

TESIS

**HUBUNGAN KADAR VITAMIN D DENGAN RASIO NEUTROFIL
LIMFOSIT PADA PASIEN STROKE ISKEMIK AKUT**

*THE RELATIONSHIP OF SERUM VITAMIN D LEVELS WITH
NEUTROPHIL LYMPHOCYTE RATIO IN ACUTE ISCHEMIC STROKE
PATIENTS*



**IMAM PERDANA SATRIA
C155181005**

**DEPARTEMEN NEUROLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

**HUBUNGAN KADAR VITAMIN D DENGAN RASIO
NEUTROFIL LIMFOSIT PADA PASIEN STROKE ISKEMIK
AKUT**

KARYA AKHIR

Sebagai syarat untuk mencapai Gelar Spesialis Neurologi

Disusun dan diajukan

IMAM PERDANA SATRIA

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1
PROGRAM STUDI NEUROLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR

HUBUNGAN KADAR VITAMIN D DENGAN RASIO NEUTROFIL LIMFOSIT PADA PASIEN STROKE ISKEMIK AKUT

Disusun dan diajukan oleh

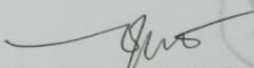
IMAM PERDANA SATRIA
C155181005

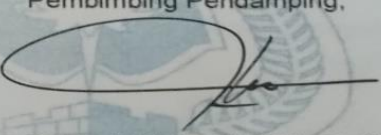
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Neurologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal **13 OKTOBER 2022** dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

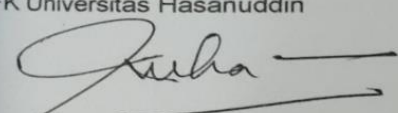
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Dr. dr. Nadra Maricar, Sp.S (K)
NIP 19621231 1989032048


Dr. dr. Andi Kurnia Bintang, Sp.S(K), MARS
NIP 19640502 199103 2 001

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. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK
NIP 196805301996032001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : IMAM PERDANA SATRIA

No. Mahasiswa : C155181005

Program Studi : Neurologi

Jenjang : Program Pendidikan Dokter Spesialis-1

Menyatakan dengan ini bahwa tesis dengan judul Hubungan Kadar Vitamin D dengan Rasio Neutrofil Limfosit Pada Pasien Stroke Iskemik Akut adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian hari tesis karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan melanggar hak cipta pihak lain, saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 13 Oktober 2022

Yang menyatakan



Imam Perdana Satria

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa, Maha Kuasa, Maha Pengasih dan Maha Penyayang karena dengan berkat rahmat dan hidayahNya penulis mampu menyelesaikan tesis yang berjudul : **HUBUNGAN KADAR VITAMIN D DENGAN RASIO NEUTROFIL LIMFOSIT PADA PASIEN STROKE ISKEMIK AKUT**. Penyusunan tesis ini dapat terlaksana karena adanya peran serta, dukungan, dan doa dari berbagai pihak yang telah membantu baik dari segi moril maupun materil. Oleh sebab itu, penulis ingin menuangkan ungkapan terima kasih terhadap semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian tugas ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

Pertama-tama ucapan terima kasih yang setulusnya penulis tujukan untuk orang tua penulis : Ayahanda Ir. Heriyanto Hasan, ibunda Silvana Mokodompit, Adik ku satu satunya Agung Disaputra serta tidak lupa rara ponakan kesayanganku atas dukungan doa dan semangat, kesabaran, serta kasih sayang yang telah diberikan. Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada seluruh keluarga handai taulan yang ada di manado atas kesabarannya, dukungan moril dan materil, kerelaan untuk menjadi tempat keluh kesah baik saya maupun kedua orang tuaku serta support yang tiada henti-hentinya yang membuat saya kuat dan bisa melewati pendidikan selama lebih dari 4 tahun ini. Terima kasih sekali lagi saya ucapkan untuk semua yang telah membantu saya dan keluarga saya baik secara langsung maupun tidak langsung dukungan dan doa yang tulus sehingga penulis dapat menjalani proses pendidikan ini hingga tahap akhir.

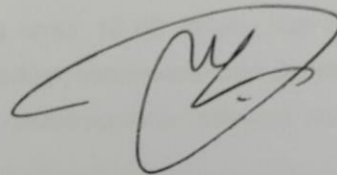
Tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih serta penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Dr. dr. Andi Kurnia Bintang, Sp.S(K), MARS selaku Kepala Departemen Neurologi, dr. Muhammad Akbar, Ph.D, Sp.S(K), DFM selaku Ketua Program Studi dan juga kepada tim penguji : Dr. dr. Nadra Maricar, Sp.S (K), Dr. dr. David Gunawan Umbas, Sp.S(K), dr. Muhammad Yunus Amran, Ph.D, Sp.S(K), FINR, FIPM, FINA, Dr.dr.Andi Alfian Zainuddin, MKM ; atas masukan, koreksi dan penilaian pada penyusunan karya akhir ini, serta keikhlasan menyampaikan ilmu dan pengalamannya selama penulis menjalani pendidikan.

Penulis juga menghaturkan terima kasih kepada para guru dan supervisor : Prof. Dr. dr. Amiruddin Aliah, MM, Sp. S(K); Dr. dr. Susi Aulina, Sp.S(K); dr. Louis Kwandou, Sp. S(K); dr. Abdul Muis, Sp. S(K); Dr, dr. Yudy Goysal, Sp.S(K); Dr. dr. David Gunawan Umbas, Sp. S(K); dr. Cahyono Kaelan, Ph.D, Sp. PA(K), Sp. S; dr. Ummu Atiah, Sp. S; dr. Mimi Lotisna, Sp. S; Dr. dr. Jumraini Tammasse, Sp.S(K), dr. Andi Weri Sompas, Sp. S, M.Kes; dr. Moch. Erwin Rachman, Sp. S, M. Kes; dr. Anastasia Juliana, Sp.S; dr. Sri Wahyuni S. Gani, Sp.S, M.Kes; dr. Citra Rosyidah, Sp.S, M.Kes; dr. Nurussyariah Hammado Sp. N, dan dr. Lilian Triana Limoa, M.Kes, Sp.S yang telah mengajar, membimbing, membantu dan mengarahkan penulis dengan segenap kesabaran dan keikhlasan hingga penulis dapat menimba ilmu dan menyelesaikan proses pendidikan dengan baik.

Terima kasih kepada angkatan Circulus Willisi Juli 2018 : dr. Amaludin Jaelani, Sp.N dr. Yulinda Mustapa, Sp.N, dr. Akbar Mandala, dr. Deviyanty Syahmi, dr. Reynard Febrian, Sp.N, dr. Borneo Adi Parantaririh, Sp.N dan dr. Desy Kartikasari, Sp.N, atas kekompakan dan persaudaraan yang terjalin, semoga akan terus berlanjut walaupun telah berada di daerah masing-masing. Terima kasih kepada teman-teman penulis yang tak dapat disebutkan satu-persatu namun begitu banyak berperan dalam proses pendidikan penulis, khususnya dalam penyelesaian tesis ini.

Akhir kata, penulis berharap karya ini dapat berguna di masa yang akan datang dan memberi sumbangsih bagi penelitian selanjutnya khususnya dalam bidang Neurologi. Semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu menjadi penyerta dalam setiap langkah kita. Aamiin.

Makassar, 13 Oktober 2022



Imam Perdana Satria

ABSTRAK

IMAM PERDANA SATRIA. Hubungan Kadar Vitamin D Dengan Rasio Neutrofil Limfosit Pada Pasien Stroke Iskemik Akut (dibimbing oleh : Nadra Maricar, Andi Kurnia Bintang, Andi Alfian Zainuddin, Muhammad Yunus Amran , David Gunawan Umbas).

Vitamin D sebagai neurosteroid memiliki peran sebagai anti inflamasi, menurunkan sitokin pro-inflamasi, memiliki efek antioksidan dan neuroprotektif. Pada kejadian stroke, keparahan serta disabilitas fungsional dihubungkan dengan penurunan signifikan kadar vitamin D.

Rasio Neutrofil Limfosit berperan pada proses tromboinflamasi dan merupakan salah satu prediktor tingkat keparahan dan luaran klinis pada pasien stroke iskemik akut dimana dijumpai juga penurunan signifikan kadar vitamin D

Jenis penelitian analitik dengan metode *cross-sectional*. Pasien stroke iskemik akut berjumlah 39 orang dengan rentang umur 18-80 tahun. Kemudian dibagi menurut kadar vitamin D menjadi kelompok cukup, insufisiensi dan defisiensi. Diperiksa rasio neutrofil limfosit nya saat admisi, dikelompokkan menjadi normal, cenderung patologis dan patologis .

Terdapat hubungan yang signifikan dengan korelasi negatif nilai RNL pasien dengan kadar vitamin D pada pasien stroke iskemik akut saat admisi. Didapatkan juga hubungan yang signifikan antara Nilai RNL dan kadar vitamin D apalagi dibagi menurut 2 kategori saja (normal dan tidak normal).

Defisiensi vitamin D berhubungan dengan derajat peningkatan nilai rasio neutrofil limfosit pada pasien stroke iskemik akut saat admisi.

Kata kunci : vitamin D, stroke iskemik akut, rasio neutrofil limfosit.

ABSTRACT

IMAM PERDANA SATRIA. Relationship of Vitamin D Levels with Neutrophil Lymphocyte Ratio in Acute Ischemic Stroke Patients (supervised by: Nadra Maricar, Andi Kurnia Bintang, Andi Alfian Zainuddin, Muhammad Yunus Amran, David Gunawan Umbas).

