin

Bukti kuat dari studi eksperimental menunjukkan peran penting interleukin pada cedera iskemik. Ekspresi IL-1 β mRNA pada korteks serebral, striatum, talamus, hipokampus, dan bulbus olfaktorius setelah iskemia otak sementara pada tikus tampak meningkat dalam beberapa menit dan menetap sampai 7 hari. Eksaserbasi cedera otak iskemik diamati pada

pemberian IL-1 β eksogen pada otak. Tikus dengan defisiensi IL-1 α/β memiliki volume infark iskemik yang lebih kecil dibandingkan dengan *wild type*. Tikus tanpa reseptor IL-1 memiliki volume infark yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol *wild type*. Hasil yang sama diperoleh dalam model tikus stroke yang menggunakan antagonis IL-1ra; tikus yang kekurangan IL-1ra mengalami peningkatan dramatis pada cedera iskemik.²⁵

TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α)

TNF- α juga diregulasi di otak setelah iskemia dan memainkan peran penting dalam kaskade inflamasi setelah iskemia. Protein TNF- α meningkat dalam beberapa jam pada model tikus oklusi arteri serebri media/*media cerebri artery* (MCA).²⁵

Terdapat data yang bertentangan mengenai apakah TNF- α memperburuk atau justru memperbaiki cedera iskemik. Beberapa penelitian mendukung peran TNF- α dalam memperburuk cedera: aktivitas berlebih TNF- α pada tikus menghasilkan infark lebih besar dibanding *wild type* pada 24 jam dan 7 hari setelah iskemia serebral. Penghambatan TNF- α menggunakan antibodi anti TNF- α murine juga mengurangi cedera otak iskemik pada tikus. Namun, penelitian lain tidak mendukung peran untuk TNF- α cedera iskemik: Murakami *et al* menemukan perbedaan dalam kematian sel hipokampus setelah iskemia global antara kontrol dan tikus yang ditransplantasi *chimeric-TNF- α gene-deficient* di sumsum tulangnya. TNF- α juga dapat melindungi otak dari iskemia dengan menerapkan toleransi iskemik yang kemungkinan melalui peningkatan regulasi TNF reseptor 1

(TNF-R1). Studi yang saling bertentangan mengenai peran TNF- α ini mungkin disebabkan oleh adanya dua reseptor, TNF-R1 dan TNFR2, yang mungkin memiliki efek yang berlawanan pada kematian sel.²⁵

Kemokin

Kemokin merupakan famili polipeptida regulator yang berperan dalam komunikasi seluler dan perekrutan sel inflamasi di imunitas host, seperti mengatur migrasi leukosit dalam respon inflamasi dan respon imun. MCP-1, kemokin utama dalam sistem mamalia, memainkan peran penting dalam cedera iskemik. Tingginya kadar MCP-1 telah diamati di LCS dibandingkan dengan kontrol. Defisiensi MCP-1 melindungi jaringan pada model tikus stroke, kemungkinan karena IL1- β dalam jaringan iskemik. MCP-1 yang berlebih di otak memperburuk cedera otak iskemik dan berhubungan dengan perekrutan sel inflamasi. Administrasi MCP-1 secara signifikan meningkatkan permeabilitas sawar darah otak in vivo dan in vitro. Studi lain melaporkan bahwa CXCL1, suatu kemoatraktan neutrofil yang ampuh, secara signifikan lebih tinggi dalam LCS pasien stroke dibandingkan dengan kontrol dan peningkatan ini berkorelasi positif dengan volume area hipodens CT otak.²⁵

2.2.3 Molekul Adhesi

Cell adhesion molecules (CAMs) adalah protein terikat membran yang bertindak sebagai penghubung antara molekul luar dan dalam lingkungan sel dan memiliki peran dalam komunikasi sel-sel. CAMs

memfasilitasi migrasi sel inflamasi ke lokasi cedera. CAMs yang utama meliputi selectin (P, E, dan Subtipe), integrin (LFA-1, Mac-1), *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), dan *vascular adhesion molecule-1* (VCAM-1). Bukti kuat terdapat pada literatur mengenai pentingnya CAMs di cedera otak pada stroke. CAMs memainkan peran sentral dalam infiltrasi leukosit ke dalam parenkim otak pasca stroke dan merupakan suatu target terapi yang penting. Leukosit yang diaktifkan mengakibatkan kerusakan lebih lanjut dari lesi iskemik melalui cedera reperfusi atau mekanisme cedera sekunder²⁵

2.2.4 Metabolit Asam Arakidonat

Asam arakidonat (AA) dan metabolitnya adalah mediator inflamasi penting dalam cedera iskemik. Asam arakidonat merupakan asam lemak tak jenuh yang dirilis oleh aktivasi fosfolipase A2s (PLA2s), terutama PLA2 sitoplasma dari fosfolipid membran sel. AA akan dimetabolisme oleh setidaknya dua jalur isoform cyclooxygenase (COX) menjadi prostaglandin dan senyawa terkait, melalui jalur lipoxigenase untuk menjadi leukotrien dan melalui metabolisme p450 menjadi asam epoxygenic (EETs).²⁵

2.2.5 Kaskade Inflamasi Post Iskemik

Hampir semua sel di otak, termasuk sel endotel, makrofag perivaskuler, mikroglia, astrosit, dan neuron dapat menghasilkan IL-1 β dan TNF α . Bertemuinya kedua endotel dengan kedua sitokin tersebut memicu pengeluaran ICAM-1 dan E-selectin. Sementara itu IL-1 β dan TNF α dapat

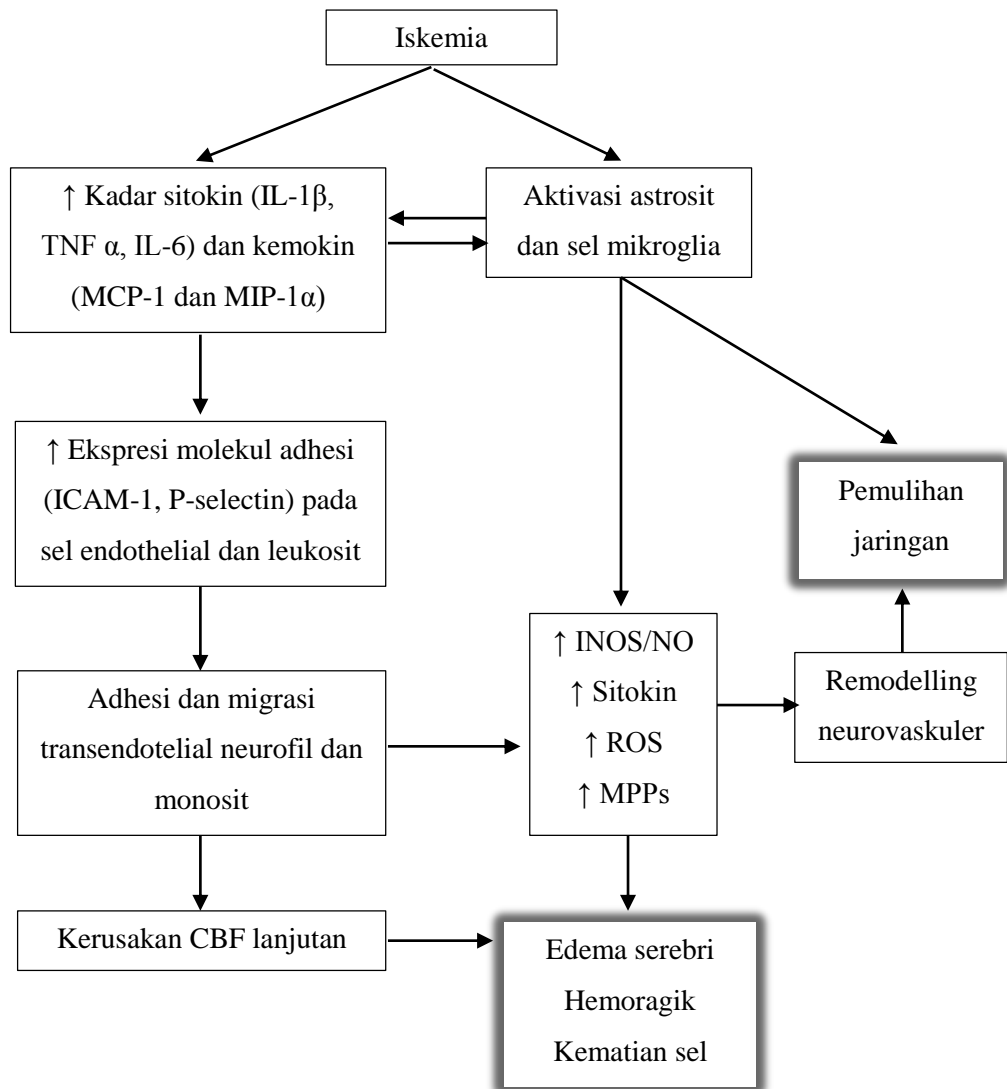
langsung mematikan sel, utamanya bila sintesis protein terhambat, seperti pada neuron yang mengalami iskemia ringan.²⁶

