

**ANALISIS HUBUNGAN KADAR *TRANSFORMING GROWTH FACTOR*
BETA-1 (TGF-B1) SERUM TERHADAP DERAJAT KLINIS PASIEN
STROKE ISKEMIK**

**ANALYSIS OF CORRELATION BETWEEN TRANSFORMING
GROWTH FACTOR BETA-1 SERUM LEVELS ON THE CLINICAL
DEGREE OF ISCHEMIC STROKE PATIENTS**



Andi Israyanti Mawardi

C155172004

DEPARTEMEN NEUROLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

**ANALISIS HUBUNGAN KADAR *TRANSFORMING GROWTH FACTOR*
BETA-1 (TGF-B1) SERUM TERHADAP DERAJAT KLINIS
PASIEN STROKE ISKEMIK**

KARYA AKHIR

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis Neurologi

Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 (Sp.1)

Program Studi Neurologi

Disusun dan diajukan

ANDI ISRAYANTI MAWARDI

Kepada :

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1

PROGRAM STUDI NEUROLOGI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)**ANALISIS HUBUNGAN KADAR *TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA-1 (TGF-B1)* SERUM TERHADAP DERAJAT KLINIS PASIEN STROKE ISKEMIK**

Disusun dan diajukan oleh

ANDI ISRAYANTI MAWARDI**C155172004**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Neurologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 21 Februari 2022 Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan.

Menyetujui,

Pembimbing utama,



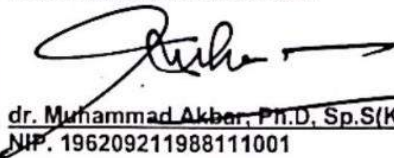
dr. Ashari Bahar, M.Kes, Sp.S(K), FINS, FINA
NIP. 197707192009122002

Pembimbing Pendamping,



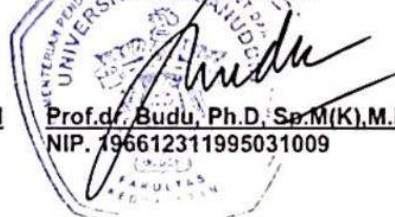
dr. Muhammad Akbar, Ph.D, Sp.S(K), DFM
NIP. 196209211988111001

Ketua Program Studi Neurologi
FK Universitas Hasanuddin



dr. Muhammad Akbar, Ph.D, Sp.S(K), DFM
NIP. 196209211988111001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin



Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed.
NIP. 196612311995031009

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Andi Israyanti Mawardi

No. Mahasiswa : C155172004

Program Studi : Neurologi

Jenjang : Program Pendidikan Dokter Spesialis-1

Menyatakan dengan ini bahwa Tesis dengan judul Analisis Hubungan Kadar *Transforming Growth Factor Beta-1* (TGF-B1) Serum Terhadap Derajat Klinis Pasien Stroke Iskemik adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Tesis karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 21 Februari 2022

Yang menyatakan,



Andi Israyanti Mawardi

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Kuasa, Maha Pemurah, Maha Pengasih dan Penyayang atas limpahan kasih dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “**ANALISIS HUBUNGAN KADAR *TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA 1* SERUM PADA PASIEN STROKE ISKEMIK**”. Penulis yakin bahwa penyusunan tesis ini dapat terlaksana dengan baik berkat kerja keras, ketekunan, kesabaran, bantuan, bimbingan dan kerja sama dari berbagai pihak yang telah memberikan semangat, bimbingan, ide-ide, serta bantuan moril maupun materil. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada segenap pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung.

Pertama-tama, penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua saya tercinta, Ayahanda Alm. Mawardi Abdullah, Ibunda Misriaty, Bapak mertua Sanusi Dege, dan Ibu mertua Bice Sanusi atas doa tulus, kasih sayang, kesabaran, dan dukungan semangat maupun material selama ini. Terima kasih kepada saudara-saudara saya tercinta Andi Ashar Mawardi, dan Andi Qadriana Mawardi, yang telah memberikan dukungan doa dan semangat, serta seluruh keluarga besar atas kasih sayang dan dukungan serta doa tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan setiap tahap proses pendidikan ini dengan baik.

Tak terhingga ungkapan rasa syukur atas kehadiran Sahrir, suami saya tercinta yang penuh perhatian dan pengertian dalam susah dan senang bersama putri kami tersayang Aisyah Kamila Putri Sanusi dan Annisa Ramadhani Sanusi yang telah menjadi penyemangat. Terima kasih atas kerelaan, kesabaran dan pengorbanan untuk mengizinkan penulis melanjutkan pendidikan di Makassar sehingga begitu banyak waktu kebersamaan yang terlewatkan.

Penulis juga dengan tulus dan penuh rasa hormat menyampaikan penghargaan dan terima kasih sebesar-besarnya kepada Dr. dr. Andi Kurnia Bintang, Sp.S(K), MARS sebagai Ketua Departemen Neurologi FK UNHAS periode 2019 – 2023, dan kepada dr. Ashari Bahar, M.Kes, Sp.S(K), FINS, FINA sebagai pembimbing akademik, serta kepada dr. Muhammad Akbar, Ph.D, Sp.S(K), DFM sebagai Ketua Program Studi Neurologi FK UNHAS periode 2019 – 2023, atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan sejak awal pendidikan dokter spesialis hingga selesainya tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, penulis menghaturkan terima kasih yang tulus kepada dr. Ashari Bahar, M. Kes, Sp.S(K), FINS, FINA selaku Ketua Komisi Penasihat/Pembimbing Utama dan dr. Muhammad Akbar, Ph.D, Sp.S(K), DFM selaku Anggota Penasihat/Sekretaris Pembimbing, dr. Nirwana Fitriani Walenna, Ph.D sebagai Anggota Komisi Penasihat/Pembimbing Metode Penelitian dan

Statistik, Dr. dr. Jumraini Tamasse, Sp.S(K), sebagai Anggota Tim Penilai, dan Dr. dr. Andi Kurnia Bintang, Sp.S(K) sebagai Anggota Tim Penilai, yang telah memberi kesediaan waktu, saran dan bimbingan sejak masa penelitian, penyusunan hingga seminar hasil penelitian ini.

Tak lupa penulis menghaturkan terima kasih sebesar-besarnya kepada semua guru-guru, Supervisor Departemen Neurologi FK-UNHAS : Prof. Dr. dr. Amiruddin Aliah, MM, Sp.S(K); dr. Louis Kwadow, Sp.S(K); dr. Abdul Muis, Sp.S(K); Dr. dr. Hasmawaty Basir, Sp.S(K); Dr. dr. David Gunawan Umbas, Sp.S(K); dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp.PA(K), Sp.S; Dr. dr. Nadra Maricar, Sp.S(K); dr. Ummu Atiah, Sp.S(K); dr. Mimi Lotisna, Sp.S(K); dr. Andi Weri sompa, Sp.S(K); dr. Moch. Erwin Rachman, M.Kes, Sp.S(K); dr. Anastasia Juliana, Sp.S(K); dr. Muh Iqbal Basri, Sp.S(K); dr. Sri Wahyuni Gani, Sp.S(K), M.Kes; dr. Muh. Yunus Amran, Ph.D, Sp.S(K), FINR, FIPM; dr. Citra Rosyidah, Sp.S(K), M.Kes yang telah dengan senang hati memberi petunjuk kepada penulis selama masa Pendidikan maupun tesis ini. Semoga Tuhan Yang Maha Esa memberkati.

Terima kasih kepada teman-teman sejawat PPDS Program Studi Neurologi, khususnya dr. Ade Sofiyani, dr. Willy Candra, dr. Wa Ode Syakinah, dr. Mustikayani Asrum, dr. Edo Febrian, dr. Candra Arisandi, dr. Denise Dewanto, dr. Rudi Hermawan, dr. Ahmad Zaki, yang telah berbagi suka dan duka selama masa pendidikan penulis, serta banyak memberikan bantuan, motivasi, dukungan dan semangat selama masa pendidikan dan penyelesaian tesis ini. Kebersamaan dan persaudaraan merupakan hal


yang tak terlupakan dan semoga persaudaraan ini tetap terjaga. Terima Kasih juga kepada staf Neurologi : Bapak Isdar Ronta, Sdr. Syukur, Bapak Arfan, dan Ibu I Mase, SE, yang setiap saat tidak kenal lelah dan tanpa pamrih membantu baik masalah administrasi maupun fasilitas perpustakaan serta penyelesaian tesis ini. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis tulis satu persatu yang telah memberikan dukungan yang sangat berarti kepada penulis.

Terima kasih juga kepada Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, RSPTN Universitas Hasanuddin, RS Pelamonia, RS Ibnu Sina, RSUD Labuang Baji, RS Akademis, RSU Islam Faisal, RS Haji, RSUD Majene yang telah memberikan fasilitas tempat, sarana belajar dan bantuan lainnya di masing-masing rumah sakit tersebut. Ketua Bagian/UP dan Staf Anatomi, Fisiologi, Farmakologi, Patologi Anatomi, Radiologi dan Psikiatri yang telah menerima saya mengikuti Pendidikan di Bagian masing-masing, dan telah memberikan ilmu yang mempunyai relevansi dengan Neurologi. Kepala Unit Penelitian Fakultas Kedokteran UNHAS beserta staf yang telah memberi izin dan membantu dalam proses pemeriksaan sampel untuk penelitian ini. Seluruh pasien yang telah bersedia menjadi subyek dalam penelitian ini, penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya.

Penulis menyampaikan permohonan maaf sebesar-besarnya kepada semua pihak terutama kepada semua guru-guru kami dan teman-teman residen selama penulis menjalani masa pendidikan. Penulis

berharap karya akhir ini dapat memberi sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang Neurologi di masa yang akan datang. Semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa menyertai setiap langkah pengabdian kita. Amin.

Makassar, 21 Februari 2022



Andi Israyanti Mawardi

ABSTRAK

Andi Israyanti Mawardi. *Analisis Hubungan Kadar Transforming Growth Factor Beta-1 Serum Terhadap Derajat Klinis Pasien Stroke Iskemik* (Dibimbing oleh Ashari Bahar, Muhammad Akbar, Jumraini Tamasse, Andi Kurnia Bintang, dan Nirwana Fitriani Walenna).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara kadar *Transforming Growth Factor-β1* (TGF-β1) serum dengan derajat klinis pada pasien stroke iskemik.

Metode penelitian yang digunakan adalah observasional analitik dengan desain potong lintang. Penelitian dilaksanakan di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo, RSPTN Universitas Hasanuddin, dan RS Jejaring Pendidikan lainnya di Kota Makassar sejak Oktober 2021-Januari 2022. Sampel penelitian sebanyak 33 orang yang memenuhi kriteria inklusi. Derajat klinis stroke iskemik diukur pada saat onset hari ke-3 dan hari ke-7 dengan menggunakan skor NIHSS (*National Institute of Health Stroke Score*) dan pada hari yang sama kadar *Transforming Growth Factor Beta-1* serum diukur dengan pengambilan darah vena 2 kali masing-masing sebanyak 5 cc di laboratorium. Data dianalisis dengan analisis statistik uji *Wicolxon* untuk menilai perbedaan rerata TGF-β1 dan NIHSS serta uji korelasi *Spearman* untuk menilai hubungan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara kadar TGF-β1 serum dan NIHSS onset hari ke-3 ($p = 0.546$) dan hari ke-7 ($p = 0.795$), sementara pada penelitian ini menunjukkan arah koefisiensi negatif ($r = -0,109$) dan ($r = -0,047$) yang berarti semakin tinggi kadar TGF-β1 maka nilai NIHSS semakin rendah yang menunjukkan derajat klinis akan semakin baik dan begitu pula sebaliknya. Hal ini mendukung bahwa TGF-β1 bersifat neuroprotektif terhadap kerusakan jaringan otak pasca stroke iskemik.

