

KARYA AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN ASAM ASKORBAT,
 α -TOCOPHEROL DAN KOMBINASINYA TERHADAP KADAR
RADIKAL ANION SUPEROKSIDA, MALONDIALDEHYDE SERTA
GAMBARAN HISTOPATOLOGI PADA CEDERA OTAK
TRAUMATIKA TIKUS ALBINO JANTAN GALUR WISTAR**

**THE EFFECT OF GIVING ASCORBIC ACID, α -TOCOPHEROL AND ITS
COMBINATION ON SUPEROXIDE ANION RADICAL,
MALONDIALDEHYDE LEVELS AND HISTOPATHOLOGICAL FEATURES
IN TRAUMATIC BRAIN INJURIES OF MALE ALBINO RATS OF THE
WISTAR STRAIN**

NUR ARIEF

C205172001



PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1

PROGRAM STUDI ILMU BEDAH SARAF

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

KARYA AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN ASAM ASKORBAT,
 α -TOCOPHEROL DAN KOMBINASINYA TERHADAP KADAR
RADIKAL ANION SUPEROKSIDA, MALONDIALDEHYDE SERTA
GAMBARAN HISTOPATOLOGI PADA CEDERA OTAK
TRAUMATIKA TIKUS ALBINO JANTAN GALUR WISTAR**

**THE EFFECT OF GIVING ASCORBIC ACID, α -TOCOPHEROL AND ITS
COMBINATION ON SUPEROXIDE ANION RADICAL,
MALONDIALDEHYDE LEVELS AND HISTOPATHOLOGICAL FEATURES
IN TRAUMATIC BRAIN INJURIES OF MALE ALBINO RATS OF THE
WISTAR STRAIN**

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Dokter Spesialis
Program Studi Ilmu Bedah Saraf

Disusun dan diajukan oleh :

NUR ARIEF

C205172001

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH SARAF
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024

LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS

Pengaruh Pemberian Asam Askorbat, α -Tocopherol dan Kombinasinya terhadap Kadar Radikal Anion Superoksida, Malondialdehyde serta Gambaran Histopatologi Otak pada Cedera Otak Traumatika Tikus Albino Jantan Galur Wistar

Disusun dan diajukan oleh

Nur Arief

C205172001

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Bedah Saraf Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 22 Mei 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Dr. dr. Willy Adhimarta, Sp.BS(K)

NIP. 19760322 208812 1 001

Pembimbing Pendamping

Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K)

NIP. 19551019 198203 1 001

Pembimbing Pendamping

Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes

NIP.19661231 195503 1 009

Ketua Program Studi

Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K)

NIP. 19551019 198203 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran

Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes.Sp.PD-KGH.,Sp.GK

NIP. 19680530 199603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nur Arief
Nomor Mahasiswa : C205172001
Program Studi : Ilmu Bedah Saraf

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

Makassar, 22 Mei 2024

Yang menyatakan,



Handwritten signature of Nur Arief.

Nur Arief

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, berkat karunia dan kemurahannya Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, berkat karunia dan kemurahan-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan karya akhir ini sebagai salah satu prasyarat dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis Program Studi Ilmu Bedah Saraf di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar. Salam dan sholawat tidak lupa saya ucapkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Saya menyadari banyak hambatan dan tantangan yang saya hadapi dalam penyusunan karya akhir ini tetapi atas kerja keras, bantuan yang tulus serta semangat dan dukungan yang diberikan pembimbing saya, Dr. dr. Willy Adhimarta, Sp.BS, Subsp. N-Vas (K), Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS, Subsp. N-Ped (K) dan Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes sehingga penulisan karya ini dapat selesai sesuai dengan waktunya.

Pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, MSc selaku Rektor Universitas Hasanuddin, Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK sebagai Dekan Fakultas Kedokteran, serta Dr.dr. A. Muh. Takdir Musba, Sp.An, KMN-FIPM selaku Kepala Pusat Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran. Serta kepada Dr. dr. Djoko Widodo, Sp.BS, Subsp. N-Onk (K) sebagai Ketua Departemen Ilmu Bedah Saraf dan Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS, Subsp. N-Ped (K) sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah Saraf yang dengan sabar mendidik, membimbing serta menanamkan rasa percaya diri dan profesionalisme yang kuat dalam diri saya.

Terima kasih juga kepada Guru Besar dan seluruh Staf Dosen Departemen Ilmu Bedah yang telah mendidik dan membimbing kami dengan sabar dalam meningkatkan ilmu dan keterampilan pada diri kami. Terima kasih kepada para sejawat Residen Bedah Saraf dan Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Secara khusus saya ucapkan terima kasih kepada teman seperjuangan dan saudara Residen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas

Hasanuddin periode Januari 2019 (Assasin), terima kasih untuk dukungan dan semua bantuan yang telah diberikan.

Ungkapan istimewa dan terbesar saya berikan kepada orang tua saya alm. Drs. H. Imam Kamal dan Hj. Sri Rahayu Widodo, SE, MM. Kakak tersayang Nurnida Kemala Ayu, SE, ST, MSc dan adik tersayang dr. Nur Hanief, serta kerabat lain yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, yang selalu sabar mendukung dan menghibur saya dalam keadaan senang maupun susah.

Sebagai penutup, saya berterima kasih kepada diri saya, yang telah percaya terhadap diri sendiri, telah bekerja keras dan pantang menyerah untuk semua ini. Semoga Allah SWT melimpahkan karunia-NYA kepada semua pihak yang mencurahkan budi, pengorbanan dan bantuan kepada saya selama pendidikan, dan penulisan karya akhir ini.

ABSTRAK

Pengaruh Pemberian Asam Askorbat, α -Tocopherol dan Kombinasinya Terhadap Kadar Radikal Anion Superoksida, Malondialdehyde serta Gambaran Histopatologi Otak pada Cedera Otak Traumatika Tikus Albino Jantan Galur Wistar

Pendahuluan: Cedera otak traumatika (TBI) merupakan gangguan fungsi otak dan merupakan penyebab umum kematian dan kecacatan. Pemberian asam askorbat (AA) dan α -*tocopherol* dapat bermanfaat untuk meminimalisir kerusakan sel akibat ROS. Tujuan: Mengetahui pengaruh pemberian AA, α -*tocopherol* dan kombinasinya terhadap kadar radikal anion superoksida, malondialdehid dan gambaran histopatologi otak pada TBI tikus jantan Wistar albino.

Metode: Penelitian eksperimental laboratoris dilakukan pada tikus model Feeney Weight Drop pada bulan Januari sampai Februari 2024. Dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok A (diberi AA 60 mg/kg), kelompok B (diberi α -Tocopherol 60 mg/kg), kelompok C (diberi kombinasi AA dan α -Tokoferol 60 mg/kgBB) dan kelompok D sebagai kontrol positif (diberi NaCl 0,9%).

Hasil: Didapatkan tikus percobaan sebanyak 24 ekor. Peningkatan kadar penghambatan SAR dan penurunan kadar MDA pada kelompok mencit yang diberi AA dan α -Tokoferol pasca 3 jam dan pasca 24 jam dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$). Kombinasi AA dan α -Tokoferol menunjukkan peningkatan kadar inhibisi SAR tertinggi dan penurunan MDA terbesar ($p > 0,05$). Gambaran histopatologi dengan skor paling berat terdapat pada kelompok kontrol dan skor ringan pada kelompok C.

Kesimpulan: Pemberian AA dan α -Tokoferol terbukti menurunkan stres oksidatif akibat radikal anion superoksida dan memberikan efek neuroprotektif pada tikus yang diobati dengan TBI. Diperlukan studi lebih lanjut.

Kata kunci: asam askorbat, α -*tocopherol*, radikal anion superoksida, SAR, malondialdehid, MDA, edema otak, cedera otak traumatik, TBI.

ABSTRACT

The Effect of Giving Ascorbic Acid, α -Tocopherol and Its Combination on Superoxide Anion Radical, Malondialdehyde Levels and Histopathological Features in Traumatic Brain Injuries of Male Albino Rats of The Wistar Strain

Introduction: Traumatic brain injury (TBI) is a disorder of brain function and is a common cause of death and disability. The administration of ascorbic acid (AA) and α -tocopherol can be useful for minimizing cell damage caused by ROS. Aim: To determine the effect of administering AA, α -tocopherol and their combination on superoxide anion radicals level, malondialdehyde and brain histopathological features in TBI in male Wistar albino rats.

Methods: A laboratory experimental study was done on Feeney Weight Drop model mice from January to February 2024. Divided into 4 groups, namely group A (given AA 60 mg/kg), group B (given α -Tocopherol 60 mg/kg), group C (given a combination of AA and α -Tocopherol 60 mg/kg) and group D as positive control (given NaCl 0.9%).

Results: As many as 24 experimental mice were obtained. Increase in SAR inhibition levels and decrease in MDA levels in the group of mice given AA and α -Tocopherol post 3 hours and post 24 hours compared to the control ($p < 0.05$). The combination of AA and α -Tocopherol showed the highest increase of SAR inhibition levels and greatest reduction of MDA ($p > 0.05$). The histopathological picture with the most severe was found in the control group and mild score in the group C.

Conclusion: Administration of AA and α -Tocopherol was proven to reduce oxidative stress caused by superoxide anion radicals and provide neuroprotective effects in rats treated with TBI. Further study was needed.

Key words: ascorbic acid, α -tocopherol, superoxide anion radical, SAR, malondialdehyde, MDA, brain edema, traumatic brain injury, TBI.

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 <i>Latar Belakang</i>	1
1.2 <i>Rumusan Masalah</i>	6
1.3 <i>Tujuan Penelitian</i>	7
1.3.1 Tujuan Umum	7
1.3.2 Tujuan Khusus	7
1.4 <i>Manfaat Penelitian</i>	8
1.5 <i>Keaslian Penelitian</i>	9
BAB II	13
TINJAUAN PUSTAKA.....	13
2.1 <i>Cedera Otak Traumatika</i>	13
2.2 <i>Epidemiologi</i>	13
2.3 <i>Klasifikikasi Cedera Kepala</i>	14
2.3.1 Mekanisme Cedera Otak.....	15
2.3.2 Beratnya Cedera Otak	18
2.4 <i>Patogenesis Cedera Kepala</i>	21
2.4.1 Cedera Kepala Primer	23
2.4.2 Cedera Kepala Sekunder	26

2.5	<i>Oksidatif Stress</i>	31
2.6	<i>Malondialdehyde</i>	36
2.7	<i>Histopatologi Cedera Otak</i>	41
2.8	<i>Antioksidan</i>	51
2.9	<i>Asam Askorbat</i>	53
2.9.1	Farmakodinamik	55
2.9.2	Farmakokinetik	56
2.9.3	Efek Samping dan Interaksi Obat	60
2.9.4	Kontraindikasi	61
2.9.5	Peran Asam Askorbat dalam Cedera Otak Traumatika	61
2.10	<i>α-Tocopherol</i>	67
2.10.1	Farmakodinamik	68
2.10.2	Farmakokinetik	70
2.10.3	Efek Samping dan Interaksi Obat	74
2.10.4	Kontraindikasi	74
2.10.5	Peran <i>α-Tocopherol</i> dalam Cedera Otak Traumatika.....	75
2.11	<i>Model Tikus Cedera Otak Traumatika</i>	80
2.11.1	COT Fokal.....	81
2.11.2	COT Difus.....	92
2.11.3	COT Non-Impact	98
BAB III.....		103
KERANGKA PENELITIAN DAN HIPOTESIS.....		103
3.1	<i>Kerangka Teori</i>	103
3.2	<i>Kerangka Konsep</i>	103
3.3	<i>Hipotesis Penelitian</i>	104
BAB IV.....		105
METODE PENELITIAN		105
4.1	<i>Rancangan Penelitian</i>	105
4.2	<i>Lokasi dan Waktu Penelitian</i>	105

4.2.1	Lokasi Penelitian.....	105
4.2.2	Waktu Penelitian.....	105
4.3	<i>Populasi dan Sampel Penelitian</i>	105
4.3.1	Populasi.....	105
4.3.2	Sampel Penelitian.....	106
4.4	<i>Kriteria Inklusi dan Eksklusi</i>	107
4.4.1	Kriteria Inklusi.....	107
4.4.2	Kriteria Eksklusi.....	108
4.4.3	Kriteria Putus Penelitian.....	108
4.5	<i>Definisi Operasional</i>	108
4.6	<i>Kriteria Objektif</i>	110
4.7	<i>Instrumen Pengumpulan data</i>	110
4.7.1	Pemilihan Alat dan Bahan.....	110
4.8	<i>Jalannya Penelitian</i>	111
4.9	<i>Metode Pemeriksaan</i>	121
4.9.1	Prosedur Pemeriksaan ASSAY.....	121
4.10	<i>Analisis data</i>	125
4.10.1	Prosedur Pemeriksaan ELISA.....	126
4.10.2	Prosedur Pemeriksaan Histopatologi.....	133
4.11	<i>Alur Penelitian</i>	135
4.12	<i>Analisis Data</i>	135
4.13	<i>Pertimbangan Etika</i>	136
BAB V.....		137
HASIL DAN PEMBAHASAN PENELITIAN.....		137
5.1	<i>Efek Ascorbic Acid , α-tocopherol dan Kombinasi (ascorbic acid (AA) & α-tocopherol) Terhadap Aktifitas Inhibisi Anion Superoksida pada Hewan Coba Tikus Dengan Cedera Otak Traumatika</i>	138
5.2	<i>Efek Ascorbic Acid , α-tocopherol dan Kombinasi (ascorbic acid (AA) & α-tocopherol) Terhadap Kadar Malondialdehyde pada Hewan Coba Tikus Dengan Cedera Otak Traumatika</i>	143

5.3	<i>Efek Ascorbic Acid , α-tocopherol dan Kombinasi (ascorbic acid (AA) & α-tocopherol) Terhadap Gambaran Histopatologis pada Hewan Coba Tikus Dengan Cedera Otak Traumatika.....</i>	148
BAB VI.....		151
KESIMPULAN DAN SARAN		151
6.1	<i>Kesimpulan</i>	151
6.2	<i>Saran.....</i>	152
DAFTAR PUSTAKA		153
Lampiran		161

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Skor <i>Glasgow Coma Scale</i> (GCS).....	19
Tabel 2.2. Klasifikasi cedera otak traumatika	20
Tabel 2.3. Spesies Reaktif Oksigen dan sumbernya.....	29
Tabel 2.4. Enzim dependen Asam askorbat (AA)	55
Tabel 2.5. Jumlah Asam askorbat (AA) dalam produk makanan dengan kadar tinggi.....	58
Tabel 2.6. Penamaan dari tocopherol dan tocotrienol	71
Tabel 5.1. Hasil uji normalitas aktifitas inhibisi RAS menurut kelompok perlakuan	138
Tabel 5.2. <i>Perbandingan Aktifitas Inhibisi RAS menurut Kelompok pada Pre Perlakuan</i>	139
Tabel 5.3. Perbandingan Aktifitas Inhibisi RAS menurut Kelompok pada Post 3 Jam.....	139
Tabel 5.4. Perbandingan Lanjutan Aktifitas Inhibisi RAS antar Kelompok pada Post 3 Jam.....	139
Tabel 5.5. Perbandingan Aktifitas Inhibisi RAS menurut Kelompok pada Post 24 Jam.....	140
Tabel 5.6. Perbandingan Lanjutan Aktifitas Inhibisi RAS antar Kelompok pada Post 24 Jam.....	140
Tabel 5.7. Hasil uji normalitas data MDA menurut kelompok perlakuan.....	143
Tabel 5.8. Perbandingan MDA menurut Kelompok pada Pre Perlakuan.....	143
Tabel 5.9. Perbandingan MDA menurut Kelompok pada Post 3 Jam.....	144
Tabel 5.10. Perbandingan Lanjutan MDA antar Kelompok pada Post 3 Jam....	144
Tabel 5.11. Perbandingan MDA antar Kelompok pada Post 24 Jam	145
Tabel 5.12. Perbandingan Lanjutan MDA antar Kelompok pada Post 24 Jam..	145
Tabel 5.13. Perbandingan Derajat Edema menurut Kelompok	148

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Jenis gaya pada cedera otak traumatis	17
Gambar 2.2. Cedera aksonal pada cedera otak traumatika	22
Gambar 2.3. Patofisiologi cedera kepala primer.....	25
Gambar 2.4. Respons imun bawaan di otak dan perifer setelah cedera otak traumatis	27
Gambar 2.5. Representasi skematis dari beberapa proses patologis utama cedera sekunder terkait COT	30
Gambar 2.6. Stres oksidatif pada COT	31
Gambar 2.7. Berbagai Jalur Pembentukan <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS) dan Transformasinya	33
Gambar 2.8. Generasi dan efek ROS seluler	34
Gambar 2.9. Enzim Oksidan dan Antioksidan.....	35
Gambar 2.10. Representasi skematis tentang bagaimana oksidatif stres dapat menyebabkan defisit kognitif dan perilaku	36
Gambar 2.11. Reaksi kimia satu molekul <i>malondialdehyde</i> (MDA) dengan dua molekul <i>2-thiobarbituric acid</i> (TBA) dan pembentukan produk kondensasi (adisi MDA-TBA ₂)	38
Gambar 2.12. Pembentukan dan metabolisme MDA	41
Gambar 2.13. Perubahan struktur mikro yang terkait dengan edema pada kontusio penumbra pada titik waktu yang berbeda setelah cedera otak traumatis.....	43
Gambar 2.14. Perubahan ultrastruktur yang terkait dengan edema pada kontusio penumbra pada titik waktu yang berbeda setelah cedera otak traumatis.....	43
Gambar 2.15. Bagian otak untuk pemeriksaan cedera histologis	44
Gambar 2.16. Fotomikrograf otak (cerebrum).....	46
Gambar 2.17. Fotomikrograf serebelum TBI dan Normal tikus.....	47
Gambar 2.18. Fotomikrograf serebrum tikus COT dan normal diwarnai dengan <i>stain</i> Bielchowsky	48
Gambar 2.19. Fotomikrograf hipokampus dari tikus normal yang menunjukkan lapisan sel utuh	49
Gambar 2.20. Evolusi edema perilesional selama 7 hari pertama setelah trauma	50
Gambar 2.21. Persentasi edema otak secara histologi berdasarkan beratnya cedera	51
Gambar 2.22. Penomoran atom karbon yang berbeda dari asam L-askorbat (4R, 5S)	54
Gambar 2.23. Mekanisme antioksidan dari <i>Ascorbic acid</i> (AA).....	62
Gambar 2.24. Mekanisme scavenging oksigen reaktif dari <i>Ascorbic acid</i> (AA) IV dosis tinggi pada COT	64
Gambar 2.25. Jalur aksi antioksidan dari <i>Ascorbic acid</i> (AA)	66
Gambar 2.26. Struktur kimia <i>tocopherol</i> dan <i>tocotrienol</i>	68

Gambar 2. 27. (A) Komponen farmakologi vitamin E. (B) Rute yang berbeda dalam pemberian vitamin E dan fungsi terapeutiknya	69
Gambar 2.28. Metabolisme vitamin E melalui administrasi oral	72
Gambar 2.29. Transportasi vitamin E di SSP	73
Gambar 2.30. Ilustrasi <i>Feeney's weight drop</i>	84
Gambar 2.31. Ilustrasi model FPI lateral	87
Gambar 2.32. Pewarnaan hematoxylin dan eosin (H&E) pada bagian otak koronal pada 7 hari pasca LFPI	88
Gambar 2.33. Ilustrasi peralatan yang digunakan pada model PBB1	89
Gambar 2.34. Contoh dari <i>electromagnetic CCI system</i> dengan <i>stereotaxic frame</i> menstabilkan tikus	91
Gambar 2.35. Otak dikumpulkan dari eksperimen dalam model CCI.....	91
Gambar 2.36. Illustration of a modified grade 1A Marmarou weight drop model	93
Gambar 2.37. Otak dari model cedera difus sedang 24 jam setelah benturan	95
Gambar 2.38. <i>Modified controlled cortical impact model</i>	97
Gambar 2.39. Ilustrasi perangkat CHIMERA.....	100
Gambar 2.40. Posisi hewan sebelum induksi cedera	100
Gambar 2.41. Ilustrasi desain eksperimental <i>blast injury model</i> , termasuk perubahan yang dilakukan dari penelitian individual.....	102
Gambar 3.1. Kerangka teori	103
Gambar 3.2. Kerangka Konsep.....	103
Gambar 4.1. Ketamin Cocktail (ketamin, xylazine,acepromazine)	112
Gambar 4.2. <i>Ascorbic Acid</i>	113
Gambar 4.3. α -Tocopherol.....	113
Gambar 4.4. Kelompok Tikus perlakuan	114
Gambar 4.5. Prosedur pengambilan sampel darah vena dari pleksus orbitalis..	115
Gambar 4.6. Teknik injeksi intramuscular.....	116
Gambar 4.7. Alat dan beban Model Feeney Weight Drop	117
Gambar 4.8. Perlakuan Feeney Weight Drop	118
Gambar 4.9. Pengambilan sampel dan sentrifuse darah.	119
Gambar 4.10. Proses nekropsis jaringan otak	120
Gambar 4.11. Jaringan otak kelompok A,B,C,dan D.	120
Gambar 4.12. <i>Rat Inhibition and Production of Superoxide Anionic Colorimetric Assay Kit</i>	121
Gambar 4.13. Alur prosedur pemeriksaan ASSAY kadar inhibisi superoxide anion serum	121
Gambar 4.14. Preparasi sampel penelitian.....	122
Gambar 4.15. Proses pemeriksaan inhibisi radikal anion superoksida.....	125
Gambar 4.16. <i>Rat Malondialdehyde ELISA Kit</i>	126
Gambar 4.17. <i>Standard dilution</i>	128
Gambar 4.18. Alur pemeriksaan histamin	133

Gambar 4.19. Bahan dan proses pemeriksaan Histamin	133
Gambar 4.20. Potongan <i>coronal</i> pada masing-masing kelompok A, B, C, D..	134
Gambar 4.21. Histologis pada masing-masing kelompok A, B, C, D.	134
Gambar 5.1. Gambar Perbandingan Mean Aktifitas Inhibisi RAS.....	141
Gambar 5.2. Gambar Trend Perubahan Aktifitas Inhibisi RAS (repeated Anova test)	141
Gambar 5.3. Perbandingan Mean MDA	146
Gambar 5.4. Trend Perubahan MDA (Repeated Anova test)	146
Gambar 5.5. Perbandingan <i>Score</i> Gambaran Histopatologis	149

DAFTAR SINGKATAN

130-COOH	: <i>130-carboxychromanol</i>
130-OH	: <i>130-hydroxychromanol</i>
4-HNE	: <i>4-hydroxynomenal</i>
8-OH-Gua	: <i>8-hidroksiguanin</i>
AA	: <i>Ascorbic acid</i>
ABC	: <i>A-subclass of ATP-binding cassette</i>
ADP	: <i>Adenosine diphosphate</i>
APP	: <i>Amyloid precursor protein</i>
AS	: <i>Amerika Serikat</i>
ATP	: <i>Adenosine triphosphate</i>
A β	: <i>Amiloid-β</i>
BACE	: <i>β-secretase</i>
BBB	: <i>Blood-brain-barrier</i>
BDNF	: <i>Brain-derived neurotrophic factor</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
CBF	: <i>Cerebral blood flow</i>
CEHC	: <i>Carboxyethyl hydroxychromans</i>
CKB	: <i>Cedera Kepala Berat</i>
CKR	: <i>Cedera Kepala Ringan</i>
CKS	: <i>Cedera Kepala Sedang</i>
CMBHC	: <i>Carboxymethyl-butyl hydroxychromans</i>
COT	: <i>Cedera otak traumatika</i>
CSF	: <i>Cerebrospinal fluid</i>
CTE	: <i>Chronic traumatic encephalopathy</i>
DAI	: <i>Diffuse axonal injury</i>
DAMP	: <i>Damage-associated molecular patterns</i>
DHA	: <i>Docosahexaenoic Acid</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
EB	: <i>Evans blue</i>
FPI	: <i>Fluid percussion injury</i>
G6PD	: <i>Glucose-6-phosphate dehydrogenase</i>
GC-MS/MS	: <i>Gas chromatography-mass spectrometry</i>
GCS	: <i>Glasgow Coma Scale</i>
GLO-1	: <i>Glioksalase-1</i>
GLUT	: <i>Glucose transporter</i>
GOS-E	: <i>Glasgow Outcome Scale-Extended</i>
GPx	: <i>Glutathione peroxidase</i>
GSIS	: <i>Glucose-stimulated insulin secretion</i>
GSR-1	: <i>Glutathione reductase-1</i>

GST	: <i>Glutation s-transferase</i>
H ₂ O ₂	: Hidrogen peroksida
HHT	: 12-l-hidroksi-5,8,10-heptadekatrienoat
IV	: Intravena
LC-MS/MS	: <i>Liquid chromatography-mass spectrometry</i>
LDL	: <i>Low density lipoprotein</i>
LMIC	: <i>Low- and middle-income countries</i>
LP	: <i>Lipid peroxidation</i>
LRP1	: <i>Low density lipoprotein receptor-related protein 1</i>
LSD	: <i>Least significant defference</i>
MAG	: <i>Myelin- associated glycoprotein</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MG	: Metilglioksal
MMP-9	: <i>Metalloproteinase 9</i>
MnSOD	: Mangan superoksida dismutase
NF-E2	: <i>Nuclear Factor, Erythroid 2</i>
NO	: <i>Nitrix oxide</i>
Nogo-A	: <i>Neurite outgrowth inhibitor-A</i>
NOXs	: <i>NADPH oxidases</i>
NSS	: <i>Neurological Severity Score</i>
NTNT	: <i>Neither traumatized nor treated</i>
O ₂ ⁻	: Anion superoksida
OH ⁻	: Hidroksil
OMgp	: <i>Oligodendrocy myelin glycoprotein</i>
PBBI	: <i>Penetrating ballistic-like brain injury</i>
PGH ₂	: Prostaglandin H ₂
PRX	: Peroxiredoxin
PS1	: <i>Presenilin 1</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated fatty acids</i>
R ⁺	: Radikal hidrokarbon
RAS	: Radikal Anion Superoksida
RH	: Radikal hidroksil
RNS	: <i>Reactive nitrogen species</i>
RO ⁺	: Radikal alkolsil
ROO ⁻	: Radikal peroksil
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
SAG	: <i>Serum anion gap</i>
Sir2	: <i>Silent information regulator 2</i>
SOD	: <i>Superoxide dismutase</i>
Sp	: Spesifisitas protein
SRB1	: <i>Scavenger Receptor Class B type 1</i>
SSP	: Sistem saraf pusat

SVCT	: <i>Sodium-dependent vitC transporter</i>
T3	: <i>Tocotrienol</i>
TBA	: <i>Thiobarbituric acid</i>
TBARS	: <i>Thiobarbituric acid reacting substances</i>
TBI	: <i>Traumatic brain injury</i>
TNT	: <i>Traumatized but not treated</i>
TRX	: <i>Thioredoxin</i>
TT	: <i>Traumatized treated</i>
TXA ₂	: <i>Tromboksen A₂</i>
VLDL	: <i>Very low-density lipoproteins</i>
XO	: <i>Xanthine oxidase</i>
α-TE	: <i>Ekvivalen α-tocopherol</i>
α-Toch	: <i>α-tocopherol</i>
α-TTP	: <i>α-tocopherol transfer protein</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Traumatic brain injury (TBI) atau cedera otak traumatika (COT) adalah gangguan fungsi otak, atau bukti patologi otak lainnya, yang disebabkan oleh kekuatan fisik eksternal.¹ COT adalah presentasi umum di departemen gawat darurat, yang menyumbang lebih dari satu juta kunjungan setiap tahunnya. Ini adalah penyebab umum kematian dan kecacatan di antara anak-anak dan orang dewasa.²

Gangguan jangka panjang yang diinduksi COT pada fungsi motorik dan kognitif dan perilaku sosial, perkembangan gangguan mood, pola tidur yang tidak normal, dan perubahan kepribadian berkontribusi pada penurunan kualitas hidup dan harapan hidup secara keseluruhan, yang mengakibatkan perkiraan beban keuangan global tahunan lebih dari \$ 400 miliar untuk biaya perawatan kesehatan. COT berat merupakan faktor risiko utama untuk degenerasi saraf, demensia, stroke, dan epilepsi, dan dikaitkan dengan peningkatan angka kematian jangka panjang dibandingkan dengan angka untuk populasi umum. Risiko neurodegeneratif ini juga terjadi pada bentuk COT yang lebih ringan, terutama setelah cedera berulang (misalnya gegar otak). Dengan demikian, COT bukanlah kejadian cedera statis tunggal, tetapi harus dianggap sebagai penyakit kronis dan progresif dengan konsekuensi jangka panjang yang serius.³

Heterogenitas COT dan pengetahuan yang terbatas tentang mekanisme patofisiologis yang mendasarinya, belum ada tindakan pembedahan dan farmakologis standar saat ini untuk pasien COT. Meskipun hasil praklinisnya menjanjikan, banyak strategi intervensi gagal menunjukkan efek menguntungkan dalam uji coba terkontrol secara acak sehingga pasien COT masih memerlukan penemuan obat yang mampu menurunkan mortalitas dan kecacatan yang terkait dengan patologi ini.⁴

Kerusakan jaringan saraf yang terkait dengan COT terbagi dalam dua kategori: (i) cedera primer, yang secara langsung disebabkan oleh kekuatan mekanis selama kerusakan awal; dan (ii) cedera sekunder, yang mengacu pada kerusakan jaringan dan seluler lebih lanjut setelah cedera primer. Cedera sekunder berikutnya melibatkan proses biokimia multifaktor yang kompleks yang dimulai dalam beberapa menit setelah cedera mekanis primer dan bertahan selama berhari-hari, berbulan-bulan, dan bahkan bertahun-tahun setelah cedera primer, berkontribusi dan memperburuk peradangan saraf, degenerasi saraf, dan defisit neurologis.

Peradangan saraf yang berkelanjutan menghasilkan kerusakan jaringan lebih lanjut dan degenerasi saraf, sehingga mengganggu, atau berpotensi memperburuk, pemulihan neurologis dari COT. Aktivasi kronis mikroglia menghasilkan produksi dan pelepasan molekul proinflamasi yang persisten termasuk *reactive oxygen species* (ROS) dan sitokin. Astrogliosis reaktif yang berkelanjutan berkembang menjadi pembentukan glial scar, yang menghambat regenerasi aksonal, mengakibatkan disfungsi axonal end bulbs yang mengganggu pemulihan fungsional.

