

**PENGARUH PEMBERIAN MLC 901 TERHADAP EKSPRESI mRNA
BDNF, KADAR BDNF, KADAR TNF- α DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGIS OTAK PADA TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG
MENGALAMI CEDERA OTAK TRAUMATIK**

ROHADI



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**PENGARUH PEMBERIAN MLC 901 TERHADAP EKSPRESI
mRNA BDNF, KADAR BDNF, KADAR TNF- α DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGIS OTAK PADA TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*
YANG MENGALAMI CEDERA OTAK TRAUMATIK**

ROHADI



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

DISERTASI

PENGARUH PEMBERIAN MLC 901 TERHADAP EKSPRESI mRNA BDNF, KADAR BDNF, KADAR TNF-A DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGIS OTAK PADA TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG MENGALAMI CEDERA OTAK TRAUMATIK

Disusun dan diajukan oleh


Rohadi
C013181012

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi
pada tanggal 28 Desember 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasehat,



Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS-FICS
Promotor

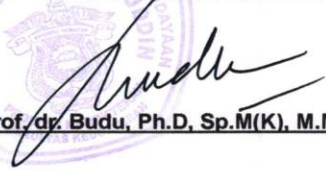

Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
Ko-Promotor


dr. Aqussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK(K)
Ko-Promotor

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin


dr. Aqussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)


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

ABSTRAK

ROHADI. *Karakteristik dan hasil Klinis Cedera Otak Traumatik di Lombok Nusa Tenggara Barat, Indonesia* (dibimbing oleh Andi Asadul Islam, Mochammad Hatta dan Agussalim Bukhari).

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi klinis yang dapat memberikan informasi tentang hasil prediksi dengan menentukan klasifikasi TBI berdasarkan kriteria morfologi CT-Scan hasil klasifikasi Marshall. Cedera otak traumatik meningkat tajam terutama akibat meningkatnya penggunaan kendaraan bermotor di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah. Kecelakaan lalu lintas merupakan penyebab utama cedera otak traumatik (60%) diikuti oleh jatuh (20%-25%) dan kekerasan (10%). *Computed tomography Scan* (CT-Scan) direkomendasikan untuk penilaian awal dalam layanan darurat. CT- scan tidak hanya memberikan informasi dan diagnosis untuk mengidentifikasi kebutuhan pembedahan, tetapi juga membantu dalam mengevaluasi pasien dan *outcome*.

Metode penelitian yang digunakan adalah retrospektif dilakukan dengan menggunakan data rekam medik pasien bedah saraf yang memenuhi kriteria inklusi di RSUD Provinsi Nusa Tenggara Barat tahun 2015 sd 2017. Besar sampel ditentukan dengan metode *concecutive sampling*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa besar sampel 209 pasien. Penderita pria lebih banyak dibandingkan dengan wanita (78,95%). Kelompok umur tertinggi 21- 30 tahun (21,53%) dengan rata-rata umur 31,66 tahun. GCS median awal adalah 10 poin. Penyebab terbanyak adalah kecelakaan kendaraan bermotor dengan 176 kasus (84,21%). Angka kematian tertinggi ditemukan pada kelompok cedera otak berat dengan 31 pasien (14,83%). Durasi pengobatan rata-rata adalah 7,58 hari. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan ada hubungan yang bermakna antara umur, nilai awal GCS angka kematian, dan lama rawat pasien TBI dengan prediksi *outcome* berdasarkan klasifikasi CT-Scan oleh Marshall.

Kata kunci: Cedera Otak Taumatik, Faktor Prediksi Hasil Cedera Otak, Klasifikasi CT-Scan Marshall.



ABSTRACT

ROHADI. *Characteristics and Clinical Outcome of Traumatic Brain Injury in Lombok, West Nusa Tenggara, Indonesia* (Supervised by **Andi Asadul Islam, Mochammad Hatta, and Agussalim Bukhari**)

The purpose of this study is for a clinical evaluation that can provide information about the predictive results by determining the TBI classification based on morphological criteria, CT results from the Marshal classification. Traumatic brain injury is increasing sharply, mainly due to increased motorized vehicle use in low- and middle- income countries. Traffic accidents are the leading cause of traumatic brain injury (60%) followed by falls (20%-25%), and violence (10%). A computed tomography scan (CT scan) is recommend for initial assessment in emergency services. It does not only provide information and diagnosis to identify the need for surgery, but also helps in evaluating the patient and outcome.

A retrospective study was conducted using medical record data of neurosurgery patients who met the inclusion criteria in West Nusa Tenggara General Hospital in 2015 until 2017. The sample size was determined by consecutive sampling method.

The results show that sample sizes are 209 patients. Male patients are more common then female (78.95%). The highest age group is at 21-30 years (21.53%) with average age is 31.66 years old. The initial median GCS is 10 points. The most common cause is motor vehicle accidents (MVA) with 176 cases (84.21%). The highest mortality rate is found in the severe brain injury group with 31 patients (14.83%). Average duration of treatment are 7.58 days. So it is concluded that there are significant relationship among age, initial GCS value, mortality rate, and length of stay for TBI patients with outcome prediction based on CT Marshal classification.

Keywords: Traumatic brain injury, outcome prediction factors of TBI, CT Marshall Classification





KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rohadi
NIM : C013181012
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

PENGARUH PEMBERIAN MLC 901 TERHADAP EKSPRESI mRNA BDNF, KADAR BDNF, KADAR TNF- α DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGIS OTAK PADA TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG MENGALAMI CEDERA OTAK TRAUMATIK

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 8 Januari 2021

Yang menyatakan,



Rohadi

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS/DISERTASI

Yang bertandatangan di bawah ini.

Nama : Rohadi
Nomor mahasiswa : C013181012
:
Program Studi : S3 Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis/disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis/disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, 04 Januari 2021

Yang menyatakan



Rohadi

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa dengan selesainya disertasi ini.

Gagasan yang melatari tajuk penelitian ini timbul dari hasil pengamatan penulis terhadap penanganan cedera otak traumatik dalam keseharian praktek sebagai dokter bedah saraf dan efek MLC901 yang luar biasa pada kasus Cedera otak traumatik. Penulis bermaksud menyumbangkan beberapa konsep untuk mengangkat topik tentang bagaimana peran MLC 901 dalam terapi cedera otak traumatic dalam proses neuroproteksi dan neuroregenerasi.

Banyak kendala yang dihadapi oleh penulis dalam rangka penyusunan disertasi ini, yang hanya berkat bantuan berbagai pihak, maka disertasi ini selesai pada waktunya. Dalam kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih kepada semua pembimbing kami baik promotor maupun Co-Promotor I dan Co-Promotor-II serta dewan penguji atas bantuan dan bimbingan yang telah diberikan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, pelaksanaan penelitiannya sampai dengan penulisan disertasi ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada tim laboratorium Biologi Molekular dan Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanudin dan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah banyak membantu dalam rangka pengumpulan data dan informasi, serta kepada orang tua kami, istri, saudara kami, teman sejawat kami dan yang terakhir ucapan terima kasih juga disampaikan kepada mereka yang namanya tidak tercantum tetapi telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan disertasi ini.

Makassar, 04 Januari 2021

Rohadi

ABSTRAK

ROHADI. *Pengaruh Pemberian MLC 901 Terhadap Ekspresi mRNA BDNF, Kadar BDNF, Kadar TNF- α dan Gambaran Histopatologis Otak Pada Tikus Sprague Dawley Yang Mengalami Cedera Otak Traumatik.* (dibimbing oleh Andi Asadul Islam, Mochammad Hatta dan Agussalim Bukhari)

Penelitian ini bertujuan mengetahui (1) kadar brain derived neurotrophic factor (BDNF) plasma pada tikus sprague dawley sebelum mengalami cedera otak traumatik, (2) ekspresi mRNA brain derived neurotrophic factor (mRNA BDNF) pada tikus sprague dawley sebelum mengalami cedera otak traumatik, (3) kadar tumor necrosis factor alpha (TNF- α) plasma pada tikus sprague dawley sebelum mengalami cedera otak traumatik, (4) pengaruh pemberian MLC901 terhadap kadar brain derived neurotrophic factor (BDNF) plasma pada cedera otak traumatik di tikus sprague dawley, (5) pengaruh pemberian MLC901 terhadap ekspresi mRNA brain derived neurotrophic factor (mRNA BDNF) pada cedera otak traumatik di tikus sprague dawley, (6) pengaruh pemberian MLC901 terhadap kadar tumor necrosis factor alpha (TNF- α) plasma pada cedera otak traumatik di tikus sprague dawley, (7) pengaruh pemberian MLC901 terhadap gambaran histopatologis otak tikus sprague dawley yang mengalami cedera otak traumatik, (8) hubungan antara pemberian MLC901 terhadap ekspresi mRNA brain derived neurotrophic factor (BDNF), kadar brain Derived neurotrophic factor (BDNF), kadar tumor necrosis factor alpha (TNF- α) plasma dan gambaran histopatologis otak pada tikus sprague dawley yang mengalami cedera otak traumatik.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hewanbagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah studi eksperimental. Pengambilan sampel dilakukan secara acak pada 10 hewan coba yang terbagi menjadi 2 kelompok perlakuan. Data dianalisis dengan menggunakan analisis statistik melalui uji komparatif dilanjutkan dengan uji korelasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara signifikan pemberian MLC 901 meningkatkan kadar brain derived neurotrophic factor, mRNA brain derived neurotrophic factor, kadar tumor necrosis factor alpha, dan meningkatkan neurogenesis pada gambaran histopatologi jaringan otak tikus. Terdapat hubungan yang kuat antara peningkatan kadar brain derived neurotrophic factor, mRNA brain derived neurotrophic factor, dan kadar tumor necrosis factor alpha dengan neurogenesis.

ABSTRACT

ROHADI. *The Effect of MLC 901 on BDNF mRNA Expression, BDNF Levels, TNF- α Levels and Brain Histopathological Features in Sprague Dawley Rats with Traumatic Brain Injury* (supervised by Andi Asadul Islam, Mochammad Hatta and Agussalim Bukhari)

This study aims to determine (1) plasma brain derived neurotrophic factor (BDNF) levels in Sprague Dawley mice before experiencing traumatic brain injury, (2) brain-derived neurotrophic factor (mRNA BDNF) mRNA expression in sprague dawley mice before traumatic brain injury, (2) tumor necrosis factor alpha (TNF- α) levels in Sprague Dawley mice before traumatic brain injury, (4) the effect of MLC901 on brain derived neurotrophic factor (BDNF) levels in traumatic brain injury in Sprague Dawley rats, (5) the effect of MLC901 on the expression of mRNA brain derived neurotrophic factor (BDNF mRNA) in traumatic brain injury in Sprague Dawley rats, (6) the effect of MLC901 on tumor necrosis factor alpha (TNF- α) levels in traumatic brain injury in sprague rats dawley, (7) the effect of MLC901 on the histopathological picture of the brain of Sprague Dawley rats who had traumatic brain injury, (8) the relationship between a administration of MLC901 on brain derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA expression, brain derived neurotrophic factor (BDNF) levels, plasma tumor necrosis factor alpha (TNF- α) levels and brain histopathological features in Sprague Dawley rats with traumatic brain injury.

This research was conducted at the Veterinary Laboratory of the MicrobiologyMedical Faculty of Hasanuddin University, Makassar. The method used in this research is an experimental study. Sampling was carried out randomly on 10 experimental animals which were divided into 2 treatment groups. Data were analyzed using statistical analysis through a comparative test and correlation test.

The results showed that MLC 901 significantly increased levels of brain derived neurotrophic factor, brain derived neurotrophic factor mRNA, levels of tumor necrosis factor alpha, and increased neurogenesis in the histopathological brain tissue on rat. There is a strong relationship between increased levels of brain derived neurotrophic factor, brain derived neurotrophic factor mRNA, and levels of tumor necrosis factor alpha with neurogenesis.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN/SIMBOL	xii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian	10
1.3.1 Tujuan Umum	10
1.3.2 Tujuan Khusus	10
1.4 Manfaat Penelitian	12
1.4.1 Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu	12
1.4.2 Manfaat Aplikasi	12
II. TINJAUAN PUSTAKA	13
2.1 Definisi Cedera Otak	14
2.2 Pembagian Cedera Otak	15
2.2.1 Berdasarkan Mekanisme Trauma	15
2.2.2 Berdasarkan Derajat Cedera	15

2.2.3 Berdasarkan Morfologi	18
2.2.4 Berdasarkan Waktu Terjadinya	19
2.3 Klasifikasi Cedera Otak	19
2.4 Patofisiologi Cedera Otak	21
2.4.1 Cedera Otak Primer	21
2.4.2 Cedera Otak Sekunder	24
2.5 Patofisiologi Iskemia Otak	33
2.6 Respon Imunitas Terhadap Cedera Otak	40
2.7 Keterlibatan Jenis-Jenis Sel Imun Pada Cedera Otak	42
2.7.1 Neutrofil	42
2.7.2 Makrofag dan Makrogliia	45
2.7.3 Sel T	51
2.8 Mediator Inflamasi pada Cedera Otak Traumatik	53
2.8.1 Interleukin-1	53
2.8.2 Interleukin-6	60
2.8.3 Tumor Necrosis Factor α	62
2.8.4 Neuroplastisitas dan Neurorepair	67
2.8.5 Perubahan Fungsional	70
2.9 Tatalaksana Cedera Otak	73
2.10 Neuroproteksi	74
2.11 Neurogeneis	76
2.11.1 Zona Subventrikular	76
2.11.2 Zona Sugranular Hipokampus	77

2.12 Neurorepair	78
2.13 Biomarker Cedera Otak	80
2.14 BDNF	85
2.14.1 Sintesis BDNF	92
2.14.2 Jalur Signaling BDNF	94
2.14.3 Kadar Plasma BDNF	95
2.14.4 Fungsi BDNF	97
2.15 Neuroaid II (MLC901)	101
III. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	112
3.1 Kerangka Teori	112
3.2 Kerangka Konsep Penelitian	118
3.3 Hipotesis Penelitian	118
IV. METODE PENELITIAN	119
4.1 Rancangan Penelitian	119
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	120
4.1.1 Lokasi Penelitian	120
4.1.2 Waktu Penelitian	120
4.3 Populasi dan Sampel Penelitian	120
4.3.1 Populasi Penelitian	120
4.3.2 Sampel Penelitian	121
4.4 Variabel Penelitian	121
4.4.1 Variabel Bebas	121
4.4.2 Variabel Tergantug	121
4.4.3 Variabel Antara	121

4.4.3 Variabel Kendali	122
4.5 Cara Kerja dan Alur Penelitian	122
4.5.1 Kelompok Penelitian	122
4.5.2 Alur Penelitian	125
4.5.3 Keterangan Alur Penelitian	126
4.6 Definisi Operasional	130
4.7 Metode Pemeriksaan dan Pewarnaan	131
4.8 Pemeriksaan Kadar Plasma BDN, TNF- α dg ELISA	134
4.9 Prosedur Pemeriksaan Ekspresi mRNA BDNF	136
4.10 Cara Kerja Realtime PCR Untuk Menentukan Profil Ekspresi mRNA Gen Target	137
4.11 Etika Penelitian	138
4.12 Jenis dan Pengumpulan Data	139
4.13 Jadwal Kegiatan	139
4.14 Analisa Data	139
V. HASIL	141
5.1 Efek Pemberian MLC 901 Terhadap Kadar BDNF pada Hewan Coba Tikus dengan Cedera Otak	141
5.2 Efek MLC 901 Terhadap Ekspresi mRNA BDNF pada Hewan Coba Tikus dengan Cedera Otak	143
5.3 Efek MLC 901 Terhadap Kadar TNF- α pada Hewan Coba Tikus dengan Cedera Otak	145
5.4 Efek MLC 901 Terhadap Neurogenesis pada Hewan Coba Tikus dengan Cedera Otak	148

5.5 Korelasi antara Ekspresi <i>Synaptophysin</i> dengan kadar BDNF ekspresi mRNA BDNF dan kadar TNF- α dengan setelah 6 minggu Pemberian MLC 901	149
5.6 Efek MLC901 Pada 30 Menit Setelah Perlakuan Dibandingkan Dengan Sebelum Perlakuan	151
VI. PEMBAHASAN	153
6.1 Efek Pemberian MLC 901 Terhadap Kadar BDNF pada Hewan Coba Tikus dengan Cedera Otak	153
6.2 Efek MLC 901 Terhadap Ekspresi mRNA BDNF pada Hewan Coba Tikus dengan Cedera Otak	154
6.3 Efek MLC 901 Terhadap Kadar TNF- α pada Hewan Coba Tikus dengan Cedera Otak	155
6.4 Efek MLC 901 Terhadap Neurogenesis pada Hewan Coba Tikus dengan Cedera Otak	157
6.5 Korelasi antara Ekspresi <i>Synaptophysin</i> dengan kadar BDNF plasma, ekspresi mRNA BDNF dan kadar TNF- α plasma setelah 6 minggu Pemberian MLC 901	158
VII. KESIMPULAN DAN SARAN	161
7.1 Kesimpulan	161
7.2 Saran	161
DAFTAR PUSTAKA	162
LAMPIRAN	177

DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Mekanisme Trauma	15
2. Glasgow Coma Scale	16
3. Skor Reaksi Pupil	17
4. Derajat Cedera Otak	18
5. Morfologi Cedera Otak	18
6. Klasifikasi Cedera Otak Difus Berdasarkan CT Scan	20
7. Cedera Otak Primer	22
8. Penyebab Ekstrakranial dan Intrakranial Cedera Otak Sekunder	26
9. Mediator Imunitas	38
10. Penelitian yang relevan terhadap <i>cytokine</i> TNF sebagai biomarker cedera otak traumatik	66
11. Prospektif Biomarker Cedera Otak Pada Fase Akut dan Fase Kronis	82
12. Penelitian yang relevan terhadap BDNF sebagai biomarker cedera otak traumatik	100
13. Penelitian yang relevan terhadap MLC 901 pada kasus cedera otak	110
14. Jenis dan Cara Pengumpulan Data	139
15. Jadwal Kegiatan	139
16. Efek MLC 901 Terhadap Kadar BDNF Pada Hewan Coba Tikus Dengan Cedera Otak	142
17. Uji T-test Independent terhadap kadar BDNF pada hewan coba tikus dengan cedera otak	142

18. Efek MLC 901 Terhadap Ekspresi mRNA BDNF pada hewan coba tikus dengan cedera otak	144
19. Uji T-test Independent terhadap kadar mRNA BDNF pada hewan coba tikus dengan cedera otak	144
20. Efek MLC 901 Terhadap Kadar TNF- α pada hewan coba tikus dengan cedera otak	146
21. Uji T-test Independent terhadap kadar TNF alpha pada hewan coba tikus dengan cedera otak	147
22. Efek MLC 901 terhadap Neurogenesis dengan ekspresi <i>Synaptophysin</i> pada hewan coba tikus dengan cedera otak	148
23. Uji Korelasi antara Neurogenesis (Ekspresi <i>Synaptophysin</i>) dengan kadar BDNF, ekspresi mRNA BDNF dan kadar TNF- α setelah 6 minggu pemberian MLC 901	150
24. Tabel Efek MLC 901 pada 30 menit setelah perlakuan dibandingkan dengan sebelum perlakuan	152

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Skematik Proses Cedera Otak	30
2. Urutan Peristiwa yang Terjadi Pada Cedera Otak	34
3. Peran Sistem Imun pada Cedera Otak	37
4. Skema Perkembangan dan konsekuensi sistem imunitas otak	41
5. Timeline Respon Imun Terhadap Cedera Otak Traumatik	42
6. Prospective Biomarkers Cedera Otak Traumatik	85
7. Sintesis BDNF	93
8. Jalur Signaling BDNF	95
9. Target BDNF dalam Neurogenerasi	98
10. Efek Neuroproteksi MLC 901	102
11. Efek Neurogenerasi MLC 901	103
12. Efek MLC 901 Meningkatkan BDNF pada Hewan Coba	104
13. Kerangka Teori Penelitian	112
14. Kerangka Konsep Penelitian	118
14. Skema Rancangan Penelitian	119
15. Skematik Alat Cedera Otak	124
16. Alur Penelitian	125
17. Cara Perlakuan Cedera Otak	129
18. Kadar BDNF pada Tikus Coba dengan dan Tanpa Pemberian MLC 901 Berdasarkan Waktu	143
19. Kadar Ekspresi mRNA BDNF pada Tikus Coba dengan dan Tanpa Pemberian MLC 901 berdasarkan waktu perlakuan	14

20. Kadar TNF- α pada Tikus Coba dengan dan Tanpa Pemberian MLC 901 berdasarkan waktu perlakuan	147
21. Ekspresi synaptophysin Neuron (Neurogenesis) pada tikus dengan dan tanpa pemberian MLC 901	148
22. Gambaran Immunohistokimia Jaringan Otak Tikus	149
23. Analisa jalur antara Neurogenesis dengan kadar BDNF, ekspresi mRNA BDNF dan kadar TNF- α setelah 6 minggu	150

DAFTAR LAMPIRAN

nomor	halaman
1. Persetujuan Etik	162
2. Foto Kegiatan	163
3. Hasil Pengolahan Data Penelitian Menggunakan SPSS	165
4. Gambaran Histopatologi	178

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/ singkatan	Arti dan keterangan
α	: Alpha
ATP	: Adenosin Tri Phosphate
BBB	: Blood Brain Barrier
BDNF	: Brain Derived Neurotrophic Factor
BWC	: Brain Water Content
CBV	: Cerebral Blood Volume
CCP	: Cortical Controlled Impact
CMR	: Cerebral Metabolic Rate
COB	: Cedera Otak Berat
COP	: Cedera Otak Primer
COS	: Cedera Otak Sekunder
CPP	: Cerebral Perfusion Pressure
CBF	: Cerebral Blood Flow
CSF	: Cerebro Spinal Fluid
CNS	: Central Nervus System
CO	: Cedera Otak
CT Scan	: Computerized Tomography Scanning
CVP	: Central Venous Pressure
CVR	: Cerebro Vascular Resintance
DAI	: Diffuse Axonal Injury
DAMPS	: Damage-associated Molecular Patterns

DC	: Dendritic Cell
EAA	: Excitatory Amino Acid
GCS	: Glasgow Coma Scale
ICP	: Intracranial Pressure
IL	: Interleukin
IRD	: Instalasi Rawat Darurat
LCS	: Liquor Cerebro Spinalis
MAP	: Mean Arterial Pressure
MLC 901	: Neuroaid II
mRNA	: Messenger Ribonucleic Acid
NK	: Natural Killer
NE	: Neutrofil Elastase
PAF	: Platelet Activating Factor
ROS	: Reactive Oxygen Species
PPRS	: Pattern Recognition Receptors
SDO	: Sawar Darah Otak
SSP	: Sistem Saraf Pusat
TIK	: Tekanan Intrakranial
TIB	: Traumatic Brain Injury
TNF	: Tumor Necrosis Factor

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Cedera otak hingga saat ini masih merupakan masalah kesehatan yang sangat serius di seluruh dunia dengan insidensi yang semakin meningkat. Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya di bidang industri dan transportasi terutama di kota besar yang tidak disertai dengan perbaikan disiplin dan kepatuhan penduduk dalam beraktivitas dalam lingkungan pekerjaan dan di jalan raya merupakan salah satu faktor penyebab meningkatnya angka kecelakaan yang mengakibatkan terjadinya cedera otak. Penyebab cedera otak terbanyak adalah 45% akibat kecelakaan lalu lintas, 30% akibat terjatuh, 10% kecelakaan dalam pekerjaan, 10% kecelakaan saat rekreasi, 5% akibat diserang dan dipukuli. Cedera otak lebih sering mengenai laki-laki dibandingkan perempuan dengan usia penderita terbanyak antara 15-34 tahun (Dawodu ST, 2007).

Seseorang yang mengalami cedera otak sering mengalami permasalahan neuropsikologis dan masalah lain terutama yang berkaitan dengan ketidak mampuan mereka dalam aktivitas pekerjaan dan sosial. Hampir 100% penderita cedera otak berat dan 66% cedera otak sedang, menyebabkan kecacatan permanen dan tidak akan kembali ke tingkat fungsi awal.

Cedera otak di Amerika Serikat sekitar 1,4 juta per tahun, 235.000 dirawat di rumah sakit, 50.000 meninggal dan 1,1 juta dirawat dan keluar dari unit gawat darurat. Sekitar 90.000 meninggalkan kecacatan permanen setiap tahunnya. Sekitar 439.000 dirawat di ruang psikiatri, dan 89.000 menjalani rawat jalan (Dawodu ST, 2007). Selain menyebabkan kematian, menurunkan produktivitas dan kecacatan yang permanent, biaya yang diakibatkan cedera otak ternyata sangat mengejutkan. Di Amerika Serikat, biaya perawatan langsung untuk cedera otak diperkirakan lebih dari \$ 25 milyar pertahunnya (Dawodu ST, 2007). Dari data pasien cedera otak yang datang ke RSUD Dr. Soetomo sejak tahun Januari 2002 hingga Desember 2006, didapatkan data berikut ini:

1. Angka kematian pada semua tingkat keparahan cedera otak berkisar antara 6,171 % hingga 11,22 %. Angka ini lebih tinggi dibandingkan dengan standar literatur internasional, yaitu berkisar antara 3-8 %.
2. Berdasarkan tingkat keparahannya, mortalitas pasien cedera otak berat masih tinggi, berkisar antara 25,13% hingga 37,14%, dengan kecenderungan menurun. Angka ini relatif tinggi dibanding dengan literatur yaitu sekitar 22 %.
3. Angka operasi berkisar antara 18,87% sampai 25,27% dari seluruh pasien cedera otak yang datang ke IRD.

Tingginya morbiditas dan mortalitas pada penderita cedera otak di RSUD Dr. Soetomo menunjukkan bahwa cedera otak memerlukan penanganan yang sangat komprehensif, meliputi *prehospital care* dan

hospital care yang merupakan faktor yang sangat penting untuk dibenahi dan ditingkatkan dalam rangka menurunkan terjadinya morbiditas dan mortalitas (Wahyuhadi J. *et al.*, 2007) .

Cedera otak dapat dibagi menjadi dua kategori yaitu cedera otak primer yang terjadi pada saat trauma dan cedera otak sekunder yang terjadi segera setelah trauma dan menimbulkan efek yang berlanjut (Dawodu ST, 2007). Pada cedera otak berat, terjadinya cedera otak primer (mekanis) seringkali disertai cedera otak sekunder (non mekanis). Sering terjadi kesalahan konsep pada cedera otak berat yaitu kondisi akhir penderita tergantung pada beratnya cedera otak primer yaitu kerusakan neuron yang terjadi pada saat trauma. Bukti-bukti yang ada menunjukkan bahwa proses patofisiologi cedera otak sekunder juga berperan pada disfungsi neurologist dan matinya sel neuron (Smith, 1996). Faktor utama penyebab cedera otak sekunder bisa berasal dari intrakranial atau dari ekstrakranial (sistemik). Faktor intrakranial antara lain: peningkatan tekanan intrakranial akibat herniasi otak, lesi massa (hematoma), edema serebri dan hidrosefalus, infeksi seperti pada meningitis dan ventrikulitis, kejang, vasospasme dan bendungan sistem pembuluh darah yang mengakibatkan hipoksia dan iskemia. Sedangkan faktor sistemik antara lain: hipoksemia, hipotensi, hiperkapnia, hipokapnia, hipertermia, hipoglikemia, hiperglikemia, hiponatremia, dan hipoproteinemia. Hipoksia dan hipotensi bisa terjadi di saat kejadian trauma atau selama perjalanan menuju rumah sakit.