Kata kunci : Derajat Klinis, Stroke iskemik, *Transforming Growth Factor Beta-1*.

ABSTRACT

Andi Israyanti Mawardi. *Analysis of Correlation between Transforming Growth Factor Beta-1 Serum Levels on the Clinical Degree of Ischemic Stroke Patients* (Supervised by **Ashari Bahar, Muhammad Akbar, Jumraini Tamasse, Andi Kurnia Bintang, dan Nirwana Fitriani Walenna**).

This study aims to determine Analysis of Correlation between Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1) serum levels with clinical degrees in ischemic stroke patients.

The research method used is analytic observational with a cross-sectional design. The research was carried out at RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo, Hasanuddin University Hospital, and other Education Network Hospitals in Makassar City from October 2021-January 2022. The research sample was 33 people who met the inclusion criteria. The clinical degree of ischemic stroke was measured on the 3rd and 7th day of onset using the NIHSS (National Institute of Health Stroke Score) score and on the same day the serum Transforming Growth Factor Beta-1 levels were measured by taking venous blood twice each. - each as much as 5 cc in the laboratory. The data were analyzed by statistical analysis of the Wilcoxon test to assess the difference in the mean of TGF- β 1 and NIHSS and the Spearman correlation test to assess the relationship.

The results of this study showed that there was no relationship between serum TGF- β 1 levels and NIHSS onset on day 3 ($p = 0.546$) and day 7 ($p = 0.795$), while this study showed a negative coefficient direction ($r = -0.109$) and ($r = -0.047$) which means the higher the TGF- β 1 level, the lower the NIHSS value which indicates the better clinical degree and vice versa. This supports that TGF- β 1 is neuroprotective against brain tissue damage after ischemic stroke.

Keywords: Clinical Degree, Ischemic Stroke, Transforming Growth Factor Beta-1.

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
KATA PENGANTAR.....	IV
ABSTRAK.....	IX
DAFTAR GAMBAR.....	XIII
DAFTAR TABEL.....	XIV
DAFTAR SINGKATAN.....	XVI
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1. LATAR BELAKANG	1
1.2. RUMUSAN MASALAH.....	4
1.3. HIPOTESIS PENELITIAN.....	4
1.4. TUJUAN PENELITIAN.....	4
1.4.1. Tujuan Umum	4
1.4.2. Tujuan Khusus.....	4
1.5. MANFAAT PENELITIAN	5
1.5.1. Manfaat di bidang ilmu pengetahuan	5
1.5.2. Manfaat dalam aplikasi klinis	5
1.5.3. Manfaat bagi pengembangan penelitian	6
BAB II.....	7
TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. STROKE ISKEMIK	7
2.2. PATOFISIOLOGI STROKE ISKEMIK DAN KEMATIAN JARINGAN	7
2.3. REAKSI IMUNOLOGI PADA STROKE	10
2.3.1. Sinyal inflamasi pada fase akut pasca-iskemik.....	11
2.3.2. Kematian sel iskemik mengatur tahapan imunitas bawaan dan adaptif.....	13
2.3.3. Resolusi pada Inflamasi dan perbaikan jaringan.....	16
2.4. TRANSFORMING GROWTH FACTOR- BS (TGF-BS).....	20
2.5. MEKANISME NEUROPROTEKTIF TGF-BS	22
2.6. TGF-B1 PADA STROKE ISKEMIK.....	30
2.7. NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH STROKE SCORE (NIHSS).....	36
2.8. KERANGKA TEORI.....	39
2.9. KERANGKA KONSEP	40
BAB III.....	41
METODE PENELITIAN	41
3.1. DESAIN PENELITIAN	41
3.2. WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN.....	41
3.3. POPULASI PENELITIAN	41
3.3.1. Sampel Penelitian	41
3.3.2. Cara Pengambilan Sampel.....	41
3.4. KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI	42
3.4.1. Kriteria Inklusi	42

3.4.2. <i>Kriteria Eksklusi</i>	42
3.4.3. <i>Kriteria Drop Out</i>	42
3.5. PERKIRAAN BESAR SAMPEL.....	42
3.6. VARIABEL PENELITIAN.....	44
3.7. DEFINISI OPERASIONAL.....	45
3.8. ALUR PENELITIAN.....	49
3.9. ANALISIS DATA DAN UJI STATISTIK.....	50
3.10. IJIN PENELITIAN DAN KELAYAKAN ETIK.....	50
BAB IV.....	51
HASIL PENELITIAN.....	51
4.1. DISTRIBUSI SUBJEK PENELITIAN.....	51
TABEL 2. DISTRIBUSI KARAKTERISTIK SUBJEK PENELITIAN.....	52
4.2. ANALISIS PERBANDINGAN ANTARA NIHSS ONSET HARI KE-3 DAN HARI KE-7 DAN TGF-B1 PADA ONSET HARI KE 3 DAN HARI KE-7.....	53
4.3. ANALISIS KORELASI NIHSS HARI KE-3 DAN TGF-B1 ONSET HARI KE-3 DAN NIHSS HARI KE-7 DAN TGF-B1 ONSET HARI KE-7.....	55
BAB V.....	57
PEMBAHASAN.....	57
BAB VI.....	70
SIMPULAN DAN SARAN.....	70
6.1. SIMPULAN.....	70
6.2. SARAN.....	70
DAFTAR PUSTAKA.....	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Peristiwa vaskular, perivaskular dan parenkim awal yang dipicu oleh iskemik dan reperfusi.....	12
Gambar 2. Kematian sel dan aktivasi pola reseptor pengenalan mengatur tahap kekebalan adaptif.	14
Gambar 3. Peran sel T yang merugikan dan menguntungkan pada stroke.	17
Gambar 4. Resolusi inflamasi dan perbaikan jaringan	19
Gambar 5. Efek neuroprotektif TGF- β 1 terhadap apoptosis.....	25
Gambar 6. Efek neuroprotektif TGF- β 1 terhadap nekrosis.....	27
Gambar 7. Antagonis reseptor TGF- β mempotensiasi luasnya lesi yang diinduksi iskemik in vivo	28
Gambar 8. Perbandingan Nilai NIHSS onset hari ke-3 dan hari ke-7.....	54
Gambar 9. Perbandingan Kadar TGF-B1 onset hari ke-3 dan hari ke-7	54
Gambar 10. <i>Scatter-plot</i> kadar TGF- β 1 serum hari ke-3 dengan NIHSS hari ke-3.....	55
Gambar 11. <i>Scatter-plot</i> kadar TGF- β 1 serum hari ke-7 dengan NIHSS hari ke-7	56

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Mediator peradangan pasca-iskemik dan sel-sel yang memproduksinya	16
Tabel 2. Distribusi Karakteristik Subjek Penelitian	52
Tabel 3. Distribusi Subjek Penelitian	53
Tabel 4. Perbandingan NIHSS dan TGF- β 1 antara hari ke-3 dan hari ke-7.....	53
Tabel 5. Korelasi antara NIHSS dengan TGF- β 1	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rekomendasi Persetujuan Etik	75
Lampiran 2. Naskah Penjelasan Subjek	76
Lampiran 3. Formulir Persetujuan Mengikuti Penelitian	79
Lampiran 4. Formulir Penelitian	81
Lampiran 5. Lembar Skor NIHSS.....	83
Lampiran 6. RAW DATA PENELITIAN	85
Lampiran 7. HASIL ANALISIS DATA STATISTIK	87
Lampiran 8. Karakteristik Faktor Risiko Vaskular dan Peningkatan kadar TGF-B1.....	95

DAFTAR SINGKATAN

AMPA	: α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionic Acid
ATP	: Adenosine Triphosphate
APC	: Antigen Presenting Cells
BBB	: Blood Brain Barrier
DAMP	: Danger Associated Molecular Pattern
DC	: Dendritic Cells
DMT2	: Diabetes Mellitus Tipe 2
FcR	: Fc-Reseptor
GFAP	: Glial Fibrillary Acidic Protein
IF- γ	: Interferon-gamma
IL-	: Interleukin
MBP	: Myelin Basic Protein
MHC	: Major Histocompatibility Complex
MMP	: Matrix Metalloproteinases
NGF	: Nerve Growth Factor
NMDA	: N-Methyl-D-Aspartate
NO	: Nitric Oxide
PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor
PtdSer	: Phosphatidylserin
ROS	: Reactive Oxygen Species
RTL	: Recombinant T Cell Receptor Ligand
SSP	: Susunan Saraf Pusat

TGF- β 1	: Transforming Growth Factor Beta-1
TH ₁	: T Helper 1
TH ₂	: T Helper 2
TLR	: Toll Like Reseptor
TNF	: Tumor Necrosis Factor
T-Reg	: T-Regulasi
UTP	: Uridine Trisphosphate

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Stroke merupakan penyebab kematian kedua di seluruh dunia setelah penyakit jantung iskemik (WHO, 2020) dan penyebab utama kecacatan jangka panjang di Amerika Serikat (Go et al., 2014). Stroke iskemik merupakan jenis stroke yang paling sering ditemukan, mencakup 87% dari seluruh stroke (Caplan, 2020). Stroke iskemik adalah penyakit multifaktorial kompleks yang melibatkan interaksi kompleks antara faktor genetik dan lingkungan (Dichgans, 2007). Bukti yang muncul telah menunjukkan bahwa inflamasi memainkan peran penting dalam patogenesis stroke iskemik meskipun mekanisme pastinya masih belum diketahui.

Imunitas dan inflamasi adalah elemen kunci dari patobiologi stroke. Sistem imun berpartisipasi dalam kerusakan otak yang disebabkan oleh iskemik, dan kerusakan otak. Sinyal inflamasi terlibat dalam semua tahap kaskade iskemik, mulai dari kerusakan awal yang dipicu oleh oklusi arteri hingga proses regeneratif akhir yang mendasari perbaikan jaringan pasca-iskemik (Iadecola & Anrather, 2011).

Oklusi pada pembuluh darah otak yang mengakibatkan stroke iskemik diikuti oleh proliferasi pembuluh darah mikro, yaitu angiogenesis. Tingkat pertumbuhan kembali mungkin merupakan faktor penting dalam menentukan peningkatan aliran darah otak, yang berpuncak pada

pemulihan dan perbaikan neuron, pengurangan stroke volume, dan akhirnya tingkat pemulihan pasien. Faktor pertumbuhan polipeptida termasuk *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *transforming growth factor- β* (TGF- β) telah sangat terlibat dalam pemulihan dari stroke iskemik pada manusia. Sebelumnya telah ditunjukkan bahwa ekspresi VEGF, TGF- β , dan *platelet derived growth factor* (PDGF) meningkat di zona perbatasan daerah infark (penumbra) setelah iskemik. Pemulihan perfusi di area jaringan yang disfungsi tetapi berpotensi hidup di sekitar infark ini dapat membantu memperbaiki kerusakan jaringan. TGF- β 1 adalah homodimer nonglikosilasi yang terkait disulfida, disintesis oleh banyak jenis sel, termasuk astrosit, neuron, dan mikroglia. Sitokin ini menghambat pertumbuhan sel endotelium *in vitro* tetapi merangsang angiogenesis *in vivo*, mungkin melalui induksi infiltrat angiogenik inflamasi. Telah disebutkan bahwa TGF- β 1 mungkin terlibat dalam proteksi sel saraf karena immunosupresifnya yang kuat, efek anti-inflamasi dan keterlibatannya dalam remodeling matriks ekstraseluler. Sifat pleiotropiknya pada neuron dan astrosit diketahui dengan baik (Slevin et al., 2000).