Oksidatif stres sering digambarkan sebagai fenomena *self-propagating* berdasarkan pengamatan bahwa ketika pelepasan ROS berlebihan yang diinduksi oksidatif stres memicu kerusakan sel, makromolekul yang rusak itu sendiri dapat berperilaku sebagai dan/atau menjadi ROS. Akibatnya, otak, dengan kandungan kaya lemak, permintaan energi yang tinggi, dan kapasitas antioksidan yang lemah menjadi sasaran dari kerusakan oksidatif yang berlebihan.⁵ Oksidatif stres menyebabkan peningkatan produksi produk peroksidase lemak, salah satunya adalah *malondialdehyde* (MDA), yang juga dapat menyebabkan pensinyalan abnormal.^{6,7} *Malondialdehyde* (MDA) merupakan salah satu produk sekunder atau produk akhir dari peroksidase lemak yang dibentuk dari dekomposisi asam arakidonat dan PUFA yang lebih besar. Karena MDA adalah salah satu penanda paling populer dan andal yang menentukan oksidatif stres dalam situasi klinis, dan karena reaktivitas dan toksisitas MDA yang tinggi mendasari fakta bahwa molekul ini sangat relevan dengan komunitas penelitian biomedis.⁸

Untuk menangkal efek berbahaya yang terjadi di dalam sel, tubuh telah membentuk beberapa strategi seperti pencegahan yaitu mekanisme pertahanan antioksidan. Berdasarkan teori radikal bebas terkait oksidatif stres, antioksidan adalah pilihan pertama untuk mengatasi stres. Sistem antioksidan enzimatik dan nonenzimatik ini diperlukan untuk mempertahankan hidup dengan menjaga keseimbangan redoks intraseluler dan meminimalkan kerusakan sel yang tidak diinginkan yang disebabkan oleh ROS.⁷ Pilihan antioksidan yang akan dibahas pada studi ini adalah *ascorbic acid* (AA) dan *α-tocopherol*.

Ascorbic acid (AA), atau vitamin C dikenal luas sebagai salah satu free radical scavengers endogen terpenting, sehingga diduga memiliki tindakan neuroprotektif dengan mengurangi kerusakan akibat eksitotoksisitas. *Ascorbic acid* (AA) adalah salah satu antioksidan larut air yang paling melimpah dalam jaringan, bertindak sebagai kofaktor pereduksi dalam beberapa reaksi enzimatik. Menjadi agen pereduksi yang kuat, dengan cepat bereaksi, melalui satu atau dua reaksi elektron, dengan berbagai ROS dan RNS, termasuk radikal peroksinitrit dan hidroksil. AA mengatur tingkat ROS sejak tahap pembentukannya. Sumber utama ROS adalah rantai pernapasan mitokondria dan enzim spesifik, seperti NADPH oxidases (NOXs) atau *xanthine oxidase* (XO). Selain itu, penurunan kadar vitamin C berhubungan dengan peningkatan volume lesi.

Vitamin E adalah antioksidan larut dalam lemak yang mengurangi spesies oksigen reaktif. Defisiensi vitamin E menyebabkan degenerasi neuron, terutama akson perifer dan kolumna posterior neuron, yang menyebabkan neuropati perifer, ataksia, dan miopati tulang.^{9,10} Dalam patofisiologi COT, peningkatan produksi radikal bebas dan spesies oksigen reaktif setelah cedera menyebabkan stres oksidatif dan neurotoksisitas sekunder.¹¹ Dalam kasus di mana ada kekurangan berbagai antioksidan, berpengaruh dalam pemulihan jaringan otak pasca cedera, pengobatan dengan antioksidan mungkin secara teoritis efektif dalam mencegah penyebaran kerusakan jaringan juga seperti dalam meningkatkan kelangsungan hidup / fungsional hasil jangka pendek dan jangka Panjang.¹²⁻¹⁶ Beberapa penelitian pada hewan telah mengevaluasi

hal itu suplementasi vitamin E sebelum COT mereduksi oksidatif stres dan peningkatan pembelajaran dan memori.^{17,18}

Pemberian vitamin E setelah COT juga mengurangi kerusakan otak mikroskopis, mempromosikan regenerasi saraf, dan meningkatkan fungsi kognitif dalam model hewan.¹⁹⁻²¹ Dalam hal klinis, suplementasi antioksidan pada fase awal termasuk vitamin E pada pasien sakit kritis, termasuk pasien COT, dikaitkan dengan penurunan kegagalan organ dan lama tinggal di rumah sakit.^{22,23} Suplementasi vitamin E menunjukkan penurunan yang signifikan dalam kematian dan peningkatan hasil fungsional jangka panjang dari pasien COT.²⁴

Mengingat bukti efek menguntungkan dari vitamin E, dihipotesiskan bahwa kekurangan vitamin E akan terjadi dikaitkan dengan hasil kelangsungan hidup yang buruk dan pemulihan fungsional setelah COT dengan cedera intrakranial, dan oleh karena itu kadar serum vitamin E dapat dimanfaatkan sebagai biomarker nutrisi untuk hasil klinis setelah COT. Kajian ini bertujuan untuk menentukan hubungan antara kadar vitamin E serum dan hasil fungsional/kelangsungan hidup di antara pasien COT dengan cedera intrakranial.²⁵

Baru-baru ini, AA dan *α-tocopherol* telah diberikan pada pasien cedera otak traumatika untuk menyelidiki hasil akhir klinis pasien. Khalili dkk., pada 1321 pasien cedera otak traumatika, 269 dirawat dan 1052 tidak dirawat. Berdasarkan perkiraan efek pengobatan rata-rata, penggunaan AA dan *α-tocopherol* mengurangi risiko kematian (risk difference [RD]: -0,07; 95% confidence interval [CI]: -0,14—-0,003) dan mengurangi lama perawatan di

ICU (RD -1.77 95% CI:-3.71-0.16). Selanjutnya, hasil kami menunjukkan bahwa skor *Glascow Outcome Scale-Extended* (GOS-E) meningkat secara signifikan (RD: 0,09, 95% CI: 0,03-0,16).²⁶

Ishaq dkk., melaporkan bahwa pre dan post terapi dengan AA dan *α-tocopherol* mengurangi oksidatif stress yang diinduksi oleh cedera kepala (P <0,05) dan secara efektif mengurangi laju mortalitas pada tikus. Aktivitas superoksida dismutase pada tikus cedera otak traumatika secara nyata berkurang jika dibandingkan dengan kontrol yang tidak mengalami trauma dan menunjukkan kecenderungan untuk meningkat setelah suplementasi dengan AA dan *α-tocopherol*. Suplementasi vitamin secara signifikan (P <0,05) mengurangi MDA pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol.²¹

Mengingat kelangkaan bukti tentang efek AA dan *α-tocopherol* pada hasil pasien dengan cedera otak traumatika, oleh karena itu, dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian kombinasi AA dan *α-tocopherol* terhadap kadar malondialdehyde pada cedera otak traumatika tikus albino jantan galur wistar.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah tersebut di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian yaitu adakah pengaruh pemberian *ascorbic acid* (AA), *α-tocopherol* dan kombinasinya terhadap kadar radikal superoksida, malondialdehyde dan histopatologi jaringan otak pada tikus albino galur wistar setelah cedera otak traumatika?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *ascorbic acid* (AA), *α-tocopherol* dan kombinasinya terhadap kadar radikal anion superoksida, malondialdehide serta gambaran histopatologi otak pada cedera otak traumatika tikus albino jantan galur wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Diketuainya kadar radikal anion superoksida serum pada hewan coba tikus yang tidak diberikan *ascorbic acid* (AA), *α-tocopherol*, kombinasi (*ascorbic acid* (AA) dan *α-tocopherol*) setelah mengalami cedera otak traumatika.
2. Diketuainya kadar malondialdehide serum pada hewan coba tikus yang tidak diberikan *ascorbic acid* (AA), *α-tocopherol*, kombinasi (*ascorbic acid* (AA) dan *α-tocopherol*) setelah mengalami cedera otak traumatika.
3. Diketuainya kadar radikal anion superoksida serum pada hewan coba tikus yang diberikan *ascorbic acid* (AA), *α-tocopherol*, kombinasi (*ascorbic acid* (AA) dan *α-tocopherol*) setelah mengalami cedera otak traumatika.
4. Diketuainya kadar malondialdehide serum pada hewan coba tikus yang diberikan *ascorbic acid* (AA), *α-tocopherol*, kombinasi (*ascorbic acid* (AA) dan *α-tocopherol*) setelah mengalami cedera otak traumatika.

5. Diketuainya gambaran histopatologi antar kelompok hewan coba yang diberikan *ascorbic acid* (AA), *α-tocopherol* , kombinasi (*ascorbic acid* (AA) dan *α-tocopherol*) setelah mengalami cedera otak traumatika.
6. Diketuainya korelasi antara kadar radikal anion superoksida, kadar malondialdehyde dan gambaran histopatologi otak pada hewan coba setelah cedera otak traumatika.
7. Diketuainya perbandingan kadar radikal anion superoksida dan malondialdehyde serum pada hewan coba tikus sebelum cedera otak traumatika, yang mengalami cedera otak traumatika dan diberikan *ascorbic acid* (AA) ,*α-tocopherol* dan kombinasinya , dan yang diberikan placebo (NaCl 0.9%).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar pertimbangan pemberian antioksidan *ascorbic acid* (AA), *α-tocopherol* sebagai terapi adjuvant dalam mencegah terjadinya stres oksidatif pada cedera otak traumatika.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah tentang pengaruh pemberian antioksidan *ascorbic acid* (AA) dan *α-tocopherol* terhadap kadar inhibisi radikal anion superoksida, malondialdehyde , dan gambaran histopatologi pada pasien cedera otak traumatika.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut mengenai hubungan antioksidan *ascorbic acid* (AA) dan *α-tocopherol* pada cedera otak traumatika.

1.5 Keaslian Penelitian

Peneliti belum pernah menemukan penulisan karya ilmiah atau penelitian yang sejenis tentang efek kombinasi antioksidan *ascorbic acid* (AA) dan *α-tocopherol* terhadap kadar malondialdehyde pada cedera otak traumatika model hewan coba tikus wistar. Peneliti melakukan penelusuran pada PubMed, Researchgate, dan Science Direct dengan kata kunci ***The effect of ascorbic acid, α-tocopherol and combination of ascorbic acid (AA) and α-tocopherol on Malondialdehyde level in Traumatic Brain Injury of Rats*** yang menghasilkan beberapa penelitian sebagai berikut:

1. *Modulated Neuroprotection in Unresponsive Wakefulness Syndrome after Severe Traumatic Brain Injury*

Penelitian ini menilai efek neuroprotektif termodulasi dengan pemberian intermiten pada pasien dengan sindrom bangun tidak responsif setelah cedera otak traumatis berat. Penelitian dibagi menjadi dua kelompok, dengan dan tanpa pengobatan neuroprotektif dengan Actovegin, Cerebrolysin, pyritinol, L-phosphothreonine, L-glutamine, hydroxocobalamin, alpha-lipoic acid, carotene, DL-*α-tocopherol*, *ascorbic acid* (AA), tiamin, piridoksin, sianokobalamin, koenzim Q 10, dan L-karnitin di samping pengobatan standar. Hasilnya pasien yang mendapat terapi neuroprotektif pulih lebih cepat dari sindrom bangun tidak responsif dibandingkan kontrol, melewati keadaan kesadaran minimal dan berangsur-angsur meningkat sampai evaluasi akhir, menuju tingkat kognitif tinggi. Peningkatan fungsi kognitif dan fisik berkorelasi

kuat dengan durasi sindrom bangun tidak responsif yang lebih rendah dan skor GCS yang lebih tinggi.²⁷

2. *Administration of Vitamin C and Vitamin E in Severe Head Injury: A Randomized Double-blind Controlled Trial.*

Penelitian ini menilai efek vitamin c dan vitamin e pada cedera otak traumatika berat. Pasien diacak menjadi 4 kelompok penerima salah satu dari protokol berikut: grup A, vitamin C dosis rendah (500 mg/hari IV) selama 7 hari; grup B, vitamin C dosis tinggi (10 g IV pada hari [penerimaan] pertama dan diulangi pada hari keempat, diikuti dengan vitamin C 4 g/hari IV selama 3 hari tersisa); kelompok C, vitamin E (400 IU/hari IM) selama 7 hari; dan grup D, plasebo. Hasil penelitian kelompok vitamin E menunjukkan hasil yang signifikan, kematian yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan lainnya. Skor GOS saat keluar dan tindak lanjut juga secara signifikan lebih baik untuk pasien kelompok vitamin E. Vitamin C dosis tinggi menstabilkan atau mengurangi diameter hipodens daerah perilesional 68% dari jumlah pasien pada hari selanjutnya.²⁴

3. *Treatment with ascorbic acid and α -tocopherol modulates oxidative-stress markers in the spinal cord of rats with neuropathic pain.*

Penelitian ini menilai efek pemberian vitamin E intraperitoneal (15 mg/kg hari⁻¹) dan vitamin C (30 mg/kg hari⁻¹), diberikan sendiri atau dalam kombinasi, pada penanda stres oksidatif sumsum tulang belakang pada tikus *chronic constriction injury*. Pada tikus *chronic constriction injury* yang menerima vitamin E dan vitamin C + E

menunjukkan hasil yang signifikan penurunan tingkat generasi anion superoksida (SAG) dibandingkan dengan tikus yang diberikan placebo tikus dari kelompok eksperimen yang sama.²⁸

4. *Effects of α -tocopherol and ascorbic acid in the severity and management of traumatic brain injury in albino rats.*

Penelitian ini menilai pemberian 45 mg/kg dan 60 mg/kgBB *ascorbic acid*, *α -tocopherol* atau kombinasi kedua vitamin selama 2 minggu sebelum dan sesudah cedera, pada tikus wistar yang diberikan cedera kepala tertutup menggunakan alat tumbuk akselerasi. Homogenat darah dan jaringan otak dianalisis untuk vitamin C, vitamin E, aktivitas malondialdehida, superoksida dismutase, dan kreatin kinase. Hasilnya menunjukkan bahwa COT menyebabkan penurunan kadar vitamin C dan E yang signifikan dalam darah dan jaringan otak tikus COT yang tidak diterapi. Aktivitas dismutase superoksida pada tikus COT sangat berkurang bila dibandingkan dengan kontrol non trauma dan menunjukkan kecenderungan meningkat setelah suplementasi dengan vitamin C dan E. Suplementasi vitamin secara signifikan mengurangi malondialdehida dalam kelompok terapi dibandingkan dengan kelompok COT yang tidak mendapat terapi.²¹

5. *Ascorbic acid treatment modulated traumatic brain injury-induced oxidative stress and neuropathic pain in rats.*

Penelitian ini menilai efek neuroterapi AA pada tikus yang diinduksi COT. Tiga kelompok dari tujuh tikus masing-masing digunakan untuk penelitian ini. Kelompok I diinduksi dengan COT dan diobati dengan AA

(67,5 mg/kg secara oral), kelompok II trauma tetapi tidak diobati (TNT) sedangkan kelompok III tidak trauma atau diobati (NTNT). Pengobatan dimulai 30 menit setelah COT dan berlangsung selama 21 hari. Perlakuan dengan AA meningkatkan pembelajaran dan memori, fungsi alat gerak dan penurunan kecemasan pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok II. S100B secara signifikan turun pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan tikus kelompok II. Pengobatan dengan AA juga menurunkan kadar malondialdehid jika dibandingkan dengan kelompok II. Terdapat peningkatan aktivitas SOD, CAT dan GPx pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Ini sesuai dengan ekspresi gen mereka yang sangat diekspresikan dalam kelompok yang sama. Hasil menunjukkan bahwa efek neuroprotektif AA pada tikus albino dapat menjadi hasil dari peroksidasi lipid yang berkurang dan peningkatan status antioksidan yang dapat menjadi strategi neuroterapi yang baik.²⁹

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cedera Otak Traumatika

Traumatic brain injury (TBI) atau cedera otak traumatis adalah gangguan fungsi otak, atau bukti patologi otak lainnya, yang disebabkan oleh kekuatan fisik eksternal.¹ Cedera otak traumatis (COT) dapat didefinisikan sebagai dampak apa pun pada otak yang dapat menyebabkan perubahan kondisi mental seseorang. Ini juga dikenal sebagai cedera intrakranial, yang terjadi ketika kekuatan eksternal melukai otak.³⁰ Cedera otak traumatis (COT) adalah presentasi umum di departemen darurat, yang menyumbang lebih dari satu juta kunjungan setiap tahunnya. Ini adalah penyebab umum kematian dan kecacatan di antara anak-anak dan orang dewasa.²

2.2 Epidemiologi

COT adalah salah satu penyebab utama kematian dan disabilitas pada individu berusia 40 tahun ke bawah. Di India, 1,6 juta orang menderita cedera kepala, dimana 200.000 meninggal dan 1 juta membutuhkan layanan rehabilitasi setiap saat setelah cedera. Berdasarkan laporan terbaru, prevalensi total cedera kepala di India diperkirakan 9,7 juta, dimana hampir 16% individu mengalami COT berat.³⁰

Insiden COT tahunan diperkirakan mencapai 50 juta kasus di seluruh dunia; yang artinya, kira-kira setengah dari populasi global akan mengalami episode COT dalam hidup mereka. Di Inggris, COT merupakan penyebab kematian dan disabilitas paling umum pada populasi berusia di bawah 40

tahun. Selain itu, tingkat morbiditas dan mortalitas yang lebih tinggi terlihat di negara berpenghasilan rendah dan menengah. Setiap tahun, COT memberikan beban ekonomi global sekitar 400 miliar dolar AS, mewakili 0,5% dari produk dunia bruto.¹

Data Global *Burden of Disease* 2016 memperkirakan lebih dari 27 juta kasus COT setiap tahunnya, atau angka 369 per 100.000 orang. COT dari insiden lalu lintas jalan menghasilkan perkiraan global yang jauh lebih tinggi dari 55,9 juta kasus per tahun. COT di Afrika diperkirakan sekitar 8 juta kasus per tahun (801 per 100.000 orang) akibat insiden kecelakaan lalu lintas. Sekitar 90% kematian global akibat trauma terjadi di negara *low- and middle-income countries* (LMIC), dan COT merupakan faktor penyebab sepertiga hingga setengah dari kematian tersebut.³¹

2.3 Klasifikasi Cedera Kepala

Cedera kepala diklasifikasikan sebagai fokal atau difus berdasarkan ada tidaknya lesi fokal. Meskipun cedera dapat dianggap dominan fokal atau difus, sebagian besar cedera bersifat heterogen dengan komponen fokal dan difus. Lesi massa, seperti kontusio, hematoma subdural, hematoma epidural, dan perdarahan intraparenkim termasuk dalam cedera fokal, sedangkan cedera difus meliputi cedera aksonal, cedera hipoksik-iskemik, dan cedera mikrovaskuler yang mempengaruhi daerah anatomi yang tersebar luas. Tingkat kematian untuk cedera fokal parah dilaporkan sekitar 40% dan, untuk cedera difus parah, sekitar 25%.³²

2.3.1 Mekanisme Cedera Otak

Berdasarkan mekanisme fisik yang unik dari cedera kepala, COT dapat dibagi menjadi tiga kategori: (i) *closed head*; (ii) *penetrate*; dan (iii) *explosive blast* TBI. Gambaran klinis COT meliputi koma berkepanjangan, sakit kepala, mual, afasia, kejang, amnesia, dan kelainan perilaku seperti agresif dan kecemasan, yang terjadi dalam beberapa detik hingga beberapa menit setelah COT; namun, beberapa dari manifestasi ini dapat bertahan hingga berbulan-bulan dan bertahun-tahun.³³

Closed head COT biasanya disebabkan oleh trauma tumpul yang terjadi terutama akibat kecelakaan kendaraan bermotor, jatuh dan aktivitas olahraga. Tingkat kejadian bentuk COT adalah yang tertinggi di antara populasi. Kekuatan kontak tumpul dan kompresi yang kuat mengganggu fungsi normal otak yang berada tepat di bawah tempat benturan, sehingga menyebabkan kerusakan langsung pada pembuluh darah otak dan sel saraf. Brain displacement akibat getaran dan guncangan yang dihasilkan selama benturan juga dapat menyebabkan kompresi jaringan otak dan pengurangan aliran darah otak. Kedua mekanisme tersebut akhirnya menghasilkan kontusio lokal atau cedera difus ke daerah otak lainnya.³³

COT akibat penetrasi terjadi ketika benda asing menembus tengkorak dan melintasi dura ke parenkim otak. Mirip dengan *closed head* COT, laserasi jaringan otak terutama menyebabkan kerusakan fokal, perdarahan intrakranial, edema serebral, dan iskemia. Invasi proyektil yang bergerak cepat dapat menyebabkan kavitas jaringan, yang selanjutnya memperburuk cedera. Jenis dan tingkat keparahan kerusakan saraf bergantung pada ukuran,

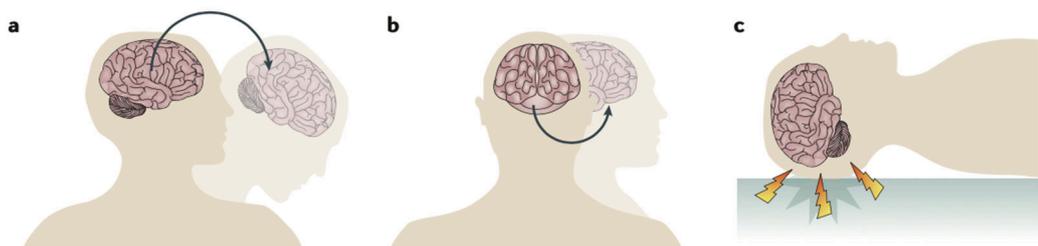
kecepatan, rute, dan kekuatan tubuh eksternal yang menembus otak. Karena paparan jaringan otak terhadap lingkungan yang keras, kemungkinan infeksi relatif tinggi pada COT bentuk ini. Dengan sifat invasif dari jenis cedera ini, COT penetrasi dikaitkan dengan komplikasi medis akut seperti gagal napas, pneumonitis, hipotonia, dan kebocoran serebrospinal dibandingkan dengan *closed head* COT.³³

Dengan tingginya prevalensi COT terkait perang pada abad ke-20 terutama di Afghanistan dan Irak, *explosive blast* COT dianggap sebagai kategori baru. Tidak seperti *close head* dan COT penetrasi, otak mengalami *rapid pressure shock waves* yang dihasilkan dari ledakan, yang mentransmisikan sejumlah besar energi dari tengkorak ke dalam parenkim otak yang tertutup. Efek cedera ledakan dapat dibagi menjadi pola yang berbeda: primer (*shock waves* yang menyebabkan kerusakan internal), sekunder (penetrasi), tersier (cedera fisik oleh gelombang ledakan) dan kuartener (selain tiga kelas pertama) tergantung pada hasil cedera di berbagai tahap cedera akibat ledakan. Energi kinetik yang dihasilkan dalam ledakan menyebabkan deformasi otak, sehingga menciptakan cedera difus yang meluas di *gray* dan *white matter*, yang menyebabkan kematian sel saraf, cedera aksonal, gangguan *blood-brain-barrier* (BBB), vasospasme, pembentukan pseudoaneurisma, hiperemia, memar dan edema serebral.³³

Mekanisme lain kerusakan otak pada cedera otak traumatika disebabkan karena gaya akselerasi rotasional (angular) dan/atau linear (translasional), atau oleh trauma tumpul dengan dampak deselerasi. Gaya ini membentuk gradien tekanan intrakranial melalui inersia otak yang tertinggal

dibelakang tengkorak selama gerakan cepat. Gradien tekanan ini menyebabkan gaya geser dan regangan yang meregangkan dan merusak akson, menyebabkan cedera aksonal, yang, ketika multifokal, disebut *diffuse axonal injury* (DAI). Meskipun gaya akselerasi dan deselerasi berbeda menyebabkan kerusakan akson melalui mekanisme yang berbeda yang tidak terlalu jelas; baik itu regangan fokal atau karena perbedaan densitas antara bagian yang berbeda dari otak (contoh, korteks dan *white matter* disekilingnya) berkontribusi. Studi biokemikal menunjukkan stress dan gaya regangan yang lebih tinggi pada dasar sulkus korteks frontal, parietal dan temporal.³³

Cedera aksonal yang terjadi setelah gaya akselerasi atau deselerasi otak, bukan cedera otak sekunder atau lainnya, yaitu iskemia atau inflamasi. Keparahan kontusio pada olahraga kontak berhubungan dengan gaya hantaman ke kepala, contoh, derajat akselerasi kepala akibat hantaman pada sepak bola. Pada boxing, gaya akselerasi rotasional yang disebabkan karena tinju meningkat pada kelas berat.³³



Gambar 2.1. Jenis gaya pada cedera otak traumatis. Mekanisme sentral untuk kerusakan saraf adalah gaya biomekanik akselerasi dan deselerasi. Gaya ini menyebabkan ketegangan dan gaya geser pada akson di otak, yang mengakibatkan *diffuse axonal injury*. A) Akselerasi linier (translasional) terjadi akibat adanya gaya yang membuat kepala bergerak ke arah anterior-posterior (seperti membentur bagian depan atau belakang kepala). B) Akselerasi rotasi (sudut) terjadi akibat adanya gaya yang membuat kepala berputar ke samping (seperti pukulan ke salah satu sisi kepala). C) Deselerasi benturan terjadi saat kepala melambat secara paksa,

misalnya saat kepala menyentuh tanah. Banyak cedera otak traumatis disebabkan oleh kombinasi dari gaya di atas.³³

2.3.2 Beratnya Cedera Otak

Keparahan cedera otak traumatika akut diklasifikasikan berdasarkan kesadaran pasien, yang dapat dinilai dengan menggunakan skor *Glasgow Coma Scale* (GCS) yang paling rendah. Skor GCS mengandung skor subkala untuk perilaku (contoh: membuka mata, respon verbal maupun motorik terhadap suara dan stimulus nyeri), dengan semakin tinggi skor total menunjukkan semakin baik kesadaran pasien. Misalnya, skor total untuk membuka mata, respons verbal, dan respons motorik terbaik berkisar antara 3 hingga 15, dengan skor penjumlahan 3 menunjukkan *unresponsiveness* dan 15 menunjukkan respons terbaik (sadar sepenuhnya). Namun, karena beberapa komponen GCS tidak dapat diuji dalam beberapa kondisi (misalnya, jika pasien diintubasi), dokter disarankan untuk melaporkan skor subskala untuk masing-masing pasien. Pada pasien koma atau dengan gangguan kesadaran sedang, GCS umumnya diulangi pada waktu tertentu, terutama pada rawat inap awal; setelah kesadaran pasien pulih ke skor GCS 15, tidak perlu diulang. Skor GCS berkorelasi dengan hasil akhir klinis dan disabilitas, tetapi prediksi didasarkan pada usia, reaktivitas pupil, dan jenis patologi yang didapati pada CT dan/atau MRI. Dengan demikian, dalam pengaturan klinis, dokter harus mempertimbangkan penggunaan pencitraan radiografi otak, temuan neurologis lainnya (seperti respon pupil) dan biomarker cairan selain skor GCS untuk klasifikasi cedera otak traumatik, pemantauan pasien, manajemen dan prognosis.³³

GCS digunakan untuk menilai cedera otak traumatika sebagai ringan, sedang, atau berat. Dari semua keparahan cedera otak traumatika, diperkirakan 75-85% dikategorikan sebagai ringan dengan skor GCS 13 sampai 15. Frekuensi gegar otak yang sebenarnya kemungkinan jauh lebih besar karena gegar otak secara rutin tidak diketahui, tidak dilaporkan, dan sembuh secara spontan tanpa perawatan medis.³²

Cedera kepala ringan berulang dapat menyebabkan manifestasi tertunda yang dikenal sebagai *chronic traumatic encephalopathy* (CTE). CTE dapat menyebabkan gangguan kejiwaan, yang pada akhirnya mengarah pada perilaku bunuh diri pada sejumlah atlet terkenal dalam olahraga profesional. Manifestasi klinis lain dari CTE termasuk disartritis bicara, tremor, gangguan perhatian, defisit memori dan fungsi eksekutif, dan tanda inkoordinasi dan piramidal. CTE kemungkinan hasil dari evolusi kehilangan neuronal progresif.³⁴

Tabel 2.1. Skor *Glasgow Coma Scale* (GCS).³²

Buka mata	Respon verbal	Respon motorik
4: spontan	5: orientasi baik	6: mengikuti perintah
3: terhadap suara	4: bingung	5: melokalisir
2: terhadap nyeri	3: kata tidak beraturan	4: menarik diri
1: tidak ada	2: suara tidak dapat dimengerti	3: fleksi abnormal
	1: tidak ada	2: ekstensi
		1: tidak ada

Berdasarkan beratnya cedera, Glasgow Coma Scale (GCS) digunakan sebagai pengukur secara klinis dan dikelompokkan sebagai berikut:³⁵

- a. Cedera Kepala Ringan (CKR)

Skor GCS 13-15 Pasien mengeluh pusing, sakit kepala, muntah, amnesia retrograde dan tidak ditemukan kelainan pada pemeriksaan neurologis. Tidak ditemukan kehilangan kesadaran, atau jika ada tidak lebih dari 10 menit pada gejala klinis.³⁵

b. Cedera Kepala Sedang (CKS)

Skor GCS 9-12 Pada gejala klinis terdapat riwayat pingsan selama lebih dari 10 menit-6 jam. Dapat disertai dengan sakit kepala, muntah, kejang dan amnesia retrograde. Berdasarkan hasil pemeriksaan neurologis dapat ditemukan kelumpuhan saraf dan anggota gerak.³⁵

c. Cedera Kepala Berat (CKB)

Skor GCS 3-8 Gejala klinisnya serupa dengan CKS, hanya dalam tingkat yang lebih berat dengan penurunan kesadaran secara progresif. Dapat ditemukan adanya fraktur tulang tengkorak maupun jaringan otak yang terlepas.³⁵

Tabel 2.2. Klasifikasi cedera otak traumatika.³³

	Cedera otak traumatika ringan	Cedera otak traumatika sedang	Cedera otak traumatika berat
Pencitraan otak struktural	Normal	Normal atau abnormal	Normal atau abnormal
Hilangnya kesadaran (durasi)	0-30 menit	30 menit - 24 jam	>24 jam
Gangguan status mental (durasi)	≤24 jam	>24 jam	>24 jam
Amnesia post-trauma (durasi)	≤1 hari	1-7 hari	>7 hari
Skor <i>Glasgow Coma Scale</i> (GCS)	13-15	9-12	<9