Pada stroke iskemik akut umumnya didapati peningkatan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 β dan TNF α , sedangkan sitokin anti-inflamasi tidak berubah seperti IL-4 atau justru menurun seperti TGF β -1.¹⁸ Sitokin proinflamatori mengalami peningkatan ekspresi beberapa jam setelah terjadi lesi iskemik. TNF α terekspresikan pada pusat iskemik dan penumbra segera setelah iskemia dan selanjutnya ditemukan makrofag pada jaringan infark. TNF α mempunyai efek menstimulasi ekspresi adhesi molekul pada endotel yang mengakibatkan akumulasi leukosit, perlekatan dan migrasi leukosit dari kapiler ke dalam jaringan otak. Mikroglia dan astrosit memproduksi TNF α dan TGF-1 ketika terjadi cedera otak dan menimbulkan perbaikan jaringan, gliosis, dan pembentukan jaringan parut.¹⁹

Sitokin terlibat pada perluasan infark pasca iskemik, secara langsung maupun melalui induksi mediator neurotoksik (NO). TNF α turut berperan pada kematian neuron karena keterlibatannya pada proses apoptosis. Senyawa yang dapat menghambat produksi TNF dapat mengurangi kehilangan sel dan jaringan fungsional setelah cedera otak.¹⁹

Proses inflamasi dihubungkan dengan pembersihan debris dan proses perbaikan. Mikroglia yang aktif mengalami transformasi menjadi fagosit dan bersama makrofag membatasi infark dan memfagosit debris. Hilangnya reseptor TNF α pada TNF-receptor menyebabkan peningkatan

sensitifitas terhadap iskemia otak dan pemberian IL-1 β dapat meningkatkan toleransi terhadap iskemia.¹⁹



Gambar 4. Respon sel sel inflamasi pada saat iskemik²³

Reperfusi segera setelah sumbatan pembuluh darah dapat menormalkan kembali fungsi neuron, namun bila dilakukan setelah terjadi iskemia reperfusi tidak dapat menghambat kerusakan neuron, dan justru akan berbahaya karena menimbulkan peningkatan infiltrasi sel inflamasi dan

oksigen yang dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas. Reperfusi jaringan iskemik dengan cepat menimbulkan ekspresi sitokin inflamasi khususnya TNF α dan IL-1 β .¹⁹

2.3 Leukosit

Sel-sel sistem imun berasal dari sel prekursor pluripoten dalam sumsum tulang yang kemudian berdiferensiasi menjadi sel premyeloid, sel limfosit dan sel pre-monosit yang berdiferensiasi menjadi sel monosit dan makrofag. Jumlah normal hitung leukosit pada keadaan fisiologis di darah perifer dapat dilihat di Tabel. 2.²⁷

Tabel 2. Hitung leukosit fisiologis dalam darah perifer

Jenis Sel	Jumlah
Total Leukosit	4000 – 9000/ μ l
Basofil	0-1% (absolut: 0 – 90/ μ l)
Eosinofil	1-4% (absolut: 40 – 360/ μ l)
Neutrofil berinti batang	0-4% (absolut: 0 – 360/ μ l)
Neutrofil berinti segmen	50-70% (absolut: 2000 – 6300/ μ l)
Monosit	2-8% (absolut: 80 – 720/ μ l)
Limfosit	25-45% (absolut: 1000 – 4050/ μ l)

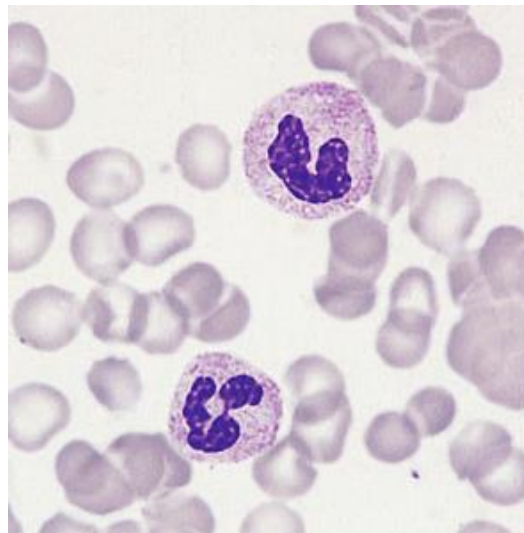
2.3.1 Neutrofil sebagai Sel Imunitas

Sistem imun non spesifik meliputi sistem fagosit mononuklear (monosit dan makrofag), sistem fagosit polimorfonuklear (neutrofil dan eosinofil), basofil dan sel mast, sel NK, Sel Null, Sel K, serta sel dendritik.²⁷

Neutrofil disebut sebagai “*soldiers of the body*” karena merupakan sel pertama yang dikerahkan ke daerah inflamasi. Neutrofil merupakan sebagian

besar dari leukosit dalam sirkulasi. Biasanya hanya berada dalam sirkulasi kurang dari 7-10 jam sebelum bermigrasi ke jaringan, dan hidup selama beberapa hari di jaringan. Butir-butir azurofilik primer (lisosom) mengandung hidrolase asam, mieloperoksidase, dan neutromidase (lisozim), sedangkan butir-butir sekunder mengandung laktoferin dan lisozim. Neutrofil mempunyai reseptor untuk IgG (Fcy-R) dan komplemen. Fungsi utama neutrofil adalah fagositosis, aktivitasnya menimbulkan *respiratory burst*. Pada manusia dewasa ada sekitar 5×10^{10} neutrofil dalam sirkulasi, sel tersebut hanya hidup beberapa hari sebelum terjadi kematian terprogram.²⁷

Granulopoiesis neutrofil terjadi di sumsum tulang dimulai dari terbentuknya sel induk mieloblas, promielosit, mielosit neutrofil, kemudian mengalami pematangan inti membentuk metamielosit neutrofil, dan akhirnya migrasi fisiologis sel ke darah perifer dalam wujud granuloosit neutrofil berinti batang dan granulosit neutrofil berinti segmen.²⁸



Gambar 5. Neutrofil. Neutrofil berinti batang (atas) dan neutrofil berinti segmen (bawah)²⁹