Bukti keterlibatan dalam pengembangan dan plastisitas sistem saraf serta fungsinya pada organ perifer menunjukkan bahwa mereka memiliki fungsi neuroprotektif. Namun, ekspresi TGF- β terinduksi terjadi akibat dari berbagai jenis cedera jaringan otak. Fungsi neuroprotektif TGF- β s paling

sering setelah iskemik otak (Dobolyi et al., 2012) sehingga telah menimbulkan perhatian dalam bidang klinik.

Pada penelitian Stanzani *et al* di San Geraldo Hospital, Italia, yang menilai hubungan kadar *Nerve Growth Factor* dan *Transforming Growth Factor-β* Serum dengan keparahan stroke dengan NIHSS dan Volume stroke pasien stroke akut, hasilnya menunjukkan kadar NGF ($r = 0,46$) dan TGF-β ($r = 0,43$) serum keduanya secara signifikan terkait dengan parameter klinis dan neuroradiologis cedera otak dan berkorelasi positif satu sama lain pada fase akut stroke. Semakin tinggi kadar NGF dan TGFβ maka semakin tinggi tingkat keparahan stroke dan volume stroke. Hasil ini menunjukkan bahwa stroke dapat memodulasi tingkat neurotropin perifer (NGF dan TGF-β1) (Stanzani et al., 2001). Tetapi hasil berbeda ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan oleh Puspitasari *et al* mengenai Hubungan Kadar Serum *Transforming Growth Factor Beta 1* (TGF-β1) dengan Luaran Klinis Pada Stroke Iskemik Sirkulasi Anterior Akut di RS Siloam Tangerang menunjukkan korelasi negatif yang signifikan dan cukup kuat ($r = -0,485$), menyatakan bahwa semakin tinggi kadar TGF-β1 pada hari ke-7 maka semakin baik tingkat keparahan stroke pada NIHSS hari ke 30, meskipun secara statistik tidak signifikan ($p=0,241$). Hal ini mendukung bahwa TGF-β1 dapat berperan sebagai neuroprotektor terhadap kerusakan jaringan otak pasca stroke iskemik (Puspitasari et al., 2017). Berdasarkan uraian di atas dan sejauh penelusuran penulis, penelitian tentang analisis hubungan antara kadar TGF-β1 pada pasien stroke iskemik masih perlu

dikembangkan dan saat ini belum pernah dilakukan di Makassar, sehingga peneliti merasa tertarik untuk mengusulkan penelitian ini untuk melihat hubungan kadar TGF- β 1 serum terhadap derajat klinis stroke iskemik.

1.2. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat merumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut: Apakah terdapat hubungan antara kadar *Transforming Growth Factor- β 1* (TGF- β 1) serum terhadap derajat klinis penderita stroke iskemik?

1.3. HIPOTESIS PENELITIAN

- a. *Transforming Growth Factor- β 1* (TGF- β 1) bertindak sebagai agen neuroprotektif terhadap kerusakan jaringan otak pasca stroke iskemik.
- b. Semakin tinggi kadar *Transforming Growth Factor- β 1* (TGF- β 1) serum, maka derajat klinis stroke iskemik semakin baik.

1.4. TUJUAN PENELITIAN

1.4.1. Tujuan Umum

Mengetahui hubungan antara kadar *Transforming Growth Factor- β 1* (TGF- β 1) serum dengan derajat klinis pada pasien stroke iskemik.

1.4.2. Tujuan Khusus

- 1.4.2.1. Mengukur kadar *Transforming Growth Factor- β 1* (TGF- β 1) serum pada pasien stroke iskemik onset hari ke-3.

- 1.4.2.2. Mengukur kadar *Transforming Growth Factor-β1* (TGF-β1) serum pada pasien stroke iskemik onset hari ke-7.
- 1.4.2.3. Mengukur derajat klinis stroke iskemik onset hari ke-3 dengan menggunakan skor NIHSS (*National Institute of Health Stroke Score*).
- 1.4.2.4. Mengukur derajat klinis stroke iskemik onset hari ke-7 dengan menggunakan NIHSS.
- 1.4.2.5. Menetapkan adanya hubungan kadar *Transforming Growth Factor-β1* (TGF-β1) serum dengan derajat klinis stroke iskemik.

1.5. MANFAAT PENELITIAN

Manfaat penelitian yang diharapkan dari penelitian ini adalah :

1.5.1. Manfaat di bidang ilmu pengetahuan

Memberikan informasi ilmiah mengenai hubungan antara kadar *Transforming Growth Factor-β1* (TGF-β1) serum dengan derajat klinis pada pasien stroke iskemik.

1.5.2. Manfaat dalam aplikasi klinis

- 1.5.2.1. Dapat digunakan sebagai salah satu dasar dalam memberikan informasi mengenai prognosis penyakit penderita stroke iskemik kepada keluarga.
- 1.5.2.2. Sebagai bahan pertimbangan untuk menentukan target terapi baru untuk pengobatan stroke iskemik.

1.5.3. Manfaat bagi pengembangan penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dan sebagai rujukan untuk penelitian yang terkait selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. STROKE ISKEMIK

Stroke menurut WHO adalah adanya tanda klinis fokal atau global yang terjadi mendadak, mengganggu fungsi serebral, dan berlangsung selama lebih dari 24 jam atau menimbulkan kematian, tanpa adanya penyebab selain vaskular (WHO, 2020).

Stroke dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu stroke iskemik dan hemoragik (Caplan, 2020). Stroke iskemik didefinisikan sebagai episode disfungsi neurologis yang disebabkan oleh infark pada otak, medula spinalis, dan retina, berdasarkan pada bukti patologis, pencitraan, atau gejala klinis yang menetap lebih dari 24 jam atau diakhiri dengan kematian, tanpa penyebab selain vaskular (Sacco et al., 2013).

2.2. PATOFISIOLOGI STROKE ISKEMIK DAN KEMATIAN JARINGAN

Stroke iskemik diawali oleh adanya sumbatan pembuluh darah oleh trombus atau emboli yang mengakibatkan sel otak mengalami gangguan metabolisme, karena tidak mendapat suplai darah, oksigen dan energi yang menyebabkan kerusakan otak dan defisit neurologis. Mekanisme seluler dan molekuler yang mendasari kerusakan otak akibat stroke iskemik telah diselidiki secara ekstensif. Eksitotoksisitas, stres oksidatif, dan peradangan telah dianggap sebagai kontributor utama cedera saraf iskemik. Iskemik serebral menginduksi pelepasan glutamat dalam jumlah besar yang

menyebabkan aktivasi berlebihan reseptor NMDA dan aliran masuk Ca^{2+} yang besar, menyebabkan kematian sel yang diinduksi oleh eksitotoksisitas. Proses reperfusi iskemik menginduksi produksi superoksida dan nitrit oksida dari kerusakan neuron dan astrosit dan menguras glutathione, antioksidan utama untuk melindungi terhadap kerusakan DNA yang dimediasi *reactive oxygen species* (ROS). Peradangan terjadi setelah cedera iskemik-reperfusi, yang disebabkan oleh sel-sel mati dan debris tanpa adanya mikroba. Empat faktor penting pada proses patobiologi stroke adalah eksitotoksis, depolarisasi peri-infarct, inflamasi, dan apoptosis (Aninditha & Wiratman, 2017; Liu et al., 2017).

Kerusakan iskemik dihasilkan dari kaskade peristiwa seluler dan molekuler yang dipicu oleh kurangnya aliran darah secara tiba-tiba dan reperfusi berikutnya dari daerah iskemik (Iadecola & Anrather, 2011). Pada situasi tersebut akan terjadi metabolisme anaerob sehingga menyebabkan peningkatan konsentrasi laktat dan ion hidrogen, penurunan pH intrasel, penurunan fosfokreatin jaringan, dan peningkatan kadar fosfat organik. Metabolisme anaerob akan menyebabkan penurunan adenosine triphosphate (ATP) intrasel sehingga terjadi hambatan aktivitas Na^+/K^+ ATPase yang diikuti kerusakan progresif sistem pompa dan transpor yang membutuhkan energi (Na^+/K^+ ATPase, Ca ATPase). Hal ini mengakibatkan penumpukan ion kalsium intrasel, diikuti kerusakan mitokondria, membran sel, aktivasi beberapa sistem enzim, dan nekrosis. Kegagalan ionik dan overload kalsium intrasel akan menyebabkan depolarisasi anoksik. Proses

selanjutnya akan terjadi penurunan pembentukan sinaps potensial oleh neuron korteks serebri dan timbul defisit neurologis (Caplan, 2020; Grotta et al., 2015).

Pada daerah inti yang mengalami proses iskemik, sel mengalami depolarisasi anoksik tanpa pernah repolarisasi. Di perifer daerah iskemik yang disebut penumbra iskemik, kerusakan saraf berkembang lebih lambat karena aliran darah yang timbul dari wilayah vaskular yang berdekatan (aliran kolateral) menjaga perfusi serebral di atas ambang batas kematian sel segera. Pada daerah penumbra, pengurangan aliran darah tidak cukup untuk menyebabkan kegagalan energi, dan neuron tetap hidup untuk jangka waktu yang lama setelah cedera, tetapi stres neuron sangat rentan terhadap kejadian patogen yang dapat mempengaruhi keseimbangan metabolisme (Iadecola & Anrather, 2011). Sel di area penumbra dapat melakukan repolarisasi, namun dengan kebutuhan energi yang meningkat. Sel tersebut kemudian mengalami depolarisasi berulang, sebagai respon terhadap peningkatan ion kalium dan glutamat ekstrasel. Depolarisasi berulang ini yang disebut depolarisasi peri-infark. Proses ini terjadi berulang dengan frekuensi beberapa kali setiap jam selama 6-8 jam. Area infark akan semakin meluas seiring bertambahnya frekuensi depolarisasi. Aktivasi jalur sinyal intraseluler yang diaktifkan ion kalsium, peningkatan radikal bebas, dan proses hipoksia sendiri menjadi pencetus ekspresi gen pro-inflamasi sehingga terjadi kaskade inflamasi dan apoptosis (Grotta et al., 2015; Iadecola & Anrather, 2011).