2.4 Patogenesis Cedera Kepala

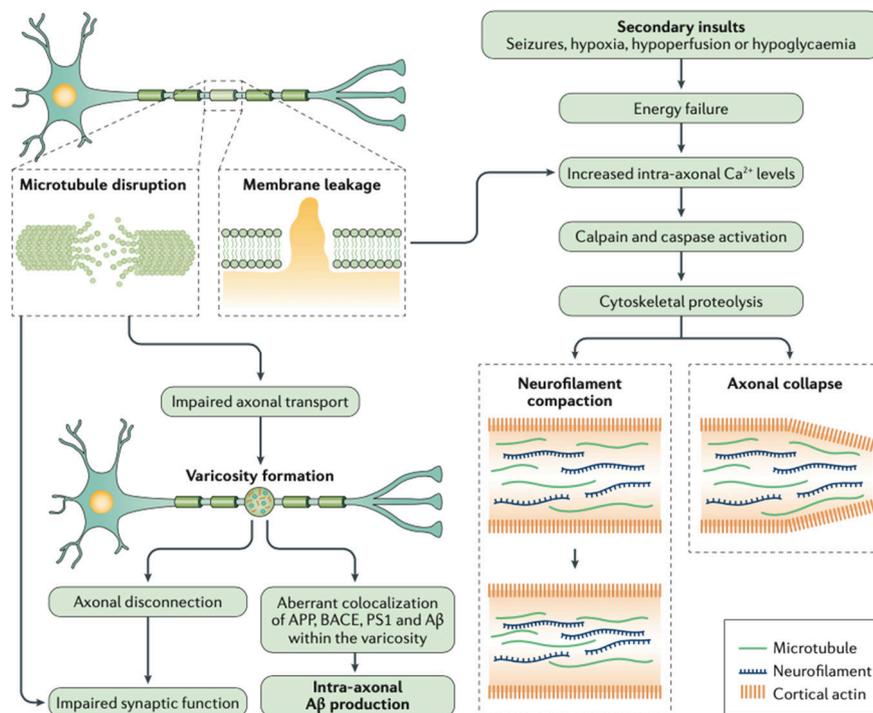
Kerusakan jaringan saraf yang terkait dengan COT terbagi dalam dua kategori: (i) cedera primer, yang secara langsung disebabkan oleh kekuatan mekanis selama kerusakan awal; dan (ii) cedera sekunder, yang mengacu pada kerusakan jaringan dan seluler lebih lanjut setelah cedera primer.³⁶

Cedera otak traumatika disebabkan dari benturan keras, akselerasi – deselerasi dan gerakan rotasi otak yang menyebabkan distorsi fungsi mental. Mekanisme utama cedera otak traumatika yaitu kerusakan jaringan yang ekstrim dan penurunan metabolisme dan regulasi *cerebral blood flow* (CBF) yang merupakan langkah pertama. Kemudian menghasilkan kondisi seperti iskemia yang menyebabkan glikolisis anaerob karena penumpukan asam laktat dan peningkatan permeabilitas membran menyebabkan pembentukan edema. Kurangnya metabolisme anaerobik untuk mempertahankan kadar energi selular menyebabkan penipisan penyimpanan ATP dan penghentian pompa ion membran yang dependen energi.³⁶

Setelah cedera ringan, sering terjadi upregulasi sitokin proinflamasi yang berkelanjutan, penurunan jumlah sel oligodendrosit, dan reaktivitas glial. Selain itu, cedera ringan juga dapat mengganggu fungsi pembuluh darah serebral. Setelah cedera traumatis, terjadi penurunan awal aliran darah serebral (dalam beberapa jam setelah cedera), yang dapat tetap rendah selama berhari-hari, tergantung pada tingkat keparahan cedera. Aliran darah yang berkurang ini dapat dikaitkan dengan peningkatan ekspresi *nitric oxide* (NO) setelah cedera, menyebabkan vasodilatasi yang diinduksi oleh tekanan. Perubahan ini adalah juga terkait dengan penurunan kepadatan pembuluh

darah di daerah perilesional selama beberapa hari pertama setelah cedera. Selama beberapa hari hingga minggu berikutnya, aliran darah serebral kembali normal, bersamaan dengan peningkatan kepadatan pembuluh darah di daerah yang terkena. Sayangnya, setelah cedera otak, pembuluh darah otak mungkin kurang mampu merespon rangsangan dilatasi, dan dapat menyebabkan prognosis yang buruk, termasuk kejadian terminal.³⁷

Depolarisasi membran terminal bersama dengan pelepasan glutamat dan aspartat yang ekstrim (yaitu neurotransmitter eksitasi) terjadi. Proses ini mengaktifkan protease, peroksidase lemak, dan fosfolipase yang secara berurutan meningkatkan akumulasi radikal oksigen intraseluler dan asam lemak bebas. Secara kolektif, semua ini mengakibatkan kerusakan membran seluler dan sistem vaskular dan akhirnya apoptosis atau nekrosis.³⁶



Gambar 2.2. Cedera aksonal pada cedera otak traumatika. Cedera aksonal setelah trauma otak melibatkan serangkaian patofisiologi, yang baru sebagian saja dikenali. Misalnya, regangan mekanis yang cepat dapat menyebabkan gangguan

mikrotubulus (sifatnya tidak jelas) dan mengganggu transpor aksonal, yang dapat menyebabkan pembentukan varises. Kebocoran membran dapat melibatkan pecahnya membran, pori sementara atau hilangnya permeabilitas selektif saluran ion. Efek akhir dari perubahan ini dapat berupa pemutusan akson, yang menyebabkan gangguan fungsi sinaps, dan kolokalisasi yang abnormal dari amiloid- β ($A\beta$), *amyloid precursor protein* (*APP*), *β -secretase* (*BACE*) dan *presenilin 1* (*PS1*). *APP* diproses oleh *BACE* dan *PS1* untuk menghasilkan $A\beta$. Peregangan atau cedera mekanis yang cepat dapat menyebabkan kaskade cedera lain, yang dimulai dengan kebocoran membran dan menyebabkan peningkatan kadar kalsium intra-aksonal (Ca^{2+}), proteolisis spektrin yang dimediasi oleh *calpain* dan *caspase*, pemadatan neurofilamen, dan kerusakan akson.³³

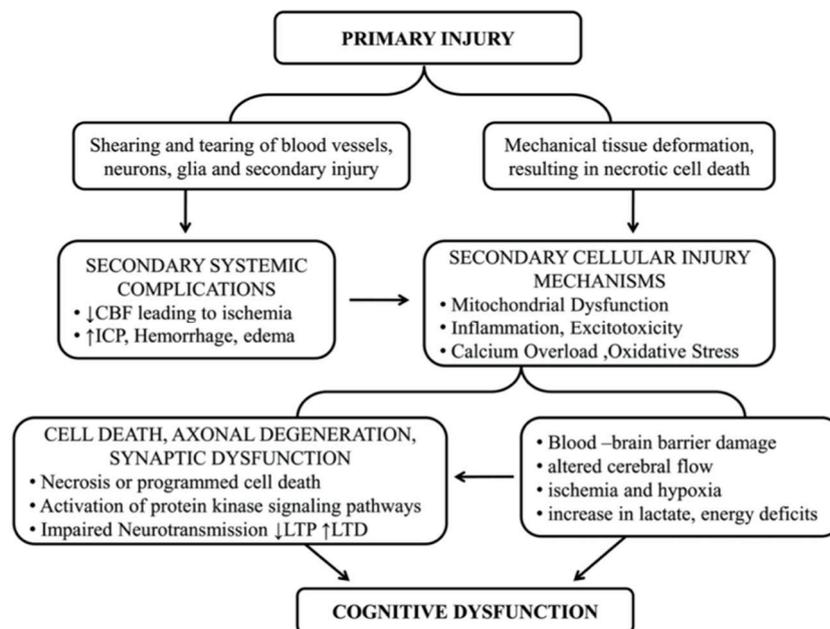
2.4.1 Cedera Kepala Primer

Dampak langsung dari gangguan mekanis yang berbeda pada otak dapat menyebabkan dua jenis cedera primer: cedera otak fokal dan difus. Cedera primer ditandai dengan perpindahan, dan kerusakan mekanis pada, jaringan otak, termasuk memar, kerusakan pembuluh darah, perdarahan, perubahan aliran darah otak dan permeabilitas BBB, dan gangguan metabolisme. Penelitian telah menunjukkan bahwa kedua jenis cedera ini sering terjadi pada pasien yang menderita COT sedang hingga berat; namun, DAI menyumbang sekitar 70% dari kasus COT. Sebagai akibat dari laserasi, tekanan dan kekuatan gegar otak, *close head* COT dan COT penetrasi menunjukkan kerusakan otak fokal dengan bukti fraktur tengkorak dan memar lokal pada inti lokasi cedera. Area nekrotik sel saraf dan glial terkonsentrasi pada *coup* dengan suplai darah yang terganggu, menyebabkan terjadinya perdarahan hematoma, epidural, subdural, dan intraserebral pada lapisan terbatas otak. Kontusio sekunder dapat terjadi pada jaringan yang berlawanan dengan atau di sekitar *coup* (*contre-coup*) akibat benturan sekunder saat otak memantul dan membentur tengkorak.^{3,38} Bergantung pada tingkat keparahan cedera, hal itu dapat menyebabkan defisit kognitif, perubahan perilaku, dan hemiparesis.

Pada anak muda, 10%–30% dari kerusakan kepala menyebabkan fraktur tulang tengkorak. Fraktur dibagi menjadi non-depresi atau depresi, berdasarkan perpindahan fragmen ke dalam atau tidak. Diketahui fraktur tulang sederhana dimana terdapat 1 fragmen tulang; bila terdapat lebih dari 2 fragmen tulang, maka terjadilah fraktur majemuk. Sekitar 4% dari semua cedera kepala terdiri dari patah tulang basis kranii. Sebagian besar dari fraktur ini (90%) adalah akibat trauma kepala tertutup; sisanya disebabkan oleh trauma tembus. Cedera saraf kranial dapat terjadi akibat fraktur tulang tengkorak yang terutama di basis kranii. Pada cedera otak berat, saraf kranial yang rusak adalah saraf fasialis, sehingga terjadi kelumpuhan otot wajah. Fraktur tulang tengkorak dapat menimbulkan kebocoran *cerebrospinal fluid* (CFS) dengan merusak meninges.³⁶

Kontusio dapat terjadi pada tidak adanya fraktur tengkorak sebagai akibat dari gerakan bolak-balik otak yang dibatasi tengkorak. Dikenal sebagai '*Coup-contrecoup mechanism*'. Kontusio adalah daerah diskrit dari jaringan otak yang inflamasi, dikombinasikan dengan perdarahan akibat rusaknya pembuluh darah. Hasil akhir kontusio serebral dari campuran kerusakan pembuluh darah dan jaringan. kontusio *contrecoup* sama dengan kontusio *coup* namun terletak pada sisi berlawanan dari lokasi hantaman direk. Keduanya ini diregulasi oleh jumlah energi yang dibentuk pada lokasi hantaman. Sebagian besar energi hantaman berasal dari objek yang lebih besar menyebabkan cedera pada lokasi kolisi, menyebabkan hantaran energi dari awal atau akhir gerakan kepala, menyebabkan kontusio *contrecoup*. Namun, jika hantaman berasal dari objek keras, lebih kecil, cenderung

distriusi pada posisi hantaman, maka menyebabkan kontusio *coup*. Kontusio seringkali berasal dari lobus frontal inferior dan kutub, aspek lateral dan sekunder dari lobus temporal dan korteks superior dan inferior dari operkulum fisura Sylvian. Selain itu, DAI berasal dari gerakan rotasi otak.³⁶



Gambar 2.3. Patofisiologi cedera kepala primer.³⁶

Berbeda dengan cedera fokal, mekanisme utama cedera otak difus adalah kekuatan non-kontak dari perlambatan dan akselerasi cepat yang menyebabkan cedera geser dan peregangan pada jaringan otak. Gaya tarik yang kuat merusak akson neuron, oligodendrosit, dan pembuluh darah, menyebabkan edema otak dan kerusakan otak iskemik. Ciri khas COT difus adalah kerusakan akson yang luas terutama di jaringan *deep white matter* dan subkortikal seperti batang otak dan korpus kalosum, yang melibatkan gangguan transpor aksonal dan degradasi sitoskeleton aksonal. Khususnya, kerusakan aksonal ini dapat bertahan hingga berbulan-bulan setelah COT, menunjukkan hubungan dengan patologi perdarahan sekunder yang tertunda

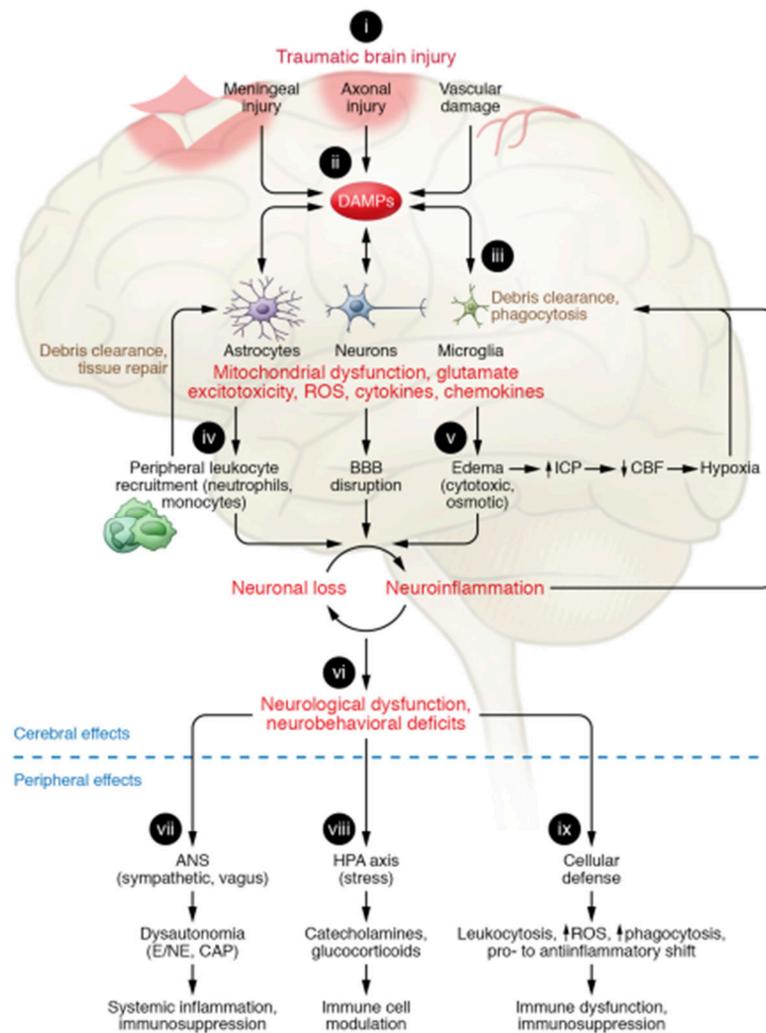
dan edema otak. Tingkat cedera aksonal dan degenerasi saraf menentukan tingkat keparahan COT.^{3,38}

2.4.2 Cedera Kepala Sekunder

Proses biokimia, seluler, dan fisiologis yang terjadi selama cedera primer sering berkembang menjadi kerusakan sekunder yang tertunda dan berkepanjangan yang dapat berlangsung berjam-jam hingga bertahun-tahun. Secara mekanis, sejumlah faktor berkontribusi terhadap cedera sekunder, yang meliputi eksitotoksisitas, disfungsi mitokondria, stres oksidatif, peroksidasi lipid, peradangan saraf, degenerasi akson, dan kematian sel apoptosis.

Konsekuensi neurologis dari COT tergantung pada tingkat keparahan cedera, lokasi, frekuensi, jenis kelamin, usia, genetika, dan komorbiditas individu. Dengan demikian, heterogenitas cedera COT mencerminkan kerusakan mekanis langsung yang dihasilkan dari cedera itu sendiri (cedera primer) dan kaskade molekuler tertunda yang terjadi (cedera sekunder) (Gambar 4). Cedera sekunder berikutnya melibatkan proses biokimia multifaktor yang kompleks yang dimulai dalam beberapa menit setelah cedera mekanis primer dan bertahan selama sehari-hari, berbulan-bulan, dan bahkan bertahun-tahun setelah cedera primer, berkontribusi dan memperburuk peradangan saraf, degenerasi saraf, dan defisit neurologis. Proses cedera sekunder meliputi fluks lanjutan ion intraseluler (Ca^{2+} , Na^+ , K^+) dan pelepasan neurotransmitter eksitotoksik (misalnya, glutamat). Selain itu, sitoplasma dan *nuclear proteins* yang dilepaskan dari sel yang mengalami

injury bertindak sebagai *damage-associated molecular patterns (DAMP)*, yang merupakan stimulator kuat dari respons imun sentral dan sistemik. Gangguan BBB memungkinkan infiltrasi sel imun perifer, termasuk leukosit, ke dalam parenkim otak. Sel-sel imun yang menginfiltrasi ini mengeluarkan kemokin dan sitokin yang memobilisasi dan mengaktifkan kelompok sel glial seperti mikroglia dan astrosit, dan mengaktifasi infiltrasi sel imun perifer.³



Gambar 2.4. Respons imun bawaan di otak dan perifer setelah cedera otak traumatis.³

Aktivasi mikroglia dan astrogliosis reaktif pada awalnya bermanfaat selama fase akut setelah COT, mendukung fagositosis dari debris seluler dan

mendorong perbaikan dan remodeling jaringan. Namun, propagasi berkepanjangan dari respon neuroinflamasi ini menyebabkan kerusakan. Peradangan saraf yang berkelanjutan menghasilkan kerusakan jaringan lebih lanjut dan degenerasi saraf, sehingga mengganggu, atau berpotensi memperburuk, pemulihan neurologis dari COT. Aktivasi kronis mikroglia menghasilkan produksi dan pelepasan molekul proinflamasi yang persisten termasuk *reactive oxygen species* (ROS) dan sitokin. Astrogliosis reaktif yang berkelanjutan berkembang menjadi pembentukan *glial scar*, yang menghambat regenerasi aksonal, mengakibatkan disfungsi *axonal end bulbs* yang mengganggu pemulihan fungsional. Astrogliosis kronis juga berkontribusi terhadap kerusakan BBB melalui produksi dan pelepasan matriks metaloproteinase yang berlebihan. Proses cedera sekunder kronis pada pasien COT berpotensi memperpanjang masa pengobatan untuk intervensi klinis. Proses cedera sekunder yang sedang berlangsung juga dapat berkontribusi pada perkembangan komorbiditas. Komorbiditas terkait COT dan/atau tantangan perifer selanjutnya dapat memperburuk proses cedera sekunder ini, memperburuk hasil jangka panjang terkait COT.³

Stres oksidatif mewakili keadaan di mana kadar oksigen bersama dengan radikal bebas yang berasal dari oksigen memenuhi sistem *scavenging antioxidant*. Hal ini termasuk agen seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), anion superoksida (O_2^-), hidroksil (OH^-), dan radikal peroksil (ROO^-) (**Tabel 3**). Setelah eksitotoksitas yang diinduksi cedera terjadi, kelebihan Ca^{2+} meningkatkan produksi ROS serta NO di mana mekanisme proteksi seperti antioksidan gagal mengendalikan radikal ini, yang menyebabkan stres

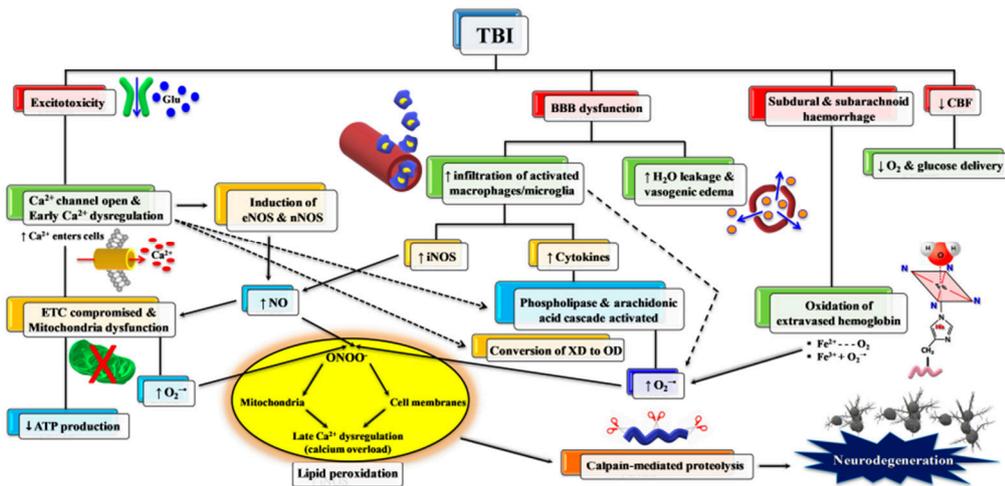
oksidatif. Peningkatan konsentrasi radikal bebas mengakibatkan perubahan berbagai makromolekul termasuk DNA, protein, dan lipid yang pada akhirnya merusak berbagai proses seluler. Perubahan reversibel dan ireversibel dari makromolekul tersebut mempengaruhi individu dalam berbagai gangguan termasuk penyakit neurodegeneratif.³⁹

Tabel 2.3. Spesies Reaktif Oksigen dan sumbernya.⁴⁰

ROS	Symbols	Source
Superoxide anion	$O_2^{\bullet-}$	Arachidonic acid metabolism, xanthine oxidase activity, mitochondrial leak
Hydrogen peroxide	H_2O_2	Dismutation of superoxide catalyzed by SOD
Hydroxyl radical	HO^{\bullet}	Fenton reaction
Nitric oxide	NO^{\bullet}	Nitric oxide synthase (NOS) activity
Peroxynitrite	$OONO^{\bullet-}$	The reaction of $^{\bullet}NO$ with $O_2^{\bullet-}$
Lipid peroxy radical	LOO^{\bullet}	The reaction of a radical (L^{\bullet}) with oxygen, lipid hydroperoxide (LOOH) decomposition by Fe^{3+}
Lipid alkoxy radical	LO^{\bullet}	LOOH decomposition by Fe^{2+}

Mitokondria bertindak sebagai sumber dan target oksidasi radikal bebas. Tidak seperti DNA inti, DNA mitokondria tidak memiliki jalur perbaikan eksisi nukleotida dan tidak dilindungi oleh histon. Dengan demikian, DNA mitokondria menjadi sangat rentan terhadap mutasi. DNA mitokondria yang bermutasi menyebabkan defisit bioenergi di mana produksi adenosin trifosfat (ATP) menurun secara nyata dan produksi radikal bebas meningkat secara signifikan. Jaringan otak secara khusus rentan terhadap kerusakan oksidatif karena aktivitas metabolisme oksidatifnya yang tinggi, kapasitas antioksidan yang relatif rendah, dan mekanisme perbaikan yang rendah. Pada COT, ROS dapat diproduksi melalui aktivitas kaskade asam arakidonat, kebocoran mitokondria, oksidasi katekolamin, dan oleh neutrofil. Selain itu, NADPH oxidases (NOx) adalah keluarga enzim membran yang mereduksi oksigen menjadi ROS. NOx memainkan peran utama dalam

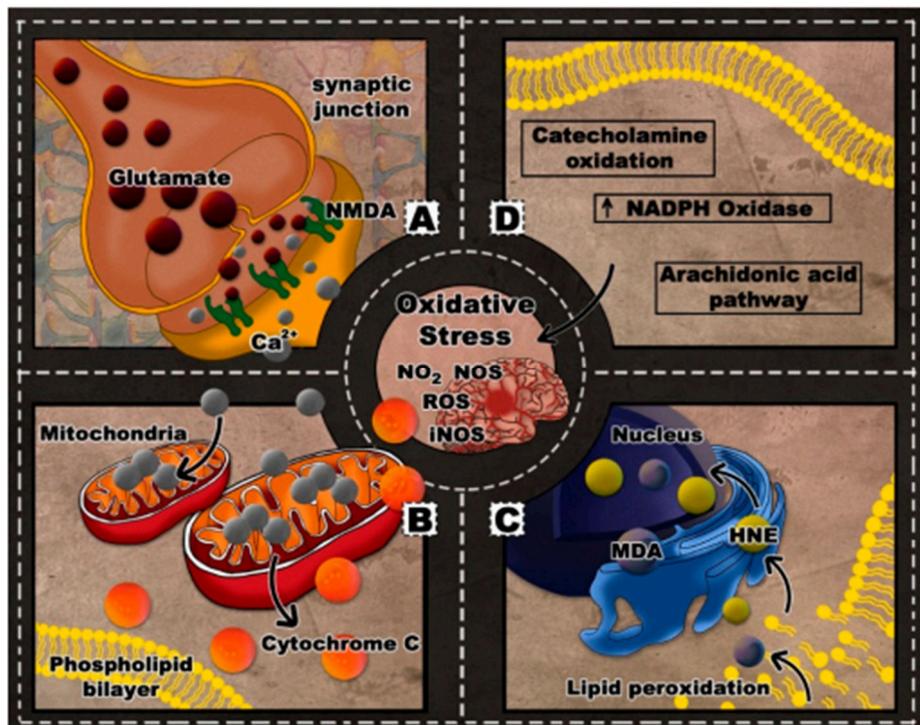
patofisiologi sistem saraf dan memiliki kontribusi penting dalam perkembangan cedera sekunder setelah COT. Aktivitas NOx meningkat 1 jam setelah COT dan diaktifkan oleh mikroglia dan penghambatan NOx dapat melemahkan cedera sekunder pasca COT. Oleh karena itu, penghambatan NOx juga dapat bertindak sebagai target terapi.³⁹



Gambar 2.5. Representasi skematis dari beberapa proses patologis utama cedera sekunder terkait COT.⁴

Tingkat keparahan cedera pada COT dapat dikorelasikan dengan tingkat kerusakan jaringan terkait ROS dan disfungsi mitokondria. Stres oksidatif pada COT berulang secara mencolok dimanifestasikan sebagai *lipid peroxidation* (LP) membran sel neuron, glial, dan vaskular serta mielin. LP dapat mengakibatkan pemecahan asam lemak tak jenuh polyunsaturated dalam membran lipid, selanjutnya mengganggu gradien ionik dan berpotensi menyebabkan lisis membran. Dalam upaya mengembalikan keseimbangan ionik, pompa ionik di sepanjang membran diaktifkan. Oleh karena itu, lebih banyak glukosa akan dikonsumsi, simpanan energi menjadi semakin habis, dan masuknya Ca^{2+} mitokondria akan meningkat. Gangguan metabolisme

oksidatif dan glikolisis dapat menyebabkan produksi laktat, asidosis, dan edema. Proses sekuestrasi Ca^{2+} di mitokondria dapat menyebabkan kematian sel baik secara langsung melalui apoptosis atau secara tidak langsung melalui hilangnya fosforilasi oksidatif dan kegagalan produksi ATP. Lebih khusus lagi, kelebihan Ca^{2+} dapat memainkan peran utama dalam pelepasan cyt c mitokondria, aktivasi caspase, dan apoptosis. Gambar 6 menggambarkan ringkasan patologi stres oksidatif dalam konteks COT.³⁹



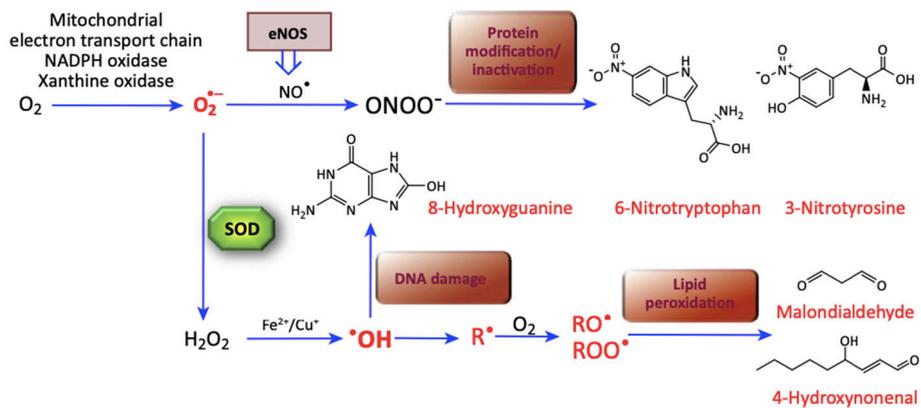
Gambar 2.6. Stres oksidatif pada COT: (A) eksitotoksisitas; (B) sekuestrasi Ca^{2+} dan pelepasan cyt c; (C) peroksidasi lipid; (D) jalur stres oksidatif.³⁹

2.5 Oksidatif Stress

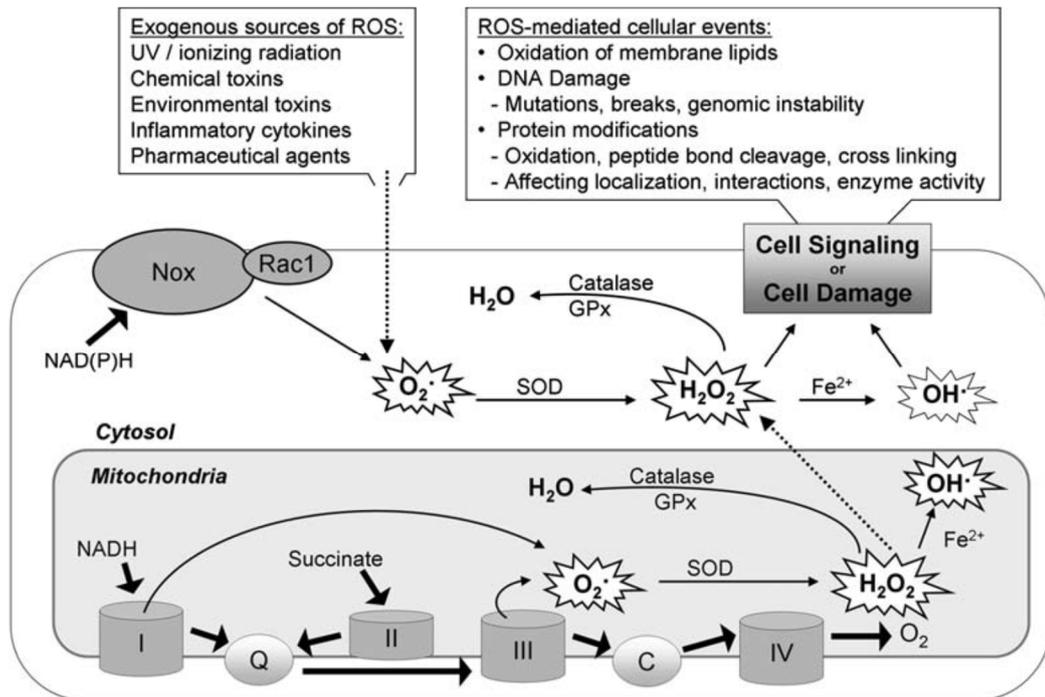
Oksidatif stress adalah ketidakseimbangan antara produksi oksidan dan pertahanan antioksidan yang dapat menyebabkan kerusakan pada sistem biologi. Kondisi ini menunjukkan berbagai mekanisme dimana oksidan

berperan dalam kerusakan sel. Oksidatif stres melibatkan reaksi kimia spesies reaktif yang berasal dari oksigen dan nitrogen.⁶