Vitamin D as a neurosteroid has an anti-inflammatory role, reduces pro-inflammatory cytokines, has antioxidant and neuroprotective effects. The incidence of stroke, severity and functional disability were associated with a significant decrease in vitamin D levels.

The ratio of neutrophils to lymphocytes plays a role in the thromboinflammatory process and one of the predictors of severity and clinical outcome in acute ischemic stroke patients, where there is also a significant decrease in vitamin D levels.

This is a type of analytic research with cross-sectional method. There are 39 acute ischemic stroke patients with an age range of 18-80 years old. The patients then divided according to vitamin D levels into sufficient, insufficiency and deficiency groups. We then examined the ratio of neutrophil to lymphocyte at the time of admission, grouped into normal, prone to pathological and pathological.

There is a significant correlation with negative direction of patients' RNL values with vitamin D levels in acute ischemic stroke patients on admission. There was also a significant relationship between RNL values and vitamin D levels, especially if they were divided into 2 categories only (normal and abnormal).

Vitamin D deficiency is associated with an increased degree of neutrophil to lymphocyte ratio in acute ischemic stroke patients on admission.

Keywords: vitamin D, acute ischemic stroke, neutrophil lymphocyte ratio.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
BAB I	1
Pendahuluan.....	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah.....	5
I.3 Hipotesis Penelitian	5
I.4 Tujuan Penelitian	5
I.4.1 Tujuan Umum.....	5
I.4.2 Tujuan Khusus.....	5
I.5 Manfaat Penelitian.....	5
I.5.1 Manfaat Teoritis	5
I.5.2 Manfaat Praktis	5
BAB II	6
Tinjauan Pustaka	6
II.1 Stroke Iskemik.....	6
II.1.1 Definisi Stroke Iskemik.....	6
II.1.2 Patofisiologi Stroke Iskemik	6
II.3 Vitamin D.....	12
II.3.1 Sintesis dan Metabolisme Vitamin D	12
II.3.2 Mekanisme aksi vitamin D.....	13
II.3.3 Hipovitaminosis Vitamin D.....	19
II.3.4 Peran Vitamin D Pada Inflamasi	16
II.3.5 Pemeriksaan Defisiensi Vitamin D	18
II.4 Pengaruh Vitamin D terhadap Sistem Syaraf Pusat.....	19
II.5 RASIO NEUTROFIL LIMFOSIT	20
II.5.1 Peran Neutrofil pada Tromboinflamasi	20
II.5.2 RNL pada stroke iskemik	22
II.6 Kerangka Teori	24
II.7 Kerangka Konseptual	25
BAB III.....	26

Metode Penelitian	26
III.1 Desain Penelitian	26
III.2 Waktu dan Tempat Penelitian	26
III.3 Subyek Penelitian	26
III.3.1. Populasi Penelitian	26
III.3.2 Sampel Penelitian.....	26
III.3.3 Kriteria Inklusi	26
III.3.4. Kriteria Eksklusi	27
III.3.5 Perkiraan Besar Sampel	27
III.4 Cara Pengumpulan Data	28
III.4.1. Alat dan Bahan	28
III.4.2 Cara Kerja.....	28
III.5 Identifikasi dan Klasifikasi Variabel.....	29
III.5.1 Variabel Pertama	29
III.5.2 Variabel Kedua.....	29
III.6 Definisi Operasional	29
III.7 Analisis Data dan Uji Statistik	31
III.8 Izin Penelitian dan Kelayakan Etik.....	31
III.8.1 Kerahasiaan Pasien	32
III.8.2 Konfidentialitas Penelitian	32
III.9 Alur Penelitian	33
BAB IV 33	
Hasil Penelitian.....	34
BAB V 37	
Pembahasan.....	38
BAB VI 42	
Kesimpulan Dan Saran.....	43
Daftar Pustaka.....	44
Lampiran.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Efek kondisi iskemik terhadap sel.....	8
Gambar 2.2	Perubahan profil respon imun setelah iskemia serebral fokal berdasarkan waktu	9
Gambar 2.3	Respon sistem imun perifer terhadap iskemia serebral	9
Gambar 2.4	Proses Sintesis Vitamin D.....	13
Gambar 2.5	Efek pleiotropik vitamin D pada jalur dan mekanisme <i>signaling</i> (A) anti-inflamasi dan (B) antioksidan.....	18
Gambar 2.6	Kerangka Teori.....	24
Gambar 2.7	Kerangka Konseptual.....	25
Gambar 3.1	Alur Penelitian.....	33
Grafik 4.1	Hubungan antara tingkat kadar Vitamin D Serum dengan RNL.....	36

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kadar serum 25(OH)D yang direkomendasikan.....	15
Tabel 4.1	Karakteristik Umum Sampel Penelitian.....	35
Tabel 4.2	Hubungan antara tingkat kadar Vitamin D Serum terhadap RNL.....	36
Tabel 4.3	Hubungan antara tingkat kadar vitamin D Serum dan Nilai RNL (kategorikal).....	37

DAFTAR SINGKATAN

25(OH)D ₃	:25-hydroxyvitamin D ₃ .
Apo-B	: apolipoprotein-B
CAT	: choline acetyltransferase
CT scan	: Computed tomography scan
DAMPs	: damage-associated molecular patterns
ELISA	: Enzyme-linked Immunosorbent Assay
GDNF	: glial cell line-derived neurotrophic factor
GM-CSF	: granulocyte macrophage colony-stimulating factor
UV	: Ultra Violet
IFN	: interferon
IGF-1	: insulin growth factor-1
IL	: interleukin
MAPK	: mitogen-activated protein kinase
MRI	: Magnetic resonance imaging
mRS	: modified Rankin Scale
NF-κB	: nuclear factor kappa B
NGF	: nerve growth factor
WHO	: World Health Organization
NIHSS	: National Institutes of Health Stroke Scale
NK Cell	: natural killer cells
NO	: nitric oxide
PTH	: parathyroid hormone
ROS	: Reactive Oxygen Species
TIA	: Transient Ischemic Attack
TLR	: toll-like receptors
TNF	: tumor necrosis factor
TOAST	: Trial of Acute Stroke Treatment
tPA	: tissue plasminogen activator

BAB I

Pendahuluan

I.1 Latar Belakang

Stroke menurut *World Health Organization (WHO)* adalah kondisi klinis akibat gangguan fungsi otak fokal ataupun global yang bersifat progresif dan berlangsung lebih dari 24 jam, atau dapat menyebabkan kematian, tanpa penyebab yang jelas selain masalah vaskular. Pada dasarnya terdapat dua jenis stroke yaitu stroke iskemik, yang disebabkan oleh gangguan aliran darah ke area otak tertentu. Stroke iskemik menyumbang 85% dari semua stroke akut. 15% stroke akut adalah stroke hemoragik.^{1,2,3}

Menurut (Samita 2018) Stroke dibedakan menjadi 2 jenis yaitu stroke iskemik dan stroke hemoragik. Stroke iskemik adalah penyumbatan pembuluh darah yang menyebabkan aliran darah ke otak berhenti sebagian atau seluruhnya. Klasifikasi stroke iskemik menurut *Trial of Organon in Acute Stroke Treatment (TOAST)* adalah antara lain lima subtype sebagai berikut: aterosklerosis arteri besar (15% hingga 40%), kardiembolik (15% hingga 30%), oklusi pembuluh darah kecil atau "lakunar" (15% hingga 30%), kriptogenik (hingga 40%), dan penyebab "lainnya" (<5%)³.

Stroke menduduki peringkat kedua penyebab utama kematian di seluruh dunia dengan tingkat kematian tahunan sekitar 5,5 juta. Tidak hanya beban stroke terletak pada mortalitas yang tinggi tetapi morbiditas yang tinggi juga mengakibatkan hingga 50% penyintas cacat kronis. Dengan demikian stroke adalah penyakit yang sangat penting bagi kesehatan masyarakat dengan konsekuensi ekonomi dan sosial yang serius. Beban kesehatan masyarakat dari stroke akan meningkat selama beberapa dekade mendatang karena transisi demografis populasi, terutama di negara-negara berkembang⁴.

Pada tahun 2019, diperkirakan terdapat 12,2 juta kasus insiden stroke, dengan total 101 juta prevalensi stroke global, 143 juta *Disability-Adjusted life-years (DALYs)* akibat stroke, dan 6,55 juta kematian akibat stroke. Dari tahun 1990 hingga 2019, jumlah absolut insiden stroke meningkat sebesar 70%, prevalensi stroke meningkat sebesar 85%, dan kematian akibat stroke meningkat sebesar 43%, dan DALYs akibat stroke meningkat sebesar 32%. Pada orang-orang yang lebih muda dari 70 tahun, tingkat prevalensi meningkat sebesar 22%. Stroke iskemik

merupakan 62,4% dari semua insiden stroke tahun 2019. Pada tahun 2019, lima faktor risiko utama untuk stroke adalah tekanan darah sistolik yang tinggi, indeks massa tubuh yang tinggi, glukosa plasma puasa tinggi, polusi materi partikulat, dan merokok⁵. Berdasarkan penelitian pada tahun 2010, *DALY* stroke di Asia nilai terendah ditemukan di Jepang (706,6 /100.000 orang) dan Singapura (804,2 /100.000 orang). Tingkat tertinggi ditemukan di Mongolia (4.409,8 / 100.000 orang) dan Indonesia (3.382,2 / 100.000 orang), dengan tingkat tinggi juga diamati di Myanmar, Laos, Korea Utara, dan Kamboja⁶.