2.3. REAKSI IMUNOLOGI PADA STROKE

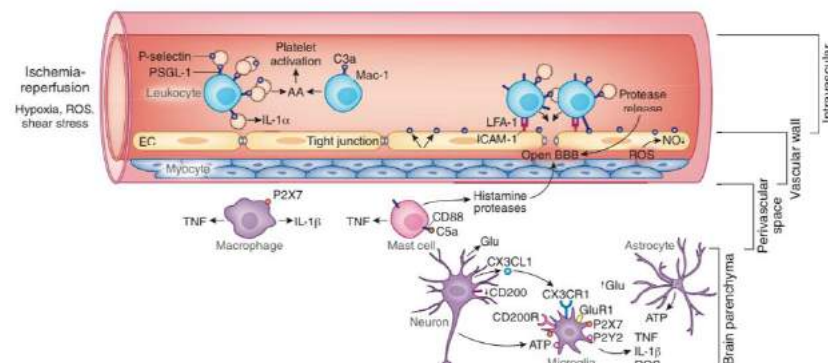
Inflamasi mempengaruhi otak setelah stroke, dan sel-sel sistem imun, seperti neutrofil dan makrofag, secara tradisional telah digunakan oleh ahli saraf dan ahli patologi forensik untuk menentukan perkiraan usia lesi serebrovaskular. Meskipun inflamasi umumnya dianggap hanya sebagai reaksi terhadap kerusakan jaringan, proses inflamasi telah diakui sebagai kontributor utama patofisiologi penyakit serebrovaskular, terutama stroke yang disebabkan oleh oklusi arteri atau stroke iskemik. Bukti terbaru menunjukkan bahwa unsur-unsur sistem imun terlibat erat dalam semua tahap kaskade iskemik, dari peristiwa intravaskular akut yang dipicu oleh gangguan suplai darah ke proses parenkim yang menyebabkan kerusakan otak dan perbaikan jaringan berikutnya. Pada gilirannya, iskemik otak melalui sistem saraf otonom, memberikan efek supresif yang kuat pada organ limfoid yang memicu infeksi penyerta, penentu utama morbiditas dan mortalitas stroke. Oleh karena itu, sistem imun sangat terlibat dalam menentukan kejadian iskemik otak dan kelangsungan hidup manusia setelah stroke. Dengan demikian, isyarat molekuler yang dihasilkan oleh iskemik serebral mengaktifkan komponen imunitas bawaan, meningkatkan sinyal inflamasi dan berkontribusi pada kerusakan jaringan. Pada saat yang sama, proses ini merangsang respon imunitas adaptif yang berpotensi merusak yang diarahkan pada antigen yang sebelumnya diasingkan di belakang sawar darah-otak (*Blood Brain Barrier/BBB*). Perkembangan

terakhir ini memerlukan evaluasi ulang kontribusi inflamasi dan imunitas terhadap patofisiologi stroke (Iadecola & Anrather, 2011; Liu et al., 2017).

2.3.1. Sinyal inflamasi pada fase akut pasca-iskemik

Inflamasi pasca-iskemik ditandai dengan urutan kejadian yang teratur yang melibatkan otak, pembuluh darah, darah yang bersirkulasi, dan organ limfoid. Inflamasi merupakan bagian integral dari rangkaian peristiwa yang dipicu oleh iskemik dan reperfusi. Proses inflamasi dimulai di kompartemen intravaskular segera setelah oklusi arteri, ketika hipoksia berikutnya, perubahan dan koagulasi, dan menyebabkan aktivasi komplemen, trombosit dan sel endotelial (Gambar 1). Proses kaskade intravaskular yang diakibatkan ikatan antara fibrin, trombosit dan leukosit, menyebabkan oklusi mikrovaskular. Dalam beberapa menit setelah iskemik, molekul adhesi P-selectin ditranslokasikan ke membran permukaan trombosit dan sel endotel, dan sinyal proinflamasi dengan cepat dihasilkan (Tabel 1). Stres oksidatif dalam sel endotel mengurangi bioavailabilitas *nitric oxide* (NO), yang merupakan vasodilator kuat dan penghambat agregasi trombosit dan adhesi leukosit. Hilangnya efek menguntungkan NO memperburuk penyumbatan intravaskular dan memperburuk gangguan iskemik dengan mengurangi aliran darah ke teritori iskemik. Selanjutnya, stres oksidatif menyebabkan penyempitan perisit, sel kontraktil yang menggantikan miosit di kapiler, menghasilkan lebih banyak oklusi mikrovaskular. Stres oksidatif dan mediator inflamasi juga mengubah permeabilitas BBB, yang meningkatkan jumlah vesikel

pinositotik dalam sitoplasma sel endotel, meningkatkan transpor transendotel. Protease diekspresikan dalam sel vaskular dan dilepaskan oleh leukosit, sedangkan protein *junctional* yang menutup sel endotel yang berdekatan diturunkan regulasinya, memfasilitasi ekstravasasi protein dan sel melalui jalur paraseluler (Gambar 1). Di ruang perivaskular, iskemik dan reperfusion mengaktifkan makrofag perivaskular dan sel mast. Degranulasi sel mast melepaskan mediator vasoaktif, seperti histamin, protease dan *tumor necrosis factor* (TNF), sedangkan makrofag teraktivasi melepaskan sitokin proinflamasi (Gambar 1). Mediator proinflamasi ini berkontribusi pada ekspresi endotel molekul adhesi dan kerusakan BBB yang mendorong infiltrasi leukosit (neutrofil, limfosit dan monosit).



Gambar 1. Peristiwa vaskular, perivaskular dan parenkim awal yang dipicu oleh iskemik dan reperfusion (Iadecola & Anrather, 2011)

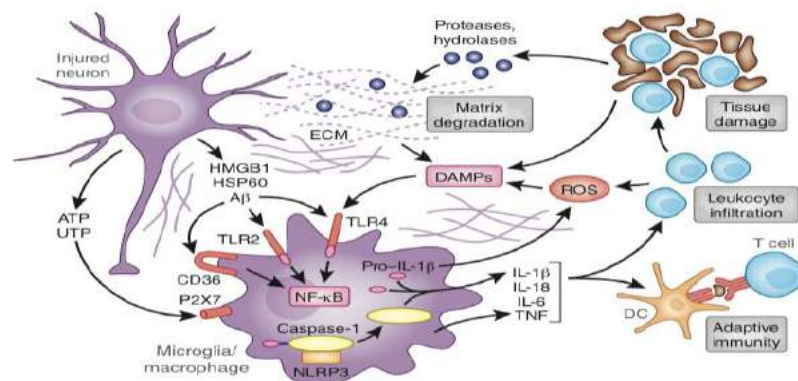
Setelah kematian neuron, hilangnya interaksi sel-ke-sel antara neuron dan mikroglia, juga meningkatkan sinyal inflamasi (Gambar 1). Misalnya, CD200, protein permukaan yang diekspresikan dalam neuron, berinteraksi dengan reseptornya CD200R pada mikroglia. Gangguan interaksi ini karena hilangnya CD200 pasca-iskemik dapat meningkatkan

aktivasi mikroglial (Gambar 1). Demikian pula, CX3CL1 (fractalkine), kemokin terikat permukaan sel yang secara konstitutif diekspresikan oleh neuron, menekan aktivasi mikroglial melalui reseptor mikroglialnya CX3CR1. Jadi, setelah cedera saraf, hilangnya CX3CL1 menghasilkan peningkatan aktivasi mikroglial pada beberapa model penyakit inflamasi. Selain itu, peningkatan konsentrasi glutamat ekstraseluler mengaktifkan reseptor glutamat metabotropik pada mikroglia, yang mengarah ke fenotipe proinflamasi (Gambar 1).

2.3.2. Kematian sel iskemik mengatur tahapan imunitas bawaan dan adaptif

Kaskade iskemik yang berlangsung, kematian sel mengarah ke fase baru dari respon inflamasi (Gambar 2). Sel-sel yang hampir mati dan mati melepaskan 'sinyal bahaya' yang mengaktifkan sistem kekebalan tubuh. Beberapa dari sinyal ini, seperti nukleotida ATP dan UTP. Pelepasan nukleotida (ATP, UTP) dari sel yang cedera, termasuk neuron, mengaktifkan reseptor purinergik pada mikroglia dan makrofag dan menyebabkan produksi sitokin proinflamasi. Meskipun sebagian besar sitokin ini diinduksi secara transkripsi, IL-1 β dan IL-18 diproses dari propeptidanya oleh aktivitas *interleukin-1-converting enzyme* (ICE; caspase 1). ICE terdapat dalam kompleks multiprotein (NLRP3, atau *inflammasome*) dan diaktifkan oleh reseptor mikroglial P2X7 akibat jumlah ATP parenkim yang tinggi. Kematian sel akibat iskemik menyebabkan pembentukan DAMP (*danger-associated molecular pattern*), yang mengaktifkan TLR

(*Toll-like receptors*), terutama TLR2 dan TLR4. DAMP dilepaskan oleh iskemik termasuk kelompok mobilitas tinggi protein B1, protein pengikat DNA intraseluler yang dilepaskan setelah cedera seluler, antara lain *heat shock protein 60* (HSP60) dan b-amiloid (Ab). TLR, dalam aksinya dengan reseptor pengangkut seperti CD36, upregulasi ekspresi gen proinflamasi melalui faktor transkripsi NF- κ B (*nuclear Factor*). DAMP juga berasal dari pemecahan matriks oleh enzim yang dilepaskan dari sel-sel mati dan oleh aksi ROS pada lipid. Produksi sitokin dan aktivasi komplemen yang dihasilkan dari peristiwa ini menyebabkan peningkatan infiltrasi leukosit dan meningkatkan kerusakan jaringan yang pada gilirannya menghasilkan lebih banyak DAMP. Antigen yang timbul oleh kerusakan jaringan ditangkap oleh sel T untuk mengatur tingkat imunitas adaptif.



Gambar 2. Kematian sel dan aktivasi pola reseptor pengenalan mengatur tahap kekebalan adaptif (Iadecola & Anrather, 2011).

Pada fase akut iskemik serebral, sel T yang tidak diprioritaskan berkontribusi pada kerusakan jaringan dengan cara yang tidak bergantung pada antigen (imunitas bawaan), mungkin melalui IFN-gamma dan ROS.

sel $\gamma\delta$ T, diaktifkan oleh IL-23 yang dilepaskan dari mikroglia dan makrofag, menghasilkan sitokin pro inflamasi yaitu IL-17 yang bersifat sitotoksik dan berkontribusi pada cedera otak iskemik akut. Namun, sel T juga bisa menjadi pelindung. TGF- β yang diproduksi oleh neuron, glia, atau mikroglia dan makrofag mendorong perkembangan sel Treg yang mensekresi sitokin pelindung yaitu IL-10 dan TGF- β serta menghambat respons T_H1 pada tahap akhir iskemik serebral. Sel Treg bersifat protektif pada model iskemik serebral. Induksi toleransi mukosa dengan antigen SSP menghasilkan respon adaptif, yang mengarah pada pembentukan sel T_H2 autoreaktif yang memproduksi IL-10 dan sel Treg yang memproduksi IL-10 dan TGF- β sangat protektif pada stroke eksperimental. Meskipun tidak ada bukti bahwa imunitas adaptif berkontribusi terhadap cedera otak iskemik akut, berminggu-minggu dan berbulan-bulan setelah stroke, sel T $CD4+$ dan $CD8+$ yang autoreaktif menargetkan antigen SSP dapat berkembang. Kematian sel yang diakibatkannya dapat berperan dalam menunda kerusakan otak dan atrofi yang terjadi setelah stroke.

Terlepas dari bukti yang mendukung respons autoimun terhadap pasca-iskemik otak, ada inkonsistensi dengan hipotesis bahwa imunitas adaptif klasik berkontribusi pada cedera otak iskemik. Profil temporal keterlibatan sel T dalam kerusakan otak tidak konsisten dengan konsep imunitas adaptif yang mapan (Gambar 3). Dengan demikian, efek perlindungan yang diamati pada tikus yang kekurangan limfosit atau diberikan dengan memblokir jalur sel T pasca iskemik ke dalam iskemik

otak terjadi 24-48 jam setelah iskemik, sedangkan respons adaptif memerlukan interval 7-10 hari dari presentasi antigen hingga ekspansi klonal sel T autoreaktif dan serangan imun pada organ target.

