

KARYA AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN DIFENHIDRAMIN HCl
TERHADAP KADAR HISTAMIN, *TUMOR NECROSIS
FACTOR- α* dan *BRAIN WATER CONTENT* PADA CEDERA
OTAK TRAUMATIKA TIKUS ALBINO JANTAN GALUR
WISTAR (*Rattus novergicus*)**

*The Role of Diphenhydramine HCl on the Levels of Histamine, Tumor Necrosis
Factor- α and Brain Water Content in Wistar Male Rats (*Rattus novergicus*)
with Traumatic Brain Injury*



VENANSIUS RATNO KURNIAWAN

C205171001

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH SARAF
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

KARYA AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN DIFENHIDRAMIN HCl
TERHADAP KADAR HISTAMIN, *TUMOR NECROSIS
FACTOR- α* dan *BRAIN WATER CONTENT* PADA CEDERA
OTAK TRAUMATIKA TIKUS ALBINO JANTAN GALUR
WISTAR (*Rattus novergicus*)**

*The Role of Diphenhydramine HCl on the Levels of Histamine, Tumor Necrosis
Factor- α and Brain Water Content in Wistar Male Rats (*Rattus novergicus*)
with Traumatic Brain Injury*

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Dokter Spesialis-1

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

Venansius Ratno Kurniawan

C205171001

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH SARAF
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN KARYA TESIS

Pengaruh Pemberian Difenhidramin HCl Terhadap Kadar Histamin, *Tumor Necrosis Factor- α* dan *Brain Water Content* pada Cedera Otak Traumatika Tikus Albino Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*)

Disusun dan diajukan oleh :

Venansius Ratno Kurniawan

C205171001

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis-I Ilmu Bedah Saraf Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 8 Juni 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K)
NIP. 195510191 98203 1 001

Dr. dr. Willy Adhimarta, Sp.BS(K)
NIP. 197603222 00812 1 001

Pembimbing Pendamping

Dr. dr. Andi Alfan Zainuddin, M.KM
NIP. 198307272 200912 1 005

Ketua Program Studi

Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K)
NIP. 195510191 98203 1 001



Prof. Dr. dr. Haerani Rasvid, Sp.PD-KGH SP.GK M.Kes
NIP. 196805301 99603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Venansius Ratno Kurniawan

Nomor Mahasiswa : C205171001

Program Studi : Ilmu Bedah Saraf

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

Makassar, 8 Juni 2022

Yang menyatakan,



49DAKX312612927

Venansius Ratno Kurniawan

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan kemurahan-nya, sehingga saya dapat menyelesaikan karya akhir ini sebagai salah satu prasyarat dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis-I Ilmu Bedah Saraf di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.

Saya menyadari banyak hambatan dan tantangan yang saya hadapi dalam penyusunan karya akhir ini tetapi atas bantuan yang tulus, bimbingan, dan dorongan semangat yang diberikan pembimbing saya, Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K), Dr. dr. Willy Adhimarta, Sp.BS(K), dan Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, M.KM serta penguji saya Dr. dr. Djoko Widodo, Sp.BS(K), Dr. dr. Nasrullah Mustamir, Sp.BS(K), Dr. dr. Andi Ihwan, Sp.BS(K), dan Dr. dr. Wahyudi, Sp.BS(K) sehingga penulisan karya ini dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini saya ingin menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Jamaluddin Jompa, M.Si selaku Rektor Universitas Hasanuddin; Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, Sp.PD-KGH Sp.GK M.Kes, sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas; dr. Uleng Bahrn, Sp.PK(K), Ph.D selaku manajer Program Studi Dokter Spesialis Universitas Hasanuddin, Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K), selaku Ketua Program Studi Ilmu Bedah Saraf Universitas Hasanuddin, Dr. dr. Willy Adhimarta, Sp.BS(K) sebagai Sekretaris Program Studi Ilmu Bedah Saraf Universitas Hasanuddin, dan senior saya dr. Bambang Prayitno, Sp.BS(K), Dr. dr. Rohadi Sp.BS(K) yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis-I Ilmu Bedah Saraf di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Terima kasih kepada pada guru-guru saya seluruh Guru Besar dan Staf Pengajar Departemen Ilmu Bedah Universitas Hasanuddin, khususnya kepada seluruh Staf Pengajar Divisi Bedah Saraf Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K), Dr. dr. Djoko Widodo, Sp.BS(K), Dr. dr. Nasrullah Mustamir, Sp.BS(K), Dr. dr. Willy Adhimarta, Sp.BS(K), Dr. dr. Andi Ihwan, Sp.BS(K), dan Dr. dr. Wahyudi, Sp.BS(K), yang telah dengan sabar mendidik dan membimbing saya untuk meningkatkan ilmu dan keterampilan pada diri saya.

Terima kasih kepada para sejawat Residen Bedah Saraf Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik. Secara khusus saya ucapkan terima kasih kepada Ibu Fifi Noviani Madjid, AMD, Kak Marlina Rajab, Kak Nunung Mujiwiyanti, dr. Nur Arief, dr. Agus Riansyah, dr. Ramdhan Gautama, dr. Kevin Jonatahan, dr. Hendra Pajan, dr. Husni, dr. Rafela, dr. Mirza Pasaribu dan dr. Ahmad Zaky; terima kasih untuk segala bantuan dan dukungan yang telah diberikan. Tidak lupa pula saya ucapkan limpah terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu namun tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Terima kasih yang istimewa saya haturkan kepada Ayahanda (alm). Fransiskus Ara Labi dan Ibunda Tatiana Justina Suhemi, Ayah Mertua dr. I Gusti Bagus Budi Harta, Sp.B dan Ibu Mertua I Dewa Ayu Mirah Kesuma Dewi, SE, kepada istri saya dr. I Gusti Ayu Dian Pratiwi, dan Putra kami Lionel Andres Harvey Kurniawan. Kepada saudara-saudari saya Ratih Ika, Pius Sutrisno, Diah

Kusuma, dan Lingga Budi yang senantiasa telah memberikan dukungan, semangat, dan doa kepada saya dalam menyelesaikan penelitian saya ini.

Saya sangat menyadari bahwa penelitian kami ini masih jauh dari sempurna, dan masih banyak kekurangan. Oleh karena itu kami sangat mengharapkan adanya kritik dan sarah yang membangun dari semua pihak dalam memperbaiki penelitian ini.

Akhir kata semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada semua pihak yang telah mencurahkan budi baik, pengorbanan, dan bantuan kepada saya selama pendidikan, penelitian dan penulisan karya akhir ini.

***“If I have seen further it is by standing on the shoulders of giants”
(Isaac Newton).***

Makassar, 10 Juni 2022
Penulis,

Venansius Ratno Kurniawan

ABSTRAK

VENANSIUS RATNO KURNIAWAN. *Pengaruh Pemberian Difenhidramin HCl terhadap Kadar Histamin Necrosis Factor- α (TNF- α) dan Brain Water Content (BWC) pada Cedera Otak Traumatika Tikus Albino Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*) (dibimbing oleh Andi Asadul Islam, Willy Adhimarta, dan Andi Alfian Zainuddin).*

Cedera otak traumatika (COT) merupakan salah satu penyebab terbanyak kematian dan disabilitas di dunia dan menjadi beban, baik bagi individu yang mengalami cedera maupun bagi keluarganya. Kebanyakan masalah yang dihadapi oleh pasien pasca-COT dimediasi oleh proses neuroinflamasi pascacedera primer. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menilai efek dari injeksi difenhidramin HCl (DPH) terhadap kadar sitokin inflamasi (histamin, TNF- α) dan *brain water content* (BWC) pasca-COT. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental semu dengan desain kontrol pra uji dan pasca uji. Total sampel sebanyak sepuluh ekor tikus Wistar dewasa yang dibagi kedalam dua kelompok (kelompok DPH dan kelompok placebo). Efek dari DPH dinilai pada kadar serum histamin dan TNF- α pada menit ke-30, jam ke-2 dan jam ke-24, dan juga BWC 24 jam pasca induksi COT dengan menggunakan model *Marmarou's weight-drop*. Hasil kadar Histamin dan TNF- α serum pada kelompok DPH lebih rendah dibandingkan dengan kelompok placebo pada menit ke-30 ($p < 0,001$; $p = 0,432$), jam ke-2 ($p < 0,001$; $p = 0,001$), dan jam ke-24 ($p < 0,001$; $p < 0,001$) pasca-COT. BWC di kelompok DPH juga lebih rendah dibandingkan dengan kelompok placebo pada jam ke-24 pasca-COT ($p < 0,001$). Uji korelasi Spearman menunjukkan bahwa kadar histamin memiliki korelasi positif yang kuat dengan kadar TNF- α dengan nilai $r = 0,871$ ($p < 0,001$).

Kata kunci: Difenhidramin HCl, Histamin, *Tumor Necrosis Factor- α* , *Brain Water Content*, cedera otak traumatika

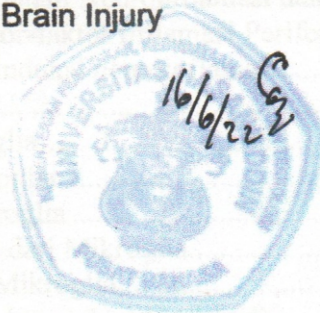


ABSTRACT

VENANSIUS RATNO KURNIAWAN. *The Role of Diphenhydramine HCL on The Levels of Histamine, Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) Serum and Brain Water Content (BWC) in Wistar Male Rats (*Rattus norvergicus*) in Traumatic Brain Injury* (Supervised by **Andi Asadul Islam, Willy Adhimarta, and Andi Alfian Zainuddin**)

Traumatic Brain Injury (TBI) is considered a major cause of death and disability worldwide and a major burden affecting both individuals and their families. Many of the issues that TBI patients face are thought to be mediated by the neuroinflammatory process after the primary injury. Therefore, the present study is conducted to determine the effect of diphenhydramine HCl (DPH) against the levels of inflammatory cytokines (Histamine and TNF- α) and cerebral edema (BWC) after TBI. True experimental method with pre- and post-test control group design was used. A total of 10 adult Wistar rats were divided into 2 groups, the DPH group, and placebo group. The effect of DPH was evaluated on the serum levels of inflammatory cytokines histamine and tumor necrosis factor- α at 30 minutes, 2 hours, 24 hours and also on the brain water content at 24 hours after the induction of experimental traumatic brain injury in rats by using Marmarou's weight-drop model. The level of histamine and TNF- α serum in DPH group is lower than in placebo group at 30 minutes ($p < 0.001$; $p = 0.432$), 2-hours ($p < 0.00$; $p = 0.001$) and 24-hours ($p < 0.001$; $p < 0.001$) after TBI. Brain water content in the DPH group is lower than the placebo group at 24-hours after TBI ($p < 0.001$). Spearman correlation test reveals that histamine levels have a very high positive correlation with the TNF- α levels with an r value of 0.871 ($p < 0.001$). So the results of this study suggests that DPH causes a reduction of the serum levels of Histamine, TNF- α , and BWC.

Keywords: Diphenhydramine, Tumor Necrosis Factor- α , Brain Water Content, Traumatic Brain Injury



DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Daftar Isi	ii
Daftar Gambar	v
Daftar Tabel	vii
Daftar Singkatan	viii
BAB I. Pendahuluan.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Keaslian Penelitian	6
BAB II. Tinjauan Pustaka	12
2.1 Cedera Otak Traumatika	12
2.2 Mekanisme Cedera Otak Traumatika	14
2.2.1 Cedera Otak Traumatika Fokal.....	16
2.2.2 Cedera Otak Traumatika Diffuse.....	18
2.3 Patogenesis Cedera Otak Traumatika	21
2.3.1 Reaksi Inflamasi Pasca Cedera Otak Traumatika.....	28
2.3.1.1 <i>Innate, non-specific immune response to TBI</i>	32
2.3.1.2 Respon Imun Adaptif terhadap Cedera Otak Traumatika ..	38
2.3.1.3 Sitokin Pada Cedera Otak Traumatika.....	41
2.3.1.4 Kemokine Pada Cedera Otak Traumatika	45
2.3.2 Mekanisme Kematian Sel	47
2.4 Sel Mast	52
2.4.1 Perubahan Ekspresi Sel Mast Dural dan Reseptor Histamin Pasca Cedera Otak Traumatika	54
2.4.2 Peran Sel Mast Dalam Neuroinflamasi dan Neurodegenerasi.....	57
2.4.3 Mekanisme Faktor-faktor Inflamasi Perifer dan sel-sel Inflamasi Menginduksi neuroinflamasi.....	62
2.5 Sel Mikroglia	65
2.5.1 Asal dari Mikroglia.....	66
2.5.2 Lokasi Sel Mikroglia	67
2.5.3 Fungsi dari Mikroglia	68
2.5.4 Morfologi <i>states</i> dari Mikroglia.....	71
2.5.4.1 <i>Ramified</i> Mikroglia.....	71
2.5.4.2 Makrofag / <i>amoeboid</i> Mikroglia	72
2.5.5 Konsep perbedaan stadium aktivasi dari makrofag perifer	73
2.5.5.1 Aktivasi klasik (M1).....	74
2.5.5.2 Aktivasi mikroglia (M2).....	75
2.5.6 Aktivasi Mikroglia pada Cedera Otak Traumatika	76
2.5.6.1 Tahap aktivasi Mikroglia pada Cedera Otak Traumatika....	77

2.5.6.2	Perubahan Jaringan transkripsi dari Sel Mikroglia berdasarkan waktu pasca traumatika.....	82
2.5.7	Aktivasi Mikroglia oleh Histamin dan Substansi P	89
2.6	Histamine	92
2.7	Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α)	102
2.7.1	Sintesis Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α).....	104
2.7.2	Peran Ganda Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α).....	104
2.7.3	Mediasi Kerusakan Jaringan dan Fungsional Outcome Oleh Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) Pasca Cedera Otak Traumatika	108
2.7.4	Perubahan Kadar atau Level TNF- α Pasca Cedera Otak Traumatika Berdasarkan Waktu.....	113
2.7.5	Potensial Terapi Inhibitor TNF- α Pasca Cedera Otak Traumatika.....	117
2.8	Difenhidramin Hidroklorida	121
2.8.1	Farmakodinamik	122
2.8.2	Farmakokinetik	123
2.8.3	Efek samping dan Interaksi Obat.....	124
2.8.4	Kontraindikasi.....	124
2.8.5	Peran Difenhidramin dalam Cedera Kepala	125