Data dari studi laboratorium dan ekologi mengindikasikan adanya penyebab potensial hubungan antara defisiensi vitamin D dengan faktor resiko stroke dengan adanya stimulasi sistemik dan inflamasi vaskular yang menyebabkan proses atherogenesis langsung maupun tidak langsung. Hal ini menunjukkan kadar *insulin growth factor-1* (IGF-1) pada jaringan otak hewan, yang pada dasarnya bersifat bioregulator neuroprotektif pada keadaan iskemik, sebagaimana yang terjadi pada respon inflamasi, dengan upregulasi iskemik yang diinduksi oleh IL-6 setelah diet VDD. Sebuah hipotesis menyatakan bahwa aksi vitamin D pada sistem saraf pusat dipengaruhi oleh bentuk aktif vitamin D sebagai modifikator produksi dan pelepasan faktor neurotropik seperti *nerve growth factor* (NGF).⁹

Vitamin D adalah vitamin yang larut dalam lemak dan bertindak sebagai hormon steroid. Pada manusia, sumber utama vitamin D adalah konversi 7-dehydrocholesterol yang diinduksi UVB menjadi vitamin D di kulit. Vitamin D mempengaruhi tulang, usus, sistem kekebalan tubuh, kardiovaskular, pankreas, otot, otak, dan kontrol siklus sel⁸. Insufisiensi vitamin D mempengaruhi hampir 50% populasi di seluruh dunia. Diperkirakan 1 miliar orang di seluruh dunia, di semua etnis dan kelompok umur, memiliki defisiensi vitamin D. Pandemi hipovitaminosis D ini terutama dapat dikaitkan dengan faktor gaya hidup dan lingkungan yang mengurangi paparan sinar matahari, yang mana diperlukan untuk produksi vitamin D yang diinduksi ultraviolet-B (UVB) di kulit⁸. Vitamin D memiliki efek neuroprotektif dan dikaitkan dengan pengaruhnya terhadap produksi dan pelepasan neurotrofin, sintesis neuromediator, homeostasis kalsium intraseluler, dan pencegahan kerusakan oxidative pada jaringan saraf. Selain itu, vitamin D telah terbukti secara signifikan meningkatkan tingkat pertumbuhan neurit ketika ditambahkan ke eksplan hippocampal⁹.

Penelitian RCT dilakukan oleh Rezaei Dkk (2021) untuk mengetahui dampak suplementasi vitamin D terhadap TNF-alfa dan skor NIHSS pada pasien Iskemik Stroke. Penelitian tersebut melibatkan 59 pasien dengan stroke iskemik. Dalam penelitian tersebut didapatkan bahwa dosis tunggal 300.000 IU meningkatkan kadar vitamin D; selain itu, suplementasi vitamin D meningkatkan skor MRS (*Modified Rankin Scale*) dan IL-6 secara signifikan ($P = 0,01$, $P = 0,02$, masing-masing). Tetapi terdapat korelasi terbalik antara serum vitamin D dan NIHSS serta TNF- α setelah pemberian vitamin D walaupun tidak berhubungan signifikan secara statistik. Dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian tersebut Vitamin D tidak memiliki efek yang menguntungkan pada tingkat TNF- α dan skor NIHSS dimungkinkan karena pemberian dosis tunggal (300.000 IU) dan durasi pemberian yang singkat, serta periode tindak lanjut yang singkat.¹¹

Pada *systematic review* Yarlagadda dkk.(2020) menunjukkan bahwa defisiensi 25(OH)D3 dikaitkan dengan keparahan stroke yang lebih besar dan hasil yang buruk pasca stroke. Tingkat keparahan stroke secara keseluruhan, dinilai menggunakan *National Institutes of Health Stroke Scale*, lebih buruk pada pasien yang kekurangan 25(OH)D3 dengan stroke, sedangkan pasien dengan tingkat vitamin D yang cukup hingga optimal memiliki skor yang lebih rendah pada skala itu, atau stroke yang kurang parah¹³. Pada penelitian Narasimhan dan Balasubramaniam (2017) menunjukkan Perbedaan SSS (*Scandinavian Stroke Scale*) dari waktu penerimaan dan setelah tiga bulan menunjukkan pada Grup A dengan pemberian suplementasi vitamin D ($6,39 \pm 4,56$) dan Grup B tanpa suplementasi vitamin D ($2,50 \pm 2,20$) dianalisis secara statistik dan ditemukan signifikan ($p \text{ value} < 0,001$). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ada peningkatan yang signifikan terkait klinis stroke setelah tiga bulan pada pasien yang ditambah dengan vitamin D.¹³

Penelitian yang dilakukan oleh Selim et all (2019) pada 138 subjek menemukan bahwa kadar vitamin D yang rendah terlihat pada semua pasien dengan riwayat stroke iskemik dibandingkan dengan grup kontrol, sedangkan salah satu jurnal *American Heart Association* yang diterbitkan pada 2019 dengan judul "Status vitamin D dan Resiko Stroke" menyimpulkan bahwa semua pasien dengan riwayat stroke memiliki kadar vitamin D rendah ($< 30 \text{ ng/ml}$) dan didapatkan juga

insiden terjadinya stroke meningkat secara signifikan pada subjek dengan kadar vitamin D yang rendah.

Salah satu mekanisme yang diduga berperan terhadap derajat keparahan dan luaran klinis stroke adalah tromboinflamasi. Tromboinflamasi merupakan proses kompleks yang melibatkan interaksi antara trombosis, yang dimediasi oleh platelet, dan inflamasi yang dimediasi oleh sistem imunitas, dengan hasil akhir berupa cedera otak dan peningkatan derajat keparahan stroke. Proses tromboinflamasi ini merupakan target terapi potensial yang diharapkan dapat menurunkan morbiditas dan mortalitas stroke, namun untuk dapat mencapai hal tersebut dibutuhkan parameter yang dapat menggambarkan proses tromboinflamasi tersebut. Parameter tromboinflamasi yang banyak diteliti selama ini berupa penilaian terhadap aktivitas mikroglia, serta sitokin yang dihasilkan sel imun, namun pemeriksaan tersebut tidak tersedia luas, dan hanya dapat diperiksa di pusat kesehatan tertentu.¹⁹

Rasio neutrofil limfosit (RNL) merupakan parameter inflamasi sistemik dan disfungsi endotel yang didapatkan dari pemeriksaan hematologi rutin, dan relatif mudah didapat serta tersedia luas.²⁰ Pada stroke iskemik akut, terjadi peningkatan respon inflamasi sistemik yang terjadi sebelum respon inflamasi sentral, dan berkaitan dengan derajat tromboinflamasi.¹¹ Inflamasi perifer tersebut dipicu oleh aktivasi mikroglia di parenkim otak setelah iskemia.²⁶ Peningkatan neutrofil, yang merupakan salah satu sel imun yang pertama kali mengalami aktivasi dan migrasi akibat cedera iskemia, serta penurunan limfosit akibat aktivitas aksis HPA berkorelasi dengan tromboinflamasi yang lebih berat.¹¹

Beberapa penelitian telah meneliti hubungan antara RNL terhadap stroke, salah satunya adalah penelitian yang dilakukan Perez dkk, yang menemukan bahwa nilai RNL berkorelasi dengan derajat keparahan dan fungsional pasien stroke iskemik.¹⁴ Penelitian terbaru menunjukkan bahwa terdapat penurunan rasio neutrophil limfosit pada remaja perempuan yang diberikan supplement dosis tinggi vitamin D³², penelitian observational lain juga menemukan bahwa defisiensi vitamin D mengakibatkan terjadinya peningkatan rasio neutrofil limfosit pada anak-anak yang menderita Community acquired pneumonia³⁷, sedangkan pada penelitian lain juga didapatkan bahwa kadar PLR dan NLR ditemukan secara signifikan meningkat pada pasien dengan kadar Vitamin D yang rendah.⁵⁴ Namun belum ada penelitian yang menghubungkan antara kadar RNL dengan kadar vitamin D pada stroke

iskemik akut di Indonesia. Diharapkan hasil penelitian ini dapat meningkatkan pemahaman mengenai mekanisme tromboinflamasi dan hubungan antara kadar vitamin D dengan Rasio neutrofil dan Limfosit.¹⁴

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana hubungan kadar Vitamin D dengan rasio Limfosit –Neutrofil pada pasien stroke iskemik akut.

I.3 Hipotesis Penelitian

Terdapat hubungan antara kadar vitamin D terhadap rasio neutrophil limfosit pada pasien stroke iskemik akut. Semakin rendah kadar vitamin D semakin tinggi rasio neutrophil limfosit pada pasien stroke iskemik akut

I.4 Tujuan Penelitian

I.4.1 Tujuan Umum

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan antara kadar vitamin D dengan rasio neutrophil limfosit pada pasien stroke iskemik akut.

I.4.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur kadar vitamin D pasien stroke iskemik akut
2. Menghitung rasio neutrophil limfosit pasien stroke iskemik akut
3. Menetapkan hubungan antara kadar vitamin D dan rasio neutrophil limfosit pada pasien stroke iskemik akut

I.5 Manfaat Penelitian

I.5.1 Manfaat Teoritis

Menambah Informasi dan keilmuan tentang hubungan antara kadar vitamin D terhadap rasio neutrophil limfosit pada pasien stroke iskemik akut

I.5.2 Manfaat Praktis

Sebagai sumber referensi bagi peneliti lain untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang hubungan kadar vitamin D dengan rasio neutrophil limfosit pada stroke iskemik

BAB II **Tinjauan Pustaka**

II.1 Stroke Iskemik

II.1.1 Definisi Stroke Iskemik

Stroke menurut *World Health Organization (WHO)* adalah kondisi klinis akibat gangguan fungsi otak fokal ataupun global yang bersifat progresif dan berlangsung lebih dari 24 jam, dapat menyebabkan kematian, tanpa penyebab yang jelas selain masalah vaskular. Pada tahun 2013, *American Heart Association/American Stroke Association* memperbarui definisi stroke yang mereka dukung sebelumnya menjadi kondisi stroke yang mencakup silent infarct (termasuk kondisi pada serebral, spinal dan retina) serta silent haemorrhage. Alasan di balik perubahan definisi tersebut adalah untuk mendukung definisi stroke berdasarkan radiologis (definisi berbasis kondisi organ) baik infark atau perdarahan^{1,2}.