Tabel 1. Mediator peradangan pasca-iskemik dan sel-sel yang memproduksinya (Iadecola & Anrather, 2011)

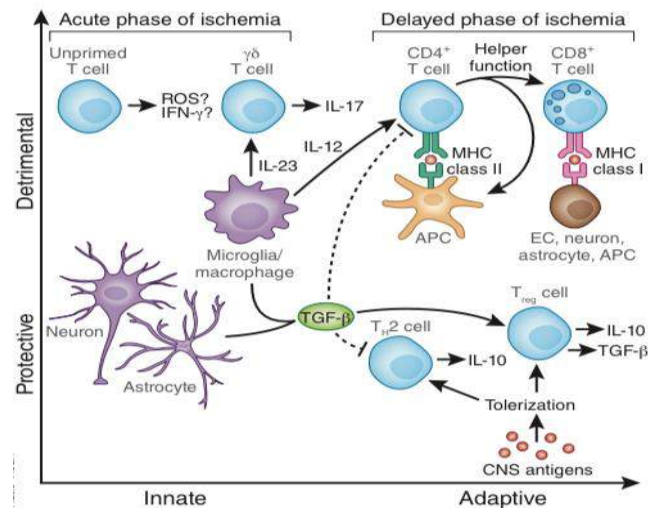
Inisiasi <i>Nontranscriptional (cell type)</i>	Amplifikasi <i>Transcriptional (cell type)</i>	Resolusi <i>Transcriptional (cell type)</i>
Adhesion molecules P-selectin (EC, PLT)	Adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, P-selectin, E-selectin, Mac-1, VLA-1, (EC, Leuk, PVM, MG, AG)	Growth factors BDNF, EPO, FGF, G-CSF, GDNF, HB-EGF, IGF-1, NGF, VEGF (MG, AG, PVM, Macr, EC, Neu)
Sitokin IL-1b (MG, PVM, MC) IL-1a (PLT) TNF (MC)	Sitokin IL-1, IL-6, IL-10, IL-17, IL-20, TNF (EC, PVM, MG, AG, Neu)	Sitokin TGF-b, IL-10, IL-17, IL-23, (T cells, MG, Macr, AG)
Kemokin CCL5 (RANTES), CXCL4, CXCL7 (PLT) CX3CL1 (Fractalkine) (Neu)	Kemokin CCL2 (MCP-1), CCL3 (MIP-1a), CCL5 (RANTES), CXCL2/3 (MIP2), CXCL8 (IL-8) (EC, PVM, MG, AG, Neu)	
Proteases Elastase, MMP-8, MMP-9, MT6-MMP (Leuk) Clotting factors (Circ) Complement (Circ, EC, AG, Neu)	Proteases MMP2, MMP9 (EC, Leuk) Complement (Circ, EC, AG, Neu)	Proteases MMP-9 (AG, Neu) Complement (Circ, EC, AG, Neu)
Small molecules Prostanoids, leukotrienes (EC, PLT, MG, Neu) ATP (Circ, Neu) Radicals (EC, PLT, Leuk, PVM, MG, Neu)	Other iNOS (MG, Leuk, EC) COX-2 (Neu, MG, Leuk, EC) LOX (Neu, Leuk) PTGES (Neu, MG, Leuk, EC) NADPH oxidase (MG, Leuk)	Small molecules Cyclopentenones prostaglandins Lipoxins Docosanoids (resolvins, protectins)

AG, astroglia; Circ, plasma; EC, endothelial cells; Leuk, leukocytes; Macr, macrophages; MC, mast cells; MG, microglia; Neu, neurons; PLT, platelets; PVM, perivascular macrophages. BDNF, brain-derived growth factor; COX-2, cyclooxygenase-2; EPO, erythropoietin; FGF, fibroblast growth factor; G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor; GDNF, glial cell-derived neurotrophic factor; HB-EGF, heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor; LOX, lipoxygenase; Mac-1, macrophage-1 antigen; MIP, macrophage inflammatory protein; NGF, nerve growth factor; PTGES, prostaglandin E2 synthase-1; RANTES, regulated upon activation, normally T-expressed, and presumably secreted; VCAM-1, vascular adhesion molecule 1; VLA-1, very late activation antigen-1.

2.3.3. Resolusi pada Inflamasi dan perbaikan jaringan

Inflamasi pasca-iskemik adalah *self-limiting process* yang akhirnya mereda dan mempersiapkan daerah untuk reorganisasi struktural dan fungsional otak yang cedera. Faktor-faktor yang mengatur resolusi inflamasi dan pembentukan kembali homeostasis jaringan masih kurang dipahami, terutama di otak. Semakin banyak bukti menunjukkan bahwa resolusi inflamasi bukanlah proses pasif karena kelelahan signal; sebaliknya, ini diatur oleh interaksi sejumlah besar mediator yang secara aktif menekan respon inflamasi. Langkah-langkah utama dalam proses ini

termasuk pengangkatan sel-sel mati, pengembangan lingkungan anti-inflamasi dan pembentukan faktor-faktor prosurvival yang mendorong rekonstruksi dan perbaikan jaringan.



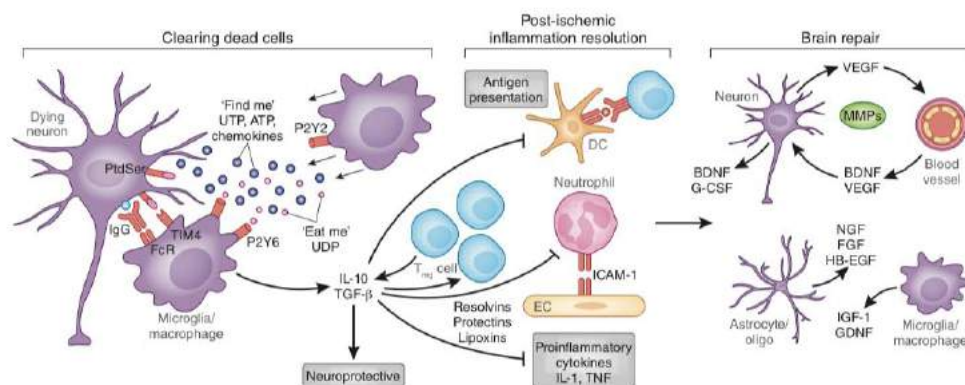
Gambar 3. Peran sel T yang merugikan dan menguntungkan pada stroke (Iadecola & Anrather, 2011)

Proses membersihkan sel-sel mati dilakukan oleh mikroglia dan infiltrasi makrofag. Mikroglia dan infiltrasi makrofag merupakan fagosit utama yang membuang sel-sel mati dan debris jaringan setelah stroke, sebuah proses yang diatur oleh sinyal 'find me' and 'eat me'. Sinyal *Find-me* termasuk purin (UTP, ATP) yang dilepaskan dari sel yang cedera dan kemokin, menarik mikroglia dan makrofag melalui reseptor P2Y2 ke tempat cedera. Sel-sel fagosit ini kemudian disajikan dengan sinyal-sinyal *eat-me* termasuk UDP, yang bekerja pada reseptor P2Y6 untuk merangsang fagositosis mikroglial, dan fosfatidilserin (PtdSer), yang ditranslokasikan ke selebaran luar membran plasma sel apoptosis yang terkait dengan sel-sel yang akan mati atau mati (Gambar 4). Protein pengikat PtdSer yang terlibat

dalam pembersihan sel-sel mati termasuk *milk fat globule epidermal growth factor 8* pada mikroglia dan imunoglobulin sel T dan *mucin domain-containing molecule 4* (TIM4) pada makrofag. Imunoglobulin diarahkan terhadap antigen SSP, yang muncul setelah stroke, juga dapat mempromosikan fagositosis dengan melibatkan reseptor Fc (FcR) pada sel fagosit. Fagositosis mempromosikan sekresi IL-10 dan TGF- β . TGF- β dan IL-10 adalah sitokin imunoregulator pleiotropik yang memiliki peran penting dalam pengembangan lingkungan anti-inflamasi yang terkait dengan perbaikan jaringan, yang pada gilirannya menekan presentasi antigen, mendorong pembentukan Treg, menghambat ekspresi molekul adhesi dalam sel endotel dan produksi sitokin proinflamasi. TGF- β dan IL-10 juga bersifat neuroprotektif dan dapat memfasilitasi proses perbaikan otak. Oleh karena itu, produksi TGF- β dan IL-10 pasca-iskemik dapat memfasilitasi perbaikan jaringan dengan mempromosikan resolusi inflamasi dan memberikan efek sitoprotektif langsung pada sel-sel yang masih hidup di daerah iskemik. Selain itu, lipoksin, resolvin dan protectins, metabolit asam arakidonat dan asam lemak omega-3 yang berperan aktif dalam resolusi peradangan pada organ lain, juga dapat berkontribusi untuk menekan peradangan pasca-iskemik. *Growth factor* dan MMP yang diproduksi oleh sel endotel, neuron, astrosit, oligodendrosit, dan mikroglia adalah molekul kunci yang mendorong reorganisasi dan perbaikan jaringan.

Produksi *growth factors* pasca-iskemik membantu membentuk lingkungan yang menguntungkan bagi *sprouting* neuron, neurogenesis,

angiogenesis, gliogenesis, dan reorganisasi matriks. Sel-sel inflamasi, serta neuron dan astrosit, mampu menghasilkan berbagai macam *growth factors* (Tabel 1). Misalnya, mikroglia diperlukan untuk ekspresi penuh *insulin-like growth factor 1* (IGF-1), faktor kunci dalam *sprouting* neuron pasca-iskemik, sedangkan astrosit reaktif diperlukan untuk pemulihan fungsional setelah stroke. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF), yang sangat penting untuk angiogenesis pasca-iskemik, diproduksi oleh astrosit reaktif, dan aksinya mungkin memerlukan neutrofil *matrix metalloproteinases* (MMPs), menunjukkan hubungan antara sel inflamasi dan angiogenesis. Tetapi pemberian VEGF lebih awal setelah iskemik atau dalam dosis berlebihan dapat meningkatkan kerusakan. Peran sinyal pemulihan inflamasi di otak juga telah disorot oleh penelitian di mana transkriptom dari neuron yang *sprouting* menunjukkan keterlibatan molekul MHC kelas I dan subunit komplemen.



Gambar 4. Resolusi inflamasi dan perbaikan jaringan (Iadecola & Anrather, 2011)

Bukti ini menunjukkan bahwa sel-sel sistem kekebalan memiliki peran mendasar dalam semua fase pemulihan otak pasca-iskemik. Tetapi data terbatas yang tersedia hanya memberikan gambaran sekilas tentang

rangkaian peristiwa yang kompleks yang membangun kembali homeostasis struktural dan fungsional otak setelah stroke (Iadecola & Anrather, 2011).