Strategi penatalaksanaan cedera otak mencakup tiga hal: manajemen terhadap cedera otak primer, pencegahan cedera otak sekunder dan fasilitasi metabolisme yang optimal. Salah satu tindakan yang dapat dilakukan dalam usaha mencegah terjadinya cedera otak sekunder adalah melindungi sel-sel otak dengan pemberian obat yang bersifat neuroprotektan. Strategi neuroproteksi dapat dilakukan dengan pendekatan dasar sebagai berikut : mempertahankan perfusi otak, sehingga menjamin terpenuhinya kebutuhan otak akan bahan metabolik, berbagai metode fisik maupun farmakologik yang bertujuan menurunkan metabolisme otak dan menghambat pengeluaran mediator-mediator selama terjadi jejas (*injury*) pada otak. Selain itu pengobatan neuroprotektif seyogyanya mengarah pada netralisasi mekanisme-mekanisme seluler yang menjadi penyebab kematian neuron, seperti menunjang mekanisme antiapoptotik, meningkatkan ekspresi anti-inflamasi dan mencegah ekspresi NO (*nitric oxide*) yang berlebihan (Smith, 1996).

Pemahaman yang baik tentang patofisiologi cedera otak traumatis akan mengarah pada manajemen yang optimal, manajemen dan terapi harus ditujukan untuk mengontrol peningkatan tekanan intrakranial, mempertahankan perfusi serebral optimal dengan suplai darah yang optimal dan pemberian oksigenasi. Manajemen bedah atau non-bedah mungkin merupakan manajemen terbaik, tergantung pada kasusnya.

Keputusan yang hati-hati harus diambil untuk mendapatkan hasil yang baik.

Pada cedera otak traumatik, otak memiliki kemampuan untuk memulihkan dan meregenerasi sel-sel yang rusak dan koneksi neuron. Namun, setelah cedera, gangguan dalam keseimbangan antara pertahanan antioksidan dan produksi spesies oksigen reaktif beracun (radikal bebas) yang dikenal sebagai stres oksidatif dapat terjadi, menyebabkan cedera sekunder dan menghambat pemulihan. Melengkapi pasokan antioksidan alami tubuh dapat membantu mengurangi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif dan memfasilitasi pemulihan. Memang, bukti yang muncul menunjukkan bahwa terapi antioksidan memfasilitasi stabilisasi edema, peningkatan fungsi kognitif, gejala sisa neurobehavioral dan penurunan angka kematian pasca-cedera otak traumatik.

TNF- α memainkan peran sentral dalam memulai dan mengatur kaskade sitokin selama respon inflamasi. TNF- α terutama diproduksi oleh sel-sel imun seperti monosit dan makrofag. TNF- α dan reseptornya penting untuk banyak proses otak, termasuk pembentukan dan regulasi sinaps, neurogenesis, dan pemeliharaan sistem saraf pusat (SSP). Selama keadaan inflamasi, TNF- α memediasi perkembangan penyakit, gliosis, demielinasi, inflamasi, kerusakan sawar otak, dan kematian sel (Rodney, T. et.al; 2018).

Penilaian klinis pasien dengan cedera otak traumatik hanya didasarkan pada dokter yang hadir apakah akan melakukan operasi atau manajemen non-bedah. Namun, keefektifan kedua perawatan masih dipertanyakan. Meskipun kemajuan terbaru dalam perawatan bedah saraf dan neurointensive, cacat jangka panjang sekunder karena cedera otak masih dramatis (Quintard H, et al, 2014). Saat ini, tren terbaru dalam perawatan medis menunjukkan peningkatan yang luar biasa dari intervensi farmakologis pasien cedera otak.

Morbiditas dan defisit neurologis yang terkait dengan cedera otak traumatik disebabkan oleh peristiwa neuropatologis primer dan sekunder. Meskipun kerusakan yang terkait dengan peristiwa primer mungkin sulit untuk dibalik, diyakini bahwa kerusakan sekunder sebagian besar dapat dicegah dengan intervensi farmakologis yang tepat. BDNF memiliki peran yang mapan dalam mempromosikan kelangsungan hidup sel selama pengembangan, dan juga dapat memberikan perlindungan saraf setelah gangguan sistem saraf pusat pada hewan dewasa. Trauma otak eksperimental menginduksi perubahan akut pada tingkat mRNA BDNF, trkB, NT-3 dan trkC di korteks (ipsilateral ke cedera) dan hippocampus bilateral.

BDNF merupakan neurotrophin yang melindungi neuron terhadap eksitotoksisitas glutamat. Penelitian tentang kadar BDNF pada pasien cedera otak traumatik jarang, dan hasilnya sangat kontroversial; dengan demikian, hubungannya dengan cedera otak traumatik tetap tidak jelas. Di

satu sisi, hubungan antara outcome pasien cedera otak traumatik dan kadar BDNF dalam serum atau cairan serebrospinal belum ditemukan. Di sisi lain, hubungan antara hasil pasien cedera otak traumatik berat dan kadar BDNF yang rendah dalam serum serta kadar BDNF yang tinggi dalam cairan serebrospinal telah ditemukan (Lorente,L; 2017).

MLC601 adalah salah satu contoh intervensi farmakologi yang disetujui untuk neuroprotektif di seluruh dunia (Young SHY, et al, 2010). Terlepas dari kemanjurannya, kandungan alami obat ini diyakini tidak terlalu membahayakan dibandingkan dengan obat-obatan sintesis. Saat ini, telah digunakan secara luas pada pemulihan pasca stroke (Venketasubramanian, N et al, 2009). Efek neuroprotektifnya memberikan pandangan baru pada aplikasi yang lebih luas, pada pasien cedera otak traumatik.

Manajemen medis cedera otak traumatis saat ini terutama mencakup perawatan pra-rumah sakit khusus, perawatan klinis intensif dan rehabilitasi jangka panjang, tetapi tidak memiliki manajemen efektif yang terbukti secara klinis dengan agen pelindung saraf untuk membatasi cedera sekunder dan / atau meningkatkan perbaikan. MLC901, formulasi disederhanakan secara farmakologis setara dengan MLC601 telah menunjukkan tindakan neuroprotektif dan neurorestoratif yang mengarah pada peningkatan pemulihan fungsi kognitif dalam model tikus cedera otak traumatik dan alasan untuk mengeksplorasi terapi MLC901 untuk meningkatkan pemulihan pasien dengan cedera otak traumatik.

Selain efektivitas jangka panjangnya dalam pemulihan pasca stroke, kombinasi bahan-bahan alami MLC601 juga telah menunjukkan keamanan jangka panjangnya selama 2 tahun. Efek neuroprotektif dan neurorestoratifnya memberikan wawasan baru tentang aplikasi yang lebih luas pada pasien.

Cedera otak traumatik merupakan penyebab utama kecacatan dan kematian pada orang dewasa muda dan memiliki dampak yang signifikan tidak hanya pada individu, tetapi juga pada keluarga, teman dan masyarakat mereka. Cedera otak disebabkan oleh kekuatan eksternal yang secara langsung melukai otak dan / atau sebagai akibat dari kekuatan rotasi ketika otak bergerak di dalam tengkorak. Defisit kognitif yang persisten telah dilaporkan mempengaruhi 15-40% orang dewasa pasca cedera otak. Paling umum, defisit jangka panjang diamati dalam domain kognitif spesifik dari perhatian kompleks (multi-tasking), fungsi eksekutif (perencanaan dan pengambilan keputusan) dan fleksibilitas kognitif (beralih dengan cepat di antara tugas-tugas).

Pasien juga bisa mengalami sequelae neurobehavioral (termasuk sakit kepala, kepening dan sensitivitas kebisingan), kecemasan, depresi dan kelelahan. Defisit ini dapat sangat berdampak fungsi sehari-hari seseorang, sering mempengaruhi mereka kemampuan untuk kembali bekerja, hubungan sosial dan kualitas hidup. Setelah terjadinya cedera otak traumatik, otak memiliki kemampuan untuk mengembalikan dan meregenerasi sel-sel yang rusak dan koneksi saraf. Namun, menyusul cedera, gangguan di keseimbangan antara pertahanan antioksidan dan produksi spesies oksigen reaktif beracun (radikal bebas) dikenal sebagai stres oksidatif dapat terjadi, menyebabkan sekunder cedera dan

menghambat pemulihan. Melengkapi pasokan antioksidan alami tubuh dapat membantu mengurangi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh oksigen reaktif spesies dan memfasilitasi pemulihan. Pada penelitian, muncul bukti menunjukkan bahwa terapi antioksidan difasilitasi stabilisasi edema, peningkatan fungsi kognitif, sequelae neurobehavioral dan penurunan mortalitas pasca cedera otak traumatik.

Dua tahun terakhir penulis mempunyai pengalaman dalam penggunaan obat MLC 901 pada pasien-pasien yang mengalami cedera otak traumatik dan mempunyai hasil yang signifikan sehingga semakin menguatkan penulis untuk meneliti obat MLC 901 ini. Berdasarkan penjelasan diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul **Pengaruh Pemberian MLC 901 Terhadap Ekspresi mRNA BDNF, Kadar BDNF, Kadar TNF- α , dan Gambaran Histopatologis Otak Pada Tikus Sprague Dawley Yang Mengalami Cedera Otak Traumatik.**

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka masalah penelitian dapat dirumuskan :

1. Apakah ada pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) Plasma pada Cedera Otak Traumatik di Tikus Sprague Dawley
2. Apakah ada pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap Ekspresi mRNA *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) pada Cedera Otak Traumatik di Tikus Sprague Dawley
3. Apakah ada pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap kadar *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) Plasma pada Cedera Otak Traumatik di Tikus Sprague Dawley.

4. Apakah ada pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap Gambaran Histopatologis Otak Tikus Sprague Dawley yang mengalami Cedera Otak Traumatik.
5. Bagaimana hubungan antara Pemberian MLC901 Terhadap Ekspresi mRNA *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), kadar *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) Plasma dan gambaran Histopatologis Otak pada Tikus Sprague Dawley yang mengalami Cedera Otak Traumatik.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Diketuainya pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap Ekspresi mRNA *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), kadar *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) Plasma dan gambaran Histopatologis Otak pada Tikus Sprague Dawley yang mengalami Cedera Otak Traumatik

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Diketuainya Kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) Plasma pada Tikus Sprague Dawley sebelum mengalami Cedera Otak Traumatik
- b. Diketuainya Ekspresi mRNA *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) pada Tikus Sprague Dawley sebelum mengalami Cedera Otak Traumatik.
- c. Diketuainya Kadar *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) Plasma pada Tikus Sprague Dawley sebelum

mengalami Cedera Otak Traumatik.

- d. Diketuahuinya pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap Ekspresi mRNA *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) pada Cedera Otak Traumatik di Tikus Sprague Dawley
- e. Diketuahuinya pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap kadar *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) Plasma pada Cedera Otak Traumatik di Tikus Sprague Dawley.
- f. Diketuahuinya pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap kadar *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) Plasma pada Cedera Otak Traumatik di Tikus Sprague Dawley.
- g. Diketuahuinya pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap Gambaran Histopatologis Otak Tikus Sprague Dawley yang mengalami Cedera Otak Traumatik.
- h. Diketuahuinya hubungan antara Pemberian MLC901 Terhadap Ekspresi mRNA *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), kadar *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) Plasma dan gambaran Histopatologis Otak pada Tikus Sprague Dawley yang mengalami Cedera Otak Traumatik

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Pengembangan Ilmu

- a. Mengembangkan pengetahuan tentang neuroproteksi cedera otak traumatik melibatkan jalur inflamasi khususnya *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α).
- b. Mengembangkan pengetahuan tentang neuroregenerasi otak yang melibatkan neurotropin, khususnya *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF).
- c. Menambah Pemahaman tentang peranan intervensi MLC901 terhadap perubahan histopatologis dan faktor pertumbuhan neuron pada pasien cedera otak traumatik.
- d. Memberikan tambahan untuk modalitas terapi medikamentosa yaitu MLC901 untuk tatalaksana farmakologis Cedera Otak Traumatik

1.4.2 Manfaat Aplikasi

- a. Dapat mengetahui efektifitas intervensi medikamentosa berupa MLC901 pada pasien cedera otak traumatik sehingga menjadi acuan bagi tenaga medis (dokter, perawat, dan tenaga kesehatan lain) untuk melanjutkan dan mengaplikasikan terapi pemberian MLC901 pada pasien cedera otak traumatik.
- b. Menambah Referensi sebuah mekanisme perubahan gen dan perubahan faktor pertumbuhan neuron pada proses penyembuhan cedera otak traumatik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Cedera Otak adalah salah satu penyebab utama kecacatan dan kematian dalam masyarakat modern dan hingga kini masih merupakan kondisi yang paling sering dihadapi oleh para ahli bedah saraf berkaitan dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya di bidang industri dan transportasi terutama di kota besar yang tidak disertai dengan lingkungan pekerjaan dan di jalan raya. Cedera otak diperkirakan akan tetap menjadi perhatian utama pada masa yang akan datang, terutama terkait dengan keinginan untuk memperbaiki kualitas penanganan penderita dalam rangka menurunkan terjadinya morbiditas dan mortalitas pasien cedera otak.

Sebagian besar cedera otak awalnya akan ditangani oleh Instalasi Rawat Darurat (IRD) yang kemungkinan besar belum mempunyai pengetahuan khusus menyangkut patofisiologi dan penanganan penderita cedera otak. Banyak penderita yang diselamatkan dan morbiditas akan menurun jika manajemen cedera otak terlaksana dengan baik dan benar. Penanganan ini dapat dilakukan dengan meningkatkan perawatan secara intensif dan pemahaman menyangkut mekanisme patologis yang terjadi (Mendelow, 1987). Elemen dasar perawatan intensif penderita cedera otak adalah mempertahankan lingkungan optimal otak untuk memberikan kesempatan penyembuhan dan mencegah terjadinya cedera

otak sekunder pada neuron. Manajemen cedera otak yang terpenting adalah mempertahankan oksigenasi dan perfusi otak, mencegah *systemic secondary insult*. Hal ini bisa dicapai dengan tindakan monitoring secara ketat dan terus menerus dan penanganan cedera otak secara dini dan optimal.

2.1 Definisi Cedera Otak

Cedera otak adalah cedera otak dengan adanya *neurological consequences*, seperti *concussion* dengan kehilangan kesadaran, amnesia, tanda neurologis dari cedera otak dan fraktur kalvaria (Kraus,1996). Cedera otak adalah suatu keadaan dimana terjadi kerusakan anatomi atau struktur otak disertai dengan gangguan fungsi otak, ditandai dengan adanya memar, nekrosis dan bercak-bercak perdarahan didalam jaringan otak (Kasan U, 2002).

Definisi lain menyebutkan cedera otak adalah proses patologis pada jaringan otak yang bersifat *non generative, non congenital*, akibat kekuatan mekanis dari luar yang dapat menyebabkan gangguan fungsi kognitif, fisik dan psikososial yang sifatnya menetap maupun sementara dan disertai hilangnya atau berubahnya tingkat kesadaran (Dawodu, 2007). Definisi ini bisa tidak konsisten dan tergantung dari kriteria inklusi yang digunakan dan lingkup keahlian yang menggunakannya.

2.2 Pembagian cedera otak

Cedera otak dapat dibagi 4 berdasarkan mekanisme trauma, derajat cedera otak, morfologi dan berdasarkan waktu terjadinya trauma.

2.2.1 Berdasarkan Mekanisme Trauma

Tabel 2.2.1 Mekanisme Trauma (Diambil dari Alex BV,1996)

Cedera tumpul	Kecepatan tinggi
	Kecepatan rendah
Luka tembus	Luka tembak
	Luka tusuk yang lain

Pembagian cedera otak tertutup dan penetrasi ini umum digunakan walaupun terkadang batasnya bisa bersinggungan, misalnya fraktur impresi bisa masuk kedalam dua kategori ini tergantung dalam dan luasnya kerusakan tulang. Untuk tujuan praktis, istilah cedera otak tertutup biasanya dikaitkan dengan kecelakaan lalu lintas, jatuh ataupun penganiayaan, sedangkan cedera otak penetrasi dikaitkan dengan luka tembak atau luka bacok. Penyebab tersering cedera otak adalah trauma tumpul langsung pada kranium (Arifin M, 2002).

2.2.2 Berdasarkan Derajat Cedera

Untuk pengelompokan berat ringannya cedera otak perlu klasifikasi cedera otak yang bersifat universal, diterima secara luas, bisa dievaluasi, cukup obyektif, sederhana, seksama, dapat dipercaya dan memudahkan paramedis dalam transfer pasien. Klasifikasi yang paling umum dan

diterima secara luas adalah *Glasgow coma scale* (GCS). Klasifikasi ini meliputi respon buka mata, bicara dan motorik. Di perkenalkan pertama kali oleh Teasdale dan Jennet pada 1974 dengan menilai tingkat kesadaran berdasarkan tiga komponen klinis, yaitu respon membuka mata, respon motorik dan respon verbal. Masing-masing komponen selanjutnya diberi nilai sebagai berikut:

Tabel 2.2.2 *Glasgow Coma Scale* (GCS) (Diambil dari Teasdale dan Janet, 1974)

1. Respon membuka mata (E = Eye)	Nilai
a. Membuka mata spontan	4
b. Membuka mata dengan rangsangan suara	3
c. Membuka mata dengan rangsangan nyeri	2
d. Tidak ada respon	1
2. Respon Verbal (V = Verbal)	Nilai
a. Orientasi baik	5
b. Orientasi terganggu / bingung	4
c. Berupa kata tak berbentuk kalimat	3
d. Berupa suara tak berbentuk kata	2
e. Tidak ada respon	1
3. Respon Motorik (M = Motorik)	Nilai
a. Menggerakkan anggota gerak sesuai perintah	6
b. Melokalisir nyeri	5
c. <i>Withdrawal</i>	4
d. Fleksi abnormal	3
e. Ekstensi abnormal	2
f. Tidak ada respon	1

Penilaian GCS dalam menilai derajat keparahan cedera otak yang lebih sederhana dapat menggunakan GCS-P yaitu kombinasi GCS dengan respon pupil terhadap cahaya. Nilai GCS dan respon pupil merupakan indikator utama dalam menentukan tingkat keparahan kerusakan otak akibat trauma (Brennan dkk, 2018). Kalkulasi penilaian GCS-P yaitu mengurangi GCS total dengan skor reaksi pupil (RPS) :

$$\text{GCS-P} = \text{GCS} - \text{RPS}$$

Tabel 2.3 Skor Reaksi Pupil

Pupil tak berespon terhadap cahaya	Skor
Kedua Pupil	2
Satu Pupil	1
Kedua pupil berespon	0

Ditinjau dari beratnya cedera, cedera otak dibagi menjadi cedera otak ringan, sedang, dan berat (Popp, 1996).

1. Cedera otak ringan

Yang termasuk klasifikasi ini adalah penderita dengan GCS 14-15. Pada kelompok ini, dapat ditemukan kelainan anatomi atau fungsi otak minimal.

2. Cedera otak sedang

Yang termasuk klasifikasi ini adalah penderita dengan GCS 9-13. Pada kelompok ini, ditemukan kelainan anatomi dan fungsi otak yang lebih berat.

3. Cedera otak berat

Yang termasuk klasifikasi ini adalah penderita dengan GCS 3-8. Pada kelompok ini, dapat ditemukan kerusakan struktur dan gangguan fungsi otak dengan ditandai adanya memar, nekrosis dan bercak

perdarahan di dalam jaringan otak (Arifin M, 2002).

Tabel 2.4 Derajat Cedera Otak (Diambil dari Alex BV,1996)

Ringan	GCS 14-15
Sedang	GCS 9-13
Berat	GCS 3-8

2.2.3. Morfologi

Tabel 2.2.3 Morfologi Cedera Otak (Diambil dari Alex BV,1996)

Fraktur kalvaria	Atap tengkorak	Linier / stellata
		Impresi/Non Impresi
		Terbuka / tertutup
	Basis tengkorak	Dengan/ tanpa kebocoran likuor
		Dengan / tanpa kelemahan N VII

Lesi intrakranial	Fokal	Epidural
		Subdural
		Intraserebral
	Difus	Konkusio Ringan
		Konkusio Klasik
		Cedera Akson Difus

Morfologi cedera otak menjadi lebih jelas setelah berkembangnya teknologi *computerized tomography scanning* (CT scan) dan hal ini sangat berpengaruh pada kemajuan penanganan penderita.

2.2.4. Berdasarkan Waktu Terjadinya Trauma

Pembagian cedera otak berdasarkan waktu terjadinya trauma terbagi menjadi 3 yaitu fase akut, fase subakut dan fase kronis. Fase akut adalah cedera otak yang timbul segera setelah trauma hingga 3 hari, fase subakut yaitu cedera otak yang terjadi sejak 3 hari sampai 14 hari dan fase kronis adalah cedera otak lebih dari 14 hari (Rohadi dan Wahyuhadi, 2014).

Pada cedera otak traumatik, perdarahan akut terjadi kurang dari 3 hari dari kejadian dan dari gambaran CT scan didapatkan lesi hiperdens dibandingkan dengan otak. Fase subakut dimulai 3-7 hari setelah cedera akut atau kepustakaan lain menyebut jika usia perdarahan lebih dari 3 hari sampai kurang dari 3 minggu. Perdarahan kronis berkembang lebih dari sama dengan 3 minggu paska trauma dan pada gambaran CT scan didapatkan lesi hipodens dibandingkan dengan otak (Meagher RJ et al, 2018).

2.3 Klasifikasi Cedera Otak

Pada saat ini klasifikasi cedera otak yang digunakan secara luas berdasarkan GCS, karena kriterianya bisa dievaluasi dan mudah diterima dalam berbagai kondisi, cukup obyektif, sederhana dan dapat dipercaya. Nilai GCS adalah merupakan nilai total dari ketiga komponen, yaitu antara 3-15. GCS dinilai setelah dilakukan resusitasi optimal. Nilai tiga berarti penderita tidak memberikan respon terhadap rangsangan apapun, sedangkan nilai limabelas berarti penderita sadar penuh.

Sarana penunjang dan era komputerisasi yang berkembang mengakibatkan pemeriksaan cedera otak juga mengalami perkembangan yang pesat, terutama setelah digunakan *Computerized Tomography Scanning* (CT scan). Klasifikasi cedera otak difus berdasarkan morfologi gambaran CT scan kepala dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2.3. Klasifikasi cedera otak difus berdasarkan CT scan
(Diambil dari Diaz-Marchan, 1996)

Kategori	Hasil CT scan
<i>Diffuse injury I</i>	Tidak tampak patologi intrakranial
<i>Diffuse injury II</i>	Sisterna masih tampak, pergeseran garis tengah < 5mm, tidak ada lesi hiperdense > 25 cc, termasuk adanya fragmen tulang atau benda asing.
<i>Diffuse injury III (edema)</i>	Sisterna terjepit atau hilang, pergeseran garis tengah < 5 mm, tidak ada lesi hiperdens, atau campuran > 25 cc
<i>Diffuse injury IV (pergeseran)</i>	Pergeseran garis tengah > 5 mm, tidak ada lesi hiperdense atau campuran > 25 cc
Massa dengan indikasi operasi	Terdapat lesi massa yang perlu operasi
Massa tanpa indikasi operasi	Tampak lesi hiperdense atau campuran > 25 cc, tetapi tidak ada indikasi operasi

2.4. Patofisiologi Cedera otak

Proses patofisiologi cedera otak dibagi menjadi dua, yang didasarkan pada asumsi bahwa kerusakan otak pada awalnya disebabkan oleh kekuatan fisik, yang lalu diikuti oleh proses patologis yang terjadi segera dan sebagian besar bersifat permanen. Dari tahapan itu cedera otak dibagi menjadi cedera otak primer dan cedera otak sekunder. Pembagian cedera otak menjadi cedera otak primer dan cedera otak sekunder sangatlah bermanfaat, pemahaman terhadap konsep ini akan memudahkan dalam penanganan penderita, sebab dapat membantu dalam manajemen cedera otak sekunder baik dalam hal pencegahan maupun pengobatan. Dengan demikian sangatlah penting untuk mengetahui dan mengenal semua penyebab dan konsekuensi dari cedera otak sekunder (Blumberg, 1987; Mocchetti dan Wrathall, 1995).

2.4.1 Cedera otak primer

Kerusakan otak akibat trauma, selain cedera misil, dapat dikategorikan sebagai cedera otak primer dan sekunder (Mocchetti dan Wrathall, 1995; Mendelow dan Crawford, 1987). Kerusakan otak primer terjadi akibat deformasi otak secara mekanis yang menimbulkan cedera pada permukaan otak oleh fenomena kontak atau pada parenkim otak akibat gaya sebar (Blumberg, 1987; Mattson, 2000). Hal ini berarti cedera primer merupakan cedera yang bersifat mendadak dan sebagian besar tak dapat pulih, gaya mekanis yang timbul akan menyebabkan kerusakan jaringan yang bersifat progresif (Darmadipura, 2002; Turner, 1996). Deformitas yang timbul dapat langsung merusak pembuluh darah, akson, neuron dan glia. Kerusakan yang timbul dapat bersifat fokal, multifokal

atau difus dan dapat mengenai jaringan otak saja, vaskuler atau melibatkan keduanya (Mocchetti dan Wrathall, 1995). Semua ini akan memicu serangkaian reaksi sehingga terjadi perubahan pada kompleks selular, inflamasi, neurokimiawi dan metabolik (Mocchetti dan Wrathall, 1995; Turner, 1996; Jenneth, 1984).