BAB III. Kerangka Penelitian dan Hipotesis.....128

3.1	Kerangka Teori	128
3.2	Kerangka Konsep.....	129
3.3	Hipotesis	129

BAB IV Metode Penelitian.....131

4.1	Rancangan Penelitian.....	131
4.2	Lokasi dan Waktu Penelitian	132
4.2.1	Lokasi Penelitian	132
4.2.2	Waktu Penelitian.....	132
4.3	Populasi dan Sampel Penelitian.....	132
4.3.1	Populasi.....	132
4.3.2	Besar Sampel	133
4.3.3	Kriteria Inklusi dan Eksklusi	133
4.4	Definisi Operasional	134
4.5	Kriteria Objektif.....	135
4.6	Instrumen Pengumpulan Data.....	135
4.6.1	Pemilihan Alat dan Bahan	135
4.7	Jalannya Penelitian	137
4.8	Metode Pemeriksaan.....	145
4.8.1	Prosedur pemeriksaan ELISA.....	145
4.8.2	Pemeriksaan <i>Brain-water content</i>	158
4.9	Alur Penelitian	160
4.10	Analisis Data.....	160
4.11	Etika Penelitian.....	161

BAB V Hasil dan Pembahasan Penelitian.....	162
5.1 Karakteristik Subyek Penelitian	163
5.2 Efek Difenhidramin Terhadap Kadar Histamin pada Hewan Coba Tikus Pasca Cedera Otak Traumatika.....	165
5.3 Efek Difenhidramin Terhadap Kadar TNF- α pada Hewan Coba Tikus Dengan Cedera Otak Traumatika	171
5.4 Efek Difenhidramin terhadap <i>Brain-Content</i> pada Hewan Coba Tikus dengan Cedera Otak Traumatika.....	181
5.5 Korelasi antara Kadar Histamin dan TNF- α setelah induksi cedera otak traumatika pada kelompok pemberian difenhidramin.....	188
 BAB VI Kesimpulan dan Saran.....	 192
6.1 Kesimpulan	185
6.2 Saran	185
 Daftar Pustaka.....	 194
 Lampiran 1 Data Mentah Hasil Penelitian Kadar Histamin Serum.....	 216
Lampiran 2 Data Mentah Hasil Penelitian Kadar TNF- α Serum	217
Lampiran 3 Data Mentah Hasil Penelitian Brain Water Content (BWC).....	218

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Level Glutamat dan Potasium pasca Cedera Otak Traumatika	26
Gambar 2.2	Kadar Glukosa pasca Cedera Otak Traumatika	26
Gambar 2.3	Mekanisme molekuler dari aktivasi microglia	36
Gambar 2.4	Peningkatan Reseptor <i>AMPA</i> dan <i>NMDA</i> pada <i>glutaminergic storm</i>	48
Gambar 2.5	Efek dari peningkatan level kalsium intraseluler	49
Gambar 2.6	Diagram skematik neuroinflamasi dan neurodegenerasi	58
Gambar 2.7	Stadium morfologi dari mikroglia sistem saraf pusat	76
Gambar 2.8	Ilustrasi Pewarnaan Iba-1 morfologi ramified microglia	79
Gambar 2.9	Fenotip microglia pasca Cedera Otak Traumatika	89
Gambar 2.10	Reseptor-reseptor Histamin	95
Gambar 2.11	<i>Crucial events</i> TNF- α pada COT dan Stroke iskemia	112
Gambar 2.12	<i>mTBI induce a time-dependent rise in brain TNF- α level</i> ..	114
Gambar 2.13	Level TNF- α dan TNFR pasca trauma	117
Gambar 2.14	Target terapeutik terhadap <i>TNF- α related inflammation</i> pada COT dan Iskemia	118
Gambar 2.15	Efektivitas etanercept dalam pathogenesis inflamasi pasca COT atau Stroke iskemia	120
Gambar 2.16	Struktur Difenhidramin	121
Gambar 3.1	Kerangka Teori	128
Gambar 3.2	Kerangka Konsep	129
Gambar 4.1	Kerangka Penelitian	131
Gambar 4.2	Pembuatan <i>Rat Anesthetic mix (ketamin cocktail)</i>	138
Gambar 4.3	Difenhidramin hcl	138
Gambar 4.4	Sampel tikus wistar	139
Gambar 4.5	Prosedur pengambilan sampel darah vena dari ekor tikus ..	139
Gambar 4.6	Teknik injeksi intraperitoneal	140
Gambar 4.7	Skematik alat <i>marmarou's weight drop model</i>	141
Gambar 4.8	Prosedur Cedera Otak Traumatika pada tikus	142
Gambar 4.9	Prosedur injeksi difenhidramin hcl/placebo, intravena	143
Gambar 4.10	Prosedur torakotomi, pengambilan sampel darah dari jantung dan pengolahan sampel	143
Gambar 4.11	Prosedur Kraniektomi	144
Gambar 4.12	Rat TNF- α <i>ELISA Kit</i> dan <i>Rat Histamine (HIS) ELISA Kit</i>	145
Gambar 4.13	Sampel Penelitian	146
Gambar 4.14	Proses preparasi standard dilution (a-e)	147
Gambar 4.15	Alur Pemeriksaan	151
Gambar 4.16	Proses pemeriksaan TNF – α	151
Gambar 4.17	Standard dilution	154

Gambar 4.18	Alur pemeriksaan histamine	158
Gambar 4.19	Bahan dan proses pemeriksaan Histamin	158
Gambar 4.20	Rumus <i>Brain Water Content</i>	159
Gambar 4.21	Alat, bahan dan proses pemeriksaan Brain water content ...	159
Gambar 4.22	Alur penelitian	160
Gambar 5.1	Perubahan kadar rata-rata histamin serum berdasarkan waktu.....	167
Gambar 5.2	Uji post-hoc dan rata-rata perubahan kadar histamin berdasarkan lama waktu perlakuan.....	168
Gambar 5.3	Perbandingan rata-rata kadar TNF- α serum berdasarkan waktu.....	175
Gambar 5.4	Uji post-hoc dan rata-rata perubahan kadar TNF- α berdasarkan lama waktu perlakuan.....	177
Gambar 5.5	Rata-rata <i>Brain Water Content</i> hewan coba kelompok kontrol dan kelompok II (COT+Placebo)	181
Gambar 5.6	Rata-rata Brain Water Content hewan coba Kelompok II (COT+Placebo) dan Kelompok I (COT+DPM).....	183
Gambar 5.7	Rata-rata <i>Brain Water Content</i> hewan coba kelompok kontrol dan kelompok I (COT+DPM)	184
Gambar 5.8	Scatter plot pada korelasi antara kadar histamin dan TNF- α	188
Gambar 5.9	Korelasi kadar histamin dan TNF- α pada hewan coba tikus	189

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Penyebab ekstrakranial dan intrakranial cedera otak sekunder.....	15
Tabel 2.2	Jenis Sitokin berdasarkan aktivasi biologis.....	43
Tabel 2.3	Fungsi dari Mikroglia	68
Tabel 2.4	Perbedaan Stadium aktivasi dari makrofag yang dengan ekstrapolasi mungkin berlaku pada mikroglia	75
Tabel 5.1	Hasil <i>Levene test</i> dan <i>t-independent test</i> perbandingan nilai rerata berat badan tikus.....	163
Tabel 5.2	Hasil <i>t-independent test</i> perbandingan rata-rata kadar Histamine berdasarkan jenis perlakuan	166
Tabel 5.3	Hasil uji <i>repeated anova</i> perubahan kadar histamin pada tiap kelompok.....	168
Tabel 5.4	Hasil <i>t-independent test</i> perbandingan rata-rata kadar TNF- α berdasarkan jenis perlakuan	166
Tabel 5.5	Hasil uji <i>repeated anova</i> perubahan kadar TNF- α pada tiap kelompok.....	168
Table 5.6	Hasil uji <i>independent-t test</i> perbandingan rata-rata BWC kelompok kontrol dan kelompok II	181
Tabel 5.7	Hasil uji <i>t-independent test</i> perbandingan rata-rata BWC kelompok II dan kelompok I	183
Tabel 5.8	Hasil uji <i>t-independent test</i> perbandingan rata-rata BWC kelompok kontrol dan kelompok I	184
Tabel 5.9	Hasil uji korelasi Spearman kadar histamin dan TNF- α serum.....	188

DAFTAR SINGKATAN

5-HT	Serotonin
AD	Alzheimer's Disease
AIF	Apoptosis Inducing Factor
AMPA	d-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid
AP	Amyloid Plaque
APC	Antigen-Presenting Cells
AR	Alokasi Random
ATG	Anti thymocyte globulin
ATP	Adenosine Triphosphate
BBB	Blood Brain Barrier
<i>Bcl-2</i>	B-cell lymphoma 2
<i>Bcl-xL</i>	B-cell lymphoma-extra large
BK	Bradykinin
BPH	Benign Prostate Hyperplasia
BWC	Brain Water Content
C1s	Komplemen 1s
C3	Komplemen 3
C4a	Komplemen 4a
CADM	Cell Adhesion Molecule-1
cAMP	cyclic Adenosine Mono Phosphate
CBF	Cerebral Blood Flow
cc	centimeter cubic
<i>CCI</i>	Controlled Cortical Impact
CCL2	C-C motif ligand 2
CCR 5	C-C chemokine receptor 5
CD	Classification Determinant
cm	Centimeter

<i>CMRGluc</i>	local cerebral metabolic rate for glucose
COT	Cedera Otak Traumatika
CPP	Cerebral Perfusion Pressure
CRH	Corticotropin-Releasing Hormone
CSF	Cerebral Spinal Fluid
CT-scan	Computed Tomography Scan
CTE	Chronic Traumatic Encephalopathy
Cu	Cuprum
CXCL12	CXCR4/C-X-C motif chemokine 12
<i>DA</i>	Dopaminergic neuron
DAI	Diffuse Axonal Injury
DAMPs	Danger-Associated Molecular Pattern
DC	Dendritic Cell
DCX	Double cortin
DIABLO	Direct IAP Binding Protein with Low pI
<i>DNA</i>	Deoxyribo Nucleic Acid
DOI	2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine
DPM	Diphenhydramine
DT	Dithiothaldomide
DW	Dry Weight
EAA	Excitatory Amino Acid
EAE	Experimental Autoimmune Encephalomyelitis
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERK2	Extracellular Signal-Regulated Kinase-2
F4/80	Fragment 4/Fragment 80

Fas	FS-7-associated surface antigen.
Fc receptor	Fragment, crystallizable receptor
FcεRI	Fragment, crystallizable epsilon receptor Imunoglobulin E
FCGRI/FCγRI	Fragment, crystallizable γ receptor immunoglobulin E
FCγR/FCGR	Fragment, crystallizable γ receptor
FDA	Food and Drug Administration
Foxp3	Forkhead Box P3
G	Gauge
GABA	g-aminobutyric acid
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein
<i>GM-CSF</i>	Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor
GM1	Ganglioside M1
GMF	Glia Maturation Factor
GOS	Glasgow Outcome Score
GPx	Glutathion Peroxidase
GTP	Guanosine-5'-triphosphate
H2O2	Hydrogen Peroxide
HA	Histamin
HCl	Hydrochloric Acid
HFE	Hereditary Hemochromatosis Gene
HIF-1α	Hypoxia-Inducible Transcription Factor-1α
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HMC-1	Human Mast Cell 1
HMGB1	High-Mobility Group Protein B2
HR1/HRH1	Histamin Receptor 1

HR2/HRH2	Histamin Receptor 2
HR3/HRH3	Histamin Receptor 3
HR4/HRH4	Histamin Receptor 4
HtrA2	HtrA Serine Peptidase 2
ICP	Intracranial Pressure
ICV	Intracerebrovascular
IFIH1	Interferon Induced With Helicase C Domain 1
IFN	Interferon
IL-1b	Interleukin-1 beta
IL	Interleukin
IL1RN	Interleukin 1 Receptor Antagonist
IRF	Interferon regulatory factor
ISS	Injury Severity Score
JAK	Janus Tyrosine Kinase
JNK	c-Jun N-terminal kinase (JNK)
K1	Kelompok 1
K2	Kelompok 2
kgBB	Kilogram berat badan
LFIT2	Liver Failure Transient Infantile Transient 2
LPS	Lipopolisakarida
LTC4	Leukotriene C4
LTD4	Leukotrien D4
M/M	Makrofag/Mikroglia
M1	Mikroglia/Makrofag 1
M2	Mikroglia/Makrofag 1
M2a	Mikroglia 2a
M2b	Mikroglia 2b
M2c	Mikroglia 2c
mAB	monoclonal antibody
MAKK/MKK	mitogen-activated protein kinase kinase

MAOI	Monoamine Oxidase Inhibitors
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MBP	Myelin Basic Protein
MC	Mast Cell
MCAO	Middle Cerebral Artery Occlusion
MDA	Malondialdehyde
mEPSC	spontaneous miniature excitatory synaptic current
mg	miligram
MHC I	Major Histocompatibility Complex class I
MHC II	Major Histocompatibility Complex class II
min	Menit
ml	Mililiter
mm	Milimeter
mm ³	Milimeter cubic
MMP	Matrix Metalloproteinase
MPP ⁺	1-Methyl-4-Phenyl-Pyridinium
MRI	Magnetic Resonance Imaging
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
MS	Multiple Sclerosis
MX1	MX Dynamin Like GTPase 1
NaCl	Natrium Klorida
NAD ⁺	Nicotinamide Adenine Dinucleotide ⁺
<i>NADPH</i>	Nicotamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NCCa-ATP channel	Nonspecific cation calcium ATP Channel
<i>NF-κB</i>	Nuclear Factor Kappa B
NGF	Nerve Growth Factor
<i>NK cells</i>	Natural Killer Cells

NLRP	Nucleotide-Binding Oligomerization Domain, Leucine Rich Repeat And Pyrin Domain Containing
NLRs	Nucleotide-Binding Domain Leucine-Rich Repeats
NMDA	N-methyl Daspartate
NMDAR1	N-metil-D-Aspartate Receptor 1
nmol	nanomole
NO	Nitric Oxide
NOD	Nucleotide Oligomerization Domain
<i>Nox</i>	NADPH Oxidase
NSE	Neuron Specific Enolase
O ₂	Oxygen
oC	Derajat Celsius
OD	Optical Density
OGD	Oxygen Glucose Deprivation
P	Populasi
P38	Phosphorylated protein 38
P50	Protein 50
P52	Protein 52
P65	Protein 65
PAF	Platelet Activating Factor
PAMP	Pathogen-Associated Molecular Patterns
PAR	Protease Activated Receptor
PAR2	Proteinase-Activated Reseptor-2
PARP-1	Poly [ADP-ribose] polymerase 1
PD	Parkinson's Disease
PET Scan	Positron Emission Tomography Scan
pg	picogram
PGD	Prostaglandins
PGD2	Prostaglandin D2
PGE2	Prostaglandin E2

PIP2	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate
PLA2	Phospholipase A2
Pr	Perlakuan
Prim1	Primase Subunit 1
PRR	Pattern Recognition Receptor
PSMB9	Proteasome 20S Subunit Beta 9
PSR	Phosphatidylserine receptor
qRT-PCR	Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction
r	correlation coefficient
<i>Rac1</i>	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROS	Reactive Oxygen Species
S100B	100% soluble calcium-binding protein B
SABC	HRP-Streptavidin Conjugate
SD	Standar Deviasi
SKI	Sphingosine Kinase 1
SMAD3	Suppressor of Mothers against Decapentaplegic
SN	Substantia Nigra
SOD	Superoxide Dismutase
solTNF	soluble TNF
<i>SP</i>	substance P
SSP	Sistem Saraf Pusat
SSRI	Selective Serotonin Reuptake Inhibitor
STAT1	Signal Transducer And Activator Of Transcription 1
sTNF-RI	soluble TNF receptor I
TAP1	Transporter associated with antigen processing 1