Definisi stroke iskemik menurut (Sacco et all) adalah episode disfungsi neurologis yang disebabkan oleh karena infark serebral fokal, tulang belakang, atau retina dengan bukti infark sistem syaraf pusat yang sudah disebutkan sebelumnya disisi lain terdapat kondisi *silent infarct* SSP yang didefinisikan sebagai kondisi pencitraan atau bukti neuropatologis infark SSP, tanpa riwayat disfungsi neurologis akut yang disebabkan oleh lesi².

Fase akut adalah 1 minggu pertama setelah terjadinya infark, dan menurut jurnal radiologi, onset akut dinyatakan sejak 24 jam hingga 1 minggu. Kriteria inklusi pertama dari sampel penelitian ini adalah pasien stroke iskemik akut dengan onset 0-7 hari^{21,60}

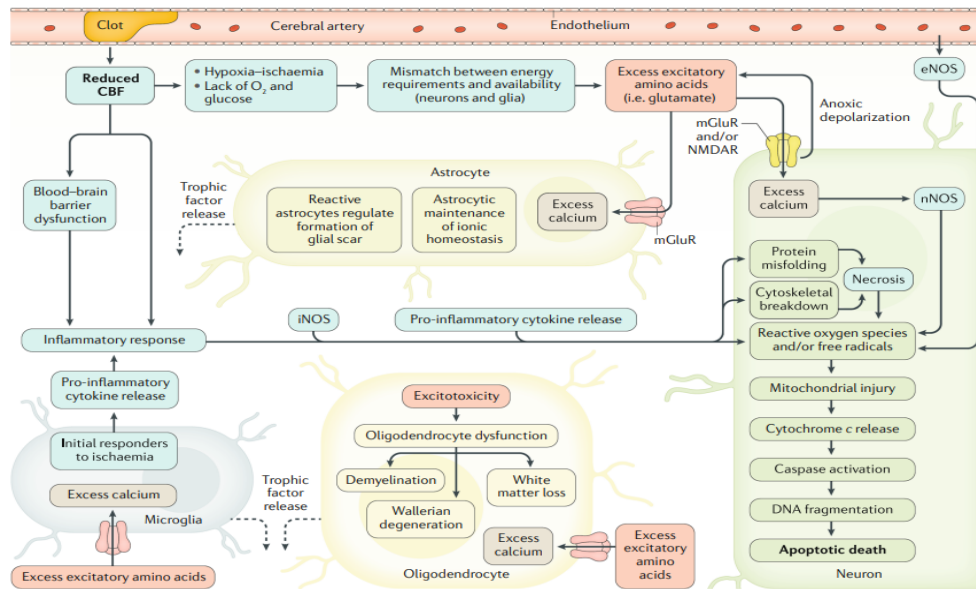
II.1.2 Patofisiologi Stroke Iskemik

Oklusi iskemik berkontribusi pada sekitar 85% pasien stroke, dengan sisanya karena perdarahan intraserebral. Oklusi iskemik bisa terjadi karena kondisi trombotik dan emboli di otak. Pada trombosis, aliran darah dipengaruhi oleh penyempitan pembuluh darah karena aterosklerosis. Penumpukan plak pada akhirnya akan menyebabkan menyempitkan ruang pembuluh darah dan membentuk gumpalan, menyebabkan stroke trombotik. Pada stroke emboli, emboli menyebabkan aliran darah ke otak berkurang,

menyebabkan stres berat dan kematian sel sebelum waktunya (nekrosis). Nekrosis diikuti oleh gangguan membran plasma, pembengkakan organel dan kebocoran konten seluler ke ruang ekstraseluler⁷.

Pada umumnya patofisiologi stroke iskemik melalui dua mekanisme utama yaitu aliran darah kolateral dan kaskade iskemik-cedera reperfusi. Ketika arteri intrakranial tersumbat, jalur aliran darah alternatif (disebut kolateral) dapat mempertahankan kelangsungan hidup di daerah otak penumbra untuk jangka waktu tertentu. Tingkat aliran kolateral sangat bervariasi antara individu. Lingkaran Willis adalah salah satu sumber potensial aliran kolateral, tetapi seringkali tidak lengkap dan oklusi di hilir, membatasi kapasitasnya. Aliran darah kolateral yang buruk menyebabkan perkembangan infark yang cepat dan respons yang terbatas terhadap terapi reperfusi²⁵.

Kaskade iskemik-cedera reperfusi merupakan konsekuensi seluler dari berkurangnya perfusi serebral. Oklusi arteri serebral menyebabkan respon kaskade. Berkurangnya aliran darah otak (CBF) menyebabkan berkurangnya ketersediaan glukosa dan oksigen dan ketidakcocokan dalam kebutuhan energi dan ketersediaan dalam neuron, glia dan sel-sel endotel. Depolarisasi anoksik dan berkurangnya aktivitas *reuptake* glutamat menyebabkan peningkatan kadar glutamat ekstraseluler. Hal ini menyebabkan masuknya kalsium neuronal (melalui reseptor ion N-metil-D-aspartat (NMDA) (NMDAR)) dan pelepasan kalsium dari intraseluler di neuron dan glia (dimediasi melalui reseptor glutamat metabotropik (mGluRs)). Disfungsi *blood brain barrier* dan pelepasan molekul pensinyalan (misalnya, sitokin) dari astrosit, mikroglia, dan oligodendrocytes menyebabkan respons inflamasi. Pada neuron, efek kumulatifnya adalah kematian sel yang dimediasi melalui beragam jalur termasuk nekrosis dan apoptosis²⁵.



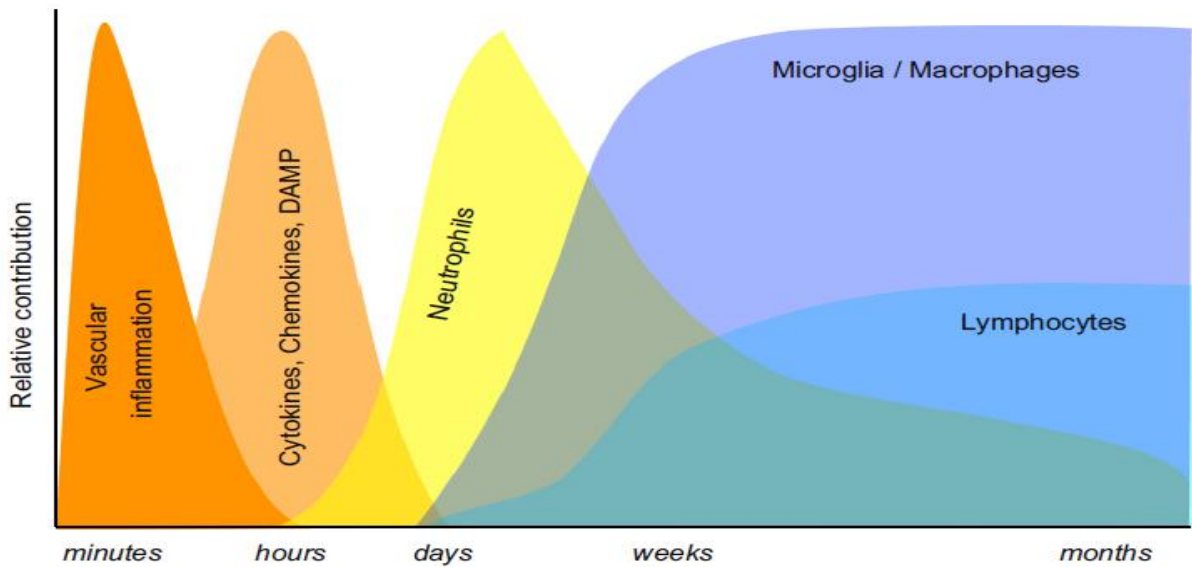
Gambar 2.1 Efek kondisi iskemik terhadap sel²⁵

Penelitian klinis dan eksperimental terbaru telah menemukan bahwa sistem imun memiliki peran dalam perubahan patologis pada stroke iskemik akut. Hal ini dibuktikan dengan peningkatan kadar berbagai sitokin proinflamasi di cairan serebrospinal dan darah pada pasien stroke iskemik akut. Penemuan ini mematahkan paradigma lama yang menganggap bahwa respon inflamasi tidak dapat terjadi secara adekuat pada sistem saraf pusat akibat adanya sawar darah otak, sedikitnya pembuluh limfatik, inefisiensi dari mikroglia dan astrosit sebagai *antigen presenting cell* terhadap sel T, dan tingginya tingkat apoptosis sel yang melewati sawar darah otak.¹⁶

