

**DISERTASI**

**HUBUNGAN ANTARA POLIMORFISME GEN  
*METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR)*  
C677T DENGAN STATUS FUNGSI KOGNITIF PASIEN  
PASCA STROKE ISKEMIK**

**Oleh:**

**HERPAN SYAFII HARAHAHAP**

**C013181006**



**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2021**

**HUBUNGAN ANTARA POLIMORFISME GEN  
*METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE* (MTHFR)  
C677T DENGAN STATUS FUNGSI KOGNITIF PASIEN  
PASCA STROKE ISKEMIK**

**RELATIONSHIP BETWEEN THE C677T  
METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR)  
GENE POLYMORPHISM AND COGNITIVE FUNCTION  
STATUS OF POST-ISCHEMIC STROKE PATIENTS**

**DISERTASI**

Disusun dan diajukan oleh:

**HERPAN SYAFII HARAHAHAP  
CO13181006**

Kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**DISERTASI**

**HUBUNGAN ANTARA POLIMORFISME GEN METHYLENETETRAHYDROFOLATE  
REDUCTASE (MTHFR) C77T DENGAN STATUS FUNGSI KOGNITIF  
PASIEAN PASCA STROKE ISKEMIK**


Disusun dan diajukan oleh

**Herpan Syafii Harahap**  
**C013181006**

*Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal, 20 September 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui

Promotor,

  
**dr. Muhammad Akbar, Sp.S(K), Ph.D, DFM**  
Nip. 19620921 198811 1 001


Co. Promotor

  
**Dr. dr. Jumraini Tammase, Sp.S(K)**  
Nip. 19680723 200003 2 001


Co. Promotor

  
**Dr. dr. Andr Kurnia Bintang, Sp.S(K), MARS**  
Nip. 19640502 199103 2 001

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,

  
**dr. Auussalim Bukhari, M. Med. Ph.D. Sp.GK (K)**  
Nip. 19700821 199903 001

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin,

  
**Prof. dr. Budu, Ph.D. Sp.M(K), M.Med.Ed**  
Nip. 19661213 199503 1 009



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
FAKULTAS KEDOKTERAN

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN**

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297

EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

**PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI**

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Herpan Syafii Harahap  
NIM : C013181006  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

Hubungan antara Polimorfisme Gen *Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C77T* dengan Status Fungsi Kognitif Pasien Pasca Stroke Iskemik

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 23 Juli 2021

Yang menyatakan,



/Herpan Syafii Harahap

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul “Hubungan antara Polimorfisme Gen *Methylenetetrahydrofolate Reductase* (MTHFR) C677T dengan Status Fungsi Kognitif Pasien Pasca Stroke Iskemik” ini.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dr. Muhammad Akbar, Sp.S(K), Ph.D, DFM sebagai promotor dan Dr. dr. Jumraini Tammase, Sp.S(K) dan Dr. dr. Andi Kurnia Bintang, Sp.S(K), MARS sebagai co-promotor yang telah mencurahkan waktunya untuk membimbing, memberikan kritik, saran dan perbaikan, serta memberikan dorongan secara terus-menerus kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Studi S3 yang telah memfasilitasi proses pendidikan sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S3 di Fakultas Kedokteran Universitas Mataram. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Direktur RS Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian di Laboratorium RS Unhas sehingga disertasi ini dapat diselesaikan.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Mataram yang telah memberikan ijin belajar kepada penulis untuk

menempuh pendidikan S3 dan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Mataram yang telah memfasilitasi penulis untuk dapat menempuh dan menyelesaikan pendidikan S3 di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua Bapak Joharuddin Harahap (alm) dan Ibu Sukati, Bapak Tamidjan (alm), Ibu Titien Utaminingsih, istri tercinta (Yanna Indrayana) dan anak-anak (Muhammad Rafif Rasyad Harahap, Muhammad Rafisqy Alfareza Harahap, dan Muhammad Rafka Adzriel Harahap) atas motivasi, dorongan, dan pengertiannya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang memberikan dukungan kepada penulis yang tidak bisa disebutkan satu persatu sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini. Semoga kebaikan-kebaikan dari semua pihak diatas dicatat sebagai amal ibadah oleh Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa disertasi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat penulis harapkan untuk dapat menyempurnakan disertasi ini.

Makassar, 10 September 2021

Herpan Syafii Harahap

## ABSTRAK

**HERPAN SYAFII HARAHAP.** Hubungan antara Polimorfisme Gen *Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T* dan Status Fungsi Kognitif Pasien Pascastroke Iskemik (dibimbing oleh Muhammad Akbar, Jumraini Tammasse, dan Andi Kurnia Bintang).

Penelitian ini bertujuan menginvestigasi hubungan antara polimorfisme MTHFR C677T dan status fungsi kognitif pascastroke iskemik. Penurunan kognitif merupakan komplikasi yang umum ditemukan pada pasien stroke iskemik. Polimorfisme *methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T* dianggap sebagai faktor risiko penting untuk stroke dan berbagai bentuk disfungsi kognitif.

Penelitian ini melibatkan 87 pasien pascastroke iskemik. Polimorfisme MTHFR C677T dianalisis menggunakan prosedur PCR-RFLP. Kadar homosistein serum dinilai menggunakan ELISA. Status kognitif pasien dinilai dengan menggunakan *Montreal Cognitive Assessment* versi Bahasa Indonesia (Mo-CA-I<sub>na</sub>). Kapasitas fungsional pasien dinilai menggunakan *National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS)*. Polimorfisme MTHFR C677T berhubungan signifikan dengan kadar homosistein serum. Polimorfisme MTHFR C677T tidak berhubungan secara bermakna dengan Mo-CA-I<sub>na</sub> dan skor domain kognitif penyusunnya, yaitu fungsi visuospasial/eksekutif, penamaan, perhatian, bahasa, abstraksi, memori tertunda, dan orientasi ( $p > 0,05$ ).

Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar homosistein serum berhubungan secara bermakna dengan fungsi eksekutif ( $p = 0,002$ ) dan perhatian ( $p = 0,010$ ), namun tidak dengan skor Mo-CA-I<sub>na</sub>. Hasil analisis regresi logistik multivariat menunjukkan bahwa pasien dengan polimorfisme MTHFR C677T tidak berhubungan dengan peningkatan risiko penurunan kognitif. Penurunan kognitif terkait stroke iskemik berhubungan secara bermakna dengan skor NIHSS yang lebih tinggi. Baik polimorfisme MTHFR C677T maupun hiperhomosisteinemia tidak berhubungan secara bermakna dengan penurunan kognitif global terkait stroke iskemik. Hiperhomosisteinemia, namun bukan MTHFR C677T, berhubungan secara bermakna dengan penurunan fungsi eksekutif dan atensi yang merupakan bagian dari domain kognitif. Penurunan kognitif terkait stroke iskemik berhubungan secara bermakna dengan penurunan kapasitas fungsional pasien.

Kata kunci: stroke iskemik, polimorfisme gen MTHFR C677T, homosistein, fungsi kognitif



## ABSTRACT

**HERPAN SYAFII HARAHAP.** *Relationship between The C677T Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Gene Polymorphism and Cognitive Function Status of Post-Ischemic Stroke Patients (Supervised by Muhammad Akbar, Jumraini Tamasse, and Andi Kurnia Bintang)*

This study aims to investigate the association between the MTHFR C677T polymorphism and the risk of ischemic stroke-associated cognitive decline. Cognitive decline is a common complication found in ischemic stroke patients. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism is considered as important risk factors for stroke and various forms of cognitive dysfunction.

A total of 87 post-ischemic stroke patients were recruited. The MTHFR C677T polymorphism was analyzed using PCR-RFLP procedure. Serum homocysteine levels were assessed using ELISA. Cognitive status of the patients was assessed using Montreal Cognitive Assessment in Indonesia version (MoCA-I<sub>na</sub>). Functional capacity of the patients was assessed using National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS). The MTHFR C677T polymorphism was associated with serum homocysteine levels. The MTHFR C677T polymorphism was not significantly associated with MoCA-I<sub>na</sub> and its constituent cognitive domains scores, i.e. visuospatial/executive function, naming, attention, language, abstraction, delayed memory, and orientation ( $p > 0.05$ ).

The results show that the mean of serum homosistein levels is significantly associated with executive function ( $p = 0.002$ ) and attention ( $p = 0.010$ ), but not with MoCA-I<sub>na</sub> score. Multivariate logistic regression analysis shows that patients with MTHFR C677T polymorphism are not associated with increased risk of cognitive decline. Ischemic stroke-associated cognitive decline is associated with higher score of NIHSS. Both MTHFR C667T polymorphism and hyperhomocysteinemia are not associated with ischemic stroke-associated global cognitive decline. However, hyperhomocysteinemia, but not MTHFR C677T, is associated with decline of executive function and attention, domain types of cognitive function. Ischemic stroke-associated cognitive decline is associated with the decrease of functional capacity of the patients.

Keywords: stroke, MTHFR C677T gene polymorphism, homocysteine, cognitive Function





## DAFTAR ISI

<b>SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>Halaman Judul</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
I.1. Latar Belakang .....	1
I.2. Rumusan Masalah .....	7
I.3. Tujuan Penelitian .....	7
I.3.1. Tujuan Umum .....	7
I.3.2. Tujuan Khusus .....	8
I.4. Manfaat Penelitian .....	8
I.4.1. Manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan .....	8
I.4.2. Manfaat pada aspek aplikasi klinis.....	9
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>10</b>
II.1. Definisi gangguan Kognitif .....	10
II.2. Definisi Gangguan Kognitif Pasca Stroke Iskemik .....	11
II.3. Faktor Risiko Vaskuler untuk Gangguan Fungsi Kognitif .....	14
II.4. Patofisiologi terjadinya Gangguan Kognitif Pasca Stroke .....	15
II.5. Patofisiologi Kematian Neuron pada Stroke Iskemik .....	18
II.5.1. Peran Respon Inflamasi dalam Inisiasi Kematian Neuron pada Stroke Iskemik .....	18
II.5.2. Peran Eksitotoksisitas dalam Patofisiologi Kematian Neuron pada Stroke Iskemik .....	20

II.5.3. Kematian Sel Neuron Melalui Jalur Apoptosis .....	21
II.5.4. Kematian Sel Neuron Melalui Jalur Nekrosis .....	23
II.5.5. Kematian Sel Neuron Melalui Jalur Nekroptosis .....	24
II.5.6. Kematian Sel Neuron Melalui Jalur Autofagia .....	25
II.5.7. Kematian Sel Neuron Melalui Jalur Piroptosis .....	27
II.6. Metabolisme Homosistein .....	29
II.7. Peran Hiperhomosisteinemia dalam Pembangkitan Respon Inflamasi dan Stres Oksidatif dalam Sirkulasi Sistemik .....	32
II.7.1. Peran Hiperhomosisteinemia dalam Pembangkitan Respon Inflamasi dalam Sirkulasi Sistemik .....	32
II.7.2. Peran Homosistein dalam Induksi Stres Oksidatif dalam Sirkulasi Sistemik .....	33
II.8. Kinetika Homosistein dalam Darah Sirkulasi .....	34
II.9. Pengaruh Toksik Homosistein didalam Jaringan Otak .....	36
II.9.1. Reaksi Neuroinflamasi yang Diinduksi oleh Homosistein .....	38
II.9.2. Reaksi Stres Oksidatif yang Diinduksi oleh Homosistein .....	40
II.9.3. Reaksi Eksitotoksisitas Glutamat yang Diinduksi oleh Homosistein .....	41
II.10. Peran Homosistein dalam Patogenesis Stroke Iskemik .....	42
II.11. Peran Homosistein dalam Terjadinya Gangguan Fungsi Kognitif .....	44
II.12. Peran Polimorfisme Gen MTHFR dalam Terjadinya Gangguan Fungsi Kognitif .....	47
II.13. Evaluasi Fungsi Kognitif Pasca Stroke .....	50
II.14. Dampak Gangguan Kognitif terhadap Kapasitas Fungsional Pasien Pasca Stroke Iskemik .....	52
II.14.1. Karakteristik Stroke Iskemik sebagai Faktor Determinan untuk Penurunan Fungsi Kognitif dan Kapasitas Fungsional Pasca Stroke Iskemik .....	53
II.14.2. <i>Cognitive Reserve</i> sebagai Faktor Protektif terhadap Penurunan Fungsi Kognitif dan Kapasitas Fungsional Pasien Pasca Stroke Iskemik .....	54
II.14.3. Evaluasi Tingkat Penurunan Kapasitas Fungsional Pasca Stroke Iskemik .....	56

<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>59</b>
III.1. Kerangka Teori .....	59
III.2. Kerangka Konsep .....	64
III.3. Hipotesis Penelitian .....	66
<b>BAB IV METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>68</b>
IV.1. Desain Penelitian .....	68
IV.2. Populasi .....	68
IV.2.1. Populasi Target .....	68
IV.2.2. Populasi Terjangkau .....	68
IV.3. Tempat dan Waktu Penelitian .....	68
IV.4. Cara Pengambilan Sampel .....	69
IV.5. Penentuan Besar Sampel .....	69
IV.6. Kriteria Subjek Penelitian .....	70
IV.6.1. Kriteria Inklusi Subjek Penelitian .....	70
IV.6.2. Kriteria Eksklusi Subjek Penelitian .....	71
IV.7. Definisi Operasional .....	71
IV.8. Cara Kerja .....	76
IV.8.1. Pemilihan Subjek Penelitian .....	76
IV.8.2. Pengumpulan Data Penelitian .....	77
IV.8.3. Persiapan Alat dan Bahan/Reagen .....	79
IV.8.4. Prosedur Pemeriksaan .....	83
IV.9. Etika Penelitian .....	90
IV.10. Alur Penelitian .....	91
IV.11. Teknik Analisis Data .....	92
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>95</b>
V.1. Hasil Penelitian .....	95
V.1.1. Data Karakteristik demografik, klinik, polimorfisme gen MTHFR C677T, dan tingkat kadar homosistein serum subjek penelitian .....	96
V.1.2. Hubungan antara Polimorfisme Gen MTHFR C677T dengan Tingkat Kadar Homosistein Serum Subjek Penelitian .....	103
V.1.3. Hubungan antara Polimorfisme Gen MTHFR C677T dan kadar homosistein serum dan Status Fungsi Kognitif Subjek Penelitian .....	104