TBI	Traumatic Brain Injury
TCA	Tricyclic Antidepressant
<i>TCR-ab</i>	T cell receptor-ab
TGF	Tumor Growth Factor
TH	T-helper
TIK	Tekanan Intrakranial
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloproteinase
TLR-2	Toll-Like Receptor 2
TMB	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine
tMCAo	Transient middle cerebral artery occlusion
tmTNF	transmembrane TNF
TNF- α	Tumor Necrosis Factor alpha
TNF- β	Tumor Necrosis Factor beta
TNFR	Tumor Necrosis Factor Receptor
TNFR1	Tumor Necrosis Factor Receptor 1
TNFR2	Tumor Necrosis Factor Receptor 2
TPSO	translocator protein 18 kDa
TREM	Triggering Receptor Expressed On Myeloid Cells
UCH-L1	Ubiquitin D-Terminal Hydrolase-L-1
UCP	Uncoupling Protein
VEGFR2	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2
VIP	Vasoactive Intestinal Polypeptide
WT	Wistar Rats
WW	Wet Weight
Zn	Zinc
ZO-1	Zonula Occludens-1
μg	mikrogram
μl	mikroliter
μM	mikromolar

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Pada tahun 2009, trauma merupakan penyebab kematian terbesar di Amerika Serikat pada usia 1-44 tahun. Cedera otak traumatika sering dikenal sebagai “silent epidemic”, merupakan kontributor terbesar terhadap kematian dan disabilitas dari semua kasus trauma. Cedera kepala merupakan penyebab dari sekitar sepertiga kematian akibat trauma.^{1,2}

Cedera otak traumatika didefinisikan sebagai trauma pada struktur dari tengkorak yang menyebabkan terjadinya perubahan pada fisiologi cerebral sebagai akibat dari adanya kekuatan external baik secara mekanikal, kimia, elektrik, atau termal. Secara keseluruhan insiden cedera otak traumatika di Amerika Serikat dari tahun 2002-2006 sekitar 579 kasus per 100.000 penduduk, atau sekitar 1,7 juta kasus per tahun dan hampir 50.000 penduduk meninggal per tahunnya akibat cedera otak traumatika, dimana sebagian besar dari mereka mengalami disabilitas dalam jangka waktu yang lama.^{1,3}

Di negara maju, jumlah kematian akibat cedera otak traumatika sekitar 21% pada bulan pertama dan jumlah ini meningkat menjadi 50% pada negara berkembang. Di Indonesia, prevalensi cedera otak traumatika mengalami peningkatan dari 14,5% ditahun 2007 menjadi 14,9% ditahun 2013. Terdapat peningkatan jumlah kematian dari 6 per 100.000 populasi ditahun 2009, menjadi 120 kasus jumlah kematian oleh karena kecelakaan lalu lintas ditahun 2014.⁴

Patogenesis cedera otak traumatika merupakan proses yang kompleks yang disebabkan oleh karena adanya cedera primer dan sekunder yang dapat berdampak pada terjadinya defisit neurologis. Cedera otak sekunder terjadi dalam beberapa menit hingga hari setelah cedera otak primer dan melibatkan molecular, kimia, dan kaskade inflamasi yang menyebabkan kerusakan otak lebih lanjut.⁵

Edema merupakan salah satu komplikasi serius dalam berbagai macam penyakit pada otak termasuk pada cedera otak traumatika. Edema perifokal dapat menyebabkan terjadinya cedera otak sekunder dan edema otak generalisata merupakan suatu kondisi yang mengancam nyawa. Pathogenesis dari edema otak traumatika sangat kompleks dan meliputi destruksi pada struktur microvessels, kelainan mikrosirkulasi di dalam dan di sekitar cedera primer, perubahan permeabilitas dinding pembuluh darah yang menyebabkan terjadinya kebocoran plasma ke dalam jaringan otak. Kejadian ini dipengaruhi oleh jumlah dari komponen yang dihasilkan atau diaktivasi di dalam dan di sekitar lesi primer, yang dikenal sebagai mediator kimia dari respon inflamasi. Substansi yang merupakan kandidat potensial dalam grup ini adalah substansi amine, asam arakhidonat, leukotriene dan radikal bebas.^{5,6}

Tumor Necrosis Factor α (TNF- α), merupakan salah satu mediator penting dari jaringan yang mengalami cedera dan inflamasi, serta telah terbukti keterlibatannya dalam berbagai pathogenesis kelainan system saraf pusat seperti iskemia cerebral, penyakit parkinson's, dan cedera otak traumatika. Pada pasien dengan kerusakan iskemik otak, konsentrasi dari TNF dalam darah perifer berhubungan dengan volume lesi pada otak dan berhubungan dengan outcome fungsional dan neurological yang buruk. Peningkatan kadar TNF- α dalam plasma

dan cairan serobrospinal juga terjadi pada pasien-pasien cedera otak traumatika. Peningkatan TNF- α protein dan ekspresi mRNA secara akut juga ditemukan dalam jaringan otak setelah dilakukan cedera otak eksperimental pada tikus. Pada percobaan cedera otak traumatika dengan *weight-drop model*, ditemukan bahwa inhibisi akut dari produksi TNF- α post traumatik atau pemberian TNF-binding protein dapat menurunkan edema, kerusakan jaringan kortikal, dan neurodegenerasi hippocampus dalam periode akut posttrauma.⁷

Histamine dicurigai memiliki peran dalam proses terjadinya edema pada otak. Hal ini ditunjukkan pada penelitian dimana pemberian infus histamine ke dalam arteri karotis internal menginduksi terjadinya edema akibat terjadinya kerusakan pada blood-brain barrier (BBB) dan dilatasi dair pembuluh darah serebral. Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa setelah terjadi cedera otak traumatika pada tikus, terjadi peningkatan kadar histamine baik kadar dalam plasma maupun level histamine dalam otak. Hal ini juga disertai dengan terjadinya peningkatan dari *brain water oedema* yang mana penelitian lainnya menunjukkan bahwa hal ini dapat dicegah dengan pemberian antagonis histamine H₂ reseptor cimetidine sebelum terjadinya cedera otak traumatika.^{5,8}

Histamine merupakan neurotransmitter dan neuromodulator di dalam sistim saraf pusat. Histamine terdapat dalam jumlah yang berlimpah di dalam korteks cerebral tikus. Paling tidak terdapat 3 sumber histamine yang dapat teraktivasi akibat trauma : (a) neuron histaminergik dengan badan sel yang terletak pada nukleus tuberomammillary di hipotalamus, dengan proyeksinya yang tersebar luas dalam system saraf pusat, (b) *modified mast cells*, dan (c) histamine dari plasma. Pada jaringan lain edema yang diinduksi oleh histamine memiliki karakteristik

yakni onset yang cepat dan durasi yang singkat. Oleh karena itu, jika histamine berperan dalam proses terjadi edema otak traumatika maka aksi ini lebih cenderung terjadi pada jam pertama setelah terjadinya cedera.^{5,8}

Diphenhydramine (DPM) merupakan generasi pertama dari antihistaminic H1 yang digunakan dalam tatalaksana pada kondisi alergi dengan menghambat *release* histamin. Obat ini juga menunjukkan kemampuan farmakologis yang lain seperti, untuk sedative, anticancer, antiemetic, anestesi lokal, dan aktivitas anti-cholinergic. DPM juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk mengetahui efek pemberian diphenhydramine pada kadar brain water content, TNF- α , dan superoksida dismutase setelah terjadinya cedera otak traumatika.^{7,9} Dalam penelitian ini peneliti memilih model cedera otak traumatika tertutup dan peneliti juga memilih untuk melakukan pemberian diphenhydramine setelah terjadinya cedera otak traumatika, hal ini berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya dimana antihistamine diberikan sebelum terjadinya cedera otak traumatika.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan beberapa pertanyaan penelitian yaitu ;

1. Bagaimana perubahan kadar histamin pada tikus albino galur wistar setelah cedera otak traumatika ?
2. Bagaimana perubahan kadar *Tumor Necrosis Factor- α* pada tikus albino jantan galur wistar setelah cedera otak traumatika ?
3. Bagaimana korelasi antara perubahan kadar histamin dan TNF- α serum pada tikus albino jantan galur wistar setelah cedera otak traumatika ?

4. Bagaimana perubahan kadar brain water content pada tikus albino jantan galur wistar yang mengalami edema cerebri setelah cedera otak traumatika ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui perubahan kadar histamin, *Tumor Necrosis Factor- α* , korelasi antara kadar histamin dan *Tumor Necrosis Factor- α* dan *brain water content* pada tikus albino jantan galur wistar setelah cedera otak traumatika.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Diketuainya kadar histamin serum pada hewan coba tikus yang tidak diberikan difenhidramin setelah mengalami cedera otak traumatika.
2. Diketuainya kadar histamin serum pada hewan coba tikus yang diberikan difenhidramin setelah mengalami cedera otak traumatika.
3. Diketuainya kadar TNF- α serum pada hewan coba tikus yang tidak diberikan difenhidramin setelah mengalami cedera otak traumatika.
4. Diketuainya kadar TNF- α serum pada hewan coba tikus yang diberikan difenhidramin setelah mengalami cedera otak traumatika.
5. Diketuainya korelasi antara kadar histamin dan TNF- α serum pada hewan coba tikus setelah cedera otak traumatika.
6. Diketuainya kadar *Brain Water Content* pada hewan coba tikus yang tidak diberikan difenhidramin setelah mengalami cedera otak traumatika
7. Diketuainya kadar *Brain Water Content* pada hewan coba tikus yang diberikan difenhidramin setelah mengalami cedera otak traumatika.

8. Diketuainya perbandingan kadar histamin, TNF- α , dan *Brain Water Content* pada hewan coba tikus sebelum cedar otak traumatika, yang mengalami COT dan diberikan difenhidramin, dan yang mengalami COT dan tidak diberikan difenhidramin (placebo).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut mengenai hubungan difenhidramin dan cedera otak traumatika.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah tentang pengaruh difenhidramin terhadap kadar histamin, TNF-a, dan *Brain Water Content* setelah cedera otak traumatika.

1.5 Keaslian Penelitian

Peneliti belum pernah menemukan penulisan karya ilmiah atau penelitian yang sejenis tentang efek diphenhydramine terhadap kadar brain water content, TNF-a dan superoksida dismutase setelah cedera otak traumatika tertutup pada tikus coba. Peneliti melakukan penelusuran pada PubMed dan Science Direct dengan kata kunci **The Effect of Diphenhydramine at Brain Water Content, TNF-a, and Histamine After Closed Traumatic Brain Injury of Rats** yang menghasilkan beberapa penelitian sebagai berikut :

1. *Protective effect of diphenhydramine against traumatic brain injury in rats via modulation of oxidative stress and inflammation.*

Penelitian ini membandingkan tingkat edema otak, kadar TNF- α , IL-1 β , MDA, SOD, GPx pada kelompok tikus kontrol (tanpa cedera otak traumatika), tikus dengan cedera otak traumatika, dan tikus dengan cedera otak traumatika yang sebelumnya telah diberikan diphenhydramine dosis 5

mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian diphenhydramine 15 mg/kg secara signifikan dapat menurunkan tingkat edema otak, kadar TNF- α , IL-1 β , MDA dan secara signifikan meningkatkan kadar dari SOD dan GPx.⁷

2. *Role of histamine in traumatic brain edema an experimental study in the rat.*

Penelitian ini membandingkan brain water content, kadar histamine plasma dan otak antara kelompok tikus kontrol (cedera otak traumatika) dengan kelompok tikus yang mendapatkan cimetidine atau mepyramine. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan *brain water content* dan kadar histamine dalam plasma sebesar 107% dan 51% pada hemisfer otak yang mengalami trauma pada kelompok tikus kontrol yang mengalami cedera otak traumatika. Peningkatan *brain water content* dan kadar histamine ini dapat dicegah pada kelompok tikus yang mendapatkan cimetidine sebelum terjadinya cedera otak traumatika, sedangkan pada kelompok tikus yang mendapatkan mepyramine tidak terjadi penurunan *brain water content* dan kadar histamine.⁵

3. *Diphenhydramine exert protective action against experimental periodontitis in rats via attenuation of oxidative stress and inflammation.*

Penelitian ini membandingkan status antioksidan, ekspresi enzim-enzim lisosomal (cathepsin B, cathepsin D, β -glucuronidase, dan asam phosphatase), *acute phase protein*, *C-reactive proteins*, dan fibrinogen pada tikus jantan galur wistar yang mengalami periodontitis dengan atau tanpa pemberian diphenhydramine. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada

kelompok tikus yang diberikan diphenhydramine terjadi peningkatan yang signifikan dari status antioksidan, penurunan ekspresi enzim-enzim lisosomal, *acute phase protein*, *C-reactive proteins*, dan *fibrinogen*, bila dibandingkan dengan kelompok tikus yang tidak mendapatkan diphenhydramine.⁹

4. *Mast cells promote blood brain barrier breakdown and neutrophil infiltration in a mouse model of focal cerebral ischemia.*

Penelitian ini ingin melihat efek dari defisiensi sel mast dan stabilisasi dari kerusakan BBB dan infiltrasi neutrophil pada tikus setelah dilakukan *transient middle cerebral artery occlusion (tMCAo)*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kerusakan BBB, edema otak, dan infiltrasi neutrophil secara signifikan menurun pada kelompok tikus yang mengalami defisiensi sel mast. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa aktivasi sel mast menyebabkan terjadinya kerusakan BBB pada tikus yang mengalami iskemia fokal.¹⁰

5. *First-generation antihistamines diphenhydramine and chlorpheniramine reverse cytokine-afforded eosinophil survival by enhancing apoptosis.*

Penelitian ini menginvestigasi efek dari 2 obat antihistamine generasi pertama diphenhydramine dan chlorpheniramine pada apoptosis eosinophil dan pada *interleukin (IL)-5-afforded eosinophil survival*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antihistamine dapat menurunkan efek dari IL-5 pada eosinophil dengan meningkatkan apoptosis. JNK atau *c-Jun N-terminal kinase (JNK)* yang memediasi efek antihistamine pada apoptosis eosinophil juga ditemukan mengalami aktivasi secara perlahan pada saat

diphenhydramine-induced eosinophil apoptosis. Oleh karena itu penelitian ini menyimpulkan bahwa antihistamine generasi pertama, diphenhydramine dan chlorpheniramine menurunkan *IL-5 afforded eosinophil survival* dan peningkatan apoptosis oleh antihistamine terjadi melalui aktivasi dari *JNK*.¹¹