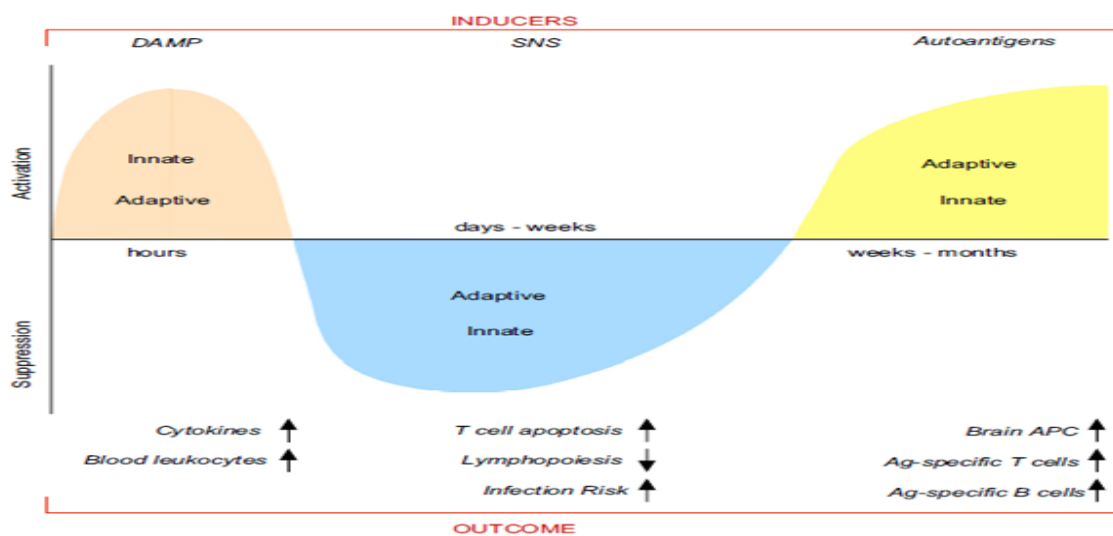
Pada stroke iskemik akut, stasis darah akan menyebabkan aktivasi endotel yang menyebabkan peningkatan ekspresi molekul adhesi seperti *vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1)* *intracellular adhesion molecule 1 (ICAM-1)*, dan *selectin*, yang menyebabkan rekrutmen dari leukosit. Pada waktu yang bersamaan, aktivasi kaskade koagulasi akan meningkatkan protease proinflamasi (*tissue factor* dan *thrombin*) dan pelepasan sitokin proinflamasi dari platelet yang teraktivasi. Inflamasi vaskuler tersebut akan dipropagasi ke sel imun di parenkim otak melalui sawar darah otak yang rusak.¹¹

Pada saat yang hampir bersamaan, kerusakan sel neural akan menyebabkan pelepasan *damage associated molecular pattern (DAMP)*

seperti *high mobility group protein B1*, asam urat, *heat shock protein*, ATP, protein S100, heparan sulphate, DNA dan RNA, ke lingkungan ekstraseluler. DAMP kemudian akan menyebabkan aktivasi dari mikroglia dan endotel yang memicu timbulnya respon imun perifer.^{11,16} Pada dua penelitian eksperimental pada tikus coba model stroke, stroke akan menginduksi respon inflamasi perifer yang mencapai puncak pada 4 jam, mendahului respon inflamasi di otak yang mencapai maksimal pada 24 jam onset stroke.¹⁵



Gambar 2.2:Perubahan profil respon imun setelah iskemia serebral focal berdasarkan waktu pada tikus coba model stroke (Caplan et al., 2017)



Gambar 2.3 Respon sistem imun perifer terhadap iskemia serebral (Caplan et al., 2017)

Imunitas innate

Sel yang memediasi imunitas innate, yaitu mikroglia mendeteksi DAMP melalui *pattern recognition receptor* yang meliputi *Toll like receptor (TLRs)*, *RIG-1-like receptor*, *NOD like receptor*, *C-type leptin receptor* dan *AIM2 like receptor*. Reseptor ini kemudian akan mengaktifasi jalur sinyal selanjutnya, seperti *nuclear factor KB*, *mitogen activated protein kinase (MAPK)*, dan jalur interferon tipe 1 yang kemudian akan meningkatkan regulasi sitokin proinflamasi, kemokin, *reactive oxygen species* dan sinyal kostimulasi. Aktivasi reseptor tersebut juga menyebabkan peningkatan dan infiltrasi dari sel neutrofil, monosit, serta priming, aktivasi, dan ekspansi klonal dari sel T.¹⁶

Neutrofil merupakan bagian penting dari imunitas innate, dan merupakan salah satu sel imun yang pertama kali menginfiltrasi parenkim otak, disamping makrofag dan monosit. Neutrofil akan melepaskan mediator inflamasi yang akan menarik sel inflamasi lain dan meningkatkan respon inflamasi. Neutrofil juga melepaskan protease yang dapat merusak sawar darah otak dan mengeksaserbasi stress oksidatif. Proses ini ditambah dengan pembentukan bradikinin oleh sistem kallikrein kinnin yang telah dibahas sebelumnya akan meningkatkan permeabilitas sawar darah otak dan menyebabkan sel imun sistemik dapat menginfiltrasi parenkim otak.¹⁶

Imunitas adaptif

Imunitas adaptif timbul lebih lambat daripada imunitas innate. limfosit T merupakan subpopulasi yang berperan dalam proses infark serebri. Pada fase awal stroke, limfosit T tidak dapat menembus sawar darah otak. Invasi limfosit ke parenkim otak diregulasi oleh interaksi *leukocyte expressed very late antigen 4* dengan *endothelial vascular adhesion molecule 1*. Ekstravasasi limfosit ke parenkim difasilitasi oleh stress oksidatif, protease yang diekspresikan di sel vaskular dan mediator inflamasi lain yang mempengaruhi permeabilitas sawar darah otak. Infiltrasi sel T merupakan sumber utama interferon (IFN)- γ , yang memediasi efek neurotoksik lambat dari jaringan otak iskemik. Sel lain

yang juga berperan dalam evolusi menjadi infark serebri adalah sel $\gamma\delta T$, $CD8^+$ dan $CD4^+$.¹⁶

Limfosit di dalam sistem pusat akan mengalami priming oleh antigen dari epitope otak yang tidak terdeteksi dalam keadaan normal. Priming ini akan menimbulkan respon autoreaktif yang menyebabkan timbulnya respon inflamasi terhadap epitop pasien tersebut. Respon inflamasi yang ditimbulkan dapat bersifat non protektif atau protektif, bergantung terhadap anatomi lesi otak (substansia alba, substansia grisea), fenotipe sel T, aktivasi sel T regulator, genetik dan waktu terjadinya. Sebagai contoh, sel T yang spesifik antigen myelin dapat berperan mencegah neurodegenerasi sekunder, meningkatkan neurogenesis, dan mempromosikan penyembuhan setelah cedera sistem saraf pusat. Penelitian yang mengaplikasikan *Myelin basic protein (MBP)* atau *Myelin Oligodendrocyte protein (MOG)* beberapa minggu sebelum onset stroke dapat menurunkan ukuran infark dan meningkatkan penyembuhan pada model tikus coba. Hal ini disebabkan oleh peningkatan sel T regulator dan penurunan respon Th1, dan mengindikasikan bahwa pada pasien dengan riwayat stroke, imunomodulasi dengan antigen spesifik dapat mencegah stroke berulang dan meningkatkan luaran klinis.¹⁶

Manifestasi Klinis

Karakteristik utama dari semua jenis stroke, sesuai dengan yang telah diutarakan adalah adanya defisit neurologis fokal atau global yang timbul mendadak. Defisit neurologis fokal pada stroke dapat berupa:¹⁷

- Kelumpuhan sisi (hemiparesis) /kedua sisi, kelumpuhan satu ekstremitas (monoparesis), kelumpuhan otot-otot penggerak bola mata (oftalmoplegia), kelumpuhan otot-otot untuk proses menelan (disfagia), artikulasi (disartria), bicara (disfonia)
- Gangguan fungsi somatik sensoris satu sisi tubuh (hemihipestesi)
- Gangguan fungsi keseimbangan (ataksia serebelar), atau vertigo sentral

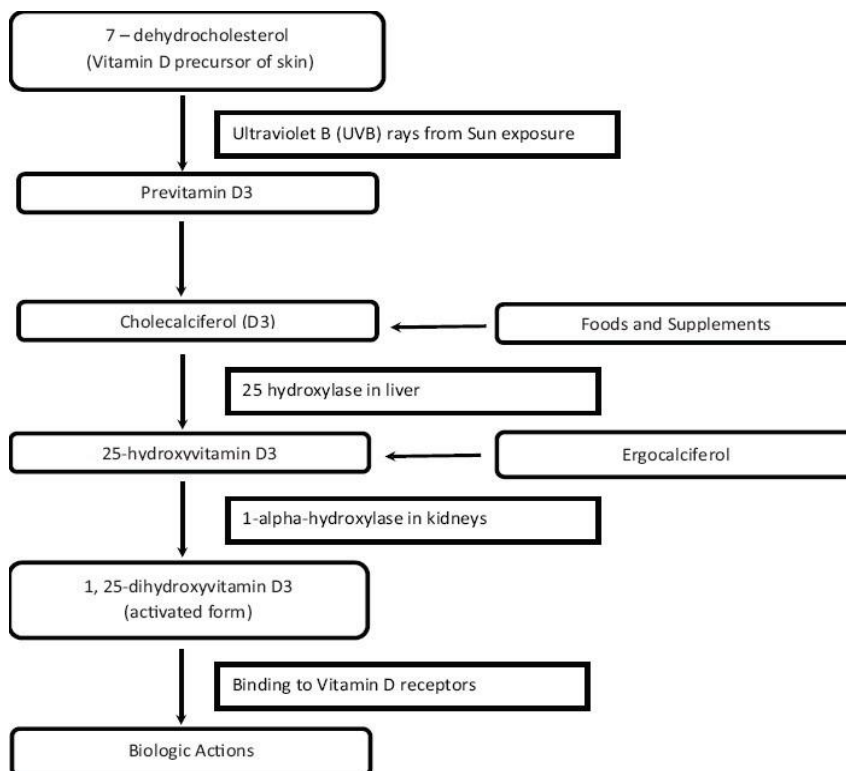
- Penurunan fungsi penghidu (hiposmia)
- Gangguan fungsi penglihatan, dapat berupa gangguan ketajaman penglihatan (penurunan visus/*sudden blindness*), atau defek lapangan pandang (skotoma, hemianopia)
- Gangguan fungsi pendengaran
- Gangguan fungsi kognitif, seperti: gangguan atensi, memori, bicara (afasia), gangguan mengerti pembicaraan, gangguan pengenalan ruang, dan sebagainya
- Gangguan global berupa gangguan kesadaran