V.1.3.1. Tahap Analisis Deskriptif .....	105
V.1.3.2. Tahap Uji Regresi Logistik Sederhana .....	108
V.1.3.3. Tahap Uji Regresi Logistik Multipel .....	110
V.1.4. Hubungan antara Status Fungsi Kognitif, Polimorfisme Gen MTHFR C677T, dan Tingkat Kadar Homosistein Serum dengan Tingkat Penurunan Kapasitas Fungsional Subjek Penelitian .....	112
V.9. Pembahasan .....	113
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>130</b>
VI.1. Kesimpulan .....	130
VI.2. Saran .....	130
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>132</b>
<b>LAMPIRAN – LAMPIRAN .....</b>	<b>157</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel V.1. Karakteristik Subjek Penelitian .....	97
Tabel V.2. Distribusi polimorfisme gen MTHFR C677T subjek Penelitian .....	99
Tabel V.3. Distribusi tingkat kadar homosistein subjek penelitian .....	103
Tabel V.4. Uji statistik hubungan antara polimorfisme gen MTHFR C677T dengan tingkat kadar homosistein serum .....	104
Tabel V.5. Hasil analisis statistik yang menguji hubungan antara polimorfisme MTHFR C677T dengan skor MoCA-Ina dan komponen-komponen MoCA-Ina dan status fungsi kognitif subjek penelitian .....	106
Tabel V.6. Hasil analisis statistik yang menguji hubungan antara kadar homosistein serum dengan skor MoCA-Ina dan skor dari komponen-komponen MoCA-Ina dan status fungsi kognitif subjek penelitian .....	107
Tabel V.7. Hasil uji korelasi antara kadar homosistein serum dengan skor MoCA-Ina dan komponen-komponen MoCA-Ina .....	108
Tabel V.8. Analisis regresi logistik biner sederhana untuk menguji hubungan antara polimorfisme MTHFR C677T, tingkat kadar homosistein serum, dan karakteristik demografik dan klinik subjek dengan status fungsi kognitifnya .....	109
Tabel V.9. Analisis regresi logistik multipel untuk menguji hubungan antara kelompok usia, riwayat lama pendidikan, pekerjaan, dan ukuran infark dengan kejadian penurunan fungsi kognitif pada subjek penelitian .....	111
Tabel V.10. Uji beda hubungan antara status fungsi kognitif subjek, polimorfisme gen MTHFR C677T, tingkat kadar homosistein serum, dan tingkat penurunan kapasitas fungsional subjek penelitian .....	113

## DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1. Diagram Venn yang menunjukkan hubungan antara VCI dan PSCI .....	12
Gambar II.2. Metabolisme homosistein .....	30
Gambar II.3. Transfer homosistein antara darah sirkulasi dan jaringan otak dalam dua arah .....	38
Gambar II.4. Hasil pemeriksaan PCR-RFLP dan <i>sequencing</i> untuk identifikasi polimorfisme gen MTHFR C677T dan residu asam amino yang dihasilkan .....	49
Gambar III.1. Kerangka teori penelitian .....	59
Gambar III.2. Kerangka konsep penelitian .....	64
Gambar IV.1. Alur jalannya penelitian .....	91
Gambar V.1. Hasil pemeriksaan elektroforesis pada sampel hasil amplifikasi DNA subjek penelitian dengan teknik RFLP-PCR .....	99
Gambar V.2. Hasil pencarian <i>Human BLAT Search</i> .....	101
Gambar V.3. Kurva standar berdasarkan hasil pemeriksaan kadar homosistein serum dengan metode ELISA .....	102

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Rekomendasi Persetujuan Etik .....	157
Lampiran 2. Formulir Data Subjek Penelitian .....	158
Lampiran 3. Penjelasan Sebelum Penelitian .....	160
Lampiran 4. Formulir Persetujuan .....	162
Lampiran 5. Instrumen Beck Depression Inventory – II (BDI-II) .....	163
Lampiran 6. Instrumen MoCA-Ina .....	166
Lampiran 7. Instrumen Penilaian NIHSS .....	168
Lampiran 8. Hasil Pemeriksaan Elektroforesis .....	170
Lampiran 9. Hasil analisis polimorfisme gen MTHFR C677T dengan program <i>Human BLAT Search</i> .....	172
Lampiran 10. Hasil Analisis Statistik .....	175
Lampiran 11. Data Subjek Penelitian .....	189

## DAFTAR SINGKATAN

<b>Singkatan</b>	<b>Kepanjangan</b>
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i>
MTHFR	<i>Methyltetrahydrofolate reductase</i>
NFT	<i>Neurofibrillary tangles</i>
MoCA	<i>Montreal cognitive assessment</i>
MoCA-Ina	<i>Montreal cognitive assessment in Indonesian version</i>
AD	<i>Alzheimer's disease</i>
MMSE	<i>Mini-mental state examination</i>
PSCI	<i>Post stroke cognitive impairment</i>
VCI	<i>Vascular cognitive impairment</i>
VaD	<i>Vascular dementia</i>
PSD	<i>Post stroke dementia</i>
NO	<i>Nitric Oxide</i>
A $\beta$	<i>Amyloid-<math>\beta</math></i>
NADPH	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
VEGF	<i>Vascular endothel growth factor</i>
ICAM	<i>Intercellular adhesion molecule</i>
DAMP	<i>Damage associated molecular pattern</i>
IL-1 $\beta$	<i>Interleukin 1<math>\beta</math></i>
iNOS	<i>Inducible nitric oxide synthase</i>
Th17	<i>T helper 17</i>
ATP	<i>Adenosine triphosphate</i>
ATPase	<i>Adenosine triphosphatase</i>
NMDA	<i>N-methyl-D-aspartate</i>
AMPA	<i><math>\alpha</math>-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid</i>
mtPTP	<i>Mitochondrial permeability transition pore</i>
Bcl-2	<i>B-cell lymphoma-2</i>
Bax	<i>Bcl-2-associated X protein</i>
Bok	<i>Bcl-2 related ovarian killer</i>
Bid	<i>BH3 interacting domain death agonist</i>
FasL	<i>Fas ligand</i>
RIP1	<i>Receptor-interacting protein-1</i>
RIPK1	<i>Receptor-interacting protein kinase-1</i>
PARP1	<i>Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1</i>
mTORC1	<i>Mammalian target of rapamycin complex 1</i>
ATG	<i>Autophagy-related protein</i>
LC3	<i>Microtubule-associated protein light chain 3</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
TLRs	<i>Toll-like receptors</i>



IFN- $\gamma$	<i>Interferon <math>\gamma</math></i>
NOD1	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain-containing 1</i>
NLRs	<i>Node-like receptors</i>
PRRs	<i>Pattern recognition receptors</i>
NLRP1	<i>NLR Pyrin domain containing 1</i>
NF- $\kappa$ B	<i>Nuclear factor kappa-B</i>
MAPK	<i>Mitogen activated protein kinase</i>
SAM	<i>S-adenosylmethionine</i>
SAH	<i>S-adenosylhomocysteine</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
BHMT	<i>Betaine–homocysteine methyltransferase</i>
CBS	<i>Cystathionine-beta-synthase</i>
GSH	<i>Glutathione</i>
ROS	<i>Reactive oksigen species</i>
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
CCR2	<i>Chemokine (C-C motif) receptor 2</i>
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
CRP	<i>C-reactive protein</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<i>Hydrogen peroxide</i>
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	<i>Superoxide</i>
OH <sup>-</sup>	<i>Hydroxyl</i>
COX2	<i>Cyclooxygenase 2</i>
TNFR1	<i>TNF receptor 1</i>
JNK	<i>c-Jun N-terminal kinase</i>
GABA <sub>A</sub>	<i>Gamma-aminobutyric acid A</i>
ERK	<i>Extracellular-signal regulated kinase</i>
CREB	<i>cAMP response-element binding protein</i>
MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i>
TIMP	<i>Tissue inhibitor of metalloproteinase</i>
APP	<i>Amyloid precursor protein</i>
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i>
RFLP-PCR	<i>Restricted fragment length polymorphisms – polymerase chain reaction</i>
NIHSS	<i>National Institutes of Health Stroke Scale</i>
BI	<i>Barthel Index</i>
SKG	<i>Skala Coma Glasgow</i>
CT	<i>Computed Tomography</i>
BDI-II	<i>Beck Depression Inventory-II</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
IMT	<i>Indeks massa tubuh</i>
EKG	<i>Elektrokardiografi</i>
BLAT	<i>BLAST-like Alignment Tool</i>
MTRR	<i>Methionine synthase reductase</i>
FAD	<i>Flavin adenine dinucleotide</i>

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **I.1. Latar belakang**

Gangguan kognitif pasca stroke iskemik saat ini menjadi salah satu komplikasi dari stroke iskemik yang perlu mendapatkan perhatian penting. Berbagai penelitian epidemiologik yang dilakukan di berbagai populasi di negara atau wilayah yang berbeda menunjukkan prevalensi gangguan kognitif pasca stroke yang bervariasi, namun secara umum prevalensinya cukup tinggi, yaitu sekitar 70% (Nys *et al.*, 2007; Lesniak *et al.*, 2008; Renjen, Gauba and Chaudhari, 2015). Suatu hasil meta-analisis menunjukkan bahwa 1 dari 10 penderita stroke pertama kali akan mengalami gangguan kognitif (Pendlebury and Rothwell, 2009). Gangguan kognitif tersebut memiliki spektrum yang cukup luas, yaitu mulai dari gangguan kognitif ringan sampai dengan berat (demensia).

Gangguan kognitif pasca stroke iskemik dapat terjadi sebagai akibat dari proses patologis yang ditimbulkan oleh stroke iskemik itu sendiri atau merupakan hasil interaksi antara kondisi stroke iskemik dan berbagai faktor risiko vaskuler, baik yang dapat dimodifikasi dan tidak dapat dimodifikasi. Beberapa faktor risiko vaskuler yang dapat dimodifikasi diantaranya adalah hipertensi, diabetes melitus, dislipidemia, dan berat badan berlebih, sedangkan faktor-faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi diantaranya adalah usia, jenis kelamin, dan predisposisi

genetik (Sahathevan, Brodtmann and Donnan, 2012; Ganguli *et al.*, 2014). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa berbagai faktor risiko vaskuler yang dapat dimodifikasi, terutama hipertensi dan diabetes melitus, merupakan faktor risiko independen untuk terjadinya gangguan fungsi kognitif. Diantara faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi, usia merupakan prediktor utama untuk terjadinya gangguan kognitif pasca stroke iskemik (Kalaria, Akinyemi and Ihara, 2016). *Hyperhomosisteinemia* juga diketahui sebagai salah satu faktor risiko untuk terjadinya stroke iskemik dan gangguan kognitif pasca stroke iskemik (Sachdev, Valenzuela and Brodaty, 2003; Rowan *et al.*, 2007; Sadiq *et al.*, 2014; Lehotsky *et al.*, 2016).

Hiperhomosisteinemia adalah suatu kondisi yang ditandai oleh adanya peningkatan kadar homosistein dalam darah sirkulasi diatas nilai normalnya, yaitu  $>15\mu\text{mol/L}$ . Kondisi hiperhomosisteinemia dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu hiperhomosisteinemia ringan-sedang (*mild-moderate hyperhomosisteinemia*) dan hiperhomosisteinemia berat (*severe hyperhomosisteinemia*). Hiperhomosisteinemia ringan-sedang (*mild-moderate hyperhomosisteinemia*) umumnya terjadi karena pengaruh lingkungan, sedangkan hiperhomosisteinemia berat (*severe hyperhomosisteinemia*) terutama disebabkan karena mutasi genetik pada enzim yang berperan dalam metabolisme homosistein (Ganguly and Alam, 2015). Hiperhomosisteinemia menjadi faktor risiko untuk terjadinya stroke iskemik dan gangguan kognitif pasca stroke iskemik karena

kemampuannya dalam menyebabkan terjadinya respon inflamasi berlebihan dan stres oksidatif, baik didalam darah sirkulasi maupun di jaringan otak, disfungsi endotel, dan kerusakan sawar darah-otak, yang akan memungkinkan terjadinya translokasi *homosistein* dari sirkulasi sistemik kedalam jaringan otak dan memperberat proses neuroinflamasi, stres oksidatif, dan eksitotoksisitas glutamat di jaringan otak (Obeid and Herrmann, 2006). Stres oksidatif, neuroinflamasi, dan eksitotoksisitas glutamat yang diinduksi oleh homosistein tersebut akan menginduksi terjadinya kematian populasi neuron, melalui mekanisme seperti yang terjadi pada stroke iskemik (Kruman *et al.*, 2000; Xi *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2016). Kematian populasi neuron tersebut dapat menimbulkan manifestasi klinis berupa gangguan kognitif bila proses tersebut terjadi di bagian otak yang berperan penting dalam mengemban fungsi kognitif.

Beberapa faktor yang mendasari terjadinya peningkatan kadar homosistein, baik didalam darah maupun jaringan, termasuk jaringan otak, antara lain rendahnya asupan asam folat, vitamin B12, dan vitamin B6 yang dibutuhkan sebagai kofaktor untuk metabolisme homosistein, terdapatnya polimorfisme nukleotida tunggal (*single nucleotide polymorphism/SNP*) pada gen enzim-enzim yang berperan penting untuk metabolisme homosistein, dan terjadinya penurunan ekspresi gen enzim-enzim yang berperan penting dalam metabolisme homosistein tersebut. Salah satu bentuk SNP dari gen enzim yang berperan dalam metabolisme homosistein dengan prevalensi cukup tinggi adalah polimorfisme pada

gen *methyltetrahydrofolate reductase* (MTHFR) C677T (Ding, Lin and Chen, 2012; Rutten-Jacobs *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Arina *et al.* dan Pramukarso *et al.* pada sub-populasi pasien stroke iskemik di Indonesia menunjukkan prevalensi polimorfisme gen MTHFR C677T cukup tinggi, yaitu 13,9-24,5% untuk heterozigot (CT) dan 3,8-4,2% untuk homozigot (TT) (Pramukarso *et al.*, 2015; Arina *et al.*, 2019). Variasi prevalensi polimorfisme gen MTHFR C677T tersebut terutama dipengaruhi oleh etnisitas (Liew and Gupta, 2015). Polimorfisme gen tersebut ditandai dengan adanya substitusi *cytosine* (C) oleh *thymine* (T) pada posisi nukleotida 677 gen MTHFR yang menyebabkan terjadinya perubahan produk asam amino yang dihasilkan, yaitu dari *alanine* menjadi *valine* pada asam amino 222 (Ford *et al.*, 2012; Borrione and Fossati, 2017). Perubahan produk asam amino tersebut menyebabkan stabilitas enzim MTHFR terhadap suhu (*thermostability*) menurun pada suhu 37°C atau lebih tinggi yang berdampak pada penurunan aktivitas enzim tersebut dan peningkatan kadar homosistein serum (Frosst *et al.*, 1995; Liew and Gupta, 2015). Aktivitas enzimatik MTHFR pada subjek dengan polimorfisme gen homozigot (677TT) dan heterozigot (C677T) menurun, masing-masing hingga sebesar 30% dan 60% dibandingkan dengan subjek normal (677CC) (Arsene *et al.*, 2011). Polimorfisme gen tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan kadar homosistein dan menjadi faktor risiko untuk terjadinya stroke iskemik dan gangguan fungsi kognitif (Gorgone *et al.*, 2009; Ford *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2017). Penelitian

mengenai hubungan antara polimorfisme gen MTHFR C677T dan gangguan kognitif pasca stroke iskemik saat ini belum pernah dilakukan.

Proses yang mendasari terjadinya neurodegenerasi pada kondisi stroke iskemik seperti yang dijelaskan diatas secara umum berbeda dengan proses yang mendasari terjadinya neurodegenerasi pada kondisi *vascular cognitive impairment* dan demensia Alzheimer, meskipun pada sebagian kasus proses tersebut dapat saling tumpang tindih pada kondisi stroke iskemik dan demensia Alzheimer. Pada stroke iskemik, proses kematian neuron terjadi secara cepat terutama terjadi melalui mekanisme stress oksidatif, neuroinflamasi dan eksitotoksisitas glutamat yang disebabkan karena kondisi hipoksia jaringan otak (Sachdev *et al.*, 2002; Sekerdag, Solaroglu and GURSOY-OZDEMIR, 2018). Dengan tatalaksana yang tepat, maka kematian sel neuron dan penurunan berbagai fungsi otak, termasuk fungsi kognitif, dapat diminimalkan. Pada dua kondisi terakhir, *vascular cognitive impairment* dan demensia Alzheimer, proses kematian sel neuron terjadi melalui serangkaian proses yang ditandai dengan terbentuknya beberapa biomarker neurodegeneratif yang penting, diantaranya adalah terbentuknya amiloid beta, fosforilasi protein tau, dan pembentukan *neurofibrillary tangles* (NFT) didalam sel neuron. Proses penurunan fungsi kognitif, terutama pada demensia Alzheimer, bersifat progresif.