6. *Head trauma release of histamine from dural mast cells alters blood-brain barrier : attenuation with zolantidine.*

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi peran dari dural mast cell (MC) histamine dalam peningkatan permeabilitas blood-brain barrier (BBB) yang diinduksi oleh trauma. Segera setelah trauma terjadi degranulasi dari MCs 39% dan meningkat menjadi 55%, 20 menit setelah trauma. Terjadi peningkatan histamin 154% pada 5 menit setelah trauma, 174% pada 10 menit setelah trauma, dan 151% pada 20 menit setelah trauma. Ekstravasasi Evan's blue pada 20 menit setelah trauma juga meningkat 1385%. Pada kelompok yang diberikan Zolantidine (selektif antagonist reseptor histamine H₂) dengan dosis 10-dan 20-mg/kg 30 menit sebelum terjadi trauma terjadi penurunan ekstravasasi Evan's blue sebesar 65% dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penelitian ini menunjukkan bahwa degranulasi dari MCs berhubungan dengan peningkatan histamin pada korteks otak yang berhubungan dengan peningkatan permeabilitas blood-brain barrier yang menyebabkan terjadinya post-trauma edema dan dengan memblokir reseptor histamine H₂ (Zolantidine 10 dan 20 mg/kg) dapat mengurangi peningkatan permeabilitas blood-brain barrier sampai 65%.⁸

7. *Traumatic brain injury results in mast cell increase and changes in regulation of central histamine receptors.*

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana system histaminergic sentral, yang mengontrol eksitabilitas dan pelepasan neurotransmitter melalui reseptor *G-protein coupled*, dalam patofisiologi cedera otak traumatika. Penelitian ini menemukan bahwa infiltrasi sel mast akibat trauma, terutama terjadi pada korteks yang mengalami cedera dan tidak terjadi melewati fimbria hippocampus. *H₃ reseptor binding densities* secara signifikan menurun pada korteks bilateral tapi meningkat secara signifikan pada thalamus bilateral. *H₃ reseptor binding densities* dipengaruhi oleh sekresi mediator dari sel mast, seperti histamine, heparin, leukotriene. Lebih lanjut penelitian ini juga menemukan bahwa terjadi penurunan yang signifikan dari mRNA reseptor H₁ dan H₃ dan Cu/Zn-dependent superoxide dismutase (SOD) pada daerah thalamus yang dekat dengan lokasi trauma.⁶

8. *Mast Cell Activation, Neuroinflammation, and Tight Junction Protein Derangement in Acute Traumatic Brain Injury.*

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis sel mast dan neuroinflamasi pada cedera otak traumatika yang diinduksi oleh *weight drop*. Penelitian ini menemukan bahwa terjadi peningkatan aktivasi sel mast dalam otak 24 dan 72 jam pasca trauma pada kelompok tikus yang mengalami cedera otak traumatika, dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami cedera otak traumatika. Pada otak tikus yang mengalami cedera otak traumatika juga terjadi peningkatan ekspresi dari *chemokine C-C motif*

*ligand 2 (CCL2), proteinase-activated reseptor-2 (PAR-2), dan vascular endothelial growth factor reseptor 2 (VEGFR2), dan kerusakan pada claudin 5 dan zonula occludens (ZO-1). Kesimpulan dari penelitian ini bahwa cedera otak traumatika dapat menyebabkan aktivasi dari sel mast, neuroinflamasi dan kerusakan pada protein tight junction yang berhubungan dengan peningkatan permeabilitas blood-brain barrier. Diduga bahwa inhibisi aktivasi sel mast dapat menekan respon neuroimmune dan aktivasi sel glia yang berhubungan dengan neuroinflamasi dan neurodegenerasi pada cedera otak traumatika.*¹²

9. *Contribution of mast cells to injury mechanism in a mouse model of pediatric traumatic brain injury.*

Penelitian ini bertujuan untuk menginvestigasi peran dari sel mast dalam memediasi injury pada *P7 mouse model of pediatric contusion-induced TBI*. Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat ekspresi dari reseptor histamine pada berbagai macam sel saraf dan histamine dapat mengeksaserbasi kematian sel eksisitotoksik dalam kultur neuron. Cromoglycate, merupakan inhibitor dari degranulasi sel mast, dapat menurunkan inflamasi akibat aktivasi dari mikroglia, terutama jika diberikan sebelum terjadi cedera otak traumatika, dimana dalam penelitian ini dibandingkan efek protektif dari cromoglycate yang diberikan 1 jam sebelum atau sesudah cedera otak traumatika.¹³

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cedera Otak Traumatika

Cedera otak traumatika merupakan salah satu penyebab terbanyak dari kematian pada usia muda di negara berkembang.^{14,15} Selain itu cedera otak traumatika juga merupakan trauma atau cedera yang paling sering menyebabkan kecacatan.¹⁶ Di Amerika Serikat sendiri, insiden cedera otak traumatika sekitar 1,7 juta pertahun, dengan jumlah kematian mencapai lebih dari 50.000.¹⁵ Cedera otak traumatika merupakan kondisi klinis yang sering terjadi yang dapat disebabkan oleh berbagai macam hal seperti kecelakaan lalu lintas, jatuh, luka tembak, penyerangan, dan olahraga.¹⁵

Di negara maju, jumlah kematian akibat cedera otak traumatika sekitar 21% pada bulan pertama dan jumlah ini meningkat menjadi 50% pada negara berkembang.¹⁷ Di Indonesia, prevalensi cedera otak traumatika mengalami peningkatan dari 14,5% ditahun 2007 menjadi 14,9% ditahun 2013. Terdapat peningkatan jumlah kematian dari 6 per 100.000 populasi ditahun 2009, menjadi 120 kasus jumlah kematian oleh karena kecelakaan lalu lintas ditahun 2014.¹⁸

Cedera otak traumatika (COT) didefinisikan sebagai adanya kekuatan mekanik baik itu tajam atau tumpul yang menginduksi terjadinya cedera vascular dan hipoksia yang kemudian menyebabkan terjadinya aktivasi glial, terutama astrogliosis, inflamasi, kematian sel, dan kerusakan jaringan.¹⁹ Menurut Matthew L. Pearn et al, cedera otak traumatika didefinisikan sebagai cedera yang diakibatkan oleh karena adanya kekuatan mekanik yang dapat menyebabkan terjadinya

kerusakan otak fokal dan diffuse axonal injury akibat adanya shearing, tearing dan stretching. Jika cukup parah, baik itu akibat cedera tunggal ataupun akumulasi dari cedera-cedera yang ringan, cedera ini dapat menimbulkan terjadinya kerusakan dan kebocoran dari blood-brain barrier, yang kemudian diikuti dengan terjadinya ekstrasvasasi dari sel-sel imun (terjadinya peningkatan neuroinflamasi), gangguan molekul, ion, asam amino, dan protein yang semuanya akan berkontribusi pada terjadinya cedera otak sekunder.¹⁵

Obenaus et al,²⁰ mendefinisikan cedera otak traumatika sebagai *impact* baik berupa penetrans ataupun non-penetrans yang dapat menyebabkan terjadinya gangguan fungsi normal dari otak. Gangguan fungsi otak ini dapat mempengaruhi berbagai fungsi fisiologis otak yang meliputi fungsi kognitif dan psikososial.²⁰

Center of Disease Control and Prevention, Departement of Veterans Affairs, dan Department of Defense, mendefinisikan cedera otak traumatika sebagai trauma yang menginduksi terjadinya cedera structural dan atau gangguan fisiologis pada fungsi otak sebagai akibat dari adanya kekuatan eksternal dengan tanda-tanda klinis berupa salah satu dari, adanya periode penurunan kesadaran, hilang ingatan akan kejadian sebelum atau setelah trauma, adanya perubahan dari status mental, adanya defisit neurologis, atau adanya lesi intracranial, dimana hal tersebut terjadi setelah mengalami trauma.^{18,21}

Kekuatan eksternal tersebut dapat berupa : kepala yang terbentur oleh suatu benda, otak yang mengalami gerakan akselerasi/deselerasi tanpa adanya trauma eksternal langsung pada kepala, adanya penetrasi benda asing pada otak, ataupun kekuatan yang dihasilkan oleh ledakan atau lainnya.¹⁸

Meskipun adanya faktor skull merupakan indikator dari adanya kemungkinan terjadinya cedera otak traumatika, akan tetapi fraktur skull itu sendiri bukan merupakan cedera otak traumatika.¹⁶

Pada saat terjadinya cedera, otak terekspose dengan berbagai vektor stress dan strain. Secara klasik, hal ini disebut sebagai akselerasi-deselerasi dan juga rotasi. Ketika terjadi stress dan strain pada jaringan otak maka white matter akan mengalami tarikan sehingga dapat menyebabkan terjadinya cedera axonal.²²

2.2 Mekanisme Cedera Otak Traumatika

Saat ini telah diketahui bahwa cedera otak traumatika merupakan penyakit dengan proses multimodal yang kompleks, dan tidak saja hanya sebagai pathophysiological tunggal. Cedera otak traumatika menyebabkan terjadinya kerusakan struktural dan fungsional, yang akan menimbulkan defisit neurologis akibat terjadinya cedera otak primer dan sekunder. Cedera otak primer disebabkan oleh kerusakan mekanikal dari kontak langsung dan atau kekuatan inersia dan cedera rotasional pada otak pada saat terjadinya trauma. Kerusakan ini meliputi kerusakan neuronal, glial, dan kerusakan selular yang lain, kontusio, kerusakan pada pembuluh darah (perdarahan) dan axonal shearing.²⁰

Cedera otak sekunder merupakan superimposed dari cedera mekanikal awal yang mulai terjadi dalam beberapa menit, hari, bulan dan bahkan sampe tahunan pasca cedera primer dan menyebabkan terjadi kaskade metabolic, selular dan molecular,²³ yang menyebabkan terjadinya perubahan dari metabolisme, cerebral blood flow, dan *neurotransmitter*.²⁰ Hal ini terjadi bersamaan dengan dan berkontribusi pada perubahan *neurochemical* endogen, inflamasi dan mekanisme neuroinflamasi. Mekanisme-mekanisme ini akan menyebabkan terjadinya

kematian sel otak atau *rescue*, plastisitas sel otak, kerusakan jaringan dan atrofi. Banyak kelainan-kelainan biokimia yang bertanggung jawab dalam terjadinya cedera sekunder telah teridentifikasi. Hal ini meliputi gangguan homeostasis dari calcium selular, *excitotoxicity* glutamate, disfungsi mitokondria, peningkatan pembentukan radikal bebas, inflamasi, neuroinflamasi, peningkatan peroksidase lipid, apoptosis dan *diffuse axonal injury* (DAI). Hal yang menarik, bahwa semua kelainan itu dapat dihubungkan baik secara langsung maupun tidak langsung dengan neuroinflamasi.²⁰

Cedera otak sekunder yang terjadi pada otak disebabkan oleh cedera yang bukan bersumber pada otak itu sendiri. Penyebabnya dapat berupa hipotensi, hipoksia, peningkatan TIK, dan penurunan aliran darah otak akibat edema otak dan efek massa dari adanya hematoma intrakranial, hidrosefalus, dan infeksi (dapat dilihat pada tabel 2.3) Iskemia akibat cedera otak sekunder tidak hanya dapat timbul pada cedera otak yang berat tetapi dapat juga timbul pada cedera otak ringan hingga sedang.²⁴

Penyebab intrakranial	Penyebab ekstrakranial
1. Perdarahan	1. Hipoksia
a. Ekstradural	2. Hipotensi
b. Subdural	3. Hiponatremia
c. Intraserebral	4. Hipertermia
d. Intraventrikular	5. Hipoglikemi
e. Subaraknoid	
2. Edema	
a. Kongesti vena/hiperemia	
b. Edema vasogenik	
c. Edema sitotoksik	
d. Edema interstitial	
3. Infeksi	
a. Meningitis dan abses otak	

Tabel 2.1 Penyebab ekstrakranial dan intrakranial cedera otak sekunder.²⁵

Cedera otak traumatika lebih lanjut dapat dibedakan sebagai cedera dengan lesi fokal (kontak langsung, fraktur skull, dll) atau dengan cedera yang diffuse.

Diffuse axonal injury sering dianggap sebagai tanda klinis yang khas dari cedera otak diffuse, yang disebabkan oleh kekuatan rotasional, terutama akselerasi-deselerasi, pada jaringan *white matter* otak. Contoh lain dari cedera otak diffuse meliputi gangguan vascular dan metabolic dan hypoxic-ischemic injury.²⁰

2.2.1 Cedera Otak Traumatika Fokal²⁶

Cedera fokal merupakan bentuk yang paling sering dari cedera moderate dan berat setelah terjadi perubahan pada kompartemen intra-axial dan ekstra-axial. Hematoma subdural dan epidural merupakan hasil dari deformasi mekanikal dan bentuk lain dari disrupsi vascular yang dapat menyebabkan morbiditas melalui kompresi pada otak, dengan literatur terkini mengatakan bahwa hematoma subdural dapat mencetuskan respon lokal yang berhubungan dengan iskemia fokal, cedera reperfusi, edema vasogenic, dan penurunan cerebral blood flow.²⁷ Perubahan kontusional lebih sering terjadi pada lobus temporal dan frontal, meskipun dapat terjadi pada lokasi-lokasi lainnya melalui *coup injury*, langsung pada sisi benturan dan *countercoup injury*, pada sisi yang berlawanan dengan lokasi benturan. Kontusio merupakan lesi hemorrhagic yang terjadi pada korteks dan paling sering pada puncak dari girus serebral, dan dapat meluas hingga kedalam area subkortikal white matter pada cedera yang berat. Selain pada area kortikal sebagai predileksi utama, pada beberapa kasus kontusio dapat berkembang pada perbatasan antara grey/white matter dengan ekspansi ke dalam grey matter yang terletak di atasnya. Adanya perdarahan dalam lesi kontusio menyebabkan terjadinya edema dan iskemia lokal, yang akan menyebabkan terjadinya destruksi jaringan, nekrosis neuronal, dan akhirnya terbentuk cavitas dengan gliosis reaktif di sekelilingnya.