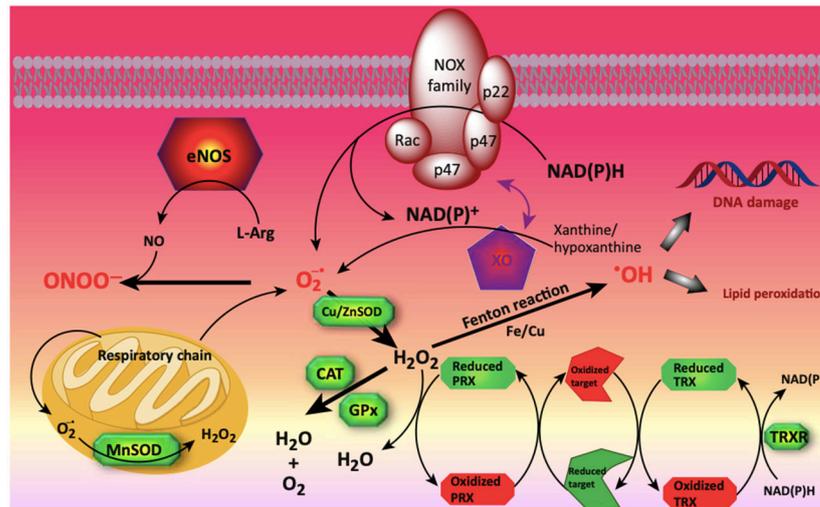
Ada dua mekanisme utama di mana oksidatif stres berkontribusi terhadap penyakit. Yang pertama melibatkan produksi spesies reaktif selama oksidatif stress, khususnya $\bullet\text{OH}$, ONOO^- dan HOCl -, yang secara langsung mengoksidasi makromolekul, termasuk membran lemak, protein struktural, enzim, dan asam nukleat, yang menyebabkan fungsi sel yang abnormal dan kematian. Mekanisme kedua dari oksidatif stres adalah pensinyalan redoks yang abnormal. Oksidan, terutama H_2O_2 yang dihasilkan oleh sel setelah stimulasi fisiologis, dapat bertindak sebagai pembawa pesan kedua. Pada oksidatif stres, produksi H_2O_2 non-fisiologis dapat menyebabkan pensinyalan redoks menjadi kacau. Kedua jenis mekanisme oksidatif stres dapat terjadi pada satu penyakit, seperti pada diabetes, di mana kedua produk glikasi lanjutan terakumulasi dan aktivasi jalur pensinyalan stres yang menyimpang menyebabkan komplikasi diabetes. Selain itu, peningkatan produksi H_2O_2 dan pelepasan besi dari protein dalam oksidatif stres oleh O_2^- dan ONOO^- menyebabkan peningkatan produksi produk peroksidase lemak termasuk *malondialdehyde* (MDA), yang juga dapat menyebabkan pensinyalan abnormal.⁶



Gambar 2.7. Berbagai Jalur Pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan Transformasinya. NADPH oksidase, mitokondria, dan xantina oksidase dianggap sebagai sumber selular utama dari radikal anion superoksida ($O_2^{\bullet -}$). Sintase oksida nitrat (NOS) (misalnya NOS endotel, eNOS) adalah keluarga enzim yang mengkatalisis pembentukan *nitric oxide* (NO^{\bullet}) dari L-arginin. Anion radikal superoksida bereaksi dengan oksida nitrat untuk membentuk anion peroksinitrit ($ONOO^-$). Peroksinitrit memediasi modifikasi oksidatif residu protein, menghasilkan pembentukan 6-nitro-triptofan dan 3-nitro-tirosin. Radikal superoksida dipecah oleh enzim superoksida dismutase (SOD) untuk membentuk hidrogen peroksida, yang didekomposisi menjadi air dan oksigen oleh enzim katalase atau glutathione peroksidase. Dengan adanya logam redoks yang aktif secara katalitik (tembaga, besi), hidrogen peroksida terdekomposisi menjadi radikal hidroksil reaktif yang dapat bereaksi dengan DNA dan menyebabkan kerusakan terutama pada unit dasar DNA: 8-hidroksiguanin (8-OH-Gua) adalah penanda utama kerusakan oksidatif pada DNA. Radikal hidroksil dapat bereaksi dengan hidrokarbon (RH) untuk membentuk radikal hidrokarbon (R^{\bullet}), yang selanjutnya dapat bereaksi dengan oksigen untuk membentuk radikal peroksil (ROO^{\bullet}) atau alkoksil (RO^{\bullet}), yang dapat menyebabkan peroksidase lemak dan penanda seperti malondialdehida dan hidroksinonenal.⁴¹



Gambar 2.8. Generasi dan efek ROS seluler. ROS seluler dapat berasal dari sumber eksogen (tercantum), atau bisa juga dihasilkan di dalam sel. Sumber utama ROS intraseluler adalah rantai transpor elektron mitokondria (mETC), dari respirasi aerobik. Empat komponen mETC digambarkan (kompleks enzim I–IV), dan aliran elektron adalah ditunjukkan (panah hitam tebal). Kebocoran elektron terus menerus terjadi pada kompleks I dan III, menghasilkan reduksi satu elektron yang tidak lengkap dari oksigen menjadi anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$). Superoksida juga dapat dihasilkan dalam sitoplasma oleh membran yang terkait Kompleks NADPH oksidase (Nox), yang bergantung pada GTPase kecil, Rac1. Superoksida dismutase (SOD) enzim mengkatalisasi konversi $O_2^{\cdot-}$ menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2), yang pada gilirannya dapat diubah menjadi radikal hidroksil yang sangat toksik (OH^{\cdot}) dengan adanya besi tereduksi (Fe^{2+}) atau tembaga (Cu^+) melalui reaksi Fenton. Alternatif lain, H_2O_2 dapat direduksi menjadi air dan oksigen dalam reaksi yang dikatalisis oleh enzim antioksidan katalase atau glutathione peroksidase (GPx). ROS dapat menyebabkan kerusakan sel atau berpartisipasi dalam pensinyalan sel dengan berbagai mekanisme. Khususnya, H_2O_2 adalah berumur relatif panjang dan dapat berdifusi melintasi membran lipid untuk bertindak sebagai molekul pensinyalan.⁴²

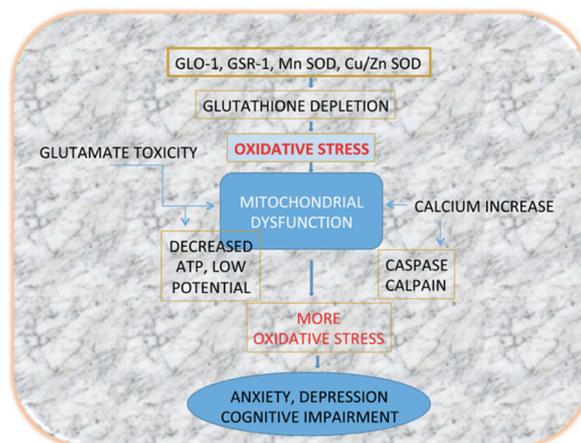


Gambar 2.9. Enzim Oksidan dan Antioksidan. Anion radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$) dihasilkan melalui aktivasi NAD(P)H oksidase (NOX), xantin oksidase (XO), atau melalui rantai transpor respiratori mitokondria. Anion radikal superoksida dapat diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh superoksida dismutase (SOD), atau menjadi peroksinitrit ($ONOO^-$) melalui interaksi dengan oksida nitrat (NO^*), yang dihasilkan oleh oksida nitrat NO sintase endotel (eNOS). Konsentrasi fisiologis hidrogen peroksida dipertahankan oleh enzim katalase (CAT) dan/atau *glutathione peroxidase* (GPX). Di hadapan logam redoks, konsentrasi H_2O_2 yang berlebihan dapat menyebabkan pembentukan radikal hidroksil. Peroxiredoxins (PRX) adalah pemain kunci dalam penghapusan H_2O_2 dan regulasi redoks. Protein yang diatur redoks dapat berfungsi sebagai basis relai redoks tambahan antara PRX dan *thioredoxin* (TRX).⁴¹

Oksidatif stres telah dikaitkan dengan berbagai patologi. Atas dasar kontribusi oksidatif stres terhadap etiologi patologi ini, mereka dikelompokkan menjadi dua kategori di bawah ini: pertama, oksidatif stres sebagai penyebab utama patologi (termasuk toksisitas yang disebabkan oleh radiasi dan paraquat, dan aterosklerosis); kedua, oksidatif stres sebagai kontributor sekunder terhadap perkembangan penyakit (seperti pada hipertensi dan penyakit Alzheimer). Namun, karena peran oksidatif stres pada banyak penyakit tidak sepenuhnya dipahami, kategorisasi ini bersifat tentatif.⁶

Oksidatif stres sering digambarkan sebagai fenomena *self-propagating*

berdasarkan pengamatan bahwa ketika pelepasan ROS berlebihan yang diinduksi oksidatif stres memicu kerusakan sel, makromolekul yang rusak itu sendiri dapat berperilaku sebagai dan/atau menjadi ROS. Akibatnya, otak, dengan kandungan kaya lemak, permintaan energi yang tinggi, dan kapasitas antioksidan yang lemah menjadi sasaran dari kerusakan oksidatif yang berlebihan. Oleh karena itu, akumulasi ROS adalah ancaman seluler yang, jika melebihi atau melewati mekanisme penangkal, dapat menyebabkan kerusakan saraf yang signifikan.⁵



Gambar 2.10. Representasi skematis tentang bagaimana oksidatif stres dapat menyebabkan defisit kognitif dan perilaku. Stres psikologis yang terus-menerus mengganggu keseimbangan oksidan-antioksidan di dalam otak, menyebabkan penurunan fungsi enzim antioksidan glioksalase (GLO)-1, glutathione reduktase (GSR)-1, mangan superoksida dismutase (Mn SOD), dan Cu/Zn SOD. Hal ini menyebabkan penipisan glutathione, menyebabkan oksidatif stres. Toksisitas glutamat yang terjadi secara bersamaan, ketidakseimbangan kalsium, dan kerusakan mitokondria secara bersamaan meningkatkan oksidatif stres, menyebabkan gangguan biokimia di otak. Hal ini mengganggu sirkuit saraf, melemahkan koneksi hipokampus, amygdala, dan kortikal dan akhirnya menyebabkan defisit perilaku dan kognitif.⁵

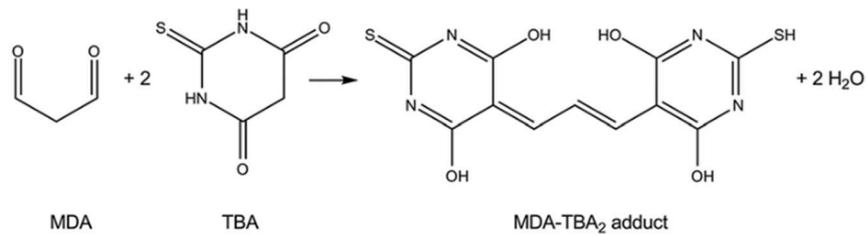
2.6 Malondialdehyde

Malondialdehyde (MDA) merupakan salah satu produk sekunder atau produk akhir dari peroksidase lemak yang dibentuk dari dekomposisi asam

arakidonat dan PUFA yang lebih besar, melalui proses enzimatik ataupun non-enzimatik. MDA tampaknya menjadi produk peroksidase lemak yang paling mutagenik, stabil secara kimia, dan permeabel terhadap membran dibandingkan dengan ROS. MDA telah banyak digunakan selama bertahun-tahun sebagai biomarker yang sesuai untuk peroksidase lemak dari asam lemak omega-3 dan omega-6 karena reaksinya yang lancar dengan *thiobarbituric acid* (TBA). Tes TBA didasarkan pada reaktivitas TBA terhadap MDA untuk menghasilkan adisi merah kromogen fluoresen yang sangat berwarna; tes ini pertama kali digunakan oleh ahli kimia makanan untuk mengevaluasi degradasi autoksidatif lemak dan minyak. Namun, tes *thiobarbituric acid reacting substances* (TBARS) terkenal tidak spesifik yang telah menyebabkan kontroversi besar atas penggunaannya untuk kuantifikasi MDA dari sampel *in vivo*. Beberapa teknologi untuk penentuan MDA bebas dan total, seperti *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS/MS), *liquid chromatography-mass spectrometry* (LC-MS/MS), dan beberapa strategi berbasis derivatisasi, telah dikembangkan selama dekade terakhir. Karena MDA adalah salah satu penanda paling populer dan andal yang menentukan oksidatif stres dalam situasi klinis, dan karena reaktivitas dan toksisitas MDA yang tinggi mendasari fakta bahwa molekul ini sangat relevan dengan komunitas penelitian biomedis.⁸

Kadar MDA dalam sampel biologis biasanya dinilai dengan uji TBA. Dalam reaksi MDA dari sampel biologis diturunkan dengan TBA, membentuk adisi MDA-TBA₂, kompleks merah. Kada adisi MDA-TBA₂ dapat dengan mudah ditentukan secara spektrofotometri atau

spektrofluorimetri. Namun, metode tersebut dikritik karena sensitivitas dan selektivitasnya yang rendah karena beberapa spesies yang tidak berhubungan dengan MDA dari sampel biologis dapat bereaksi dengan TBA. Juga, beberapa kecurigaan generasi artifaktual MDA selama pengujian telah dikemukakan.⁴³



Gambar 2.11. Reaksi kimia satu molekul *malondialdehyde* (MDA) dengan dua molekul *2-thiobarbituric acid* (TBA) dan pembentukan produk kondensasi (adisi MDA-TBA₂).⁴³

Berikut beberapa laporan mengenai fungsi dari MDA, yaitu (i) penelitian yang sangat baru menunjukkan bahwa MDA bertindak sebagai pembawa pesan pensinyalan dan mengatur pulau *glucose-stimulated insulin secretion* (GSIS) terutama melalui jalur *Wnt*. Kadar MDA yang cukup tinggi (5 dan 10 μM) mendorong pulau GSIS, meningkatkan rasio ATP/ADP dan level Ca^{2+} sitosol, dan memengaruhi ekspresi gen dan produksi protein/aktivitas regulator utama GSIS. (ii) dalam sel stellate hepatic, MDA menginduksi ekspresi gen-kolagen dengan meningkatkan ekspresi gen spesifisitas protein-1 (Sp1) dan kadar protein Sp1 dan Sp3. Baik Sp1 dan Sp3 dapat berinteraksi dengan dan merekrut sejumlah besar protein termasuk kompleks inisiasi transkripsi, enzim pengubah histon, dan kompleks remodeling kromatin, yang sangat menyarankan bahwa Sp1 dan Sp3 adalah

faktor transkripsi penting dalam kromatin remodeling dan regulasi ekspresi gen.⁸

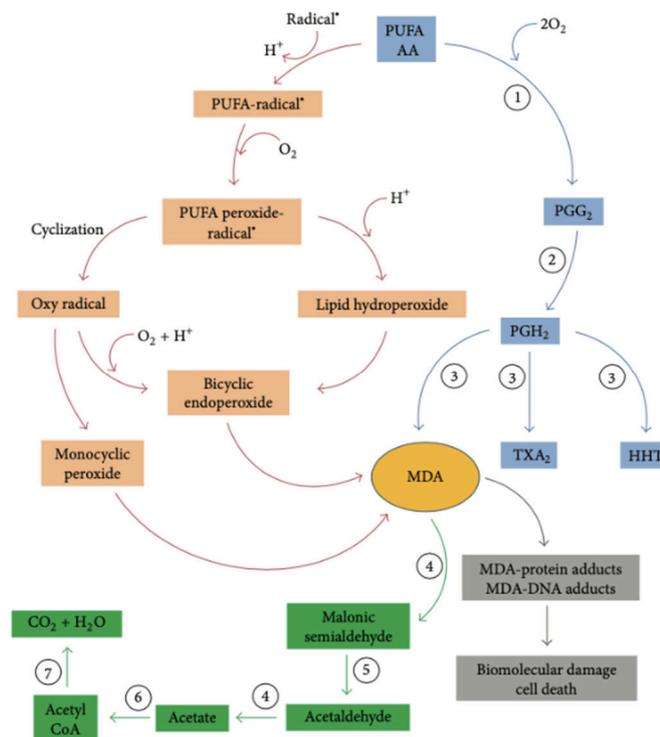
MDA dapat dihasilkan *in vivo* sebagai produk sampingan melalui proses enzimatik selama biosintesis tromboksan A₂ (TXA₂). TXA₂ adalah metabolit asam arakidonat yang aktif secara biologis yang dibentuk oleh aksi tromboksan A₂ sintase, pada prostaglandin endoperoksida atau prostaglandin H₂ (PGH₂). PGH₂ sebelumnya dihasilkan oleh aksi siklooksigenase pada asam arakidonat.⁸

Campuran hidroperoksida lemak terbentuk selama proses peroksidase lemak. Radikal peroksil dari hidroperoksida dengan ikatan rangkap *cis* yang homoalilik dengan gugus peroksil memungkinkan siklisasinya dengan penambahan radikal intramolekul pada ikatan rangkap dan pembentukan radikal baru. Radikal bebas intermediet yang terbentuk setelah siklisasi dapat bersiklus lagi untuk membentuk endoperoksida siklik, yang secara struktural terkait dengan prostaglandin, dan mengalami pembelahan untuk menghasilkan MDA. Sehingga, asam arakidonat adalah prekursor utama endoperoksida bisiklik, yang kemudian mengalami reaksi lebih lanjut dengan atau tanpa partisipasi senyawa lain untuk membentuk MDA.⁸

Setelah terbentuk MDA dapat dimetabolisme secara enzimatik atau dapat bereaksi pada protein seluler dan jaringan atau DNA untuk membentuk adisi yang mengakibatkan kerusakan biomolekuler. Penelitian awal menunjukkan bahwa rute biokimia yang mungkin untuk metabolisme MDA melibatkan oksidasinya oleh aldehida dehidrogenase mitokondria diikuti oleh dekarboksilasi untuk menghasilkan asetaldehida, yang dioksidasi oleh

aldehida dehidrogenase menjadi asetat dan selanjutnya menjadi CO₂ dan H₂O. Di sisi lain, isomerase fosfoglukosa mungkin bertanggung jawab untuk metabolisme MDA sitoplasma menjadi metilglioksal (MG) dan selanjutnya menjadi D-laktat oleh enzim sistem glioksalase dengan menggunakan GSH sebagai kofaktor. Sebagian MDA diekskresikan dalam urin sebagai berbagai enzim (RNH-CH-CH-CHO) seperti N-epsilon- (2-propenal)lisin, atau serin N-2-(propenal).⁸

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Inci et al, kadar malondialdehyde meningkat tepat setelah cedera otak traumatika dan peningkatan berlanjut sampai 36 jam tergantung dari derajat cedera otak. Mereka melaporkan bahwa lipid peroksida meningkat signifikan dibandingkan dengan grup kontrol sejak trauma pada tikus coba dengan trauma otak traumatik ringan dengan model Feeney, dan menurun sampai dengan nilai normal dibandingkan dengan grup kontrol setelah 36 jam. Mereka menyatakan bahwa lipid peroksida meningkat signifikan pada cedera otak traumatik berat dan 100% lebih tinggi dibandingkan dengan nilai kontrol pada akhir 26 jam. Mereka menjelaskan bahwa terdapat penurunan pertahanan system antioksidan setelah cedera otak traumatik berat.¹⁸



Gambar 2.12. Pembentukan dan metabolisme MDA. MDA dapat dihasilkan secara *in vivo* melalui dekomposisi asam arakidonat dan PUFA yang lebih besar sebagai produk samping melalui proses enzimatik selama biosintesis tromboksan A₂(TXA₂) dan asam 12-*l*-hidroksi-5,8,10-heptadekatrienoat (HHT) (jalur biru), atau melalui proses nonenzimatik oleh endoperoksida bisiklik yang dihasilkan selama peroksidase lipid (jalur merah). Satu MDA yang terbentuk dapat dimetabolisme secara enzimatik (jalur hijau). Enzim kunci yang terlibat dalam pembentukan dan metabolisme MDA: siklooksigenase (1), prostasiklin hidroperoksidase (2), tromboksan sintase (3), aldehida dehidrogenase (4), dekarboksilase (5), asetil KoA sintase (6), dan siklus asam trikarboksilat (7).⁸

2.7 Histopatologi Cedera Otak

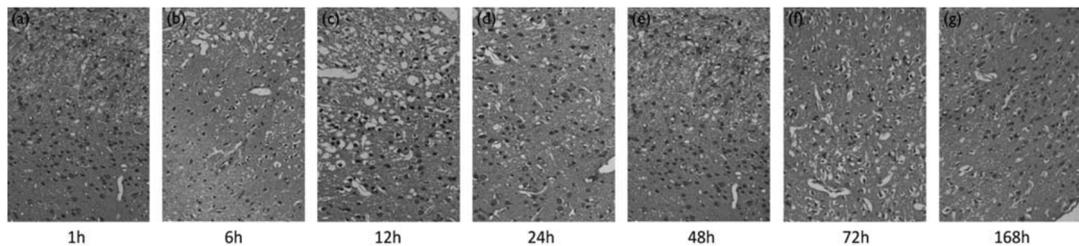
Studi pencitraan otak yang diperoleh selama kehidupan seharusnya selalu ditinjau sebelum membagi otak secara segar atau tetap. Lokasi, ukuran, dan penampilan lesi yang sangat mudah diidentifikasi harus didokumentasikan dengan foto dan diagram secara rinci, yang mungkin termasuk pemetaan lesi dan jaringan yang berkorelasi diambil sampelnya untuk evaluasi histologis. Bagian makroskopis lesi, termasuk hematoma, harus diambil dari pinggiran untuk menunjukkan transisi ke sekitarnya

parenkim. Saat mengevaluasi cedera HI, kerentanan regional otak dalam kaitannya dengan anatomi vascular (yaitu, di zona batas antararteri) dan di kaitannya dengan jenis neuron yang berbeda (misalnya, sensitivitas relative dari cornu ammonis/CA1 hippocampus) harus dipertimbangkan. Zona interarteri minimal (“*Watershed*”), basal nuclei (putamen dan globus pallidus), thalamus, hipokampus (idealnya di tingkat *corpus geniculatum lateral*), otak tengah, pons, medula oblongata, dan otak kecil harus diambil sampelnya. Daerah otak yang lunak dan teraba mungkin mengindikasikan hal ini edema fokal.⁴⁴

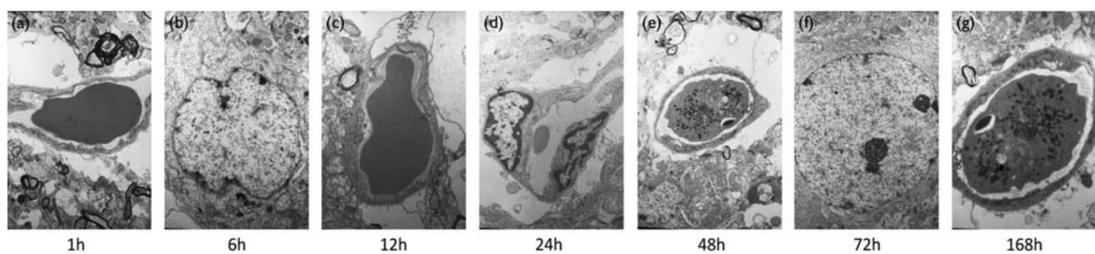
Lesi yang berkembang dapat berkembang menjadi edema otak dan pembengkakan, herniasi anatomi, kerusakan hipoksik-iskemik (HI) sekunder, peradangan, dan (dengan luka tembus) infeksi. Lesi vaskular sering menyertai trauma, atau mereka dapat terjadi pada situasi klinis stroke. Ini adalah dikategorikan sebagai iskemik (gangguan fokal darah aliran) atau hemoragik (pecahnya subarachnoid atau pembuluh darah parenkim).⁴⁴

Tidak ada perubahan abnormal yang diamati pada kelompok tikus 1 jam setelah cedera, zona edema berwarna terang terjadi di kontusio penumbra, sedangkan tampak celah yang lebih besar antara pembuluh darah, menunjukkan edema vasogenik. Mikroskop elektron menunjukkan bahwa sawar darah-otak memiliki membran dasar terputus-putus dengan tepi kasar. Pada 6 jam setelah TBI, gliosit di kontusio penumbra membengkak, sedangkan degenerasi vakuolar intraseluler dan penyempitan ruang antar sel diamati, menunjukkan edema intraseluler. Selain itu, organel yang bengkak dan pecahnya serta hilangnya krista mitokondria diamati dengan mikroskop

elektron. Pada 12 jam setelah TBI, edema intraseluler dan edema vasogenik diperparah, sedangkan area besar *vakuola-like cell* dan substansi antar sel berkisi berwarna terang diamati dengan mikroskop elektron. Pada 24 jam setelah TBI, edema intraseluler dan edema vasogenik berkurang, tetapi edema vasogenik diperparah lagi hingga 48 jam setelah TBI. Pada 72 jam setelah TBI, mikroskop elektron menunjukkan bahwa jumlah gliosit yang bengkak meningkat, sedangkan edema intraseluler adalah bentuk edema yang dominan. Edema intraseluler dan edema vasogenik berkurang pada 168 jam setelah TBI (Gambar 2.13 dan 2.14).



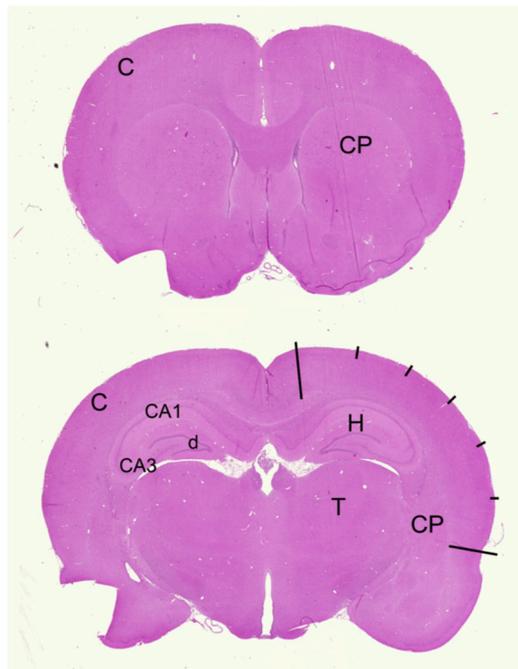
Gambar 2.13. Perubahan struktur mikro yang terkait dengan edema pada kontusio penumbra pada titik waktu yang berbeda setelah cedera otak traumatis. (a – g) Variasi dalam edema otak pada 1, 6, 12, 24, 48, 72, dan 168 jam setelah cedera otak traumatis (pewarnaan hematoxylin dan eosin, pembesaran $\times 100$).¹⁰⁴



Gambar 2.14. Perubahan ultrastruktur yang terkait dengan edema pada kontusio penumbra pada titik waktu yang berbeda setelah cedera otak traumatis. (a – g) Variasi dalam edema otak pada 1, 6, 12, 24, 48, 72, dan 168 jam setelah cedera otak traumatis (mikroskop elektron transmisi).¹⁰⁴

Analisa morfologi dari hasil penelitian Marjorie R.Grafe et al. 2008. , dengan cara tikus di-eutanasia dengan suntikan pentobarbital 120 mg/kg

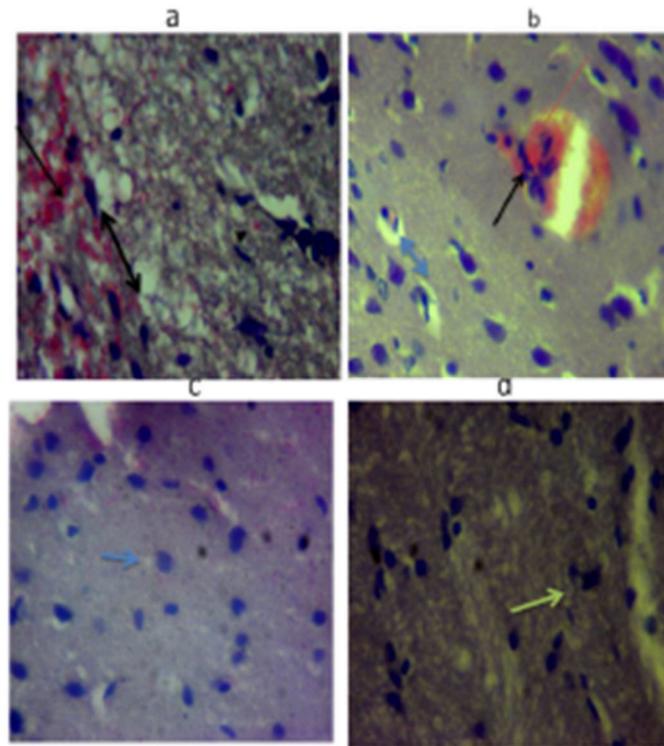
intraperitoneal. (Nembutal) dan kemudian diperfusi dengan saline diikuti dengan paraformaldehide dingin 4%. Setelah dikeluarkan dari tengkorak, otak diberi kode dengan nomor yang ditetapkan secara acak. Otak depan diblok secara bidang koronal, sisi kanan berlekuk, dan otak mengalami dehidrasi, dibersihkan, dan ditanam dalam parafin. Bagian dipotong dengan ketebalan 6 μ m. Bagian koronal di masing-masing sisi otak depan (sesuai dengan kira-kira tingkat 18 dan 28 dari diwarnai dengan hematoxylin dan eosin dan diperiksa untuk mengevaluasi tingkat cedera. Wilayah korteks parietal dengan ketebalan penuh yang dibagi menjadi 6 subwilayah, daerah hipokampus CA1, CA3 dan dentate gyrus, thalamus, dan caudate-putamen, adalah diperiksa secara bilateral untuk mencari adanya cedera.⁴⁵



Gambar 2.15. Bagian otak untuk pemeriksaan cedera histologis.. C = neocortex; CP = caudate-putamen, H =hippocampus (subregions CA1, CA3, d = dentate gyrus), T = thalamus. Bagian kortikan dibatasi oleh garis Panjang, dibagi 6 subwilayah (garis pendek). Tanda lekukan pada bagian otak kontralateral terhadap oklusi karotis.⁴⁵

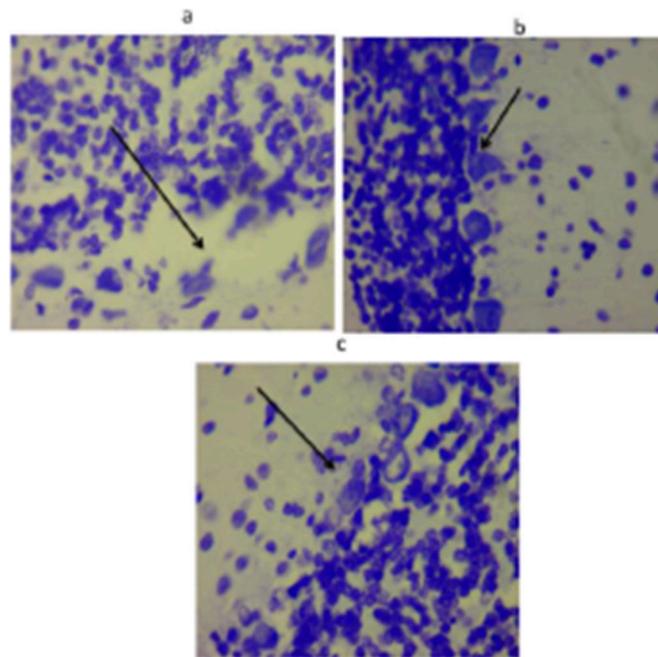
Bagian dievaluasi untuk kehilangan neuron, gangguan dari cytoarchitecture, gliosis dan kavitasi. Cedera dinilai di setiap wilayah menurut skala semikuantitatif berikut: 0, normal; 1, cedera ringan; 2, cedera sedang; 3, cedera berat; dan 4, infark kavitas lengkap. Pada model ini, cedera ringan sering kali berupa cedera neuron mati tersebar atau kelompok kecil neuron mati yang tidak merata, membuat jenis cedera ini mendapat skor lebih tinggi berguna daripada menghitung “volume infark.” Skor untuk 11 wilayah di masing-masing pihak dijumlahkan untuk memberikan skor histologi total antara 0 dan 44. Semua bagian dievaluasi tanpa sepengetahuan dari kelompok perlakuan.⁴⁵

Hasil penelitian Bulama et al. 2020 dari pemeriksaan Pelat 1 menunjukkan bahwa fotomikrograf diambil dari slide histologi (H dan E) jaringan otak dari semua grup. Dari hasil grup (NTNT), normal penampakan sel saraf, lapisan dan arsitektur otak terlihat menunjukkan tidak adanya cedera atau kelainan. Slide jaringan kelompok TNT menunjukkan peradangan, nekrosis, kongesti dan perdarahan. Namun lesi ini tidak terlihat pada kelompok yang diobati dengan asam askorbat.