Granulosit neutrofil berinti batang memiliki ciri bentuk inti menjadi lebih langsing seperti huruf C atau S tanpa tali penghubung. Gumpalan-gumpalan kromatin bertambah kasar. Sitoplasmanya berwarna coklat abu-abu muda atau coklat merah muda, tidak lagi tampak basofilik. Granula halus berwarna ungu kecoklatan muncul di tempat granula azurofilik. Granulosit neutrofil segmen memiliki inti sel yang mengalami segmentasi dengan penghubung yang berbentuk benang antar segmen. Mendekati batas inti berbentuk segmen; bagian penghubung segmen lebih tipis daripada 1/3 bagian inti yang paling tebal yang diukur dari kedua sisinya. Biasanya terdiri dari tiga atau empat segmen. Kromatin inti dan sitoplasma sama dengan granulosit berinti batang.²⁸

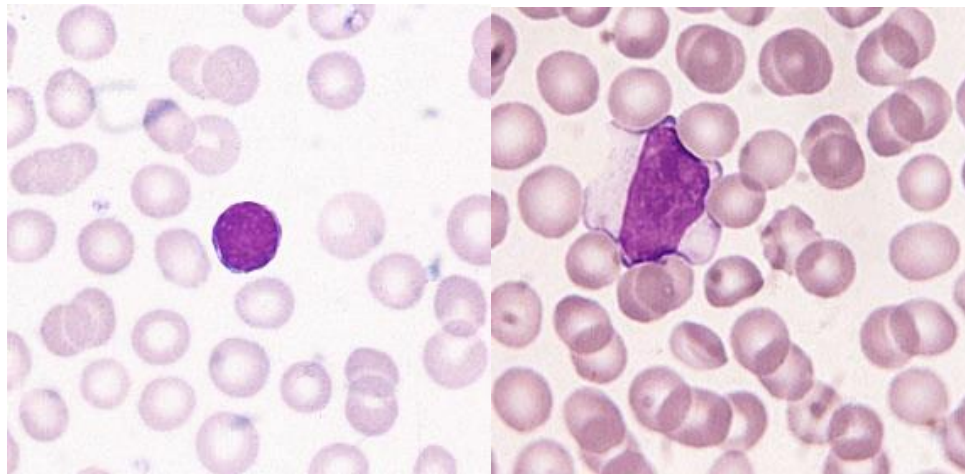
2.3.2 Limfosit sebagai Sel Imunitas

Sel yang dapat diidentifikasi secara morfologis sebagai limfosit terbagi atas tiga subkelompok besar: sel B, sel T dan sel NK.²⁶ Pada respon imun spesifik, limfosit naif asal sumsum tulang atau timus bermigrasi ke organ limfoid sekunder tempat diaktifkannya antigen, berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel efektor, sel memori dan beberapa diantaranya bermigrasi ke jaringan.²⁷

Secara morfologis limfosit kecil berbentuk agak bulat, dan sedikit lebih besar daripada eritrosit normal. Sel ini memiliki rasio inti-sitoplasma yang tinggi, dengan sitoplasma yang sering kali sangat sempit dan kurang jelas. Sitoplasmanya jernih dan tampak sedikit basofilik. Intinya agak bulat,

kadang melekok ke dalam dengan gumpalan kromatin yang kasar dan terkadang nukleoli dapat terlihat.²⁸

Limfosit besar memiliki ukuran sel mencapai hingga dua kali diameter eritrosit. Sel ini memiliki sitoplasma yang sedikit basofilik, jernih, dan besar. Pada sebagian area sel, biasanya terdapat sedikit granula azurofilik yang kasar dan kemerahan. Inti agak bulat, sebagian juga melekok ke dalam. Struktur kromatinnya kasar, bergumpal dengan karakteristik yang serupa dengan limfosit kecil.²⁸



Gambar 6. Limfosit. Limfosit kecil (kiri) dan limfosit besar (kanan)²⁹

2.3.2.1 Limfosit B

Sel B merupakan 5-25% limfosit dalam darah yang berjumlah sekitar 1000-2000 sel/mm³. Terbanyak merupakan limfosit asal sumsum tulang (hampir 50%) sisanya sekitar 1/3 berasal dari kelenjar getah bening limfe dan kurang dari 1% dari timus.²⁷ Sel limfosit B berasal dari sel punca hematopoetik melalui sel prekursor limfatik, mengalami pematangan di sumsum tulang melalui berbagai tahap.²⁸ Fase-fase pematangan sel B

berhubungan dengan Ig yang diproduksi. Setelah matang, sel B migrasi menuju limpa, kelenjar getah bening dan tonsil.²⁷

Sel B dan sel T berasal dari prekursor yang sama. Masing-masing sel berproliferasi terutama atas pengaruh sitokin IL-12 yang meningkatkan jumlah sel imatur. Perkembangan sel B mulai dari sel prekursor limfoid yang berdiferensiasi menjadi sel progenitor B. Pematangan progenitor B disertai modifikasi gen yang berperan dalam diversitas produk akhir dan penentuan spesifitas sel B. Aktivasi sel B diawali dengan pengenalan antigen spesifik oleh reseptor permukaan. Antigen dan perangsang lain termasuk Th yang merangsang proliferasi dan diferensiasi klon sel B spesifik. Dalam perkembangannya, sel B mula-mula memproduksi IgM atau isotipe lain (seperti IgG), menjadi matang atau menetap sebagai sel memori.²⁷

2.3.2.2 Limfosit T

Progenitor sel asal sumsum tulang yang bermigrasi ke timus berdiferensiasi menjadi sel T. Sel T yang nonaktif disirkulasikan melalui kelenjar getah bening dan limpa yang dikonsentrasikan dalam folikel dan zona marginal sekitar folikel. Limfosit T ditemukan di darah sebanyak 70-80% dari keseluruhan limfosit dan juga ditemukan di zona mantel dan centrum germinale folikel limfe.²⁷

Sel T $\alpha\beta$ merupakan subkelompok yang paling bermkna secara kuantitatif dan meliputi sel T CD3+CD8+ dan CD3+CD4+. Sel T CD3+CD8+ berkembang menjadi sel T sitotoksik (CTL). Sel ini bertindak sebagai pertahanan terhadap infeksi virus dan sel kanker. Sel T CD3+CD4+

berdasarkan sitokin yang disekresikan dibagi menjadi, sel Th1 menyekresikan IL-12, IFN- γ dan TNF- β ; sel Th2 menstimulasi CTL.²⁷

Sel T $\gamma\delta$ merupakan sel CD3+CD4+CD8+, dan berkembang di timus dan saluran cerna. Sel T $\gamma\delta$ hanya mencapai 1-5% sel T yang beredar di darah perifer, tetapi dapat mencapai 50% jumlah limfatik di kulit dan saluran cerna.²⁷

2.3.2.3 Sel NK

Natural killer menggambarkan populasi sel limfatik yang terbatas jumlahnya mencapai sekitar 10% limfosit yang beredar di darah perifer. Sel NK dikenal dengan fenotipe CD3-CD56+. Sel-sel ini bekerja melalui produksi sitokin sitotoksik, sitolisis langsung dan sitotoksitas seluler yang diperantarai antibodi terhadap infeksi virus atau sel yang bertransformasi.²⁷