Pada beberapa kasus dapat terjadi progresi atau ekspansi dari kontusio pada zona perikontusional.²⁶

Walaupun secara historis progresifitas dari perdarahan ini terjadi sekunder akibat adanya koagulopati, penelitian terkini menduga bahwa terdapat faktor lain yang menyebabkan terjadinya progresi ini. Terbaru, Kurland *et al*, telah menunjukkan bahwa vascular serebral bersifat mekanosensitif, dengan aktivasi dari sel-sel endothelial mekanosensitif dalam area penumbra, yang tidak memiliki kekuatan destruktif dalam area kontusional itu sendiri. Dalam skenario ini, pada kontusional penumbra mekanosensitif endothelial mengaktivasi 2 faktor transkripsi, *specificity protein 1* dan *nuclear factor B*. faktor-faktor ini berperan penting dalam regulasi dari sulfonylurea receptor 1, yang membentuk subunit regulator dari NC_{Ca-ATP} channel. Subunit ini berimplikasi pada disfungsi vascular dan atau kerusakan, yang menyebabkan terjadinya nekrosis endotel.^{26,28}

Tanpa memandang kontusio awal dan ekspansinya, morbiditas berhubungan dengan perubahan kontusional secara keseluruhan yakni lokasinya, ukuran, kedalaman, dan potensi keterlibatan dari hemisfer bilateral. Dengan demikian, lesi bilateral yang besar memiliki morbiditas yang lebih tinggi dari pada lesi yang terisolasi, yang hanya melibatkan 1 hemisfer mungkin hanya memiliki morbiditas yang kecil atau tidak sama sekali.²⁹ Karena konstituennya berupa darah, lesi fokal dapat diidentifikasi dengan pemeriksaan radiologis rutin, seperti CT scan, meskipun beberapa biomarker juga telah menunjukkan kegunaannya sebagai biomarker terhadap darah, seperti glial fibrillary acidic protein, dan produk pemecahannya yang dapat mendeteksi, adanya kontusio walaupun pada cedera yang ringan.³⁰⁻³² Asumsinya adalah kontusio juga dapat mencetuskan terjadinya

kerusakan sel-sel glia dan selanjutnya melepaskan glial fibrillary specific protein, yang dapat terdeteksi dalam sirkulasi sistemik. Meskipun biomarker-biomarker tersebut tidak menggantikan kebutuhan akan pemeriksaan radiologis rutin, tapi mereka dapat digunakan untuk melakukan preskrining pada pasien dengan cedera yang ringan, yang mana mungkin memerlukan adanya pemeriksaan radiologis lebih lanjut untuk mendeteksi adanya kerusakan kontusional yang dapat memberikan pengaruh negative pada outcome.³³

2.2.2 Cedera Otak Traumatika Diffuse

Berdasarkan definisinya, cedera *diffuse* lebih tersebar, dan kerusakan jaringannya tidak hanya terkait pada suatu fokus spesifik. Sebaliknya, kerusakan strukturnya terdistribusi secara luas dan tersebar bersama dengan komponen neuronal dan vascular yang intak/normal. Saat ini, pada hewan dan manusia, cedera diffuse menunjukkan potensi akan terjadinya kerusakan neuronal, mikrovaskular, dan kerusakan axonal dan diskoneksi yang *diffuse*.^{34,35} Pemahaman mengenai pathogenesis dari perubahan neuronal dan mikrovaskular, bagaimanapun masih terbatas dan berfokus pada potensi dari kekuatan mekanikal cedera yang dapat menimbulkan perubahan pada membrane sehingga menyebabkan terjadinya disregulasi ionik dan atau gangguan permeabilitas yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan yang letal dan subletal. Dalam konteks mengenai kematian sel neuronal fokal dan diffuse, berbagai jalur kematian sel telah teridentifikasi, akan tetapi prevalensinya secara umum dalam konteks cedera otak traumatika yang diffuse dan implikasinya terhadap morbiditas masih tetap kontroversi.^{36,37}

Berbeda dengan pengetahuan mengenai patofisiologi dari perubahan diffuse neuronal dan mikrovaskular yang belum lengkap, pemahaman mengenai cedera axonal yang tersebar lebih lengkap dan implikasinya pada morbiditas hewan dan manusia juga lebih dipahami dengan baik. Sejak adanya karya terobosan dari Adams *et al* dalam pemeriksaan postmortem pada manusia dengan cedera otak, saat ini diketahui bahwa diffuse axonal injury (DAI) merupakan komponen konsisten yang paling banyak dari cedera otak traumatika dan merupakan kontributor kunci terhadap morbiditas yang diinduksi oleh cedera otak traumatika.^{38,39} Walaupun awalnya diketahui lokasinya pada korpus kalosum, subkortikal white matter, fonix, dan berbagai white matter system pada brainstem, saat ini telah diketahui bahwa DAI dapat terjadi pada berbagai tempat di otak meliputi white matter dan grey matter. Berdasarkan pada analisis patologis awal menggunakan garam silver, terjadinya DAI dikomfirmasi pada manusia dengan menemukan adanya axonal spheroid, dengan keyakinan bahwa axon akan segera putus pada saat cedera yang menyebabkan terjadinya retraksi dan ekspulsi dari axoplasm.^{38,40} Penelitian yang lebih baru mengeksplorasi hal ini pada hewan coba dan manusia dan menduga bahwa hal ini bukan masalahnya. Sebaliknya, mereka menunjukkan bahwa cedera secara fokal menyebabkan terjadinya gangguan pada membrane dari axon yang kemudian menyebabkan terjadinya kaskade yang dimediasi oleh calcium yang mengganggu transport dari axonal sehingga menimbulkan pembengkakan dan diskoneksi axonal fokal yang progresif.^{29,41-44} Dengan diskoneksi pada bagian distal, proyeksi axonal yang putus kemudian menjadi target dari deafferensiasi dan kehilangan sinaptik, bersama dengan degenerasi Wallerian.^{45,46} Dari perspektif ini, DAI secara konseptual merupakan penyakit diskoneksi, yang menyebabkan banyak

orang mempertimbangkan cedera otak traumatika sebagai kelainan akibat adanya disrupsi difus dari sirkuit, gangguan eksitatori dan inhibisi *networks*.^{26,40}

Meskipun secara tradisional, identifikasi dari DAI mengandalkan pada pemeriksaan post-mortem untuk mengkonfirmasi adanya axonal spheroid baik dengan penggunaan garam silver ataupun antibody terhadap precursor protein amyloid, pada decade terakhir ini dengan perkembangan yang pesat terdapat teknik pencitraan yang canggih yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi patologi ini. Khususnya, penggunaan MRI, dengan diffusion-weighted imaging dan atau susceptibility-weighted imaging telah memungkinkan klinisi dapat mengenali adanya DAI dengan lebih baik dan distribusinya dalam otak yang cedera.^{33,47-49} Meskipun teknik ini masih belum sepenuhnya dapat memastikan adanya DAI dan kontroversi juga masih ada mengenai kemampuannya secara umum dalam mengenali DAI secara spesifik, tetapi mereka merupakan metode diagnostic non-invasif yang penting.²⁶

Meskipun dalam pembahasan sebelumnya telah dikatakan bahwa DAI memiliki karakteristik yakni adanya perubahan progresif yang menyebabkan pembengkakan axonal dan diskoneksi, hal yang penting juga untuk dicatat bahwa penelitian terbaru yang lain telah menunjukkan bahwa kekuatan dari cedera juga dapat menyebabkan kerusakan pada populasi axonal yang lain yang mana tidak memperlihatkan adanya tanda-tanda dari pembengkakan axonal melainkan memperlihatkan adanya kolaps dari sitoskeletal dan proses destruksi dan degradatif yang cepat.⁵⁰ Temuan ini menunjukkan bahwa ketergantungan pada marker dari pembengkakan axonal saja dapat menyebabkan terjadinya underestimasi terhadap cedera axonal secara keseluruhan. Lebih lanjut, sebelumnya juga diduga bahwa

kerusakan axonal ini hanya terjadi pada tractus yang besar pada axon yang bermielin; akan tetapi saat ini telah diketahui dengan baik bila axon-axon yang tidak bermielin juga rentan terhadap kekuatan trauma dan dengan demikian, mungkin lebih berperan dalam patobiologi dan morbiditas dari cedera.⁵¹ Secara keseluruhan, temuan ini menggambarkan pentingnya DAI dan juga menunjukkan adanya heterogenitas dan biologic yang kompleks.²⁶

Yang menarik lebih lanjut, dalam konteks DAI yakni apakah dapat diidentifikasi pada manusia dan hewan coba pada berbagai spektrum cedera otak traumatika, mulai dari ringan hingga berat. Meskipun jumlah dan lokus anatomis secara keseluruhan berkurang pada cedera yang lebih ringan, bukan berarti bahwa cedera axonal tidak berbahaya dan tanpa konsekuensi biologis. Melainkan, temuan terbaru pada hewan coba dan manusia menunjukkan bahwa cedera yang terjadi pada grey dan white matter dapat memicu terjadinya ketidakseimbangan dari eksitatori otak dan inhibitori jaringan dapat menyebabkan terjadinya disfungsi.⁵²⁻⁵⁶ Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa cedera otak traumatika merupakan kelainan dari network otak/disfungsi sirkuit dimana peningkatan tingkat keparahan dari cedera menyebabkan peningkatan dari disrupsi sirkuit dan kemudian diikuti dengan peningkatan morbiditas.²⁶

2.3 Patogenesis Cedera Otak Traumatika

Setelah terjadi cedera otak traumatika, beberapa sel akan mengalami kerusakan yang permanen. Kemudian sel-sel tersebut akan melewati berbagai macam stadium kematian sel yang berbeda-beda yakni apoptosis, *excitotoxicity-induced necrosis*, dan *autophagy*. Proses kematian sel ini dapat terjadi pada banyak regio otak yang berbeda yang mempengaruhi fungsi yang berbeda pula.⁵⁷⁻⁶⁰ Banyak

sel yang bertahan dari cedera primer yang kemudian berada dalam kondisi yang rentan dan mengalami disfungsi. Kerentanan dan disfungsi ini dapat disebabkan oleh karena banyak aspek dari komplikasi sekunder yang berhubungan dengan cedera otak traumatika (iskemia dan hipertensi intracranial).⁶¹

Pada saat terjadinya cedera (tergantung dari severitasnya), sel-sel otak terekspose oleh stimulasi yang besar, yang menyebabkan terjadinya overstimulasi dari reseptor dan, bersama dengan stres biomekanik dan strain melalui *mechanoporation*,³⁴ Kerusakan barrier normal antara ruang intra-dan ekstraselular. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya berbagai macam perubahan pada keseimbangan selular, meliputi efluks K^+ yang signifikan dari sel akibat terjadinya kerusakan mekanik pada membrane, regangan axonal, dan terbukanya *voltage-dependent K^+ channels*.¹⁶

Pada otak normal, ekstraselular K^+ yang berlebihan akan direuptake oleh sel-sel glial disekitarnya.⁶²⁻⁶⁴ Mekanisme kompensasi ini dapat mempertahankan level fisiologis dari K^+ ekstraseluler baik setelah terjadinya concussion ringan atau aktivitas kejang,^{65,66} akan tetapi mekanisme ini akan terganggu pada cedera otak yang berat⁶⁷ atau pada kondisi iskemia.⁶⁸⁻⁷⁰ Pada awalnya terjadi peningkatan perlahan dari K^+ ekstraselular, kemudian diikuti dengan peningkatan yang mendadak dari K^+ ketika mencapai nilai ambang fisiologisnya. Hal ini akan menyebabkan terjadinya depolarisasi neuronal, pelepasan *excitatory amino acid (EAAs)*, dan selanjutnya terjadi flux K^+ yang massif melalui *EAA/ligand-gated ion channels*. Gelombang eksitasi ini kemudian berlanjut menjadi gelombang hiperpolarisasi dan terjadi supresi aktivitas neuronal,⁷¹⁻⁷³ fenomena ini disebut sebagai "*spreading depression*".²² Satu perbedaan penting antara *spreading*

depression yang klasik dan *postconcussive K⁺ release* adalah bahwa cedera otak traumatika berefek pada regio otak yang luas. Oleh karena itu, kehilangan kesadaran, amnesia, dan gangguan kognitif mungkin memiliki korelasi klinis dengan pelepasan K⁺ post cedera otak traumatika dan *spreading depression-like state*.²²

Depolarisasi neuron yang diinduksi oleh cedera otak traumatika akan menyebabkan terjadinya pelepasan dari *EAA neurotransmitter glutamate*, yang akan menyebabkan terjadinya flux dari K⁺ melalui aktivasi reseptor *N-methyl D-aspartate (NMDA)* dan *d-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid (AMPA)*. Untuk mengembalikan keseimbangan potensial membrane, maka Na⁺/K⁺ ATPase (*energy dependent*) bekerja secara terus menerus, sehingga konsumsi dari glukosa akan menjadi sangat tinggi dan terjadi produksi laktat yang berlebihan (Lihat gambar 2.1). Bersamaan dengan itu, jalur metabolisme glukosa juga mengalami pergeseran setelah cedera otak traumatika dimana lebih banyak glukosa yang dikonsumsi melalui jalur pentose phosphate.⁷⁴⁻⁷⁶ Masalah disini bukan hanya pada peningkatan *metabolic demand* dan perubahan jalur metabolik dari glukosa, tapi bahwa glukosa itu sendiri tidak disimpan dalam jaringan otak, dan transfer dari bahan bakar itu tergantung pada peningkatan *cerebral blood flow (CBF)*.⁷⁷ Pergeseran ionic ini dan kelainan akut dari metabolisme energi selular terjadi pada kondisi posttraumatic dimana CBF menurun, meskipun belum mencapai pada level iskemik.^{75,78} Sebaliknya, ketidaksesuaian antara transfer glukosa dan konsumsi glukosa merupakan predisposisi terjadinya cedera sekunder pada otak. CBF masih dapat mengalami penurunan selama beberapa hari pasca trauma, hal ini mungkin

yang menyebabkan ketidakmampuan otak untuk merespon secara adekuat terhadap gangguan kebutuhan energi yang lebih lanjut.²²

Selain terjadi efflux dari K^+ , aktivasi reseptor NMDA juga menyebabkan terjadinya influx dari Ca^{2+} yang cepat (Lihat gambar 2.2). Ca^{2+} intraseluler yang meningkat dapat masuk ke dalam mitokondria yang menyebabkan terjadinya disfungsi dari metabolisme oksidatif dan akan semakin meningkatkan ketergantungan sel pada *glycolysis-generated* ATP.⁷⁹⁻⁸¹ Akumulasi *calcium* juga dapat mengaktivasi protease yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan atau kematian sel, dan pada axon, peningkatan Ca^{2+} akan menyebabkan terjadinya disfungsi dan kerusakan dari *neurofilament* dan *microtubules*.²²