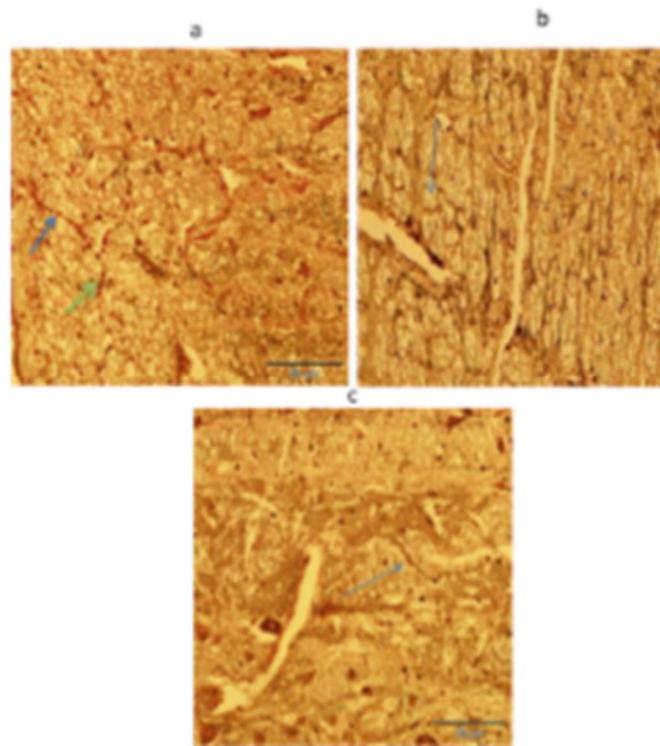
Gambar 2.16. Fotomikrograf otak (cerebrum) dari (a) kelompok TNT menunjukkan spongiosis (panah kepala ganda), perdarahan di neuropil (panah panjang) dan nekrosis neuron (kepala panah), (b) kelompok TNT menunjukkan vakoulasi (panah kepala ganda), kemacetan (panah merah) dan peradangan (panah hitam) (c) Tikus normal menunjukkan arsitektur normal otak besar, (d) tikus yang diobati dengan AA menunjukkan sel yang dinormalisasi H dan E, X40 (TNT-Traumatized non-treated, AA-Ascorbic acid).²⁹

Pelat 2 menunjukkan fotomikrograf serebelum tikus diwarnai dengan cresyl violet (*Nissl stain*). Lapisan sel purkinje otak kecil terdistorsi dan sel hilang diamati pada tikus TNT. Lesi ini terbalik pada tikus yang diberikan dengan asam askorbat sebagaimana tidak terganggu pada lapisan sel yang diamati.



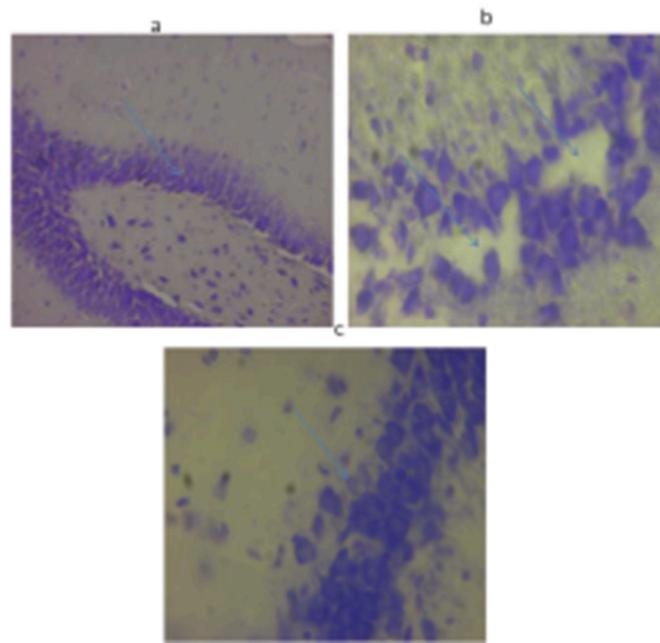
Gambar 2.17. Fotomikrograf serebelum TBI dan Normal tikus; (a) Kelompok TNT menunjukkan hilangnya sel Purkinje (panah); (b) Tikus normal menunjukkan arsitektur otak kecil yang normal; (c) Tikus yang diberi perlakuan AA menunjukkan lapisan sel Purkinje yang tidak terganggu TNT-Trauma yang tidak diobati, AA-Ascorbic acid, NTNT-non pewarnaan Nissl yang tidak diobati.²⁹

Fotomikrograf dari pewarnaan perak nitrat (Pewarnaan Bielschowsky) (pelat 3) *slide* histologis menunjukkan adanya pembengkakan aksonal (bohlam) dan kerusakan aksonal dalam kelompok TNT.



Gambar 2.18. Fotomikrograf serebrum tikus COT dan normal diwarnai dengan *stain* Bielchowsky (a) tikus TNT menunjukkan aksonal bohlam (Panah tebal) dan pemutusan aksonal (Panah tipis), (b) NTNT menunjukkan akson normal (panah), (c) kelompok AA menunjukkan aksonal bohlam (panah biru) TNT- Trauma yang tidak diobati, AA- Askorbat asam, NTNT-tidak trauma, tidak diobati (Bielchowsky *stain* X40).²⁹

Histologi hippocampus dipelajari menggunakan pewarnaan Nissl (pelat 4). Fotomikrograf diambil dari *slide* menunjukkan bahwa lapisan sel piramidal dari hippocampus terdistorsi dan sel hilang diamati pada tikus TNT. Lesi ini berbanding terbalik pada tikus yang diberikan asam askorbat tampak sebagai lapisan sel yang tidak terganggu.

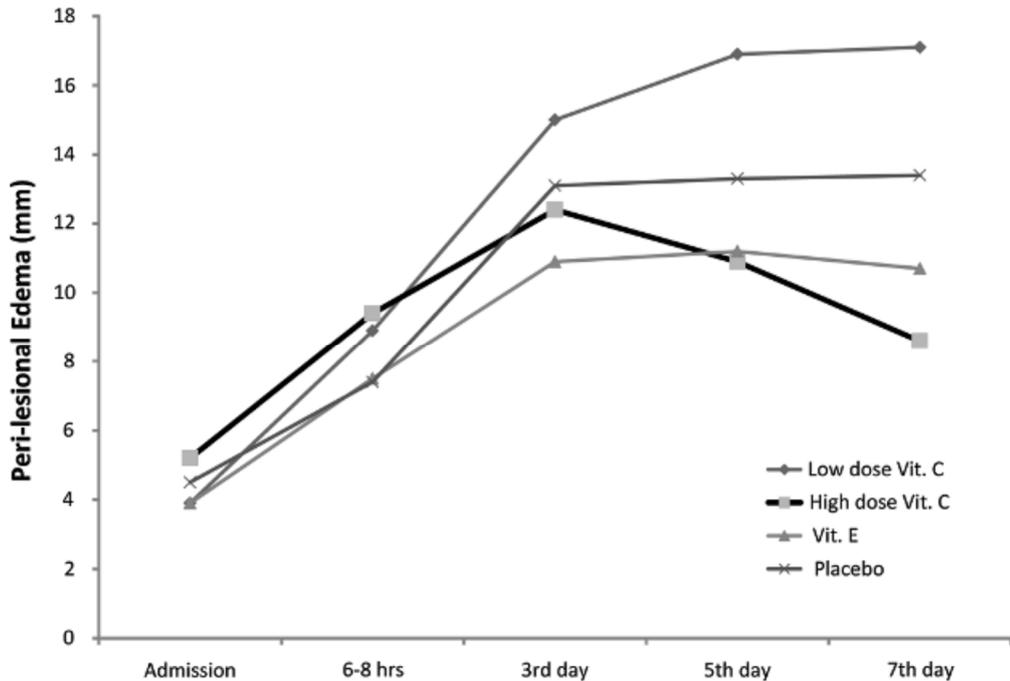


Gambar 2.19. Fotomikrograf hipokampus dari tikus normal yang menunjukkan lapisan sel utuh. (a) tikus TNT menunjukkan lapisan terdistorsi dengan sel yang hilang (b), dan tikus yang diberi perlakuan AA menunjukkan lapisan sel yang dipulihkan (c). TNT – trauma – tidak diobati, AA– Asam askorbat, pewarnaan Nissl ($\times 40$).²⁹

Sampel jaringan otak diambil dari semua hewan percobaan difiksasi dalam buffer 10%. Diberikan formalin selama 48 jam. Jaringan tetap mengalami dehidrasi kadar alkohol bertingkat (70%, 80%, 90% dan 100%) menggunakan pengolah jaringan otomatis. Jaringan itu dibersihkan menggunakan Xylene tertanam dengan parafin cair lilin, diblokir dan diberi label dengan tepat. Bagian jaringan setebal $5\mu\text{m}$ dibuat dari jaringan tertanam menggunakan pisau mikrotom yang melekat pada mikrotom. Yang dipotong jaringan dipasang pada slide kaca yang bersih dan bebas grees, dikeringkan pada suhu kamar dan diwarnai dengan Hematoxylin dan eosin (H dan E), pewarnaan Cresyl violet dan Belchowsky noda. Slide dilihat di bawah mikroskop (Olympus BX51TRF-CCD) pada perbesaran berbeda ($\times 10$, $\times 20$, $\times 40$)

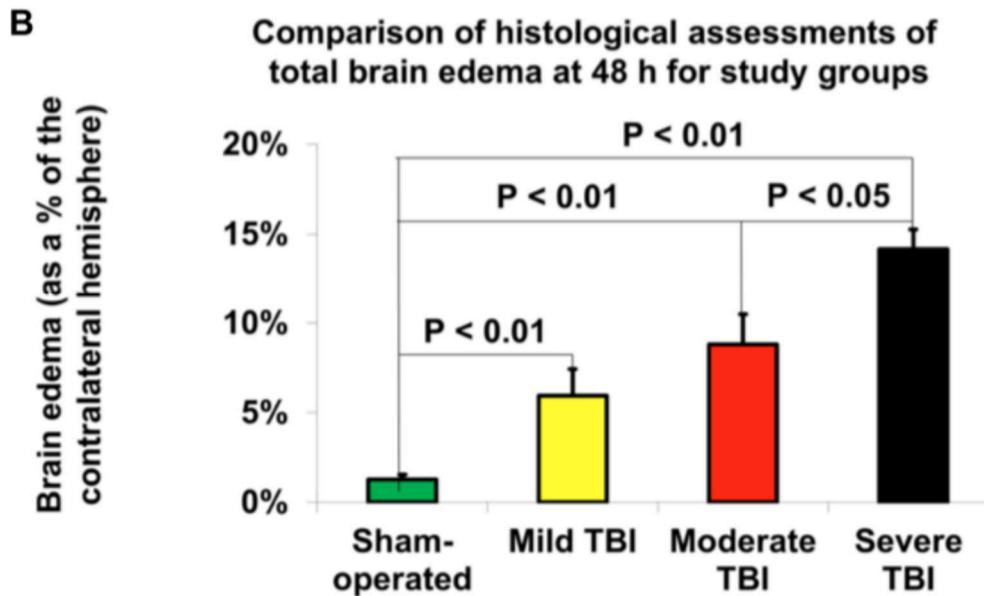
Hasil penelitian Razmkon et al. 2011 mengemukakan kelompok vitamin E menunjukkan hasil yang signifikan, kematian yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan lainnya. Skor GOS saat keluar dan tindak lanjut

juga secara signifikan lebih baik untuk pasien kelompok vitamin E. Vitamin C dosis tinggi menstabilkan atau mengurangi diameter hipodens daerah perilesional 68% dari jumlah pasien pada hari selanjutnya.²⁴



Gambar 2.20. Evolusi edema perilesional selama 7 hari pertama setelah trauma. Data mewakili rata-rata edema dalam sentimeter. Penyimpangan standar dihilangkan untuk menghindari kompleksitas.²⁴

Studi berdasarkan study Frank et al.¹⁰⁵ mengatakan cara lainnya untuk menghitung jumlah luasan edema secara histologi dan di gabungkan dengan software aplikasi, dimana otak pada hewan coba yang di beri COT, dan dibagi berdasarkan keparahan cedera otak, dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan cara mengambil jaringan otak dan di potong sejumlah 6 slice dalam posisis coronal slice dengan ketebalan tiap slicenya 2 mm kemudian diidentifikasi slice yang paling merepresentasikan edema otak dan dihitung dengan menggunakan teknik yang dikemukakan oleh Kuts et al.¹⁰⁶



Gambar 2.21. Persentasi edema otak secara histologi berdasarkan beratnya cedera.⁴⁷

Perluasan edema otak menggunakan metode kaplan perluasan edema otak dengan menggunakan kalkulasi dalam unit pixel pada coronal slice histologi yang di periksa dengan optical scanner (Canon Cano Scan 4200F resolusi 1600 x 1.600dpi) menggunakan aplikasi Image J 1.37v dengan persamaan volume hemisfer cedera (ipsilateral) - volume hemisfer kontralateral dibagi dengan jumlah volume hemisfer cedera (ipsilateral).¹⁰⁵

2.8 Antioksidan

Antioksidan bertindak secara terpadu di otak normal dan dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok besar: enzim dan antioksidan dengan berat molekul rendah. Enzim tersebut antara lain sejumlah protein, termasuk SOD, katalase, dan peroksidase, serta beberapa enzim pendukung. Ekspresi enzim ini dan aktivitasnya beraneka di berbagai bagian otak.⁴⁶ Peran protektif antioksidan endogen enzim dalam cedera otak iskemik telah dibuktikan dalam literature.⁴⁷ Trauma tidak hanya mengganggu mekanisme pengaturan

antioksidan tetapi juga dapat mengkonversi mekanisme ini menjadi prooksidatif melalui kemampuannya untuk mengganggu kompartementalisasi sel.⁴⁸ Antioksidan dengan berat molekul rendah terdiri dari gabungan sistem molekul larut air dan lipid seperti glutathione (GSH), *ascorbic acid* (AA), senyawa terkait histidine (karnosin, homokarnosin, dan anserin), melatonin, urat asam, asam lipoat, dan *tocopherol*.⁴⁶ Ini sangat penting dalam meminimalkan stres oksidatif. Namun, sel bisa mensintesis hanya sejumlah kecil dari molekul-molekul ini (misalnya, GSH dan karnosin). Mayoritas antioksidan berat molekul rendah berasal dari sumber makanan. Konsentrasi askorbat, yang mana memiliki potensi antioksidan yang relatif tinggi, jarang terdapat konsentrasi tinggi di otak.⁴⁹ Namun, sangat terbatas literatur tentang pentingnya antioksidan pada COT. *Ascorbic acid* (AA) otak terbukti menurun pada COT yang diinduksi ledakan eksperimental dan telah terkait dengan penurunan GSH dan protein tiol dan peningkatan penanda oksidatif.⁵⁰⁻⁵²

Sel dilengkapi dengan enzim yang dapat menghilangkan produk akhir peroksidasi, seperti aldehida *4-hydroxynomenal* (4-HNE). Enzim ini termasuk aldehida dehidrogenase, aldoketo reduktase, karbonil reduktase, dan *glutathione s-transferase* (GST).⁵³ GST adalah enzim yang menampilkan aktivitas glutathione peroksidase dan sejauh ini merupakan yang tertinggi kemampuan detoksifikasi aldehida yang sangat beracun seperti 4-HNE. Variasi alami dalam ekspresi GST mempengaruhi neurodegenerasi setelah COT eksperimental, mengkonfirmasi pentingnya peroksidasi lipid sebagai hal yang penting mekanisme patofisiologis pada COT.⁵⁴

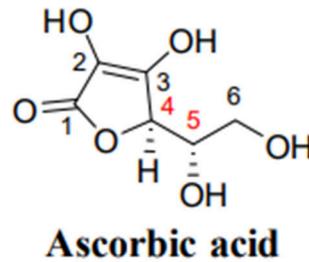
2.9 Asam Askorbat

Ascorbic acid (AA), umumnya dikenal sebagai vitamin C, adalah salah satu senyawa dasar dan paling terkenal yang diperlukan untuk berfungsinya tubuh manusia. Struktur vitamin C, didesain sebagai hexuronic asam, didirikan pada tahun 1933 di Universitas Birmingham di Inggris oleh Walter Haworth dan rekan-rekannya, yang juga menyelesaikan sintesisnya. Szent-Györgyi dan Haworth mengganti nama menjadi asam heksuronat 'Asam L-askorbat' untuk menyampaikan sifat antiskorbutik; nama baru secara resmi diterima pada tahun 1965. Baik Szent-Györgyi dan Haworth akan diberikan penghargaan Hadiah Nobel pada tahun 1937, yang pertama untuk Fisiologi dan Kedokteran dan yang terakhir untuk Kimia. Pada tahun 1934, Reichstein dan Grüssner di Swiss menyusun rute kimia untuk mensintesis AA komersial, mulai dari glukosa.^{55,56}

Ascorbic acid (AA) adalah senyawa organik yang termasuk dalam kelompok polihidroksi alcohol tak jenuh. Ini adalah ketolakton yang larut dalam air, yang pusatnya dibentuk oleh lima cincin karbon (Gambar 12). *Ascorbic acid* (AA) memiliki sifat pereduksi yang kuat, yang dihasilkan dari adanya ikatan rangkap pada karbon C2 dan C3, serta empat gugus hidroksil posisi C2, C3, C5, dan C6. Selain itu karena kedekatan hidroksil dan kelompok karbonil, AA adalah hidrogen atau donor elektron yang ideal, yang membuatnya menjadi kofaktor dari banyak reaksi enzimatik dalam organisme.⁵⁷

Ascorbic acid (AA), atau vitamin C dikenal luas sebagai salah satu *free radical scavengers* endogen terpenting, sehingga diduga memiliki tindakan

neuroprotektif dengan mengurangi kerusakan akibat eksitotoksitas. Pada disfungsi metabolik umum pasca-COT, kadar AA jaringan telah terbukti mengalami penurunan segera dan tidak kembali normal sampai 72 jam setelahnya.⁵⁷



Gambar 2.22. Penomoran atom karbon yang berbeda dari asam L-askorbat (4R, 5S).⁵⁷

Molekul harus melewati BBB atau melalui pleksus koroid ke dalam CSF untuk mencapai ruang ekstraselular dan jaringan otak, sehingga membentuk penghalang restriktif untuk perjalanan ke otak. Transpor utama vitamin C ke otak adalah melalui transporter *sodium-dependent vitC transporter* (SVCT)2, sedangkan SVCT1 tidak ada. Studi pada tikus knock-out tanpa transporter SVCT2 (*svct2*^{-/-} atau *slc23a2*^{-/-}) telah menunjukkan peran penting transportasi vitC yang dimediasi SVCT2 ke otak.^{58,59} Transporter SVCT2 terletak di endotelium pleksus koroid dan memungkinkan penyerapan aktif askorbat dari aliran darah, dan penelitian *in vivo* pada tikus telah menunjukkan distribusi cepat vit C berlabel ¹⁴C ke pleksus koroid pada saat infus.⁶⁰

Endotelia BBB tidak mengekspresikan transporter SVTC2, tetapi memiliki transporter *glucose transporter* (GLUT)1 yang terikat membran yang memungkinkan difusi DHA yang difasilitasi. Dalam mikrovaskulatur

otak, GLUT1 diekspresikan pada sisi luminal sel endotel dengan intensitas yang meningkat berdekatan dengan proses astrosit. Kontribusi transpor *docosahexaenoic Acid* (DHA) melintasi BBB ke status vitC otak secara keseluruhan kemungkinan dapat diabaikan pada individu sehat, tetapi ada kemungkinan bahwa transpor DHA ke otak dapat meningkat—misalnya, dalam kasus peningkatan laju oksidasi selama penyakit.^{61,62}

2.9.1 Farmakodinamik

Ascorbic acid (AA) bertindak sebagai kofaktor untuk delapan enzim mamalia (Tabel 2.4) dengan menjaga enzim terikat besi atau ion tembaga dalam keadaan tereduksi saat diperlukan. Agen pereduksi lainnya jauh kurang efektif sebagai kofaktor dalam vitro dan enzim ini dianggap dependen terhadap AA. *Ascorbic acid* (AA) juga meningkatkan sintesis setidaknya satu dari prostaglandin. *Ascorbic acid* (AA) memodulasi sistem neurotransmitter dengan mengatur sintesis reseptor saraf dan memfasilitasi pelepasan transmitter.⁵⁶

Tabel 2.4. Enzim dependen Asam askorbat (AA).⁵⁶

Enzyme	Function
Prolyl-4-hydroxylase (EC 1.14.11.2)	Collagen synthesis
Prolyl-3-hydroxylase (EC 1.14.11.7)	Collagen synthesis
Lysyl hydroxylase (EC 1.14.11.4)	Collagen synthesis
ϵ -N-Trimethyllysine hydroxylase (EC 1.14.11.8)	Carnitine synthesis
γ -Butyrobetaine hydroxylase (EC 1.14.11.1)	Carnitine synthesis
Dopamine β -hydroxylase (EC 1.14.17.1)	Noradrenaline synthesis
Peptidylglycine α -amidating monooxygenase (EC 1.14.17.3)	Peptide amidation
4-Hydroxyphenylpyruvate hydroxylase (EC 1.13.11.27)	Tyrosine metabolism

Ascorbic acid (AA) memodulasi system *neurotransmitter*. Dari fraksi subselular otak tikus, sinaptosomal sitoplasma memiliki kandungan AA tertinggi.⁶³ Fraksi ini mengandung terminal saraf, tempat terjadinya sintesis, penyimpanan dan pelepasan *transmitter*.⁵⁶

Peran AA dalam diferensiasi mesenkim. Askorbat terlibat dalam pengembangan sel-sel jaringan ikat, seperti mioblas, adiposit, kondrosit dan osteoblas, yang semuanya berasal dari sel prekursor mesenkim.⁵⁶

Askorbat adalah *scavenger* yang efektif dari semua agresif spesies oksigen reaktif dalam lingkungan berair dari sitosol dan cairan ekstraseluler. Spesies termasuk ini hidrosil, radikal anion superoksida dan nonlipid radikal peroksil bersama dengan non-radikal oksigen singlet dan hidrogen peroksida.⁶⁴ Askorbat bereaksi dengan radikal bebas untuk menghasilkan radikal ascorbyl dan produk detoksifikasi melalui transfer elektron tunggal.⁵⁶

2.9.2 Farmakokinetik

Penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi asam askorbat pada manusia sangat kompleks dan tidak seperti kebanyakan senyawa dengan berat molekul rendah. Sebagian besar penyerapan usus, jaringan distribusi, dan reuptake ginjal ditangani oleh jenis protein *sodium-dependent vitC transporter* (SVCT).⁶⁵

Sebagai kotransports ion natrium dan askorbat melintasi membran dengan kemampuan untuk menghasilkan gradien konsentrasi yang cukup besar. Ini adalah ekspresi diferensial, kesatuan substrat, dan ketergantungan dari konsentrasi SVCT antar organ yang memunculkan keunikan

kompartmentalisasi dan farmakokinetik nonlinier AA pada tingkat fisiologis.⁶⁶⁻⁶⁸

Pada sebagian besar mamalia, AA dapat diproduksi dari glukosa dalam jalur multi-langkah; Namun, pada manusia, sintesisnya tidak dimungkinkan karena kurangnya oksidase L-gulonolakton. Oleh karena itu, AA harus tersedia dalam makanan.⁶⁹

Diasumsikan bahwa setiap hari kebutuhan asupan AA berbeda untuk wanita dan pria dewasa, dan jumlahnya masing-masing 75 mg dan 90 mg. Nilai-nilai tersebut berdasarkan asupan vitamin C untuk mempertahankan konsentrasi neutrofil mendekati maksimal dengan urin ekskresi askorbat minimal. Karena merokok meningkat stres oksidatif dan pergantian metabolisme vitamin C, kebutuhan perokok meningkat 35 mg per hari. Konsentrasi fisiologis askorbat dalam darah adalah 10-100 μM .¹⁰

Pendapat umum menganggap jeruk sebagai yang utama dan paling banyak sumber AA yang melimpah; Namun, studi analitik menunjukkan sejumlah buah dan sayuran, serta daging, sebagai makanan dari mana tubuh manusia dapat memperolehnya senyawa ini (Tabel 5).⁷⁰

Tabel 2.5. Jumlah Asam askorbat (AA) dalam produk makanan dengan kadar tinggi.⁷⁰

Food Products	Amount [mg] Per 100 g
Plant origin	
Kakadu plum	5300
Acerola cherries	1600–1700
Wild rose	250–800
Blackcurrant	150–300
Guava	230
Peppers	125–200
Brussels	65–145
Broccoli	65–100
Grapefruit	30–70
Pomelo	61
Lemon	40–60
Orange	50
Lime	29
Animal origin	
Liver	22–30
Cod	2
Trout	1
Cow's milk	1

Dalam kondisi fisiologis, AA terionisasi menjadi anion askorbat, yang, setelah memasuki saluran pencernaan sebagai nutrisi, diserap dari lumen usus— terutama oleh enterosit—dan bersirkulasi dengan darah ke seluruh tubuh diambil oleh semua sel.⁷¹ Cara lain untuk askorbat masuk ke dalam tubuh adalah melalui transdermal.⁷² Selain itu, dapat diserap kembali oleh sel sel tubulus ginjal epitel ke dalam darah yang disaring oleh ginjal.⁷³

Karena askorbat larut dalam air, transfernya melalui membran plasma lipid terhambat. Difusi sederhana askorbat hanya memainkan peran kecil dalam pengangkutannya melintasi membran dan dengan demikian dibantu oleh yang spesifik sistem transportasi. Mekanisme transportasi askorbat yang paling dikenal adalah: (I) difusi melalui saluran transmembran; (II) memfasilitasi difusi melalui eksositosis dalam sekretori vesikel; (III)

transmisi oleh transporter yang peka terhadap glukosa; dan (IV) aktif sekunder transportasi melalui transporter SVCT1 / 2 yang bergantung pada natrium.^{67,74} Oleh karena itu, dibutuhkan bioavailabilitas tinggi askorbat untuk semua proses seluler, terpenuhi dari konsumsi makanan yang bervariasi.