2.4.1 Peran Neutrofil Pada Stroke Iskemik

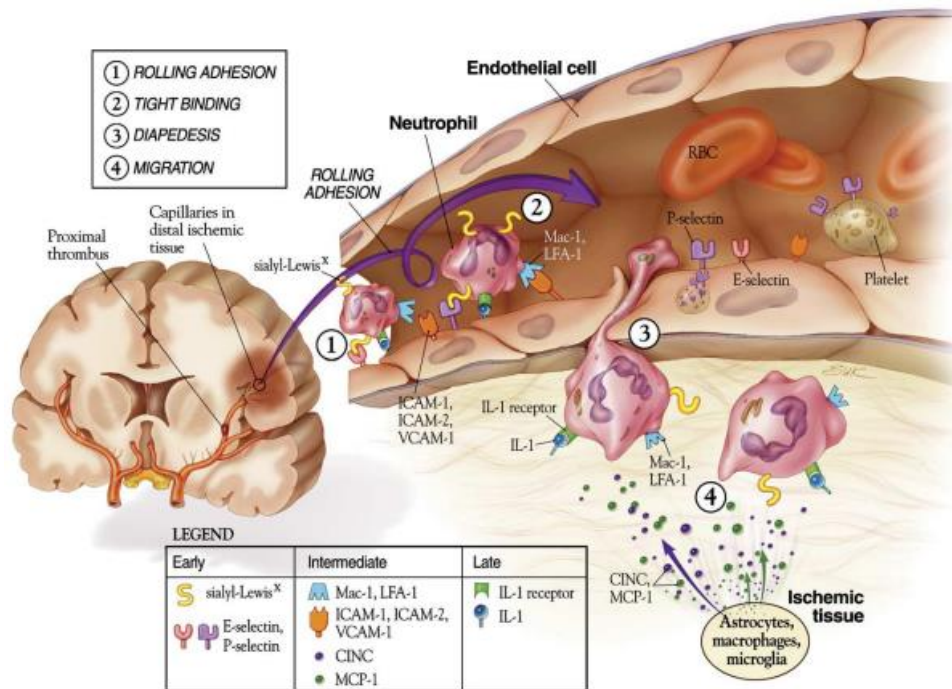
Neutrofil menginfiltrasi area otak yang mengalami iskemik 30 menit sampai beberapa jam pada fokal area iskemik otak, puncaknya pada hari ke 1-3, dan kemudian menghilang atau menurun dengan cepat seiring waktu.^{3,30} Infiltrasi neutrofil mungkin menetap sampai 3 hari atau lebih pada area otak iskemik, namun kemungkinan besar, setelah 3 hari mengalami *masking* oleh akumulasi skala besar mikroglia/makrofag yang teraktivasi di area inflamasi. Pada penelitian dengan model iskemik serebri pada tikus yang diinduksi endothelin-1 oleh Watson *et al* didapati bahwa infiltrasi neutrofil ke otak

meningkat pada hari pertama, puncaknya pada hari ke 3, dan berkurang, hingga 7 sampai 15 hari setelah iskemia serebral.³¹

Jumlah neutrofil pada area stroke iskemik memiliki hubungan langsung dengan luas infark.³² Price *et al*, menggunakan label selektif neutrofil, melaporkan bahwa neutrofil direkrut ke otak dalam waktu 24 jam pasca iskemik. Beberapa studi dilaporkan oleh Barone *et al* menunjukkan bahwa penghambatan infiltrasi neutrofil mengurangi cedera iskemik serebral dan meningkatkan *outcome* pasien. Studi eksperimental oleh Matsuo *et al* dengan model tikus iskemia serebral, antibodi RP-3 monoklonal yang selektif mengurangi leukosit pada tikus 90% sampai 95% menunjukkan penurunan yang signifikan pada akumulasi neutrofil dan volume infark.³³

Sel mikroglia (komponen sel imun intrinsik) mulai mengalami kematian pada jam ke 4 setelah iskemik di daerah pusat infark, kemudian komponen sel imun ekstrinsik (neutrofil) bermigrasi dari vaskuler masuk ke daerah infark. Sebaliknya, pada tepi lesi infark, dalam 4-7 hari terjadi pengaktifan mikroglia yang menyebabkan perubahan morfologi, sedangkan infiltrasi makrofag baru terjadi kemudian.¹⁵

Oklusi oleh thrombus pada vaskular proksimal menyebabkan terjadinya kaskade iskemik pada kapiler di jaringan iskemik distal. P-selektin dilepaskan dari area penyimpanan, bersaa dengan E selektin, mengikat gugus sialyl-Lewis X untuk merangsang adhesi bergulir neutrofil. Rekrutmen neutrofil ke parenkim otak melalui 4 tahap yaitu; (1) adhesi bergulir, (2) ikatan kuat (*tight binding*), (3) diapedesis, dan (4) migrasi. (Gambar.7)



Gambar 7. Rekrutmen neutrofil pasca stroke iskemik. ⁵

(1) Iskemia menginduksi ekspresi IL-1 pada sel endothelial yang kemudian menginduksi ekspresi ICAM-1 pada permukaan sel endothelial. Integrin Mac-1 dan *lymphocyte function-associated antigen-1* pada permukaan neutrofil mengikat ICAM-1, ICAM 2, dan VCAM-1 menyebabkan ikatan yang kuat. (2) Astrosit, makrofag, dan mikroglia pada jaringan otak iskemik melepaskan CINC dan MCP-1 sebagai respon dari iskemia diinduksi sitokin. (3 dan 4) Sinyal kemokin menyebabkan diapedesis dan migrasi neutrofil ke parenkim otak yang mengakibatkan kerusakan jaringan. ⁵

Leukosit teraktifasi di parenkim otak iskemik menyebabkan inflamasi dan kerusakan lebih lanjut. Aktivasi ini akan meningkatkan adhesi leukosit

ke endotel dan selanjutnya migrasi ke dalam parenkim otak. Efek leukosit dalam patogenesis kerusakan iskemik serebral dengan cara:

1. *Plugging* mikrovaskuler serebral dan pelepasan mediator vasokonstriksi endotel sehingga memperberat penurunan aliran darah.
2. Eksaserbasi kerusakan sawar darah otak dan parenkim melalui pelepasan enzim hidrolitik, proteolitik, produksi radikal bebas dan lipid peroksidase. Reaksi inflamasi ini tidak hanya berperan pada peroksidasi membran lipid namun juga memperburuk derajat dari kerusakan jaringan yang disebabkan oleh efek-efek rheologis dari leukosit-leukosit yang saling melekat di vaskuler dan mengganggu perfusi mikrovaskular. Kerusakan juga bertambah karena produk-produk neurotoksik leukosit.¹³

2.4.2 Peran Limfosit Pada Stroke Iskemik

Iskemik otak yang parah akan mengganggu aktivitas sel imun bawaan dan adaptif, mengakibatkan terjadinya immunosupresi sistemik yang merupakan predisposisi terjadinya infeksi yang mengancam jiwa pada pasien pasca stroke. Perubahan sistem imunitas tubuh pasca iskemik dapat menguntungkan yaitu dengan mekanisme adaptasi imunomodulator yang mencegah reaksi autoimun terhadap antigen SSP setelah stroke.³⁴

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa limfosit T regulator (T_{reg}) memainkan peran penting dalam melindungi sel-sel pada model tikus stroke. $CD4 + CD25 + Foxp3 T_{reg}$ yang dihasilkan oleh thymus memainkan peran kunci dalam mengendalikan respon imun dalam kondisi fisiologis dan