Akibat faktor-faktor yang telah dijelaskan di atas, peningkatan kebutuhan ATP terjadi pada periode awal setelah terjadinya cedera otak traumatika ketika terjadi gangguan dari produksi ATP, sehingga memicu terjadinya krisis energi. Hal ini mungkin yang menyebabkan kenapa otak yang sedang cedera akan lebih rentan terhadap cedera sekunder atau cedera berikutnya.⁸² Pada kondisi ini juga terjadi peningkatan produksi dari laktat akibat tingginya kebutuhan glukosa uptake sedangkan metabolisme oksidatifnya menurun selama periode *hyperglycolysis* ini. Hal yang menarik, dengan memblok reseptor NMDA atau menghambat jalur glutamate bukan hanya dapat menyebabkan terjadinya penurunan dari peningkatan K^+ ekstraseluler dan peningkatan uptake dari glukosa, tapi juga dapat menurunkan produksi laktat.⁸³ Setelah cedera otak traumatika, terdapat periode dimana semua gangguan ionic dan metabolik ini terjadi pada area yang berbeda. Juga, tergantung pada area dari otak yang dipengaruhi oleh cedera, waktu yang diperlukan untuk terjadinya perubahan metabolik dan ionic ini dapat bervariasi. Dalam hal *uptake*

atau penyerapan glukosa, dalam periode waktu yang singkat (pada tikus, sekitar 1 jam; pada manusia, bisa mencapai 4 jam), *local cerebral metabolic rate for glucose (CMRgluc)* secara signifikan menurun dibawah standar dan uptake Ca^{2+} selular terus meningkat selama beberapa hari setelah percobaan cedera otak traumatika.⁸⁴ Peningkatan Ca^{2+} ini seperti mekanisme yang menurunkan metabolisme oksidatif pasca cedera otak traumatika, meskipun perubahan pada enzim metabolic juga berkontribusi pada terjadinya gangguan metabolisme oksidatif glukosa.⁸⁵

Setelah periode awal dari gangguan ionik pasca trauma dan peningkatan dari metabolisme glukosa, terjadi penurunan local CMRgluc (lihat gambar 2.2); hal ini tampaknya tidak bergantung pada severitas dari cedera.⁸⁶⁻⁸⁸ Pada tikus, periode penurunan metabolisme glukosa ini dapat terlihat pada korteks cerebral pada sisi ipsilateral dari cedera yang dimulai sejak 6 jam pasca *fluid-percussion injury* dan tidak mengalami normalisasi sampai 5 dan 10 hari kemudian (lihat gambar 2.1). Pada manusia, hal ini dapat timbul dalam minggu pertama dan dapat berlangsung selama beberapa bulan (lihat gambar 2.2). hipometabolisme ipsilateral juga dapat terlihat pada regio hippocampus pada 6 jam pascacedera pada tikus, biasanya akan menjadi normal dalam 24 jam. Mekanisme yang pasti dari fenomena ini masih belum diketahui, tapi sepertinya melibatkan akumulasi calcium intraselular dan gangguan metabolisme oksidatif mitochondrial.^{89,90}

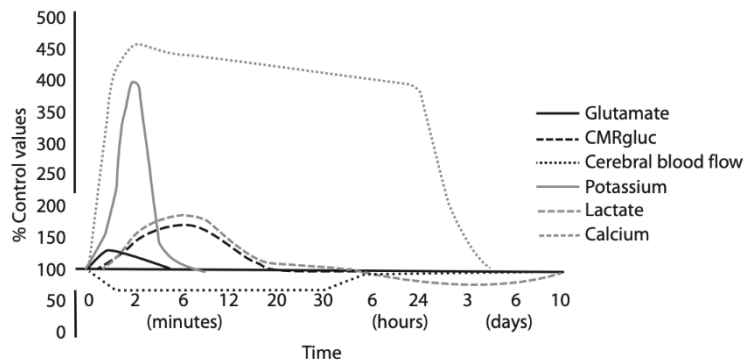


Figure 2.1 Measurements taken across time after the exposure to a mild traumatic brain injury in rodents using the lateral fluid percussion device. Cerebral microdialysis samples were measured for glutamate and potassium. Autoradiography was used for measurements of the cerebral metabolic rate for glucose (CMRgluc), cerebral blood flow, and calcium. Values are expressed as a percent of controls. Note the different time course for different aspects of the neurochemical and neurometabolic response to mild traumatic brain injury.

Gambar 2.1 Level glutamate dan potassium pasca cedera otak traumatika.²²

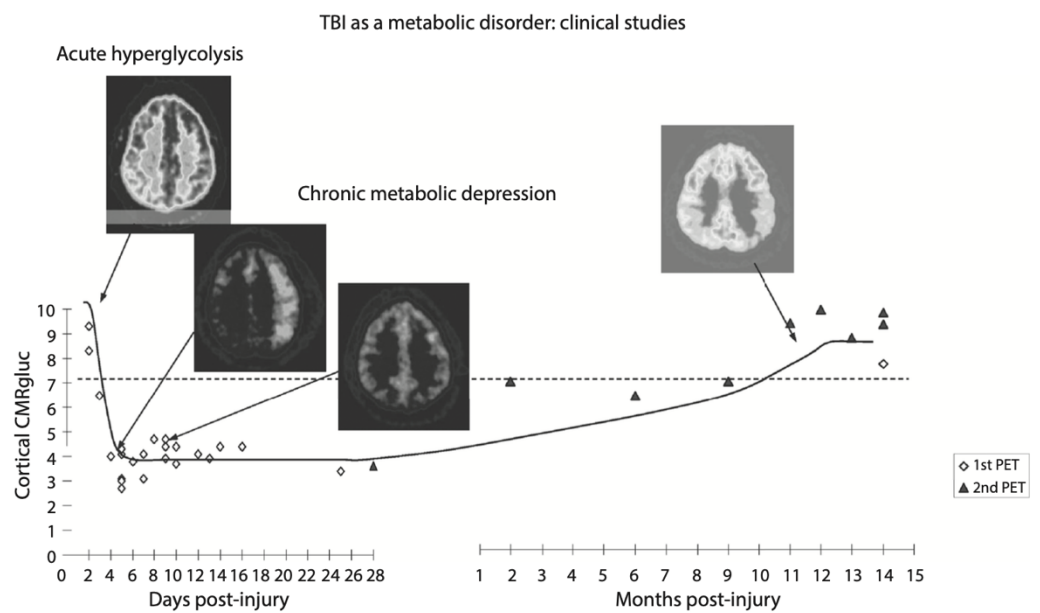


Figure 2.2 Human glucose time course. (From Bergsneider, M. et al., *Journal of Neurosurgery*, 86: 241–51, 1997; Bergsneider, M. et al., *Journal of Head Trauma Rehabilitation*, April;16(2): 135–48, 2001.)

Gambar 2.2 Kadar glukosa pasca cedera otak traumatika.²²

Cedera otak traumatika memicu terjadinya kaskade perubahan biokimia dan metabolik yang menyebabkan terjadinya proses auto-destructive sekunder. Respon cedera sekunder ini bertanggung jawab pada delayed injury damage, yang dapat

menjadi ekstensif. Kerusakan mekanikal pada membrane sel menginisiasi pelepasan polyunsaturated fatty acids dengan yang memiliki potensi menimbulkan kerusakan, terutama asam arakhidonat dan lipoxygenase and metabolit cyclooxygenase. Produk phospholipase dapat berperan sebagai pengikat magnesium, yang dapat menekan energetic static dari sel. Pada tahap ini juga *platelet-activating factor* diproduksi. Hydrolysis phospholipid menghasilkan radikal bebas yang kemudian akan menyebabkan terjadinya peroksidasi membrane phospholipid. Perubahan lipid dan bioenergetic sendiri secara signifikan dapat merusak homeostasis dengan terjadinya influx dari Ca^+ dan Na^+ . terjadi peningkatan yang cepat dari excitatory amino acid transmitter ekstraselular, terutama glutamate. Aktivasi reseptor glutamate, terutama reseptor NMDA, menyebabkan terjadinya peningkatan Ca^{2+} intraselular pada sel saraf. Peningkatan beberapa *transmitter* lain juga telah diketahui, seperti acetylcholine dan serotonin.⁴³⁻⁴⁵

Aktivasi dari channel mechanosensitive menyebabkan terjadinya influx dari Ca^{2+} , Na^+ , dan Cl^- yang kemudian diikuti dengan terjadinya edema. Proses yang bergantung pada *adenylcyclase* dapat teraktivasi secara langsung dan cepat oleh kekuatan pada saat terjadinya cedera otak traumatika. Hipoksia dan iskemia kemudian akan mengeksaserbasi terjadinya edema. Distorsi mekanikal juga dapat mengaktivasi *stretch (stress or distorsion)-activated ion channels* termasuk pada *astrocytes*.¹⁶

Faktor yang sangat penting dalam perkembangan cedera sekunder yang ekstensif adalah adanya peningkatan permeabilitas blood brain barrier yang menyebabkan terjadinya edema otak. Kerusakan excitotoxic akibat glutamate yang

berlebihan pada reseptor NMDA terjadi dalam waktu yang sangat cepat – dalam beberapa menit. Adanya influx Ca^{2+} merupakan suatu mekanisme yang ekstrem karena neuron kortikal yang terlibat akan mati. Tanpa support fisiologikal dari sel-sel glia maka toksisitas glutamate akan meningkat. Eksitotoksisitas akan menyebabkan peningkatan level potassium ekstraselular yang sangat tinggi yang kemudian akan menyebabkan terjadinya depolarisasi pada sel-sel lain.^{15,91}

Terapi potensial yang secara spesifik ditujukan pada mekanisme ini telah dipertimbangkan dan dicoba. Hal ini meliputi pemberian megadosis steroid untuk menghambat terjadinya peroxidase lipid (tidak terlalu berhasil), antioksidan dan *scavenger* radikal bebas (Vitamin E, C, A, dan conenzyme Q, *Superoxide dismutase*),^{92,93} antagonis *platelet-activating factor*, inhibitor metabolisme asam arakhidonat (*cyclooxygenase* inhibitor), *gangliosides* (GM_1) (tidak terlalu berhasil), antagonis reseptor glutamate, terutama NMDAR_1 , *ion channel blockers* (nimodipine, untuk memblok channel Ca^{2+} -L), dan reseptor *blocking* untuk beberapa sitokin inflamasi yang *potent*, seperti IL-1.²²

2.3.1 Reaksi Inflamasi Pasca Cedera Otak Traumatika

Neuroinflamasi merupakan bentuk dari kerusakan sekunder pada otak pasca cedera otak traumatika dan melibatkan mikroglia dan astrosit lokal, dan leukosit perifer yang berpenetrasi melalui blood brain barrier yang rusak, dan mediator-mediator inflamasi termasuk sitokine-sitokine yang mengganggu proses restorasi normal dari otak,⁹⁴⁻⁹⁶ memperburuk kematian sel. Sitokine merupakan mediator inflamasi yang meliputi interferon, interleukin, dan kemokine, yang disekresi oleh sel-sel system imun dan memiliki memiliki pengaruh pada sel-sel lain.⁹⁷

Pada cedera otak traumatika terjadi respon imun dan inflamasi yang ekstensif. Hal ini meliputi mediator-mediator inflamasi seperti prostaglandin dan leukotriene, platelet-activating factor, beberapa *cytokine* (dimana di dalam otak berperan juga sebagai neurokin), dan kinin. Microglia pada area trauma menjadi reaktif dan reactive gliosis terjadi dalam sel-sel glia.⁹¹ Karena sel-sel glia memiliki peran yang sangat penting dalam homeostasis neuronal, termasuk menjaga lingkungan mikro ekstraselular yang baik untuk fungsi neuronal, maka adanya gangguan pada fungsi glial akan berdampak pada kerusakan komponen sel. Pasca trauma ini juga terjadi penurunan aliran darah ke area yang mengalami kerusakan sehingga terjadi iskemia.^{26,98}

Meskipun secara tradisional dipertimbangkan bahwa otak memiliki “*immunologic privilege*” karena tidak adanya sistim limfatik dan adanya *relative impermeability blood brain barrier* terhadap sel-sel imun atau inflamasi yang teraktivasi, saat ini telah diketahui bahwa sistem saraf pusat tidak memiliki sistem *immunoprivilege*, sebaliknya otak menunjukkan ciri-ciri klasik dari inflamasi pasca cedera otak traumatika.⁹¹ Respon inflamasi terhadap trauma merupakan proses yang multifactorial, melibatkan aktivasi sel-sel imun lokal pada system saraf pusat dan infiltrasi serebral dari sel-sel imun perifer (melalui gangguan pada *blood brain barrier*), kedua hal tersebut memediasi proses inflamasi melalui berbagai sitokin *inflammatory*, molekul adhesi, *reactive oxygen* dan *nitrogen species*, dan faktor-faktor komplemen dan lain-lain. Sebagai konsekuensi dari inflamasi ini terjadi edema otak, peningkatan tekanan intracranial, dimana semua hal ini akan memperburuk *outcome* pasca cedera otak traumatika.^{23,26,99}

Proses inflamasi ini merupakan respon terhadap cedera otak traumatika fokal atau diffuse, akan tetapi gejala sisa dari inflamasi *posttraumatic* lebih sering merupakan karakteristik dari cedera fokal. Kerusakan jaringan utama (somatic dan axonal) diinduksi oleh cedera mekanikal pada otak yang memicu inflamasi melalui pelepasan konten dari intraselular dan intra-axonal, ekstrasvasasi produk darah, dan peningkatan produksi dari radikal bebas atau stres oksidatif, bersama dengan faktor-faktor lain.^{100,101} Sebagai respon terhadap gangguan homeostasis jaringan ini, terjadi aktivasi mikroglia lokal sistem saraf pusat.^{102,103} Selain sebagai *scavenger* dan fagositosis debris selular, sel-sel imun lokal ini juga memediasi inflamasi dengan memproduksi berbagai sitokin inflamasi, protease, dan *reactive free radical species*.¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ Atas dasar respon akut dari mikroglia terhadap cedera, beberapa penelitian terbaru telah menunjukkan bahwa mikroglia dapat mempertahankan fungsi proinflamasi selama beberapa minggu sampai bulan pasca efek akut terhadap cedera.¹⁰⁷ Diduga bahwa profile proinflamasi dan mungkin fenotip mikroglia yang hiperaktif ini dapat berpotensi menyebabkan perubahan degenerative yang lebih progresif dan morbiditas kronis pada pasien, bersama dengan peningkatan kerentanan terhadap cedera selanjutnya.

Bersama dengan respon inflamasi mikroglia lokal terjadi juga infiltrasi dan akumulasi sel-sel imun perifer ke dalam otak melalui ekstrasvasasi melewati *blood brain barrier* yang mengalami peningkatan permeabilitas oleh karena kerusakan mekanik atau dilatasi vascular dan kebocoran yang dimediasi oleh molekul-molekul vasoaktif inflamasi.¹⁰⁸⁻¹¹¹ Rekrutmen sel-sel imun perifer ke lokasi cedera pada otak akan menyebabkan terjadinya perubahan endotel vaskular lebih lanjut (peningkatan molekul adhesi yang diinduksi oleh sitokin, seperti *intercellular adhesion*

molecule-1) dan pelepasan kemokin oleh sel-sel lokal sistem saraf pusat.¹¹²⁻¹¹⁴ Sel-sel imun perifer yang paling banyak berhubungan dengan inflamasi yang diinduksi oleh cedera otak traumatika meliputi neutrophil dan makrofag/monosit, keduanya memediasi respon inflamasi awal melalui pelepasan berbagai sitokine inflamasi, protease, radikal bebas, dan mediator inflamasi lain (leukotrin dan prostaglandin) selain memfagositosis debris selular dan atau *axotomy*. Urutan proses yang berhubungan dengan infiltrasi serebral oleh sel-sel imun perifer sebagai respon terhadap cedera otak traumatika fokal atau kontusio melibatkan kekrutmen neutrophil dalam 24 jam pertama pasca cedera yang diikuti dengan *delayed* rekrutmen dari makrofag antara 36 hingga 48 jam pasca cedera.^{108,115} Tidak adanya infiltrasi neutrophil pada tahap awal cedera otak traumatika diffuse menunjukkan kerusakan jaringan yang kurang signifikan dan hanya terjadi kerusakan blood brain barrier ringan atau sedang.