Gangguan kognitif pasca stroke tidak selalu ditemukan pada pasien dengan stroke iskemik. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara

lain karakteristik klinik dan demografik pasien. Beberapa karakteristik klinik dan demografik yang berpengaruh, selain faktor-faktor risiko vaskuler seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, antara lain lokasi dan luas infark, derajat beratnya stroke iskemik, tingkat pendidikan, dan adanya kondisi depresi (Kauranen *et al.*, 2014). Faktor lain yang juga perlu diperhitungkan adalah pemilihan instrumen dan penentuan waktu dilakukannya evaluasi fungsi kognitif. *Montreal cognitive assessment* (MoCA) merupakan instrumen penilaian fungsi kognitif global yang tepat untuk digunakan dalam penapisan gangguan fungsi kognitif pasca stroke iskemik (Pendlebury *et al.*, 2010; Toglia *et al.*, 2011; Blackburn *et al.*, 2013). Saat ini, instrumen tersebut juga sudah tersedia dalam versi Indonesia (MoCA-Inda) (Lestari *et al.*, 2017). Terkait pelaksanaan deteksi evaluasi fungsi kognitif, kurun waktu 3 bulan pertama dari awitan stroke iskemik dipertimbangkan sebagai periode waktu yang ideal untuk dilakukannya penapisan evaluasi kognitif pada pasien pasca stroke iskemik (Lesniak *et al.*, 2008; Jaillard *et al.*, 2009; Gottesman and Hillis, 2010).

Dampak dari gangguan kognitif pasca stroke tersebut yang perlu mendapatkan perhatian adalah luaran klinis pasien tersebut, yaitu berupa penurunan kemampuan melakukan aktivitas sehari-hari (Mok *et al.*, 2004). Gangguan fungsi kognitif yang dialami oleh pasien stroke dengan defisit neurologis derajat ringan sekalipun juga mampu menyebabkan penurunan

kemandirian mereka dalam melakukan aktivitas sehari-hari (Crichton *et al.*, 2016).

## **I.2. Rumusan Masalah**

1. Adakah hubungan yang bermakna antara polimorfisme gen Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T dengan tingkat kadar homosistein serum pada pasien pasca stroke iskemik?
2. Adakah hubungan yang bermakna antara tingkat kadar homosistein serum dengan gangguan fungsi kognitif pada pasien pasca stroke iskemik dengan mempertimbangkan karakteristik demografik dan klinik penyerta pasiennya?
3. Adakah hubungan yang bermakna antara polimorfisme gen Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T dengan gangguan fungsi kognitif pada pasien pasca stroke iskemik dengan mempertimbangkan karakteristik demografik dan klinik penyerta pasiennya?
4. Adakah hubungan yang bermakna antara gangguan fungsi kognitif pasca stroke iskemik dengan tingkat penurunan kapasitas fungsional pada pasien pasca stroke iskemik?



### **I.3. Tujuan Penelitian**

#### **I.3.1. Tujuan Umum**

Untuk membuktikan adanya hubungan yang bermakna antara polimorfisme gen *methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR) C677T dengan gangguan fungsi kognitif pasien pasca stroke iskemik.

#### **I.3.2. Tujuan Khusus**

Tujuan dari penelitian ini antara lain:

1. Untuk membuktikan adanya hubungan yang bermakna antara polimorfisme MTHFR C677T dengan tingkat kadar homosistein serum pasien pasca stroke iskemik.
2. Untuk membuktikan adanya hubungan yang bermakna antara tingkat kadar homosistein serum dengan gangguan fungsi kognitif pada pasien pasca stroke iskemik dengan mempertimbangkan karakteristik demografik dan klinik penyerta pasiennya.
3. Untuk membuktikan adanya hubungan yang bermakna antara polimorfisme MTHFR C677T dengan gangguan fungsi kognitif pada pasien pasca stroke iskemik dengan mempertimbangkan karakteristik demografik dan klinik penyerta pasiennya.
4. Untuk membuktikan adanya hubungan yang bermakna antara gangguan fungsi kognitif pasca stroke iskemik dengan tingkat penurunan kapasitas fungsional pada pasien pasca stroke iskemik.

#### **I.4. Manfaat Penelitian**

##### **I.4.1. Manfaat pada aspek pengembangan ilmu**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kerentanan subjek dengan polimorfisme MTHFR C677T terhadap gangguan fungsi kognitif pasca stroke iskemik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat ditindaklanjuti dengan penelitian-penelitian intervensi, baik secara farmakologis maupun non-farmakologis, sebagai upaya pencegahan terhadap terjadinya gangguan fungsi kognitif pada kelompok subjek tersebut.

##### **I.4.2. Manfaat pada aspek aplikasi klinis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu para klinisi dalam memahami mekanisme molekuler polimorfisme MTHFR C677T dalam patogenesis terjadinya gangguan fungsi kognitif pasca stroke iskemik. Identifikasi polimorfisme MTHFR C677T diharapkan juga dapat dipertimbangkan sebagai salah satu upaya penting untuk deteksi subjek dengan stroke iskemik yang rentan untuk mengalami gangguan fungsi kognitif agar dapat ditindaklanjuti dengan upaya pencegahan terhadap terjadinya gangguan fungsi kognitif pasca stroke iskemik tersebut.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1. Definisi Gangguan Kognitif**

Gangguan fungsi kognitif adalah penurunan pada salah satu atau lebih domain kognitif dengan spektrum klinis yang luas, mulai dari gangguan fungsi kognitif ringan yang belum menimbulkan gangguan pada aktivitas fungsional yang bermakna (*mild cognitive impairment*) sampai dengan gangguan fungsi kognitif yang menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas fungsional dan/atau sosial yang bermakna (demensia). Gangguan kognitif tersebut tidak berkaitan dengan kondisi delirium dan tidak dapat dijelaskan lebih baik oleh kondisi gangguan mental, terutama depresi (Hugo and Ganguli, 2014). Menurut DSM-5, domain kognitif yang dimaksud meliputi atensi kompleks (*complex attention*), fungsi eksekutif (*executive functioning*), belajar dan memori (*learning and memory*), bahasa (*language*), fungsi visuospasial (*perceptual-motor/visuospatial function*), dan kognisi sosial (*social cognition*) (Sachdev *et al.*, 2014).

Gangguan fungsi kognitif sendiri memiliki banyak etiologi. *Alzheimer's disease* (AD) merupakan penyebab utama untuk terjadinya gangguan kognitif pada populasi dengan usia 65 tahun keatas (Hugo and Ganguli, 2014). Stroke iskemik merupakan penyebab penting kedua untuk terjadinya gangguan fungsi kognitif dan juga merupakan faktor risiko untuk

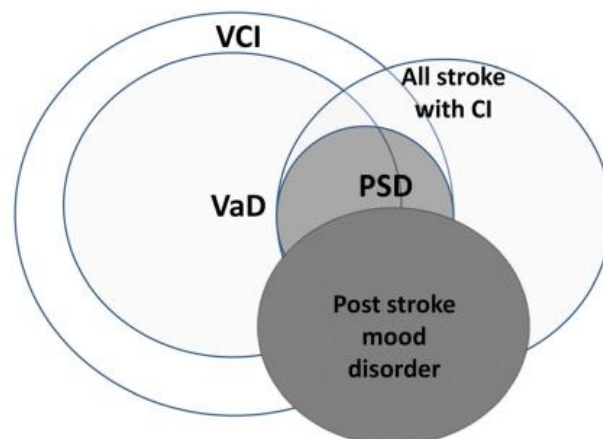
terjadinya demensia vaskuler dan demensia Alzheimer (Knopman *et al.*, 2009; Knopman and Petersen, 2014). Pada demensia pasca stroke atau demensia vaskuler, domain kognitif mengalami penurunan terutama adalah atensi kompleks dan fungsi eksekutif (Hugo and Ganguli, 2014).

Penegakan diagnosis gangguan fungsi kognitif, baik pada *mild cognitive impairment* maupun demensia, mutlak membutuhkan anamnesis riwayat medis lengkap dan pemeriksaan status mental. Untuk penilaian awal, instrumen pemeriksaan status mental objektif ditujukan untuk evaluasi fungsi kognitif secara global. Untuk tujuan evaluasi fungsi kognitif global tersebut, instrumen pemeriksaan status mental yang umumnya digunakan diantaranya adalah *minimal state examination* (MMSE), MoCA, dan *Mini-Cog* (Hugo and Ganguli, 2014; Knopman and Petersen, 2014).

## **II.2. Definisi Gangguan Kognitif Pasca Stroke Iskemik**

Gangguan kognitif pasca stroke (*post stroke cognitive impairment/PSCI*) secara umum bisa disebabkan karena kondisi stroke itu sendiri, berbagai faktor risiko vaskuler yang mendahuluinya, atau merupakan hasil interaksi antara kondisi stroke dan berbagai faktor risiko vaskuler tersebut, sehingga penegakan diagnosis gangguan kognitif pasca stroke yang murni disebabkan karena kondisi stroke itu sendiri cukup sulit. Gangguan kognitif yang disebabkan karena berbagai faktor risiko vaskuler atau merupakan hasil interaksi antara stroke dan berbagai faktor risiko vaskuler tersebut dikenal dengan istilah *vascular cognitive*

*impairment* (VCI). Oleh karena itu, perlu dibuat suatu definisi yang jelas untuk gangguan kognitif pasca stroke agar lebih memudahkan dalam penegakan diagnosis gangguan kognitif pasca stroke akut. Definisi yang digunakan untuk gangguan kognitif pasca stroke adalah gangguan kognitif, mulai dari derajat ringan hingga berat yang terjadi dalam kurun waktu 3 bulan pertama dari awitan stroke, pada individu yang sebelumnya tidak terdiagnosis dengan gangguan kognitif (Kalaria, Akinyemi and Ihara, 2016; Mijajlovic *et al.*, 2017). Gangguan kognitif pasca stroke iskemik adalah mencakup definisi untuk gangguan kognitif pasca stroke iskemik diatas yang disebabkan karena gangguan kognitif pasca stroke iskemik akut. Dengan demikian, VCI berbeda dengan PSCI, dimana VCI merupakan spektrum luas dari gangguan kognitif terkait stroke dan berbagai faktor risikonya, sedangkan PSCI dapat merupakan bagian dari VCI atau merupakan kondisi tersendiri yang murni disebabkan karena stroke itu sendiri (Gambar II.1).



**Gambar II.1. Diagram Venn yang menunjukkan hubungan antara VCI dan PSCI (Mijajlovic *et al.*, 2017).**

Pada beberapa hari pertama dari awitan stroke iskemik, pasien dapat mengalami gangguan kognitif yang kemungkinan berkaitan dengan kondisi-kondisi medis yang bisa menjadi faktor perancu yang harus diatasi terlebih dahulu, terutama adalah delirium atau depresi. Oleh karena itu, penilaian gangguan kognitif pada pasien stroke iskemik sebaiknya dilakukan setelah fase akut stroke iskemik, yaitu 2 minggu setelah awitan stroke iskemik (Kidwell *et al.*, 2001; Jaillard *et al.*, 2009; Danovska *et al.*, 2012). Pengenalan dini terjadinya gangguan kognitif pada fase akut stroke iskemik sangat penting, karena dapat memberikan informasi mengenai perlunya tatalaksana medis, termasuk intervensi rehabilitasi medik yang memadai, untuk mencegah progresivitas gangguan kognitif tersebut menuju kondisi yang lebih berat (Kalaria, Akinyemi and Ihara, 2016).

Domain kognitif yang terganggu pasca stroke iskemik sangat bervariasi, tergantung dari karakteristik klinik dari stroke iskemik tersebut, diantaranya adalah luas, jumlah, dan lokasi infark. Secara umum, semua domain kognitif, yaitu atensi, memori, bahasa, visuospasial, dan fungsi eksekutif dapat terkena (Ganguli *et al.*, 2014). Lokasi stroke iskemik pada hemisfer dominan dan melibatkan sirkuit prefrontal-subkortikal dapat menyebabkan terjadinya gangguan fungsi eksekutif dan fungsi eksekutif. Lokasi infark pada lobus temporal medial, terutama hipokampus, menyebabkan terjadinya gangguan memori. Lokasi infark yang melibatkan girus angularis, area Broca dan Wernicke, dan fasikulus arkuatus hemisfer dominan menyebabkan terjadinya gangguan pada

fungsi bahasa. Infark pada lobus parietal posterior hemisfer non-dominan menyebabkan terjadinya gangguan pada fungsi visuospasial. Jumlah dan luas infark berkaitan dengan berapa banyak domain yang terkena dan derajat beratnya gangguan kognitif (Kauranen *et al.*, 2014).

### **II.3. Faktor Risiko Vaskuler untuk Gangguan Fungsi Kognitif**

Faktor risiko vaskuler untuk terjadinya gangguan fungsi kognitif secara umum dibagi menjadi dua, yaitu faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi dan yang dapat dimodifikasi. Faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi meliputi usia, jenis kelamin, dan etnisitas. Faktor risiko yang dapat dimodifikasi meliputi hipertensi, diabetes melitus, fibrilasi atrium, merokok, dislipidemia, dan hiperhomosisteinemia (Sahathevan, Brodtmann and Donnan, 2012; Ganguli *et al.*, 2014). Berbagai faktor risiko yang dapat dimodifikasi diketahui dapat secara independen menyebabkan terjadinya gangguan fungsi kognitif (van den Berg *et al.*, 2009). Diantara semua faktor risiko vaskuler untuk terjadinya gangguan fungsi kognitif, usia lanjut merupakan faktor risiko paling utama, sedangkan diantara berbagai faktor risiko vaskuler untuk terjadinya penurunan fungsi kognitif yang dapat dimodifikasi, hipertensi merupakan faktor risiko paling penting (Kalara, Akinyemi and Ihara, 2016). Penatalaksanaan terhadap faktor-faktor risiko yang dapat dimodifikasi sangat penting dalam pencegahan terjadinya gangguan kognitif pasca stroke karena faktor-faktor risiko yang dapat dimodifikasi tersebut diketahui sebagai menyumbang sekitar 90% kasus stroke stroke (Sahathevan, Brodtmann and Donnan, 2012).

Saat ini terdapat banyak bukti yang menunjukkan bahwa peningkatan kadar homosistein dalam darah (*hyperhomosisteinmia*) berhubungan dengan peningkatan insiden stroke (Fallon *et al.*, 2001; Sadiq *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014; Shi *et al.*, 2018). Disamping itu, kondisi *hyperhomosisteinmia* tersebut juga berkaitan dengan penurunan fungsi kognitif pasca stroke (Khedr *et al.*, 2009; Jiang *et al.*, 2014). Proses yang mendasari peran homosistein dalam terjadinya stroke dan gangguan fungsi kognitif pasca stroke adalah melalui pembangkitan respon neuroinflamasi dan stres oksidatif yang akan dijelaskan lebih lanjut.