Farmakokinetik obat dengan berat molekul rendah sebagian besar dapat dimodelkan dengan kinetika orde pertama dalam rentang terapeutiknya, yaitu penggantian dosis menghasilkan penggantian konsentrasi plasma keadaan stabil. Namun, peran dominan dari mekanisme transpor aktif jenuh dalam penyerapan, distribusi, dan ekskresi askorbat menghasilkan farmakokinetik yang bergantung pada dosis nonlinier. Dengan meningkatnya asupan vitC, konsentrasi stabil plasma mencapai tingkat maksimal sekitar 70-80 μM ^{75,76}

Mungkin untuk meningkatkan kadar homeostatis 70-80 μm sampai beberapa kali lipat melalui multipel dosis gram harian vitC. Pada tingkat suprafisiologis, vitC secara bertahap mengikuti kinetika orde pertama seperti yang dibahas dalam pemberian intravena. Oleh karena itu, contohnya, dosis 2 g vitC yang diberikan tiga kali sehari kemungkinan perkiraan akan menghasilkan konsentrasi plasma keadaan stabil sekitar 250 μM (perhitungan berdasarkan data dari referensi)⁷⁷

Pendekatan lain untuk meningkatkan konsentrasi plasma maksimum yang dapat dicapai melalui pemberian oral adalah liposom. Sifat farmakokinetik dari bolus empat gram vitC yang dienkapsulasi liposom dibandingkan dengan vitC biasa dan plasebo pada sebelas sukarelawan dalam uji silang. Penulis menemukan peningkatan paparan sebesar 35% (AUC₀₋₄ jam) dengan plasma C_{max} sekitar 200 μM setelah 3 jam. Sayangnya,

konsentrasi plasma tidak diukur melebihi titik waktu 4 jam. Dalam upaya untuk menunjukkan signifikansi potensi biologis dari peningkatan status vitC plasma, para peserta mengalami iskemia parsial selama 20 menit yang diinduksi oleh manset tekanan darah pada 200 mm Hg. Namun, tidak ada efek menguntungkan pada stres oksidatif yang diinduksi iskemia-reperfusi yang diamati pada peroksidasi lipid dibandingkan dengan dosis *non-encapsulated* vitC.⁷⁸

Pemberian obat secara intravena umumnya menghasilkan konsentrasi plasma yang dapat diprediksi dengan menghindari batasan penyerapan, menghasilkan bioavailabilitas 100%. Khusus untuk vitC, pemberian intravena melewati mekanisme penyerapan *saturable*. Ini hampir menghilangkan batas atas konsentrasi plasma maksimum yang dapat dicapai. Pemberian vitC parenteral biasanya ditangani dengan infus intravena. Pendekatan ini menghasilkan konsentrasi stabil plasma yang dapat diprediksi yang akan tetap konstan sampai infus dihentikan. Untuk vitC, hubungan linier antara dosis dan C_{max} dapat diamati untuk dosis hingga sekitar 70 g/m² pada manusia sesuai dengan studi farmakokinetik klinis, menghasilkan konsentrasi plasma sekitar 50 mM.⁷⁹

2.9.3 Efek Samping dan Interaksi Obat

Suplementasi berlebihan senyawa AA juga bisa menjadi tidak menguntungkan. Telah dilaporkan bahwa Overdosis AA menyebabkan gangguan pencernaan, termasuk sakit perut, mual, muntah dan diare, dan ruam kulit.⁸⁰

Vitamin C harus digunakan dengan hati-hati pada nefropati oksalat atau nefrolitiasis karena pengasaman oleh AA meningkatkan kemungkinan pengendapan batu sistein, urat, dan oksalat. Dosis AA yang sangat tinggi (>800 mg) juga dapat menyebabkan pengasaman urin dan, akibatnya, pembentukan batu ginjal.⁸¹

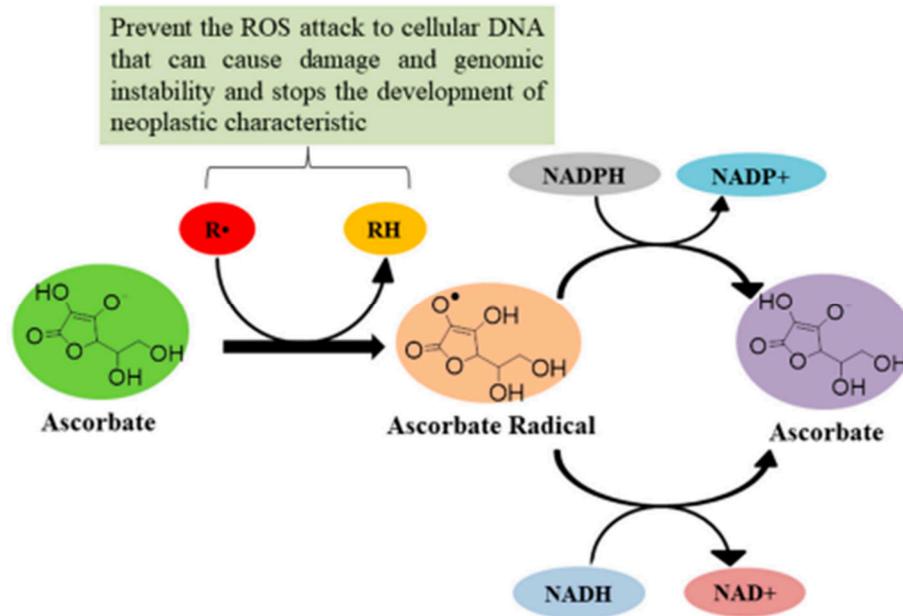
2.9.4 Kontraindikasi

Suplementasi vitamin C dikontraindikasikan pada kelainan darah seperti talasemia, defisiensi G6PD, penyakit sel sabit, dan hemokromatosis. Hindari mengonsumsi suplemen segera sebelum atau setelah angioplasti. Pasien diabetes harus mengonsumsi suplemen vitamin C dengan hati-hati karena meningkatkan kadar gula darah.⁸²

2.9.5 Peran Asam Askorbat dalam Cedera Otak Traumatika

Ascorbic acid (AA) adalah salah satu antioksidan larut air yang paling melimpah dalam jaringan, bertindak sebagai kofaktor pereduksi dalam beberapa reaksi enzimatik. Menjadi agen pereduksi yang kuat, dengan cepat bereaksi, melalui satu atau dua reaksi elektron, dengan berbagai ROS dan RNS, termasuk radikal peroksinitrit dan hidroksil. Stres oksidatif merupakan kontributor penting dalam patogenesis cedera otak sekunder. Mekanisme pertahanan seluler terhadap kerusakan ini terganggu pada penyakit akut karena menipisnya *free radical scavengers* seperti AA.⁸³ AA terlibat dalam daur ulang - *tocopherol* teroksidasi (Vitamin E) berkontribusi pada pemeliharaan keadaan redoks - *tocopherol* dalam membran biologis, dan kekurangannya dikaitkan dengan gangguan integritas jaringan ikat. Karena AA tidak disintesis oleh sebagian besar mamalia (termasuk manusia), tubuh

bergantung pada konsumsi makanan kaya vitamin C untuk memenuhi kebutuhan AA-nya.⁸⁴



Gambar 2.23. Mekanisme antioksidan dari *Ascorbic acid* (AA).⁸⁵⁻⁸⁷

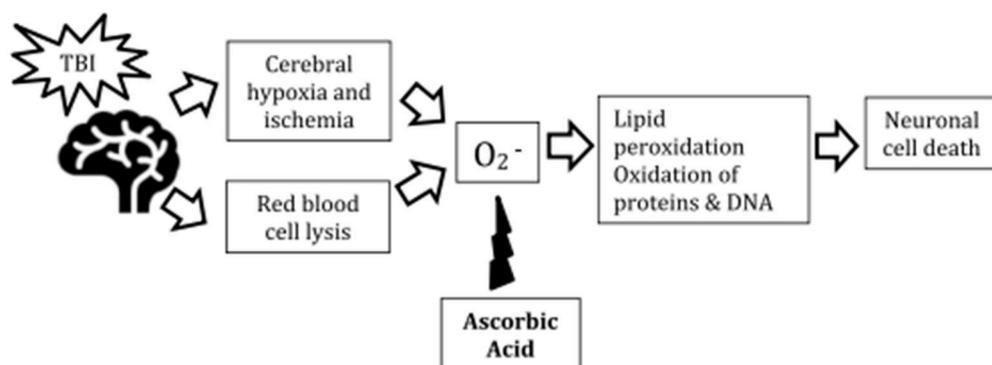
Ascorbic acid (AA) adalah salah satu antioksidan *low-molecular antioxidants* yang berfungsi dalam tubuh manusia. AA mengatur tingkat ROS sejak tahap pembentukannya. Sumber utama ROS adalah rantai pernapasan mitokondria dan enzim spesifik, seperti NADPH oxidases (NOXs) atau *xanthine oxidase* (XO). XO adalah enzim yang menghasilkan ROS melalui oksidasi hipoksantin menjadi xantin dan kemudian menjadi asam urat. Kedua reaksi ini diperlukan untuk berfungsinya organisme, tetapi hasil kemunculannya adalah hidrogen peroksida dan pembentukan radikal anion superoksida. Diketahui bahwa XO juga dapat langsung mengoksidasi askorbat; namun, suplementasi askorbat secara signifikan melindungi organisme terhadap hiperaktivitas XO. Penurunan aktivitas XO yang

diinduksi oleh askorbat mungkin berguna dalam mencegah atau mengurangi cedera reperfusi juga pada stimulasi neutrofil (6 μ M askorbat) dan menunda perkembangan nefropati hiperurisemia (10 mg/kg/hari askorbat).⁷⁰

Polidori et al menyatakan dalam studi kohortnya, bahwa pasien COT menunjukkan penurunan kadar AA plasma dibandingkan dengan kontrol yang sehat, dan penurunan ini berkorelasi terbalik dengan tingkat keparahan dan hasil neurologis. Selain itu, penurunan kadar vitamin C berhubungan dengan peningkatan volume lesi. Terlepas dari gangguan fungsi vitamin C pada COT, relatif sedikit penelitian pada manusia yang mencoba suplementasi vitamin C langsung. Dua penelitian telah menunjukkan bahwa pengobatan dengan vitamin C mempertahankan AA pada tingkat yang sesuai pada model tikus COT, dan mempertahankan produksi superoksida dismutase dengan fungsi motorik yang lebih baik selama trauma. Dikombinasikan dengan vitamin E, AA dapat meningkatkan mekanisme pertahanan seluler dan melindungi dari efek oksidatif COT. Selain aktivitas *free radical scavengers*, vitamin C dapat meningkatkan integritas BBB dengan mengatur keseimbangan antara metalloproteinase 9 (MMP-9) dan *free radical scavengers* seperti Nrf2. *Ascorbic acid* (AA) profilaksis 2-glukosida secara signifikan membatasi stres oksidatif yang diinduksi COT dan mengurangi disfungsi motorik sementara efek pengobatan terapeutik terbatas. Secara klinis, efek vitamin C pada pasien yang sakit kritis tidak terlalu bermanfaat. Literatur tentang pengobatan AA pada pasien COT umumnya konsisten dengan temuan ini tetapi terbatas. Satu-satunya uji coba terkontrol secara acak pada pemberian vitamin C dosis tinggi untuk COT dilakukan pada tahun 2011

dengan 23 pasien, tetapi penulis tidak melihat adanya peningkatan hasil. Namun, dengan keamanannya yang tinggi, profil biaya yang rendah, serta sifat antioksidan di atas yang berpotensi untuk menargetkan mekanisme COT, AA tetap menjadi kandidat yang menjanjikan untuk penatalaksanaan COT tahap akut, misalnya dalam administrasi pra-rumah sakit.⁸⁸

Dalam model *close head* COT, hewan menerima pra-perawatan dengan dosis AA yang berbeda (pemberian intraperitoneal 45 atau 60 mg/kg/mati) selama dua minggu, sendiri atau dalam kombinasi dengan dosis yang sama dari *α-tocopherol*, yang diberikan selama 2 minggu tambahan setelah benturan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa AA, bahkan jika diberikan sendiri, menurunkan angka kematian, menurunkan jaringan serebral dan kadar malondialdehid (MDA) yang bersirkulasi, memulihkan nilai AA di otak, dan menstimulasi kadar superoksida dismutase jaringan.²¹



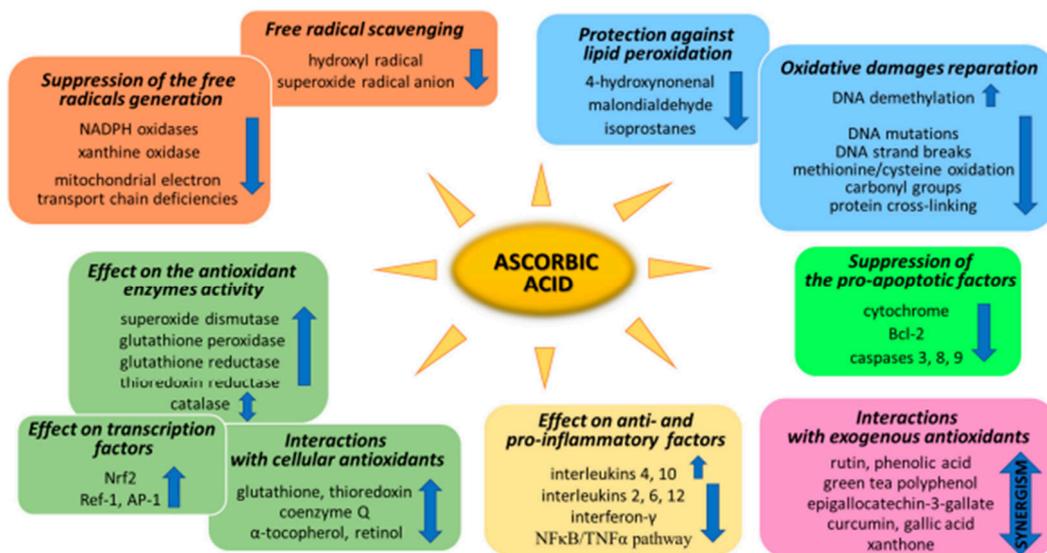
Gambar 2.24. Mekanisme scavenging oksigen reaktif dari *Ascorbic acid* (AA) IV dosis tinggi pada COT. TBI, *traumatic brain injury*; O_2^- , *reactive oxygen species*; DNA, *deoxyribonucleic acid*.⁸³

Dalam uji klinis *double blind controlled*, Razmkon et al. membagi kohort 100 pasien COT menjadi empat kelompok yang menerima AA dosis rendah (500 mg/die i.v. selama 7 hari), atau AA dosis tinggi (10 g i.v. saat masuk dan 4 hari setelahnya, diikuti dengan 4 g/ die i.v. selama 3 hari tersisa),

atau vitamin E (400 IU/die i.m. selama 7 hari), atau plasebo.²⁴ Efek menguntungkan dari antioksidan dosis tinggi ini diamati pada pasien yang diobati dengan AA yang menunjukkan penurunan perkembangan edema perilesional pada CT scan. Efek AA yang relatif sederhana yang dicatat dalam penelitian ini mungkin disebabkan oleh kerusakan transporter SVCT2 yang biasanya memastikan transpor AA elektrogenik ke dalam sel. Secara potensial, ketidakseimbangan ion yang biasanya ditemui setelah COT dapat mengganggu fungsi transporter AA, sehingga membatasi efektivitas terapi berbasis AA. Mungkin juga penurunan ekspresi SVCT2 terjadi setelah COT.

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa kadar vitamin C plasma menurun dalam keadaan cedera otak, menunjukkan penipisan vitamin C dini dan kebutuhan selanjutnya untuk suplementasi lebih lanjut. Dua penelitian lain juga menunjukkan ketidakmampuan otak yang cedera untuk meningkatkan kadar AA dalam pengaturan stres oksidatif. Suplementasi vitamin C sekarang menjadi praktik rutin bagi banyak pasien dan penyakit; namun, kecukupan dosis rutin belum pernah ditetapkan. Razmkon et al, dalam penelitiannya melakukan pemberian vitamin C dosis rendah rutin (1500 mg ampul setiap hari) tidak menyebabkan dampak yang dapat dikenali pada perjalanan penyakit dan prognosis. Namun, vitamin C dosis tinggi menurunkan perkembangan edema perilesional, mungkin produk dari kerusakan oksidatif sekunder pada cedera otak. Hal ini sesuai dengan fakta bahwa dosis suplementasi vitamin C pada penyakit inflamasi berat, keganasan, dan trauma jauh melebihi dosis rutin pada subyek sehat.²⁴

Beberapa studi klinis tentang defisiensi AA pada pasien dengan COT berbeda dengan literatur yang lebih kuat pada model hewan. Dalam tikus model stroke iskemik, DHA menunjukkan efek neuroprotektif pada hewan yang diobati sebelumnya dan mereka yang menerima DHA setelah gangguan iskemik. Dalam model tikus COT, kombinasi pemberian AA dan vitamin E dosis sedang menghasilkan mekanisme pertahanan seluler yang lebih baik dan menegaskan penipisan antioksidan penting setelah COT. Mengikuti dampak mekanis COT, iskemia, reperfusi, dan ketidakseimbangan antara faktor pelindung yang berkurang seperti pemulung radikal bebas dan faktor-2 terkait *Nuclear Factor, Erythroid 2* (NF-E2) dan faktor perusak yang diregulasi seperti MMP-9 menyebabkan gangguan persimpangan ketat transmembran protein di lamina basal BBB. ROS menyebabkan kerusakan sel melalui peroksidasi lipid dari asam lemak dalam sel dan membran mitokondria. Dengan sifat antioksidannya yang kuat, AA dosis tinggi dapat mengurangi kaskade ini.⁸³



Gambar 2.25. Jalur aksi antioksidan dari *Ascorbic acid* (AA).⁷⁰

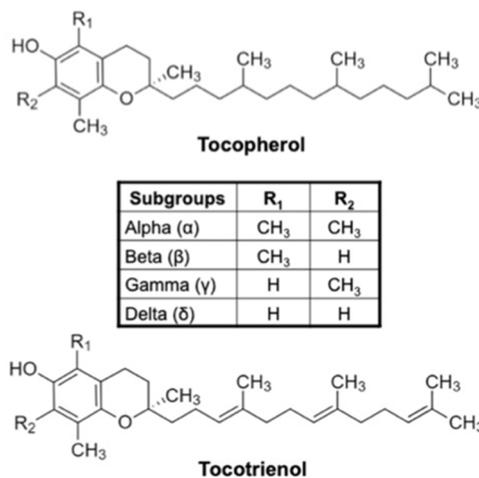
Dosis AA yang paling tepat pada COT tidak diketahui. Namun, dosis yang lebih tinggi telah menunjukkan manfaat pada pasien sakit kritis lainnya tanpa menyebabkan bahaya. Oleh karena itu, IV AA dosis sedang hingga tinggi (10.000-20.000 mg per hari) mungkin diperlukan untuk mengisi cadangan AA yang kurang pada pasien dengan COT yang mengalami stres oksidatif beberapa hari setelah cedera. Pemberian IV AA dosis tinggi (≥ 200 mg/kg per hari) akan memanfaatkan sifat antiperadangan, pemulungan ROS, dan penstabil membran sel AA.⁸³

2.10 α -Tocopherol

Pada tahun 1922, H. M. Evans dan Katherine S. Bishop melaporkan dari Universitas California bahwa tikus hamil diberi formulasi diet yang mengandung semua faktor nutrisi yang diketahui tidak mencapai aterm. Kematian dan resorpsi janin dicegah oleh suplementasi dari formulasi diet dengan selada segar, sehingga menyiratkan keberadaan faktor nutrisi yang sampai sekarang tidak diketahui. Pada tahun 1924, studi awal ini telah diverifikasi secara independen oleh Sure, yang merekomendasikan bahwa faktor yang tidak diketahui secara resmi ditunjuk sebagai vitamin E. Zat aktif yang larut dalam lemak diisolasi dari bibit gandum oleh Evans pada tahun 1936. Telah dikemukakan bahwa aktifitas vitamin E memiliki lebih dari satu senyawa, vitamin diberikan secara generic nama, *tocopherol*, yang berasal dari bahasa Yunani bahasa yang berarti 'melahirkan dalam persalinan'. Mulai tahun 1944, ditemukan banyak sindrom defisiensi terjadi pada hewan yang

kekurangan vitamin E. Struktur vitamin dijelaskan oleh Fernholz pada tahun 1937 dan sintesis dilakukan oleh Karrer di tahun berikutnya.⁵⁶

Vitamin E merupakan molekul lipofilik (α -, β -, γ -, dan δ -*tocopherol* dan α -, β -, γ -, dan δ -*tocotrienol*) dan antioksidan yang larut dalam lemak yang berperan penting dalam reproduksi manusia dan hewan.^{89,90} Mekanisme utama aksi α -*tocopherol* adalah melawan radikal bebas. α -*tocopherol* mengikat radikal bebas, melindungi komponen seluler dari kerusakan oksidatif. Peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda dalam membran sel dari radikal bebas menyebabkan cedera seluler. Vitamin E berperan protektif dan menghambat agregasi trombosit, adhesi monosit, dan proliferasi sel.⁹¹

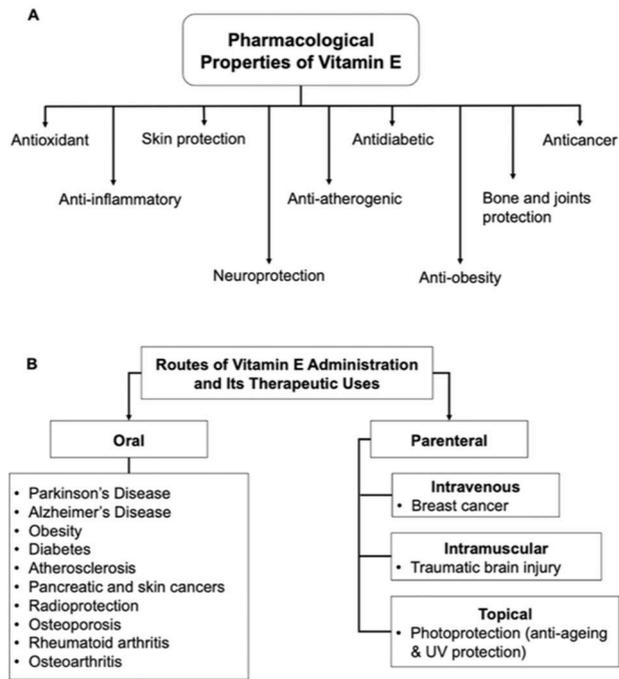


Gambar 2.26. Struktur kimia *tocopherol* dan *tocotrienol*. Perbedaan isoform vitamin E ditentukan berdasarkan keberadaan dan posisi gugus metil sebagai rantai samping pada cincin kromanol.⁹²

2.10.1 Farmakodinamik

Sifat antioksidan dan anti-inflamasi vitamin E sangat bermanfaat untuk penggunaan terapeutik di masa depan. Sejumlah penelitian telah dilakukan untuk menunjukkan manfaat vitamin E dalam berbagai aspek kesehatan, termasuk pelindung saraf dan kardiovaskular, kesehatan kulit dan tulang,

serta untuk mengobati kanker. Rute pemberian vitamin E yang berbeda dapat diterapkan untuk penggunaan terapeutik yang berbeda.⁹²



Gambar 2.27. (A) Komponen farmakologi vitamin E. (B) Rute yang berbeda dalam pemberian vitamin E dan fungsi terapeutiknya.⁹²

Secara umum, efek antioksidan isomer vitamin E bergantung pada jumlah gugus metil pada cincin kroman. Misalnya, α -TocH memiliki tiga gugus metil, sedangkan δ - *tocopherol* memiliki satu gugus metil di cincin kroman. Secara umum diakui bahwa kekuatan aktivitas antioksidan berada dalam urutan $\alpha > \beta > \gamma > \delta$ di antara isomer vitamin E, dan *tocopherol* lebih kuat daripada *tocotrienol*. Namun, tergantung pada kondisi percobaan, aktivitas antioksidan *tocotrienol* juga dilaporkan lebih kuat daripada *tocopherol*.⁹³

2.10.2 Farmakokinetik

Nama "vitamin E" tampaknya merujuk pada satu senyawa, namun sebenarnya ada 8 analog vitamin E: 4 *tocopherol* (α , β , γ dan δ) dan 4 *tochotrienol* (α , β , γ dan δ). Namun, hanya α -tocopherol yang digunakan untuk menetapkan RDA vitamin E, yaitu 15 mg RRR α -tocopherol. *Tocopherol* memiliki rantai samping yang panjang dan jenuh, sedangkan *tochotrienol* menunjukkan adanya ikatan rangkap tak jenuh pada rantai samping. Hal ini juga menjelaskan afinitas tokotrienol yang lebih tinggi terhadap membran lemak dibandingkan dengan *tocopherol*.^{89,92} *Tocopherol* memiliki cincin kromanol dan ekor fitil. *Tocopherol* alami hanya memiliki stereokimia RRR, tetapi *tocopherol* sintetik adalah campuran dari delapan stereoisomer (RRR-, RSR-, RRS-, RSS-, SRR-, SSR-, SRS-, SSS-), karena ada tiga atom karbon asimetris (2R, 4'R, 8'R) hadir di ekor phytyl.⁹⁴

Manusia mengonsumsi 2 sumber α -tocopherol: α -tocopherol yang bersumber secara alami, yang biasa ditemukan di minyak biji, dedak padi, bibit gandum, zaitun, jelai, kedelai, kacang-kacangan dan biji-bijian; dan α -tocopherol sintetik, yang digunakan untuk fortifikasi produk makanan seperti sereal siap saji. Vitamin E, khususnya α -tocopherol, dapat dengan mudah diperoleh dan dikonsumsi oleh sebagian besar penduduk. Sementara itu, *tochotrienol* juga ditemukan di berbagai sumber alami. Sama halnya dengan *tocopherol*, persentase kandungan *tochotrienol* berbeda antara satu sumber dengan sumber lainnya, yaitu bekatul (50%), minyak sawit (75%) dan annatto (99,9%).^{89,92}

Tabel 2.6. Penamaan dari tocopherol dan tocotrienol.⁵⁶

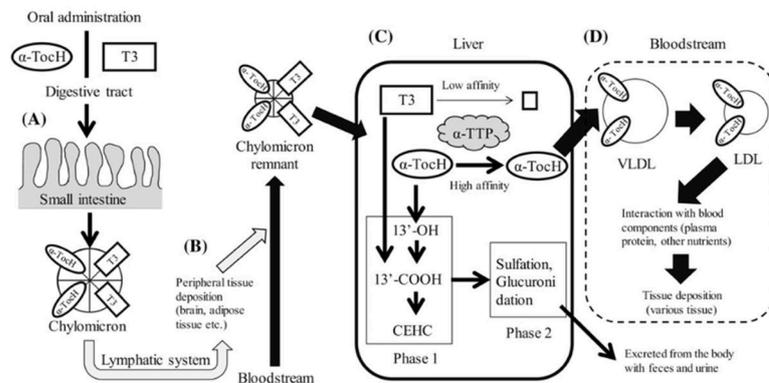
Methyl substitution of tocol or tocotrienol molecule	Tocopherol (T)	Tocotrienol (T3)
5,7,8-Trimethyl	α -T	α -T3
5,8-Dimethyl	β -T	β -T3
7,8-Dimethyl	γ -T	γ -T3
8-Methyl	δ -T	δ -T3

Pada tahun 1980, penamaan aktivitas vitamin E diubah dari IU dinyatakan menjadi satuan ekuivalen, berdasarkan aktivitas biologis. Dalam notasi ini, semua aktivitas vitamin E dinyatakan dalam bentuk yang secara alami, bentuk paling aktif dari vitamin, yaitu RRR- α -tocopherol. Total aktivitas vitamin E dalam makanan seharusnya dilaporkan sebagai ekuivalen α -tocopherol (α -TE). Satu IU vitamin E didefinisikan sebagai aktivitas biologis dari 1 mg semua-rac- α -tokoferil asetat. Satu milligram dari RRR- α -tocopherol setara dengan 1,49 IU vitamin.⁵⁶

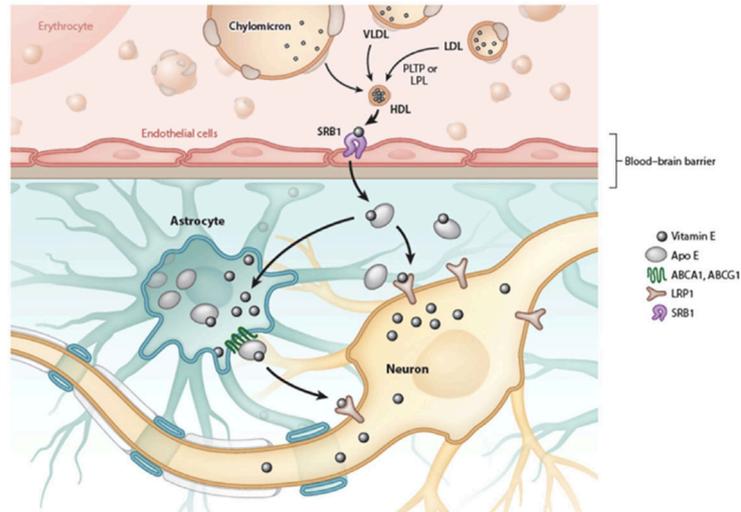
Untuk kelompok usia 19 hingga 50 tahun, perkiraan kebutuhan rata-rata 12 mg α -tocopherol berasal dari studi pada pria berdasarkan kriteria asupan vitamin E cukup untuk mencegah hemolisis yang diinduksi oleh hidrogen peroksida. Rekomendasi harian yang diperbolehkan adalah 120% dari perkiraan kebutuhan rata-rata yang setelah dibulatkan menjadi 15 mg per hari α -tocopherol. Tidak ada peningkatan dosis untuk kehamilan, tetapi untuk laktasi, rekomendasi harian yang disarankan ditingkatkan menjadi 19 mg per hari.⁵⁶

Mirip dengan vitamin yang larut dalam lemak lainnya, penyerapan vitamin E sangat bergantung pada lemak makanan dalam tubuh, garam empedu, dan enzim pankreas. Selama pemberian oral, vitamin E dikemas ke dalam kilomikron (lipoprotein besar kaya trigliserida yang diproduksi dari

lipid, terutama asam lemak dan kolesterol) di usus dan memasuki sirkulasi melalui kelenjar getah bening. Setelah vitamin E dikemas ke dalam kilomikron, dapat dikirim ke jaringan atau hepar. Hidrolisis kilomikron oleh enzim lipoprotein lipase dalam sirkulasi memungkinkan transfer lemak dan vitamin E ke jaringan. Sisa kilomikron juga akan diambil oleh hepar. Sebagian besar vitamin E dalam sisa kilomikron akan bergabung dengan *very low-density lipoproteins* (VLDL), sedangkan sisanya akan diekskresikan dalam empedu. Vitamin E kemudian dimetabolisme melalui hidroksilasi dan oksidasi rantai sampingnya oleh sitokrom P450. Metabolit akhir, yaitu *carboxyethyl hydroxychromans* (CEHC) dan *carboxymethyl-butyl hydroxychromans* (CMBHC), kemudian akan dikeluarkan melalui urin dan feses.⁹²



Gambar 2.28. Metabolisme vitamin E melalui administrasi oral. 130-OH: 130-hydroxychromanol; 130-COOH: 130-carboxychromanol (dari α -TocH); 130-arboxytrienol (dari *tocotrienol*); α -TocH: α -tocopherol; α -TTP: α -tocopherol transfer protein; CEHC: *carboxyethylhydroxychromans*; LDL: *low density lipoprotein*; T3: *tocotrienol*; VLDL: *very low density lipoprotein*.⁹³



Gambar 2.29. Transportasi vitamin E di SSP. Vitamin E beredar dalam sisa-sisa kilomikron, pertukaran VLDL atau LDL menjadi partikel HDL yang dapat melewati *scavenger Receptor Class B type 1* (SRB1) yang diekspresikan pada sel endotel yang melapisi sawar darah otak. Astrosit yang memproyeksikan berdekatan dengan BBB memasukkan vitamin E ke dalam sel, meskipun mekanisme pastinya tidak diketahui. ApoE lipoprotein yang disintesis dalam astrosit mengambil vitamin E yang keluar dari transporter ABC (ABCA atau ABCG) untuk diangkut ke seluruh SSP dan masuk ke neuron, melalui *low density lipoprotein receptor-related protein 1* (LRP1), membutuhkan vitamin E, baik untuk rumatan atau mungkin selama kondisi oksidatif stres. Pengiriman langsung vitamin E dari astrosit ke neuron tidak ditentukan.⁹⁵

Vitamin E diekskresikan secara *in vivo* melalui feses. Selain itu juga didapati bahwa α dan γ T dapat secara langsung diekskresi di *bile* manusia, melalui sirkulasi enterohepatik.⁹⁶ Vitamin E juga disimpan di jaringan adiposa tubuh.⁹¹

Tidak ada organ yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan α -*tocopherol*, melepaskannya sesuai kebutuhan. Lebih dari 90 % kumpulan α -*tocopherol* pada tubuh manusia terletak di lemak dalam jaringan adiposa. Akumulasi vitamin E dalam jaringan adiposa hanya karena kelarutannya dalam lemak. Beberapa jaringan, seperti eritrosit, hati dan limpa, memiliki waktu perputaran yang cepat, dengan cepat mengganti 'lama' dengan α -

tocopherol 'baru'. Otak memiliki waktu pergantian α -*tocopherol* paling lambat sejauh ini. Secara umum, kandungan vitamin E dari sistem saraf terhindar selama penipisan vitamin E. Di dalam sistem saraf, saraf perifer adalah yang paling responsif terhadap konsentrasi vitamin E dalam makanan.^{56,97}

2.10.3 Efek Samping dan Interaksi Obat

Vitamin E dianggap tidak beracun. Tidak ada bukti efek samping dari konsumsi vitamin E dalam makanan alami. Pertanyaan toksisitas muncul ketika jumlah vitamin E digunakan dalam farmakologi untuk tujuan 'terapeutik'. Penelitian pada hewan coba telah menunjukkan bahwa α -*tocopherol* tidak bersifat mutagenik, karsinogenik atau teratogenik. Dalam studi manusia dengan protokol *double-blind* dan dalam populasi besar, suplementasi vitamin E oral menghasilkan beberapa efek samping bahkan pada dosis setinggi 3200 IU per hari.^{56,98}