Penelitian klinis dan eksperimental telah melibatkan berbagai faktor dalam respon inflamasi terhadap cedera otak traumatika. Khususnya, perubahan konsentrasi regional, intratekal, dan sistemik dari beberapa sitokin inflamasi (interleukin-1, -1 β , -6, -10, -12, dan *tumor necrosis factor*) telah diamati dalam periode akut (dan beberapa kasus kronis) pasca trauma pada manusia dan hewan coba dengan cedera otak traumatika.¹¹⁶⁻¹²¹ Sitokin-sitokin ini (dan kemokin yang berhubungan) memediasi inflamasi dengan *excitotoxicity*, rekrutmen sel-sel imun perifer, peningkatan permeabilitas serebrovaskular (menyebabkan terjadinya edema), dan melalui stimulasi respon inflamasi selanjutnya dengan terus mengaktivasi sel-sel imun. Meskipun kebanyakan sitokine sudah lama diketahui berhubungan dengan kerusakan neuroinflamasi, penelitian terbaru menduga bahwa

beberapa faktor dapat berperan sebagai neuroprotector dan neurotrofik dalam cedera otak.^{118,122,123} Bergantung pada konsentrasinya dan waktu atau kondisi dari ekspresinya pasca cedera otak traumatika, faktor-faktor seperti *interleukin-6* dan *tumor necrosis factor* juga dapat memiliki peran yang menguntungkan dalam cedera otak, mungkin dalam proses regenerasi dan *reparative*. Mekanisme yang mendasari dikotomi ini masih belum diketahui dengan baik; akan tetapi pengertian yang baik mengenai dualisme dari respon inflamasi ini sangat penting dalam pengembangan intervensi terapi yang bertujuan untuk mengurangi kerusakan yang dimediasi oleh inflamasi dalam cedera otak tanpa mengorbankan aspek potensi yang menguntungkan dari respon inflamasi dalam proses penyembuhan.

2.3.1.1 *Innate, non-specific immune response to TBI*

Pada saat ini, hampir semua sudut pandang mengenai cedera otak traumatika beranggapan bahwa inflamasi yang terjadi setelah cedera otak traumatika merupakan komponen dari respon *innate immune*.¹²⁴⁻¹²⁶ Akan tetapi, berbagai *evidens* yang menggunakan teknologi terupdate menduga bahwa mekanisme *specific adaptive immune* juga berperan pada inflamasi ini. Beberapa peneliti secara adekuat telah memisahkan komponen *innate* dari *adaptive immune* pasca cedera otak traumatika. Respon neuroinflamasi awal pada cedera terjadi dengan cara yang *relative stereotypic* dan sebagian besar dapat dipertimbangkan sebagai mekanisme dari *innate immune*. Cedera otak traumatika, memicu pelepasan dan produksi dari sitokine dan kemokine, dimana akan mengaktifasi reseptor-reseptor, dan menyebabkan terjadinya respon imun lokal dan sistemik.^{124,127,128} Efek dari mediator inflamasi *innate* ini adalah membatasi penyebaran dari cedera dan mengembalikan keseimbangan homeostasis.¹²⁹

Beberapa laporan menunjukkan bahwa cedera otak traumatika dan neuroinflamasi akan menyebabkan terjadi deposisi lokal dari sel imun spesifik pada area peri-injury dan daerah disekitarnya.¹³⁰⁻¹³² Inflamasi periperal juga dapat mempengaruhi *outcome* dari cedera otak traumatika.¹³³ Pada cedera otak traumatika eksperimental, tampak ekspansi dan aktivasi yang cepat dari sel-sel imun perifer, ekstrasvasasi sel imun yang signifikan dari spleen, sehingga menyebabkan terjadinya splenic hipotrofi setelah terjadinya cedera otak traumatika.^{134,135} Telah diketahui juga bahwa beberapa dari sel-sel imun yang keluar dari *spleen* berkontribusi pada *innate immune response*, dan beberapa juga berkontribusi pada timbulnya respon imun *adaptive* pasca cedera otak traumatika.^{133,136,137} Bersamaan dengan itu, telah diketahui juga bahwa sebagian sel-sel imun ini akan menginfiltrasi sistem saraf pusat. Sel-sel imun yang terlibat dalam *innate immune response* meliputi : (1) monosit, yang kemudian berkembang menjadi makrofag; (2) Sel mast; (3) Granulosit (basophil, eosinophil, dan neurofil); (4) Sel dendritic (DC); dan (5) *Natural killer cells*.¹³⁸⁻¹⁴⁰

Neurofil dan makrofag secara kuat menginfiltrasi otak pada fase awal dari cedera otak traumatika.^{115,138,140} Neurofil tampaknya menjadi tipe granulosit yang paling banyak dan memiliki potensi fagositosis yang sangat tinggi. Sel-sel ini sangat cepat bermigrasi dan dilaporkan terlibat dalam proses fagositosis elemen-elemen yang rusak di dalam parenkim otak pasca cedera otak traumatika.^{132,139} Proses dari fungsi neutrophil ini adalah melalui : (1) Sekresi enzim *lysosomal*; (2) Pelepasan radikal bebas; (3) Menurunkan aliran darah akibat terjadinya oklusi mikrovaskular; (4) Peningkatan permeabilitas dari vaskular.¹⁴¹⁻¹⁴³ Hal yang menarik, neurofil dapat ditemukan dalam *microvascular* yang membatasi regio

peri-injury yang dimulai sejak 2 jam pasca cedera dan dalam parenkim otak segera setelah itu.^{132,139} Dengan demikian maka, neurofil dapat berkontribusi pada cedera sekunder yang terlihat pasca cedera otak traumatika.^{139,144} Konsisten dengan hal ini, maka dengan menginhibisi migrasi dan adhesi dari neutrophil akan menurunkan luas area yang mengalami kerusakan neuronal pasca cedera otak traumatika pada kelinci.¹⁴⁵

Akumulasi DCs pada lokasi parenkim yang mengalami kerusakan dapat berkontribusi negatif terhadap kerusakan jaringan otak pasca terjadinya cedera otak traumatika.^{139,146} Infiltrasi DCs dapat diaktivasi melalui kontrak dengan sel-sel yang rusak pada lokasi cedera. Material antigen diproses oleh DCs, yang kemudian dapat berjalan ke limfanodi yang jauh, mempresentasikan antigen dan menimbulkan respon imun lokal. Ketika respon ini diinisiasi, antigen spesifik sel T dapat bermigrasi ke dalam parenkim sistem saraf pusat dan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan kronis pada otak.^{147,148} Akumulasi sel T pada lokasi injuri, Bersama dengan akumulasi dari DC, terindikasi memiliki pengaruh negatif terhadap *outcome* dari cedera otak traumatika.¹³²

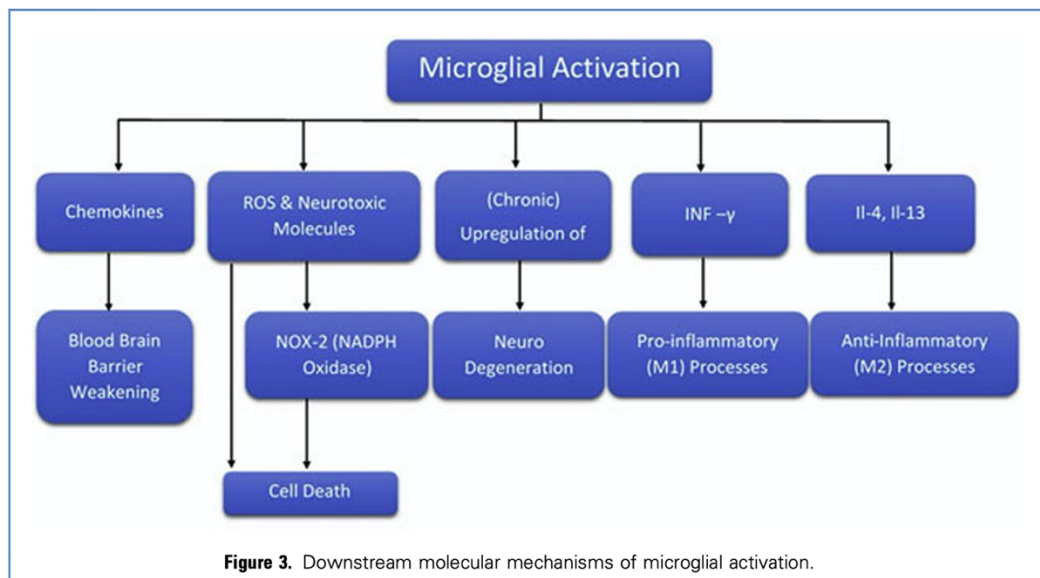
Aktivasi makrofag dan atau mikroglia juga berkontribusi pada kerusakan neuronal.^{139,149} Telah dilaporkan bahwa molekul yang berbeda dilepaskan pasca cedera otak traumatika berkontribusi pada pergeseran fenotipe mikroglia/makrofag.^{150,151} Meskipun kegunaan dari klasifikasi fenotip M1/M2 in vivo dipertanyakan,^{152,153} akan tetapi hal ini masih berguna untuk melihat pengaruh potensial dari fenotip-fenotip yang berbeda. Sebagai contoh, kerusakan pada sel endothelial dapat memediasi polarisasi dari mikroglia / makrofag melalui sekresi sitokine-sitokine,¹⁵⁴ seperti TNF- α , IL-6, IL-25, transformasi *growth factor beta*

(TGF- β), interferon-gamma (IFN-gamma), meliputi substansi-P dan lipocalin-2.¹⁵⁵⁻¹⁵⁷ Sebagai tambahan, infiltrasi sel imun peripheral (limfosit T) dapat menginduksi transformasi fenotip makrofag / microglial.¹⁵⁸ Penelitian saat ini menduga bahwa terjadinya perubahan fenotip dapat mengganggu neurogenesis pasca cedera otak traumatika,¹⁵⁴ seperti polarisasi makrofag dari M2 ke M1 menstimulasi pelepasan dari faktor-faktor yang larut yang dapat menyebabkan kelainan pada basal neurogenesis, dan hal ini dapat mengganggu perbaikan fungsional. Dengan demikian, makrofag dan atau sel mikroglia dapat dipengaruhi oleh sejumlah faktor yang pada akhirnya menentukan konsekuensi fungsional dari tipe sel ini.¹⁵⁵

Makrofag, termasuk mikroglia dan yang berinfiltrasi (makrofag perifer) memiliki jumlah yang relatif lebih tinggi pasca cedera otak traumatika.¹⁴⁹ Makrofag tampak berlimpah antara 12 dan 72 jam pasca trauma dan lebih dominan di regio kortikal yang mengalami kerusakan.^{139,159} Sel-sel ini terakumulasi di sekitar daerah yang cedera,¹⁵⁹ dan akumulasinya ini disebabkan oleh paling tidak 2 mekanisme. Pertama, akibat adanya pelepasan dari kemokin dan sitokine secara lokal pada lokasi cedera yang kemudian dapat menarik sel-sel ini ke lokasi cedera. Mekanisme yang lain, melalui aktivasi sel T. ketika sampai di lokasi cedera, sel T akan teraktivasi melalui kontak langsung dengan antigen yang dipresentasikan oleh DCs, makrofag dan mikroglia. Aktivasi ini merupakan *hallmark* dari transisi dari respon imun innate non-spesifik, menjadi respon imun adaptif yang spesifik; contohnya pengenalan sel T terhadap antigen.^{160,161}

Aktivasi mikroglia menyebabkan peningkatan respon inflamasi karena hal ini tidak hanya menyebabkan terjadinya pelepasan dari kemokine yang

memperlemah blood brain barrier seperti $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , IL-12 , tapi juga memproduksi ROS bebas dan molekul-molekul neurotoksik, menginisiasi mekanisme kematian sel sekunder yang lain.^{95,162} (Gambar 2.3). Lebih lanjut, aktivasi kronik dari mikroglia menyebabkan peningkatan dari *major histocompatibility complex class II*, yang kemudian akan meningkatkan neurodegenerasi. Yang menarik, aktivasi mikroglia memiliki fenotip yang bervariasi. Adanya interferon γ menyebabkan proses pro-inflamasi (M_1) yang dominan, IL-4 dan IL-13 mengarahkan diferensiasi mikroglia menjadi fenotip anti-inflamasi (M_2).¹⁶² Penelitian terbaru juga telah menunjukkan adanya mix fenotip M_1 dan M_2 . Karena neuroinflamasi memiliki efek yang menguntungkan dan merusak, obat-obat anti-inflamasi dalam dosis yang tinggi dapat memperburuk outcome.^{163,164}



Gambar 2.3 Mekanisme molekular dari aktivasi mikroglia.¹⁹

Penelitian-penelitian telah menunjukkan bahwa level yang tinggi dari neuron-specific enolase dan protein S100B- yang terdapat pada intraselular neuron

dan astrosit, mengindikasikan luas dari kerusakan selular dan memiliki prognosis yang buruk.¹⁶⁵

Aktivasi mikroglia dan neuroinflamasi yang berkepanjangan merupakan tanda dari prognostic yang buruk dan dapat menyebabkan terjadinya penyakit *Alzheimer* atau *chronic traumatic encephalopathy (CTE)* akibat akumulasi yang berlebihan dari *tau protein*.¹⁶⁶

Limfosit T memainkan peranan penting dalam perkembangan dari cedera otak sekunder pada otak pasca cedera otak traumatika, melalui berbagai tipe sel dan mekanisme yang berbeda. Peningkatan jumlah dan komposisi dari sel T pada lokasi cedera diduga kuat merupakan transisi ke respon imun adaptive pasca cedera otak traumatika. Puncak infiltrasi sel T ke dalam jaringan, tampaknya terjadi dalam rentang 1 – 5 hari, walaupun data dalam penelitian ini tidak konsisten.^{167,168} Terlepas dari inkonsistensi tersebut, tampak sel T *gamma delta* ($\gamma\delta$ T cells), yang merupakan kelas lain dari sel T yang banyak terdapat pada tymus dan reseptor $\gamma\delta$, dari pada reseptor sel T- $\alpha\beta$ (TCR) pada permukaannya, merupakan responder awal pada lokasi cedera otak.¹⁶⁹ Bersama dengan sel T limfosit CD8+ dan *T-helper 1* (TH1) CD4+, sel ini dapat memperburuk kerusakan melalui aksi sitotoksik dan pro-inflamasi.^{170,171} Bagaimanapun ada yang menduga bahwa infiltrasi dari sel-sel imun ke dalam sistem saraf pusat pasca cedera otak traumatika dapat juga berperan sebagai neuroprotektan.^{172,173} Hipotesis ini didasarkan pada asumsi bahwa sel T yang teraktivasi oleh antigen dapat memberikan proteksi, menjaga integritas neurological, dan memperbaiki jaringan pasca cedera otak traumatika.¹⁷⁴ Penelitian menunjukkan bahwa sel T-helper 2 (TH2) CD4+ yang spesifik terhadap *myelin basic protein (MBP)* dan sel T CD4+ dapat berperan sebagai protektor dalam pertahanan

neuronal.^{175,176} Meskipun sel-sel anti-MBP memiliki potensi patogenik, mereka juga ditemukan di dalam sistem imun manusia pada individu normal.¹⁷⁷ Hal ini tampak bahwa sel T regulator (CD4+ CD25+ Foxp3+) mungkin juga berperan penting sebagai protector melalui aktivitas supresi autoimun. Mereka merupakan derivat dari sel CD4 naive dan diketahui memiliki kemampuan immunosupresif, yang mana dapat menurunkan induksi dan proliferasi dari sel T efektor.^{178,179}