#### **II.4. Patofisiologi terjadinya Gangguan Kognitif Pasca Stroke**

Secara fisiologis, pembuluh darah otak memiliki mekanisme autoregulasi yang berperan penting untuk memastikan agar aliran darah otak relatif konstan terhadap setiap perubahan tekanan darah. Hal tersebut ditujukan untuk melindungi otak dari kemungkinan terjadinya perfusi jaringan berlebih yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sawar darah-otak dan jaringan otak (Beek *et al.*, 2008). Sel endotel pembuluh darah otak memiliki peran penting dalam menjalankan fungsi autoregulasi tersebut. Pertama, berbagai reseptor pada sel endotel pembuluh darah otak mentransduksikan stimuli mekanik dan kimiawi dan melepaskan molekul-molekul yang berperan penting dalam regulasi distribusi aliran darah lokal dan keseimbangan hemostatik, misalnya *nitric oxide* (NO), endotelin, dan prostanoïd (Wolburg *et al.*, 2009). Kedua, sel-sel endotel tersebut juga membentuk *tight junction* yang bersama-sama



dengan transporter membran spesifik pada permukaannya berperan penting untuk meregulasi lalu lintas molekul-molekul dari darah sirkulasi menuju ke jaringan otak dan untuk menyingkirkan sampah metabolik dalam jaringan otak menuju darah sirkulasi, misalnya *amyloid- $\beta$*  ( $A\beta$ ) (Zlokovic, 2008; Abbott *et al.*, 2010). Ketiga, sel endotel juga memiliki aktivitas trofik yang berperan penting untuk perkembangan otak, neuroplastisitas, dan proses penyembuhan dengan cara menghasilkan berbagai *growth factor* (Guo *et al.*, 2008).

Pada kondisi stroke iskemik, terjadi pembangkitan respon inflamasi dan stres oksidatif yang menyebabkan terjadinya disfungsi endotel dan sawar darah-otak pembuluh darah otak. Penelitian eksperimental menunjukkan bahwa radikal bebas yang dihasilkan oleh enzim *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) oksidase berperan penting untuk terjadinya perubahan pembuluh darah otak yang diinduksi oleh faktor-faktor risiko vaskuler dan  $A\beta$  (Kazama *et al.*, 2004). Endotel yang mengalami disfungsi tersebut juga akan melepaskan *vascular endothel growth factor* (VEGF) dan prostanoide yang memediasi terjadinya kebocoran vaskuler, ekstravasasi protein dalam darah sirkulasi ke dalam jaringan otak, dan neuroinflamasi, yang berkorelasi dengan luasnya infark (Marchesi, Paradis and Schiffrin, 2008). Stroke iskemik dengan infark pada regio substansia alba akan menyebabkan terjadinya disfungsi sawar darah-otak dan ekstravasasi protein dari sirkulasi sistemik ke dalam jaringan otak di region tersebut yang selanjutnya menyebabkan terjadinya

demyelinasi aksonal, gangguan konduksi saltatorik, dan perlambatan transmisi impuls saraf (Farrall and Wardlaw, 2009). Kondisi tersebut diatas merupakan gambaran yang sering ditemukan pada gangguan kognitif pasca stroke dan penyakit Alzheimer (Fotuhi, Medicine and Whitehouse, 2009).

Terjadinya gangguan kognitif pasca stroke iskemik merupakan hasil interaksi yang kompleks antara perubahan pembuluh darah otak yang terkait dengan usia dan disregulasi perfusi jaringan otak, sawar darah-otak, dan unit neurovaskuler (Gorelick, Counts and Nyenhuis, 2016). Faktor determinan untuk terjadinya disregulasi perfusi jaringan otak, sawar darah otak, unit neurovaskuler dan stroke iskemik itu sendiri adalah keberadaan dari faktor-faktor risiko vaskuler, diantaranya adalah hipertensi, diabetes melitus, hiperlipidemia, merokok, dan kurang aktivitas fisik, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya (Gorelick *et al.*, 2011). Secara umum, patologi serebrovaskuler sebagai hasil interaksi kompleks tersebut yang berkontribusi paling penting untuk terjadinya gangguan kognitif adalah infark otak. Pada studi patologik, volume infark yang besar, jumlah infark yang banyak, dan lokasi infark di beberapa area otak, seperti di talamus, girus angularis, dan ganglia basalis, memiliki hubungan yang erat dengan gangguan kognitif pasca stroke (Kalaria, Akinyemi and Ihara, 2016).

## **II.5. Patofisiologi Kematian Neuron pada Stroke Iskemik**

### **II.5.1. Peran Respon Inflamasi dalam Inisiasi Kematian Sel Neuron pada Stroke Iskemik**

Pada stroke iskemik, jaringan otak di area iskemik tersebut akan menunjukkan respon vaskuler, seluler, dan molekuler. Respon vaskuler yang timbul akibat kondisi iskemik jaringan otak tersebut diantaranya adalah aktivasi sel endotel vaskuler yang menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi molekul-molekul adhesi, seperti *E-selectin*, *P-selectin*, *L-selectin*, *intercellular adhesion molecule (ICAM)-1* dan *integrin*, dan disfungsi sawar darah-otak. Peningkatan molekul-molekul adhesi tersebut berperan penting dalam memfasilitasi perekrutan dan infiltrasi leukosit dalam darah sirkulasi untuk melewati sawar darah-otak yang sudah tidak utuh lagi tersebut dan masuk ke dalam jaringan otak (Sekerdag, Solaroglu and GURSOY-OZDEMIR, 2018).

Didalam jaringan otak yang iskemik, terjadi peningkatan konsentrasi *damage associated molecular pattern (DAMP)*, suatu debris seluler didalam jaringan otak yang iskemik. DAMP tersebut selanjutnya akan mengaktivasi mikroglia dan makrofag perivaskuler untuk menghasilkan sitokin-sitokin proinflamasi, misalnya *interleukin-1 $\beta$*  (IL-1 $\beta$ ) dan *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), kemokin, dan *nitric oxide* melalui *inducible nitric oxide synthase (iNOS)* (Swardfager *et al.*, 2013). Produksi sitokin proinflamasi tersebut akan menyebabkan semakin meningkatnya infiltrasi sel ke area otak tersebut (Kim *et al.*, 2016). Aktivasi astrosit,

mikroglia, dan makrofag perivaskuler akan menstimulasi sel limfosit T (sel Th17 dan sel  $\gamma\alpha$ T) akan menghasilkan IL-17 di area penumbra yang mampu menginduksi apoptosis neuron dan peningkatan produksi DAMP. Aktivasi mikroglia, makrofag perivaskuler, dan astrosit, sekresi IL-17, dan proses pembentukan DAMP yang secara terus-menerus tersebut akan menyebabkan kematian neuron lebih luas (Swardfager *et al.*, 2013).

Pada kondisi normal, pembangkitan respon inflamasi di jaringan otak tersebut ditujukan untuk memperbaiki kerusakan jaringan otak yang terjadi. Pada kasus stroke iskemik, dengan memperhatikan derajat kerusakan otak, ukuran dan lokasi infark, kaskade inflamasi yang terjadi dapat lebih bersifat merusak daripada menunjang pemulihan. Dengan demikian kondisi tersebut akan mengganggu keseimbangan lingkungan mikro dari sel yang pada akhirnya bermuara pada teraktivasinya jalur-jalur kematian sel (Liu *et al.*, 2017).

Respon inflamasi yang timbul pada kondisi stroke iskemik dapat mengaktifkan serangkaian proses molekuler yang progresivitas kematian neuron. Aktivasi jalur kematian neuron sangat bergantung pada keseimbangan dari proses perbaikan dan kerusakan jaringan otak pasca stroke iskemik dan hal ini sangat bergantung pada kondisi fisiologik individual dan derajat luasnya kerusakan jaringan otak. Jika proses kerusakan jaringan lebih dominan dibandingkan dengan proses perbaikan jaringan, maka jalur-jalur kematian sel akan teraktivasi (Puig, Brenna and Magnus, 2018).

## II.5.2. Peran Eksitotoksisitas dalam Patofisiologi Kematian Neuron pada Stroke Iskemik

Influks ion kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) berperan penting dalam inisiasi terjadinya neurotoksisitas glutamat yang terjadi pada stroke iskemik akut. Neurotoksisitas glutamat tersebut merupakan proses yang mendasari terjadinya kematian sel-sel di jaringan otak, terutama sel neuron, akibat stroke iskemik, baik melalui jalur apoptosis, nekrosis, nekroptosis, autofagia dan piroptosis (Sekerdag, Solaroglu and Gursoy-Ozdemir, 2018). Secara umum, neurotoksisitas glutamat pada kondisi stroke iskemik dapat terjadi melalui beberapa tahapan penting yang terjadi secara berurutan. Pada tahap pertama, populasi sel neuron pada regio iskemik akan mengalami penurunan produksi *adenosine triphosphate* (ATP) dengan akibat terjadinya kegagalan pada fungsi pompa  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  *ATPase* dan pompa  $\text{Ca}^{2+}/\text{ATP}$  yang terdapat pada membran plasma. Dengan menurunnya kadar ATP, maka kanal-kanal yang memompa ion  $\text{Ca}^{2+}$  menuju keluar sel berhenti bekerja, sehingga konsentrasi ion  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel menjadi meningkat secara signifikan. Pada tahap kedua, peningkatan konsentrasi ion  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel yang tidak terkendali tersebut akan memediasi fusi antara vesikel yang berisi neurotransmiter dengan membran neuron presinaps dan diikuti dengan pelepasan glutamat kedalam celah sinaps dan hipereksitasi reseptor glutamat *N-methyl-D-aspartate* (NMDA),  *$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid* (AMPA), dan *kainate* pada membran neuron

pascasinaps. Kondisi hipereksitasi neuron pascasinaps tersebut meningkatkan beban kalsium intraseluler neuron pasca sinaps dan menyebabkan terjadinya kematian sel tersebut. Keberadaan glutamat di celah sinaps dalam waktu yang lama akan menyebabkan terjadinya depolarisasi neuron pasca sinaps dan influks ion  $\text{Ca}^{2+}$  secara kontinyu (Bano and Nicotera, 2007).

Eksitotoksisitas glutamat juga dapat terjadi sebagai dampak dari influks ion  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel secara berlebih terhadap disfungsi mitokondria. Influks ion  $\text{Ca}^{2+}$  yang berlebih kedalam sel neuron secara berturut-turut juga akan menyebabkan terjadinya depolarisasi membran mitokondria dan disfungsi mitokondria, dan aktivasi pelepasan radikal bebas, enzim-enzim dan protease-protease. Substansi-substansi yang dilepaskan akibat disfungsi mitokondria tersebut selanjutnya akan menyebabkan aktivasi jalur kematian sel pada neuron di daerah iskemik (Mehta and Vemuganti, 2014). Pada kondisi yang lebih jarang, eksitotoksisitas glutamat juga dapat terjadi sebagai akibat dari disfungsi reseptor glutamat pada membran presinaps dan/atau ketiadaan enzim-enzim pendegradasi glutamat di celah sinaps yang pada kondisi normal berperan penting dalam mempertahankan konsentrasi glutamat tetap berada dalam keadaan fisiologik (Sekerdag, Solaroglu and Gursoy-Ozdemir, 2018).

### **II.5.3. Kematian Sel Neuron Melalui Jalur Apoptosis**

Kematian sel neuron melalui melalui jalur apoptosis diawali dengan terjadinya peningkatan konsentrasi ion  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel yang secara berturut-

turut akan menyebabkan terjadinya depolarisasi membran mitokondria, disfungsi mitokondria, dan pelepasan sitokrom c melalui *mitochondrial permeability transition pore* (mtPTP). Sitokrom C yang terlepas dari dalam mitokondria tersebut akan mengaktifasi kaspase, suatu kelompok enzim yang berperan penting dalam mengendalikan proses apoptosis (Sims and Muyderman, 2010).

Protein yang berfungsi sebagai regulator utama dari proses apoptosis adalah protein anggota *B-cell lymphoma-2* (Bcl-2), baik yang bersifat pro-apoptosis, misalnya *Bcl-2-associated X protein* (Bax) dan *Bcl-2 related ovarian killer* (Bok), maupun yang bersifat anti-apoptosis, misalnya *BH3 interacting domain death agonist* (Bid) dan Bcl-2 (D'Orsi, Mateyka and Prehn, 2017). Sewaktu terjadi stroke iskemik, ekspresi dan aktivasi kadar kelompok protein Bcl-2 tersebut menentukan apakah kematian sel yang terprogram akan diinisiasi atau tidak, yaitu melalui pengaruhnya terhadap integritas membran luar (*outer membrane*) dan energetik dari mitokondria dan regulasi homeostasis ion  $Ca^{2+}$  didalam mitokondria dan retikulum endoplasma. Setelah protein pro-apoptosis dilepaskan kedalam sitoplasma, kelompok protein tersebut selanjutnya akan mengaktifasi kaskade dari enzim-enzim kaspase (Niizuma *et al.*, 2010).

Kaspase-3 merupakan enzim yang berperan sebagai eksekutor dalam kaskade apoptosis. Enzim tersebut mampu memotong protein, nukleotida dan enzim lainnya yang memiliki peran vital bagi sel sehingga

terjadi disfungsi homeostasis sel dan kematian sel (Broughton, Reutens and Sobey, 2009). Pada apoptosis, struktur membran sel tetap intak sampai sel pada akhirnya mengalami kematian. Berbeda dengan apoptosis, nekrosis dimulai dengan pembengkakan sel dan disintegrasi membran sel. Disamping mitokondria, retikulum endoplasma yang mengalami stres juga mampu menginduksi aktivasi protein kaspase dan kematian neuron (Sheng *et al.*, 2012).

#### **II.5.4. Kematian Sel Neuron Melalui Jalur Nekrosis**

Neuron-neuron yang berada di area pusat iskemik memiliki kerentanan tinggi untuk mengalami nekrosis (Yuan, 2009). Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, kondisi stroke iskemik akan menyebabkan turunnya kadar ATP secara signifikan yang dibutuhkan oleh neuron untuk menjaga potensial membrannya melalui pompa *Na/K-ATPase* (Bano and Nicotera, 2007). Oleh karena itu, pada stroke iskemik, pompa ini berhenti bekerja dan regulasi konsentrasi ion  $\text{Na}^+$  dan  $\text{K}^+$  di sisi dalam dan luar membran sel neuron menjadi hilang. Pada keadaan tersebut, terjadi edema sel akibat akumulasi ion  $\text{Na}^+$  didalam sel. Jika kondisi ini terus berlanjut, membran sel akan mulai mengalami kerusakan (Moskowitz, Lo and Iadecola, 2010). Akibat kerusakan membran sel tersebut, komponen intraseler akan keluar menuju lingkungan ekstrasel dan inti sel mengalami proses degradasi (Belizário, Vieira-cordeiro and Enns, 2015). Kondisi tersebut selanjutnya akan menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi di lingkungan sel yang mengalami nekrosis tersebut (L. Wu *et al.*, 2014).



Kelebihan kadar  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel dan pembentukan radikal bebas juga akan menyebabkan terjadinya edema mitokondria yang selanjutnya akan menyebabkan terjadinya kematian sel (Sims and Muyderman, 2010).