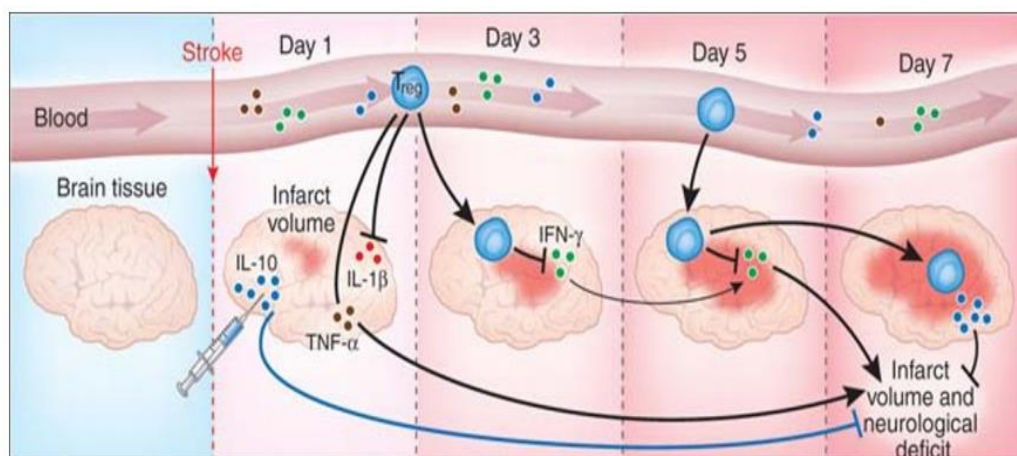
berbagai penyakit inflamasi di SSP dan sistemik. T_{reg} dihasilkan oleh sel dendritik atau *antigen presenting cell* (APC), mengekspresikan mediator immunosupresif indoleamin 2,3-dioksigenase (IDO), enzim pertama dalam jalur kynurenine, yang mendegradasi dan mengkonversi triptofan menjadi kynurenine. $IFN-\gamma$ dan $TNF-\alpha$ yang terakumulasi dengan kadar tinggi di otak iskemik menginduksi IDO dalam merespon aktivasi sistem imunitas kronis.³⁴

Stroke pada tikus dengan sel T_{reg} yang tidak fungsional dalam darah menyebabkan kerusakan structural otak dan defisit neurologis yang jauh lebih besar dari pada tikus dengan sel T_{reg} fungsional. Sel T_{reg} melindungi sel-sel dengan menekan aktivasi berbahaya dari sistem imunitas dan dengan demikian dapat juga mencegah perkembangan efek autoimun. IL-10 adalah sitokin yang diproduksi oleh sel T_{reg} dan tampaknya memainkan peran penting selama stroke. Tikus tanpa sel T_{reg} fungsional yang disuntik dengan IL-10 pada hari pertama setelah stroke memiliki kerusakan otak yang secara nyata lebih kecil dibandingkan tikus yang tidak menerima IL-10. Sel T_{reg} memproduksi IL-10 menginduksi IDO menunjukkan bahwa IL-10 dapat bertindak *upstream* dengan memodulasi produksi IDO.³⁴

Penurunan sel T_{reg} secara signifikan meningkatkan kerusakan otak dan memperburuk *outcome* fungsional. Tidak adanya sel T_{reg} meningkatkan aktivasi sel residen pasca iskemik dan penyerangan sel-sel inflamasi termasuk mikroglia dan sel T, sumber utama $TNF-\alpha$ dan $IFN-\gamma$ otak. Sel T_{reg} mencegah pertumbuhan infark sekunder dengan menangkal produksi berlebihan dari

sitokin pro inflamasi dan oleh modulasi invasi dan/atau aktivasi limfosit dan mikroglia di otak iskemik.³⁴

Eksperimen oleh Liesz *et al* menunjukkan T_{reg} mencegah perluasan lesi tertunda dengan aktivitas IL-10 pada model tikus stroke iskemik. Sel ini juga mengurangi level sitokin proinflamasi selama fase awal inflamasi post iskemia. Injeksi IL-10 pada otak mengurangi volume infark. Sel T_{reg} menekan produksi TNF- α dan IFN- γ , yang menyebabkan kerusakan otak tertunda akibat inflamasi. IL-10 yang diproduksi T_{reg} adalah mediator kunci dari efek *cerebroprotective* melalui penekanan sitokin proinflamasi produksi. IL-10 juga potensial mengurangi ukuran infark pada tikus normal dan mencegah pertambahan lesi tertunda setelah deplesi sel T_{reg}³⁴ (Gambar 4)



Gambar 8. Sel T regulator (T reg) melindungi sel otak pasca stroke.

Sumber : Macmillan Publisher Ltd: Nature Medicine 15, 138-139

Copyright 2009

Kerusakan sistem saraf pusat secara spesifik dan signifikan dapat menimbulkan risiko infeksi. Hal ini juga terjadi pada cedera susunan saraf pusat yang mengakibatkan immunodepresi sekunder (*CNS injury-induced*

immunodepression/CIDS). Pada mencit yang mengalami iskemik otak, stroke menginduksi depresi imunitas selular yang berlangsung lama, dalam tiga hari setelah iskemia fokal otak akan muncul bakterimia spontan, pneumonia dan sepsis. Keadaan ini terjadi karena terjadinya apoptosis luas, hilangnya limfosit (limfopenia), perubahan (*shift*) sel Th-1 menjadi Th-2, atrofi pada organ limfatik seperti limpa dan tymus, serta penurunan jumlah dan fungsi monosit.^{35,36}

Sel T, terutama Th1 dan Th2, berperan penting pada proses regulasi inflamasi. Pada kondisi respon imun bawaan terjadi transformasi imunitas seluler Th1 (produksi IFN- γ dan IL-12) menjadi sel Th2 (produksi IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) yang mengacu pada kondisi immunosupresi lanjutan. Apoptosis limfosit dan sel dendritik juga memiliki peran penting pada kondisi immunosupresi, yang menyebabkan peningkatan bermakna terhadap risiko terkena infeksi nosokomial.⁸

2.5 NLR Pada Stroke Iskemik

NLR diyakini sebagai refleksi dari keseimbangan antara respon imunitas alami (neutrofil) dan adaptif (limfosit). Studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa kenaikan NLR berhubungan dengan peningkatan konsentrasi berbagai sitokin proinflamasi yang dapat menyebabkan kerusakan DNA.³⁶ Rasio jumlah neutrofil terhadap limfosit di darah merupakan marker sederhana untuk inflamasi subklinik yang dapat dengan mudah didapatkan dari pemeriksaan hitung jenis leukosit. NLR telah

digunakan untuk memprediksi *outcome* pasien kanker dan penyakit arteri koroner.³⁸

NLR memberikan penjelasan pada dua jalur imun yang berbeda, neutrofil bertanggung jawab pada inflamasi yang sedang berlangsung, sedangkan limfosit menggambarkan jalur regulator.³⁹ Pada kondisi inflamasi akut akan dijumpai jumlah limfosit yang menurun (limfopenia), akibat respon sekunder dari jumlah kortikosteroid yang meningkat.⁴⁰

NLR diyakini sebagai refleksi dari keseimbangan antara respon imunitas alami (neutrofil) dan adaptif (limfosit). Studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa kenaikan NLR berhubungan dengan peningkatan konsentrasi berbagai sitokin proinflamasi yang dapat menyebabkan kerusakan DNA. Azab Basem *et al* melakukan penelitian pada 9427 subjek orang sehat di Amerika Serikat, mendapatkan rerata jumlah neutrofil adalah 4.300 sel/ml, dan limfosit 2.100 sel/ml, dengan rerata NLR yaitu 2,15.³⁷