Tabel 2.4.1 Cedera otak primer (neural dan atau vaskular) (Blumberg, 1987)

Difus	Fokal
1. Cedera aksonal difus <i>(Diffuse axonal injury = DAI)</i> 2. Cedera vaskular difus <i>(Diffuse vascular injury = DVI)</i>	1. Cedera vaskular yang menyebabkan: <ul style="list-style-type: none"> a. Perdarahan intraserebral b. Perdarahan subdural c. Perdarahan epidural 2. Cedera aksonal 3. Kontusio 4. Laserasi

Efek klinis dari cedera otak primer ini akan diperburuk dengan terjadinya cedera otak sekunder. Dengan demikian, cedera difus otak, kontusio, dan laserasi otak dengan segera akan memberikan pengaruh klinis yang beragam. Setiap peningkatan defisit neurologis ataupun penurunan tingkat kesadaran disebabkan oleh kerusakan otak sekunder (Mendelow dan Crawford, 1987). Mocchetti dan Wrathall mendapatkan bahwa edema akson terjadi 15 menit setelah cedera otak akibat kerusakan pada mikrotubulus. Selanjutnya terjadi perubahan peningkatan permeabilitas aksolema dan enam jam kemudian akan terjadi kerusakan pada neurofilamen. Sawar darah otak sendiri mengalami kerusakan dalam 3 menit setelah cedera sehingga terjadi ekstrasvasasi albumin (Mocchetti dan Wrathall, 1995). Kombinasi perubahan dini dengan hipoksia/iskemia akibat cedera otak sekunder memberi potensi untuk dilakukan neuroproteksi karena peningkatan konsentrasi glutamate maksimal setelah terjadi iskemia (Mendelow dan Crawford, 1987). Proses cedera tidak hanya terjadi sesaat setelah cedera, namun berlangsung hingga beberapa jam setelah kejadian (Darmadipura, 2002).

Perdarahan subdural dan intraserebral merupakan jenis cedera otak primer yang berbeda. Perdarahan subdural akut cenderung akan meluas sepanjang ruang subdura dan tetap bertahan pada permukaan otak.

walaupun tampak tipis namun kenyataannya dapat jauh lebih banyak volume perdarahan yang timbul dibanding yang tampak pada CT scan. Perdarahan subdural umumnya unilateral dan lebih sering disertai dengan kerusakan otak primer yang mendasarinya, akibatnya pasien dengan perdarahan subdural seringkali masuk ke rumah sakit dalam keadaan koma (Mendelow dan Crawford, 1987).

Perdarahan intraserebral traumatik dapat terjadi secara spontan atau merupakan bagian dari kompleks perdarahan intradural. Mekanisme terjadinya merupakan akibat gaya sebar yang menyebabkan robeknya arteri atau arteriol sehingga terjadi perdarahan yang meluas diantara parenkim otak. Perdarahan ini akan berhenti jika tekanan disekitar jaringan otak mencapai tekanan setara dengan tekanan arteri. Penelitian eksperimental membuktikan perdarahan intraserebral segera akan menyebabkan iskemia akut pada jaringan otak di dekatnya (Mendelow dan Crawford, 1987).

2.4.2. Cedera otak sekunder

Cedera otak sekunder adalah cedera yang terjadi pada otak disebabkan oleh cedera yang bukan bersumber pada otak itu sendiri. Cedera otak sekunder ini disebabkan oleh banyak faktor antara lain hipotensi dan hipoksia, peningkatan tekanan intrakranial dan penurunan aliran darah otak akibat edema otak dan efek massa dari hematoma intrakranial, hidrosefalus dan infeksi (Teasdale dan Graham, 1998; Harrison,

1984; Kelly, 1996). Beberapa jenis kerusakan otak sekunder secara potensial masih bersifat reversibel sehingga dengan penanganan yang adekuat dapat dipulihkan (Raghupathi, 1995). Bukti-bukti terbaru menunjukkan bahwasanya kerusakan otak sekunder juga merupakan komponen yang sangat penting. Iskemia akibat cedera otak sekunder tidak hanya timbul pada cedera otak yang berat tetapi dapat juga timbul pada cedera otak ringan hingga sedang (Blumberg, 1987; Darmadipura, 2002; Bazan, 1995). Berdasarkan penyebabnya, secara umum cedera otak sekunder dibagi menjadi ekstrakranial dan intrakranial (Turner, 1996; Harrison, 1984; Blumberg, 1987).

Tabel 2.4.2 Penyebab ekstrakranial dan intrakranial cedera otak sekunder (Blumberg, 1987)

Penyebab intracranial	Penyebab ekstrakranial
1. Perdarahan <ul style="list-style-type: none"> a. Ekstradural b. Subdural c. Intraserebral d. Intraventrikular e. Subarakhnoid 	1. Hipoksia 2. Hipotensi 3. Hiponatremia 4. Hipertermia 5 Hipoglikemia
2. Edema <ul style="list-style-type: none"> a. Kongesti vena / hiperemia b. Edema vasogenik c. Edema sitotoksik d Edema interstitial 	
3. Infeksi <ul style="list-style-type: none"> a. Meningitis dan Abses otak 	

Keparahan cedera otak sekunder sangat bergantung dari penyebabnya. Pada perdarahan otak, mekanisme cedera otak sekunder adalah akibat kompresi langsung pada korteks otak yang ada di bawahnya, sehingga timbul kerusakan otak iskemik yang bersifat lokal dan terjadi pergeseran otak. Cedera otak iskemik cenderung fokal namun jika peningkatan tekanan intrakranial yang terjadi dibiarkan maka akan menyebabkan penurunan aliran darah otak dan akhirnya terjadi kerusakan otak iskemik yang bersifat global (Istiajid, 2002). Konsekuensi akhir dari ini adalah penurunan ketersediaan ATP yang akan menyebabkan kegagalan pompa membran sehingga sel akan mengalami edema atau kematian (Turner, 1996; Kasan U, 2002; Bazan, 1995).

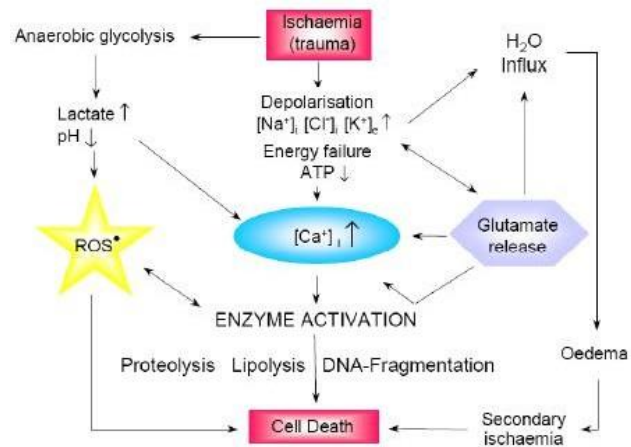
Inflamasi yang merupakan respon dasar terhadap trauma sangat berperan dalam terjadinya cedera sekunder. Pada tahap awal proses inflamasi, akan terjadi perlekatan neutrofil pada endotel dengan beberapa molekul perekat (ICAM-1). Proses perlekatan ini mempunyai kecenderungan merusak karena mengurangi aliran dalam mikrosirkulasi, selain itu, neutrofil juga melepaskan senyawa toksik *Reactive O₂ Species* (ROS), atau mediator lainnya (prostaglandin, leukotrin) dimana senyawa ini akan memacu terjadinya cedera lebih lanjut. Makrofag juga mempunyai peranan penting sebagai sel radang dominan pada cedera otak (Harrison, 1984; Kelly, 1996).

Cedera otak menyebabkan sebagian sel yang terkena benturan mati atau rusak yang tidak dapat diganti oleh sel otak yang baru atau *irreversible*, proses ini disebut proses primer, dan sel otak sekelilingnya akan mengalami gangguan fungsional tetapi belum mati dan bila keadaan menguntungkan sel akan sembuh dalam beberapa menit, jam, atau hari. Proses selanjutnya adalah proses patologis sekunder. Proses biokimiawi dan struktur massa yang rusak akan menyebabkan kerusakan seluler yang luas pada sel yang cedera maupun sel yang tidak cedera. Secara garis besar kerusakan otak sekunder pasca trauma diakibatkan oleh beberapa proses dan faktor di bawah ini :

1. Lesi massa, pergeseran garis tengah dan herniasi yang terdiri atas:
 - a. Perdarahan intrakranial (Perdarahan Epidural / Subdural / Intracerebral)
 - b. Edema Serebri
2. Iskemia serebral yang diakibatkan oleh :
 - a. Penurunan tekanan perfusi serebral (CPP)
 - b. Hipotensi arterial, hipertensi intrakranial
 - c. Hiperpireksi dan infeksi
 - d. Hipoksemia / anemia dan hipotermi
 - e. Vasospasme serebral
 - f. Epilepsi (kejang) (Teasdale GM, 1996).

Proses patologi subseluler yang menyertai cedera otak :

1. Proses dini: deformasi membran, perubahan sitoskeleton, gangguan aliran ion Na^+ , K^+ , dan H^+ .
2. Respon inflamasi: komplemen (C3a,C5a) adalah kumpulan proenzim, yang apabila diaktifkan dapat melepaskan sejumlah mesenger kimiawi yang menarik leukosit.
3. Proses neurobiokimiawi: pelepasan neurotransmitter atau neuromodulator dan gangguan reseptor untuk glisin, serotonin, asetilkolin, katekolamin, monoamine, *excitatory amino acid* (EAA), opioid endogen, *platelet activating factor* (PAF), Mg^{++} , Ca^{++} , asam arakidonat.
4. Kerusakan yang terkait ion kalsium : yaitu kerusakan yang diperantarai oleh reseptor yang tergantung pada voltase transmembran, kerusakan saluran dan kerusakan membran akibat trauma.
5. ROS dan peroksidasi lipid : proteolisis, perubahan sitoskeleton, kerusakan membran sel.
6. Gangguan metabolisme energi : terjadi depolarisasi yang mengganggu keseimbangan gradien ion transmembran, sehingga otak dipaksa meningkatkan produksinya untuk menjaga keseimbangan gradien ion agar tetap normal (Arifin M, 2002)



Gambar 2.4.2. Skematik Proses Cedera Otak Traumatik

Luasnya kerusakan otak pasca trauma ditentukan oleh jenis cedera yang diderita (primer dan sekunder). Cedera otak sekunder terjadi setelah trauma inisial dan merupakan konsekuensi proses kompleks yang diawali dengan cedera primer pada otak dengan faktor resiko utamanya adalah hipoksia dini dan hipotensi sewaktu periode resusitatif. Urutan kejadian yang berperan dalam berkembangnya kerusakan otak sekunder pasca cedera traumatik sangat kompleks dan belum sepenuhnya dimengerti. Hal ini terutama karena berbagai macam mediator endogen yang dilepaskan ke dalam kompartemen intrakranial pasca trauma dan kompleksitas interaksinya.

Peristiwa awal dari cedera otak melibatkan mekanisme kerusakan mekanis dari otak. Pengetahuan saat mengajarkan kita bahwa gangguan mekanik primer berupa distorsi akson dan berlanjut dengan kematian sel neuron. Pada saat terjadi cedera otak terjadi abnormalitas selular berupa penurunan aktifitas transportasi aksonal, sehingga terjadi defek traumatik berupa kerusakan lapisan lipid pada membran sel dan berdampak pada reseptor dan ligan serta saluran ion yang ada di membran sel neuron.

Akibat cedera yang terjadi dapat menyebabkan cedera fokal yang berakibat efek masa lokal, difus, dan defek membran sel. Efek lokal menyebabkan pergeseran garis tengah, herniasi, kompresi batang otak yang akan berakibat peningkatan tekanan intrakranial dan edema otak yang berujung kematian sel, sedangkan efek difus dapat membuat penderita koma yang berujung pada kematian sel. Defek membran sel neuron berakibat gangguan pertukaran ion dan depolarisasi yang berakibat perubahan fisiologis sel neuron, hal ini menyebabkan disfungsi reseptor, inflamasi, radikal bebas yang berlebihan, dan influks kalsium yang berimbas pada kerusakan yang dimediasi kalsium. Proses ini akan membuat edema otak dan peningkatan tekanan intrakranial dan kematian sel.

Cedera otak awal untuk menghasilkan serangkaian kejadian selular yang berkontribusi pada neurokimia dan kaskade neurometabolik. Adanya konsumsi alkohol mempengaruhi cedera primer otak. Cedera primer dapat menghasilkan kerusakan saraf yang bersifat eksitoksisitas. Kaskade ini didefinisikan sebagai pelepasan neurotransmitter akibat influks ion yang masif, akibatnya terjadi peningkatan glikolisis. Peningkatan glikolisis diikuti oleh kekacauan metabolisme. Kaskade ini pada awalnya, setidaknya sebagian, terjadi akibat gangguan transportasi aksonal. Influks ion dapat membangkitkan gen dan radikal bebas, dan lipid peroksidasi membran sel yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan ini terjadi pada awal cedera neuron otak. Tahap selanjutnya, kalsium bebas intraseluler meningkat dan fosfolipase diaktifkan yang dapat menyebabkan kerusakan lebih lanjut membran dan sitoskeleton dan terjadi pemblokiran transportasi aksoplasma. Hal ini dapat mengakibatkan apoptosis atau kematian sel yang lambat. Kelebihan jumlah glutamat

dalam ruang ekstraseluler dapat mengakibatkan pergeseran tidak terkendali dari ion natrium, kalium, dan kalsium, yang pada gilirannya mengganggu homeostasis ionik. Hal ini dapat menyebabkan pembengkakan sel yang berat dan kematian sel. Selain itu, sekitar 60 menit setelah trauma otak traumatik, terjadi peningkatan yang signifikan dari stres oksidatif pada otak, yang dibuktikan dengan peningkatan pembentukan radikal bebas, yang menyebabkan kerusakan oksidatif struktur neurovaskular.

Ketika gangguan transportasi aksonal terjadi, terjadi mikrodefek selular yang terbuka dalam waktu yang relatif singkat. Hal ini kemudian ditutup baik secara pasif oleh arus dilapisan lipid atau lebih aktif oleh lisolesitin dan penambalan membran dengan fusi. Peningkatan kalsium intraseluler berpengaruh pada jumlah energi yang dikirim ke membran sel. Perubahan kalsium yang dimediasi sinyal selular dapat berkontribusi pada patologi cedera otak, yang dapat diamati setelah cedera otak traumatik. Influx kalsium ke dalam sel meningkatkan kalsium bebas dalam sel yang bersifat destruktif. Stres oksidatif dapat meningkatkan radikal bebas. Hal ini memicu pelepasan mediator inflamasi yang akan memperberat kerusakan sekunder otak. Stres oksidatif juga dapat menginduksi gen dan heat shock protein. Gen seperti C-Fos, C-Jun, dan Jun B, adalah faktor transkripsi mengatur ekspresi gen target, yang meliputi faktor pertumbuhan neuronal, sitoskeletal protein, dan metabolisme enzim. Gen ini mengatur ekspresi gen target, yang meliputi saraf faktor pertumbuhan, protein prekursor amiloid, dan protein prekursor opioid. Semua gen ini tampaknya diregulasi setelah cedera otak traumatik dan ekspresi gen ini telah dikaitkan dengan kematian sel terprogram yang dikenal sebagai apoptosis. Keragaman penyebab dan peristiwa

multifaktorial yang terlibat dalam cedera otak traumatik tidak boleh diabaikan.

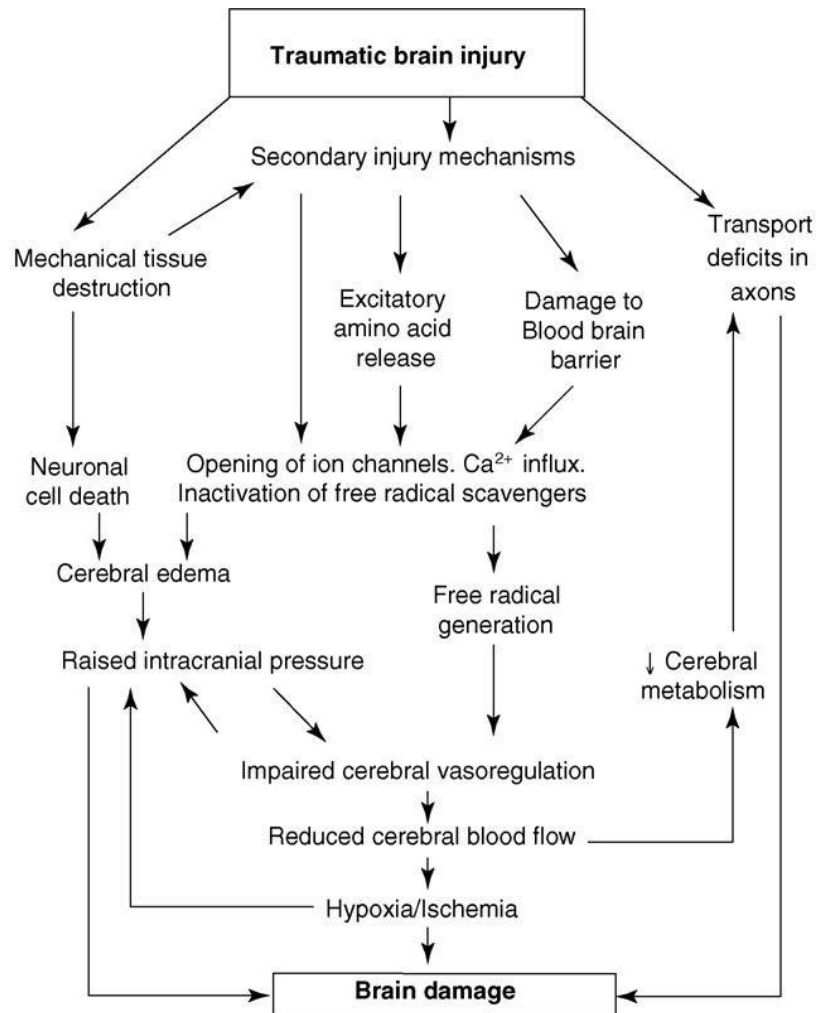
2.5 Patofisiologi Iskemia Otak

Bila terjadi iskemia pada otak dalam 3 menit sampai 1 jam akan terjadi kekurangan ATP yang berakibat pada kegagalan pompa Na-K dan asidosis, selanjutnya akan terjadi influks kalsium kedalam sel dan depolarisasi yang berakibat pada pelepasan glutamat, adanya glutamat ini akan mengaktivasi NMDAR, AMPAR, KAINATER, dan reseptor metabotropik yang berimbas pada peningkatan kalsium intrasel.

Peningkatan kalsium intrasel akan memicu : 1. aktivasi lipase, protease, dan endonuklease. Pengaktifan lipase memicu pelepasan asam arakidonat dan menyebabkan pelepasan radikal bebas yang memicu kerusakan membran sel, sedangkan protease akan menyebabkan proteolisis. 2. Memicu sintesis nitrit oksida yang memicu kerusakan membran. 3. Terjadi kerusakan genetik. 4. Kegagalan faktor pertumbuhan sel. 5. Menghambat sintesis protein. 6. Memicu terjadinya apoptosis. Kesemua hal ini akan secara bersama akan menyebabkan kematian sel.

Pada kasus yang sama setelah 3 jam akan terjadi cedera reperfusi dimana terjadi : 1. Peningkatan radikal bebas berupa ROS (*Reactive Oxygen Species*), 2. Infiltrasi leukosit yang memicu radang, 3. Release sitokin yang juga memicu radang, 3. Hambatan sintesis protein semakin besar, yang pada ujungnya juga menyebabkan kematian sel.

Proses biologimolekuler kerusakan pada neuron dapat berupa : 1. Mekanisme yang terlibat multiple dan berlapis-lapis, 2. Bisa berlangsung sendiri (independen) dan masing-masing dapat bersifat lethal terhadap neuron. Resume urutan kejadian pada cedera otak dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 2.5 : Urutan peristiwa yang terjadi pada cedera otak traumatik (Ringel F & Elsaeser R.S; 2001; Jain, K.K, 2008)

Dalam beberapa tahun terakhir, banyak bukti yang menunjukkan baik pada pasien cedera otak traumatik dan hewan coba berimplikasi pada respons imun yang tidak teratur dalam potensi disfungsi neurologis dan patologi otak yang disebabkan oleh cedera otak. Sebagai contoh, peningkatan produksi sitokin adalah salah satu indikator prognostik terkuat dari hasil klinis yang buruk pada cedera otak, karena

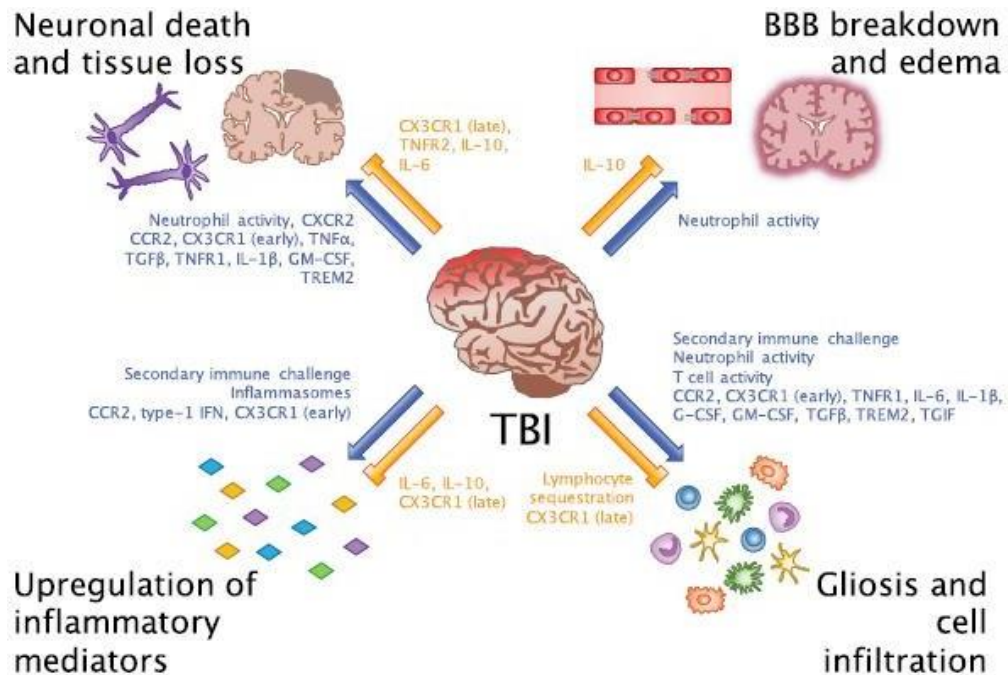
dapat menginduksi respon inflamasi yang dimediasi imun yang dapat bertahan selama bertahun-tahun pasca-cedera otak.

Selain memberikan langkah perlindungan yang vital terhadap patogen dan tumor, sistem kekebalan juga fokus terlibat dalam pemulihan homeostasis jaringan pasca cedera. Fungsi-fungsi penting yang dilakukan oleh sistem kekebalan tubuh sebagai respon terhadap cedera termasuk sekuestrasi jaringan yang rusak, menelan dan membuang sisa-sisa seluler, dan promosi respon penyembuhan luka. Kerusakan jaringan yang dihasilkan dari trauma, cedera iskemia-reperfusi, gangguan metabolik, dan iritasi lingkungan memicu pelepasan *damage-associated molecular patterns* (DAMP) seperti : ATP, *reactive oxygen species* (ROS), kerusakan mitokondria, dan sel nekrotik serta alarmin (misalnya, interleukin (IL) -1 α , IL-33, HMGB1). Pengenalan terhadap DAMP dan alarmin oleh reseptor kekebalan tubuh selanjutnya menstimulasi produksi lokal sitokin dan kemokin di tempat cedera, yang kemudian mengkoordinasikan aktivasi, ekspansi, dan rekrutmen sel imun ke area kerusakan jaringan.

Trauma otak menghasilkan dua fase cedera jaringan. Tahap pertama cedera adalah akibat langsung dari cedera mekanis yang berdampak ke jaringan otak. Akibat pukulan parah ke kepala menyebabkan kematian sel saraf dan glia segera, cedera aksonal, gangguan sawar darah otak (BBB), edema, dan pelepasan DAMP dan

agen-agen eksitotoksik. Respon Imunitas terhadap cedera otak traumatik dimaksudkan untuk mempromosikan neuroproteksi atau perlindungan saraf dan neurorepair, tetapi bisa menjadi maladaptif jika terjadi disregulasi.

Respon imun berkontribusi untuk memperbaiki atau kerusakan lebih lanjut pada akhirnya tergantung pada sifat, durasi, dan besarnya kejadian imunitas yang berkembang sebagai respons terhadap cedera otak. Jika tidak dikontrol dengan baik, sistem kekebalan dapat memicu fase sekunder kerusakan jaringan dan peradangan saraf. Berbeda dengan sifat akut cedera otak primer, kerusakan jaringan sekunder umumnya menghasilkan cedera yang difus dan bertahan lama. Peran mendasar yang dimainkan sistem kekebalan tubuh dalam mendorong fase sekunder kerusakan jaringan setelah trauma otak telah menyebabkan banyak orang percaya bahwa pendekatan imunomodulator mungkin menawarkan strategi yang sangat dibutuhkan untuk mengobati cedera otak traumatik. Dalam ulasan ini, kami membahas bagaimana aspek respon imun dapat mempengaruhi hasil klinis setelah cedera otak traumatik. Secara khusus, kami menyoroti temuan terbaru dari penelitian eksperimental cedera otak traumatik yang menjelaskan peran sentral untuk kekebalan individu yang berupa imunitas selular dan sitokin dalam pathogenesis cedera otak traumatik.



GAMBAR 2.5.1 | Peran menguntungkan dan merugikan untuk sistem kekebalan tubuh pada cedera otak traumatik. Konsekuensi umum neuroinflamasi setelah cedera otak traumatik termasuk kematian neuronal dan kehilangan jaringan, kerusakan BBB dan edema, peningkatan regulasi mediator inflamasi, dan gliosis dan infiltrasi sel. Para peneliti telah mengevaluasi proses-proses ini untuk memahami sel-sel radang dan molekul yang mempotensiasi (panah biru) dan menghambat (panah oranye) lingkungan peradangan otak. Sementara kita mulai menghubungkan sel dan molekul tertentu untuk efek menguntungkan dan merugikan mereka dalam cedera CNS, hal penting dari temuan ini adalah bahwa fasilitator peradangan mungkin terlibat dalam berbagai proses pada titik-titik berbeda dalam waktu setelah cedera.