#### **II.5.5. Kematian Sel Neuron Melalui Jalur Nekroptosis**

Nekroptosis adalah suatu tipe kematian sel melalui mekanisme kombinasi antara nekrosis dan apoptosis. Mediator yang berperan pada jalur nekroptosis hingga saat ini masih belum dipahami dengan baik. Nekroptosis dan apoptosis memiliki karakteristik sama, yaitu adanya aktivasi ligand untuk reseptor kematian sel, kaspase-3, Bid, dan pelepasan sitokrom c, namun terdapat perbedaan dalam hal aktivasi kaspase-8, dimana aktivasi kaspase-8 pada nekroptosis justru dihambat, suatu karakteristik yang berbeda dengan apoptosis (Declercq, Berghe and Vandenameele, 2009). Nekroptosis dan nekrosis juga memiliki kesamaan karakteristik berupa edema seluler, ruptur membran lisosom, aktivitas enzim lisosom, disfungsi mitokondria, dan kerusakan membran plasma yang menyebabkan terjadinya nekrosis sel (Kilinc *et al.*, 2010). Pada nekroapoptosis, aktivasi reseptor ligand untuk kematian sel pada area penumbra, seperti reseptor untuk *Fas ligand* (FasL) dan  $\text{TNF-}\alpha$ , tidak mampu mengaktivasi kaskade kaspase secara menyeluruh yang mengarah pada proses apoptosis, namun justru mengaktivasi *receptor-interacting protein* (RIP1), suatu *death-domain* yang mengandung enzim *receptor-interacting protein kinase-1* (RIPK1) (Fulda, 2013). Aktivasi dari RIP1 inilah yang menyebabkan terjadinya induksi difungsi mitokondria dan

munculnya gambaran nekrosis sel. Efek aktivasi RIPK1 terhadap terjadinya nekroptosis kemungkinan dimediasi oleh *Bcl-2 modifying protein* (Bmf), yaitu melalui induksi kerusakan mitokondria secara nekrotik (Galluzzi, Kroemer and Villedieu, 2008). Selain RIP1, *Poly(ADP-Ribose) Polymerase 1* (PARP1), NADPH oksidase dan *calpain* juga diketahui berperan dalam terjadinya nekroptosis melalui induksi terjadinya disfungsi mitokondria (Fulda, 2013).

#### **II.5.6. Kematian Sel Neuron Melalui Jalur Autofagia**

Autofagia merupakan suatu jalur kematian sel terprogram yang terjadi melalui proses penghancuran makromolekul agregat dan organel sel melalui sistem lisosomal. Secara garis besar, autofagi dibagi menjadi 3 jenis, antara lain *chaperone-mediated autophagy*, *microautophagy*, dan *macroautophagy* (Parzych and Klionsky, 2014). Diantara ketiga jenis autofagia tersebut, *macroautophagy* merupakan jenis autofagia yang paling banyak terjadi pada kondisi stroke iskemik, yaitu pada populasi sel neuron dan sel-sel glia di area penumbra (Huang *et al.*, 2015). Jalur penghantaran sinyal untuk aktivasi atau inhibisi autofagia sangat bergantung pada aktivitas *mammalian target of rapamycin complex 1* (mTORC1) dan jalur *AMP-activated protein kinase* (Akers and Wesselborg, 2012).

Proses autofagia dimulai dengan pembentukan autofagosom (suatu vesikel membran bilayer) yang melingkupi (menelan) organel sel yang rusak (termasuk mitokondria). Autofagosom yang mengandung organel

yang rusak tersebut kemudian mengalami fusi dengan lisosom untuk membentuk autolisosom. Organel yang terkandung didalam autolisosom tersebut selanjutnya dicerna oleh enzim lisosom (Sekerdag, Solaroglu and Gursoy-Ozdemir, 2018). Sebagai catatan, proses autofagia tersebut juga dapat terjadi didalam mitokondria, suatu proses yang disebut mitofagia, yang berperan penting pada kondisi stroke iskemik (Tang *et al.*, 2016). Koordinasi fusi membran dalam proses pembentukan autofagosom dan autolisosom sampai dengan penyajian organel agar dicerna oleh lisosom, seperti yang telah dideskripsikan diatas diregulasi oleh berbagai macam *autophagy-related protein* (ATG). Peningkatan akumulasi autofagosom dalam sitosol berkorelasi dengan peningkatan kadar *microtubule-associated protein light chain 3* (LC3)-II, suatu komponen membran autofagosomal, yang merupakan hasil konjugasi LC3-1 (komponen sitosolik autofagosomal) dan fosfatidiletanolamin dengan bantuan protein ATG4, salah satu dari kelompok protein ATG. Dengan demikian, seberapa luas terjadinya autofagia dapat diketahui dengan cara mengukur rasio LC3-II/LC3-I (Rubinsztein, Bento and Deretic, 2015).

Autofagia berperan penting dalam menjaga keutuhan sel hanya jika jalur penghantaran sinyal efektor yang normal dari autofagia masih utuh. Jika jalur penghantaran sinyal efektor autofagia tersebut terganggu, maka proses autofagia yang terjadi justru akan menyebabkan terjadinya aktivasi kaskade kematian sel. Pada stroke iskemik, terjadi kaskade eksitotoksisitas glutamat yang dapat menyebabkan terjadinya disfungsi

protein-protein yang berperan penting untuk penghantaran sinyal autofagia yang normal, sehingga proses autofagia yang terjadi merupakan proses yang mengarah pada kematian sel (Huang *et al.*, 2015).

### **II.5.7. Kematian Sel Neuron Melalui Jalur Piroptosis**

Piroptosis merupakan salah satu tipe kematian sel yang dimediasi oleh aktivasi kaspase-1 dan produksi mediator proinflamasi (McKenzie *et al.*, 2018). Karena melibatkan produksi mediator proinflamasi, maka sel-sel di jaringan yang mengalami kaskade kematian melalui jalur piroptosis adalah mikroglia, astrosit, dan sel-sel kekebalan yang menginfiltrasi jaringan otak (Bergsbaken, Fink and Cookson, 2010). Sel yang mengalami proses kematian melalui jalur piroptosis menunjukkan morfologi ruptur membran plasma secara cepat dan pelepasan protein intraseluler yang bersifat pro-inflamasi, kerusakan *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan lisis sel, destruksi sitoskeleton aktin dan kematian sel, yang kesemuanya sangat bergantung pada aktivasi kaspase-1 (Yuan, Najafv and Py, 2016). Pada paragraf berikutnya akan diilustrasikan mekanisme terjadinya piroptosis pada kondisi stroke iskemik.

Pada kondisi stroke iskemik, terjadi peningkatan produksi *damaged associated molecular pattern* (DAMP) dan berbagai sitokin pro-inflamasi, misalnya IL-1 $\alpha$ , yang dilepaskan oleh sel nekrotik yang mampu menginisiasi respon inflamasi di area iskemik. Sebagai respon terhadap kerusakan jaringan, aktivasi *toll-like receptors* (TLRs) yang ada pada membran sel mikroglia, astrosit, dan sel-sel kekebalan yang berada di

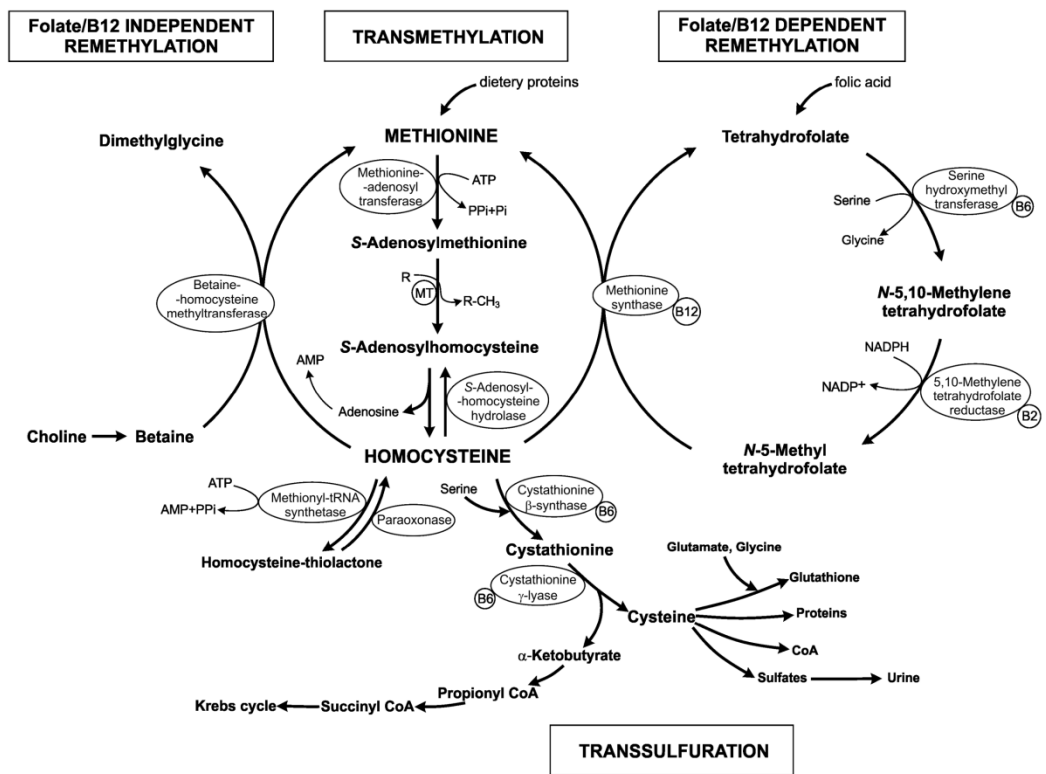
jaringan otak oleh DAMP dan sitokin pro-inflamasi akan menginisiasi kaskade penghantaran sinyal yang bermuara pada aktivasi seluler dan produksi sitokin pro-inflamasi, seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, dan *interferon*  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Pada saat yang sama, aktivasi *nucleotide-binding oligomerization domain-containing 1* (NOD1) dan NOD2 dari *node-like receptors* (NLRs) sel-sel glia juga mencetuskan kaskade penghantaran sinyal yang juga menyebabkan diproduksi sitokin inflamasi. Sewaktu teraktivasi, selain menginduksi produksi mediator inflamasi, baik TLRs, NOD1 maupun NOD2 ternyata juga menginduksi aktivasi kaspase-1. Dampak dari aktivasi kaspase-1 inilah yang selanjutnya menimbulkan terbentuknya morfologi ruptur membran plasma dan pelepasan protein intraseluler yang terkandung didalamnya, kerusakan DNA dan lisis sel, destruksi sitoskeleton aktin dan kematian sel dan lebih lanjut meregulasi produksi sitokin inflamasi dengan mekanisme pasti yang masih belum dipahami dengan baik (Bergsbaken, Fink and Cookson, 2010; Chen and Nunez, 2010; Fann *et al.*, 2013).

DAMP juga mampu mengaktivasi *pattern recognition receptors* (PRRs) intrasel yang menyebabkan terbentuknya kompleks multiprotein yang disebut dengan *inflammasome*, seperti *NLR Pyrin domain containing 1* (NLRP1) dan NLRP3 (Abulafia *et al.*, 2009). Seperti diketahui, PRR pada membran plasma neuron dan sel-sel glia bisa berperan penting dalam aktivasi jalur *nuclear factor kappa-B* (NF- $\kappa$ B) dan *mitogen activated protein kinase* (MAPK). Penghantaran sinyal melalui *inflammasome*

NLRP1 dan NLRP3 ternyata juga mampu mengaktivasi kaspase-1 yang teraktivasi, yang pada gilirannya akan menginisiasi produksi sitokin pro-inflamasi IL-1 $\beta$  dan IL-18 dan regulasi pelepasannya dan menyebabkan kematian sel dengan karakteristik seperti yang telah dijelaskan sebelumnya (Fann *et al.*, 2013). Dengan demikian, aktivasi inflammasome NLRP1 dan NLRP3 juga memberikan dampak yang sama dengan aktivasi TLRs, NOD1 maupun NOD2.

## **II.6. Metabolisme Homosistein**

Homosistein merupakan asam amino yang mengandung sulfur yang merupakan produk demetilasi dari asam amino methionin melalui pembentukan 2 produk antara, yaitu *S-adenosylmethionine* (SAM) dan *S-adenosylhomosistein* (SAH), suatu proses yang disebut dengan transmetilasi (Gambar II.2). *S-adenosylmethionine* merupakan donor metil bagi hampir semua reaksi metilasi didalam sel yang dikatalisis oleh enzim metiltransferase dengan target biomolekul penting seperti DNA, *ribonucleic acid* (RNA), protein, dan lipid. Sewaktu terjadi transfer gugus metil, SAM akan mengalami konversi menjadi SAH, suatu inhibitor utama untuk aktivitas metiltransferase. Dengan demikian, rasio SAM-SAH dapat digunakan sebagai indikator kapasitas metilasi intrasel (Barroso, Handy and Castro, 2017).



**Gambar II.2. Metabolisme homosistein (Škovierová et al., 2015)**

Homosistein yang terbentuk akan masuk dalam salah satu dari dua jalur metabolismenya, yaitu remetilasi atau transsulfurasi (Gambar 2.2). Dalam jalur remetilasi, homosistein akan dikonversi menjadi methionine, baik dengan bantuan asam folat dan vitamin B12 yang membutuhkan peran enzim *methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR) maupun melalui jalur betaine membutuhkan peran enzim *betaine-homosistein methyltransferase* (BHMT) (Cacciapuoti, 2018). Didalam jaringan otak, remetilasi homosistein menjadi methionine hanya terjadi melalui jalur yang membutuhkan asam folat dan vitamin B12 dan peran enzim MTHFR (Olivera et al., 2011). Methionin hasil remetilasi tersebut akan mengalami proses demetilasi kembali melalui jalur transmetilasi, seperti yang telah

dijelaskan sebelumnya (Škovierová *et al.*, 2015). Dalam jalur transsulfurasi, homosistein dikonversi menjadi sistein dengan bantuan kofaktor vitamin B6 dan peran enzim *cystathionine-beta-synthase* (CBS) (Borrione and Fossati, 2017).

Sistein yang terbentuk merupakan prekursor untuk pembentukan *glutathione* (GSH) melalui dua tahap proses yang secara berturut-turut dimediasi oleh enzim *γ-glutamyl-cysteine ligase* dan *glutathione synthetase* (Gambar 2.2). *Glutathione*, suatu tripeptida yang mengandung gugus thiol, merupakan antioksidan yang berperan penting dalam mekanisme pertahanan intraseluler terhadap proses kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif yang dimediasi oleh *reactive oksigen species* (ROS) (Vitvitsky *et al.*, 2003).

Konsentrasi homosistein total dalam darah pada individu sehat dalam keadaan puasa rendah, yaitu sekitar 5-15 μmol/l (Rowan *et al.*, 2007; Ganguly and Alam, 2015). Homosistein total dalam darah tersebut pada dasarnya terdiri dari homosistein bebas, homosistin, *Hcy-S-S-Cys disulphide*, *N-linked Hcy* dan *S-linked Hcy* yang terikat dengan protein dan yang teroksidasi, dan *Hcy-thioactone* (Olivera *et al.*, 2011). Peningkatan kadar homosistein dalam darah melebihi nilai normalnya, disebut dengan hiperhomosisteinemia, dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, antara lain penurunan rasio SAM/SAH akibat diet tinggi kadar methionin yang menyebabkan metabolisme homosistein oleh MTHFR terhambat (Keung, Lai and Kan, 2015), predisposisi genetik berupa mutasi gen pengkode



enzim MTHFR (Li *et al.*, 2017), dan defisiensi vitamin B6 dan asam folat (Jiang *et al.*, 2014). Secara umum, kondisi hiperhomosisteinemia dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu homosisteinemia ringan-sedang (*mild-moderate hyperhomosisteinmia*) yang umumnya dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan hiperhomosisteinemia berat (*severe hyperhomosisteinmia*) yang terutama disebabkan karena mutasi genetik pada enzim yang berperan penting dalam metabolisme homosistein (Ganguly and Alam, 2015).