Penggunaan rasional NLR pada pasien kanker yaitu untuk membandingkan respon inflamasi yang dihasilkan sel tumor dengan menilai hitung neutrofil dan limfosit. Inflamasi sistemik, faktor risiko untuk penyakit kardiovaskuler dan NLR, yang mengintegrasikan efek merugikan dari neutrofilia (mencerminkan peradangan) dan limfopenia (mencerminkan stress fisiologis), telah hadir sebagai penanda prognostik yang berguna.⁴¹ Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa NLR yang rendah dikaitkan dengan kebiasaan merokok dan indeks massa tubuh (IMT) yang tinggi. Obesitas dan merokok berhubungan dengan peradangan sistemik kronis dan

peningkatan jumlah sel putih, dan dapat menginduksi migrasi neutrofil dari kompartemen intravaskular ke jaringan perifer menjadi penyebab peningkatan aktivitas molekul kemotaktik dan adhesi. Selanjutnya, obesitas dapat menyebabkan peningkatan jumlah limfosit dibandingkan dengan neutrofil sehingga menyebabkan penilaian NLR menjadi rendah palsu.³⁹

Dalam literatur terbaru, dilaporkan terdapat peningkatan NLR pada sindrom koroner akut dan stroke iskemik akut yang mungkin berkaitan dengan reaksi inflamasi vaskuler. Inflamasi akut yang terjadi mempengaruhi ukuran infark sehingga dapat menjadi parameter inflamasi perifer. Studi oleh Tokgoz *et al* menunjukkan korelasi positif antara volume infark dengan NLR dan peningkatan NLR dalam volume infark yang besar telah terdeteksi.⁴²

Dilaporkan bahwa proses inflamasi terjadi dalam 6-24 jam pada kerusakan iskemik. Sebagai respon awal terhadap kerusakan otak iskemik, neutrofil bermigrasi ke daerah yang rusak.⁴² Neutrofil yang terakumulasi di area iskemia dan reperfusi menyebabkan invasi neutrofil dan pecahnya plak yang akan mengeluarkan beberapa mediator (enzim proteolitik, asam arakidonat, elastase, radikal oksigen bebas) ke daerah cedera.⁴³ Jumlah neutrofil yang tinggi meningkatkan keparahan kerusakan iskemik dan memperburuk prognosis neurologis. Penurunan neutrofil meningkatkan *outcome* klinis pada hewan percobaan, namun terdapat studi yang menyatakan bahwa pengobatan antineutrofil tidak efektif.⁴²

Di sisi lain, limfosit mulai meningkat 1 hari setelah stroke dan mencapai puncaknya pada hari ketujuh dan aktivitas dari sel limfosit T,

khususnya, dilaporkan memiliki efek perbaikan pada inflamasi. Limfosit memiliki peran yang dominan dalam peradangan kronis. Limfosit mengekspresikan IL-10 ke daerah iskemik dan reperfusi yang memiliki peran penting dalam penyembuhan. Vogelsang *et al* telah melaporkan bahwa terjadi penurunan jumlah leukosit segera setelah stroke. Sejalan dengan penelitian ini, ditemukan jumlah limfosit yang rendah pada kelompok *nonsurvived*.⁴² Peningkatan jumlah leukosit berhubungan dengan mortalitas jangka pendek pada stroke iskemik. Gokhan *et al* menemukan NLR secara signifikan lebih tinggi pada pasien yang meninggal pada kedua kelompok (stroke iskemik dan hemoragik).⁴²

2.6 Outcome Stroke Iskemik

Stroke adalah penyebab utama ketiga kematian di negara-negara industri dan penyebab kecacatan paling sering pada orang dewasa di seluruh dunia. Tiga bulan setelah stroke, 15-30% dari penderita stroke secara permanen mengalami disabilitas dan 20% memerlukan perawatan institusional. Defisit dapat meliputi kelumpuhan parsial, gangguan memori, berpikir, bahasa, dan gerakan.³⁴

Pasien yang mengalami stroke iskemik akut vaskuler besar akan kehilangan 120 juta neuron setiap jamnya. Dibandingkan dengan kehilangan neuron normal akibat penuaan, satu jam otak mengalami iskemik yang tidak diobati setara dengan proses penuaan 3,6 tahun. Kehilangan neuron ini menyebabkan mayoritas pasien stroke menunjukkan kelemahan motorik dan gangguan sensorik pada derajat tertentu. Namun, seiring waktu, sebagian

besar akan mengalami pemulihan fungsional yang dapat dijelaskan oleh mekanisme reorganisasi otak dan plastisitas otak.³⁴

2.6.1 Prognosis Stroke

Tabel 3. Prognosis Stroke. Faktor- faktor yang berhubungan dengan peningkatan risiko kematian dan buruknya *outcome* pasca stroke.¹³

Gambaran demografis

Peningkatan umur

Gambaran klinis

Umum

Atrial fibrilasi
Gagal jantung
Serangan jantung iskemik
Diabetes Melitus
Panas
Inkontinensia urin
Riwayat stroke sebelumnya

Neurologis

Penurunan tingkat kesadaran
Gangguan motorik berat
Gangguan proprioseptif
Disfungsi visuospasial
Gangguan kognitif
Total Anterior Circulation Syndrome
Rendahnya skala ADL

Pemeriksaan sederhana

Hiperglikemia
Tingginya hematokrit
Abnormalitas EKG

Pemeriksaan Canggih (CT/MRI)

Lesi yang luas
Adanya efek massa
Darah intraventrikuler
Hidrosefalus

Sumber: Warlow CP, Dennis MS, Van Gijn, Hankey GJ.49 II.2.9.

Kira-kira 20% pasien stroke pertama meninggal dalam bulan pertama dan sepertiga yang hidup sampai 6 bulan tergantung pada aktifitas sehari-hari. Faktor faktor yang mempengaruhi mortalitas pada stroke adalah jenis dan

keparahan stroke, usia, faktor risiko, komplikasi, serta keparahan dan menetapnya defisit neurologis. Semakin tua usia pasien menyebabkan semakin menurunnya kemampuan untuk pulih, disebabkan karena kehilangan progresif neuron serebral karena atrofi, neuroplastisitas, kehilangan elastisitas dan perubahan aterosklerotik pembuluh darah serebral. Riwayat hipertensi, diabetes melitus, dislipidemi, obesitas, penyakit jantung juga mempunyai pengaruh buruk pada stroke seperti halnya komplikasi pasca stroke seperti pneumonia, emboli pulmoner, gagal jantung, dehidrasi dan gangguan elektrolit.¹⁸

Terdapat banyak faktor fisiologis yang dapat mempengaruhi *outcome* setelah stroke dan kehadiran atau ketidakhadiran suatu kondisi tersebut dapat memperburuk *outcome*. Hipertensi, hiperglikemi, hipertermia, dan peningkatan tekanan intrakranial merupakan indikator independen yang memperburuk *outcome* pasca stroke.⁴⁴

Penelitian Saposnik *et al* mengenai faktor-faktor yang berpengaruh terhadap mortalitas pasien stroke iskemik akut berdasarkan *severity* dari stroke pada hari ke-7, hari ke-30 dan satu tahun pasca stroke iskemik, menunjukkan bahwa beberapa faktor yang berhubungan dengan mortalitas 7 hari pasca stroke juga berhubungan dengan mortalitas satu tahun pasca stroke. Hal ini mengindikasikan bahwa pengamatan mortalitas 7 hari menjadi indikator yang mudah dilakukan dalam pengamatan *outcome* stroke.⁴⁵