2.4. TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β s (TGF- β s)

Transforming Growth Factor Beta (TGF- β) adalah molekul pengatur utama untuk menekan respon imun dalam proses inflamasi. Pada fase akut stroke, astrosit teraktivasi dan sel mampu memproduksi sitokin anti inflamasi seperti TGF- β (Puspitasari et al., 2017). TGF- β s memiliki fungsi pleiotropik di berbagai organ. TGF- β dapat mengatur berbagai proses biologis, termasuk hematopoiesis, angiogenesis, proliferasi sel, diferensiasi, migrasi dan apoptosis. TGF- β juga berperan penting dalam regulasi sistem imun. TGF- β adalah superfamili, termasuk inhibin, aktivin, faktor diferensiasi pertumbuhan (GDFS), protein morfogenetik tulang (BMP), isoform TGF- β , dan faktor turunan sel glial. Mereka juga mempengaruhi sel-sel yang berbeda dalam sistem imunitas tubuh sehingga disebut juga sebagai sitokin (Dobolyi et al., 2012; Liu et al., 2017).

TGF- β ada setidaknya dalam tiga isoform: TGF- β 1, TGF- β 2, dan TGF- β 3. Dalam superfamili TGF- β , hanya TGF- β 1, diproduksi oleh mikroglia teraktivasi. TGF- β 1 meningkat secara drastis setelah stroke iskemik. Setelah stroke iskemik, TGF- β yang diproduksi oleh makrofag fenotipe M2 yang diaktifkan, memainkan peran anti-inflamasi dan berkontribusi pada pemulihan setelah cedera otak. TGF- β mengurangi aktivasi mikroglia dan dengan demikian mengurangi potensi efek berbahaya yang terkait dengan mikroglia teraktivasi. TGF- β menurunkan

ekspresi sitokin berbahaya lainnya dan menekan pelepasan produk turunan oksigen dan nitrogen. TGF- β juga dapat merangsang pelepasan IL-1Ra dan meningkatkan angiogenesis. Namun, efek perlingkungannya terbatas pada area peri-infark, karena TGF- β dapat menghambat apoptosis tetapi tidak nekrosis (Liu et al., 2017). Data yang tersedia tentang ekspresi spesifik tipe sel dari subtipe TGF- β lainnya langka tetapi beberapa percobaan tidak membedakan antara subtipe, peran TGF- β 2 dan - β 3 juga dapat ada.

TGF- β diproduksi dan disekresikan oleh sel darah yang diubah seperti limfosit, monosit, dan trombosit. Di otak, semua sel utama memiliki reseptor TGF- β , tetapi pensinyalan TGF- β terutama meningkat pada astrosit dan mikroglia pasca-iskemik (Puspitasari et al., 2017). Subtipe TGF- β dikodekan oleh gen yang terpisah tetapi menunjukkan urutan homologi dan memiliki mekanisme yang sama untuk pemrosesan dan aktivasi. Di otak, reseptor TGF- β hadir pada semua jenis sel utama. Namun, baik aktivasi dan pensinyalan TGF- β diatur secara ekstensif dan karena ini efeknya biasanya pleiotrofik dan bergantung pada konteks. Oleh karena itu, setelah cedera otak, efek biologis dari pensinyalan TGF- β kemungkinan besar dipengaruhi oleh jenis dan waktu cedera. Mekanisme yang mungkin termasuk tindakan anti-inflamasi, tindakan anti-apoptosis, perlindungan terhadap eksitotoksisitas, dan memicu angiogenesis dan neuroregenerasi (Dobolyi et al., 2012).

2.5. MEKANISME NEUROPROTEKTIF TGF- β s

Mekanisme TGF- β dalam fungsinya sebagai neuroprotektif masih harus dijelaskan. Namun, ada beberapa kemungkinan berdasarkan mekanisme kerja TGF- β s yang dilaporkan. Pada pemberian intranasal TGF- β 1 pada tikus setelah stroke mengurangi volume infark dan meningkatkan neurogenesis di zona subventrikular. TGF- β memiliki lima efek neuroprotektif yang dominan seperti anti-inflamasi, anti-apoptosis, perlindungan terhadap eksitotoksitas, memicu angiogenesis dan regenerasi saraf (Dobolyi et al., 2012)

- **Mekanisme sebagai Anti-Inflamasi**

Lesi di SSP akan merusak sawar darah otak dan memicu invasi sel hematogen ke dalam jaringan saraf. Invasi leukosit, makrofag dan limfosit serta mensekresi berbagai sitokin yang menginduksi reaksi inflamasi pada SSP yang cedera dan mengakibatkan degenerasi saraf lokal, pembentukan rongga kistik dan aktivasi sel glial di sekitar lokasi lesi. Beberapa sitokin T_H1 seperti IF- γ , limfotoksin dan TNF telah terlibat dalam mendorong proses imunopatologis sedangkan beberapa sitokin T_H2 , misalnya TGF- β s dan IL-10 menentangnya. TGF- β melindungi terhadap kerusakan kolateral yang disebabkan oleh sistem imun, dengan bertindak sebagai penekan imun yang kuat melalui penghambatan proliferasi, diferensiasi, aktivasi, dan fungsi efektor sel imun. Secara paradoks, TGF- β juga dapat menunjukkan sifat pro-inflamasi dengan mendorong pencegahan terbentuknya respon imun sebagai *chemoattractant* yang ampuh untuk neutrofil. Di dalam otak,

sel mikroglia, homolog otak dari makrofag, juga merupakan sumber utama sitokin ini. Aktivasi mikroglia adalah ciri patologi otak. Respon inflamasi dimediasi oleh mikroglia yang diaktifkan, sel imun yang menetap di SSP, yang biasanya merespons kerusakan saraf dan membuang sel yang rusak melalui fagositosis. Namun, masih kontroversial apakah sel mikroglia memiliki fungsi yang menguntungkan atau merugikan dalam berbagai kondisi neuropatologis. Aktivasi kronis mikroglia pada gilirannya dapat menyebabkan kerusakan saraf melalui pelepasan molekul yang berpotensi sitotoksik seperti sitokin pro-inflamasi, intermediet oksigen reaktif, proteinase, dan protein komplemen. TGF- β s dilaporkan menghambat sel mikroglial, dan dengan demikian memberikan tindakan anti-inflamasi. Karena sel mikroglial merupakan target utama TGF- β 1 di SSP, TGF- β 1 mungkin mengeluarkan kontrol auto-inhibitor pada sel mikroglial.

Overekspresi TGF- β 1 dapat menurunkan regulasi ekspresi beberapa protein inflamasi yang menunjukkan bahwa efek neuroprotektif TGF- β 1 dapat dihasilkan dari penghambatan kemokin selama cedera otak. Tindakan anti-inflamasi TGF- β s juga dapat memberikan dasar untuk efek TGF- β dalam mencegah perubahan mikrovaskular yang terkait dengan pembentukan edema otak (Dobolyi et al., 2012).

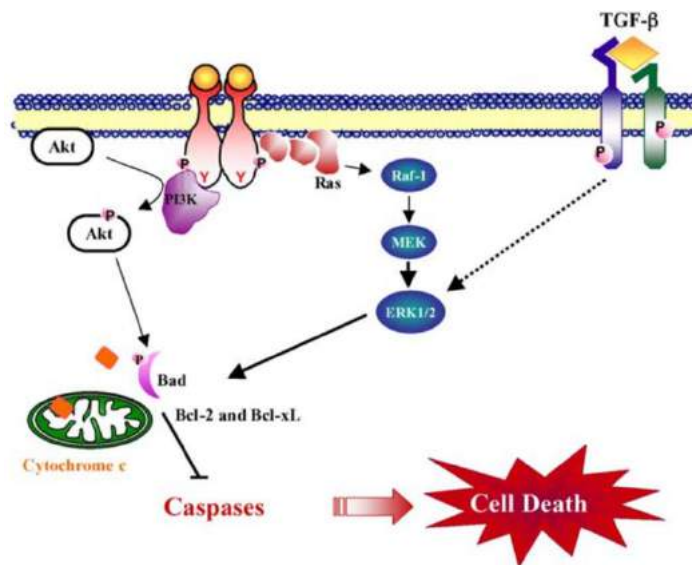
- **Anti-Apoptosis**

Apoptosis adalah salah satu mekanisme utama dimana organisme menghilangkan sel-sel yang tidak diinginkan selama perkembangan SSP. Apoptosis juga telah terlibat dalam beberapa patologi SSP termasuk stroke,

epilepsi, serta penyakit Parkinson dan Alzheimer. Sel yang mengalami apoptosis menunjukkan karakteristik morfologi yang sangat berbeda dan profil sementara perubahan dari sel yang akan mengalami nekrosis. Lebih penting lagi, apoptosis telah dikaitkan dengan proses kematian sel terprogram, di mana program genetik diaktifkan yang mengakibatkan kematian sel. Apoptosis memungkinkan keseimbangan antara pertumbuhan dan eliminasi sel dan terjadi secara fisiologis selama perkembangan embrio atau proses involusi. Selanjutnya, agen infeksi dan kondisi perusak sel lainnya dapat menyebabkan apoptosis. Neuron di penumbra yang mendapatkan kembali fungsi neuronnya setelah iskemik dapat menunjukkan kematian yang tertunda oleh proses apoptosis. Demikian pula, neuron dalam jaringan yang mengalami kerusakan sekunder di sekitar lesi traumatis juga dapat diwarnai oleh apoptosis. Oleh karena itu, agen anti-apoptosis disarankan untuk meningkatkan kelangsungan hidup neuron dalam berbagai kondisi patologis (Dobolyi et al., 2012).

TGF- β s terbukti menghambat apoptosis. TGF- β 1 juga telah dicirikan sebagai faktor anti-apoptosis dalam model kematian neuron yang diinduksi staurosporin melalui mekanisme yang melibatkan aktivasi kinase 1/2 yang diatur sinyal ekstraseluler dan penghambatan caspase 3. Sifat anti-apoptosis TGF- β s dapat berkontribusi pada tindakan neuroprotektifnya (Dobolyi et al., 2012). Dua kaskade pengaktif caspase utama telah dicirikan sebagai pemain kunci dalam apoptosis: aktivasi caspase-3 yang dimediasi

mitokondria oleh caspase-9 (jalur intrinsik) dan aktivasi caspase-3 yang diinduksi oleh reseptor kematian oleh caspase-8 (jalur ekstrinsik)(Vivien & Ali, 2006) (lihat Gambar 5).



Gambar 5. Efek neuroprotektif TGF-β1 terhadap apoptosis (Vivien & Ali, 2006).