## **II.7. Peran Hiperhomosisteinemia dalam Pembangkitan Respon Inflamasi dan Stres Oksidatif dalam Sirkulasi Sistemik**

### **II.7.1. Peran Hiperhomosisteinemia dalam Pembangkitan Respon Inflamasi dalam Sirkulasi Sistemik**

Dalam darah sirkulasi, homosistein memiliki kemampuan untuk menginduksi ekspresi gen dan produksi dari IL-8, *Monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IL-12 $\beta$ , *chemokine (C-C motif) receptor 2* (CCR2) dan *cluster of differentiation 36* (CD36) dalam monosit, komponen seluler dari sistem kekebalan alami, yang akan digunakan untuk memediasi respon inflamasi dan diferensiasi dari monosit itu sendiri (Meng *et al.*, 2013). Induksi oleh homosistein tersebut tidak terjadi secara langsung, tetapi melalui pembangkitan ROS dan/atau PPAR- $\gamma$ , yang juga diketahui sebagai modulator inflamasi (Wang, Siow and Karmin, 2000). Peningkatan produksi sitokin, yaitu IL-1 dan IL-6 akan menginduksi liver untuk memproduksi *C-reactive protein* (CRP) atau

*pentraxin*, protein darah yang juga berperan dalam sistem kekebalan alami (Abbas, Lichtman and Pillai, 2018). Hasil penelitian yang ada menunjukkan adanya korelasi antara hiperhomosisteinemia dan peningkatan kadar CRP tersebut (Li *et al.*, 2015; Salomão *et al.*, 2018). Kondisi hiperhomosisteinemia dan peningkatan kadar CRP tersebut akan berperan dalam kerusakan sawar darah-otak, seperti yang terjadi pada stroke iskemik. Kombinasi antara hiperhomosisteinemia dan peningkatan kadar CRP dalam darah sirkulasi memperburuk luaran klinis pasien stroke iskemik (Gong *et al.*, 2013; Singh-Manoux *et al.*, 2014). CRP dengan kadar tinggi dalam darah sirkulasi mampu menembus sawar darah-otak yaitu dengan cara meningkatkan permeabilitas paraseluler yang disusun oleh sel-sel endotel (Hsuchou *et al.*, 2012).

#### **II.7.2. Peran Homosistein dalam Induksi Stres Oksidatif dalam Sirkulasi Sistemik**

Homosistein, suatu molekul dengan gugus thiol, dengan keberadaan logam dan oksigen, dapat mengalami reaksi auto-oksidasi yang disertai dengan pembentukan ROS, meliputi *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ), *superoxide* ( $O_2^-$ ), dan *hydroxyl* ( $OH^-$ ). Pada penelitian *in vitro*, homosistein menunjukkan aktivitas pro-oksidan, yaitu dengan meningkatkan produksi hydrogen peroksida selama proses oksidasi yang dikatalis oleh logam (Perna, Ingrosso and Santo, 2003). Keberadaan *nitric oxide* (NO) yang sebenarnya memiliki kemampuan untuk mendetoksifikasi homosistein, terutama pada kondisi hiperhomosisteinemia kronik,  $O_2^-$  yang

terbentuk pada proses diatas bisa memfasilitasi terbentuknya *peroxynitrite*, suatu oksidan yang sangat kuat (Loscalzo, 1996). *Peroxynitrite* tersebut berperan penting dalam patofisiologi disfungsi pembuluh darah otak pada kondisi hiperhomosisteinemia, suatu kondisi yang dapat memfasilitasi masuknya homosistein dalam darah sirkulasi kedalam jaringan otak dan menimbulkan efek neurotoksisitasnya (Faraci and Lentz, 2004; Obeid and Herrmann, 2006).

Homosistein juga memiliki kemampuan untuk menurunkan aktivitas enzim *gluthation peroxidase* melalui penurunan kadar mRNA *glutathione peroxidase* pada endotel vaskuler (Handy, Zhang and Loscalzo, 2005). Enzim *gluthation peroxidase* yang dihasilkan oleh sel endotel tersebut sangat dibutuhkan untuk mengkatalisis reaksi reduksi hidrogen peroksida dan lipid peroksida dan mencegah inaktivasi dari NO, sehingga terjadi peningkatan kadar hidrogen peroksida, lipid peroksida, dan *anion superoxide*, serta peningkatan pembentukan radikal bebas ROS dan *peroxynitrite* (Perna, Ingrosso and Santo, 2003). Peningkatan kadar radikal bebas tersebut selanjutnya akan menyebabkan terjadinya induksi respon inflamasi dan kerusakan sawar darah-otak, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

## **II.8. Kinetika Homosistein dalam Darah Sirkulasi**

Pada subjek normal, waktu paruh homosistein dalam darah sirkulasi adalah sekitar 4 jam (Refsum *et al.*, 1998). Dengan demikian, jika seorang subjek normal mengkonsumsi makanan dengan kandungan

methionin yang tinggi, yang menyebabkan kadar homosistein dalam darah sirkulasi dan jaringan menjadi tinggi, maka setiap 4 jam, kadar homosistein dalam darah sirkulasi akan turun menjadi setengahnya akibat terjadinya eliminasi dari homosistein. Eliminasi homosistein tersebut, baik dalam darah sirkulasi maupun jaringan, terjadi melalui 2 jalur, yaitu remetilasi menjadi methionin kembali dan transsulfurasi menjadi sistein yang selanjutnya diekskresi bersama dengan urine. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eliminasi homosistein melalui jalur transsulfurasi, yaitu dengan produk akhir berupa sistein yang diekskresikan lewat urine hanya sebesar <2% (Guttormsen *et al.*, 1993). Dengan demikian, konversi homosistein menjadi methionin merupakan mekanisme penting untuk mengontrol kadar homosistein dalam darah sirkulasi maupun jaringan, yaitu sekitar 80%.

Saat ini belum tersedia informasi mengenai perbandingan berapa konsentrasi homosistein yang mengalami translokasi dari sirkulasi sistemik menuju jaringan otak antara subjek normal dan penderita stroke, termasuk stroke iskemik. Dua penelitian yang ditujukan untuk menginvestigasi pengaruh homosistein pada subjek normal, namun pada kelompok lanjut usia, menunjukkan bahwa kondisi hiperhomosisteinemia pada subjek lanjut usia tersebut secara bermakna berhubungan dengan terjadinya atrofi otak dan infark asimptomatik (*silent brain infarction*) di otak. Hubungan bermakna antara hiperhomosisteinemia dengan atrofi otak dan infark asimptomatik pada kedua penelitian tersebut, satu

diantaranya terkait dengan adanya polimorfisme gen enzim MTHFR C677T (Matsui, Arai and Yuzuriha, 2001) dan pada penelitian lainnya terkait dengan menurunnya bersihan kreatinin dan tidak berkaitan dengan kadar asam folat dan vitamin B12 serum (Sachdev *et al.*, 2002).

## **II.9. Pengaruh Toksik Homosistein didalam Jaringan Otak**

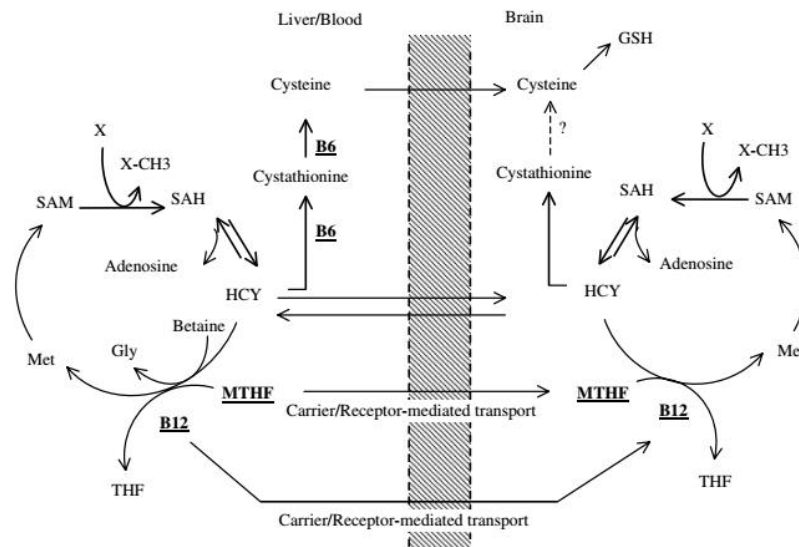
Homosistein yang terdapat didalam jaringan otak bisa berasal darah sirkulasi yang melewati sawar darah-otak yang mengalami disrupsi atau merupakan hasil metabolisme methionin didalam jaringan otak, seperti pada Gambar II.3. Pada populasi umum yang sehat, kadar homosistein yang tinggi dalam darah (15-100  $\mu\text{mol/l}$ ) memiliki efek pada disfungsi endotel pembuluh darah, diantaranya proliferasi miosit, fibrosis dinding pembuluh darah, penghambatan produksi vasodilator *nitric oxide*, pembangkitan respon inflamasi sistemik dan radikal bebas, namun tidak pada sel-sel di jaringan otak. Pada populasi umum yang sehat tersebut, homosistein dapat menyebabkan terjadinya proses neurodegenerasi dan gangguan fungsi kognitif pada populasi tersebut bila kadarnya dalam darah sirkulasi sangat tinggi (*severe hyperhomosisteinmia*), suatu kondisi yang terutama disebabkan karena adanya mutasi genetik pada gen enzim yang berperan penting dalam metabolisme homosistein (Ganguly and Alam, 2015; Hainsworth *et al.*, 2016).

Pada kondisi stroke iskemik, dimana terjadi kerusakan sawar darah otak, peningkatan konsentrasi homosistein yang ringan-sedang (*mild-moderate hyperhomosisteinmia*) dalam darah sirkulasi sudah dapat

menyebabkan terjadinya peningkatan konsentrasi homosistein di jaringan otak akibat peningkatan translokasi homosistein kedalam jaringan otak (Obeid and Herrmann, 2006). Penelitian yang dikerjakan oleh Lipton *et al.* menunjukkan bahwa pada kondisi stroke iskemik, kadar homosistein yang tinggi didalam jaringan otak, sebagai akibat kerusakan sawar darah-otak dan difusi pasif substansi tersebut kedalam jaringan otak, meningkatkan derajat eksitotoksisitas neuron dan kerusakan neuronal (Lipton *et al.*, 1997). Toksisitas homosistein tersebut tidak terjadi jika enzim-enzim yang berperan penting dalam metabolisme homosistein mampu bekerja secara efektif. Pada kondisi polimorfisme gen enzim-enzim pemetabolisme homosistein, misalnya polimorfisme gen MTHFR yang memiliki prevalensi paling tinggi, menyebabkan kontrol kadar homosistein didalam darah sirkulasi maupun jaringan otak menjadi tidak efektif, sehingga kondisi tersebut menyebabkan homosistein di jaringan otak berada pada konsentrasi suprafisiologik (Liew and Gupta, 2015). Saat ini belum ada hasil penelitian yang menunjukkan perbandingan rasio konsentrasi homosistein didalam darah sirkulasi dan jaringan otak antara populasi penduduk normal dan pasien stroke iskemik.

Homosistein dalam jaringan otak pada kadar yang tinggi dapat menginduksi terjadinya 3 reaksi yang dapat saling berkaitan satu sama lain dan menyebabkan terjadinya kematian sel-sel di jaringan otak, yaitu reaksi neuroinflamasi, stres oksidatif, dan eksitotoksisitas glutamat (Obeid and Herrmann, 2006). Dampak dari terjadinya ketiga proses tersebut

adalah terjadinya degenerasi neuronal dan kematian sel-sel di jaringan otak tersebut, baik sel neuron, sel-sel glia, dan sel-sel kekebalan perivaskuler, baik melalui jalur apoptosis, nekrosis, nekroptosis, autofagia, dan piroptosis (Kruman *et al.*, 2000; Xi *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2016).



**Gambar II.3. Transfer homosistein antara darah sirkulasi dan jaringan otak dalam dua arah (Obeid and Herrmann, 2006).**

### II.9.1. Reaksi Neuroinflamasi yang Diinduksi oleh Homosistein

Didalam jaringan otak, homosistein dalam kadar suprafisiologik dapat menyebabkan aktivasi sel-sel kekebalan, terutama mikroglia, yang dapat menimbulkan terjadinya neuroinflamasi (Chen *et al.*, 2017). Proses neuroinflamasi di jaringan otak tersebut ditandai dengan diproduksinya sitokin-sitokin pro-inflamasi oleh sel-sel radang tersebut, diantaranya adalah interleukin (IL) – 1 $\beta$ , tumor necrosis factor (TNF)  $\alpha$ , dan IL-6 (Sudduth *et al.*, 2013). IL-1 yang dihasilkan oleh sel-sel kekebalan

tersebut dapat meningkatkan produksi TNF- $\alpha$ , IL-6, dan enzim *cyclooxygenase 2* (COX2) didalam jaringan otak (Basu, Krady and Levison, 2004). Peningkatan produksi IL-6 di jaringan otak juga berperan penting dalam meningkatkan respon inflamasi, eksitotoksisitas, kerusakan oksidatif, dan kematian sel-sel neuron dan sel-sel glia (Erta, Quintana and Hidalgo, 2012). Interaksi TNF- $\alpha$  dan reseptornya, yaitu *TNF receptor 1* (TNFR1) dan TNFR2, dapat mencetuskan berbagai respon seluler melalui aktivasi jalur pensinyalan NF-kB, p38, *c-jun N-terminal kinase* (JNK), dan *ceramide* untuk menghasilkan respon inflamasi, proliferasi, apoptosis, dan nekrosis sel (McCoy and Tansey, 2008). TNF- $\alpha$  juga mampu meningkatkan eksitotoksisitas glutamat melalui beberapa mekanisme, yaitu melalui penghambatan ambilan glutamat oleh astrosit, aktivasi reseptor NMDA dan AMPA, dan menghambat aktivasi reseptor *gamma-aminobutyric acid A* (GABA<sub>A</sub>) (Olmos and Lladó, 2014).

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya pada kondisi stroke iskemik, IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$  tersebut akan menyebabkan semakin meningkatnya infiltrasi sel ke area otak tersebut, sekresi IL-17, dan proses pembentukan DAMP yang terjadi secara terus-menerus. Kaskade inflamasi tersebut berpotensi menyebabkan kematian neuron yang lebih luas (Swardfager *et al.*, 2013). Dengan demikian, respon inflamasi di jaringan otak yang diinduksi oleh peningkatan kadar homosistein di jaringan otak memiliki karakteristik yang sama dengan yang terjadi pada stroke iskemik.



## II.9.2. Reaksi Stres Oksidatif yang Diinduksi oleh Homosistein

Stres oksidatif didefinisikan sebagai suatu kondisi ketidakseimbangan yang signifikan antara produksi radikal bebas (spesies reaktif) dan aktivitas anti-oksidan, sedemikian rupa sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kadar anti-oksidan dan/atau peningkatan produksi radikal bebas (Petras *et al.*, 2014). Stres oksidatif yang diinduksi oleh homosistein tersebut dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, antara lain auto-oksidasi, penurunan aktivitas enzim-enzim antioksidan seluler, pembentukan reaktif spesies, dan aktivitas NADPH oxidase (Borrione and Fossati, 2017). Homosistein yang diketahui memiliki gugus sulfhidril (-SH) yang sangat reaktif dapat mengalami reaksi oksidatif pada pH fisiologik dengan keberadaan oksigen, yang menghasilkan hidrogen peroksida dan spesies superoksid reaktif lainnya. Hidrogen peroksida yang terbentuk tersebut dapat bereaksi dengan *nitric oxide* (NO) untuk menghasilkan peroksinitrit, suatu oksidan yang sangat kuat (Zou and Banerjee, 2005).