2.6.1.1 Usia

Rentang usia pada pasien stroke pertama pada studi kohort di Framingham adalah 69-76 tahun pada pria dan 69-81 tahun pada wanita. Studi sebelumnya dari Framingham menunjukkan bahwa usia lanjut pada stroke pertama secara independen terkait dengan peningkatan mortalitas 30 hari Collins *et al* mengelompokkan pasien stroke iskemik menjadi lima kategori usia: di bawah 45 tahun (2,4%), 45-54 tahun (10,3%), 55-64 tahun (21,9%), 65-74 tahun (39,1%), dan 75 tahun dan lebih tua (26,3%). Usia lanjut (>75 tahun) memiliki faktor risiko yang lebih besar untuk mortalitas 30-hari.⁴⁴

Usia lanjut, diabetes dan tipe stroke merupakan prediktor independen mortalitas 30 hari dalam studi oleh de Jong *et al*. Angka kematian jangka pendek berhubungan dengan usia, perubahan tingkat kesadaran dan adanya gagal jantung kongestif. Dalam studi ini, usia rata-rata adalah 63 tahun pada pria dan 64 tahun pada wanita Peningkatan usia berhubungan signifikan dengan risiko kematian akibat stroke.⁴⁴

2.6.1.2 Luas Infark

Supresi proses inflamasi akut yang mengancam area penumbra di sekitar sel infark nekrotik mengurangi angka mortalitas dan morbiditas dengan membatasi area cedera di jaringan otak. Inflamasi lokal dilaporkan mempengaruhi volume infark.⁴²

Volume, lokasi, dan jumlah infark diyakini dapat menjadi parameter penting untuk *outcome* fungsional pada kasus stroke iskemik. CT dan *early perfusion-diffusion weighted MRI* dapat memprediksi tingkat keparahan

outcome pada pasien dengan infark luas akibat oklusi arteri serebri media. Adanya tanda-tanda awal pada CT dari parenkim iskemia atau tanda-tanda densitas arteri, serta oklusi pembuluh proksimal pada CT atau MR angiografi secara signifikan terkait dengan mortalitas 30 hari. Terdapat korelasi kuat antara tingkat keparahan stroke diukur dengan NIHSS dengan temuan CT atau MRI.⁴⁴

2.6.1.3 Tekanan darah

Peningkatan akut tekanan darah terjadi setelah stroke hemoragik dan stroke iskemik. Hipertensi terjadi pada sekitar 75 persen pasien stroke dan berkembang pesat setelah onset stroke. Hal ini terkait dengan *outcome* yang buruk karena memicu re-infark awal, transformasi hemoragik dan edema serebral. Namun dilaporkan hipotensi juga terkait dengan *outcome* yang buruk, meskipun perannya belum banyak dibuktikan. Hipotensi biasanya menjadi penanda adanya penyakit ko-morbid yang serius, seperti jantung iskemik, yang kemudian berkontribusi pada perburukan *outcome*. Penurunan perfusi serebral pada hipotensi juga dapat menyebabkan perluasan infark.¹⁸ Studi lain mengatakan riwayat hipertensi berkaitan dengan risiko mortalitas 30 hari, namun tidak dengan tekanan darah yang diukur saat masuk rumah sakit.⁴⁴

2.6.1.4 Kadar Glukosa Darah

Hiperglikemia biasanya ditemukan di semua jenis stroke dan diamati terdapat pada sekitar 20-50 persen dari semua pasien stroke akut. Green *et al* menemukan perburukan *outcome* pada model tikus stroke dengan

hiperglikemia.¹⁸ Hiperglikemia saat masuk rumah sakit dikaitkan dengan peningkatan keparahan klinis dan pertumbuhan infark yang lebih besar, sehingga memperburuk kerusakan iskemik di daerah strategis yang berhubungan dengan peningkatan mortalitas dan perburukan *outcome* fungsional. Kemungkinan besar hiperglikemia mengurangi waktu kritis untuk penyelamatan jaringan.⁴⁶

Mekanisme hiperglikemia memperburuk *outcome* yaitu dengan meningkatkan ukuran infark, transformasi hemoragik, kerusakan sawar darah otak, meningkatkan edema serebral, penurunan CBF regional dan penurunan metabolisme oksidatif yang meningkatkan glikolisis anaerobik yang kemudian menyebabkan asidosis laktat.¹⁸

2.6.1.5 Kadar Kolesterol Darah

Parameter profil lipid yang abnormal meliputi peningkatan trigliserida, kolesterol total, dan kolesterol LDL (low density lipoprotein) diiringi dengan penurunan level kolesterol HDL (high density lipoprotein cholesterol) kemungkinan merupakan faktor risiko stroke iskemik, mengacu pada keterkaitannya dengan proses aterosklerosis.⁴⁷

Apo B yang terdapat dalam VLDL, IDL, LDL & *small dense* LDL (sd-LDL) yang merupakan partikel aterogenik. Partikel sd-LDL adalah yang paling aterogenik, karena mudah teroksidasi & mempromosikan respon inflamasi & pertumbuhan plak. Apo B yang lebih besar mengandung partikel, seperti VLDL & IDL, juga dapat meningkatkan risiko atherothrombosis dengan menghambat sistem fibrinolitik dan stimulasi produksi sitokin. Apo

B (bagian protein LDL) memprediksi perkembangan stroke lebih baik dari kolesterol LDL. Hal ini karena setiap partikel aterogenik (VLDL, IDL dan LDL) mengandung satu molekul Apo B sehingga plasma Apo B menggambarkan jumlah total partikel aterogenik.⁴⁷

2.6.2 Perbaikan Pasca Stroke

Plastisitas otak mengacu pada kemampuan otak untuk mengubah struktur dan fungsi selama proses perkembangan, pembelajaran, dan patologi. Dalam beberapa menit pasca iskemik, tampak perubahan cepat yang diamati pada jumlah dan panjang spina dendritik neuron di wilayah penumbra. Kehilangan fungsi neuron awal kemudian diikuti oleh pembentukan kembali sinapsis spina dendritik selama beberapa bulan sebagai bagian dari proses pemulihan fungsional.³⁴

Studi MRI fungsional menunjukkan bahwa otak orang dewasa yang rusak dapat mereorganisasi untuk mengimbangi defisit motorik. Studi eksperimental pada model stroke menunjukkan bahwa fokal iskemia serebral mempromosikan neurogenesis di zona subventricular (SVZ) dan zona subgranular (SGZ) dari girus dentata dan menginduksi migrasi neuroblas SVZ menuju batas iskemik.³⁴

Stroke yang menginduksi neurogenesis juga baru-baru dibuktikan dalam otak manusia dewasa, bahkan pada pasien usia lanjut. Temuan ini memberikan harapan untuk perawatan neurorestorative stroke yang bertujuan memanipulasi neurogenesis endogen dan dengan demikian meningkatkan perbaikan otak.³⁴

2.6.3 Pengukuran *Outcome* Pasca Stroke

Pengukuran *outcome* pasca stroke selain penting untuk menilai kualitas hidup pasien juga digunakan untuk mengevaluasi efektifitas terapi pada penelitian klinis. Alat ukur *outcome* yang sering digunakan meliputi *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS), *Modified Rankin Scale* (MRS), *Barthel Index* (BI) dan *Glasgow outcome scale* (GOS).¹⁸