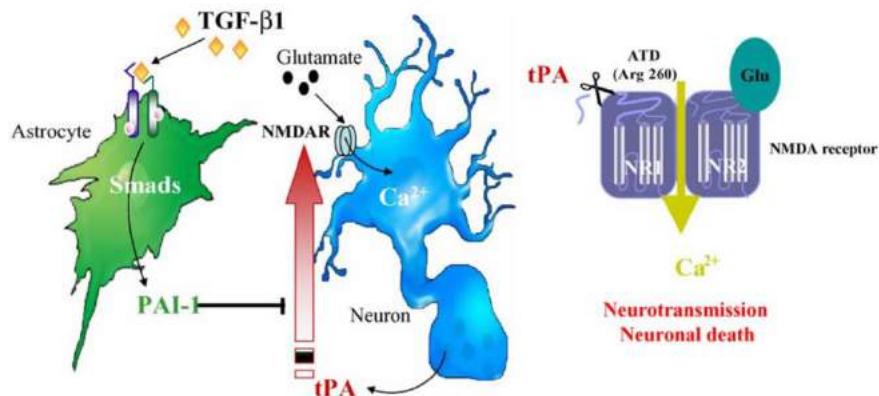
Setelah transduksi TGF-β1 yang dimediasi adenovirus dalam kondisi non-iskemik dan iskemik yang disebabkan oleh oklusi transient arteri serebral media, aktivasi bertahap kinase 1/2 (Erk1/2) yang diatur sinyal ekstraseluler dan protein kinase-1 yang diaktifkan MAPK ditemukan serta peningkatan fosforilasi buruk pada otak tikus. Konsisten dengan efek ini, peningkatan kadar protein buruk yang diinduksi iskemik dan aktivasi caspase-3 ditekan di otak yang ditransduksi TGF-β1. Akibatnya, fragmentasi DNA, lesi iskemik, dan defisiensi neurologis berkurang secara signifikan menunjukkan bahwa TGF-β1 menekan ekspresi Bad di bawah kondisi lesi, meningkatkan fosforilasi Bad, dan mengaktifkan jalur

MAPK/Erk, yang dapat berkontribusi pada aktivitas neuroprotektifnya (Zhu et al., 2002). Namun demikian, efek merugikan dari homeostasis dan aktivasi beberapa jalur dengan sinyal yang berlawanan setelah stroke iskemik menunjukkan bahwa hasil yang lebih baik mungkin tidak tergantung pada senyawa tunggal seperti TGF- β 1 tetapi pada beberapa obat yang bekerja dalam kombinasi pada waktu yang optimal dalam kondisi tertentu (Dobolyi et al., 2012).

Dalam sebuah penelitian yang menguji efek TGF- β 1 pada mikroglia, astrosit dan oligodendrosit dari tikus yang baru lahir, TGF- β 1 secara selektif menginduksi apoptosis mikroglia, dan bukan pada astrosit atau oligodendrosit. Efek langsung dari TGF- β 1 tersirat karena ekspresi sitokin lain tidak berubah. Di antara TGF- β s, sebagian besar eksperimen tidak membedakan antara sub tipe atau spesifik untuk TGF- β 1. Pada gilirannya, peran TGF- β 2 dan - β 3 dalam memediasi apoptosis pada jaringan non-saraf juga ditetapkan.

- **Perlindungan terhadap Eksitotoksisitas**

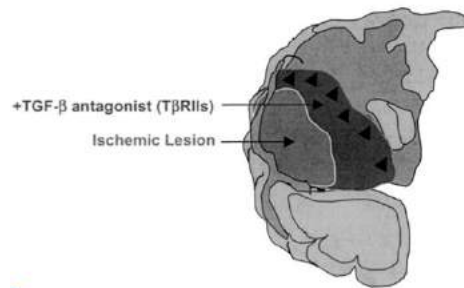
Sejak eksitotoksisitas telah terlibat dalam berbagai kondisi neuropatologis, pemahaman tentang jalur yang terlibat dalam jenis kematian sel ini sangat penting untuk pengobatan klinis iskemik serebral di masa depan. Eksitotoksisitas ditandai dengan penonjolan dan pembengkakan sel di awal terutama karena masuknya ion kalsium yang berlebihan ke dalam sel (Vivien & Ali, 2006) (lihat Gambar.6)



Gambar 6. Efek neuroprotektif TGF- β 1 terhadap nekrosis (Vivien & Ali, 2006).

TGF- β s juga dapat mempengaruhi fungsi sinaptik. Baru-baru ini, ditunjukkan bahwa TGF- β 1 mengurangi transfer sinaptik yang mungkin dapat memainkan peran dalam mencegah hilangnya neuron eksitotoksik karena pelepasan glutamat yang berlebihan di daerah peri-infark. TGF- β 1 secara signifikan mengurangi kerusakan saraf eksitotoksik dengan cara yang bergantung pada konsentrasi yang menunjukkan bahwa TGF- β 1 memiliki kapasitas untuk mengurangi konsekuensi merusak dari proses eksitotoksik. TGF- β 1 juga melindungi terhadap toksisitas glutamat kronis dalam kultur jaringan organotipik. Itu juga mungkin untuk efek antagonis perlindungan yang diberikan oleh TGF- β 1 terhadap eksitotoksitas. Reseptor *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) telah menjadi fokus utama penelitian eksitotoksik karena studi awal menunjukkan bahwa antagonisme sub tipe reseptor ini adalah neuroprotektif dan telah ditunjukkan bahwa, TGF- β 1 memberikan aktivitas neuroprotektif selektif terhadap eksitotoksitas yang dimediasi reseptor NMDA dengan bertindak sebagai

aksi negative modulator NMDA dan aktivitas neuroprotektif ini dimediasi oleh astrosit (Vivien & Ali, 2006)



Gambar 7. Antagonis reseptor TGF- β mempotensiasi luasnya lesi yang diinduksi iskemik in vivo (Buisson et al., 2003).

Blokade aktivitas biologis TGF- β s, yang diinduksi oleh injeksi lokal reseptor TGF- β tipe II yang larut bertindak sebagai antagonis TGF- β , secara nyata memperburuk eksitotoksik dan lesi iskemik (Gambar. 7).

- **Angiogenesis**

TGF- β ditunjukkan untuk mempromosikan angiogenesis. Ketika disuntikkan secara subkutan pada tikus yang baru lahir, TGF- β menginduksi angiogenesis dan mengaktifkan fibroblas untuk menghasilkan kolagen di tempat injeksi. Selain itu, penelitian in vitro menunjukkan bahwa TGF- β menyebabkan peningkatan yang nyata dari penggabungan prolin dan leusin ke dalam kolagen pada garis sel fibroblas tikus dan manusia. Efek langsung TGF- β pada angiogenesis kemudian dipertanyakan. Telah disarankan bahwa TGF- β 1 dapat mempotensiasi efek faktor pertumbuhan lainnya. TGF- β 1 meningkatkan efek angiogenesis yang diinduksi *vascular endothel growth factor* (VEGF) dalam model, di mana sel endotel mikrovaskular membentuk tabung seperti kapiler di dalam gel kolagen. In

vivo, dalam sistem angiogenesis diskus, TGF- β 1 juga mempotensiasi proliferasi sel endotel. Di otak, mekanisme serupa diharapkan untuk angiogenesis meskipun data yang tersedia kurang melimpah. Interaksi kompleks antara TGF- β 1 dan faktor pertumbuhan endotel vaskular telah disarankan. Keduanya menginduksi angiogenesis tetapi memiliki efek yang berlawanan pada sel endotel. VEGF melindungi sel endotel dari apoptosis sementara TGF- β 1 menginduksi apoptosis. Selanjutnya, penghambatan VEGF memblok apoptosis dan angiogenesis yang ditimbulkan oleh TGF- β 1 yang menunjukkan kontrol angiogenesis yang disempurnakan oleh interaksi faktor-faktor pertumbuhan ini (Dobolyi et al., 2012).

- **Regenerasi saraf**

Menetapkan peran langsung TGF- β dalam regenerasi saraf memerlukan pemeriksaan kemungkinan keterlibatan pembentukan jaringan parut karena efek tidak langsung oleh fibrosis dan astrogliosis selalu ada sebuah kemungkinan. Beberapa bukti tentang peran langsung TGF- β dalam regenerasi saraf. Ketika akson dari neuron hipokampus tikus yang dikultur dipotong oleh iradiasi sinar laser lokal, pertumbuhan aksonal dihentikan oleh iradiasi laser. Penambahan TGF- β secara luar biasa mendorong pemanjangan ulang aksonal dari tempat cedera dengan cara yang bergantung pada konsentrasi yang menunjukkan bahwa TGF- β 1 memiliki kemampuan untuk mendorong regenerasi aksonal neuron otak setelah lesi. Beberapa dari efek ini mungkin dimediasi oleh faktor pertumbuhan lainnya. Faktor pertumbuhan saraf (*Nerve Growth Factor*,

NGF), yang diketahui mempengaruhi perkembangan saraf, fungsi, dan respons terhadap cedera. TGF- β 1 menginduksi NGF mRNA dan protein di tikus dan tikus glia tapi tidak di neuron. Selain mempengaruhi pertumbuhan aksonal, TGF- β s juga dapat berpartisipasi dalam aspek lain dari regenerasi neuron seperti sinaptogenesis dan regenerasi dendritik spinal. Proses sinaptogenesis dapat terjadi pada tahap sub akut, dimana terjadi proses restorasi endogen yang dapat berlangsung setelah 4 hari hingga 12 minggu, selain itu ditandai dengan aktivasi neurogenesis dan angiogenesis (Hara, 2015). Telah ditunjukkan bahwa TGF- β 1 memfasilitasi sinaptogenesis dalam kultur saraf-otot *Xenopus* dan mungkin juga berkontribusi pada perubahan morfologi dendritik setelah cedera otak (Dobolyi et al., 2012).

2.6. TGF- β 1 PADA STROKE ISKEMIK

Mekanisme cedera otak pada stroke iskemik adalah sebagai proses yang sangat kompleks dan berhubungan dengan proses inflamasi yang melibatkan sel saraf, sel glia, sel endotel, matriks ekstraseluler, dan leukosit perifer. Neuroprotektif TGF- β 1 pada iskemik cerebral terbukti dengan mereduksi kematian sel neuron, ukuran infark dan memperbaiki luaran klinis (Dhandapani & Brann, 2003). TGF- β juga dapat menjadi neuroprotektif dengan memblok apoptosis atau dapat berpartisipasi pada pemulihan stroke iskemik karena perannya dapat dilihat pada daerah penumbra (Brea et al., 2009).

Untuk lebih menjelaskan peran TGF- β dalam iskemik serebral, beberapa laboratorium telah meneliti efek TGF- β eksogen pada model hewan iskemik serebral, serta efek penghambatan/antagonisme sistem pensinyalan TGF- β . Gross *et al* adalah yang pertama menunjukkan bahwa pemberian TGF- β 1 (10 μ g) ke dalam arteri karotis interna kanan sebelum pembentukan stroke tromboemboli menghasilkan pengurangan ukuran infark yang signifikan 4 jam setelah serangan (Gross *et al.*, 2016). Prehn *et al* menunjukkan bahwa injeksi tunggal TGF- β 1 intracerebroventrikular pada 2 sampai 4 jam sebelum oklusi secara signifikan mengurangi ukuran infark. Selain itu, menggunakan model tikus dari transien iskemik otak depan, ditunjukkan bahwa pemberian TGF- β 1 intraserebral 1 jam sebelum induksi iskemik secara signifikan mengurangi kerusakan neuron piramidal CA1 dibandingkan dengan hewan kontrol (Prehnly² & Miller², 1996). McNeill *et al* menunjukkan bahwa pengobatan dengan 10 ng TGF- β 1 2 jam setelah cedera otak hipoksia-iskemik berat secara signifikan mengurangi reaksi mikroglia, besarnya kehilangan neuron, dan area infark kortikal pada tikus.