Gugus thiol yang dimiliki oleh homosistein dapat mengalami auto-oksidasi logam transisi dan molekul oksigen untuk menghasilkan ROS (Perna, Ingrosso and Santo, 2003). Gugus thiol yang dimiliki homosistein juga dapat meningkatkan proses modifikasi struktur protein yang diinduksi oleh homosistein, suatu proses yang disebut dengan *homocysteinylation*. Proses *homocysteinylation* dan produksi radikal bebas yang diinduksi oleh homosistein tersebut diatas selanjutnya akan menginduksi terjadinya

respon inflamasi, toksisitas seluler, kematian sel, dan peningkatan aktivitas degradasi protein (Petras *et al.*, 2014). Proses *homocysteinylation* tersebut juga berperan dalam proses degenerasi neuronal, yaitu dengan meningkatkan deposisi dan toksisitas dari  $\beta$  amiloid dan hiperfosforilasi protein tau (Lam, Sharma and Lam, 2010).

Seperti diketahui, enzim CBS pada jalur transsulfurasi memediasi metabolisme homosistein untuk menghasilkan sistein. Sistein tersebut merupakan suatu substrat yang dibutuhkan untuk sintesis *glutathione*, suatu antioksidan intrasel. Dengan demikian, gangguan pada jalur transsulfurasi dalam metabolisme homosistein, misalnya pada defek aktivitas enzim CBS, dapat menyebabkan peningkatan aktivitas oksidatif stres pada sel akibat penurunan kadar antioksidan *glutathione* (Vitvitsky *et al.*, 2003).

### **II.9.3. Reaksi Eksitotoksitas Glutamat yang Diinduksi oleh Homosistein**

Homosistein dan produk oksidatifnya, *homocysteic acid*, dapat mencetuskan terjadinya eksitotoksitas glutamat di jaringan otak (Obeid and Herrmann, 2006). Peran homosistein secara langsung dalam terjadinya eksitotoksitas glutamat dapat terjadi melalui aktivitasnya sebagai agonis reseptor glutamat, baik reseptor ionotropik maupun metabotropik (Škovierová *et al.*, 2015). Salah satu dampak dari aktivasi reseptor NMDA metabotropik oleh homosistein dan derivatnya tersebut adalah aktivasi jalur pensinyalan (*signaling pathway*) yang melibatkan

*extracellular-signal regulated kinase* (ERK) dan *p38 mitogen activated protein kinase* (MAPK) yang secara berturut-turut menyebabkan terjadinya defosforilasi dan inaktivasi *cAMP response-element binding protein* (CREB) kematian neuron melalui jalur apoptosis (Poddar and Paul, 2009; Poddar *et al.*, 2017). Perannya secara tidak langsung yaitu melalui pengaruhnya dalam pembangkitan stres oksidatif dan neuroinflamasi, dengan mekanisme seperti yang telah dijelaskan sebelumnya (Olmos and Lladó, 2014; Petras *et al.*, 2014).

Akibat dari interaksi antara homosistein dengan reseptor NMDA tersebut adalah terjadinya influks ion kalsium dan gangguan homeostasis ion kalsium yang memediasi terjadinya efek eksitotoksisitas glutamat dari homosistein tersebut (Katkam, Ghodake and Suryakar, 2017). Dengan demikian, fenomena eksitotoksisitas glutamat yang diinduksi oleh influks ion kalsium pada sel neuron dan dampaknya terhadap kematian neuron sebagai akibat dari peningkatan kadar homosistein suprafisiologik didalam jaringan otak memiliki mekanisme yang sama dengan yang terjadi pada stroke iskemik, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

## **II.10. Peran Homosistein dalam Patogenesis Stroke Iskemik**

Respon inflamasi sistemik pada dasarnya sulit untuk mencapai sistem saraf pusat karena disebabkan karena terdapat beberapa faktor penghambat, terutama adalah terdapatnya sawar darah-otak. Namun pada kondisi stroke iskemik akut, dimana terjadi oklusi pembuluh darah otak, terdapat suatu fenomena dimana terjadi peningkatan konsentrasi

berbagai sitokin, baik didalam cairan serebrospinal maupun darah sirkulasi (Chamorro *et al.*, 2012). Hal ini menunjukkan bahwa pada kondisi tersebut terdapat serangkaian peristiwa kompleks yang terjadi antara sistem saraf pusat dan sistem kekebalan. Kondisi hiperhomosisteinemia berpotensi untuk menjadi salah satu mata rantai penting dari rangkaian peristiwa kompleks tersebut pada kondisi stroke iskemik. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, homosistein mampu menginduksi terjadinya respon inflamasi sistemik (Meng *et al.*, 2013; Fefelova *et al.*, 2015). Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa homosistein, bersama-sama dengan mediator inflamasi dan kondisi stres oksidatif yang disebabkan, juga memiliki kemampuan untuk menyebabkan terjadinya disrupsi sawar darah otak (Kamath *et al.*, 2006; Beard, Reynolds and Bearden, 2011), induksi respon inflamasi di sistem saraf pusat (Chen *et al.*, 2017; Weekman *et al.*, 2017), dan kematian sel-sel neuronal pada kondisi stroke iskemik (Lin *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2017). Homosistein juga turut berperan dalam pembentukan dan progresivitas dari plak aterosklerosis, suatu patologi utama yang mendasari terjadinya stroke iskemik (Ganguly and Alam, 2015). Dampak homosistein terhadap pembentukan dan progresivitas plak aterosklerosis tersebut diduga terjadi melalui 3 mekanisme, yaitu aktivasi respon inflamasi yang menginduksi terjadinya migrasi monosit menuju dinding arteri untuk bertransformasi menjadi makrofag pemfagosit kolesterol LDL teroksidasi, meningkatkan kadar kolesterol LDL teroksidatif di dinding pembuluh darah yang

selanjutnya akan difagosit oleh makrofag, dan menghambat regulasi metabolisme normal kolesterol dan trigliserid oleh sel-sel di dinding pembuluh darah (Lentz, 2001). Peran homosistein terhadap progresivitas aterosklerosis juga bisa terjadi melalui efeknya terhadap peningkatan tekanan darah (Guthikonda and Haynes, 2006).

Interaksi antara kondisi hiperhomosisteinemia dan peningkatan produksi mediator inflamasi dan stres oksidatif yang diinduksinya pada kondisi stroke iskemik, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, secara simultan menyebabkan meningkatnya aktivitas *matrix metalloproteinase* (MMP), terutama MMP-9 dan MMP-2, dan menurunkan aktivitas *tissue inhibitor of metalloproteinase* (TIMP). Kondisi tersebut selanjutnya akan menyebabkan terjadinya matriks ekstraseluler dari dinding pembuluh darah otak dan disrupsi sawar darah-otak (Kamat *et al.*, 2015).

#### **II.11. Peran Homosistein dalam Terjadinya Gangguan Fungsi Kognitif**

Homosistein dapat menyebabkan terjadinya gangguan fungsi kognitif melalui mekanisme vaskuler dan non-vaskuler. Penelitian yang dilakukan oleh Beard *et al.* menunjukkan bahwa homosistein mampu menginduksi terjadinya disfungsi endotel dan disrupsi sawar darah-otak mikrovaskuler melalui aktivitasnya sebagai agonis reseptor NMDA pada endotel mikrovaskuler dan neuron yang selanjutnya akan menginduksi terjadinya eksitotoksisitas glutamat. Eksitotoksisitas glutamat selanjutnya akan menginduksi terjadinya kerusakan pada protein yang diekspresikan

oleh sel endotel mikrovaskuler tersebut dan berfungsi sebagai komponen sawar darah-otak, yaitu *cadherin (adherens junction)* dan *claudin-5 (tight junction)* (Beard, Reynolds and Bearden, 2011). Peran homosistein dalam menyebabkan disfungsi endotel dan kerusakan sawar darah otak mikrovaskuler tersebut didukung oleh beberapa hasil penelitian pada orang lanjut usia yang sehat (Hassan *et al.*, 2004; Nam *et al.*, 2019). Pada populasi lanjut usia yang sehat, kondisi hiperhomosisteinemia ringan-sedang (dengan konsentrasi 15-100µm/l), melalui interaksinya dengan faktor-faktor risiko vaskuler lainnya, dapat meningkatkan risiko terjadinya infark otak asimtomatik (*silent brain infarction*) dan atrofi otak yang berkorelasi dengan kejadian gangguan fungsi kognitif (Matsui, Arai and Yuzuriha, 2001; Sachdev *et al.*, 2002; Rajagopalan *et al.*, 2011).

Pada pasien stroke iskemik dengan gangguan fungsi kognitif, kadar homosistein dalam darah lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol dan memiliki korelasi negatif dengan skor fungsi kognitif (Jiang *et al.*, 2014). Domain yang terutama terganggu pada kondisi tersebut adalah fungsi eksekutif dan atensi (Sachdev, Valenzuela and Brodaty, 2003). Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, akibat kerusakan sawar darah otak yang terjadi selama stroke iskemik, terjadi peningkatan konsentrasi homosistein didalam jaringan otak sebagai akibat dari translokasi homosistein kedalam jaringan otak, peningkatan produksi homosistein didalam jaringan otak, dan penurunan aktivitas enzim pemetabolisme homosistein akibat polimorfisme nukleotida tunggal pada gen enzim

tersebut, misalnya adalah polimorfisme gen *methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR) C677T. Peningkatan konsentrasi homosistein didalam jaringan otak tersebut selanjutnya akan menginduksi serangkaian proses yang mendasari terjadinya gangguan kognitif, antara lain proses neuroinflamasi, stres oksidatif, dan eksitotoksisitas glutamat, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

Peningkatan kadar homosistein didalam jaringan otak juga berkorelasi dengan atrofi hipokampus dan gangguan kognitif melalui peningkatan produksi A $\beta$  dan fosforilasi protein tau, suatu patologi seperti yang ditemukan penyakit Alzheimer (Dufouil and Alpe, 2003; Oikonomidi *et al.*, 2016). Suatu penelitian menunjukkan bahwa homosistein dapat menyebabkan terjadinya peningkatan produksi A $\beta$ 1-42 dari *amyloid precursor protein* (APP) didalam darah sirkulasi dan jaringan otak (Irizarry *et al.*, 2005; Zhuo *et al.*, 2010). Peningkatan produksi A $\beta$ 1-42 dari APP di otak, terutama di regio hipokampus dan korteks serebri, dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif, kerusakan DNA, terganggunya proses perbaikan DNA yang menyebabkan terjadinya kematian neuron. Kematian neuron pada regio otak yang berperan penting dalam mengemban fungsi kognitif tersebut akan menyebabkan terjadinya peningkatan produksi dan akumulasi A $\beta$  lebih lanjut di regio otak tersebut, sehingga kaskade kematian neuron melalui mekanisme stres oksidatif dan gangguan homeostasis ion seluler terus berlanjut dan bersifat terus-menerus (*self-sustaining*) (Kruman *et al.*, 2002).

## **II.12. Peran Polimorfisme Gen MTHFR dalam Terjadinya Gangguan Fungsi Kognitif**

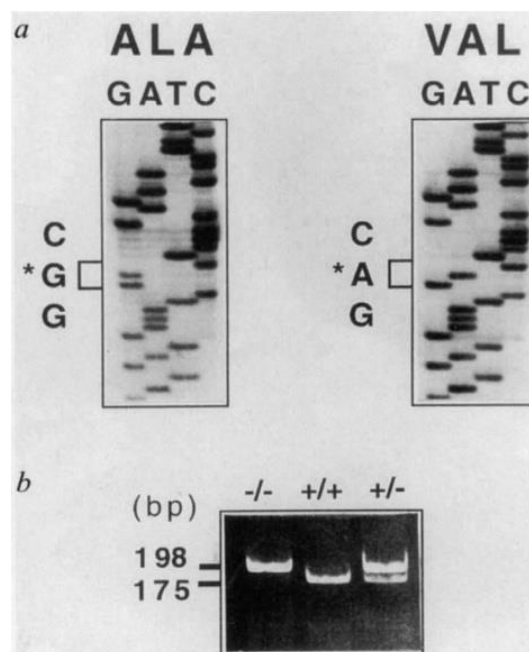
*Methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR) merupakan enzim yang berperan penting dalam metabolisme homosistein. Enzim ini berfungsi untuk mengkonversi *5,10-methylenetetrahydrofolate* menjadi *5-methyltetrahydrofolate*, suatu substrat yang diperlukan untuk mengkonversi homosistein menjadi methionine melalui jalur remetilasi yang bergantung pada folat (Barroso, Handy and Castro, 2017). Gen enzim ini terletak di lokus kromosom 1p36.22, dengan panjang gen 2,2-kb, terdiri dari 11 exon (Yang *et al.*, 2014). Penurunan aktivitas enzim MTHFR akibat adanya mutasi genetik pada gen pengkode enzim tersebut, misalnya polimorfisme nukleotida tunggal (*single nucleotide polymorphisms/SNP*), akan menyebabkan terjadinya peningkatan kadar homosistein, baik dalam darah maupun jaringan (Marini *et al.*, 2008; Olivera *et al.*, 2011). Saat ini telah teridentifikasi banyak sekali mutasi gen MTHFR yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas enzimatik dari enzim MTHFR yang dihasilkan, baik dalam bentuk *nonsense mutation*, *missense mutation*, *deletion*, maupun *splice variants* (Leclerc, Sibani and Rozen, 2013). Saat ini juga diketahui terdapat 14 polimorfisme nukleotida tunggal gen MTHFR yang masuk dalam kelompok *missense mutation* yang menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas enzimatik dari enzim MTHFR yang diproduksi (Wan *et al.*, 2018). Diantara 14 polimorfisme tersebut, polimorfisme MTHFR C677T dan MTHFR



A1298C merupakan polimorfisme nukleotida tunggal gen MTHFR yang paling banyak dilaporkan (Moll and Varga, 2015; Wan *et al.*, 2018). Dari kedua bentuk polimorfisme gen MTHFR tersebut, polimorfisme MTHFR C677T merupakan bentuk mutasi yang paling banyak diteliti terkait dampak klinik yang ditimbulkannya (Antonaros *et al.*, 2019).

Polimorfisme gen MTHFR C677T merupakan salah satu bentuk *missense mutation* yang ditandai dengan adanya substitusi *cytosine* (C) oleh *thymine* (T) pada posisi nukleotida 677 pada exon 4 gen MTHFR (pada urutan basa 11.796.321 (GRCh38)) yang menyebabkan terjadinya perubahan salah satu produk asam amino dari enzim MTHFR yang dihasilkan, yaitu dari *alanine* (ALA) menjadi *valine* (VAL) pada asam amino 222 (Gambar 2.4) (Ford *et al.*, 2012; Borrione and Fossati, 2017). Perubahan produk asam amino ALA menjadi VAL tersebut terjadi pada *N-terminal catalytic domain* dari enzim MTHFR yang menyebabkan terjadinya penurunan aktivitas enzimatik dari enzim MTHFR tersebut menjadi 30-60% dari aktivitas normalnya (Antonaros *et al.*, 2019; Pençe *et al.*, 2019). Pada pemeriksaan elektroforesis, dihasilkan pita (fragmen) DNA gen MTHFR dengan genotipe CC yang memiliki pita DNA dengan panjang 198 bp, gen MTHFR dengan genotipe CT memiliki 2 pita DNA dengan panjang 198 bp dan 175 bp, dan gen MTHFR dengan genotipe TT memiliki pita dengan panjang 175 bp (Frosst *et al.*, 1995; Elhawary *et al.*, 2013; Arina *et al.*, 2019).