2.10.4 Kontraindikasi

Mengingat efek inhibisi dari vitamin E dosis tinggi pada agregasi trombosit dan dua kasus perdarahan pasca operasi yang dilaporkan terkait dengan asupan 800-1200 IU vitamin E per hari, disarankan untuk mencegah suplementasi vitamin E dua minggu sebelum dan sesudah operasi.⁹⁸ Sebagai tambahan, Suplementasi vitamin tidak boleh dikonsumsi oleh individu yang menerima terapi antikoagulan. Toleransi dan keamanan vitamin E telah ditinjau⁹⁹ dan Identifikasi Bahaya telah disusun.^{10,56}

2.10.5 Peran *α-Tocopherol* dalam Cedera Otak Traumatika

Oksidatif stress telah terbukti terlibat dalam cedera saraf iskemia/reperfusi. ROS yang dihasilkan selama iskemia serebral dan pengurangan kapasitas antioksidan otak adalah penyebab paling penting dari kerusakan saraf iskemik. Peningkatan produksi ROS menyebabkan kerusakan pada membran lemak dan asam nukleat, dan dapat menyebabkan kematian sel. Tercetusnya ROS selanjutnya ditingkatkan oleh reperfusi karena pengembalian glukosa dan oksigen secara tiba-tiba ke neuron menyebabkan produksi radikal bebas pada tingkat yang lebih tinggi. Strategi berdasarkan suplementasi antioksidan telah terbukti menghasilkan efek protektif terhadap cedera otak pada model eksperimental.¹⁰⁰

Vitamin E adalah antioksidan utama dalam lingkungan lipid membran sel dan subsel, dan juga dalam lipoprotein plasma, melindungi fosfolipid vital dari peroksidasi. Mikrosom berbagai jaringan relatif rentan menjadi lipid peroksidasi berkorelasi dengan kandungan vitamin E. Terutama, jaringan jantung dan paru-paru yang sangat teroksidasi memiliki kandungan tinggi membran vitamin E.¹⁰¹ Vitamin ini, terutama *α-tocopherol*, secara khusus dan aktif tergabung dalam biologis membran, di mana ia menstabilkan struktur lipoprotein. Molekul *tocopherol* berlabuh di lapisan ganda fosfolipid melalui rantai samping *phytyl* dengan kelompok kepala polar yang terletak sangat dekat dengan lapisan lemak-air. Perlindungan oleh vitamin E terhadap cedera sel endotel oleh hidroperoksida telah ditunjukkan.^{56,102}

α-tocopherol, sebagai antioksidan poten, adalah bentuk paling penting dari vitamin E. Telah dilaporkan bahwa pemberian *α-tocopherol* secara

eksogen menghasilkan efek neuroprotektif terhadap cedera iskemik serebral, kemungkinan besar melalui penangkapan ROS. pembentukan dan penghambatan inflamasi dan apoptosis. Namun, tidak ada data tentang efek *α-tocopherol* pada pembentukan edema otak vasogenik dan gangguan *blood-brain barrier* (BBB) setelah iskemia.¹⁰⁰

α-tocopherol menghasilkan efek protektif terhadap kerusakan oksidatif otak. Perlindungan ini sebagian dicapai dengan pengurangan peroksidase lemak dan peningkatan kapasitas antioksidan otak melalui peningkatan GSH. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian eksogen *α-tocopherol* melemahkan peningkatan kadar MDA setelah iskemia otak. Selain itu, dilaporkan bahwa *α-tocopherol* bertindak menurunkan asil-peroksil-radikal dan menghambat produksi radikal anion superoksida oleh leukosit melalui pengurangan aktivitas oksidase NADPH. Dengan demikian, efek protektif *α-tocopherol* terhadap cedera otak iskemik mungkin sebagian dikaitkan dengan aksi antioksidan.¹⁰⁰

Selain efek protektif *α-tocopherol* terhadap peroksidase lemak adalah sifat nonantioksidannya, seperti mempertahankan integritas endotel, penghambatan adhesi monosit-endotel, penurunan pelepasan sitokin dan agregasi platelet. Secara umum, penghambatan pembentukan ROS, inflamasi dan apoptosis bisa menjadi mekanisme yang mendukung. Namun, studi lebih lanjut diperlukan untuk mengklarifikasi mekanisme yang tepat dari efek menguntungkan *α-tocopherol*.¹⁰⁰

Azar dkk., melakukan studi pada tikus, didapati bahwa induksi iskemia serebral pada kelompok kontrol menghasilkan edema otak yang luas

(kandungan air otak $83,8 \pm 0,11\%$) dan kebocoran ekstrasvasasi *Evans blue* (EB) ke parenkim otak ($14,58 \pm 1,29 \mu\text{g/g}$) bersamaan dengan penurunan GSH dan peningkatan kadar MDA ($5,86 \pm 0,31 \text{ mmol/mg}$ dan $63,57 \pm 5,42 \text{ nmol/mg}$, masing-masing). Pengobatan dengan *α-tocopherol* secara signifikan menurunkan pembentukan edema otak dan mengurangi ekstrasvasasi EB dibandingkan dengan kelompok kontrol (masing-masing $p < 0,001$, $80,1 \pm 0,32\%$ dan $6,66 \pm 0,87 \mu\text{g/g}$). Sementara itu, pengobatan dengan *α-tocopherol* mempertahankan kadar GSH jaringan dan menyebabkan kadar MDA lebih rendah ($p < 0,01$, $10,17 \pm 0,83 \text{ mmol/mg}$, dan $p < 0,001$, masing-masing $26,84 \pm 4,79 \text{ nmol/mg}$). Sehingga, pengobatan dengan *α-tocopherol* mengurangi pembentukan edema iskemik dan menghasilkan efek perlindungan pada fungsi BBB setelah kejadian stroke iskemik.¹⁰⁰

Uji coba terkontrol acak buta ganda yang melibatkan usia dewasa dengan cedera kepala berat ($n=100$) melaporkan bahwa injeksi intramuskular vitamin E (400 IU/hari) memiliki tingkat kematian yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C dan plasebo. Sebuah studi *in vivo* yang melibatkan tikus albino yang mengalami cedera otak traumatika menunjukkan kadar MDA yang rendah dan tingkat kematian ketika diberikan *α-tocopherol* (tunggal atau dalam kombinasi dengan vitamin C) dibandingkan dengan kelompok non-cedera kepala traumatika.⁹²

Penelitian pada hewan menunjukkan bahwa *α-tocopherol* meningkatkan kesehatan otak dan membalikkan neurodegenerasi dengan mencegah oksidatif stres pada komponen sel (misalnya lemak dan mitokondria).⁸⁹ Rana dkk., melakukan studi pada tikus yang diterapi dengan

doksisiklin (50 dan 100 mg/kg oral) tunggal, *tocopherol* (5 dan 10 mg/kg oral) tunggal, dan kombinasi keduanya (50 dan 10 mg/kg oral) dari hari pertama hingga ke-28. Perawatan dengan doksisiklin dan *tocopherol* saja dan dalam kombinasi secara signifikan melemahkan aktivitas alat gerak, pengenalan memori, mengurangi inflamasi saraf, mempertahankan keseimbangan oksidatif, dan memulihkan kadar neurotransmitter.¹⁰³ Wu dkk., melaporkan bahwa suplementasi vitamin E dapat melindungi otak dari efek cedera otak traumatis pada plastisitas sinaps dan kognisi, menggunakan sistem molekuler yang berhubungan dengan plastisitas jangka panjang, yaitu *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) dan *silent information regulator 2* (Sir2).¹⁰⁴

Suplemen vitamin E mampu melindungi terhadap cedera otak traumatika masif dengan meningkatkan Sir2 dan SOD. Sementara Sir2 berkontribusi pada peningkatan sistem antioksidan seperti SOD, sehingga berperan penting dalam ketahanan stres dan plastisitas sinaptik, protein SOD adalah enzim mitokondria penting yang bertindak sebagai penangkap ROS yang berlebihan. Karena kedua protein ini saling berkorelasi, peningkatan Sir2 dapat mendorong upregulasi SOD, memberikan resistensi yang lebih tinggi terhadap stres setelah cedera otak traumatika. Namun, penelitian lebih lanjut tentang peran Sir1/2 serta SOD1/SOD2 dalam oksidatif stres diperlukan untuk menjelaskan peran mereka sepenuhnya.¹⁰⁵

Mekanisme lain yang mungkin untuk mengurangi risiko perkembangan efek cedera otak traumatika sekunder yang parah, termasuk demensia, adalah hubungan antara BDNF dan suplementasi vitamin E. Telah diterima secara luas bahwa oksidatif stres dapat mengganggu fungsi kognitif dan

neuroelektrik dengan mengorbankan jalur BDNF. Sistem BDNF adalah mekanisme yang kuat untuk pemeliharaan populasi neuron yang fungsional dan layak karena BDNF mencetuskan rangsangan serta fungsi sinaptik. Dalam percobaan yang dilakukan oleh Aigou dkk., yang menggunakan suplemen makanan vitamin E untuk melindungi terhadap oksidatif stres terkait cedera otak traumatika, suplemen ditemukan secara signifikan menormalkan tingkat oksidatif stres serta membatasi kerusakan neurologis. Terlepas dari efek pada Sir2/SOD yang telah dibahas di atas, penjelasan lain yang mungkin adalah bahwa vitamin E memengaruhi ekspresi BDNF dengan memengaruhi subpopulasi neuron yang berbeda, sehingga mendorong kelangsungan hidup/fungsinya.¹⁰⁵

Neurite outgrowth inhibitor-A (Nogo-A), *myelin-associated glycoprotein* (MAG), dan *oligodendrocy myelin glycoprotein* (OMgp) adalah tiga jenis protein yang berhubungan dengan myelin yang merupakan penghambat utama regenerasi sistem saraf pusat (SSP). Inhibitor perkembangan neurit-A memaksakan penghambatan terbesar pada regenerasi aksonal setelah cedera otak traumatika. Karena Nogo-A hanya ada di SSP dan memiliki aktivitas penghambatan yang kuat pada akson saraf, peran potensialnya dalam penyembuhan setelah cedera otak traumatika sangat menarik. Yang dkk., melakukan eksperimen pada tikus dewasa pria *Sprague-Dawley* (200-250 g) dengan cedera otak sedang. Data kami menunjukkan bahwa tikus yang diobati dengan *α-tocopherol* telah mengurangi bukti mikroskopis dari kerusakan otak. *α-tocopherol* mengurangi ekspresi Nogo-A dan NgR di jaringan otak setelah cedera otak traumatika dan mendorong

regenerasi saraf. Pengobatan *α-tocopherol* pada tikus cedera otak traumatika memiliki peran neuroprotektif dalam pemulihan mereka.²⁰ Selain itu juga didapatkan bahwa *α-tocopherol* memiliki efek neuroprotektif pada cedera otak traumatic dengan menekan kadar Nogo-A dan NgR pada otak.¹⁰³

Park dkk., melakukan penelitian prospektif multisenter, mendapatkan bahwa pasien dengan kadar vitamin E serum rendah berhubungan dengan prognosis yang buruk pada 1 bulan dan 6 bulan setelah cedera otak traumatika dengan cedera intrakranial. Di antara 550 pasien cedera otak traumatika yang memenuhi syarat dengan cedera intrakranial, median (IQR) serum vitamin E adalah 10,0 (8,0–12,3) mg/dL; 204/550 (37,1%) mengalami disabilitas 1 bulan dan 197/544 (36,1%) mengalami disabilitas GOS 1–4 selama 6 bulan. Dibandingkan dengan kelompok normal tinggi (11-16.9), kemungkinan disabilitas 1 bulan dan 6 bulan disabilitas meningkat pada kelompok rendah (0.0-5.4) dan normal rendah (5.5-10.9) (AOR (95% CI): 3,66 (1,62–8,27) dan 2,60 (1,15–5,85) untuk kelompok rendah dan 1,63 (1,08–2,48) dan 1,60 (1,04–2,43) untuk kelompok normal rendah, masing-masing).²⁵

2.11 Model Tikus Cedera Otak Traumatika

Model hewan adalah alat penting dan efektif untuk membandingkan berbagai kondisi pada manusia. Peneliti dapat mengembangkan bermacam protokol pengobatan yang dapat dimodifikasi sebelumnya sehingga dapat memberikan hasil yang optimal pada pengujian manusia.

pengembangan pengobatan potensial untuk mengurangi stres oksidatif, meningkatkan BBB permeabilitas dan berbagai gangguan biokimia lainnya

setelah TBI. Beberapa model telah dikembangkan, dibagi menjadi tiga kategori berbeda seperti yang terlihat secara klinis presentasi TBI: cedera fokal, difus, dan non-benturan.

Setiap model memiliki perbedaan prosedur dan hasil dengan harapan memberikan hasil yang memadai untuk berbagai hal atau situasi dimana trauma kepala terjadi pada manusia. Selain itu, beberapa model ini dapat dimanipulasi untuk mengubah tingkat keparahan cedera, sehingga menghasilkan pemahaman yang lebih baik perkembangan cedera. Berdasarkan ini, diperoleh perbandingan antara berbagai tingkat keparahan cedera manusia, yang pada akhirnya akan mengarah pada perbaikan protokol diagnostik dan pengobatan.

2.11.1 COT Fokal

2.11.1.1 Weight Drop

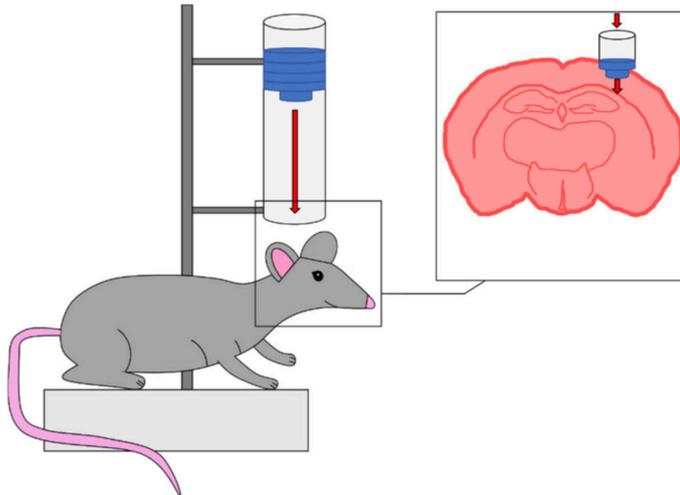
Model *Weight Drop* adalah salah satu metode asli yang digunakan untuk menilai TBI dan telah dilakukan beberapa variasi untuk memodifikasi keseluruhan desain percobaan [14,32-34]. Variasi ini efektif dalam membedakan berbagai mekanisme cedera yang ditimbulkan oleh suatu kekuatan yang mengenai kepala hewan coba. Meskipun setiap prosedur sedikit berbeda dalam desain, setiap metode mengikuti prinsip dasar yang ditetapkan oleh metode beban jatuh. Masing-masing model ini memberikan kekuatan serupa karena mekanisme cederanya serupa untuk TBI manusia dan setiap model memiliki pengoperasian yang sederhana dibandingkan dengan beberapa model lainnya yang dibahas di bawah ini. Pada model ini, kepala

hewan ditempatkan secara langsung di bawah beban yang jatuh bebas, sehingga menimbulkan benturan antara hewan dan beban [14]. Ketika desain modelnya konsisten, manipulasi massa dan ketinggian jatuh bebas berat badan memungkinkan adanya variasi dalam tingkat keparahan cedera, bahkan dalam kelas cedera fokus ini model.³ Misalnya, energi kinetik yang dihasilkan saat tumbukan berhubungan dengan potensi energi dari beban yang jatuh bebas. Menambah tinggi beban atau menambah massa beban keduanya akan mengakibatkan peningkatan keparahan cedera. Ada beberapa variasi model penurunan berat badan; namun, tiga hal yang dibahas dalam tinjauan ini adalah metode yang dikembangkan oleh Feeney, Shohami, dan Marmarou—Marmarou adalah model penurunan berat badan yang unik dan difus.

2.11.1.2 Feeney's Weight drop Model

Dalam model ini, sayatan dibuat melalui garis tengah kulit kepala untuk menciptakan aksesibilitas yang jelas ke tengkorak di bawah. Sebagian tengkorak diangkat melalui kraniektomi untuk memungkinkan terjadinya benturan langsung antara beban yang jatuh bebas dan otak hewan ditutupi oleh dura mater (Gambar 2). Lubang yang tercipta dari pelepasan tengkorak berhubungan langsung dengan diameter beban, sehingga mengurangi risiko patah tulang tengkorak dari beban yang bertabrakan dengan tepi luar lubang. Misalnya berbentuk silinder berat dengan diameter 5 mm memerlukan setidaknya kraniektomi 5 mm. Kraniektomi tidak boleh melebihi ukuran cacat tengkorak (5 mm untuk mencit, 8 mm untuk tikus) untuk masing-masing yang ditentukan model hewan untuk memastikan pemulihan calvaria, tutup

tengkorak yang memadai. Setelah mengekspos otak hewan, desain penurunan berat badan Feeney memberikan beban secara langsung ke dura hewan yang terbuka dan utuh, menghasilkan kontusio kortikal. Inisial Benturan menghasilkan perdarahan pada materi putih, tepat di bawah korteks yang terkena benturan, misalnya beberapa jam setelah cedera, menyebabkan pembentukan rongga nekrotik pada 24 jam, meluas selama dua minggu. Selain itu, defisit metabolik muncul sedini 2 hari pasca cedera dengan analisis dari spektroskopi resonansi magnetik (MRS) menunjukkan adanya reduksi dalam N-asetil aspartat, molekul paling melimpah yang terlibat dalam metabolisme SSP. Pemulihan dari defisit perilaku fungsional yang dinilai dengan tes keseimbangan sinar menunjukkan hubungan *dose-dependent* antara trauma dan tingkat keparahan cedera, dengan defisit yang dilaporkan hingga 90 hari pasca cedera [14]. Mengenai kelebihan model ini, variasi Feeney adalah sederhana dalam desain dan benturan langsungnya meniru biomekanik cedera yang terlihat pada TBI manusia sedang hingga parah, seperti benda yang dipercepat terhadap tengkorak. Namun, komplikasi dengan ukuran dan orientasi berat terhadap cacat tengkorak dapat mengakibatkan patah tulang tengkorak, sehingga menimbulkan tantangan dalam reproduksibilitas. Selain itu, kekuatan diciptakan untuk menghasilkan TBI parah (200–1000 g/cm) dapat mengakibatkan tingkat kematian yang lebih tinggi, yang mengurangi reproduktifitas model.¹⁰⁶



Gambar 2.30. Ilustrasi *Feeney's weight drop*. Dalam model *Feeney's weight drop*, beban dilepaskan dalam tabung, ke dura otak hewan yang utuh.¹⁰⁷

2.11.1.3 Shohamis's Weight drop Model

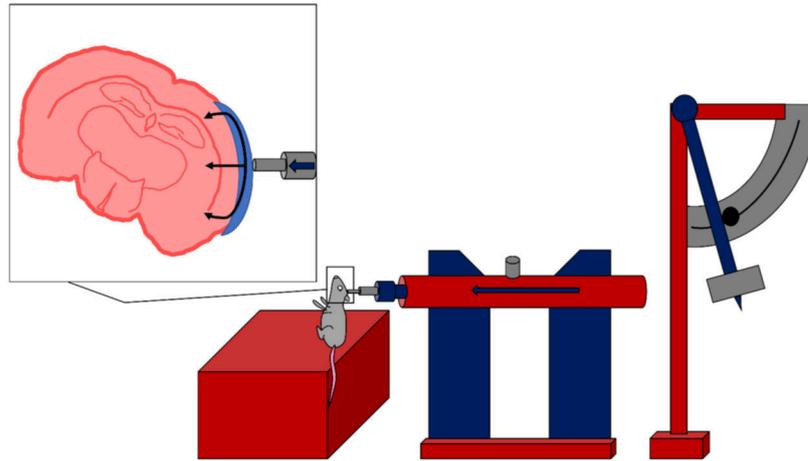
Dalam model Shohami, mekanisme dari benturan adalah pergeseran untuk mewakili trauma dalam percobaan cedera kepala tertutup (Close head injury). Sebelum cedera, sayatan dibuat melalui garis tengah kulit kepala hewan untuk mendapatkan akses ke tengkorak. Namun, tidak seperti metode Feeney, model ini tidak memerlukan akses langsung ke otak dengan kraniektomi, yang bermanfaat untuk sepenuhnya mengurangi risiko kerusakan dura sebelum cedera. Setelah sayatan, subjek hewan akan mengalami cedera yang disebabkan oleh batang bulat yang jatuh bebas. Melalui perubahan pada ujung dan kurangnya kraniektomi, model ini mewakili benturan tumpul pada tengkorak yang tidak terlindungi, berbeda dengan pukulan tembus mekanisme cedera terlihat pada model Feeney [14]. Selain itu, beberapa penelitian telah menggunakan ujung silikon bulat untuk mengurangi kemungkinan fraktur tulang tengkorak, bahkan dengan tanpa kraniektomi. Gangguan fisik terkait dengan cedera ini termasuk gangguan

BBB, edema serebral, dan kontusio fokal, serta pendarahan otak. Pada menciit, kandungan air otak dan permeabilitas BBB meningkat di wilayah ipsilateral pada 4 dan 24 jam, sementara perubahan pada BBB tetap ada hingga 30 hari [32]. Selain itu, edema serebral, diukur dengan berat jenis linier kolom gradien, mencapai puncaknya pada tikus pada 18 jam setelah cedera [40]. Perubahan biokimia terkait dengan model *Closed head injury* ini telah dipelajari secara ekstensif, menunjukkan adanya peningkatan respon inflamasi setelah benturan. Setelah cedera, terjadi peningkatan produksi prostaglandin di wilayah ipsilateral ditunjukkan dari 18 jam hingga 10 hari pasca cedera, sedangkan pewarnaan imunohistokimia pada 1 minggu pasca TBI menunjukkan aktivasi mikroglia dan astrosit [41]. Defisit perilaku setelah cedera juga dievaluasi menggunakan Penilaian *Neurological Severity Score* (NSS). Penilaian dihitung sebagai berikut penyelesaian (atau kegagalan menyelesaikan) 10 penilaian fisik, kognitif, dan perilaku fungsi [42]. Hewan kontrol, yang tidak mengalami cedera, berhasil menyelesaikan setiap tugas tugas dan mendapat skor 0, sementara hewan yang mengalami defisit parah akibat cedera mendapat skor skor 10. Hasil dari NSS menunjukkan korelasi yang kuat antara defisit perilaku dan tingkat keparahan cedera, dan elemen penilaian ini dibahas nanti dalam ulasan ini.¹⁰⁶

2.11.1.4 Fluid Percussion Injury

Model cedera perkusi cairan (*Fluid percussion injury*/FPI) memberikan benturan dengan mekanisme yang telah terbukti menghasilkan variable TBI dengan cedera fokal dan karakteristik fokal dan cedera otak difus. Dampak

primer dihasilkan dari kekuatan tumbukan pendulum reservoir cairan yang menghasilkan denyut cairan bertekanan ke dura yang tidak rusak setelah kraniektomi. Bedah implantasi dari ujung Luer Lock di wilayah yang ditentukan setelahnya di kraniektomi dan memastikan sistem tertutup antara cairan reservoir dan otak hewan. Model FPI mewakili cedera klinis yang tidak ada fraktur tengkorak, yang biasanya terlihat pada TBI klinis sedang hingga berat. Tingkat keparahan cedera ditentukan oleh intensitas yang dihasilkan dari pulsa tekanan cair, yang dapat diubah dengan mengatur sudut pelepasan pendulum, serupa dengan mengatur ketinggian berat dalam model penurunan berat badan. Model FPI juga cenderung kurang memiliki kendali cedera karena ketinggian pendulum adalah satu-satunya variabel saat menggunakan model FPI. Namun, Metode FPI telah direplikasi pada berbagai model hewan, antara lain kucing, kelinci, tikus, domba, mencit, dan babi, dan dampaknya ditandai dengan cedera yang berlokasi di bagian garis tengah atau lateral otak hewan tergantung pada lokasinya kraniektomi. FPI garis tengah menempatkan kraniektomi di tengah *sutura sagittal* sementara model parasagital dan lateral menempatkan pusat kraniektomi pada <3,5 mm atau >3,5 mm lateral dari garis tengah, pada masing-masing. Sedangkan FPI lateral melokalisasi pulsa tekanan ke wilayah tertentu yang diminati (fokal), garis tengah FPI telah disarankan meniru karakteristik cedera yang menyebar karena adanya defisit perilaku ringan dan kurangnya perubahan patologis pada struktur otak.¹⁰⁶

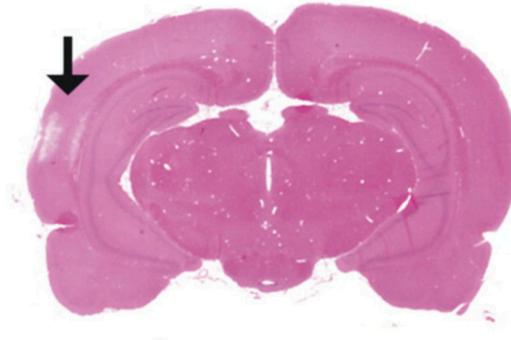


Gambar 2.31. Ilustrasi model FPI lateral. Dalam model FPI, dampak dihasilkan dari kekuatan pendulum yang mengenai reservoir cairan, yang menghasilkan aliran cairan bertekanan ke dura yang tidak rusak, setelah kraniektomi.¹⁰⁷

2.11.1.5 Lateral Fluid Percussion Injury

Model FPI lateral diklasifikasikan menjadi ringan (26–32 psi), sedang (35–41 psi), dan cedera parah (>41 psi) berdasarkan tekanan nadi cairan. Untuk FPI lateral, pusat kraniektomi diposisikan <3,5 mm secara lateral dari garis tengah untuk cedera parasagital atau >3,5 mm secara lateral dari garis tengah, untuk cedera lateral. Karena penempatan lateral ini, perubahan patologis biasanya tidak terlihat di belahan otak kontralateral. Selain itu, model FPI lateral tidak menyebabkan patah tulang tengkorak secara khas terlihat pada TBI klinis sedang hingga berat. Namun, fitur terkait dengan FPI lateral termasuk edema, perdarahan intrakranial, dan progresif kerusakan *gray matter*, yang konsisten dengan patofisiologi TBI. Lateral FPI pada tikus menyebabkan memar kortikal fokal dengan cedera aksonal subkortikal difus dan perdarahan intra-parenkim. Evaluasi dengan pewarnaan Nissl menunjukkan adanya neuronal kerusakan pada korteks ipsilateral, hipokampus, dan talamus sedini 12 jam pasca FPI. Selain itu, perubahan akut

pada korteks ipsilateral setelah FPI parasagital sedang, berkembang menjadi pembentukan rongga, yang akan terus berkembang hingga satu tahun pasca cedera.¹⁰⁶

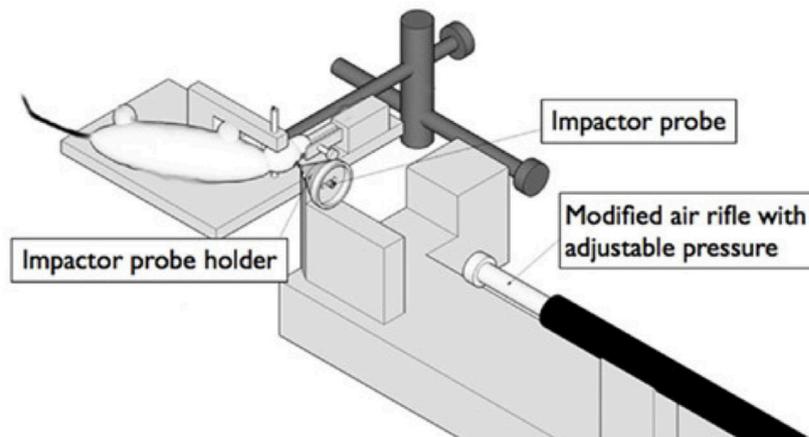


Gambar 2.32. Pewarnaan hematoxylin dan eosin (H&E) pada bagian otak koronal pada 7 hari pasca LFPI. Panah hitam menunjukkan perubahan patologis yang parah di lokasi cedera.¹⁰⁸

2.11.1.6 Penetrating Ballistic-Like Brain Injury

Model cedera otak tembus balistik (*Penetrating ballistic-like brain injury* / PBB) mewakili cedera yang konsisten dengan TBI berat dengan mekanisme cedera yang mirip dengan luka tembak. PBB model menghasilkan benturan melalui percepatan proyektil berenergi tinggi menjadi probe penabrak ditempatkan di dalam *cranial window*, menciptakan rongga otak sementara pada model hewan. Setelah kraniektomi, probe penabrak dimasukkan melalui *cranial window*, sementara balon berisi air dipompa/dikempiskan untuk menghasilkan sebuah rongga sementara di otak besar. Probe penabrak biasanya berbentuk kerucut, meniru cedera yang terjadi setelah luka tembak dan membuat terjemahan cedera biomekanik spesifik dari manusia. Perubahan akut setelah cedera menunjukkan peningkatan perdarahan intraserebral, dengan ukuran volumetrik maksimum

terjadi pada 6 jam pasca TBI. Perkembangan cedera menyebabkan perkembangan lesi neuron yang mengalami degenerasi dalam 24 jam pasca TBI. Lesi akibat PBBBI terbukti dilapisi dengan neutrofil dan makrofag masing-masing pada 24 dan 72 jam pasca cedera. Ciri-ciri yang berhubungan dengan akut fase cedera juga mencakup degenerasi *grey matter*, edema, dan gliosis terhadap kerusakan jaringan dan pembentukan rongga yang diidentifikasi sebelumnya [54]. Model PBBBI memberikan terjemahan unik untuk cedera tembus parah; Namun, karena energinya yang tinggi dampak yang tercipta dalam desain ini, tingkat kematian hewan menjadi perhatian jika kecepatan tumbukan tidak disesuaikan untuk mengurangi gangguan otak secara keseluruhan.