Tabel 2.5 : Mediator Imunitas Kunci yang terlibat dalam Patogenesis Cedera Otak Traumatik

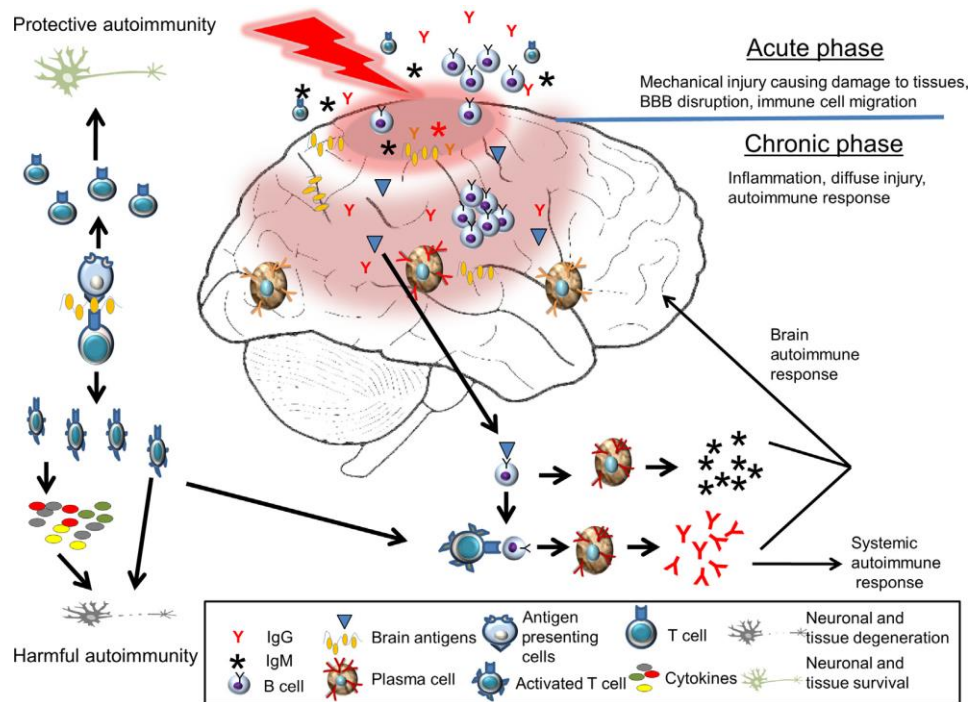
Tipe Sel	Mediator	Fungsi
Neutrophils	CXCR2 (C–X–C motif chemokine receptor 2)	Kemokin yang memediasi migrasi neutrofil
	NE (neutrophil elastase)	Enzim dilepaskan oleh neutrofil untuk mendegradasi matriks ekstraseluler
Makrofag dan Mikrogliia	CD11b (cluster of differentiation 11b)	Integrin yang mengatur migrasi sel imun melalui jaringan
	CCR2 (C–C motif chemokine receptor 2)	Reseptor kemokin yang mengoordinasi kemotaksis monosit
	CX3CR1 (C–X3–C motif chemokine receptor 1)	Reseptor kemokin memediasi migrasi makrofag dan mikrogliia
	IBA1 (ionized calcium-binding adapter molecule 1)	Protein pengikat kalsium yang terkait dengan aktivasi mikrogliia dan makrofag
Sel T	Rag1 (recombination activating gene 1)	Enzim yang diperlukan untuk pengembangan sel T dan B
	IL-4 (interleukin 4)	Sitokin yang membantu dalam proliferasi sel B dan T dan diferensiasi
Lain-Lain	IL-1 (interleukin 1)	Sitokin pro-inflamasi yang mengatur transkripsi dan produksi beberapa mediator inflamasi hilir
	Caspase-1	Enzim yang memotong pro-IL-1 β dan pro-IL-18 untuk

		menginduksi peradangan
	IL-18 (interleukin 18)	Sitokin pro-inflamasi yang mengaktifkan sel NK dan T
	IL-6 (interleukin 6)	Sitokin pleiotropik yang menginduksi banyak respons inflamasi
	GFAP (glial fibrillary acidic protein)	Protein filamen intermediet yang diekspresikan oleh astrosit
	TNF α (tumor necrosis factor α)	Sitokin pleiotropik yang dapat meningkatkan kematian sel, produksi sitokin inflamasi, dan proliferasi sel
	G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor)	Merangsang proliferasi dan diferensiasi sel hematopoietik serta progenitor saraf
	GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)	Meningkatkan pembentukan dan aktivasi sel-sel myeloid dan neuron
	Type 1 IFN (type 1 interferon)	Mengatur transkripsi sitokin pro-inflamasi dan kemokin
	IL-10 (interleukin 10)	Mengatur produksi regulasi negative sitokin pro-inflamasi
	TGF- β (transforming growth factor β)	Mengontrol proliferasi dan diferensiasi berbagai jenis sel imun
	TREM2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2)	Mengaktifkan sel-sel myeloid pada penginderaan lipoprotein, mungkin terlibat dalam penghancuran debris-debris dan kelangsungan hidup sel

2.6 Respon Imunitas Terhadap Cedera Otak

Setelah cedera otak, DAMP dan alarmins dilepaskan ke dalam ruang ekstraseluler di mana mereka dapat memberi sinyal melalui reseptor reseptor pengenalan (PRRs) dan reseptor sitokin pada sel yang ada di system saraf pusat. Hal ini mempromosikan produksi sitokin dan kemokin yang terlibat dalam mengkoordinasikan perekrutan sel-sel kekebalan ke tempat-tempat kerusakan jaringan (Gambar 5).

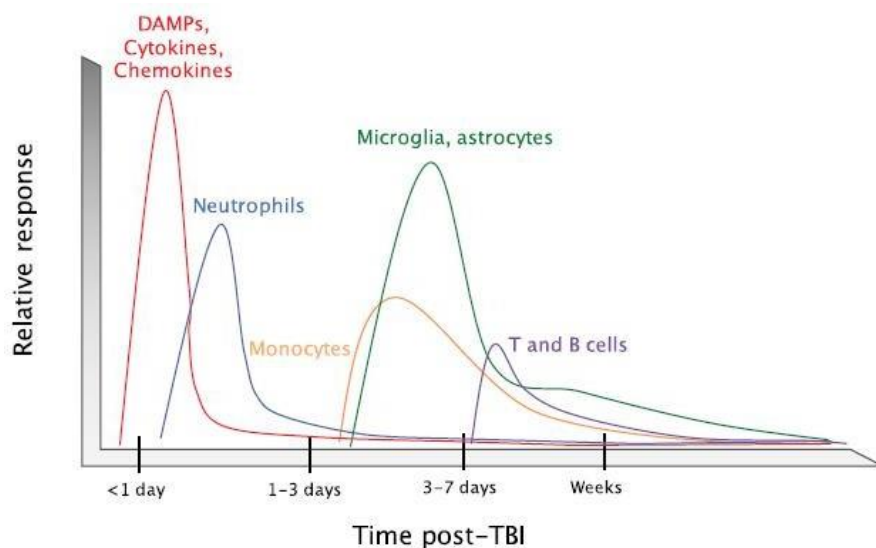
Neutrofil adalah sel kekebalan pertama yang direkrut ke otak sebagai respons terhadap trauma. Mereka pertama kali muncul di ruang sub-arachnoid dan vaskular di sekitar lokasi kerusakan jaringan dalam beberapa jam setelah cedera. Neutrofil kemudian mulai menyusup ke parenkim otak pada 24 jam pasca cedera. Sebagai responden pertama, mereka memainkan peran penting dalam penahanan lesi cedera dan dalam penghapusan puing-puing seluler dan sel-sel yang rusak. Neutrofil mendominasi selama hari-hari pertama setelah cedera; Namun, jumlah mereka sangat berkurang antara hari ke 3 dan 5 setelah cedera. Titik waktu ini bertepatan dengan perekrutan sel kekebalan perifer lainnya dan aktivasi lokal mikroglia dan astrosit. *CCR2-expressing monocytes* adalah populasi sel kekebalan utama yang meresap ke jaringan yang rusak pada hari 3–5 pasca cedera, meskipun sel T, sel pembunuh *Natural Killer* (NK), dan sel dendritik (DC) juga dapat dideteksi di sekitar area cedera.



Gambar 2.6.1| Skema perkembangan dan konsekuensi sistem imunitas otak pada cedera otak traumatik. Pada fase akut, neuron dan jaringan lain mengalami degenerasi, kerusakan sawar darah otak, migrasi sel radang ke bagian cedera. Pada fase kronis terjadi kerusakan aksonal difus dan agregasi limfosit B berkumpul yang menimbulkan respons autoimun. Rilis autoantigen seluler yang mengalami degenerasi dipresentasikan oleh APC dan aktivasi sel limfosit T. Sistem autoimun tubuh dapat sebagai protektif atau membahayakan. Sel Th1 dan Th17 akan melepaskan sitokin yang merusak neuron dan jaringan sekitarnya. Di sisi lain, sel Th2 menghasilkan IL4, sel CD4 1 memproduksi BDNF yang bersifat neuroprotektif. Sel Limfosit B mempresentasikan rekasi autoantigen bereaksi dengan mengaktifasi sel T yang menghasilkan sel plasma. Sel plasma memproduksi autoantibodi yang menyebabkan kerusakan seluler di otak dan berperan dalam neuroinflamasi kronis.

Produksi kemokin yang terkoordinasi setelah trauma memicu perekrutan sel-sel kekebalan ke daerah-daerah cedera otak. Jalur kemokin utama yang terlibat dalam memobilisasi sel kekebalan ke kerusakan otak telah ditinjau secara komprehensif baru-baru ini. Pada minggu ke-2 pasca cedera, otak sebagian besar tidak memiliki sel imun yang menginfiltrasi. Namun, mikroglia aktif dan astrosit dan peningkatan kadar sitokin inflamasi dapat dideteksi selama berbulan-bulan sampai bertahun-tahun setelah cedera otak. Hal ini tidak seperti yang terlihat setelah kerusakan jaringan pada organ perifer lainnya, di mana makrofag

penghuni jaringan dan sel stroma biasanya kembali ke keadaan istirahat atau imunologis dalam waktu beberapa minggu setelah cedera. Keberadaan sel glia aktif dan regulasi yang menyimpang ekspresi sitokin selama berbulan-bulan sampai bertahun-tahun pasca cedera otak traumatik menunjukkan bahwa respons imun terhadap cedera otak traumatik dapat bertahan lama di luar trauma awal.



GAMBAR 2.6.2 | Timeline respon imun terhadap Cedera Otak Traumatik. Pada saat benturan ke kepala, kerusakan sel akan menyebabkan pelepasan cepat *damage-associated molecular patterns* (DAMP) yang mendorong sel-sel yang ada di SSP untuk melepaskan sitokin dan kemokin. Sinyal-sinyal ini dengan cepat memanggil neutrofil, yang membantu dalam penahanan situs luka dan mempromosikan penghancuran debris-debris dan sel-sel yang rusak. Ketika jumlah neutrofil mulai menurun setelah beberapa hari, monosit yang menginfiltrasi dan glia aktif mulai berakumulasi di sekitar lokasi cedera untuk melakukan fungsi reparatif. Tergantung pada tingkat keparahan cedera otak, sel T dan B juga dapat direkrut ke area-area patologi otak pada titik waktu kemudian dalam respon (3-7 hari pasca-cedera).

2.7 Keterlibatan Jenis-Jenis Sel Imun Pada Cedera Otak

2.7.1 Netrofil

Mempertimbangkan peran mereka dalam permeabilitas pembuluh darah dan edema di jaringan perifer, neutrofil sebagian besar telah terlibat dalam kerusakan sawar darah otak dan edema di cedera otak tramatik.

Namun, itu masih belum jelas bagaimana aktivitas mereka terkait dengan proses ini. Makalah awal tentang cedera otak traumatic setuju bahwa neutrofil dapat terakumulasi di tempat-tempat cedera dalam beberapa jam pasca-cedera dan bahwa jumlah neutrofil yang direkrut ke area-area trauma otak biasanya berkorelasi dengan tingkat keparahan cedera. Namun, penelitian tentang peran neutrofil dalam menengahi kerusakan sawar darah otak, edema, dan neurodegenerasi telah terbukti. Meskipun neutrofil telah dilaporkan berhubungan dengan kerusakan sawar darah otak dan neurodegenerasi, proses-proses ini tampaknya terputus secara spasial dan sementara dari invasi neutrofil. Selain itu upaya untuk membuktikan neutrofil tidak berhasil dalam menghubungkan mereka dengan hilangnya integritas sawar darah otak, yang dianggap sebagai peristiwa yang bertanggung jawab untuk edema berikutnya dan kematian neuronal.

Karena temuan awal ini, para peneliti mulai berpikir aktivitas neutrofil dan edema jaringan memiliki konsekuensi penting independen dari kerusakan BBB. Kenne dkk, menggunakan antibodi anti-Gr-1 untuk pengurangan neutrofil dalam dampak *cortical controlled impact* (CCI) hewan coba dan menemukan bahwa pengurangan neutrofil menyebabkan penurunan edema setidaknya 48 jam setelah cedera, tetapi hal ini tidak memperbaiki permeabilitas sawar darah otak. Pengurangan neutrofil dikaitkan dengan penurunan jumlah sel apoptosis, penurunan aktivasi makrofag / mikroglia di korteks, dan hilangnya jaringan mitigasi. Data ini mirip dengan hasil dari CXCR2 tikus, yang digunakan oleh Semple et al. untuk mengurangi CXCR2-mediasi infiltrasi neutrofil setelah cedera otak traumatik. Tikus-tikus ini memang menunjukkan penurunan infiltrasi neutrofil ke otak, tetapi kerusakan

sawar darah otak tampak mirip dengan tikus lain. Sementara mereka juga menunjukkan secara signifikan lebih sedikit kematian sel dalam lesi, ini tidak berdampak pada hasil fungsional. Secara kolektif, dua studi ini menunjukkan bahwa deplesi neutrofil mungkin memiliki efek neuroprotektif pada TBI tanpa harus dikaitkan dengan kerusakan sawar darah otak.

Penelitian lebih lanjut tentang pentingnya aktivitas neutrophil pasca cedera otak traumatik telah mulai menjelaskan mekanisme yang terlibat dalam neurodegenerasi yang dimediasi neutrofil pada fase waktu awal. Misalnya, Semple *et al.* menggunakan *neutrofil elastase* (NE) tikus dalam model CCI untuk menyelidiki bagaimana fungsi efektor neutrofil berkontribusi terhadap kerusakan jaringan sekunder dan disfungsi neurologis setelah trauma otak. Mereka menemukan bahwa tikus dengan defisiensi NE menunjukkan edema yang secara signifikan berkurang pada 24 jam setelah cedera. Namun, ini tidak terkait dengan pengurangan jumlah neutrofil atau penurunan produksi matriks metalloproteinase 9 (MMP-9), yang dikenal untuk mengatur migrasi neutrofil dengan mempromosikan kerusakan matriks ekstraseluler dan atau melalui modulasi aktivitas kemokin. Tikus dengan *NE knockout* juga telah mengurangi jumlah neuron apoptosis serta tingkat hemeoxygenase yang lebih rendah di hippocampus pada 24 jam setelah cedera, menandakan kematian sel yang dilemahkan dan keadaan oksidatif yang kurang berat. Namun, efek-efek neuroprotektif awal ini tidak dapat dicegah kehilangan volume kortikal atau hipokampus dalam jangka panjang, yang dapat menjelaskan mengapa defisiensi NE tidak ditemukan untuk meningkatkan kinerja perilaku pada 2 bulan pasca cedera. Temuan ini menunjukkan bahwa aktivitas NE berkontribusi terhadap edema yang

disebabkan cedera dan neurodegenerasi dini.

Dengan demikian, semakin jelas bahwa neutrofil terkait edema serebral dan kematian neuronal di cedera otak traumatik, tetapi hubungannya antara aktivitas neutrofil dan kerusakan sawar darah otak tidak begitu jelas seperti yang dipikirkan sebelumnya. Sangat mungkin bahwa perbedaan yang jelas antara sawar darah otak dan hambatan pembuluh darah lainnya di luar otak berarti bahwa struktur sawar darah otak memiliki hubungan yang berbeda dengan neutrofil yang masih harus dijelaskan. Untuk studi pada masa yang akan datang, akan penting untuk menyelidiki apakah edema vaskular pada cedera otak secara langsung bertanggung jawab untuk melepaskan zat sitotoksik yang menyebabkan kematian neuronal setelah cedera otak traumatik atau apakah neutrofil dan sel inflamasi lainnya dalam parenkim adalah sumber utama faktor neurotoksik yang mempromosikan edema sitotoksik dan awal neurodegenerasi pada cedera otak traumatik.

2.7.2 Makrofag Dan Mikroglia

Ada minat yang luar biasa dalam mendefinisikan peran makrofag dan mikroglia pada cedera otak traumatik. Mikroglia aktif dan makrofag melepaskan faktor pro-inflamasi dan anti-inflamasi yang dapat memberi sinyal ke sel yang menetap di sistem saraf pusat dan perifer untuk mempromosikan atau menyelesaikan respons inflamasi terhadap trauma. Mikroglia dan makrofag yang teraktivasi secara kronis telah ditemukan pada model tikus dan manusia setelah cedera otak traumatik dan

dianggap sebagai salah satu risiko inflamasi yang belum terselesaikan dan mungkin memiliki akibat jangka panjang.

Kelompok Penelitian lain telah menggunakan metode yang berbeda untuk menjelaskan mikroglia dan makrofag *in vivo* yang menghubungkan peran mereka dalam peradangan saraf yang disebabkan cedera otak traumatik, kerusakan jaringan, dan disfungsi neurologis. Dua dari metode ini menggunakan deplesi yang ditargetkan pada sel CD11b-expressing dengan transgenic CD11b-TK (thymidine kinase) dan CD11b-DTR (reseptor toxin difteri tikus). Sementara metode kedua itu efektif dalam mengurangi jenis sel target mereka pasca cedera otak traumatik, baik tanda-tanda kerusakan jaringan yang tidak dilemahkan seperti cedera aksonal dan ukuran lesi. Namun, perlu dicatat bahwa kedua pendekatan pengobatan yang digunakan untuk mengurangi ekspresi sel CD11b dalam penelitian ini ditemukan menyebabkan peradangan bahkan pada tikus yang tidak terluka. Oleh karena itu, ada kemungkinan akan memicu peradangan sebelum cedera berdampak pada hasil yang diamati dalam penelitian ini.

Reseptor kemokin CCR2 memainkan peran penting dalam perekrutan monosit atau makrofag ke otak, dan sebagai hasilnya, penekanan sinyal CCR2 sering dieksploitasi untuk mengurangi efek dari infiltrasi monosit atau makrofag dalam penelitian cedera otak traumatik. Banyak laporan baru-baru ini menunjukkan bahwa menghambat kejadian

yang dimediasi CCR2 dapat secara nyata membatasi neuroinflamasi pada cedera otak traumatik dan penurunan kognitif. Misalnya, Morganti dkk, menemukan bahwa CCR2 antagonis CCX872 mengurangi akumulasi makrofag perifer di otak dan mengubah pengaturan beberapa sitokin proinflamasi dan anti-inflamasi serta produksi NADPH oksidase (NOX2) setelah CCI. Efek-efek ini dikaitkan dengan disfungsi kognitif yang bergantung pada hipokampus yang berat. Demikian pula, kekurangan CCR2 dalam studi CCI lain mengurangi jumlah monosit infiltrasi dan menyelamatkan pembelajaran spasial jangka panjang dan defisit memori dalam *Morris water maze* (MWM) test. Kelompok lain mengganggu aktivitas CCR2 dengan cara *Red fluoresensi protein* (RFP) pada lokus gen *Ccr2* pada tikus. Dalam studi mereka, ditemukan bahwa gangguan CCR2 signaling mencegah perekrutan monocyte ke otak dan mengurangi volume rongga dan patologi aksonik setelah *fluid percussion injury* (FPI). Secara bersama-sama, penelitian ini menunjukkan bahwa penghambatan infiltrasi sel yang dimediasi CCR2 membatasi neurodegenerasi dan defisit neurologis setelah trauma otak.

Sebuah penelitian terbaru oleh Zanier dkk. menggunakan tikus KO CX3CR1 dengan mengganggu sinyal chemokine CX3CL1 untuk memahami pentingnya dalam mengontrol aktivitas sel myeloid di cedera otak traumatik. Setelah mendapatkan cedera CCI, hewan coba *knockout* CX3CR1 menunjukkan perlindungan neurologis 4 hari setelah cedera otak traumatik. Namun, sementara tikus tipe liar kembali ke tingkat pra-

cedera kinerja neuroscore oleh 5 minggu pasca-cedera, tikus yang mengalami pengurangan CX3CR1 masih menunjukkan gangguan yang cukup besar dalam kinerja neuroscore pada titik waktu ini. Penurunan kinerja neuroscore ini pada titik waktu kemudian pada Cx3cr1 - / - tikus dikaitkan dengan kematian neuronal persisten dan penurunan keseluruhan dalam jumlah neuronal. Investigasi lebih lanjut terhadap efek gangguan sinyal CX3CR1 pada makrofag dan mikroglia menunjukkan bahwa sel-sel ini menunjukkan fenotipe anti-inflamasi yang lebih protektif pada tikus *CX3CR1-null* yang cedera dibandingkan yang terlihat pada kontrol yang cedera pada titik waktu awal. Namun, pada 5 minggu pasca cedera otak traumatik, tikus defisien CX3CR1 menunjukkan tanda-tanda aktivasi sel mieloid yang meningkat dibandingkan dengan hewan tikus tipe liar. Secara bersama-sama, hasil ini menunjukkan bahwa sementara sinyal CX3CR1 awal mungkin memiliki efek yang merugikan, sinyal ini diperlukan pada titik akhir setelah cedera otak untuk mencegah peradangan jangka panjang dan gangguan kognitif.

Masalah lain yang dihadapi pada cedera otak traumatik adalah cara terbaik mendefinisikan jenis sel inflamasi. Menggunakan *principal component analysis* (PCA) dan analisis *microarray* makrofag otak, Hsieh *et al.* menemukan bahwa subset makrofag yang mengekspresikan M2 (makrofag yang diaktifkan alternatif) - penanda terkait arginase-1 (*Arg1*) memiliki profil transkripsi yang berbeda dari sel arginase1-negatif, tetapi bahwa gen yang diekspresikan setelah cedera otak traumatik tidak sesuai

dengan penanda M2 tradisional. Mereka menemukan bahwa sementara makrofag Arg1 + dan Arg1- mengekspresikan berbagai penanda M1 dan M2, mereka berbeda secara jelas dalam profil kemokin dan beberapa gen yang terlibat dalam perlindungan cedera dan penyembuhan luka. Data ini menunjukkan bahwa presentasi makrofag oleh M1 (makrofag yang diaktifkan secara klasik) atau fenotip M2 pada cedera otak traumatik mengaburkan subsets makrofag lain yang mungkin memiliki peran berbeda dalam respon cedera.

Data yang lain juga menunjukkan bahwa fenotip makrofag mungkin lebih fleksibel daripada yang pernah dipikirkan. Wang *et al.* Meneliti karakterisasi timeline M1 dan M2 macrophage/ aktivitas mikroglia setelah CCI. Dengan melacak makrofag / mikroglia M1 dengan marker CD16 / 32 dan makrofag M2 / mikroglia dengan CD206, mereka menemukan bahwa pada 3 dan 7 hari setelah cedera mayoritas sel Iba1 + diasumsikan fenotip M1, namun pada hari ke-5 terjadi peningkatan M2 macrophage / jumlah sel mikroglial. Pergeseran ini dari M1 ke fenotipe M2 dan kembali dapat memberikan perlindungan dari efek merugikan yang mungkin terjadi dari keadaan fenotip yang berkepanjangan. Para penulis juga menemukan bahwa cedera substantia Alba berkorelasi dengan sel M1, memuncak pada 3 dan 7 hari.

Mengklarifikasi waktu aktivasi dan fenotipe makrofag dan mikroglia kemungkinan penting untuk memahami bagaimana inflamasi yang tidak

terselesaikan dapat menyebabkan konsekuensi merugikan jangka panjang. Sebuah literatur mulai mendeskripsikan bagaimana mikroglia dan makrofag dapat dipicu oleh cedera otak traumatik dan menghasilkan respon imun berlebihan dan defisit fungsional pada akibat kekebalan sekunder. Misalnya, injeksi LPS pada 30 hari setelah cedera pada model FPI menginduksi produksi sitokin inflamasi yang lebih kuat oleh Sel mengekspresikan CD11b pada hewan yang mengalami cedera otak traumatik dibandingkan dengan kontrol. Ini dikaitkan dengan penurunan perilaku eksplorasi sosial pada 24 jam setelah injeksi LPS serta perilaku depresi. Kelompok yang sama ini juga menemukan bahwa tantangan kekebalan sekunder juga menyebabkan defisit belajar dan ingatan yang dapat dikaitkan dengan mediasi mikroglia yang diperantarai cedera otak traumatik. Data ini menunjukkan bahwa pada titik-titik waktu jangka panjang, ketika defisit perilaku tampaknya telah mengalami normalisasi setelah cedera otak, perubahan imunitas sekunder dapat menghasilkan penurunan kognitif lebih lanjut.

Secara bersama-sama, penelitian ini memberikan contoh bagaimana cedera otak traumatic mulai menandai migrasi makrofag dan mikroglia, aktivasi, dan priming dalam kaitannya dengan defisit fungsional setelah cedera otak traumatik. Pertimbangan penting untuk ranah ini adalah banyak peneliti memilih untuk mempelajari makrofag dan mikroglia sebagai populasi gabungan, mengakui bahwa sulit membedakannya dalam konteks peradangan menggunakan penanda saat ini, seperti

CD11b, CD45, CX3CR1, dan IBA1. Namun, mengingat pentingnya sel-sel ini di kedua area inflamasi jangka pendek dan panjang, teknik yang lebih khusus ditargetkan akan membantu untuk menentukan peran mereka. Selain itu, mengingat timeline aktivasi mereka, metode beradaptasi untuk mempelajari makrofag dan sinyal mikroglia selama fase akut dan kronis cedera otak traumatic akan diperlukan untuk mengungkap efek menguntungkan dan merugikan waktu serta mengidentifikasi jendela terapeutik yang efektif.

2.7.3 Sel T

Kinetika infiltrasi sel T telah dijelaskan pada pasien cedera otak traumatik dan hewan coba, tetapi masih belum jelas peran apa yang mereka mainkan dalam tanggapan penyembuhan luka akibat trauma otak. Dalam studi oleh Weckbach *et al.*, Rag1 - / - tikus digunakan untuk menyelidiki bagaimana ada tidaknya sel B dan sel T mempengaruhi patologi otak dan gangguan neurologis setelah cedera otak traumatik. Anehnya, kurangnya lengan adaptif dari sistem kekebalan tidak cukup mempengaruhi hasil neurologis, integritas sawar darah otak, mediator pro-apoptosis atau anti-apoptosis, arsitektur hipokampus, atau aktivasi astroglial.

Dalam penelitian terpisah, *Menci et al.* menggunakan agonis reseptor sphingosine-1-fosfat dan *sequinator* limfosit FTY720 untuk menghambat migrasi sel T ke otak setelah cedera otak traumatik. Sementara FTY720 tidak menurunkan jumlah limfosit yang beredar, itu

tidak memberikan perlindungan apapun kepada hewan coba yang mengalami cedera otak traumatik dalam hal volume lesi, neuroscore, neuron apoptosis, pemeliharaan BBB, atau edema. Namun, FTY720 ditemukan untuk mengurangi jumlah neutrofil dan makrofag atau mikroglia pada hemisphere ipsilateral pada 1 hari setelah cedera. Dengan demikian, investigasi masa depan harus mengevaluasi kemampuan sel T untuk mengatur infiltrasi sel kekebalan lainnya ke area-area cedera otak.