II.3 Vitamin D

II.3.1 Sintesis dan Metabolisme Vitamin D

Vitamin D unik karena dapat disintesis di kulit dari paparan sinar matahari. Vitamin D pada umumnya terdapat dalam dua bentuk yaitu vitamin D₂ dan Vitamin D₃. Vitamin D₂ diperoleh dari iradiasi UV ragi sterol ergosterol dan ditemukan secara alami pada jamur yang terpapar sinar matahari. Sinar UVB dari matahari yang terpapar pada kulit, memungkinkan manusia untuk mensintesis vitamin D₃, sehingga bentuk Vitamin D₃ merupakan bentuk yang paling “alami”. Sebagian besar ikan kaya minyak seperti salmon, makarel, dan ikan haring mengandung vitamin D₃. Vitamin D (D mewakili D₂, atau D₃, atau keduanya) yang dicerna dimasukkan ke dalam chylomicrons, yang diserap ke dalam sistem limfatik dan memasuki pembuluh darah vena. Vitamin D yang berasal dari kulit atau diet secara biologis bersifat inert dan membutuhkan hidroksilasi pertamanya di hati oleh enzim D-25-hidroksilase (25-OHase) hingga menjadi 25(OH)D. Namun, 25(OH)D masih memerlukan hidroksilasi lebih lanjut di ginjal oleh enzim 25(OH)D-1-OHase (CYP27B1) untuk menjadi bentuk aktif biologis vitamin D 1,25(OH)₂D. Bentuk vitamin 1,25(OH)₂D dapat merangsang penyerapan kalsium usus. Tanpa vitamin D, penyerapan kalsium hanya mampu mengabsorpsi 10-15% kalsium makanan dan 60% fosfor makanan sehingga kecukupan vitamin D meningkatkan penyerapan kalsium dan fosfor masing-masing sebesar 30-40% dan 80%^{8,33-37}.

Sumber utama vitamin D bagi kebanyakan manusia disintesis dari paparan kulit terhadap sinar matahari. Vitamin D yang diproduksi di kulit dapat bertahan setidaknya dua kali lebih lama dalam darah dibandingkan dengan vitamin D yang dicerna⁸. Ketika orang dewasa mengenakan pakaian renang terkena satu dosis radiasi UV eritemal minimal (sedikit kemerah-merahan pada kulit 24 jam setelah terpapar), jumlah vitamin D yang diproduksi setara dengan menelan suplemen vitamin D dosis 10.000 dan 25.000 IU³⁸



Gambar 2.4 Proses Sintesis Vitamin D⁸

II.3.2 Mekanisme aksi vitamin D

Reseptor vitamin D (VDR) banyak ditemukan di sebagian besar jaringan dan sel dalam tubuh. 25(OH)2D memiliki berbagai efek biologis, seperti penghambatan proliferasi seluler, induksi diferensiasi terminal, menghambat angiogenesis, merangsang produksi insulin, menghambat produksi renin, dan merangsang produksi katelicidin makrofag. Produksi lokal 1,25(OH)2D bertanggung jawab untuk

mengatur hingga 200 gen yang dapat memfasilitasi banyak manfaat kesehatan pleiotropik⁸.

Vitamin D adalah vitamin yang larut dalam lemak dan bertindak sebagai hormon steroid. Pada manusia, sumber utama vitamin D adalah konversi 7-dehydrocholesterol yang diinduksi UVB menjadi vitamin D di kulit. Vitamin D mempengaruhi tulang, usus, sistem kekebalan tubuh, kardiovaskular, pankreas, otot, otak, dan kontrol siklus sel⁸.

Vitamin D mengalami dua hidrosilasi dalam tubuh untuk aktivasi. Calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D₃), bentuk aktif vitamin D, memiliki waktu paruh sekitar 15 jam, sedangkan kalsidiol (25-hydroxyvitamin D₃) memiliki waktu paruh sekitar 15 hari⁸.

Mekanisme kerja kalsitriol dimediasi oleh VDR, yang termasuk dalam subfamili reseptor *nuclear* yang bertindak sebagai faktor transkripsi sel target setelah membentuk heterodimer dengan reseptor X retinoid (RXR). Setelah terdimerisasi, kompleks berikatan dengan elemen VDR, di daerah promotor gen target atau di situs yang jauh, secara positif atau negatif mengatur ekspresi gen tersebut³⁹.

Vitamin D mengatur proliferasi dan diferensiasi sel dan memiliki peran kunci dalam respons sistem kekebalan dan saraf. Studi observasional menunjukkan bahwa konsentrasi serum vitamin D yang tinggi melindungi individu dari penyakit kardiovaskular (CVD), diabetes, dan kanker kolorektal⁴⁰. Bukti efek ekstraskeletal 1,25(OH)₂D₃ termasuk detoksifikasi xenobiotik, pengurangan stres oksidatif, peningkatan fungsi saraf, pertahanan antimikroba, imunoregulasi, sifat antiinflamasi/antikanker, dan manfaat kardiovaskular⁴¹.

Metabolit vitamin D secara alami melewati *blood brain barrier* sehingga memberikan akses kepada mereka untuk sel-sel saraf dan glial, oleh karena itu, sejumlah peran vitamin D telah diamati dalam berbagai gangguan neurologis dan neuromuskuler. Mikroglia dalam sistem saraf pusat dapat menghasilkan kalsitriol *in situ*, kondisi ini mungkin mewakili respons antitumor. Kalsitriol dapat menghambat sintesis oksida nitrat yang dapat diinduksi sintase sehingga

menyebabkan upregulasi glutathione yang memainkan peran dalam neuroproteksi atau neuromodulasi^{42,43}.

II.3.3 Hipovitaminosis Vitamin D

Kontroversi dalam vitamin D adalah bagaimana mendefinisikan hipovitaminosis. Kadar 25(OH)D dalam darah yang didefinisikan sebagai defisiensi vitamin D masih kontroversial. Kontroversi tersebut tercermin dalam keragaman rekomendasi dari otoritas Eropa, IOM dan *Endocrine Society*. Defisiensi vitamin D seperti yang didefinisikan oleh SACN, IOM, EFSA, *Endocrine Practice Guidelines and the Australian Working Group* ditunjukkan pada Tabel 2.1

Tabel 2.1. Kadar serum 25(OH)D yang direkomendasikan (Ramasamy, 2020)

	ESPG	SACN	IOM	EFSA	Australian Working Group
Defisiensi Vitamin D	<50 nmol/L (<20 ng/mL)	<25 nmol/L (<10 ng/mL)	Individu berisiko mengalami defisiensi relatif terhadap kesehatan tulang pada kadar 25OHD		Berat <12.5 nmol/L (<5 ng/mL); Moderat 12.5-29 nmol/L (5-11.6 ng/mL)

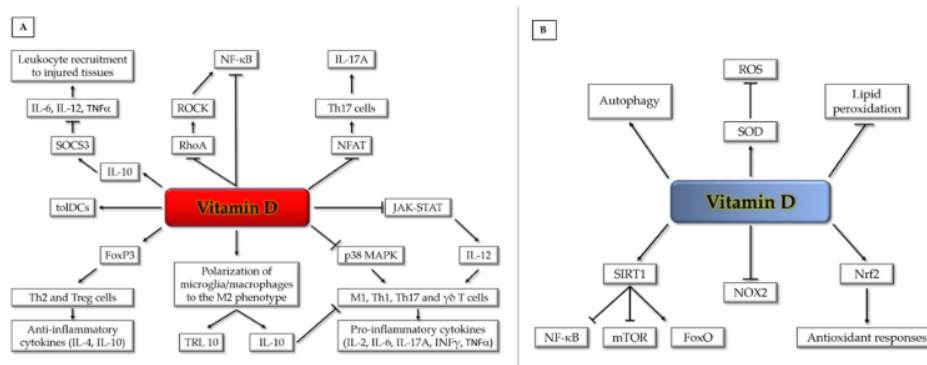
Insufisiensi Vitamin D	52.5-72.5 nmol/L (21-29 ng/mL)	serum <30 nmol/L (<12 ng/mL)	Beberapa, tetapi tidak semua, orang berpotensi berisiko kekurangan kadar 25OHD		30-49 nmol/L (12-19.6 ng/mL) Defisiensi Ringan
Sufficient/ Cukup	75-250 nmol/L (30-100 ng/mL)	serum 30-50 nmol/L (12-20 ng/mL)	50 nmol/L (20 ng/mL) (mencakup kebutuhan 97,5% populasi)*	≥50 nmol/L (≥20 ng/mL)	≥50 nmol/L (≥20 ng/mL) (di akhir musim dingin) *