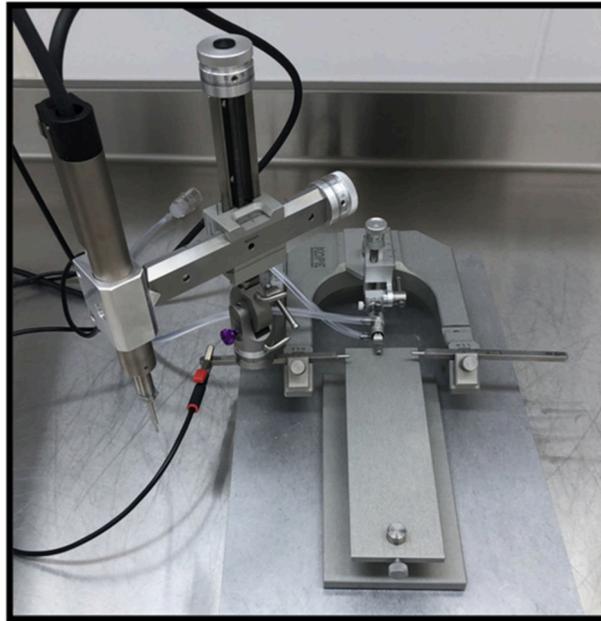


Gambar 2.33. Ilustrasi peralatan yang digunakan pada model PBBBI. Dalam model PBBBI, dampak dihasilkan dari percepatan proyektil ke dalam alat penabrak yang menciptakan rongga sementara pada otak pada model hewan.¹⁰⁶

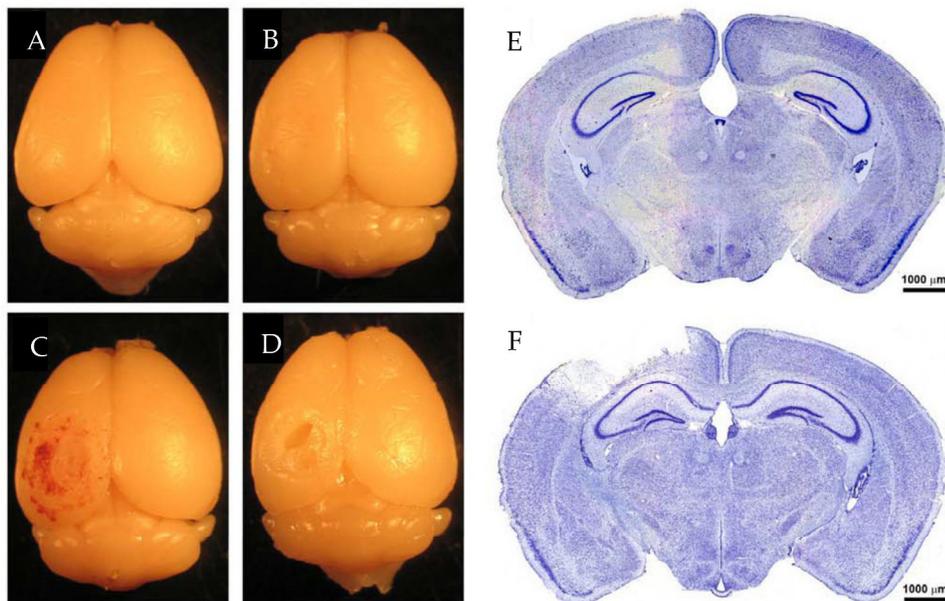
2.11.1.7 Control Cortical Impact

Model benturan kortikal terkontrol (Controlled cortical impact / CCI) saat ini merupakan salah satu model yang paling banyak digunakan dan dengan karakteristik baik untuk model TBI karena reproduktifitas dan

spesifisitas model sesuai parameter mekanis [57-60]. Model CCI menggunakan metode sistem benturan pneumatik atau elektromagnetik (Gambar 6) memberikan penabrak kaku ke dura terbuka hewan setelah di kraniektomi [58]. Awalnya dikembangkan pada musang, model CCI telah diadaptasi berbagai spesies, termasuk tikus, tikus, babi, dan monyet [14,59]. Ciri-ciri cedera termasuk hematoma subdural, perdarahan subarachnoid, dan cedera aksonal, sebagai tambahan memar kortikal dan hilangnya jaringan kortikal, yang telah ditunjukkan dalam presentasi klinis TBI. Keuntungan utama menggunakan model CCI mencakup kontrol otomatis yang presisi atas berbagai faktor seperti diameter tumbukan, kecepatan, kedalaman, dan *dwell time* benturan. Literatur sebelumnya telah mengidentifikasi kedalaman yang tepat untuk menginduksi TBI sedang, dan berat masing-masing 0,0-0,2 mm, 0,5-1,0 mm, dan 1,2-2,0 mm. Gambar 7 menunjukkan gambar seluruh otak dan gambar histologis irisan *coronal* otak berikut TBI sedang dengan kecepatan 3,0 m/s, diameter ujung 3 mm, dan kedalaman 1 mm. Gambar-gambar dari 24 jam dan 6 minggu setelah cedera sedang menunjukkan hilangnya jaringan kortikal di ipsilateral *hemisphere*, selain hilangnya neuron pewarnaan Nissl.



Gambar 2.34. Contoh dari *electromagnetic CCI system* dengan *stereotaxic frame* menstabilkan tikus.¹⁰⁶



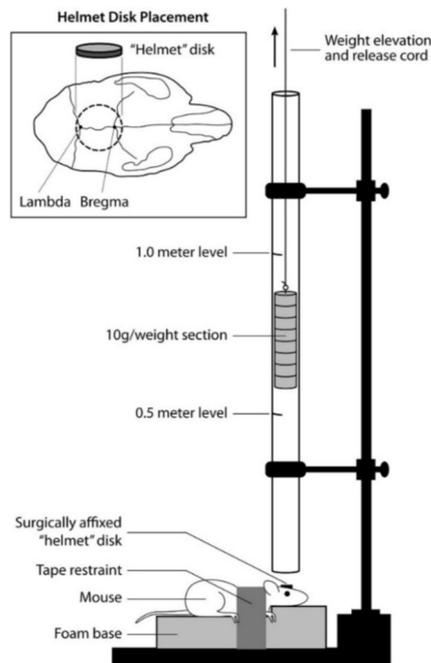
Gambar 2.35. Otak dikumpulkan dari eksperimen dalam model CCI [60]. (A) tikus berumur 10 minggu, (B) sham (hanya kraniektomi), (C) TBI 24 jam pasca-moderat, (D) TBI 6 minggu pasca-moderat, (E) pewarnaan Nissl sham (F) Pewarnaan Nissl pada TBI sedang.¹⁰⁹

2.11.2 COT Difus

2.11.2.1 Marmarou Weight drop Model

Model beban jatuh Marmarou memiliki desain eksperimental berbeda yang meniru COT difus pada manusia melalui pemanfaatan peralatan tambahan yang berdampak lebih besar pada permukaan tengkorak dan menyebarkan cedera primer ke seluruh otak [34,61]. Setelah sayatan garis tengah pada kulit kepala hewan, sebuah cakram baja tahan karat dipasang pada tengkorak kepala hewan dengan lem perekat antara lambda dan bregma [34,61]. Disk ini digunakan untuk mencegah patah tulang tengkorak akibat benturan beban yang jatuh bebas, yang lebih sering terjadi dalam model beban jatuh bebas cedera fokal. Selain itu, hewan tersebut ditempatkan di atas busa tempat tidur untuk mengurangi deselerasi kepala hewan setelah benturan. Pengurangan deselerasi mengurangi risiko terjadinya cedera akibat *countercoup* yang berlawanan dari benturan. Dalam sebuah penelitian yang dilakukan pada tikus pada tahun 1994, hewan tersebut terkena benturan dengan berat sebesar 450 g dari ketinggian 1 atau 2 m [34]. Sementara hewan yang terluka dari jarak 1 m tidak ada kematian, dari 2 m menghasilkan angka kematian 59% [34]. Namun kelompok yang menerima intervensi dalam bentuk ventilasi mekanis tidak menyebabkan kematian pada kedua ketinggian tersebut [34]. Keduanya ketinggian menghasilkan cedera otak difus tanpa adanya lesi fokal, sedangkan petekie pendarahan dikaitkan dengan cedera yang dihasilkan dari ketinggian 2 m. Cedera saraf terlihat pada korteks ipsilateral dan kontralateral, selain pada DAI di corpus callosum, *tract* panjang di batang otak, dan ke serebral dan *peduncle* otak kecil. Karena

presentasi DAI memiliki dampak berikut, model Marmarou memiliki benturan dengan karakterisasi baik pada literatur; Namun, hal ini dikaitkan dengan angka kematian yang tinggi karena depresi pernapasan tanpa ventilasi mekanis setelah cedera.¹⁰⁸



Gambar 2.36. Ilustrasi model penurunan berat badan Marmarou kelas 1A yang dimodifikasi. Dalam model penurunan beban Marmarou, dampak diberikan melalui beban yang jatuh bebas dan bertabrakan dengan helm yang diikat ke kepala hewan. Hewan tersebut ditempatkan di atas bantalan busa untuk mengurangi kecepatan benturan dan mengurangi risiko cedera akibat serangan balasan.¹⁰⁸

2.11.2.2 Modified Marmarou Weight drop Model

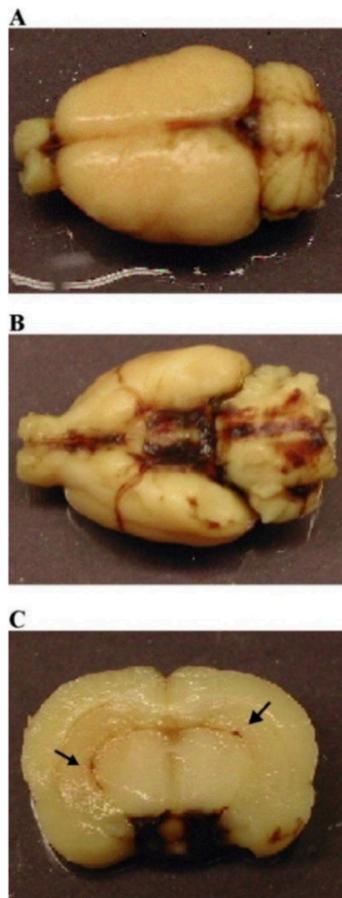
Ketika model beban jatuh Marmarou terbukti berhasil menghasilkan fitur dari cedera yang menyebar seperti DAI, keterbatasan dalam reproduktifitas telah mengarahkan para peneliti untuk melakukan eksplorasi alternatif terhadap metode asli yang didirikan pada tahun 1994. Model cedera difus dikembangkan oleh Cernak dkk. pada tahun 2004 menggabungkan berbagai faktor dari model beban jatuh Marmarou dan model CCI untuk

mengembangkan cedera sedang difus yang dapat dihasilkan [63]. Setelah sayatan garis tengah pada kulit kepala, sebuah cakram baja (diameter 10 mm, Ketebalan 3 mm) disemen ke tengkorak hewan menggunakan perekat poliakrilamida.¹¹⁰

Ujung penabraknya menggunakan piringan baja yang sama dengan yang ditempelkan pada kepala hewan, sehingga tidak ada dampak pada tengkorak yang tidak terlindungi, sehingga meminimalkan risiko patah tulang [63]. Akhirnya, kepala hewan ditopang oleh alas yang dibentuk berisi gel, mirip dengan alas busa model Marmarou. Basis ini digunakan untuk deselerasi kepala hewan saat terkena benturan, mencegah cedera yang terjadi antara hewan dan permukaan keras di bawahnya. Benturan diproduksi oleh penabrak berkecepatan tinggi yang digerakkan oleh udara, mirip dengan sistem pneumatik yang digunakan di CCI dengan kecepatan 3,25 m/s [58–60]. Selain itu, kedalaman tumbukan adalah 18 mm TBI moderat ini, dengan angka kematian 26%. Namun, kedalamannya berkisar 16 mm hingga 20 mm diuji, dengan kedalaman 19 dan 20 mm mewakili TBI parah pada 56% dan 90% tingkat kematian, masing-masing. Model ini menunjukkan peningkatan edema dan permeabilitas BBB dini 20 menit setelah cedera sedang. Selain itu, pengukuran dalam darah arteri tekanan meningkat segera setelah cedera dan menurun, mencapai minimum pada 1 menit pasca cedera, yang ditunjukkan sebelumnya dalam model penurunan berat badan Marmarou.¹¹⁰

Ciri-ciri model difus ini mencakup tidak adanya lesi atau kontusio fokal, dengan adanya perdarahan subarachnoid dan intraventricular (Gambar 9C, panah hitam) [63]. Keseluruhan, model ini memberikan keuntungan unik

untuk memproduksi DAI dengan reproduktifitas yang ditingkatkan dan mengurangi angka kematian melalui penggabungan alat penabrak yang digerakkan oleh udara membuat penyesuaian yang tepat dan otomatis terhadap parameter seperti kecepatan dan kedalaman.¹¹⁰

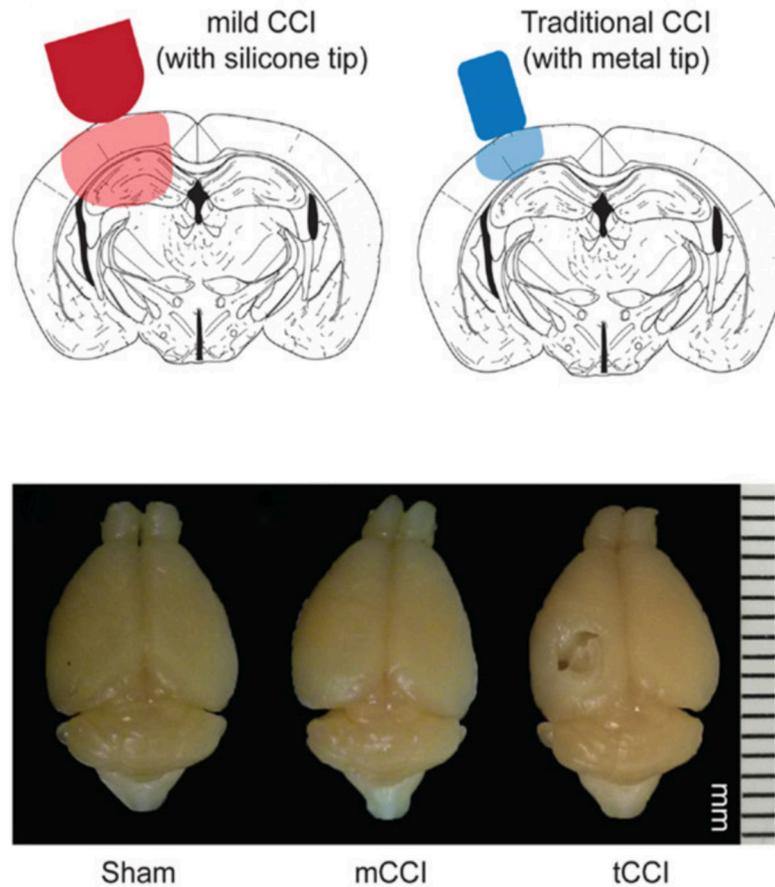


Gambar 2.37. Otak dari model cedera difus sedang 24 jam setelah benturan. (A) Permukaan superior, (B) Permukaan inferior, (C) Tampak koronal. Panah hitam menunjukkan adanya perdarahan subarachnoid dan intraventrikular.¹¹⁰

2.11.2.3 Modified Controlled Cortical Impact

Untuk penyelidikan biomekanik yang terlibat dalam TBI ringan, pada tahun 2014, Meaney dkk. memperkenalkan model CCI yang dimodifikasi melalui penyesuaian parameter mekanis telah dibahas sebelumnya, selain bahan dan ukuran ujung penabrak. Modifikasi Model CCI ini menggunakan

metodologi dan peralatan yang serupa dengan model CCI yang telah dibahas sebelumnya, tetapi dengan kecepatan tumbukan yang jauh lebih rendah yaitu 0,43 m/s dan kedalaman tumbukan lebih besar sebesar 2,1 mm. Bahan dan ukuran ujung penabrak telah disesuaikan untuk menghasilkan efek menyebar, cedera ringan. Dalam penelitian ini, ujung penabrak (diameter 4,0 mm) dibuat dari Sylgard-184 menghasilkan ujung silikon lembut yang mampu menghasilkan cedera menyebar di seluruh luas permukaan otak yang lebih besar [64]. Gambar 10 (atas) mengilustrasikan perbandingan ukuran ujung dan wilayah cedera antara ujung penabrak CCI ringan (mCCI) yang dikembangkan dalam penelitian ini dan ujung penabrak CCI tradisional (tCCI) yang terbuat dari logam, biasanya baja tahan karat [64]. Fitur model ini mencakup cedera aksonal subkortikal, tanpa adanya lesi yang terlihat atau pendarahan (Gambar 10, bawah). Poin pertimbangan tambahan disoroti dalam gambar ini adalah kurangnya lesi kortikal yang terwakili di otak palsu dan mCCI gambar-gambar. Beberapa laporan telah membahas dampak kraniektomi dalam menjelaskan perubahan dalam respons inflamasi dan perilaku. Oleh karena itu, penggabungan model Sham sangat penting dalam memisahkan efek dari cedera dan efek pada pembedahan tengkorak. Desain cedera ini lebih lanjut menggambarkan variasi yang dibuat dengan penggunaan metode CCI. Meskipun metode ini memerlukan standarisasi lebih lanjut, variasi kekerasan ujung tumbukan memberikan kemungkinan untuk studi tambahan dengan hasil cedera yang bervariasi.



Gambar 2.38. *Modified controlled cortical impact model.* Atas: Perbandingan antara ukuran ujung penabrak dan wilayah cedera antara CCI ringan dan tradisional [64]. Bawah: Otak 8 hari pasca cedera menunjukkan perbandingan antara Sham, CCI ringan (mCCI), dan CCI tradisional (tCCI).¹¹¹

2.11.2.4 COT Repeated Mild

Hasil patologis dan kognitif setelah benturan kepala ringan berulang, termasuk gegar otak atau trauma kepala terkait olahraga, baru-baru ini diatasi dengan pengenalan CTE [5,65]. CTE pertama kali dilaporkan di pensiunan pemain National Football League dengan gangguan neurologis dan gejala penyakit Parkinson [65]. Karena hubungan antara TBI ringan berulang dan penyakit neurodegeneratif [5,65,66], peneliti juga tertarik pada perubahan patologis yang berhubungan dengan peningkatan frekuensi TBI ringan pada

model hewan [66]. Beberapa percobaan telah dirancang untuk menentukan bagaimana frekuensi TBI menginduksi perubahan akut dan kronis pada model hewan. Seperti yang dijelaskan dalam review oleh Hiskens et al., studi cedera eksperimental telah dilakukan menggunakan modifikasi beban jatuh, benturan lateral, dan metode CCI yang dimodifikasi [66]. Frekuensi cedera berkisar antara 1 hingga 42 benturan, dengan interval berkisar antara 3 menit hingga 1 bulan. Studi eksperimental berikut ini mengenai hasil patologis dan neurologis TBI ringan yang berulang akan terus membangun pemahaman kita saat ini antara hubungan TBI dan penyakit neurodegeneratif.¹⁰⁶

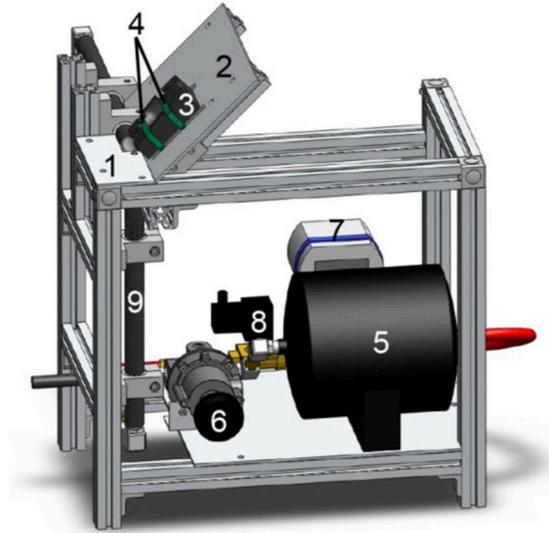
2.11.3 COT Non-Impact

Model hewan COT *non-impact* merupakan mekanisme alternatif untuk presentasi klinis cedera yang tidak dihasilkan secara langsung dari benturan mekanik. Model cedera yang dijelaskan sebelumnya merupakan representasi COT pada manusia yang dikembangkan dari kekuatan mekanik awal yang dikirimkan ke kepala. Tapi, ada beberapa kondisi tambahan yang dapat menghasilkan produksi COT tanpa benturan langsung. 2 contoh COT *non-impact* yang didiskusikan dibawah adalah hasil dari akselerasi rotasional dan gelombang ledakan (*blast wave*). Model hewan ini memiliki kemampuan spesifik untuk mewakili COT pada manusia.¹⁰⁶

2.11.3.1 Close-Head Impact model of Engineered Rotational Acceleration (CHIMERA)

Model CHIMERA dirancang untuk menghasilkan CHI yang berulang pada hewan pengerat dengan akselerasi rotasi frontal kepala tanpa memerlukan intervensi bedah. Pada tahun 2014, Wellington dkk. mempelajari hubungan antara gerakan biomekanik otak dan karakteristik patologis yang diamati pada TBI klinis [4]. Ilustrasi dari komponen yang terlibat dalam perangkat CHIMERA disediakan. Di dalam penelitian ini, tidak diperlukan kraniektomi atau intervensi bedah sebelum cedera, seperti pada tikus dipasang langsung ke pelat bodi menggunakan tali Velcro tanpa batasan mobilitas kepala. Setelah hewan diamankan, udara bertekanan menggerakkan piston ke atas untuk menghasilkan benturan pada pelat tempat kepala hewan bertumpu energi kinetik sebesar 0,5 J. Namun, kecepatan dan energi tumbukan yang diinginkan dapat tercapai dihitung dengan membuat perubahan tambahan pada tekanan yang digunakan untuk menembakkan piston baja. Benturan pada lempeng menghasilkan rotasi ke depan pada leher hewan dan kepala, mirip dengan efek *whiplash* setelah tabrakan kendaraan bermotor. Dalam penelitian ini, videografi berkecepatan tinggi digunakan untuk menganalisis kinematika setelah dua TBI berulang (rTBI) dengan 24 jam terpisah setiap cedera. Elemen percepatan rotasi dianalisis, termasuk lintasan dan perpindahan kepala, selain kecepatan linier dan sudut dan akselerasi kepala. Selain itu, analisis imunohistokimia pada 2, 7, dan 14 hari pasca-rTBI menunjukkan aktivasi mikroglial melalui saluran *white matter* otak, termasuk corpus callosum dan saluran optik. Model eksperimental baru

ini juga demikian mampu mereplikasi DAI setelah rTBI, tanpa memerlukan intervensi bedah atau langsung benturan antara beban dan tengkorak. Studi tambahan telah dilakukan dengan menggunakan Model CHIMERA untuk cedera sedang dan untuk mengeksplorasi perubahan patologis tikus transgenik untuk penelitian Alzheimer.¹¹²



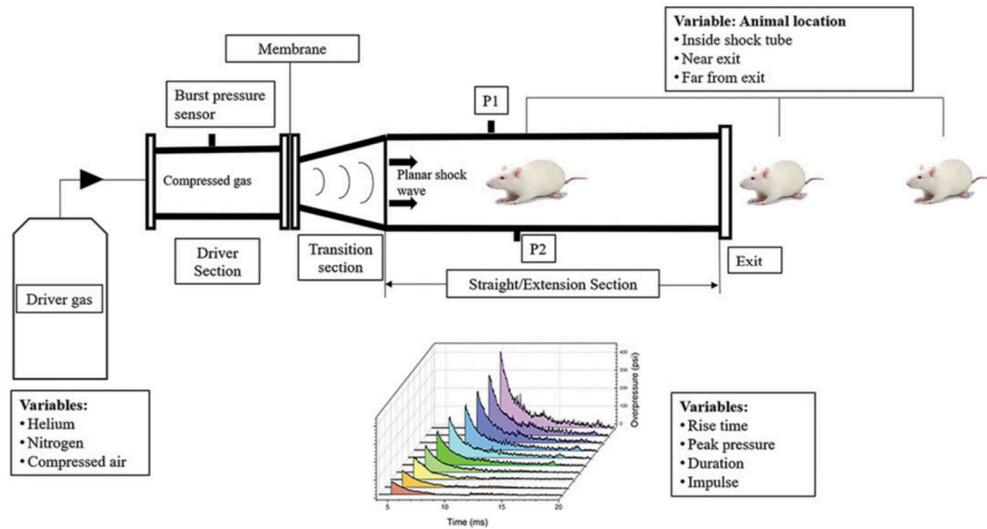
Gambar 2.39. Ilustrasi perangkat CHIMERA. Bagian-bagian perangkat diberi label dengan angka antara lain: 1. pelat kepala, 2. pelat badan, 3. tempat tidur hewan, 4. Tali velcro, 5. tangki udara, 6. pengatur tekanan udara, 8. katup solenoid dua arah, 9. barel piston vertikal.¹¹²



Gambar 2.40. Posisi hewan sebelum induksi cedera, diamankan dengan kuat dengan tali Velcro yang memungkinkan kepala dan leher berputar bebas.¹¹²

2.11.3.2 Blast Injury

Model cedera akibat ledakan telah dikarakterisasi secara luas untuk memahami mekanismenya cedera yang relevan dengan pertempuran militer. Sedangkan presentasi klinis disebabkan oleh COT ledakan biasanya mencakup beberapa tingkat cedera [30], patofisiologinya mengikuti cedera primer akibat ledakan memerlukan model dan eksperimen tersendiri. Model-model ini menghasilkan gelombang energi dengan melepaskan gas terkompresi melalui tabung untuk mensimulasikan efek ledakan pada hewan coba tanpa perlu mengekspos tengkoraknya (Gambar 13). Hewan coba ditempatkan di dalam atau langsung di dekat tabung, dan ledakan yang dihasilkan dari ledakan menghasilkan gelombang energi yang mengakibatkan cedera. Ciri-ciri trauma ledakan pada tikus termasuk otak memar, laserasi, hematoma, serta cedera aksonal pada otak kecil dan batang otak. Selain itu, setelah paparan ledakan tunggal sebesar 35 psi, terjadi degenerasi aksonal tampak pada 24 jam, 72 jam, dan 2 minggu pasca cedera ledakan. Studi juga telah dikembangkan untuk memahami efek neurologis pada hewan, selain efek Kevlar rompi dan pelindung tubuh dalam melindungi bagian dada tubuh hewan [3,70]. Di dalam sebuah penelitian, tambahan pelindung tubuh mengakibatkan penurunan angka kematian dan perbaikan degenerasi serat di otak tikus setelah ledakan udara 126 kPa. Terakhir, terkait COT ledakan ringan juga telah dikaitkan dengan perkembangan PTSD [30], peneliti terkemuka mengeksplorasi defisit kognitif setelah cedera ledakan. Pada akhirnya, perkembangan model ini menyediakan alat unik untuk memahami perkembangan kondisi neurologis dialami oleh ledakan *non-impact*.¹⁰⁶

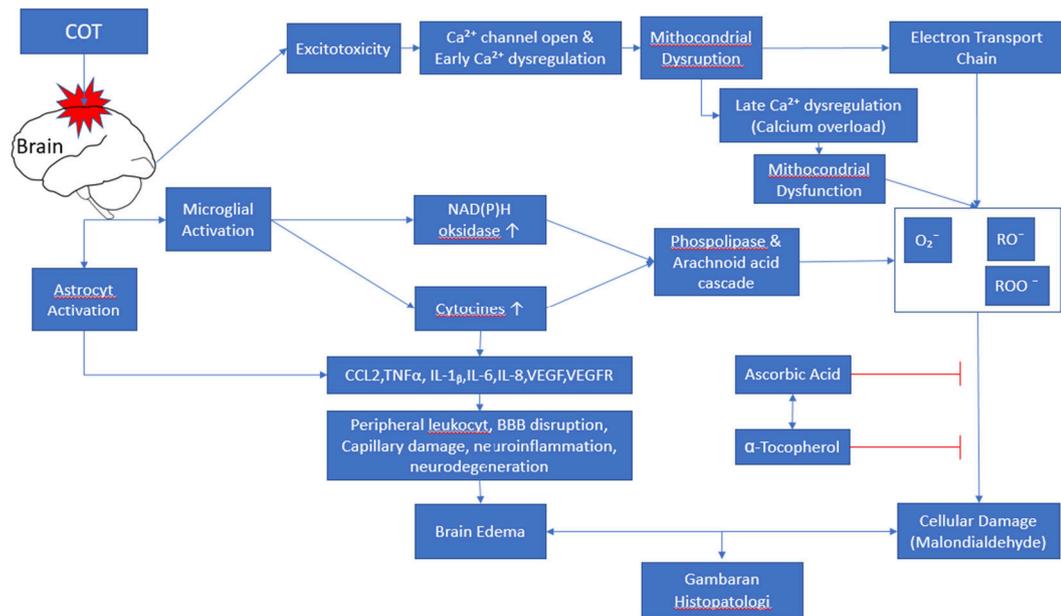


Gambar 2.41. Ilustrasi desain eksperimen *blast injury model*, termasuk perubahan yang dilakukan dari penelitian individual. Model cedera ledakan menghasilkan gelombang energi dengan melepaskan gas terkompresi melalui tabung untuk mensimulasikan efek ledakan pada hewan tanpa perlu mengekspos tengkoraknya.¹⁰⁶

BAB III

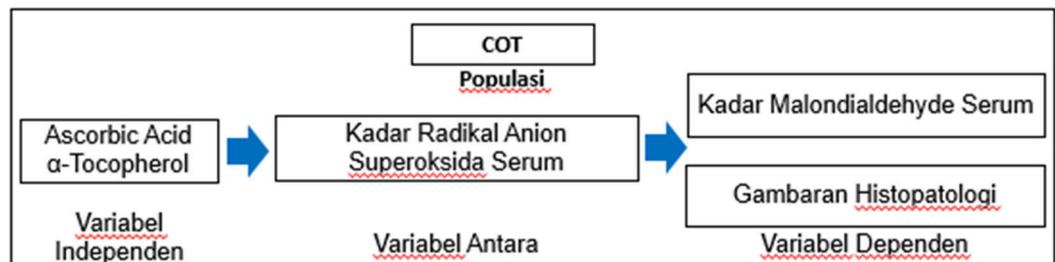
KERANGKA PENELITIAN DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1. Kerangka teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

Identifikasi Variabel :

a. Variabel Independen

Variabel independent dalam penelitian ini adalah Ascorbic Acid dan α -Tocopherol

b. Variabel Antara

Variabel antara dalam penelitian ini adalah Radikal Anion Superoksida

c. Variabel Dependen

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah Malondialdehyde & gambaran histopatologi.

3.3 Hipotesis Penelitian

1. Pemberian *Ascorbic Acid* (AA), α -Tocopherol dan kombinasinya berperan dalam mengurangi stress oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya kadar aktifitas inhibisi radikal anion superoksida dan menurunkan malondialdehyde pada serum hewan coba yang mengalami cedera otak traumatika.
2. Kombinasi *Ascorbic Acid* (AA) dan α -Tocopherol memberikan efek yang lebih baik dalam meningkatkan aktifitas inhibisi radikal anion superoksida dan menurunkan malondialdehyde , dibanding dengan pemberian tunggal.
3. Adanya korelasi antara nilai cedera pada gambaran histopatologi yang lebih sedikit pada kelompok COT yang diberikan *Ascorbic Acid* (AA), α -Tocopherol dan kombinasinya.