Untuk yang akan datang, penting untuk menjauhi metode yang mempromosikan cacat global dalam tanggapan sel T dan mempertimbangkan efek yang lebih spesifik dari subset sel T pada perkembangan cedera otak traumatik. Pada model-model cedera system saraf pusat lainnya, sel T telah ditemukan untuk memberikan neuroproteksi. Misalnya, Walsh *et al.* baru-baru ini melaporkan bahwa perlindungan setelah cedera *Spinal Cord Injury* (SCI) dibantu oleh sitokin spesifik yang berasal dari sel T, khususnya IL-4. Ketertarikan mereka pada IL-4 berasal dari pengamatan bahwa sel T di dalam lokasi cedera adalah produsen utama IL-4 dalam model mereka dan bahwa pemulihan fungsional nyata tertunda setelah SCI pada tikus *knockout* IL-4. Mereka menemukan bahwa membentuk kembali tikus Rag1^{-/-} dengan sel T defisieni IL-4 sebelum cedera tidak mengarah pada pemulihan fungsional. Selain itu, *My288-dependent Th2* condong dari sel T diperlukan untuk menghasilkan IL-4 dan menginduksi peningkatan release neurotrophin dan perkembangan aksonal baik secara *in vitro* dan *in vivo*.

2.8 Mediator Inflamasi pada Cedera Otak Traumatik

2.8.1 Interleukin-1

Interleukin-1 merupakan sitokin pro-inflamasi kuat yang terlibat dalam berbagai gangguan inflamasi dan neurologis. Sekresi IL-1 harus diatur secara ketat di otak, karena produksi IL-1 yang tidak diperiksa terbukti dapat memicu neuroinflamasi dan neurodegenerasi. Ada dua bentuk perbedaan dari IL-1 - IL-1 α dan IL-1 β - keduanya dapat menyebabkan level yang sama dari sinyal inflamasi setelah keterlibatan reseptor IL-1 (IL-1R). Meskipun IL-1 α dan IL-1 β menyebabkan timbulnya respons inflamasi hilir yang hampir identik, pola ekspresi dan persyaratan untuk aktivasi mereka sangat berbeda. IL-1 α secara konstitutif diekspresikan oleh semua sel inti, dan mensekresi IL-1 α secara penuh yang dapat mengirimkan sinyal inflamasi tanpa perlu modifikasi atau pemrosesan lebih lanjut. Sebaliknya, IL-1 β dihasilkan sebagai protein pro-form yang tidak aktif secara biologis yang membutuhkan pembelahan untuk memperoleh sifat inflamasi dan sekresinya. Aktivasi Caspase-1 di kompleks inflammasome telah muncul sebagai mekanisme utama untuk pembelahan IL-1 β dan pelepasan IL-1 α , meskipun penelitian terbaru juga mulai mengidentifikasi jalur inflammasome-independen tambahan yang mempromosikan produksi IL-1.

Interleukin-1 β adalah salah satu sitokin yang paling sering diukur dalam literatur traumatik, dan telah terbukti meningkat setelah cedera otak traumatik pada manusia dan tikus. Selama neuroinflammation, IL-1 β

diketahui memiliki efek mendalam pada permeabilitas BBB, aktivasi glial, perekrutan sel kekebalan tubuh, dan neurodegeneration dan kemungkinan salah satu mediator imun pertama saat puncaknya (awal) setelah cedera. IL-1 β diketahui sangat kuat meningkatkan respons inflamasi setelah cedera otak traumatik, dan ini menyebabkan banyak orang berpendapat bahwa produksi IL-1 dapat berdampak negatif pada hasil klinis setelah trauma otak.

Baru-baru ini, kemajuan telah dibuat menggunakan metode untuk menetralkan atau menentang aktivitas IL-1 β dalam cedera otak traumatik. Dalam dua penelitian yang berbeda, Clausen et al. memberikan antibodi penetral anti-IL-1 β untuk hewan yang cedera CCI selama 14 hari setelah cedera otak traumatik. Dalam penelitian ini, penetralan IL-1 β menyebabkan penurunan jumlah mikroglia / makrofag, neutrofil, dan sel T di otak, terutama pada 7 hari setelah cedera. Meskipun mereka tidak melaporkan perbedaan yang signifikan dalam kinerja koordinasi motorik selama uji rotarod, mereka mengamati kinerja yang lebih baik selama uji coba pembelajaran di MWM, serta penurunan kehilangan jaringan di titik akhir eksperimental untuk hewan yang diobati dengan anti-IL-1 β .

Pada model cedera CNS lainnya, Upregulasi IL-1 α mendahului IL-1 β dan dan penghapusan IL-1 α membatasi kerusakan saraf dan mendukung pemulihan fungsional yang cepat. IL-1 α juga telah disarankan untuk memulai loop inflamasi yang berkelanjutan dan ditingkatkan pada peningkatan regulasi IL-1 β , menghitung kelebihan pensinyalan IL-1 yang

biasa terlihat pada keadaan inflamasi. Dengan demikian, penelitian masa depan harus menyelidiki efek IL-1 α yang secara terpisah dari IL-1 β , karena ekspresi garis dasar, regulasi, dan sekresi mereka berbeda secara signifikan dan dengan demikian dapat mengontrol kinetika peradangan dengan cara yang berbeda.

Pada manusia, rekombinan IL-1 reseptor antagonist anakinra saat ini sedang diuji untuk mengobati cedera otak traumatik yang parah, karena telah menjanjikan (memberi harapan) dalam pengobatan stroke. Helmy dkk. menggunakan anakinra dengan analisis PCA untuk menunjukkan bahwa pensinyalan IL-1 adalah sebuah pengaturan hulu yang sangat penting dari produksi sitokin yang diinduksi oleh cedera otak traumatik. Yang mereka tunjukkan pada uji coba selanjutnya, dapat menyebabkan pergeseran makrofag untuk mengekspresikan tingkat yang lebih tinggi dari sitokin pro-inflamasi seperti *granulocyte-makrofag koloni-stimulating factor* (GM-CSF) dan IL-1 β . Hasil ini agak mengejutkan mengingat efek berlawanan pada IL-1 menandakan harapan adanya anakinra. tetapi ini menunjukkan bahwa eksplorasi lebih lanjut ke dalam mekanisme yang terlibat serta penggambaran fungsi-fungsi IL-1 α yang berbeda dan IL-1 β selama peradangan neuron kemungkinan akan menghasilkan wawasan kritis dalam regulasi patogenesis cedera otak traumatik oleh pensinyalan IL-1.

Seperti yang telah dijelaskan secara singkat di atas, pensinyalan *inflammasomes* telah muncul sebagai mekanisme utama yang terlibat

dalam produksi IL-1. Inflammasomes adalah kompleks multiprotein yang mengkoordinasikan produksi sitokin inflamasi caspase-1-mediated dan kematian sel. Studi terbaru menunjukkan bahwa regulasi yang menyimpang dari sinyal inflammasome adalah pendorong utama peradangan dan patologi dalam beberapa model kerusakan jaringan, termasuk stroke, degenerasi makula, dan iskemia ginjal. Inflammasomes terdiri dari sebuah molekul sensor seperti reseptor Nodlike (NLR) atau protein yang mengandung protein (PYHIN) reseptor keluarga pyrin / HIN, protein adaptor ASC (apoptosis terkait speck-like protein yang mengandung CARD), dan caspase-1. Sampai saat ini, lima reseptor - NLRP1, NLRP3, NLRC4, AIM2, dan PYRIN - telah ditemukan untuk mengembangkan pensinyalan inflammasome. Setelah mendeteksi adanya bahaya kognitif atau pemicu terkait patogen, NLR yang berhubungan dengan inflammasome dan reseptor keluarga PYHIN mempromosikan pembentukan kompleks inflamasi yang cepat. Perakitan terkoordinasi platform inflamomome multiprotein ini mempermosikan merangsang -aktivasi pembelahan-otomatis dari caspase-1.

Caspase-1 yang diaktifkan dapat membelah pro-IL-1 β dan pro-IL-18, yang diperlukan untuk memperoleh sifat inflamasi dan untuk sekresi mereka. Bioaktif caspase-1 juga memprovokasi pyroptosis, yang merupakan gas dermin D-dimediasi bentuk peradangan kematian sel yang terkait dengan pelepasan alarmins pro-inflamasi IL-1 α dan HMGB. Sejak di temukannya protein inflammasome diregulasi setelah TBI pada

pasien manusia, Perhatian yang signifikan telah diberikan untuk mengidentifikasi pensinyalan terkait inflammasome yang terkait dalam menanggapi trauma otak. Literatur inflammasome telah mengidentifikasi ekspresi NLRP1, NLRP2, dan NLRP3 serta inflamasi AIM2 di mikroglia, neuron, dan astrosit di CNS. Selanjutnya, penelitian terbaru dalam model cedera CNS menemukan peran penting untuk inflammasome signaling dalam mendorong respon inflamasi setelah kerusakan jaringan di CNS. Misalnya, SCI mengarah pada peningkatan regulasi dan perakitan komponen inflammasome NLRP1 pada neuron sumsum tulang belakang. Selain itu, penetralisir pengobatan antibodi anti-ASC juga ditemukan untuk memperbaiki hasil histopatologi dan fungsional mengikuti SCI dalam studi ini. Pada model stroke, metode untuk mengurangi inflammasome signaling, seperti antiNLRP1 antibodi penetralisir dan caspase-1 inhibitor, serta NLRP3, ASC, NLRC4, dan AIM2 tikus, semuanya menunjukkan tanda-tanda peningkatan pemulihan fungsional dan pengurangan dalam inflammasome signaling. Demikian pula, dalam model perdarahan intraserebral, baik RNA campur kecil dan inhibitor selektif reseptor purinergik P2X7R, yang telah terbukti meningkatkan aktivasi NLRP3 di beberapa pengaturan eksperimental, aktivasi inflammasome terbatas dan menyebabkan neuroprotection. Mempertimbangkan manfaat yang konsisten menghambat komponen inflammasome di seluruh model ini, inflammasome memberikan hasil yang menggiurkan untuk mengurangi cedera CNS.

Wawasan tambahan tentang waktu dan pentingnya inflammasomes dalam cedera CNS telah diperoleh dari studi TBI baru-baru ini. Dalam model FPI, komponen inflammasome, seperti ASC dan caspase-1, terbukti diregulasi dalam neuron kortikal hingga 24 jam pasca cedera. Co-immunoprecipitation dari inflammasome protein juga menunjukkan bahwa NLRP1 dan ASC bisa dideteksi dalam kompleks multiprotein di otak. Pengobatan dengan antibodi penetral ASC mengurangi aktivasi caspase-1 dan produksi IL-1 β dan juga mengurangi volume lesi, menunjukkan efek yang menguntungkan dari penargetan aktivitas inflammasome. Liu dkk. juga menunjukkan bahwa TBI menghasilkan ekspresi NLRP3, ASC, dan caspase-1 yang diregulasi. Selain itu, mereka melaporkan bahwa ekspresi protein terkait-inflammasome ini tetap meningkat hingga 7 hari pasca-cedera. Yang terpenting, komponen inflammasome dalam model ini terlokalisasi tidak hanya untuk neuron, tetapi juga untuk astrosit dan mikroglia, menunjukkan berbagai aktivasi inflammasome di seluruh jenis sel. Pengukuran kadar protein IL-1 β dan IL-18 juga menunjukkan bahwa sementara IL-1 β memuncak sekitar 6 jam setelah cedera dan kemudian menurun seiring waktu, ekspresi IL-18 tetap meningkat sampai 7 hari setelah cedera. Sesuai dengan temuan ini, sebuah penelitian yang lainnya juga melaporkan peningkatan IL-18 produksi setidaknya seminggu pasca-TBI pada manusia dan hewan percobaan. Data-data ini menunjukkan bahwa awal inflammasome produksi IL-1 β dapat terlibat

dalam peradangan akut dan kerusakan jaringan, sementara inflammasomedriven IL-18 dapat berkontribusi pada pengabdian inflamasi yang disebabkan oleh TBI. Perlu dicatat, bahwa dalam penelitian yang lebih baru NLRP1 atau tikus KO ASC menunjukkan peningkatan dalam volume lesi, histopatologi, kematian sel, atau fungsi motorik setelah cedera CCI. Ada kemungkinan bahwa perbedaan dalam tingkat pencabutan caspase-1 dan / atau waktu penghambatan inflammasome atau perbedaan dalam model cedera mungkin dapat membantu menjelaskan hasil yang berbeda yang dilaporkan dalam penelitian ini.

Meskipun peran penting untuk inflammasomes telah jelas diidentifikasi dalam model lain peradangan steril dan trauma, kontribusi spesifik aktivasi inflammasome ke patogenesis cedera otak traumatik baru-baru ini telah diteliti dan masih banyak pertanyaan berkaitan dengan hal tersebut. Misalnya, meskipun pembentukan kompleks inflammasome telah dilaporkan mengikuti cedera otak traumatik, peran yang dimainkan oleh inflammasomes spesifik dalam menggerakkan patologi terkait cedera otak traumatik dan disfungsi neurologis belum diteliti secara rinci pada model hewan. Selain itu, kontribusi individu dari sitokin yang berasal dari inflammasome (yaitu IL-1 α , IL-1 β , dan IL-18) dan kematian sel caspase-1-mediated pada patogenesis cedera otak traumtik masih tetap ditandai dengan buruk. Jenis-jenis sel utama di mana inflammasomes beroperasi untuk mempromosikan perkembangan cedera otak traumatik juga belum

secara formal didefinisikan hingga saat ini. Penargetan genetik komponen pemberian sinyal inflammasome pada tikus telah membantu penemuan peran penting untuk inflammasomes pada model peradangan steril lainnya. Penelitian Cedera Otak Traumatik in vivo pada masa yang akan datang bahwasanya memanfaatkan alat genetik ini akan membantu untuk lebih menggambarkan kontribusi dari aspek spesifik dari inflammasome signaling pada trauma otak.

2.8.2 Interleukin-6

Interleukin-6 sering dikaitkan dengan hasil cedera otak traumatik pada manusia, tetapi tidak jelas apakah perannya bermanfaat atau merugikan. Deteksi cairan mikrodialisis dari parenkim IL-6 produksi telah dikaitkan dengan peningkatan kelangsungan hidup pada pasien cedera otak traumatik. Namun, bukti yang lebih baru menunjukkan peran yang merugikan untuk IL-6 di cedera otak traumatik. Dalam penelitian ini, kadar IL-6 plasma ditunjukkan secara signifikan lebih tinggi pada pasien cedera otak traumatik berat dibandingkan pasien cedera otak traumatik sedang. Tingkat serum IL-6 subakut dan kronis telah dikaitkan dengan hasil jangka pendek dan jangka panjang yang kurang baik. Dalam memisahkan pasien manusia oleh lintasan IL-6 cairan serebrospinal (CSF) tinggi atau rendah, pasien lintasan yang tinggi memungkinkan memiliki hasil klinis yang kurang baik. Dengan demikian, sementara peran IL-6 dalam cedera otak traumatik masih belum jelas, data dari pasien cedera otak traumatik menunjukkan bahwa IL-6 secara konsisten diregulasi setelah cedera otak

traumatik dan dapat tetap meningkat pada tahap kronis, menjadikannya sebagai mediator yang penting untuk hasil jangka panjang.

Penelitian pada hewan awal membuktikan bahwa IL-6 meningkat pada CSF dan serum setelah cedera otak traumatik. Bukti dari tikus knockout IL-6 juga telah menegaskannya sebagai sitokin pro-inflamasi yang merekrut glia dan sel-sel kekebalan yang diaktifkan ke tempat cedera. Memang, ablasi genetik IL-6 pada tikus cryolesioned menghasilkan lebih sedikit reaktif astrosit dan makrofag dan peningkatan kematian neuronal. Sebaliknya, overekspresi IL-6 dalam astrosit meningkatkan rekrutmen glia dan sel imun ke situs lesi dan menurunkan baik stres oksidatif dan kematian neuronal. Studi-studi ini menunjukkan bahwa peran IL-6 dalam menginduksi peradangan dan pembentukan bekas luka glia penting dalam mengurangi kematian sel yang berkepanjangan. Sebuah studi CCI kemudian juga menunjukkan efek menguntungkan dari IL-6 dengan menunjukkan bahwa kekurangannya mengarah ke kinerja yang jauh lebih buruk pada tes perilaku serta tingkat protein IL-1 β yang lebih tinggi dalam korteks, menunjukkan bahwa IL-6 dapat menjadi pengatur penting dari IL-1 β dalam cedera otak traumatik. Namun, penelitian yang lebih baru menggunakan model penurunan berat badan menunjukkan bahwa netralisasi sistemik dari IL-6 meringankan beberapa efek inflamasi dan perilaku hipoksia pada memperburuk respon pasca-cedera, menyiratkan bahwa mengurangi respon inflamasi yang disebabkan oleh IL-6 memang dapat memberikan pelindung saraf dan

mengarah pada hasil yang lebih baik. Ketika mempertimbangkan jenis penelitian ini, penting untuk diingat perbedaan antara penghapusan lengkap atau sebagian gen dan / atau produknya. Sangat mungkin bahwa beberapa tingkat IL-6 diperlukan untuk menghasilkan keadaan peradangan yang secara positif mempengaruhi hasil seperti tiap-tiap eliminasi lengkap atau ekspresi yang berlebihan dari IL-6 yang bisa merugikan.

2.8.3 Tumor Necrosis Factor α

Pada awalnya peran faktor nekrosis tumor alpha (TNF- α) pada model tikus yang mengalami cedera otak traumatik menunjukkan bahwa ia memiliki efek merusak awal setelah cedera otak traumatik sementara menunjukkan efek protektif lebih tahap kronis. Namun, penelitian lain menyarankan bahwa TNF α diperlukan untuk melindungi dari kematian dini dalam satu minggu cedera. Terlepas dari kontradiksi ini, literatur tentang TNF α pada cedera otak traumatik secara konsisten menunjukkan peningkatan regulasi sitokin setelah cedera, menunjukkan peran penting untuk TNF α baik pada fase akut dan kronis.

Pentingnya TNF awal setelah cedera baru-baru ini dikonfirmasi dalam model penurunan berat badan. Dalam penelitian ini, tikus yang menerima inhibitor TNF α pada 1 dan 12 jam setelah cedera menunjukkan peningkatan kinerja kognitif pasca cedera 1 minggu, tetapi tidak untuk tikus yang diberikan inhibitor 18 jam pasca cedera, menyiratkan waktu yang sangat singkat untuk terapi penargetan TNF- α setelah cedera otak

traumatik. Penelitian lebih lanjut pada tikus yang diberi inhibitor dalam 1 jam menunjukkan neuron apoptosis yang lebih sedikit dan kurang astrogliosis pada 72 jam setelah cedera pada korteks dan *dentate gyrus*. Penelitian ini membutuhkan waktu 12-jam untuk dilakukannya pengamatan setelah cedera selama efek merugikan TNF- α dapat dilemahkan, dan menunjuk ke arah hubungan sementara antara TNF α dan astrogliosis yang berkepanjangan dan kematian neuronal.

Dari Taupin et al. (1993), Shohami et al. (1994), Fan et al. (1996), Knobloch et al. (1999), Dalgard et al. (2012); Pada Penelitian Tikus yang mengalami cedera otak traumatik didapatkan pada jaringan otak terjadi peningkatan mRNA TNF dan ekspresi protein TNF dideteksi ada pada 1 jam pertama dan mencapai puncaknya antara 4-8 jam pasca cedera otak. Knobloch et al. (1999) melaporkan pada penelitian tikus yang mengalami cedera otak terbukti adanya peningkatan ekspresi TNF setelah cedera otak berat.

Yan et al. (2011) melaporkan pada penelitian tikus yang mengalami DAI dan hipoksia post trauma didapatkan peningkatan ekspresi TNF dibandingkan pada tikus yang hanya mengalami DAI. Sedangkan Stover et al. (2000) melaporkan tikus dengan model CCI didapatkan puncak kadar TNF di LCS kurang dari 24 jam setelah perlakuan.

Goodman et al. (1990), Ross et al. (1994), Morganti-Kossmann et al. (1997), Csuka et al. (1999) melaporkan pada manusia yang mengalami cedera otak traumatik dengan pemeriksaan LCS, Serum dan plasma didapatkan peningkatan kadar TNF pada LCS, serum dan plasma setelah cedera otak traumatik. Frugier et al. (2010) melaporkan pada manusia

yang meninggal pasca cedera otak dengan jaringan post mortem didapatkan protein dan mRNA TNF dapat terdeteksi pada otak dalam hitungan menit setelah cedera otak. Hayakata et al. (2004) melaporkan pada manusia yang mengalami cedera otak berat didapatkan konsentrasi Protein TNF mencapai puncak dalam 24 jam pasca cedera otak.

Shiozaki et al. (2005) melaporkan pada manusia yang mengalami cedera otak traumatik berat dengan sampel serum dan LCS, didapatkan 6 jam setelah trauma ekspresi TNF lebih tinggi di LCS dibandingkan serum dan ada korelasi level TNF dengan peningkatan tekanan intrakranial dan penurunan tekanan perfusi otak, tetapi tidak mempengaruhi outcome.

Stein et al. (2011) melaporkan pada manusia yang mengalami cedera otak traumatik berat dengan sampel serum dan LCS, peningkatan kadar TNF serum berhubungan dengan peningkatan peningkatan tekanan intrakranial dan penurunan tekanan perfusi otak, tetapi tidak mempengaruhi outcome serta kadar TNF di LCS tidak berhubungan dengan peningkatan tekanan intrakranial dan penurunan tekanan perfusi otak dan outcome.

Selain mendefinisikan waktu aktivitas TNF α pada cedera otak traumatik, penting untuk menjelaskan jalur pro-apoptosis dan pro-survival di mana ia berpartisipasi mengikuti trauma otak. Dalam hubungannya dengan perannya sebagai jalur inflamasi utama, TNF α diketahui menginduksi proliferasi sel dan apoptosis melalui beberapa jalur pensinyalan. Sementara aktivasi faktor transkripsi, seperti NF-kB dan AP-1, dapat menyebabkan transkripsi mediator inflamasi dan apoptosis, sinyal melalui reseptor kematian untuk mengaktifkan caspases juga dapat memainkan peranan penting dalam menentukan kematian sel atau kelangsungan hidup. Artikel terbaru oleh Longhi dkk. menunjukkan bahwa

penghapusan terpisah baik TNF receptor 1 (TNFR1) atau 2 (TNFR2) dapat memiliki efek yang berlawanan pada kelangsungan hidup sel dan defisit perilaku. Penelitian ini menunjukkan bahwa reseptor TNF dapat memainkan peran yang berbeda pasca-cedera, dengan TNFR2 memberikan peran neuroprotektif dan TNFR1 memainkan satu yang merugikan.

Pertimbangan penting tentang pensinyalan TNF α adalah karena ekspresi TNFR1 yang jauh lebih luas di seluruh tipe sel serta kemampuannya untuk menanggapi kedua bentuk TNF (baik yang larut maupun transmembran), reseptor ini dapat memiliki konsekuensi inflamasi yang lebih potensial daripada rekannya TNFR2. Selain itu, telah ditunjukkan bahwa TNFR1 dapat memberi sinyal melalui jalur apoptosis NF- κ B, JNK, dan caspase-mediated, sementara itu lebih umum untuk TNFR2 untuk melibatkan NF- κ B dan PI3K untuk menginduksi pro-inflamasi dan *pro-survival signaling*. Dengan demikian, mengkonsolidasikan bukti yang tampaknya bertentangan untuk peran TNF α dalam TBI berkaitan dengan kematian sel dan hasil klinis kemungkinan akan melibatkan kondisi di mana berbagai bentuk dan reseptornya berpartisipasi dalam kelangsungan hidup yang berbeda atau jalur kematian dan garis waktu di mana sinyal ini akan terjadi. Akibat respon terhadap cedera otak maka mikroglia dan astrositus melepaskan TNF alpha.

Pada penelitian Oshima; T. et al. 2009. menunjukkan bahwa TNF- α terlibat dalam pemulihan fungsi neuromotor setelah cedera otak traumatik. Hasil ini memberikan bukti bahwa TNF- α terlibat dalam plastisitas neuroanatomi dan pemulihan fungsional setelah cedera otak pada jaringan sistem saraf pusat. TNF- α berkontribusi untuk *axonal sprouting*

dan *recovery* fungsional setelah cedera otak traumatik. Dibawah ini terdapat kumpulan penelitian tentang TNF alpha pada cedera otak traumatik (Woodcock, T., & Morganti-Kossmann, M. C. 2013).

Tabel. 2.8.3. Penelitian yang relevan terhadap *cytokine* TNF sebagai biomarker cedera otak traumatik

Cytokine	Spesies	Cedera/ Model	Jaringan/ Cairan	Hasil	Referensi
TNF	Tikus	<i>TBI</i>	Homogenitas Otak, Otak	Peningkatan mRNA dan ekspresi protein yang terdeteksi dalam 1 jam dan ekspresi puncak dalam 4-8 jam setelah TBI	Taupin et al. (1993), Shohami et al. (1994), Fan et al. (1996), Knoblach et al. (1999), Dalgard et al. (2012)
	Tikus	<i>LFP</i>	Homogenitas Otak	Ekspresi TNF meningkat setelah <i>severe TBI</i> tetapi tidak pada <i>mild TBI</i>	Knoblach et al. (1999)
	Tikus	<i>DAI-Hypoxia</i>	Homogenitas Otak	DAI dan hipoksia traumatik meningkatkan ekspresi TNF dibandingkan DAI sendiri	Yan et al. (2011)
	Tikus	<i>CCI</i>	LCS	Puncak kadar TNF pada LCS tidak terjadi dalam 24 jam	Stover et al. (2000)
	Manusia	<i>TBI</i>	LCS, serum plasma	Terjadi peningkatan kadar TNF pada LCS, serum, dan plasma setelah TBI	Goodman et al. (1990), Ross et al. (1994), Morganti-Kossmann et al. (1997), Csuka et al. (1999)

Manusia	<i>TBI</i>	Jaringan post mortem	mRNA TNF dan TNF dapat dideteksi beberapa menit setelah cedera	Frugier et al. (2010)
Manusia	<i>Severe TBI</i>	LCS	Puncak kadar TNF pada LCS terjadi dalam 24 jam	Hayakata et al. (2004)
Manusia	<i>Severe TBI</i>	LCS, serum	6 jam setelah trauma, kadar TNF lebih tinggi pada ICS dibandingkan serum dan tidak berkorelasi terhadap <i>outcome</i>	Shiozaki et al. (2005)
Manusia	<i>Severe TBI</i>	LCS, serum	Peningkatan kadar TNF serum berkorelasi dengan peningkatan ICP dan penurunan CCP tetapi tidak dengan <i>outcome</i> . Kadar TNF pada CSF berhubungan dengan ICP, CCP, dan <i>outcome</i>	Stein et al. (2011)

2.8.4 Neuroplastisitas dan Neurorepair

Neuroplastisitas adalah kapasitas dari neuron dan jaringan neural di otak untuk merubah hubungan dan perilakunya dalam respon terhadap informasi baru, stimulus sensori, perkembangan, kerusakan, atau disfungsi. Neuroplastisitas merupakan kemampuan otak melakukan reorganisasi dalam bentuk adanya interkoneksi baru pada saraf. Walaupun jaringan neural juga menampilkan modularitas dan fungsi yang spesifik, jaringan neural juga mempertahankan kapasitas untuk menyimpang dari fungsi biasa mereka dan mereorganisasinya kembali sendiri. Manfaat daya neuroplastisitas dapat dibagi menjadi tiga, yaitu:

1. Digunakan untuk perkembangan postnatal
2. Sistem saraf dapat beradaptasi dengan perubahan kebutuhan
3. Kompensasi hilangnya fungsi dan mengorganisasi ulang sistem saraf untuk menggantikan fungsi yang hilang

Faktor eksternal dan internal dapat menyebabkan neuroplastisitas. Penghilangan input merupakan promotor terkuat perubahan dalam sistem sensorik, tapi kerusakan seperti trauma, inflamasi dan kompresi atau iritasi saraf sensorik juga sering menunjukkan neuroplastisitas. Rangsangan berlebihan mungkin juga mempromosikan ekspresi neuroplastisitas dan dapat mempengaruhi keseimbangan antara inhibitor dan eksitasi. Jejas pada sistem saraf pusat seperti pada stroke dan trauma juga menyebabkan ekspresi neuroplastisitas. Perubahan morfologi dan kimiawi yang berkaitan dengan usia juga dapat menyebabkan neuroplastisitas. Perubahan plastisitas di sistem saraf dapat muncul dalam 4 cara (Howell, JC, et al. 2003; Kulak W & Sobaniec W; 2004; Seledtsov VI, et al. 2005; Moller R, 2006) :

1. Dengan perubahan fungsi di sinaps, secara ekstrim melepaskan sinaps yang dorman, atau menutupi sinaps yang efisien
2. Dengan mengurangi atau memodifikasi sintesis protein dan aktivitas proteinase di sel saraf.
3. Dengan pembentukan hubungan anatomis baru(penyebaran akson dan dendrit) atau eliminasi dari koneksi yang telah ada sebelumnya atau dengan mempengaruhi sinaps secara morfologis
4. Proses apoptosis

Ekspresi dari plastisitas saraf dapat menyebabkan reorganisasi dari sistem saraf untuk cakupan tertentu, dan hal itu dapat mempengaruhi

hubungan antara sel-sel di struktur spesifik dari sistem saraf pusat seperti bagian dari korteks serebral dan mungkin mengubah pengolahan informasi dan informasi saraf re-direct (Howell, JC, et al. 2003; Kulak W & Sobaniec W; 2004; Seledtsov VI, et al. 2005; Moller R, 2006).