2.6.3.1 NIHSS

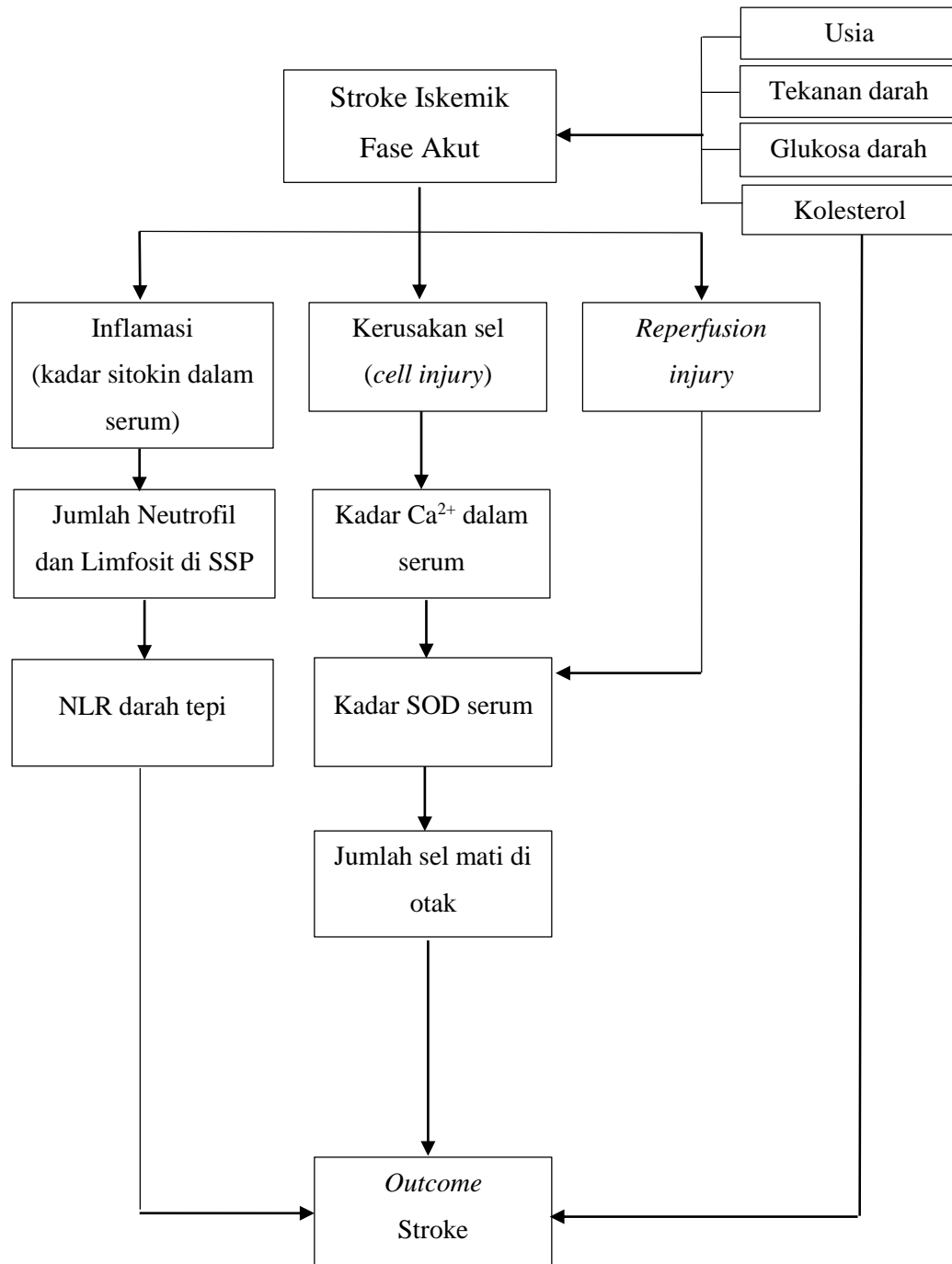
National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) adalah alat yang digunakan oleh penyedia layanan kesehatan secara obyektif mengukur penurunan (*impairment*) yang disebabkan oleh stroke. NIHSS terdiri dari 11 item, yang masing-masing memiliki skor kemampuan spesifik antara 0 dan 4. Untuk setiap item, skor 0 menunjukkan fungsi normal dalam kemampuan tertentu, sementara skor yang lebih tinggi merupakan indikasi dari beberapa tingkat gangguan. Nilai individu setiap item dijumlahkan untuk menghitung skor total NIHSS pasien. Skor maksimum yang mungkin adalah 42, dengan skor minimum 0.

Keparahan dari stroke berkorelasi dengan volume lesi otak, semakin besar luas lesi maka semakin buruk pengaruhnya pada defisit neurologis. NIHSS telah ditemukan untuk menjadi prediktor volume otak yang rusak, dengan skor NIHSS yang kecil menunjukkan volume lesi yang lebih kecil.⁴⁸

Karena NIHSS fokus pada fungsi kortikal, pasien yang menderita stroke kortikal cenderung memiliki skor awal yang lebih tinggi (lebih buruk). NIHSS menempatkan 7 poin dari 42 poin pada kemampuan yang

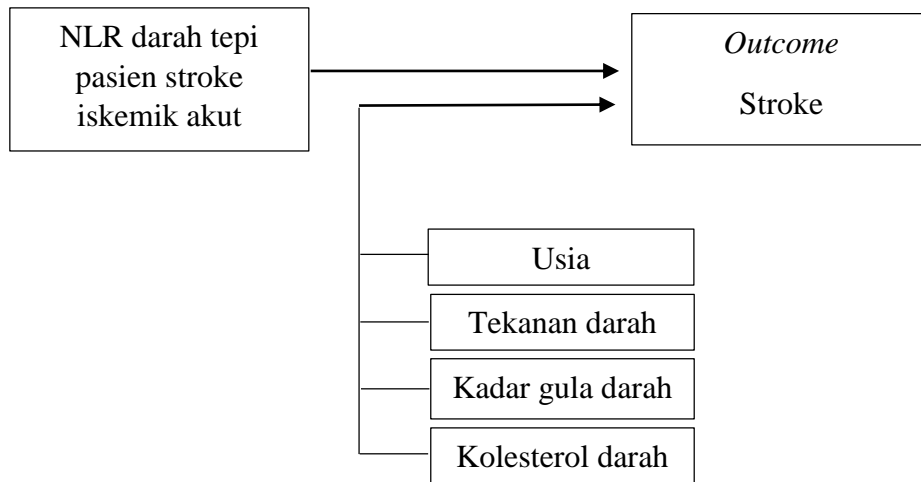
membutuhkan kemampuan verbal; 2 poin dari pertanyaan LOC, 2 poin dari perintah LOC, dan 3 poin dari item Bahasa. NIHSS hanya menempatkan 2 poin untuk hilang dan kurangnya perhatian. Skor NIHSS dasar lebih besar dari 16 mengindikasikan kemungkinan kuat kematian pasien, sementara skor NIHSS dasar kurang dari 6 menunjukkan probabilitas yang kuat dari pemulihan yang baik. Adams *et al* menunjukkan rata-rata, peningkatan 1 poin dalam skor NIHSS pasien mengurangi kemungkinan hasil yang sangat baik dengan 17%.

2.7 Kerangka Teori



Gambar 9. Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 10. Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis

2.9.1 Hipotesis Mayor

NLR darah tepi dapat digunakan sebagai indikator *outcome* stroke iskemik akut. NLR yang tinggi pada fase akut akan memberikan *outcome* pasca perawatan 7 hari yang buruk.

2.9.2 Hipotesis Minor

2.9.2.1 NLR pasien stoke iskemik fase akut lebih tinggi dibanding nilai normal NLR

2.9.2.2 Terdapat hubungan antara NLR fase akut dengan perubahan *outcome* klinis masuk dengan pasca perawatan 7 hari yang dinilai dengan skor NIHSS

2.9.2.3 Terdapat hubungan antara faktor perancu (usia, tekanan darah, dan kadar gula darah) dengan *outcome* klinis pasien yang dinilai dengan skor NIHSS