II.3.4 Peran Vitamin D Pada Inflamasi

Vitamin D berperan penting dalam proliferasi, diferensiasi, dan fungsi sel imun, baik secara langsung maupun tidak langsung. Sel

dendritik dan makrofag diketahui mengekspresikan enzim, 25-hidroksilase dan 1-alfa-hidroksilase, yang diperlukan untuk mengubah vitamin D menjadi bentuk aktifnya, yaitu 1,25(OH)₂D, sedangkan sel T teraktivasi dapat menghidrolisis 25(OH) D menjadi 1,25(OH)₂D. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa vitamin D menghambat produksi sitokin pro-inflamasi, seperti IL-6 atau TNF- α , dalam monosit/makrofag melalui penghambatan p38 MAP kinase. Vitamin D telah ditemukan untuk bertindak sebagai mediator anti-inflamasi. Vitamin D tampaknya menurunkan produksi sitokin tipe 1 proinflamasi: IL-12, IL-6, IL-8, IFN-gamma, dan TNF-alpha; dan meningkatkan sitokin tipe 2 anti-inflamasi: IL-4, IL-5, dan IL-10. (Surdu et al., 2021). Vitamin D memberikan aksi imunomodulatornya melalui berbagai mekanisme. Vitamin D menurunkan regulasi nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B), faktor transkripsi yang terlibat dalam ekspresi gen inflamasi dalam limfosit, dan dapat menghambat aktivasinya dengan mengurangi ikatan DNA pada NF- κ B. Kalsitriol dapat memodulasi fenotipe sel T dengan down-regulasi Janus kinase (JAK) dan signaling signal transducer and activator of transcription (STAT), yang sangat penting untuk pengembangan sel T helper (Th) patogen, seperti sel Th1 dan Th17, gamma -delta ($\gamma\delta$) sel T, dan produksi sitokinnya. Selain itu, vitamin D dapat mempromosikan polarisasi sel Th2 anti-inflamasi dan T regulator (Treg), sehingga menghambat cedera yang disebabkan oleh Inflamasi. Vitamin D juga dapat mendorong pembentukan sel dendritik tolerogenik dan mencegah pelepasan sitokin pro-inflamasi dari monosit/makrofag melalui penghambatan p38 MAP kinase. Vitamin D juga dapat mengerahkan tindakan anti-inflamasi pada mikroglia dengan memfasilitasi diferensiasi M2 dan up-regulasi toll-like receptor (TLR) 10 yang bersifat anti-inflamasi (Kim et al., 2020). Kemungkinan modulasi respon inflamasi setelah stroke oleh mekanisme anti-inflamasi, termasuk vitamin D, penting karena hubungan langsung antara inflamasi dan kerusakan sekunder setelah stroke. Selain itu, vitamin D menginduksi perlindungan saraf dengan meningkatkan faktor neurotropik, seperti nerve growth factor (NGF), neurotrophin, dan glial

cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). Oleh karena itu, defisiensi vitamin D dapat memperburuk kehilangan sel saraf iskemik dengan mengurangi ketersediaan faktor pertumbuhan saraf.⁹ Bentuk aktif vitamin D dapat bertindak sebagai antioksidan membran, melindungi membran sel terhadap peroksidasi lipid yang diinduksi radikal bebas melalui interaksi dengan rantai samping asam lemak fosfolipid, untuk meningkatkan stabilisasi struktur membran. Terdapat bukti bahwa vitamin D bisa seefektif vitamin E, antioksidan larut lemak utama dalam makanan, dalam mengurangi peroksidasi lipid dan menginduksi aktivitas enzim *reactive oxygen species* (ROS), seperti superoksida dismutase (SOD). Vitamin D juga telah terbukti mengerahkan peran antioksidan oleh *down*-regulasi transkripsional NOX2 yang dimediasi VDR, sebuah isoform utama NADPH oksidase, dan peningkatan regulasi Nrf2, penginduksi utama respons antioksidan. Tindakan semacam ini konsisten dengan peningkatan regulasi biomarker kritis dari stres oksidatif, termasuk 8-hidroksi-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) yang diamati pada tikus *knockout* VDR



Gambar 2.5 Efek pleiotropik vitamin D pada jalur dan mekanisme *signaling* (A) anti-inflamasi dan (B) antioksidan.

II.3.5 Pemeriksaan Defisiensi Vitamin D

ESCP merekomendasikan skrining untuk defisiensi vitamin D pada individu yang berisiko dan bukan untuk pasien yang tidak berisiko. Serum yang beredar tingkat 25-hydroxyvitamin D [25(OH) D]

harus diukur untuk mengevaluasi status vitamin D pada pasien yang berisiko terkena Defisiensi vitamin D⁸.

Berikut adalah pemeriksaan yang bisa dilakukan untuk mengukur serum vitamin D dalam tubuh⁴⁹.

A. **25(OH) D Assay**

Uji pertama untuk 25(OH)D menggunakan format pengikatan protein kompetitif dengan protein pengikat vitamin D (DBP) sebagai pengikat. Keuntungan dari pengujian ini adalah bahwa DBP mengenali 25(OH)D2 secara merata serta 25(OH)D3. Keterbatasan utama dari pengujian ini adalah a pengujian diukur 25(OH)D dalam sampel serum yang mengandung metabolit vitamin D lainnya termasuk 24,25-dihydroxyvitamin D [24,25(OH)2D], 25,26-dihydroxyvitamin D dan 25,26-dihydroxyvitamin D -26, 23-lakton. Perkembangan dalam spektroskopi massa tandem kromatografi cair (LC-MS) diterapkan untuk pengukuran langsung 25(OH)D dalam serum manusia. Pengujian ini secara kuantitatif mengukur 25(OH)D2 dan 25(OH)D3.

B. **1,25 Dihydroxy Vitamin D Assay**

Awal 1,25(OH)2D diidentifikasi, pengujian menggunakan reseptor vitamin D usus ayam untuk uji pengikat protein. Selain itu, timus sapi juga merupakan sumber yang sangat baik untuk VDR dan uji protein pengikat kompetitif untuk 1, 25(OH)2D sehingga dikembangkan menggunakan VDR sapi sebagai protein pengikat. *Radioimmunoassays* kemudian dikembangkan untuk mengukur 1,25(OH)D. Uji Diasorin dilaporkan juga dapat mengukur 1,25(OH)D3 dan 1,25(OH)D2.

II.4 Pengaruh Vitamin D terhadap Sistem Syaraf Pusat

Diketahui secara luas bahwa reseptor vitamin D telah ditemukan di neuron dan sel glial, dan ekspresi tertinggi ditemukan di hippocampus, hipotalamus, talamus dan *grey nuclei* subkortikal, dan substansia nigra.

Vitamin D membantu pengaturan neurotrophin, diferensiasi saraf, dan pematangan, melalui kontrol sintesis faktor-faktor yang berkembang (yaitu, *neurological growth factor* [NGF], *glial cell line-derived neurological factor* (GDNF), pertukaran jalur septohippocampal, dan kontrol proses sintesis neuromodulator yang berbeda (seperti asetilkolin [Ach], dopamin [DA], dan gamma-aminobutyric [GABA])¹².

Efek neuroprotektif vitamin D dikaitkan dengan pengaruhnya terhadap produksi dan pelepasan neurotrofin, sintesis neuromediator, homeostasis kalsium intraseluler, dan pencegahan kerusakan oxidative pada jaringan saraf. Selain itu, vitamin D telah terbukti secara signifikan meningkatkan tingkat pertumbuhan neurit ketika ditambahkan ke eksplan hippocampal. Substansi 1,25-(OH)₂ D₃ adalah faktor penting yang memodifikasi sintesis neuromediator seperti asetilkolin melalui peningkatan ekspresi gen enzim Cholin asetiltransferase (CAT). Vitamin D juga telah ditemukan untuk mempengaruhi ekspresi gen yang terkait dengan *GABA-ergic neurotransmission* dan untuk merangsang ekspresi tirosin hidroksilase (TH), bertanggung jawab untuk biosintesis katekolin⁹.

II.5 RASIO NEUTROFIL LIMFOSIT

Rasio Neutrofil Limfosit (RNL) merupakan refleksi dari sistem imun innate (neutrofil) dan adaptif (limfosit). RNL dinilai dengan membagi absolute neutrophil count dengan absolute lymphocyte count, parameter yang dapat diperoleh dari pemeriksaan darah rutin. Hal ini menjadikan RNL sebagai marker inflamasi sistemik dan disfungsi endotel yang relatif mudah didapat, non-invasif, dan tidak mahal.

II.5.1 Peran Neutrofil pada Tromboinflamasi

Neutrofil telah lama dikenal sebagai bagian dari sistem imun innate, yang merupakan lini pertama pertahanan tubuh dan merupakan salah satu sel imun yang pertama kali tiba di tempat infeksi atau cedera iskemia. Untuk menjalankan fungsinya, neutrofil dilengkapi oleh berbagai senjata kimia, termasuk *reactive oxygen species (ROS)*, vesikel yang mengandung protease, biomolekul antibakteria dan *neutrophil extracellular trap*. Senjata kimia ini juga dapat bekerja pada sel normal, dan apabila tidak diregulasi

dengan baik, akan menimbulkan cedera kolateral. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa neutrofil tidak hanya berperan dalam imunitas innate, namun juga pada imunitas adaptif setelah stroke.¹⁸

Cedera iskemia akan melepaskan sitokin, kemokin, dan DAMP yang menyebabkan aktivasi mikroglia. Aktivasi mikroglia kemudian menginduksi ekspresi faktor inflamasi seperti TNF- α dan IL-6, yang kemudian akan mengaktifkan platelet, sel endotel, dan sel imun lain termasuk neutrofil. Neutrofil merupakan salah satu sel imun yang pertama kali merespon cedera iskemia.¹⁸