Pengalihan informasi dapat menyebabkan aktivitas saraf yang dicetuskan oleh stimulasi sensorik untuk mencapai daerah otak yang biasanya tidak terlibat dalam proses tertentu, atau mungkin menyebabkan informasi untuk melewati bagian neuron yang normalnya diaktifkan. Misalnya, perubahan jalur dapat menyebabkan informasi sensorik untuk mencapai sistem limbik melalui rute subkortikal melalui dorsal thalamic nuclei sehingga melewati proses yang biasanya terjadi di korteks serebral sebelum informasi tersebut mencapai struktur limbik. perubahan serupa di jalur informasi dapat menyebabkan informasi untuk melewati sensor primer korteks dan mencapai korteks sekunder dan asosiasi langsung (Howell, JC, et al. 2003; Kulak W & Sobaniec W; 2004; Seledtsov VI, et al. 2005; Moller R, 2006).

Pengeluaran dari neuroplastisitas dapat mengeksitasi neuron atau perubahan antara eksitasi dan inhibisi yang dapat mengakibatkan hipoekstiasasi atau hipereksitasi. Perubahan plastisitas pada fungsi SSP dapat muncul dalam berbagai tingkat (jangka pendek atau jangka panjang). Ekspresi dari neuroplastisitas yang menimbulkan simptom dan gejala dari suatu penyakit yang muncul dalam jangka waktu tertentu umumnya bersifat stabil dan berlangsung lama. Perubahas demikian dapat disebabkan dari pembentukan atau eliminasi sinaps atau dengan modifikasi dari ukuran dan efikasinya, atau kemunculan akson dan dendrit secara lokal (Howell, JC, et al. 2003; Kulak W & Sobaniec W; 2004; Seledtsov VI, et al. 2005; Moller R, 2006).

2.8.5 Perubahan fungsional

Suatu sel akan mengaktifkan atau tidak mengaktifkan sel, suatu potensial aksi di akson sel bergantung pada

1. Masukan ke sel
2. Aktifitas presinaps
3. Efikasi dari sinaps
4. Sensitisasi
5. Ketersediaan Neural transmitter
6. Sintesis protein dan aktivitas protease
7. Keseimbangan antara inhibisi dan eksitasi dan ambang batas dari membran potensial sel

Perubahan pada input dapat secara fungsional membuka atau menutup sinaps, perubahan dari aktivitas yang stabil ke letupan aktivitas yang biasanya dapat dilihat pada syaraf yang cedera, dapat mengakibatkan aktivasi terget neuron yang seharusnya tidak teraktivasi pada keadaan stabil. Cedera jaringan merupakan penyebab tersering dari sensitasi sirkuit rasa nyeri. Cedera jaringan dapat mengakibatkan rentetan aktivasi dari neuroplastisitas, yang dapat mengakibatkan :

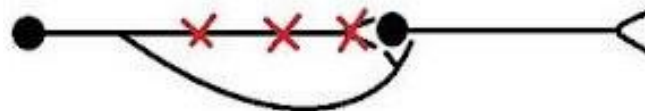
1. Perubahan ekspresi gen
2. Perubahan fenotip (Substansi P, peptida kalsitonin, CGRP, BDNF, serabut saraf myelin besar).

Berdasarkan konsep plastisitas maka bila ada kerusakan pada otak dimungkinkan untuk terjadi proses recovery (pemulihan):

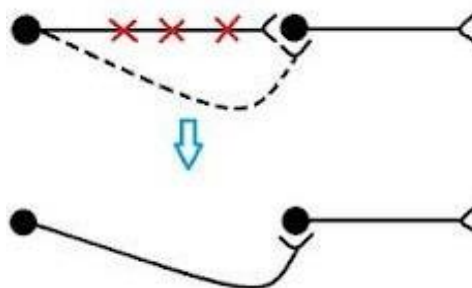
- a) **Fase *Diaschisis***, dikategorikan sebagai pemulihan spontan dan reorganisasi mekanisme neural (perbaikan neurologis).

Gangguan laten dari aktivitas neuronal di dekat area kerusakan, di mana terjadi penurunan suplai darah dan metabolisme. Biasanya pasien menunjukkan gejala flaccid, setelah itu terjadi pemulihan dini (3-4 minggu setelah lesi/kerusakan) biasanya disebabkan oleh resolusi dari diaschisis, hilangnya edema serebri, perbaikan fungsi sel saraf daerah penumbra, serta adanya kolateral dapat terjadi dalam waktu yang tidak lama. Plastisitas Otak terjadi setelah fase diaschisis apabila dibutuhkan melalui mekanisme regeneration yang disebut Silent Synapsis Recruitment.

- b) **Denervation Supersensitivity:** bila pada salah satu serabut saraf rusak, maka serabut saraf yang masih baik akan mengambil alih fungsi serabut saraf yang rusak.

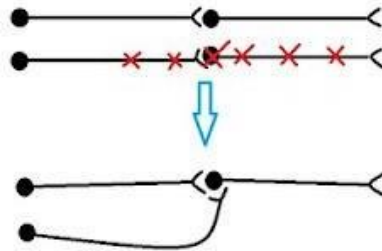


- d. **Silent synapsis Recruitment:** bila synapsis utama rusak, maka synapsis yang tersembunyi fungsinya akan dioptimalkan.

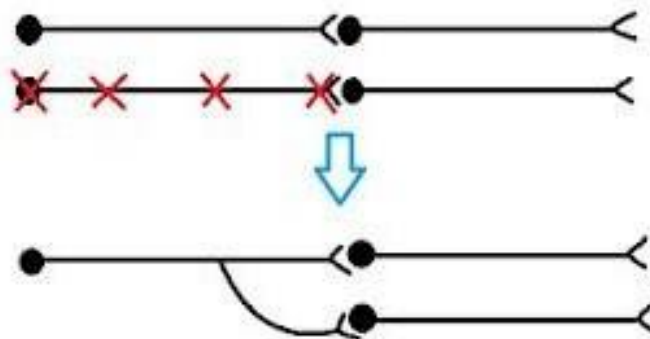


- e. **Axonal Regeneration:** ada dua synapsis, jika salah satu mengalami lesi, maka akan melakukan regenerasi ke synapsis

yang masih baik serta mengalihkan fungsinya ke synapsis yang ditumpangi.



- d. **Collateral Sprouting:** jika salah satu synapsis rusak maka fungsinya diambil alih oleh synapsis yang masih baik.



Beberapa efek klinis dari obat-obatan neuroprotektif pada cedera otak akut masih meragukan sehingga perlu mencari pendekatan baru guna menyelamatkan hidup serta fungsi otak pasien dengan cedera otak. Sistem saraf pusat memiliki karakteristik yang unik (Howell, JC, et al. 2003; Kulak W & Sobaniec W; 2004; Seledtsov VI, et al. 2005; Moller R, 2006)

2.9 Tatalaksana Cedera Otak

Tatalaksana pasien cedera otak traumatik harus didasarkan pada Pedoman *Advanced Trauma Life Support (ATLS)*, yang terdiri dari survei primer dan sekunder. Survei primer harus dilakukan dengan cepat, pengelolaan jalan napas, pernapasan, dan sirkulasi. Langkah-langkah ini harus diikuti oleh survei sekunder yang cermat, identifikasi disabilitas dan exposure. Biasanya, manajemen cedera otak traumatik dimulai dengan mengidentifikasi *insult* primer dan *insult* sekunder. *Insult* primer dapat terjadi di mana saja di jaringan otak, baik sebagai cedera fokal atau difus. Sedangkan *insult* sekunder akan terjadi sebagai akibat dari *insult* primer dan biomekanisme cedera otak. *Insult* sekunder dapat bermanifestasi sebagai edema otak, hematoma, dan cedera otak eksitotoksik. *Insult* sekunder juga dapat disebabkan oleh lesi ekstrakranial, seperti syok atau oksigenasi yang tidak adekuat. (Reilly PL, Lewis SB, 1997).

Observasi yang ketat pasien dengan cedera otak traumatis harus dipertimbangkan. Pemantauan berikut ini direkomendasikan selama perawatan intensif pasien dengan cedera otak traumatik :

1. Tanda vital
2. Keseimbangan cairan

3. Monitor Tekanan Intracranial (ICP)

4. *Oxymetri Jugular Bulb*

5. Oksimetri Serebral

Prinsip dasar dari manajemen cedera otak traumatis adalah untuk meminimalkan penghinaan otak sekunder yang berpotensi berkembang. Itu termasuk mempertahankan perfusi otak, oksigenasi yang memadai, menghindari hiper atau hipokapnia, menghindari hiper atau hipoglikemia, serta menghindari penghinaan iatrogenic (Moppet IK, 2007). Beberapa strategi dapat diterapkan untuk mengoptimalkan perawatan :

1. Pertahankan tekanan arteri
2. Administrasi Mannitol
3. Kontrol kadar glukosa darah
4. Cegah dan obati kejang
5. Pemberian obat-obat neuroprotektif.

2.10 Neuroproteksi

Konsep neuroproteksi pertama kali dijelaskan pada Zaman Yunani dengan terlebih dahulu menerapkan suhu dingin untuk menyembuhkan cedera dan stroke. Pada 1960, ahli bedah saraf menggunakan suhu dingin selama operasi pembuluh darah intrakranial. Pengukuran hipotermia juga diperkenalkan oleh Lazorthes dan Campan pada tahun

1958 dengan menggunakan metode ini pada pasien yang mengalami cedera otak. Mereka percaya bahwa hipotermia moderat bermanfaat, dibandingkan dengan komplikasi sistemiknya (Teasdale et al. 1997; Vink et al. 2004).

Tujuan utama dari neuroproteksi pada pasien yang cedera otak adalah untuk mencegah serta mengurangi efek cedera sekunder. Tujuan lain dari pemberian agen neuroprotektif adalah untuk membantu pemulihan sel. Mekanisme perlindungan saraf diyakini dibagi menjadi mekanisme absolut dan relatif. Mekanisme absolutnya adalah faktor neurotropik, molekul mirip faktor neurotropik, dan sitokin. Di sisi lain, mekanisme relatif terdiri dari modulasi saluran kalium dan natrium, modulasi reseptor NMDA antagonis, modulasi reseptor GABA antagonis, antioksidan, anti-radikal bebas, adhesi molekul, agonis dan adenosin antagonis (Muresanu et al. 2007). Neurogenesis adalah proses regenerasi sel-sel neuron pada mammalia dan manusia. Neurogenesis akan menghasilkan neuron terjadi pada fase embrionik dan dewasa yang terjadi pada zona suventrikuler dan banyak faktor yang mempengaruhi. Neurorepair merupakan perbaikan dari suatu sistem neuron, pemulihan fungsi secara spontan yang terjadi secara alami pada stroke dan cedera otak pada sifat jalur neuronal dan stimulasi plastisitas. Neuroprotektor adalah kemampuan untuk mencegah kematian neuron dengan melakukan intervensi dan menghambat kaskade patogenetik yang mengakibatkan disfungsi sel dan nekrosis. Neuroplastisitas adalah kemampuan otak untuk mengatur ulang dirinya sendiri dengan membentuk koneksi saraf baru sepanjang kehidupan neuron dan memungkinkan untuk

mengkompensasi cedera atau penyakit sebagai respons terhadap kondisi yang baru atau perubahan lingkungan (Anthony H.V. 2010.)

2.11 Neurogenesis

Neurogenesis atau proliferasi sel merupakan bagian awal pada proses pembentukan neuron, kemudian bermigrasi serta bertahan hingga menjadi dewasa dan terintegrasi serta berfungsi sebagai neuron baru (Emsley et al., 2005). Pada otak dewasa, proliferasi sel diperankan oleh neural stem cell (NSC) dan neural progenitor cell (NPC). NSC memiliki sifat “self-renew” yang berproliferasi dan berkembang menjadi neural progenitor cell (NPC) yang aktif berproliferasi. NPC kemudian bermigrasi dan akhirnya berdiferensiasi menjadi neuron ataupun glia. Neurogenesis pada otak dewasa terjadi pada dua area yaitu zona subventrikular (ZSV) di daerah ventrikel lateral dengan NSC yang akan menjadi neuron di bulbus olfaktorius (BO), dan zona subgranular (ZSG) pada hippocampus dengan NSC yang akan menjadi neuron di lapisan granular girus dentatus (Suh et al., 2009).

2.11.1 Zona Subventrikular pada Ventrikel Lateral

Pada zona subventrikular terdapat 4 tipe sel yaitu (1) sel ependimal bersilia (tipe E) yang berhadapan dengan lumen ventrikel yang berfungsi dalam mengatur sirkulasi cairan serebrospinal, sel-sel yang berproliferasi lambat (tipe B), (3) sel-sel yang aktif berproliferasi (tipe C), dan (4) neuroblast yang berproliferasi (tipe A) (Doetsch et al., 1997; Alvarez-Buylla et al., 2002).

Dalam proses perkembangannya, NSC atau sel tipe B akan berkembang menjadi sel tipe C sebagai sel progenitor (NPC) yang

selanjutnya akan menjadi sel tipe A yang merupakan neuroblast yang akan bermigrasi ke bulbus olfaktorius. Hal ini ditunjukkan dari efek pemberian obat antimitotik berupa cytosine- β -D-arabinofuraoside (AraC) secara infusi ke intraserebroventrikular. Setelah 1 minggu pemberian AraC menunjukkan tereliminasi sel-sel tipe C dan A, namun sel tipe B terus membelah. Antara 1-2 hari setelah perlakuan dihentikan, terlihat kembali sel-sel tipe C yang diikuti 2 hari selanjutnya oleh sel-sel tipe A. Hal ini menunjukkan bahwa sel tipe B berkembang menjadi sel tipe C yang akan membentuk neuroblast tipe A (Doetsch et al., 1999).

Sel-sel progenitor di ZSV setidaknya membutuhkan 15 hari untuk regenerasi, selanjutnya bermigrasi sejauh 3-5 mm dan berdiferensiasi menjadi sel-sel interneuron di bulbus olfaktorius. Migrasi dari ZSV menuju bulbus olfaktorius membutuhkan waktu sekitar 2-6 hari. Sel-sel yang telah bermigrasi ke bulbus olfaktorius akan mengalami pertumbuhan dendritik dan berdiferensiasi menjadi dua tipe interneuron di intrabulbar yaitu sebagian besar menjadi sel-sel granular gamma aminobutiric acid (GABA) dan sebagian kecil menjadi sel-sel periglomerular (Belluzzi et al., 2003; Carleton et al., 2003).

2.11.2 Zona Subgranular Hippocampus

Zona subgranular terletak di lapisan terdalam dari lapisan granular yang berbatasan dengan hilus girus dentatus. Sel-sel pada area ini dibagi menjadi sel yang mirip dengan sel tipe B yang bersifat sebagai sel stem (tipe 1) yang membelah secara asimetris. Sel tipe B kemudian menjadi sel-sel progenitor neuronal dan glial (tipe II) dan selanjutnya akan berkembang menjadi neuroblast (tipe III) yang akan bermigrasi ke lapisan granular. Sel yang bermigrasi akan menjadi sel yang mature untuk

terintegrasi dan berfungsi sebagai jaringan komunikasi (Abrous et al., 2005; Lazarov et al., 2010).

Adanya inisiasi pembelahan akan membuat sel berada di dalam siklus sel selama 3 hari untuk mengalami mitosis (Steiner et al., 2004). Sel mitosis kemudian menjadi sel post mitotik immature dan selanjutnya menjadi sel yang mature. Sel post mitotik immature keberadaannya dapat ditemukan 1-7 hari setelah terlabelnya sel-sel yang membelah atau mitotik. Sedangkan sel post mitotik mature ditemukan 3 hari hingga 3 minggu setelah generasi sel (Kuhn et al., 1996).

Sel post mitotik di girus dentatus akan berdiferensiasi menjadi sel neuronal yang mengalami perpanjangan akson menuju cornu ammonis 3 (CA3). Pada tikus, perpanjangan akson menuju CA3 terjadi sekitar 4-10 hari setelah mitosis. Sehingga proses neurogenesis yaitu yang dimulai dari proliferasi sel hingga migrasi dan berdiferensiasi menjadi sel-sel neuronal di formasi hippocampus diperkirakan membutuhkan waktu lebih kurang 4 minggu (Cameron et al., 1993).

2.12 Neurorepair

Otak manusia dewasa memiliki kemampuan secara fisiologis dalam perbaikan fungsi motorik dan pemulihan kognitif. Iskemia otak menyebabkan terjadinya neurogenesis dan angiogenesis secara bersamaan di mana kedua proses tersebut saling berhubungan dalam meningkatkan neurorepair. Endogen progenitor *nerve stem cell* (NSC) yang pada otak normal berfungsi dalam mempertahankan kapasitas untuk menghasilkan neuron baru dan sel glial selama kehidupan dewasa.

Progenitor NSC mampu menghasilkan neuroblasts dalam otak manusia dewasa yang terletak di zona subventricular dari ventrikel lateral dan di dentate gyrus dari hippocampus. Dalam kondisi fisiologis neuroblasts dari zona subventricular bermigrasi ke arah olfactory bulb di mana mereka berubah menjadi neuron. Pada respon iskemia otak, sel saraf berkembang biak di zona subventricular ipsilateral dan bermigrasi ke arah zona sekitar infark yang akan tumbuh menjadi sel saraf dewasa yang menjadi bagian dari sirkuit saraf fungsional (Cramer, 2010).

Studi neuropatologis telah menunjukkan peningkatan proliferasi sel dan di neuroblasts di zona subventricular pada pasien yang meninggal. Namun, banyak dari neuron dewasa yang baru terbentuk dan saraf sel mati dan tidak pernah diintegrasikan ke dalam sirkuit saraf fungsional. Untuk alasan ini, penting untuk mengembangkan strategi seluler dan farmakologis baru untuk meningkatkan neurogenesis mengarah ke sirkuit neuronal fungsional (Greenberg 2008).

Angiogenesis adalah salah satu komponen utama dari proses pasca inflamasi sebagai salah satu komponen neurorepair dan perbaikan vaskular. Angiogenesis menginduksi neoformasi kapiler dalam menanggapi proliferasi dan migrasi sel induk primordial yang berasal dari pembuluh darah yang adadan memiliki peran utama dalam respon neurogenesis Angiogenesis dapat diamati beberapa hari setelah stroke iskemik dan telah menunjukkan bahwa kepadatan kapiler lebih tinggi

berkorelasi dengan kelangsungan hidup lebih lama. Faktor proangiogenic seperti BDNF, VEGF, dan metalloproteinase berperan dalam angiogenesis. Pengaruh angiogenesis adalah untuk meningkatkan sirkulasi kolateral untuk memenuhi kebutuhan metabolisme dalam hal oksigen, glukosa dan nutrisi yang dibutuhkan oleh jaringan yang rusak dan diperbaiki. Juga, pembuluh darah baru yang dihasilkan memberikan dukungan neurotropik yang dibutuhkan oleh neurogenesis dan synaptogenesis yang akhirnya menyebabkan pemulihan fungsional. Singkatnya, angiogenesis memberikan stimulasi yang diperlukan untuk memulai dan meningkatkan endogen perbaikan mekanisme dan pemulihan termasuk neurogenesis dan synaptogenesis, serta plastisitas neuron dan sinapsis. Peristiwa ini semua yang terlibat dalam neurorepair dan pemulihan proses jangka panjang yang terjadi di otak (Sabin, 2013).

2.13 Biomarker Cedera Otak

Biomarker cedera otak traumatik sering diukur dalam cairan tubuh. Sebagian besar data yang tersedia saat ini diperoleh dengan pengukuran dalam CSF atau darah (serum atau plasma). Baru-baru ini, air liur telah dianalisis juga untuk biomarker protein S100B dapat diukur pada tingkat yang sebanding dengan darah. Pada cedera otak berat, ketika akses untuk cairan otak dimungkinkan, penanda dapat diukur dari cairan otak yang berasal dari ventrikel atau lumbal punksi (Dadas, A; et all. 2018).

Biomarker yang terkait dengan outcome cedera otak traumatik, seperti caspase-3, *total antioxidant capacity*, melatonin, S100B protein, *glial fibrillary acidic protein* (GFAP), glutamate, lactate, *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), substance P, *neuron-specific enolase* (NSE), *ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L-1* (UCH-L1), tau, *decanoic acid*, dan *octanoic acid*. Biomarker ini dapat digunakan sebagai biomarker prognostik dan modulasi beberapa di antaranya dapat membuka jalur penelitian baru dalam pengobatan pasien cedera otak raumatik untuk mengurangi risiko kematian (Korley et al. 2016; Lorente,L; 2017). Berikut rangkuman biomarker cedera otak (Korley et al. 2016 dan Dadas, A; et al. 2018).

Tabel 2.13. Prospektif Biomarker Cedera Otak Pada Fase Akut dan Fase Kronis

Marker	Biomarker	Fase Akut	Fase Kronis
Neuron Cell Body Marker	UCH-L1 (Ubiquitin C terminal hidrolase)	+	-
	NSE (neuron spesifik enulase)	+	-
Myelin Sheath Marker	MBP (Myelin Basic Protein)	+	
Akson Marker	SBDP (Spectrin Breakdown Products)	+	
	Tau Protein	+	
	Neurofilamin Protein	+	
Astroglial Cell	S100 Beta Protein	+	

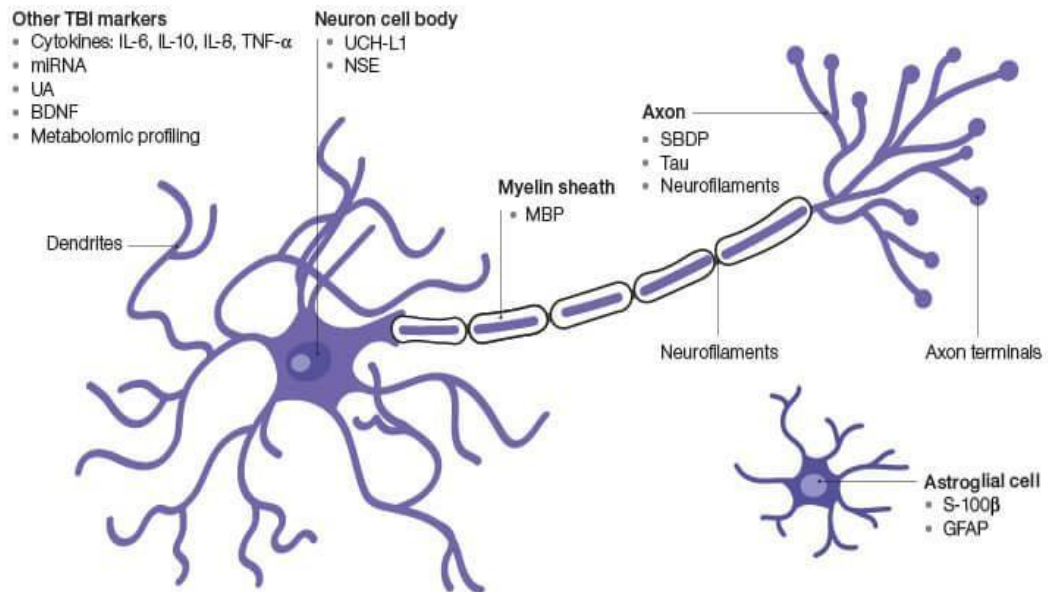
Marker	GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein)	+	
Marker Cedera Otak Lain	Sitokin : IL-6, IL-10, TNF alpha	+	+
	Micro RNA	+	+
	Uric Acid	+	+
	BDNF	+	+
	Metabolic Profiling	+	+

BDNF merupakan neurotrophin yang melindungi neuron terhadap eksitotoksisitas glutamat. Penelitian tentang kadar BDNF pada pasien cedera ota traumatik jarang, dan hasilnya sangat kontroversial; dengan demikian, hubungannya dengan cedera otak traumatik tetap tidak jelas. Di satu sisi, hubungan antara outcome pasien cedera otak traumatik dan kadar BDNF dalam serum atau cairan serebrospinal belum ditemukan. Di sisi lain, hubungan antara hasil pasien cedera otak traumatic berat dan kadar BDNF yang rendah dalam serum serta kadar BDNF yang tinggi dalam cairan serebrospinal telah ditemukan (Lorente,L; 2017).

Ketika uji genetik sebagai tujuan, DNA diekstraksi dari sel pipi,

sirkulasi sel darah putih, atau isolasi DNA bebas "mengambang" dalam serum atau lebih jarang dari cairan otak. Untuk RNA, sumber yang disukai adalah pelet leukosit yang diperoleh dengan sentrifugasi seluruh darah, tetapi RNA bebas juga ditemukan dalam serum atau plasma, dalam hubungannya dengan eksosom atau kompleks molekul lainnya, juga dapat memberikan informasi berharga. Asal-usul tipe-spesifik RNA dapat dipelajari melalui pemisahan sel sebelumnya dengan teknik penyortiran sel tradisional atau dengan teknik afinitas kekebalan menggunakan penanda permukaan sel yang ditemukan dalam eksosom, yang dapat mengidentifikasi sel asal mereka (Dadas, A; et al. 2018).