Perubahan produk asam amino tersebut menyebabkan stabilitas enzim MTHFR terhadap suhu (*thermostability*) menurun pada suhu 37°C atau lebih tinggi yang berdampak pada penurunan aktivitas enzim tersebut dan peningkatan kadar homosistein serum basal sebesar 20% (Frosst *et al.*, 1995; Liew and Gupta, 2015). Penurunan aktivitas enzim tersebut menyebabkan turunnya ketersediaan substrat *5-methyltetrahydrofolate* yang dibutuhkan untuk metabolisme homosistein, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.



**Gambar II.4. Hasil pemeriksaan RFLP-PCR dan sequencing untuk identifikasi polimorfisme gen MTHFR C677T dan residu asam amino yang dihasilkan.** A. Sekuens dari dua individu, yaitu individu dengan genotip MTHFR normal (CC) dengan residu alanine dan individu dengan genotip (TT) dengan residu valine. B. Pada hasil pemeriksaan elektroforesis, didapatkan pita (fragmen) DNA gen MTHFR dengan genotipe CC yang memiliki pita DNA dengan panjang 198 bp, gen MTHFR dengan genotipe CT memiliki 2 pita DNA dengan panjang 198 bp dan 175 bp,

dan gen MTHFR dengan genotipe TT memiliki pita dengan panjang 175 bp (Frosst *et al.*, 1995).

Prevalensi polimorfisme gen MTHFR C677T bervariasi, terutama dipengaruhi oleh etnik (Liew and Gupta, 2015). Secara umum, prevalensinya pada populasi umum cukup tinggi. Prevalensi *allele T* pada populasi kulit putih, orang Jepang, dan orang Afrika masing-masing sebesar 35%, 42%, dan 8% (Rosenberg *et al.*, 2002). Data prevalensi polimorfisme gen MTHFR C677T pada populasi umum di Indonesia, saat ini belum ada, namun data prevalensi dalam bentuk genotipe heterozigot dan homozigot pada sub-populasi pasien stroke iskemik di Indonesia dilaporkan cukup tinggi, yaitu 13,9-24,5% untuk heterozigot (CT) dan 3,8-4,2% untuk homozigot (TT) (Pramukarso *et al.*, 2015; Arina *et al.*, 2019). Aktivitas enzimatik MTHFR pada subjek dengan polimorfisme gen homozigot (677TT) dan heterozigot (C677T), masing-masing hingga sebesar 30% dan 60% dibandingkan dengan subjek normal (677CC) (Arsene *et al.*, 2011). Polimorfisme gen tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan kadar homosistein dan menjadi faktor risiko untuk terjadinya stroke iskemik dan gangguan fungsi kognitif (Gorgone *et al.*, 2009; Ford *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2017).

### **II.13. Evaluasi Fungsi Kognitif Pasca Stroke**

Mengingat gangguan kognitif merupakan salah satu komplikasi penting dari stroke iskemik dan prevalensinya tinggi pada pasien stroke iskemik akut, maka penilaian fungsi kognitif pasca stroke iskemik sangat

penting untuk dilakukan dalam 3 bulan pertama dari awitan stroke, terutama dalam 3-4 minggu pertama dari awitan stroke (Nys *et al.*, 2005; Gottesman and Hillis, 2010; Chiti and Pantoni, 2014). Penilaian fungsi kognitif pasca stroke iskemik dapat dikerjakan dalam rangka deteksi dini gangguan kognitif pasca stroke iskemik atau untuk mengkonfirmasi hasil deteksi dini gangguan kognitif tersebut. Untuk penerapannya pada populasi pasien stroke iskemik, maka instrumen untuk deteksi dini gangguan kognitif pasca stroke merupakan instrumen terpilih. Diantara berbagai instrumen deteksi dini gangguan kognitif pasca stroke iskemik, dua diantaranya yang paling banyak digunakan dalam berbagai penelitian adalah *Mini-Mental State Examination* (MMSE) dan *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA) (Cumming, Bernhardt and Linden, 2011; Lees *et al.*, 2012; Cumming *et al.*, 2013).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa instrumen MoCA lebih unggul dalam deteksi dini gangguan kognitif pasca stroke iskemik (Pendlebury *et al.*, 2010; Toglia *et al.*, 2011; Blackburn *et al.*, 2013). Instrumen MoCA mampu mendeteksi adanya pada domain kognitif atensi, fungsi eksekutif, dan memori tertunda, tiga domain kognitif yang paling rentan mengalami gangguan akibat stroke iskemik, dan kemampuan tersebut tidak dimiliki oleh instrumen MMSE (Pendlebury *et al.*, 2010). Instrumen MoCA juga sudah tervalidasi di banyak negara, diantaranya adalah Swedia, Cina, Korea, dan Indonesia (Zuo *et al.*, 2016; Lestari *et al.*, 2017; Abzhandadze *et al.*, 2018; Lim *et al.*, 2018).

## **II.14. Dampak Gangguan Kognitif terhadap Kapasitas Fungsional Pasien Pasca Stroke Iskemik**

Penurunan pasca stroke iskemik merupakan salah satu faktor risiko penting untuk terjadinya penurunan kapasitas fungsional pasiennya. Kerentanan penurunan tingkat kapasitas fungsional pasien yang terkait dengan penurunan fungsi kognitif pasca stroke iskemik tersebut ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain karakteristik stroke iskemik dan *cognitive reserve* yang dimiliki oleh pasien pasca stroke iskemik (Kalaria, Akinyemi and Ihara, 2016; Zhao *et al.*, 2018; Shin *et al.*, 2020). Penurunan tingkat kapasitas fungsional yang bermakna secara klinis sebagai dampak dari penurunan fungsi kognitif pasca stroke iskemik akan menyebabkan ketergantungan pasiennya dalam melakukan aktivitas dasarnya sehari-hari, terlepas dari defisit neurologis yang dialaminya, kepada anggota keluarga yang mengasuhnya. Hal ini tentunya akan menyebabkan timbulnya beban sosial, ekonomi, dan psikologis pasien dan pengasuhnya (Rohde *et al.*, 2017). Oleh karena itu, evaluasi fungsi kognitif dan kapasitas fungsional pada fase awal stroke iskemik dan identifikasi faktor predisposisi genetik untuk terjadinya penurunan fungsi kognitif pasca stroke iskemik (misalnya identifikasi polimorfisme gen yang sedang diteliti saat ini) diharapkan dapat membantu dalam penyusunan strategi intervensi penurunan fungsi kognitif pasiennya, sedemikian rupa sehingga mereka tetap memiliki kapasitas fungsional yang optimal.

#### **II.14.1. Karakteristik Stroke Iskemik sebagai Faktor Determinan untuk Penurunan Fungsi Kognitif dan Kapasitas Fungsional Pasca Stroke Iskemik**

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, oklusi pembuluh darah otak pada stroke iskemik menyebabkan terjadinya kematian neuron dan gangguan pada sirkuit neuronal. Kematian populasi neuron dan gangguan sirkuit neuronal pada area yang berperan penting dalam mengemban fungsi kognitif tertentu (domain kognitif) dapat menyebabkan terganggunya fungsi dari domain kognitif tersebut. Sebagai contoh, kematian populasi neuron dan gangguan sirkuit neuronal pada area hipokampus akan menyebabkan penurunan pada fungsi memori. Bila kondisi tersebut terjadi di regio frontal, maka akan terjadi penurunan pada fungsi eksekutif dan atensi (Rabinovici, Stephens and Possin, 2015). Pada infark yang lebih luas, maka domain kognitif yang terganggu juga akan semakin banyak dan hal ini akan memperburuk prognosis dari penurunan fungsi kognitif pasca stroke tersebut. Dengan demikian, lokasi infark (struktur-struktur otak yang terkena) dan ukuran infark (derajat luasnya struktur anatomi otak yang terganggu) merupakan karakteristik stroke iskemik yang penting dalam menentukan kerentanan pasien stroke iskemik untuk mengalami penurunan fungsi kognitif (Kalara, Akinyemi and Ihara, 2016; Zhao *et al.*, 2018).

Dampak penurunan fungsi kognitif pasca stroke iskemik terhadap tingkat penurunan kapasitas fungsional pasiennya terutama ditentukan

oleh domain kognitif yang terkena, terutama adalah domain fungsi eksekutif. Secara garis besar, fungsi eksekutif mencakup kemampuan seseorang untuk merencanakan, memulai suatu tugas, pemecahan masalah, beradaptasi terhadap situasi atau lingkungan yang baru, dan memodifikasi rencana sewaktu menghadapi situasi yang tidak sesuai dengan yang diperkirakan sebelumnya (Kluwe-Schiavon *et al.*, 2013). Seperti diketahui, lingkup fungsi eksekutif tersebut diatas merupakan suatu fleksibilitas kognitif yang sangat penting untuk dimiliki oleh seorang individu dalam melakukan aktivitas sehari-hari, baik untuk aktivitas fisik maupun aktivitas sosial. Oleh karena itu, penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa stroke iskemik yang menyebabkan terjadinya penurunan pada fungsi eksekutif akan menyebabkan terjadinya penurunan fleksibilitas kognitif dan kapasitas fungsional pasiennya (Marshall *et al.*, 2011; Cumming, Marshall and Lazar, 2013; Arsic *et al.*, 2015).

#### **II.14.2. *Cognitive Reserve* sebagai Faktor Protektif terhadap Penurunan Fungsi Kognitif dan Kapasitas Fungsional Pasca Stroke Iskemik**

*Cognitive reserve* adalah suatu deskripsi dari kemampuan otak untuk mengkompensasi keberadaan lesi di otak, termasuk lesi iskemik, sedemikian rupa sehingga populasi neuron dan sirkuit neuronal di otak dapat tetap dapat berfungsi secara optimal dan/atau mengalami perbaikan secara optimal dalam kurun waktu yang relatif cepat (Stern, 2013).

Dengan demikian, dua orang yang mengalami stroke iskemik dengan karakteristik stroke yang sama dapat memiliki kapasitas fungsional yang berbeda, dimana satu orang pasien tetap memiliki kapasitas fungsional yang lebih baik atau mengalami perbaikan yang lebih cepat dan optimal bila dibandingkan dengan pasien lainnya. Mekanisme yang mendasari terjadinya kompensasi atau perbaikan yang optimal pada kapasitas fungsional ini adalah kemampuan neuron dalam memperbaiki hubungan sinaptik satu sama lain secara efisien (*neuronal reserve*) dan kemampuan populasi neuron dari suatu area otak dalam merekrut populasi neuron pada area otak lainnya disekitar lesi iskemik untuk mengkompensasi fungsi yang terganggu (*neural compensation*) (Kluwe-Schiavon *et al.*, 2013).

Secara umum, *cognitive reserve* ditentukan oleh pengalaman hidup seseorang sebelum mengalami stroke iskemik yang diperoleh melalui serangkaian kegiatan, antara lain pendidikan formal, pekerjaan, hobi, aktivitas fisik, dan aktivitas sosial (Barulli and Stern, 2013). Dengan demikian, secara teori, pasien stroke iskemik yang memiliki tingkat pendidikan formal yang lebih baik, aktif bekerja, rutin melakukan aktivitas hobi dan fisik, dan aktif dalam berinteraksi sosial akan memiliki kapasitas fungsional yang lebih baik atau mengalami perbaikan secara optimal lebih cepat dibandingkan pasien lain dengan karakteristik stroke yang relatif sama. Namun demikian, usia merupakan faktor determinan untuk potensi perbaikan klinis dalam hal fungsi kognitif dan kapasitas fungsional dari



pasien stroke iskemik dengan *cognitive reserve* yang baik. Dalam hal ini, pasien dengan *cognitive reserve* yang baik yang memiliki usia lanjut, dimana fleksibilitas kognitif dari otaknya sudah mulai menurun, maka perbaikan klinisnya dapat tidak tercapai secara optimal.

Salah satu faktor predisposisi genetik, yaitu keberadaan polimorfisme gen *methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR) C677T, juga dapat menjadi faktor penghambat perbaikan klinis fungsi kognitif dan kapasitas fungsional pasien pasca stroke iskemik yang memiliki *cognitive reserve* yang baik (Dabrowski *et al.*, 2019). Pada jangka panjang, polimorfisme gen MTHFR C677T tersebut menyebabkan terjadinya penurunan kadar S-adenosyl-L-methionine (SAM), suatu donor metil universal yang diperlukan untuk metilasi DNA, terutama di area otak yang berperan penting dalam mengemban fungsi kognitif (Roman, Mancera-Paez and Bernal, 2019). Kondisi tersebut selanjutnya akan menyebabkan terjadinya hipometilasi DNA dan aktivasi gen-gen yang berperan penting dalam proses neurodegeneratif (Lu *et al.*, 2013). Dampak yang ditimbulkan dari kondisi tersebut adalah penurunan fungsi kognitif dan kapasitas fungsional yang lebih berat.

#### **II.14.3. Evaluasi Tingkat Penurunan Kapasitas Fungsional Pasca Stroke Iskemik**

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, pasien stroke iskemik yang mengalami penurunan fungsi kognitif, meskipun hanya mengalami defisit motorik ringan, memiliki kerentanan untuk mengalami penurunan

kemandirian sampai dengan ketergantungan total kepada orang lain untuk kelangsungan hidupnya (Crichton *et al.*, 2016). Evaluasi fungsi kognitif pada fase awal stroke dengan menggunakan instrumen *Montreal Cognitive Assessment* (MoCA) dapat memprediksi terjadinya penurunan kapasitas fungsional pasiennya setelah pengamatan selama 3 tahun pasca stroke (Zietemann *et al.*, 2018). Oleh karena itu, evaluasi tingkat penurunan kapasitas fungsionalnya dalam melakukan aktivitas sehari-hari pada pasien dengan gangguan kognitif pasca stroke sangat penting untuk dilakukan. Dengan tatalaksana terhadap gangguan kognitif pada pasien stroke tersebut, sebagai bagian dari tatalaksana menyeluruh untuk stroke, akan memberikan luaran klinis yang lebih baik (Paker *et al.*, 2010).

Saat ini tersedia banyak instrumen yang dapat digunakan untuk menilai tingkat penurunan kapasitas fungsional sehari-hari pada pasien stroke, salah satu diantaranya yang cukup sering digunakan dalam praktek klinik untuk tujuan tersebut adalah *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS) (Paker *et al.*, 2010; Sablot *et al.*, 2011; Ntaios *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Sharma *et al.* menunjukkan bahwa penurunan status fungsi kognitif pasca stroke iskemik berdasarkan skor MoCA berhubungan secara bermakna dengan peningkatan skor NIHSS (Sharma *et al.*, 2020). Kombinasi evaluasi fungsi kognitif dengan menggunakan MoCA dan *Mini-mental State Examination* (MMSE) dan kapasitas fungsional dengan menggunakan NIHSS pada pasien stroke fase subakut juga dapat memprediksi luaran fungsional pasien tersebut

dalam kurun waktu 3-6 bulan pasca stroke (Dong *et al.*, 2013). Instrumen NIHSS terdiri dari 11 komponen penilaian dan memiliki rentang skor total 0-42 (Gajurel *et al.*, 2014). Dengan menggunakan instrumen NIHSS, tingkat penurunan kapasitas fungsional pasien pasca stroke iskemik dapat dikategorisasikan menjadi ringan (NIHSS <4), sedang (NIHSS 4 – 15), dan berat (NIHSS >15) (Ritarwan *et al.*, 2020).