Aktivasi endotel kemudian akan diikuti presentasi molekul adhesi pada dinding pembuluh darah dan mencetuskan infiltrasi sistem imun sistemik ke jaringan otak iskemia melalui kemokin. Neutrofil kemudian akan mengalami kemoatraksi, adhesi, dan diapedesis (migrasi) melalui sawar darah otak menuju parenkim otak yang mengalami iskemia. Protein yang berperan dalam proses atraksi dan infiltrasi neutrofil antara lain Selectin, ICAM-1, VCAM-1, LFA-1, Mac-1, dan VLA-4. (Strecker et al., 2016) Meskipun aktivitas fagosit neutrofil dapat membantu menyingkirkan debris nekrotik dan merangsang pemulihan jaringan, namun sifat neutrofil yang destruktif dapat menyebabkan kerusakan jaringan otak kolateral, disrupsi sawar darah otak lebih lanjut, dan edema serebri.¹⁹

Di parenkim otak, neutrofil akan mengeluarkan berbagai kemokin, enzim, ROS, dan RNS yang akan memfasilitasi inflamasi lebih lanjut dan menyebabkan neurotoksisitas. (De Meyer et al., 2016; Strecker et al., 2016) Neutrofil juga akan mensekresi protease, seperti *Matrix Metalloprotein 9* (MMP-9) dan menghasilkan *neutrophil extracellular trap (NET)* yang semakin merusak sawar darah otak.¹⁸

Proses inflamasi yang timbul tidak hanya bersifat lokal, namun menginduksi proses inflamasi sistemik dan peningkatan neutrofil di sirkulasi. Penelitian pada tikus menunjukkan bahwa respon inflamasi perifer mencapai puncak pada 4 jam setelah onset stroke, mendahului inflamasi di otak yang terjadi 24 jam setelah iskemia. Perbedaan waktu ini menunjukkan bahwa terjadi migrasi neutrofil di perifer, terutama di *bone marrow* dan limpa menuju tempat inflamasi di otak.¹⁸

II.5.2 RNL pada stroke iskemik

RNL sebagai parameter inflamasi diduga dapat menggambarkan proses tromboinflamasi yang dapat mengaugmentasi cedera otak pada stroke iskemik. Seperti dibahas sebelumnya, iskemia akan mengaktifkan mikroglia, yang kemudian mengaktifkan kaskade proses yang menyebabkan respon inflamasi sistemik maupun lokal. Neutrofil merupakan salah satu sel yang pertama kali menginfiltrasi otak (30 menit-hingga beberapa jam, mencapai puncak pada 24-72 jam) dan mengalami peningkatan pada awal fase stroke. Peningkatan neutrofil berkaitan dengan cedera sel otak lebih lanjut, karena neutrofil akan mengeluarkan enzim, kemokin dan ROS/RNS yang bersifat neurotoksik. Usia neutrofil berkisar 5 hari, namun pada daerah inflamasi dapat berkurang hingga 24-48 jam.)²⁰

Pada fase akut stroke, selain aktivasi respon inflamasi, terjadi refleksi immunosupresi sistemik, yang dimediasi oleh pelepasan glukokortikoid oleh aksis hipotalamus-pituitary-adrenal (HPA) aksis. Respon ini berguna untuk membatasi kerusakan akibat inflamasi sentral yang berlebihan. Respon ini dapat menyebabkan penurunan limfosit, terutama sel T dan *natural killer cell*. Ketidakseimbangan antara inflamasi sentral yang dicetuskan akibat stroke dan immunosupresi inflamasi perifer tersebut yang diduga berkaitan dengan peningkatan RNL.²⁰

Sekitar 30% pasien stroke iskemik akut akan mengalami stroke induced immunodepression syndrome (SIID). SIID diduga merupakan respon adaptif untuk membatasi inflamasi yang diinduksi iskemia di otak, namun hal tersebut juga dapat menyebabkan kerentanan terhadap infeksi sistemik, yang ditandai dengan limfositopenia.¹⁶ Proses ini ditemukan pada tikus coba model stroke pada 12 jam onset dan bertahan hingga beberapa minggu.¹¹

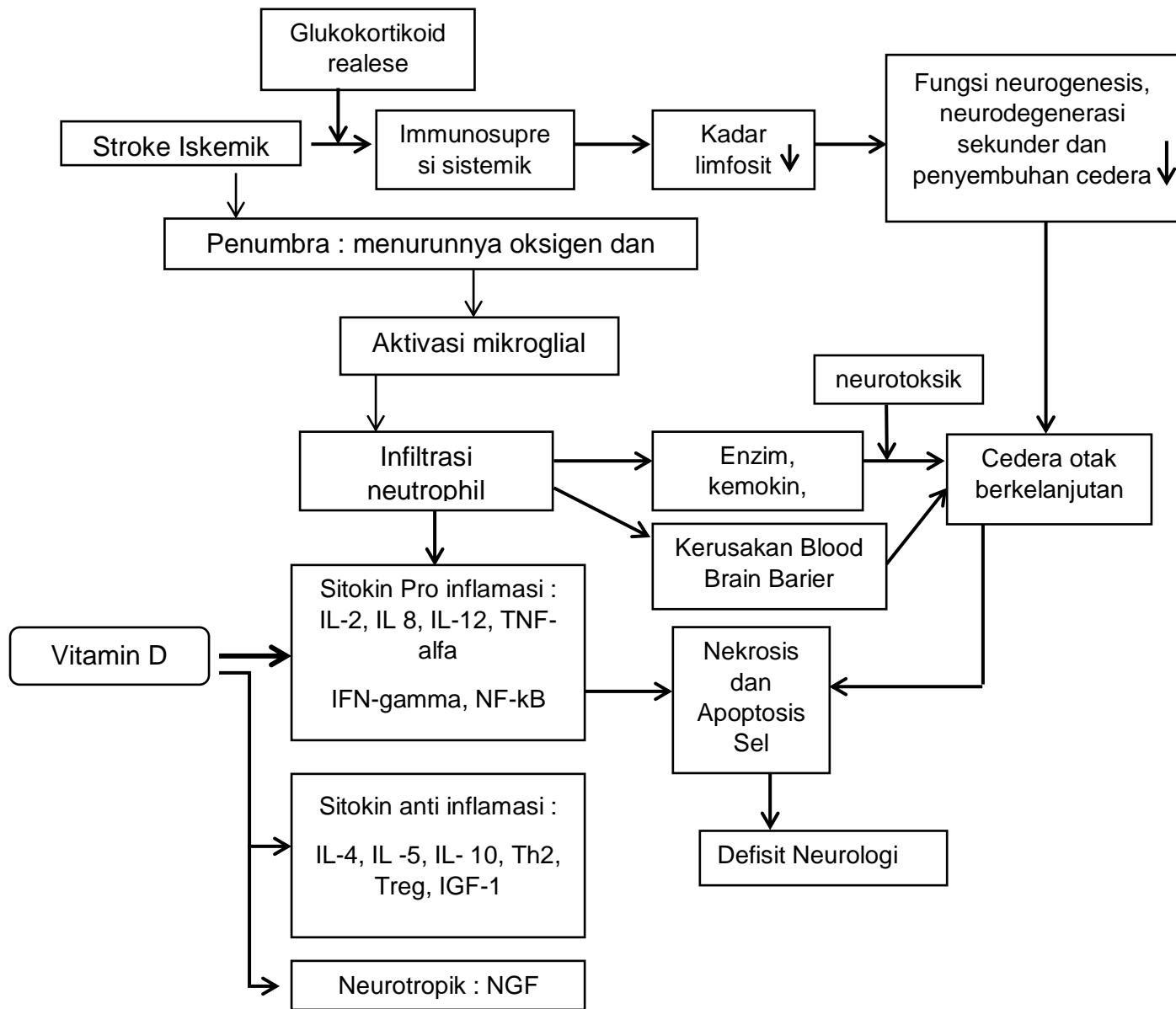
RNL telah diketahui memiliki nilai prognostik pada penyakit kardiovaskular dan kanker. Peran RNL pada kasus stroke telah dibuktikan pada beberapa penelitian. Peningkatan RNL berhubungan dengan luaran klinis yang lebih buruk pada 3 bulan, mortalitas, dan rekurensi stroke. Nilai normal RNL bervariasi pada berbagai penelitian, namun di Amerika Serikat, nilai RNL cenderung lebih tinggi dibandingkan di Asia, menandakan peran

genetik terhadap RNL. Rerata nilai RNL pada ras kaukasia di Amerika Serikat adalah 2,24, sedangkan pada ras kulit hitam adalah 1,76. Di Asia, rerata RNL di Korea Selatan adalah 1,65, sedangkan di China 1,72.²³

Faktor lain yang dapat mempengaruhi nilai RNL adalah jenis kelamin . Pada beberapa penelitian, RNL ditemukan lebih tinggi pada perempuan. Perbedaan ini disebabkan oleh pengaruh estrogen yang menghambat apoptosis neutrofil. Usia juga memiliki pengaruh terhadap RNL melalui estrogen. Pasien perempuan yang mengalami menopause cenderung memiliki RNL yang lebih rendah.²³

KERANGKA PENELITIAN

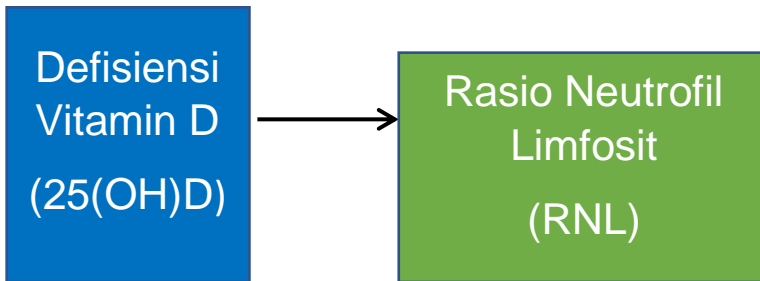
II.6 Kerangka Teori



Gambar 2.6 Kerangka Teori

KERANGKA KONSEPTUAL

II.7 Kerangka Konseptual



Gambar 2.7 Kerangka Konseptual