BDNF merupakan biomarker baru untuk cedera otak traumatik. Penilaian kadar BDNF dalam 24 jam cedera otak dapat memprediksi tingkat keparahan dan prognosis cedera otak traumatik. Orang sehat rata-rata 60 ng / ml BDNF dalam darah mereka, sedangkan pasien dengan cedera otak rata-rata kurang dari 20 ng / ml, dan mereka dengan cedera otak berat rata-rata sekitar 4 ng / ml. Tingkat BDNF yang tinggi menyebabkan pemulihan parsial dalam enam bulan cedera dan tingkat rendah berkorelasi dengan squeue cedera otak yang tersisa pada enam bulan (Korley et al. 2016).



Gambar. 2.13. Prospective Biomarkers Cedera Otak Traumatik. *BDNF*, brain-derived neurotrophic factor; *GFAP*, glial brillary acidic protein; *MBP*, myelin basic protein; *miRNA*, microRNA; *NSE*, γ -enolase; *SBDP*, spectrin breakdown products; *UA*, uric acid; *UCH-L1*, ubiquitin C-terminal hydrolase (Korley, F.K; et al. 2016; Bio-Rad Laboratories, 2018).

2.14 Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF)

Neuron sistem saraf pusat (SSP) adalah sel polarisasi prototipikal dengan kompartemen aksonal dan dendritik khusus yang berperan dalam sinyal interselular. Meskipun neuron biasanya berkomunikasi dengan melepaskan neurotransmitter molekul besar di vesikula sinaptik, mereka juga menyimpan dan melepaskan peptide atau protein kecil seperti faktor neurotropika dari otak seperti BDNF. (Dieni et al; 2012).

Neurotrophins (NTs) memiliki bukti yang bagus dalam mengatur pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel, apoptosis, diferensiasi, dan restrukturisasi sitoskeleton. Ada empat NT telah diidentifikasi dalam mamalia - faktor pertumbuhan saraf, BDNF, NT-3, dan NT-4 - dengan urutan dan struktur yang sama (mis. Hallbook, 1999). Meskipun berasal

dari gen yang sama, NT berinteraksi dengan reseptor yang berbeda secara struktural dan fungsional : reseptor tyrosine kinase (Trk) yang berhubungan dengan tropomiosin dan reseptor NT p75 (Lipsky dan Marini, 2007). Setiap reseptor memiliki spesifisitas yang berbeda untuk ligan dan mengaktifkan kaskade intraseluler yang berbeda. Melalui reseptor ini, NT terlibat dalam proses transmisi sinaptik dan plastisitas neuron (Lu, 2003). Plastisitas mengacu pada modifikasi substrat otak sebagai hasil dari beberapa perubahan kondisi (yaitu pengalaman), dengan asumsi bahwa modifikasi tersebut bersifat adaptif untuk kelangsungan hidup yang berkelanjutan dan berfungsinya organisme secara optimal. Meskipun sebagian besar neuron di otak mamalia terbentuk sebelum lahir, mereka dapat mengalami modifikasi seiring waktu. Sintesis NT secara cepat diregulasi oleh aktivitas neuron dan NT dilepaskan dengan cara yang tergantung aktivitas dari dendrit neuron. Pengetahuan ini, bersama dengan temuan bahwa NT meningkatkan pelepasan neurotransmitter, berperan dalam retrograde selektif *massanger* yang mengatur aktivitas sinaptik. Akibatnya, NTs dan reseptornya mempertahankan plastisitas

otak pada individu yang sehat dan mereka yang menderita gangguan neuropsikiatri (Lipsky dan Marini, 2007).

BDNF merupakan salah satu faktor neurotropik yang mendukung diferensiasi, pematangan, dan kelangsungan hidup sel neuron dalam sistem saraf dan menunjukkan efek neuroprotektif dalam kondisi buruk, seperti stimulasi glutamatergik, iskemia serebral, iskemia serebral, hipoglikemia, dan neurotoksisitas. BDNF merangsang dan mengendalikan pertumbuhan neuron baru dari sel induk saraf atau stem cell (neurogenesis), dan protein serta mRNA BDNF telah diidentifikasi di sebagian besar area otak termasuk bulbus olfaktorius, korteks cerebri, hippocampus, forebrain anterior, mesencephalon, hipotalamus, batang otak dan medulla spinalis (Bathina, S & Da, U.N; 2015).

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), anggota keluarga protein neurotropik, merupakan faktor autokrin yang disekresikan yang mempromosikan pengembangan, pemeliharaan, kelangsungan hidup, diferensiasi, dan regenerasi neuron. Ini juga penting untuk plastisitas sinaptik dan pemrosesan memori. BDNF telah dibuktikan terlibat dalam mengurangi cedera otak sekunder, dengan peningkatan konsentrasi BDNF dapat memberikan efek neuroprotektif dan regenerasi konektivitas neuron setelah cedera otak traumatik. Namun, signifikansi diagnostik dan prognostik konsentrasi BDNF yang beredar hari demi hari tidak dipahami dengan baik (Korley, F.K; *et al.* 2016).

BDNF dapat menstimulasi dan mengatur pertumbuhan neuron baru dari stem sel neuron melalui proses neurogenesis. Cedera otak traumatik sebagai hasil cedera pada kepala oleh kekuatan eksternal menyebabkan kerusakan langsung pada neuron atau pembuluh darah terkait, sel glial dan jaringan lainnya. Di luar kematian seluler langsung yang diakibatkan oleh kerusakan oleh dampak eksternal seperti itu, cedera sekunder dapat terjadi akibat peradangan dan perubahan biokimia dan seluler yang terkait dan atau adaptasi dengan cedera primer. Pilihan terapi untuk cedera otak traumatik sangat terbatas tetapi setiap upaya dalam membatasi kerusakan sekunder pada jaringan otak serta upaya yang dapat meningkatkan pemulihan defisit sel melalui neuroregenerasi perlu dipertimbangkan dengan baik sehingga neurotrofin termasuk BDNF yang memfasilitasi pertumbuhan atau pemulihan neuron dari Stem sel Neuron atau yang mempertahankan viabilitas neuron memiliki peran penting untuk digunakan dalam terapi cedera otak traumatik (Wurzelmann *et al.*, 2017).

BDNF adalah molekul kunci untuk neuroplastisitas. Ia diekspresikan dalam banyak tipe sel, termasuk neuron dan sel glia. Peningkatan ekspresi BDNF dalam sistem saraf pusat, sebagai respons terhadap berbagai rangsangan, menunjukkan peran neuroprotektor untuk ini. Neurotrofin, terutama respons inflamasi tampaknya terlibat dalam peningkatan ekspresi BDNF.

BDNF telah diteliti dalam berbagai gangguan neurologis dan kejiwaan. Dalam TBI, studi eksperimental pada tingkat mengungkapkan peningkatan mRNA dari BDNF di hippocampus dalam 24 jam pertama setelah trauma. Aspek biologi BDNF dan lokalisasi sub selular protein di neuron SSP orang dewasa masih kurang jelas, sebagian besar karena tingkat BDNF endogen yang sangat rendah. BDNF di angkut dan dilepaskan dari akson dan dendrit. Gen BDNF diekspresikan tergantung dari aktifitas neuron, dengan tingkat protein meningkat sebesar 10 kali lipat selama 3 minggu pertama setelah kelahiran, terus berkembang sejalan dengan perkembangan aktifitas sinaptik (Dieni, et al; 2012).

BDNF, anggota neurotropin, pertama kali dimurnikan oleh Barde et al. pada tahun 1982 dari otak babi mengikuti faktor pertumbuhan neurotropik. Ini adalah faktor neurotrofik yang paling banyak diekspresikan yang ditemukan dalam sistem saraf pusat (SSP). Bentuk dewasa BDNF manusia dipetakan ke kromosom 11 dan berbagi sekitar 50% homologi asam amino dengan anggota lain dari faktor neurotropik seperti faktor pertumbuhan saraf, neurotrofin-3 dan neurotrofin 4/5. Pada manusia, BDNF memiliki sekitar 7 promotor dan 8 akson dan ekspresi gennya bergantung pada ekspresi kalsium intraseluler (Ca^{2+}) yang memberi sinyal melalui elemen dependen Ca^{2+} yang terletak di promotor BDNF III. BDNF mengandung peptida sinyal, urutan matang dan struktur 3 dimensi khas dalam homodimer untuk interaksi dengan reseptor

neurotrophin. BDNF mRNA didistribusikan secara luas di SSP dan sebagian besar terlokalisasi di dalam neuron.

Pada otak tikus, BDNF mRNA menjadi terdeteksi selama perkembangan embrionik, memuncak 10-14 hari pada periode pascanatal dan menyebar luas ke seluruh otak pada usia dewasa dengan konsentrasi tertinggi di hippocampus. Regulasi BDNF mRNA terutama tergantung pada aktivitas neuronal melalui reseptor asam n-metil-D-aspartat (NMDA) non-metil sistem glutamat selama upregulasi dan melalui sistem g-aminobutyric acid (GABA) untuk downregulasi. Ekspresi neuron dari mRNA BDNF sangat dinamis dan dipengaruhi oleh berbagai rangsangan fisiologis, neurotransmitter, hormon dan keadaan patologis. Dalam neuron imatur, BDNF terlibat dalam pertumbuhan, diferensiasi, pematangan, dan kelangsungan hidup sementara neuron dewasa memainkan peran penting dalam plastisitas sinaptik, augmentasi neurotransmisi dan regulasi sensitivitas reseptor.

BDNF mRNA diterjemahkan dalam retikulum endoplasma menjadi protein prekursor (pro-BDNF) yang dilipat dalam trans Golgi, dikemas ke dalam vesikel sekretori dan dilepaskan terutama melalui jalur sekresi pengatur dalam menanggapi rangsangan atau secara spontan melalui jalur konstitutif dari pra dan memosting situs sinaptik. ProBDNF kemudian secara proteolitik dibelah menjadi BDNF dewasa 14-kDa (mBDNF) oleh aktivator plasminogen jaringan protease sebagai respons

terhadap aktivitas neuron. Mirip dengan mRNA, protein BDNF didistribusikan secara luas di SSP di badan sel neuron, akson, dan dendrit, khususnya di hippocampus di mana akson serat berlumus terlokalisasi.

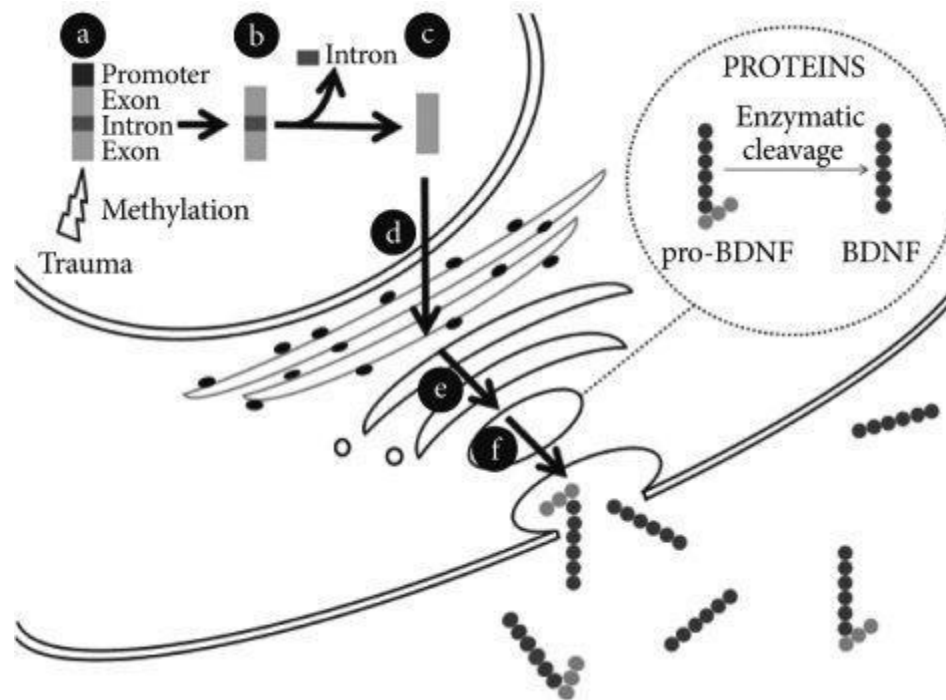
Protein BDNF mengendalikan plastisitas saraf tingkat tinggi yang penting untuk pembelajaran dan memori. proBDNF dan mBDNF masing-masing diaktifkan melalui pengikatan dengan reseptor p75NTR dan TrkB. Pengikatan BDNF ke p75NTR memulai apoptosis seperti pensinyalan kaskade melalui berbagai jalur sementara pengikatan selektif mBDNF ke reseptor TrkB memulai fosforilasi tirosin dalam sitoplasma yang pada gilirannya mengaktifkan kaskade kejadian yang terlibat dalam kelangsungan hidup sel, pertumbuhan dan diferensiasi.

Penelitian-penelitian saat ini yang fokus pada BDNF, sebuah Neurotrophin yang telah muncul sebagai regulator utama baik transmisi sinaptik dan plastisitas pada sinapsis dewasa di banyak area sistem saraf pusat. BDNF telah banyak dibuktikan untuk meningkatkan kelangsungan hidup neuron, dan untuk meningkatkan transmisi sinaptik (Lipsky dan Marini, 2007), potensiasi jangka panjang, dan depresi jangka panjang, juga dengan bentuk plastisitas sinaptik jangka pendek tertentu (Desai et al., 1999). Efek BDNF ini memiliki implikasi untuk pembentukan memori, pada individu yang sehat dan mereka yang memiliki keterbatasan dalam memori dan kognisi, seperti yang ditemukan di cedera otak traumatik.

Peran unik BDNF dalam keluarga NT ini disebabkan oleh penyebarannya yang luas dan ko-lokalisasi BDNF dan reseptornya, TrkB, pada sinaps glutamat.

2.13.1 Sintesis BDNF

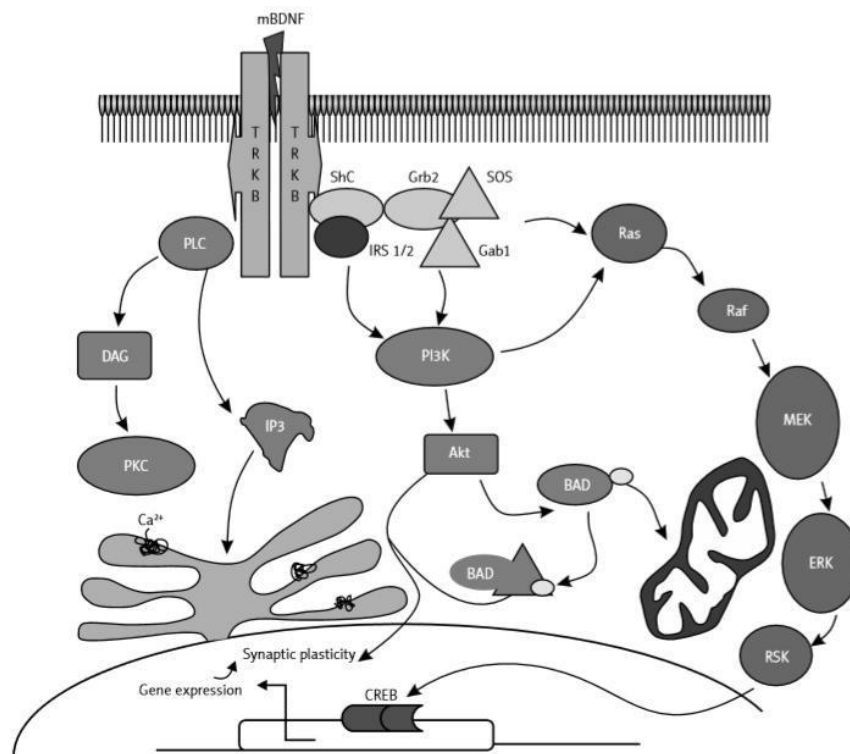
BDNF dilepaskan dari neuron pra post synaptic, secara konstitutif atau dengan aktivitas BDNF yang disekresi dapat berinteraksi dengan dua reseptor : 1. reseptor neurotrophin p75 (p75 NTR) dan 2. Reseptor kinase tropomiosin B (TrkB). Signaling BDNF tergantung pembelahan proteolitik dari bentuk Pro-BDNF ke bentuk matur. Sementara proBDNF mengikat p75NTR, untuk apoptosis dan depresi jangka Panjang, BDNF matur berikatan dengan TrkB dan merangsang jalur sinyal mengarah ke sejumlah efek diantaranya : diferensiasi neuronal, perkembangan neurites, peningkatan kelangsungan hidup sel dan penguatan sinapsis. Karena perannya dalam neurogenesis dan potensiasi jangka panjang, pensinyalan BDNF pada struktur limbik dan korteks cerebri sangat penting untuk pembelajaran dan memori (Mitchelmore & Gede, 2014).



Gambar 2.14.1. Sintesis BDNF a: Gen BDNF : promoters, exons dan introns. Ekspresi gen BDNF dapat di modulasi oleh mekanisme epigenetik. Trauma dapat menginduksi promosi metilasi gen BDNF dan menghambat transkripsi mereka. b: Transkrip mRNA yang berbeda dapat diproduksi tergantung pada promotor mana yang diaktifkan. c: Mekanisme penyambungan alternatif menghilangkan intron keluar dan mengarah pada pembentukan molekul mRNA yang diproses yang siap diterjemahkan. d: Molekul mRNA mentranslokasi dari nukleus ke sitoplasma dan diterjemahkan ke dalam proBDNF di retikulum endoplasma. e: ProBDNF yang baru disintesis menuju aparatus Golgi dan kemudian dibelah menjadi BDNF matang oleh endoprotease. f: Vesikel yang mengandung BDNF bergabung ke membran sel dengan cara yang bergantung pada Ca^{2+} dan melepaskan BDNF ke ruang ekstraseluler (Bathina, S & Da, U.N; 2015).

2.14.2 Jalur Signaling BDNF

BDNF berikatan dengan reseptor afinitas tinggi tirosin kinase B (TrkB), menghasilkan rekrutmen protein yang mengaktifkan tiga kaskade transduksi sinyal yang berbeda. Satu kaskade melibatkan aktivasi berurutan dari reseptor insulin substrat-1 (IRS-1/2), fosfatidylinositol-3-kinase (PI-3K) dan protein kinase B (Akt). Yang kedua adalah aktivasi Shc / Grb2, Ras, Raf, protein kinase kinase teraktivasi-mitogen (MEK) dan kinase yang diatur sinyal ekstraseluler (ERK). Kaskade ketiga melibatkan fosfolipase C (PLC), inositol trisphosphate , diacylglycerol (DAG) dan protein kinase C (PKC). Jalur pensinyalan BDNF mengaktifkan satu atau lebih faktor transkripsi (cAMP-response-element-binding protein (CREB) dan protein pengikat CREB (CBP) yang mengatur ekspresi gen penyandi protein yang terlibat dalam plastisitas saraf, resistensi stres dan kelangsungan hidup sel (Bathina, S & Da, U.N; 2015).



Gambar 2.14.2. Jalur Signaling BDNF (Bathina, S & Da, U.N; 2015).

2.14.3 Kadar Plasma BDNF

BDNF darah mungkin sebagian berasal dari produksi otak dan jalan keluar berikutnya dari sawar darah-otak (BBB), dan juga dari sintesis dalam populasi sel-sel perifer yang berbeda seperti sel endotel pembuluh darah, sel otot polos, selain leukosit. Dalam hal ini, leukosit telah diusulkan sebagai model perangkat yang berguna untuk mempelajari patologi mental, karena profil ekspresi mereka telah menunjukkan kesamaan dengan yang diamati untuk sel-sel otak, terutama untuk gen yang mengkode reseptor neurotransmitter dan transporter, mediator stres, sitokin, hormon, dan faktor-faktor

pertumbuhan. Menariknya, kadar gen mRNA yang diubah yang mengkode reseptor dopamin dan glukokortikoid, transporter serotonin, transkripsi faktor respon protein pengikat elemen cAMP (CREB), dan gen lain yang terlibat dalam pensinyalan kalsium telah ditemukan dalam leukosit perifer pasien depresi mayor. Lebih lanjut, dalam sebuah studi baru-baru ini, Pandey dan rekannya mengamati pengurangan kadar mRNA BDNF dalam leukosit pasien anak-anak bipolar yang dapat dinormalisasi dengan pemberian terapi obat yang menstabilkan mood. Akhirnya, tidak ada perbedaan dalam tingkat mRNA leukosit yang diamati antara kontrol dan pasien depresi mayor yang diobati dengan obat (Cattaneo, A. et al. 2010).

Pada sukarelawan sehat, tingkat BDNF plasma rata-rata ditemukan ~ 92,5 pg / ml (8,0-927,0 pg / ml). Itu lebih tinggi pada wanita, dan menurun dengan bertambahnya usia pada kedua jenis kelamin. BDNF didistribusikan secara luas di berbagai wilayah otak, dan membantu kelangsungan hidup, dukungan dan fungsi neuron. Sumber BDNF lainnya termasuk paru-paru, jantung, limpa, saluran pencernaan dan hati. Terlepas dari ini, BDNF ditemukan diekspresikan dalam fibroblas, sel otot polos pembuluh darah, dan stroma timus (Bathina, S & Da, U.N; 2015).

Studi dari Lommatzsch *et al.* menegaskan bahwa kadar BDNF di kandung kemih, paru-paru, dan usus besar lebih tinggi daripada yang ditemukan di otak atau kulit. Korelasi positif antara kadar BDNF dalam

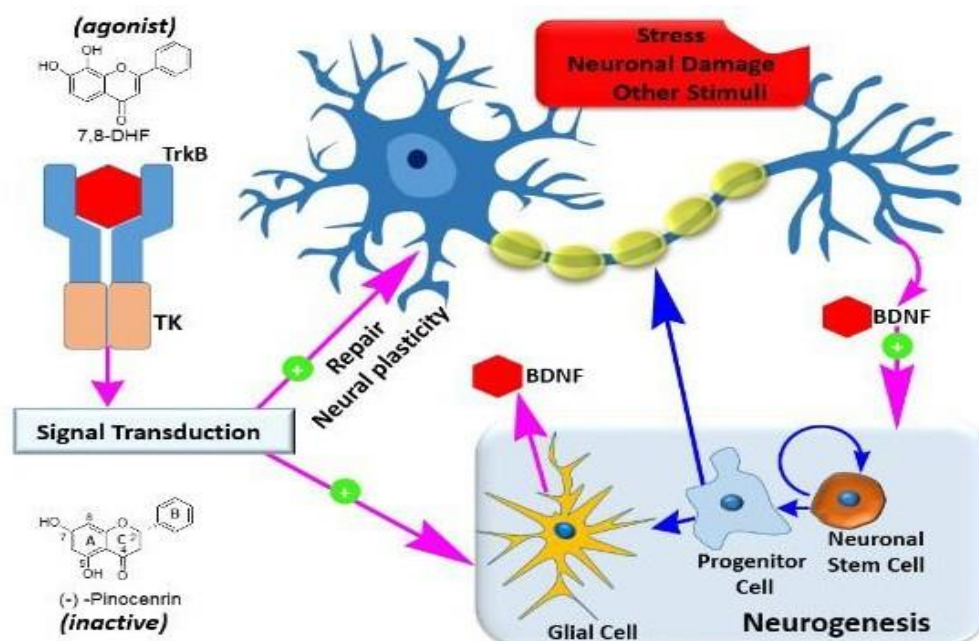
darah dan tekanan darah diastolik, kolesterol total, kolesterol low-density lipoprotein (LDL), massa jaringan adiposa, indeks massa tubuh, dan trigliserida dilaporkan. Hal ini menunjukkan bahwa wanita dengan kadar BDNF plasma yang rendah telah meningkatkan risiko kematian. Ini didukung oleh penelitian bahwa penurunan signifikan kadar plasma BDNF pada wanita berkorelasi dengan bertambahnya usia dan berat badan (Bathina, S & Da, U.N; 2015).

2.14.4 Fungsi BDNF

A. Neurogenesis

Salah satu fungsi *in vivo* yang paling awal diidentifikasi dari BDNF adalah perannya untuk meningkatkan kelangsungan hidup neuron sensorik perifer selama perkembangan otak. Dilaporkan bahwa aplikasi eksogen BDNF menghasilkan peningkatan panjang dendritik dan kompleksitas neuron piramidal dalam pengembangan korteks visual dengan cara lapisan khusus, menunjukkan bahwa BDNF tidak hanya meningkatkan pertumbuhan saraf tetapi juga memodulasi pola spesifik dalam pertumbuhan dendritik. Lebih jauh lagi, penghambatan aktivitas listrik spontan, transmisi sinaptik, atau saluran kalsium tipe-L mencegah peningkatan pertumbuhan dendritik yang ditimbulkan oleh BDNF eksogen, yang menunjukkan bahwa neuron harus cukup aktif untuk merespons aksi pemacu pertumbuhan BDNF. Dalam model trauma sistem saraf pusat, menggunakan sel ganglion retina tikus dewasa (RGC), diamati

bahwa injeksi *in vivo* BDNF meningkatkan kelangsungan hidup neuron dengan mengaktifkan jalur TrkB, MAPK dan PI3K-PKB dan menghambat apoptosis yang diinduksi caspase-3. Neurogenesis di hipotalamus ditingkatkan dengan pemberian BDNF terus menerus selama 12 hari. Pembatasan diet meningkatkan pertumbuhan saraf pada hippocampus tikus dewasa, yang menunjukkan bahwa keseimbangan energi merupakan faktor penting yang dapat memodulasi pertumbuhan saraf (Bathina, S & Da, U.N; 2015). Ada beberapa penelitian telah menunjukkan peran penting BDNF dalam plastisitas sinaptik, memori, dan fungsi kognitif (Habtemariam, 2018).



Gambar 2.14.4. Target BDNF dalam neuroregenerasi dan plastisitas neuron. BDNF dilepaskan dari jaringan saraf sebagai hasil dari pensinyalan kematian dan berbagai rangsangan di bawah kondisi normal dan patologis.

Aktivasi *tropomyosin-related kinase B* (TrkB) oleh BDNF memulai jalur transduksi sinyal melalui aktivitas *tyrosinekinase* (TK), yang mengarah pada promosi neurogenesis dan proses perbaikan yang secara bersama disebut neuroregenerasi. Aktivitas agonis *7,8-dihidroksiflavan* (7,8-DBD) berfungsi sebagai obat prototipe dalam mencari obat pengaktif TrkB selektif (Habtemariam, 2018).