Pemberian TGF- β eksogen dari peneliti lain telah mengeksplorasi efek peningkatan atau penghambatan pensinyalan TGF- β pada kerusakan iskemik serebral. Menggunakan pendekatan penghambatan, Ruocco *et al* menunjukkan bahwa injeksi reseptor TGF- β tipe II terlarut, yang mengikat ligan dan mencegah aksi biologis TGF- β , ke dalam korteks serebral 30 menit sebelum induksi iskemik serebral pada tikus, menghasilkan peningkatan dramatis di daerah infark. Namun, injeksi reseptor larut tanpa

adanya induksi stroke iskemik hanya menyebabkan lesi sederhana. Temuan ini menunjukkan bahwa TGF- β yang diinduksi pasca cedera penting untuk pemeliharaan viabilitas neuron, sedangkan sebelum cedera, TGF- β memainkan peran yang lebih rendah dalam kelangsungan hidup sel. Selanjutnya, injeksi bersama TGF- β 1 dengan *N-metil-D-aspartat* (NMDA), yang menghasilkan nekrosis eksitotoksik, secara dramatis mengurangi ukuran infark yang diinduksi karena NMDA. Namun, ketika NMDA disuntikkan ke dalam striatum tikus dengan reseptor TGF- β tipe II yang larut, yang bertindak sebagai antagonis TGF- β , volume infark yang diinduksi NMDA meningkat hampir 90%, yang selanjutnya melibatkan TGF- β dalam perlindungan otak dari cedera. Temuan ini adalah yang pertama menunjukkan bahwa sitokin, yang diproduksi sebagai respons terhadap eksitotoksitas, memberikan aktivitas neuroprotektif.

Studi oklusi arteri serebral media lebih lanjut menunjukkan bahwa tikus yang ditransduksi TGF- β 1 yang dimediasi adenoviral memiliki pengurangan yang signifikan dalam ukuran infark dan peningkatan yang signifikan dalam hasil neurologis dibandingkan dengan tikus kontrol yang disuntikkan garam setelah iskemik serebral. Secara keseluruhan, pendekatan alternatif paralel yang digunakan oleh studi yang dikutip sebelumnya secara kolektif menunjukkan kesimpulan umum bahwa TGF- β memiliki peran neuroprotektif dalam iskemik serebral.

Mikroglia dan makrofag yang diaktifkan adalah sumber utama peningkatan TGF setelah stroke, astrosit, mikroglia dan makrofag yang

diaktifkan menunjukkan peningkatan regulasi pensinyalan TGF- β yang dramatis setelah stroke. Pensinyalan TGF- β pada neuron dan oligodendrosit tidak mengalami perubahan yang nyata.

2.6.1. EKSPRESI TGF- β 1 SERUM PADA STROKE ISKEMIK

TGF- β dapat diproduksi di perifer, memiliki akses ke area yang rusak melalui sawar darah-otak yang cedera dan memodulasi proses pemulihan atau dapat berasal dari jaringan otak dan berdifusi ke darah. Karena TGF- β dapat dilepaskan oleh berbagai sel darah perifer, seperti monosit, trombosit dan limfosit T dan B, produksi TGF- β perifer mungkin juga diaktifkan oleh stroke. Kemungkinan ini diperkuat oleh bukti produksi perifer dari sitokin proinflamasi pada pasien stroke, dan oleh efek modulasi dari berbagai sitokin pada pelepasan neurotropin (TGF- β dan NGF) menyelidiki kemungkinan keterlibatan TGF- β perifer pada pasien stroke, penelitian yang mengukur kadar serum TGF- β pada berbagai waktu setelah stroke akut telah dilakukan dan adanya korelasi sitokin tersebut dengan parameter klinis dan neuroradiologi cedera otak walaupun ada yang memiliki korelasi positif dan negatif (Puspitasari et al., 2017; Stanzani et al., 2001).

Sumber pusat atau perifer dari faktor-faktor neurotropin ini masih belum dapat didefinisikan. Penelitian oleh Stanzani *et al*, mencoba memperjelas hal ini, dilakukan pengukuran kadar TGF- β dalam media pelepasan kultur sel darah perifer dari penelitian sebelumnya. Hasilnya tidak ada perbedaan yang signifikan antara pasien stroke dan kontrol. Namun, hasil negatif ini tidak mengecualikan produksi neurotropin perifer.

Kesimpulan hasil dari penelitiannya menunjukkan untuk pertama kalinya korelasi yang signifikan antara tingkat perifer neurotropin dan stroke, menunjukkan peran faktor-faktor ini pada pasien stroke, meskipun asal pusat atau perifer mereka masih harus ditentukan (Stanzani et al., 2001).

Sitokin TGF- β awalnya di darah dimurnikan dari trombosit manusia, sumber yang kaya protein ini. Selain trombosit, TGF- β 1 juga ditemukan pada fraksi darah lainnya, termasuk serum, plasma dan leukosit yang bersirkulasi. Dalam serum, dimana semua trombosit dibiarkan terdegranulasi, lebih dari 90% serum TGF- β 1 berasal dari trombosit. Sehingga, penelitian yang mengukur konsentrasi protein TGF- β 1 dalam sampel serum terutama mengukur kandungan trombosit TGF- β 1 dan kemampuannya untuk dilepaskan selama pembekuan. Trombosit adalah sumber yang kaya dari TGF- β yang bersirkulasi (Grainger et al., 2000). Kami tidak mengetahui adanya penelitian yang membandingkan konsentrasi TGF- β 1 di otak dan dalam serum; Namun, studi terbaru kadar TGF- β jauh lebih tinggi dalam cairan serebrospinal dibandingkan serum pasien dengan stroke atau cedera kepala. Hal ini menunjukkan bahwa asal seluler sitokin serum pada pasien ini mungkin sistem saraf pusat. Sel-sel otak, termasuk astrosit, mikroglia, dan neuron, terbukti menghasilkan TGF- β dalam kondisi patologis tertentu. Hasil dari perjalanan sitokin ini dari sirkulasi perifer ke kompartemen intratekal melintasi sawar darah-otak (Slevin et al., 2000), sehingga kadar TGF- β juga dapat diperiksa pada serum.

Penelitian Stanzani *et al*/ juga menunjukkan kadar serum neurotropin (NGF dan TGF- β) dengan keparahan stroke yang dinilai dengan NIHSS dan volume infark yang diukur dengan *Cavalieri's direct estimator* berkorelasi positif dan signifikan untuk nilai TGF- β ($r=0,43$, $p<0,01$). Hal ini menunjukkan TGF- β diekspresikan saat terjadi iskemik serebral. Walaupun hasilnya menunjukkan kadar TGF- β dengan keparahan stroke dan volume strokenya berbanding sama, dimana kadar TGF- β tinggi, keparahan strokenya juga tinggi. Korelasi yang sangat signifikan antara kadar serum NGF dan TGF- β yang diamati pada fase awal setelah stroke (1 dan 4 hari), bertahan pada 10 hari, tetapi tidak ada pada fase selanjutnya (30 dan 90 hari) dan pada kontrol, sehingga menunjukkan adanya mekanisme regulasi umum dan/atau timbal balik dari kadar serum neurotropin yang diinduksi oleh fase akut dari kejadian serebrovaskular.

Ekspresi kadar TGF- β serum juga belum dapat ditentukan kadar tertinggi TGF- β diekspresikan dan bertahan berapa lama tetapi dari beberapa penelitian yang dilakukan kadar tertinggi TGF- β dicapai rata-rata pada hari ke-7. Pada penelitian Stanzani *et al*/ dilakukan pemeriksaan kadar TGF- β serum yang diambil secara serial melalui vena antecubital sebanyak tiga kali: dalam 24 jam (segera setelah pasien diperiksa), pada hari ke-3, dan pada hari ke-7. Kadar TGF- β menurun secara signifikan pada hari ke-1 dan hari ke-3 dan cenderung kembali ke nilai kontrol setelahnya. Rata-rata kadar TGF- β pada pasien stroke adalah 79 ± 9 ng/mL pada hari ke-1, 72 ± 8 ng/mL pada hari ke-3, dan 96 ± 15 ng/mL pada hari ke-7 (Stanzani *et*

al., 2001). Penelitian Slevin *et al* pemeriksaan sampel darah TGF- β serum diambil segera setelah masuk (hari 0) dan pada hari 1, 3, 7, dan 14. Rerata kadar TGF- β 1 aktif pada pasien stroke adalah $17\pm 1,3$ pg/mL pada saat masuk, $19\pm 2,4$ pg/mL pada hari 1, $18\pm 1,7$ pg/mL setelah 3 hari, $20\pm 2,7$ pg/mL setelah 7 hari, dan $19\pm 1,7$ pg/mL setelah 14 hari. Dari hasil beberapa penelitian, disimpulkan untuk memeriksa kadar TGF- β serum pada hari ke-7, dimana kadar tertinggi didapatkan pada hari tersebut (Slevin *et al.*, 2000).

2.7. NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH STROKE SCORE (NIHSS)

National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) adalah suatu skala penilaian yang dilakukan pada penderita stroke untuk melihat kemajuan hasil perawatan fase akut. Penilaian ini dilakukan dua kali, yaitu saat masuk (hari pertama perawatan) dan saat keluar dari perawatan. Perbedaan nilai saat masuk dan keluar, dapat dijadikan salah satu patokan keberhasilan perawatan. NIHSS dikembangkan oleh Brott dan Goldstein tahun 1989 dari University of Cincinnati Stroke Center dan telah dilakukan revisi tahun 1994 oleh Lyden. Validasi telah dilakukan dan NIHSS dikatakan mempunyai reliabilitas tinggi dari beberapa kalangan antara lain dari para neurolog, dokter emergensi dan perawat mahir stroke. NIHSS sendiri telah diterjemahkan ke dalam bahasa Indonesia dan dimasukkan dalam *Guidelines* Stroke yang dibuat dan direkomendasikan untuk dijadikan pedoman tatalaksana oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Saraf Indonesia (PERDOSSI). Nilai NIHSS adalah antara 0-42 dan terdiri dari 13 komponen. Derajat klinis stroke iskemik diklasifikasikan menjadi: Ringan:

NIHSS < 5, Sedang: NIHSS 5-14, Berat: NIHSS 15-25, Sangat berat: NIHSS > 25. Perbedaan nilai skor NIHSS yang dianggap bermakna bila didapatkan perbedaan dua poin atau lebih, dan dikatakan prognosis buruk bila skor semakin tinggi pada penghitungan kedua (Boone et al., 2012; Lyden, 2017).

NIHSS memiliki keunggulan dan kelemahan. Keunggulannya adalah memiliki contoh pembelajaran audiovisual, dapat dilakukan dengan cepat sekitar 15 menit, telah banyak dipergunakan dan telah divalidasi, berguna untuk kondisi stroke akut, mudah dipelajari karena skor yang dipakai sederhana, dan tingkat reliabilitas tinggi di antara para pengguna. Kelemahannya adalah kurang baik untuk stroke sirkulasi posterior, oleh karena di dalam skoring terdapat penilaian kemampuan berbahasa, sehingga nilai yang diperoleh tidak sesuai antara luas kerusakan patologis dengan beratnya gejala dan tanda defisit neurologis yang ditimbulkan (Boone et al., 2012; Lyden, 2017).

Evaluasi prognosis stroke iskemik pada fase akut dapat dilihat dari perbedaan skor NIHSS pada hari ketujuh dengan skor NIHSS saat awal masuk rumah sakit. Batasan hari ketujuh didapat dari berbagai penelitian bahwa perbaikan awal dapat dimulai pada minggu pertama setelah awitan. Variasi prevalensi perburukan neurologi dapat diakibatkan pemakaian kriteria prognosis yang berbeda pada masing-masing penelitian, misal perburukan terjadi jika peningkatan lebih dari satu poin pada *Canadian Neurological Scale* (CNS), atau lebih dari atau sama dengan dua poin pada

Scandinavian Stroke Scale (SSS) dan National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) (Boone et al., 2012).

2.8. KERANGKA TEORI