B. Synaptic plasticity

BDNF terlibat dalam regulasi plastisitas sinaptik yang bergantung pada aktivitas dengan mekanisme pra dan pasca sinaptik. BDNF sangat penting untuk siklus vesikel pra-sinaptik, yang bergantung pada aktivasi reseptor NMDA (N-metil D-aspartat) dalam neuron neokortikal yang dikultur dari tikus-tikus yang mengalami knockout BDNF. Peran paracrine (retrograde messenger) dari BDNF ini kemudian dikonfirmasi, dan ditunjukkan bahwa aplikasi BDNF pada bagian hippocampal mengembalikan polimerisasi aktin medulla spinalis dan stabilitas LTP (potensiasi jangka panjang) pada tikus. Selain itu, kadar BDNF tidak hanya meningkatkan kadar NMDA dan konsentrasi kalsium intraseluler tetapi juga membebaskan blok Mg^{2+} dari reseptor NMDA, mempromosikan perubahan jangka panjang untuk aktivitas sinaptik. Pengurangan sekresi TrkB dan BDNF mengurangi induksi LTP. Dengan demikian, BDNF terlibat dalam hal-hal yang berhubungan reseptor NMDA dengan meningkatkan masuknya kalsium, yang mengarah pada pelepasan BDNF pasca-sinaptik yang meningkatkan siklus vesikel pra-

sinaptik, yang meningkatkan potensiasi jangka panjang dan plastisitas sinaptik (Bathina, S & Da, U.N; 2015). Faktor neurotropik yang diturunkan dari BDNF dikaitkan dengan kesehatan saraf dan plastisitas sinaptik.

Dengan adanya bukti neuroplastisitas selama pemulihan dari TBI, diperkirakan bahwa BDNF dapat memfasilitasi pemulihan setelah cedera otak dengan memungkinkan jaringan saraf untuk mengatur ulang untuk melayani pemulihan dengan lebih baik terutama mengingat keberhasilan dalam model hewan dan populasi klinis lainnya, seperti individu dengan cedera tulang belakang (Bernier, R. A., & Hillary, F. G. 2019). Di bawah ini terdapat kumpulan penelitian tentang BDNF pada cedera otak traumatik.

Tabel 2.14.4. Penelitian yang relevan terhadap BDNF sebagai biomarker cedera otak traumatik

Biomarker	Spesies	Cedera/ Model	Jaringan/ Cairan	Hasil	Referensi
BDNF	Manusia	<i>TBI</i>	Serum	Kadar BDNF yang lebih rendah berhubungan dengan <i>incomplete recovery</i> pada TBI	Korley FK et al. (2016)
	Manusia	<i>Severe TBI</i>	LCS, serum	Peningkatan kadar BDNF berkontribusi terhadap <i>outcome</i>	Failla M D et al. (2015)
	Manusia	<i>Severe TBI</i>	Serum	Kadar BDNF plasma tidak berkorelasi terhadap <i>outcome</i> fatal jangka pendek pada cedera otak berat traumatik	Simon D et al. (2016)
	Manusia	<i>Ischemic Stroke</i>	Serum	Kadar BDNF yang rendah berhubungan dengan <i>outcome</i> jangka panjang yang buruk pada fase akut stroke iskemik	Tara M et al. (2016)
	Manusia	<i>TBI</i>	LCS	Konsentrasi NGF (BDNF dan GDNF) dalam LCS bermanfaat sebagai marker kerusakan otak pada cedera otak traumatik dan regulasinya serta menghasilkan <i>outcome</i> yang menguntungkan	Chiaretti A et al. (2008)
	Tikus	<i>Ischemic Stroke (fokal and global)</i>	Brain tissue	Pemberian MLC 901 pada tikus yang mengalami stroke dapat meningkatkan sekresi BDNF setelah 6 minggu	Heurteaux C et al. (2013)

2.15 MLC 901

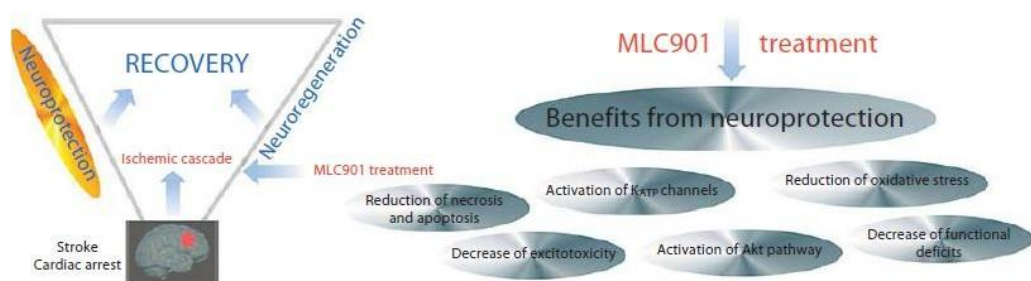
MLC901 adalah obat tradisional China yang dapat membantu memfasilitasi pemulihan sirkuit neuron melalui sifat antioksidannya, mempromosikan proliferasi sel dan stimulasi sirkuit neuron axonal dan dendritik setelah cedera otak traumatik. Dalam model hewan pengerat, MLC901 telah terbukti mencegah kematian sel dan merangsang pembentukan sel-sel saraf baru, koneksi dan jalur. Tikus yang diberi MLC901 setelah cedera iskemik menunjukkan peningkatan kelangsungan hidup, pemulihan neurologis, penurunan degenerasi saraf dan peningkatan fungsi kognitif (Theadom,A; et al. 2018)..

MLC601 dan MLC901 yang berasal dari Pengobatan Cina Tradisional telah terbukti memiliki sifat neuroprotektif dan neurorestoratif dalam model stroke praklinis, iskemia serebral global dan cedera otak traumatik. Awalnya mengandung 9 ekstrak herbal dan 5 komponen non-herbal dalam kapsul, MLC601 disederhanakan menjadi MLC901, yang hanya mengandung ekstrak herbal. MLC901 mengandung 9 komponen herbal yaitu *Radix astragali*, *Radix salvia miltiorrhizae*, *Radix paeoniae rubra*, *Rhizoma chuanxiong*, *Radix angelicae sinesis*, *Carthamus tinctorius*, *Prunus persica*, *Radix polygalae* dan *Rhizoma acori tatarinowii* (Theadom,A; et al. 2018).

Studi klinis untuk menilai manfaat dan keamanan MLC601 pada pasien stroke menggunakan hasil klinis yang berbeda telah dilakukan. Penelitian untuk melihat efikasi MLC601 pada pemulihan Stroke (CHIMES), yang membandingkan MLC601 dengan plasebo pada 1.099 pasien dengan stroke iskemik akut dengan tingkat keparahan sedang, di dapatkan penurunan kejadian vaskular berulang yang berulang dan

kematian vaskular pada pasien pasca stroke. Menariknya, dalam penelitian kohort di Filipina dari percobaan CHIMES, yang mencakup lebih banyak pasien dengan prediktor prognosis yang lebih buruk, hasil fungsional dan neurologis yang meningkat setelah terapi MLC 601. Stratifikasi seluruh kohort CHIMES dengan prognosis juga menunjukkan bahwa pasien dengan 2 atau lebih prediktor hasil yang lebih buruk memiliki efek pengobatan yang lebih baik dengan MLC601 daripada pasien dengan faktor prognostik tunggal atau tidak sama sekali. Sebuah studi CHIMES (CHIMES-E) mengungkapkan bahwa pengobatan 3 bulan setelah pemberian MLC601 setelah stroke meningkatkan hasil fungsional hingga 2 tahun di antara pasien dengan infark serebral dengan tingkat keparahan sedang (Venketasubramanian et al., 2009; Chen et al., 2013).

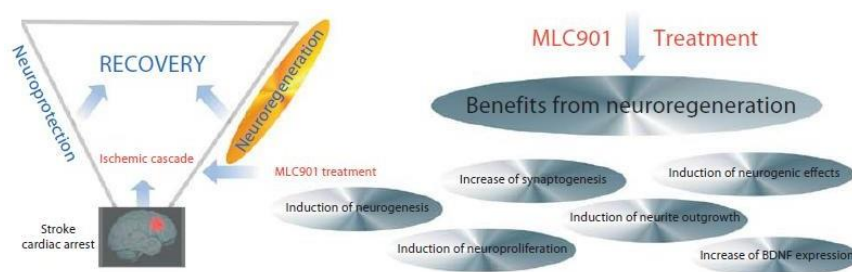
Semua hasil klinis ini mendorong untuk membuktikan efek MLC601 sebagai strategi terapi baru yang efisien terhadap stroke. Uji klinis MLC601 juga sudah dilakukan di Surabaya Indonesia dengan hasil yang menunjukkan bahwa MLC601 memberikan efek yang menjanjikan dalam hasil klinis jangka panjang dalam tatalaksana pasien cedera otak traumatis non-bedah (Harteux, et al.2013)



Gambar 2.15. Efek Neuroproteksi MLC901 (Harteux, et al.2013)

Uji klinis dengan MLC901 juga sudah berlangsung untuk penilaian

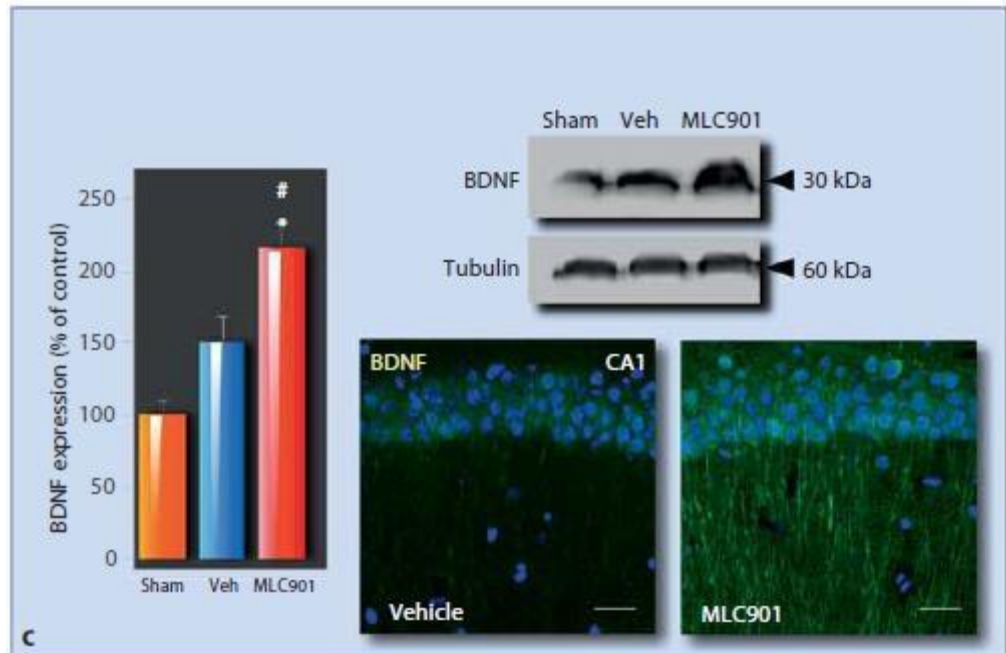
pada pasien gangguan kognitif vaskular dan pada pasien Selandia Baru dengan cedera otak traumatis dengan hasil MLC901 aman dan ditoleransi dengan baik pasca cedera otak traumatik. Penelitian ini memberikan bukti Kelas I / II bahwa, untuk pasien dengan cedera otak traumatik ringan hingga sedang, 6 bulan MLC901 dapat meningkatkan fungsi kognitif (Theadom,A; et al. 2018).



Gambar 2.15.1. Efek Neuroregenerasi ML C901 (Harteux, et al.2013)

Konsisten dengan pengamatan klinis tentang manfaat MLC601 pada manusia, data praklinis pada tikus telah membuktikan bahwa MLC 601 dan MLC901 mencegah kematian jaringan saraf yang terancam, mengurangi defisit kognitif dan meningkatkan hasil fungsional dengan mengembalikan sirkuit neuronal dalam model iskemia dan cedera otak traumatik. Efikasi MLC601 / MLC901 juga telah ditunjukkan dalam model *in vitro* pada eksitotoksitas dan kekurangan glukosa serta oksigen. MLC601 dan MLC901 telah dilaporkan menunjukkan beberapa efek dalam menghambat kaskade iskemik yang merambat dari inti ke penumbra serta dalam merangsang proliferasi dan diferensiasi sel-sel saraf baru untuk diperbaiki. Aktivasi jalur survival Akt dan pembukaan saluran K ATPase adalah langkah penting dalam efek neuroproteksi MLC901. Kemampuan MLC901 untuk mempromosikan neurogenesis, pertumbuhan neurit dan sinaptogenesis yang digabungkan dengan

stimulasi BDNF adalah argumen yang kuat untuk efek positif MLC901 pada plastisitas otak dan proses pemulihan setelah stroke maupun cedera otak traumatik (Heurteaux et al., 2013).



Gambar 2.15.2. Efek MLC901 meningkatkan BDNF pada Hewan Coba (Heurteaux et al., 2013).

Studi RCT MLC 901 dilakukan oleh Theadom,A; et al. 2018 di Selandia baru bertujuan untuk menguji keamanan dan efek MLC901 pada fungsi kognitif pada manusia dewasa setelah TBI ringan hingga sedang, selain hasil sekunder dari gejala sisa neurobehavioral, suasana perasaan, kelelahan, cacat fisik dan kualitas hidup. Mereka mengatakan bahwa MLC901 aman dan ditoleransi dengan baik oleh orang dengan cedera otak traumatik ringan hingga sedang dan memiliki efek positif pada fungsi kognitif. Dalam penelitian mereka dibuktikan MLC901 aman dan ditoleransi dengan baik pasca cedera otak traumatik. Penelitian ini memberikan bukti Level Kelas I / II, untuk pasien dengan cedera otak

traumatik ringan hingga sedang, 6 bulan pasca pemberian MLC901 dapat meningkatkan fungsi kognitif (Theadom,A; et al. 2018).

MLC901 meningkatkan kelangsungan hidup, ukuran infark yang dikurangi, peningkatan pemulihan fungsional dalam model fokus iskemia, dan neuron yang dilindungi terhadap cedera yang diinduksi glutamat. Selain itu, meningkatkan pemulihan kognitif dengan mengurangi degenerasi sel CA1 hippocampal, fragmentasi DNA, ekspresi Bax dan pelepasan malondialdehyde dalam model iskemia global. Aktivasi jalur survival Akt dan pembukaan saluran K ATP dapat berkontribusi pada sifat pelindung saraf dari MLC901. Intervensi obat ini juga meningkatkan ekspresi BDNF dan diinduksi proliferasi sel yang berdiferensiasi dan matang menjadi neuron pada hewan coba dengan perlakuan model fokal dan global iskemia serta kultur sel kortikal (Heurteaux et al., 2013).

Penilaian klinis pasien dengan cedera otak traumatic hanya didasarkan pada dokter yang hadir apakah akan menjalani operasi atau manajemen non-bedah. Namun, efektivitas kedua perawatan ini masih dipertanyakan. Meskipun kemajuan terbaru dalam perawatan bedah saraf dan neurointensif, cacat jangka panjang akibat cedera otak masih dramatis. Saat ini, tren baru- baru ini pada perawatan medis menunjukkan kepada kita peningkatan yang luar biasa dari intervensi farmakologis pasien cedera otak (Quintard H, et al, 2014).

MLC601 adalah salah satu contoh intervensi farmakologis yang disetujui untuk perlindungan saraf di seluruh dunia (Young SHY, et al, 2010). Terlepas dari kemanjurannya, kandungan alami dari obat ini diyakini kurang berbahaya dibandingkan dengan obat-obatan sintetis.

Saat ini, telah digunakan secara luas pada pemulihan pasca- stroke (Venketasubramanian, N et al, 2009). Efek neuroprotektifnya memberikan pandangan baru pada aplikasi yang lebih luas, pada pasien cedera otak traumatis.

Efek neuroregenerasi MLC901 ini berkorelasi dengan peningkatan sinaptogenesis, diperlihatkan oleh peningkatan ekspresi synaptotagmin-1, salah satu protein vesikel sinaptik yang memiliki peran penting dalam fungsi sinaptogenesis dan sinaps. Semua hasil ini sangat menunjukkan bahwa MLC901, dengan kemampuannya untuk mempromosikan neurogenesis, pertumbuhan neurit dan sinaptogenesis, memiliki potensi untuk memperkuat sifat otak intrinsik untuk neuroplastisitas, mendukung pemulihan neurologis berikutnya setelah iskemia dan cedera otak traumatik. Salah satu mekanisme yang mungkin dari efek MLC901 yang dijelaskan sebelumnya termasuk kemampuannya untuk merangsang sekresi BDNF yang merupakan faktor pertumbuhan penting yang mengatur kelangsungan hidup neuron dan plastisitas otak. Data in vitro menunjukkan bahwa pengobatan MLC901 6 minggu (6 mg / ml) meningkatkan ekspresi BDNF dalam neuron kortikal (Heurteaux et al., 2013).

MLC601 dan MLC901 telah ditunjukkan secara in vitro dan pada model hewan memiliki sifat yang konsisten dengan kapasitas untuk perbaikan saraf. Ini memberikan dukungan ilmiah untuk penggunaan senyawa terapeutik saat ini (tradisional) yang paling sering diberikan kepada pasien manusia berminggu-minggu atau berbulan-bulan setelah stroke. MLC 901 juga telah terbukti neuroprotektif yang sangat menunjukkan bahwa efek positif harus diharapkan untuk administrasi

awal (puluhan menit, jam) setelah stroke atau henti jantung. MLC 901 menampilkan berbagai sifat bermanfaat ini secara *in vitro* dan pada model hewan karena, kemungkinan besar, mengandung sejumlah komponen aktif yang bekerja pada beberapa mekanisme neuroprotektif atau neurorepair, beberapa di antaranya telah diidentifikasi (Heurteaux et al., 2013).

Kematian neuronal yang berupa nekrotik dan apoptosis yang diinduksi cedera otak traumatik berkurang secara signifikan setelah pengobatan MLC901. Pada penelitian eksperimental di dapatkan jendela waktu perlindungan MLC901 adalah ditentukan oleh i.p. injeksi 0,075 mg / ml (dalam bolus 500 μ l) 1, 2 atau 3 jam pasca cedera otak traumatic diikuti oleh pemberian MLC901 oral dalam air minum pada konsentrasi 10 mg / ml sampai terminasi hewan coba pada hari ke 7. MLC901 mengurangi kerusakan dendritik pada neuron setelah cedera otak traumatik. MLC901 dikenal untuk merangsang ekspresi BDNF di jaringan otak setelah iskemia fokal dan global. MLC901 secara signifikan merangsang ekspresi VEGF lebih baik di hippocampus dan korteks hewan coba dibandingkan dengan kelompok yang diobati dengan placebo ($P < 0,05$). Saat ini sudah diterima dengan baik bahwa pemulihan fungsional yang terjadi secara spontan setelah cedera otak (stroke atau cedera otak traumatik) disebabkan oleh plastisitas neuron yang masih hidup, plastisitas yang diinduksi lesi, dan atau plastisitas koneksi saraf. Proliferasi sel yang baru dihasilkan berkontribusi pada keseluruhan remodeling seluler yang terjadi setelah cedera otak traumatik (Quintard, H; et al. 2014).

Pengobatan MLC901 menstimulasi gliogenesis dan neurogenesis, yang mungkin membantu dalam mendorong remodeling otak yang

dinamis dan mengarah pada pemulihan neurologis yang lebih baik pada minggu-minggu pertama setelah cedera otak traumatik. Efek positif MLC901 pada plastisitas neuron (seperti yang ditandai oleh peningkatan neurogenesis, pertumbuhan neurit, pertumbuhan aksonal, arborisasi dendritik dan atau sinaptogenesis) telah diamati mengikuti iskemia fokal dan global dan berkorelasi dengan pemulihan fungsional (Heurteaux et al., 2010; Quintard et al., 2011). Faktor-faktor yang mendorong pertumbuhan seperti BDNF dan VEGF adalah mediator utama untuk mendukung remodeling adaptif dari neuron dan jaringan saraf yang masih hidup, yang menguntungkan kemajuan pemulihan (Conte et al., 2003; Chopp et al., 2009). VEGF adalah mediator utama perbaikan jaringan setelah cedera otak dan diketahui memainkan peran penting dalam angiogenesis (Greenberg dan Jin, 2005). Peningkatan regulasi BDNF yang disebabkan oleh pengobatan MLC901 sebelumnya telah dilaporkan dalam konteks kerusakan otak yang disebabkan oleh stroke dan henti jantung (Heurteaux et al., 2010; Quintard et al., 2011). Neurogenesis hipokampus dan peningkatan sekresi BDNF keduanya distimulasi oleh MLC901 (Heurteaux et al., 2010; Quintard et al., 2011) dan untuk meningkatkan diskriminasi dan konsolidasi memori spasial oleh hippocampus (Garthe et al., 2009; Sahay et al., 2011; Ozawa et al., 2014). MLC901 memiliki efek neuroprotektif dan neurorestoratif yang mengarah pada peningkatan pemulihan fungsi kognitif dalam pada hewan coba tikus yang mengalami cedera otak traumatik dan ini merupakan dasar untuk mengeksplorasi terapi MLC901 untuk meningkatkan pemulihan pasien dengan cedera otak traumatik (Quintard H, et al., 2014). Cedera otak traumatik sering terjadi dan secara klinis gangguan neurologis yang sangat heterogen dengan besar konsekuensi sosial ekonomi. MLC601 dan MLC901, obat tradisional

yang digunakan di Cina untuk pasien setelah stroke telah dilaporkan sebelumnya untuk menginduksi neuroproteksi dan neuroplastisitas. Penelitian ini dirancang untuk mengevaluasi efek neuroprotektif dan neuroregeneratif. Faktor-faktor yang mempromosikan pertumbuhan seperti BDNF dan VEGF adalah mediator kunci untuk mendukung remodeling adaptif dari neuron yang bertahan hidup dan jaringan saraf, yang bermanfaat bagi kemajuan pemulihan. Data in vitro menunjukkan bahwa pengobatan MLC901 6 minggu (6 mg / ml) meningkatkan ekspresi BDNF dalam neuron kortikal. Dalam model tikus iskemia global yang diinduksi oleh oklusi pembuluh empat selama 20 menit, MLC901 yang diberikan secara intraperitoneal dalam posttreatment (0,074 mg / ml dalam bolus 500 µl / tikus) selama 7 hari, sangat mengurangi kematian neuron nekrotik dan apoptosis pada area CA1 hippocampal yang rentan setelah 1 minggu reperfusi. Sangat menarik, MLC901 memberikan perlindungan dari iskemia fokal dan global pada tikus ketika diberikan hingga 3 jam setelah iskemia (Heurteaux et al., 2013). Beberapa penelitian tentang manfaat MLC 901 dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 2.15.1. Penelitian yang relevan terhadap MLC 901 pada kasus cedera otak

No	Peneliti	Judul	Metode	Subjek	Hasil
1.	Tsai, 2014	Therapeutic Efficacy of NeuroAiD™ (MLC 601), a Traditional Chinese Medicine, in Experimental Traumatic Brain Injury	Studi Eksperimental TBI using fluid percussion injury device	Tikus <i>Sprague Dawley</i>	Pemberian MLC 601 dapat menurunkan apoptosis neuronal pada cedera otak traumatik dengan menekan produksi TNF alpha dan memiliki efek neuroprotektif dan neurorestoratif pada 4 hari setelah cedera. Marker yang diukur : TNF alpha jaringan otak
2	Quintard, H et, 2014	MLC 901, a Traditional Chinese medicine induces neuroprotective and neuroregenerative benefits after traumatic brain injury in rats	Studi Eksperimental TBI (LFP induced brain injury)	Tikus <i>Sprague Dawley</i>	MLC 901 memiliki efek neuroprotektif dan neurorestoratif yang mengarah pada perbaikan dalam pemulihan fungsi kognitif pada model tikus dengan cedera otak traumatis. Marker yang diukur : NSE, protein S100 beta, AQP 4, IHC MAP 2, IHC GFAP, IHC VEGF
3	Quintard, H et, 2011	MLC 901, a Traditional Chinese Medicine protects the brain against global ischaemia	Studi Eksperimental Stroke Iskemik global	Tikus Wistar	Pemberian MLC 901 dapat meningkatkan neurogenesis, fungsi kognitif, fungsi memori dan mencegah kerusakan hipocampus pada kasus global iskemia otak. Marker yang diukur : Bax protein expression, MDA levels in hippocampus
4	Heurteau x, C; et al. 2013	NeuroAiD: Properties for Neuroprotection and Neurorepair	Studi ekperimental Stroke model (fokal dan global)	Tikus	MLC601 dan MLC901 terbukti memiliki sifat neuroprotektor dan neurorepair pada hewan coba dengan fokal iskemia
5	Heurteau x, C; et al. 2010	Neuroprotective and neuroproliferative activities of NeuroAiD (MLC601, MLC901), a Chinese medicine, in vitro and in vivo	Studi ekperimental Stroke model (fokal dan global)	Tikus	MLC601 dan / MLC901 memiliki efek merangsang sekresi BDNF, menginduksi proses neurogenik, mencegah defisit fungsional, mencegah kematian sel, meningkatkan proses neurigenesis dan neuroproliferasi pada stroke.
6	Fauzi et al, 2020	Clinical Outcomes of MLC601 (NeuroAiDTM) in Traumatic Brain	Clinical trial	Manusia	Pemberian MLC 601 pada kasus nonoperatif cedera otak sedang menunjukkan hasil klinis yang baik dan

		Injury: A Pilot Study			tidak ada efek samping yang timbul
7	Theadom et al, 2018	MLC901 (NeuroAiD IITM) for cognition after traumatic brain injury: A pilot randomised clinical trial	Randomised clinical trial	Manusia (Cedera otak ringan dan sedang)	Pemberian MLC901 selama 6 bulan dapat meningkatkan fungsi kognitif dan aman ditoleransi dengan baik pada paska cedera otak traumatic
8	Widdman et al, 2018	The Traditional Chinese Medicine MLC 901 inhibits infammation processes after focal cerebral ischemia	Studi Eksperimental Stroke Iskemik (fokal)	Tikus Janvier	MLC901 melindungi kerusakan otak akibat iskemia, kerusakan BBB, edema serebral, dan disfungsi neurologis, menurunkan inflamasi fagosit pro-inflamasi yang dan menurunkan ekspresi mediator pro-inflamasi yang diinduksi oleh stroke. Marker yang diperiksa : MMP9, Prx6, TLR4, NFkB

Efek positif MLC901 juga dikaitkan dengan penurunan tingkat protein Bax, yang merupakan molekul proapoptosis yang kuat, yang menghambat Bcl-2 yang memicu aktivasi kaspase terminal. Hal ini paralel dengan pengurangan TUNEL (penanda degradasi DNA) yang menunjukkan bahwa pelindung saraf yang diinduksi oleh MLC901 melibatkan penurunan jalur apoptosis. Pengurangan radikal bebas di jaringan iskemik telah lama dianggap sebagai salah satu strategi pelindung saraf potensial untuk membatasi luasnya kerusakan jaringan otak setelah iskemia. Penurunan tingkat peroksidasi yang disebabkan oleh pelepasan radikal bebas di hipokampus pada hewan yang mengalami iskemia global (Heurteaux et al., 2013).