Dengan demikian, ada kemungkinan setelah terjadinya cedera otak traumatika, sekuela inflamasi menyebabkan pembentukan dan presentasi antigen, dan transisi ke respon imun adaptif. Implikasi dari transisi ke respon imun adaptif pasca cedera otak traumatika masih belum diketahui dengan baik dan mungkin memiliki efek yang positif dan atau negatif terhadap system saraf pusat.²³

2.3.1.2 Respon imun adaptif terhadap cedera otak traumatika

Meskipun sedikit, pasca cedera otak traumatika, beberapa penelitian telah secara kuat membuktikan terjadinya perubahan dari respon imun *innate* yang tidak spesifik, menjadi respon imun adaptif yang spesifik. Dengan demikian, perubahan paradigma berpikir mungkin diperlukan untuk dapat mengerti dengan baik mengenai sekuela yang terjadi pada tahap awal dan kronis pasca cedera otak traumatika. Perubahan ke respon imun adaptif terjadi ketika antigen diproses dan dipresentasikan oleh *antigen-presenting cells* (APC), dan pengenalan sel T terhadap antigen yang dipresentasikan. Bukti yang mendukung transisi ke respon imun adaptif pasca cedera otak traumatika telah diobservasi pasca kerusakan dari retina,^{180,181} *fluid percussion injury* pada tikus¹³³ dan pada pasien dengan cedera otak traumatika.¹⁸² Komponen selular dari respon imun adaptif memerlukan sel otak dan atau sel imun yang berinfiltrasi. Sel imun dapat melakukan infiltrasi ke

dalam sistem saraf pusat melalui *blood brain barrier* yang mengalami kerusakan. Komponen humoral dari imunitas adaptif awalnya dapat dimediasi oleh sel B dan selanjutnya oleh sel T, yang memproduksi antibodi spesifik antigen. Meskipun tidak terdapat bukti dari adanya hubungan langsung antara produksi antibody oleh sel T dan neurodegenerasi, terdapat beberapa bukti yang mendukung peran dari respon immune adaptif dalam neurodegenerasi.²³

Pada kebanyakan kasus cedera otak traumatika merupakan cedera non-penetrans; dengan demikian tampaknya jika terjadi respon imun, maka respon antibody cenderung melawan self-antigen. Oleh karena itu pada manusia, bukti dari ini ditemukan pada fakta bahwa antibodi terhadap *glial fibrillary acidic protein* (GFAP)-fragments telah diamati dalam *cerebral spinal fluid* (CSF), pada berbagai titik pasca cedera otak traumatika.¹⁸³ Lebih lanjut, fragmen proteolitik dari MBP, *neuron specific enolase* dan *ubiquitin D-terminal hydrolase-L-1* (UCH-L1), yang merupakan protein yang sangat spesifik pada neuron dan komponen penting dari *ubiquitin proteasome system*, juga telah diobservasi pada manusia dan hewan coba yang mengalami cedera otak traumatika.^{184–187} Selanjutnya, respon *autoreactive* sel T terhadap MBP telah didokumentasikan pada manusia pasca cedera otak traumatika,¹⁸⁸ lebih lanjut mendukung perubahan ke respon imun adaptif. Mempertimbangkan bahwa kerusakan dari *white matter* dilaporkan terjadi pasca cedera otak traumatika pada manusia dan hewan, observasi dari antibodi dan sel T terhadap MBP dapat memiliki implikasi yang besar pada kerusakan dari *white matter* dan degenerasi axonal yang terjadi kronis pasca cedera otak traumatika. Konsekuensi potensial dari produksi antibodi dan transisi ke respon imun adaptif adalah pembentukan memori sel imun. Ada kemungkinan bahwa reaktivasi dari sel

T memori oleh cedera lain atau mungkin oleh stimulus neuroinflamasi lain, seperti infeksi virus atau bakteri,¹⁸⁹ mungkin dapat “membuka” kembali *blood brain barrier* dan ekspos dari sel imun memori terhadap antigennya sendiri, seperti GFAP, UCH-L1 atau MBP. Dalam skenario ini, munculnya sindroma post-traumatik hanya terjadi setelah stimulus spatial dan temporal yang sesuai, sehingga menjelaskan variasi yang luas mengenai, kapan, mengapa dan apa tipe dari sindroma post-traumatik yang muncul. Dengan demikian, perkembangan respon auto-antibody pasca cedera otak traumatika mungkin sangat patogenik dan menyebabkan terjadinya neuropatologi kronis yang menetap untuk durasi waktu yang lama (hari, minggu, bulan, tahunan) pasca cedera, dan terdapat bukti yang mendukung gagasan ini dari berbagai penelitian neurologi dan imunologi.^{190–192}

Sel imun lokal pada otak, seperti sel-sel mikroglia, menginfiltrasi system saraf pusat sangat awal pada masa perkembangan^{193,194} dan tidak tampak sebagai kandidat dari self-antigen yang ada, disamping fakta bahwa sel mikroglia ini sangat kompeten, professional APCs, dan mereka juga dapat mengekspresikan molekul *major histocompatibility complex class II* (MHCII). Mempertimbangkan bahwa sel-sel mikroglia di otak secara terus menerus terpapar GFAP, UCH-L1, dan MBP, dan tampaknya tidak terjadi reaktivitas otomatis dalam kondisi normal, satu skenario alternatif adalah bahwa infiltrasi sel-sel imun bertanggung jawab terhadap fragmen peptide antigen GFAP, UCH-L1 dan MBP.^{184–186,195–197}

Faktor penting lain yang dipertimbangkan dalam konteks respon imun adaptif pasca cedera otak traumatika adalah laporan terbaru dari dua portal limfatik yang berbeda yang secara langsung melayani otak. Pertama, terletak di bawah dari sinus sagitalis superior merupakan area limfatik yang baru-baru ini terbukti

memiliki sel darah putih yang masuk dan keluar dari sistem saraf pusat, bahkan dalam kondisi normal.^{198,199} *Signal* imun dari sistem saraf pusat telah terbukti memberikan *signal* langsung melalui portal limfatik ini dan memulai respon imun global yang dapat mengeksaservasi severitas dari sebuah cedera.^{99,167,200} Kedua adalah sistem “*glymphatic*”, yang memungkinkan pembersihan dari produk sisa sistem saraf pusat dan protein yang larut. Sistem ini juga telah terbukti menyediakan substrat untuk pensinyalan komponen sistem saraf pusat kepada sistem limfatik perifer.^{71,99,201,202} Salah satu dari dua kompartemen limfatik sistem saraf pusat ini, dapat terjadi komunikasi yang cepat antara sistem saraf pusat dan perifer, dan pensinyalan ini dapat mengeksaservasi cedera, seperti stroke atau cedera otak traumatika.^{99,203} Dalam literatur stroke, pengangkatan *spleen (splenectomy)* dan kemudian penurunan dari jumlah sel-sel T dan B yang mampu berespon terhadap cedera otak traumatika dapat secara signifikan menyebabkan perbaikan dari ukuran lesi dan fungsional outcome. Akan tetapi datanya inkonsisten antara manusia dan hewan coba tikus;²⁰⁴⁻²⁰⁶ oleh karena itu implikasi fungsional sebenarnya masih memerlukan pemeriksaan lebih lanjut. Yang menarik, penelitian lain yang memblok ekspansi dan aktivasi dari sel B dan T di spleen pasca cedera otak traumatika memperlihatkan efek neuroproteksi yang signifikan. Dengan demikian, peran dari sel-sel imun perifer pasca cedera otak traumatika dapat menjadi target baru dalam pengembangan pilihan terapi terhadap cedera otak traumatika dan syndrome post-traumatika.¹³³

2.3.1.3 Sitokin pada cedera otak traumatika

Sitokin dikategorikan berdasarkan komponen struktural dan fungsional, dapat berperan sebagai pro dan atau anti-inflamasi dan, merupakan mediator dari

respon imun selular, juga dalam sintesis dan *release antibody*. Sitokin dapat disintesis dan atau di-*release* oleh berbagai macam sel, termasuk mikroglia, makrofag, sel limfosit T dan B, endotelial, dan sel mast.^{207,208} Beberapa laporan mengindikasikan bahwa *interleukin (IL) IL1- β , IL18* dan *tumor necrosis factor alpha (TNF- α)* terlibat dalam perkembangan kaskade inflamasi pasca cedera otak traumatika pada tikus dan manusia.^{124–126} *IL1- β* berikatan dengan reseptor *IL1*, terutama pada mikroglia dan astrosit di otak, tapi juga pada tipe sel yang lain, termasuk *infiltrating immune cells*.^{209,210} Aktivasi neuroglia dan reseptor *IL-1* sel imun akan menginisiasi produksi dan pelepasan dari sitokine *inflammatory*, termasuk peningkatan produksi dari *IL1- β* dan *IL18*.²¹¹ Hal ini akan menghasilkan lingkungan pro-inflamasi, yang kemudian dapat menyebabkan kerusakan pada parenkim sistem saraf pusat.^{127,128,212,213} Efek kerusakan dari *IL1 β* dapat juga berhubungan dengan aktivasi dari jalur pro-inflamasi yang lain, seperti *TNF- α* dan *IL18*.²¹⁴

Beberapa penelitian mendukung evidens dari induksi yang cepat dan berkelanjutan dari *TNF- α* pada jaringan otak yang rusak, dalam 1 jam pertama pasca cedera otak traumatika pada tikus.^{127,128} *TNF- α* memicu produksi sitokin-sitokin yang lain (*IL1 β , IL6*), kemokine,¹²⁷ dan *nuclear factor kappa B (NF- κ B) family* (p50, p52, dan p65) *transcription factors*. Dengan demikian, *TNF- α* merupakan modulator inflamasi yang penting, pada level transkripsional dan translasional, dalam jaringan sistem neural dan jaringan non-neural.^{215,216} *IL8* juga tampaknya berperan penting dalam inflamasi pasca cedera otak traumatika. *IL8* juga terlihat meningkat setelah terjadinya inflamasi sistem saraf pusat,^{217–219} termasuk pada cedera otak traumatika.¹²⁴ Pada manusia dan tikus, *IL18 pathway*

dapat berperan pada terjadinya *delayed neuronal injury*, sampai 14 hari pasca cedera otak traumatika.¹²⁴ Neuroglia dan sel-sel imune yang teraktivasi pada area cedera mensekresi *IL18*, yang berikatan dengan reseptor *IL18*. Aktivasi reseptor *IL18* menginisiasi *signaling cascade* inflamasi. Dengan demikian, sitokine merupakan kontributor mayor terhadap respon inflamasi dan neuroinflamasi.²²⁰

Berikut ini dapat dilihat rangkuman berbagai sitokin yang berperan pasca cedera otak traumatika (Lihat Tabel 2.4)

Sitokin	Aktivitas biologis	Sekresi di otak	Reseptor di otak	Rujukan
Interferon (IFN)- α	Antivirus, antiproliferatif, meningkatkan ekspresi kompleks histokompatibilitas mayor, pirogenik, antitumor	+	+	McIntosh <i>et al.</i> , 1999; Lezlinger <i>et al.</i> , 2001
IFN- β	Antivirus, antiproliferatif, meningkatkan ekspresi kompleks histokompatibilitas mayor, pirogenik, antitumor	?	+	McIntosh <i>et al.</i> , 1999; Lezlinger <i>et al.</i> , 2001
IFN- γ	Antivirus, aktivasi makrofag, meningkatkan ekspresi kompleks histokompatibilitas mayor, pirogenik, antitumor, memicu protein fase akut	+	+	McIntosh <i>et al.</i> , 1999; Lezlinger <i>et al.</i> , 2001
<i>Tumor necrosis factor</i> (TNF) α	Sitotoksis, aktivasi sel T, pirogenik, antitumor, renjatan septik	+	+	Teasdale, 1998; Kossman, 2002
<i>Tumor necrosis</i>	Sitotoksis, aktivasi sel T, antitumor, renjatan septik	+	+	Teasdale, 1998; Kossman, 2002

<i>factor</i> (TNF) β				
Eritropoietin	Stimulasi pertumbuhan sel eritroid	+	+	Maas dan Dearden, 2000
<i>Granulocyte colony stimulating factor</i>	Stimulasi pertumbuhan granulosit	+	?	McKeating dan Andrew, 1998
Interleukin (IL) 1α	Aktivasi sel T, B, dan endotel pirogenik, memicu protein fase akut, hematopoiesis	+	+	Kronfol dan Ziad, 2000; Woichichowsk, 2002
IL- 1β	Aktivasi sel T, B, dan endotel pirogenik, memicu protein fase akut, hematopoiesis	+	+	Kronfol dan Ziad, 2000; Woichichowsk, 2002
IL-2	Aktivasi sel T, B, dan NK antitumor	+	+	Eduardo dan Arantxa, 2003
IL-3	Pertumbuhan dan diferensiasi sel hematopoietik, hematopoiesis	+	+	Arand, 2001
IL-4	Aktivasi sel T, B, dan NK IgG dan IgE, supresi monosit, antitumor	+	?	Young <i>et al.</i> , 1981
IL-5	Proliferasi dan diferensiasi eosinofil, produksi IgA, eosinofilia	+	?	Turnbull dan Rivier, 1999
IL-6	Produksi IgG, aktivasi sel T, pemicu protein fase akut, pirogenik, hematopoiesis	+	+	Hirano <i>et al.</i> , 1990; Dimopoulou <i>etal</i> , 2004

IL-8	Kemotaksis neutrofil dan sel T, pengeluaran netrofil	+	+	Kishimoto <i>et al.</i> , 1995
IL-10	Inhibisi sintesis sitokin, proliferasi sel T, inhibisi renjatan septik	+	+	Morganti-Kossmann dan Rancan, 2002
IL-12	Stimulasi pertumbuhan sel NK, penurunan produksi IgE	+	?	Morganti-Kossmann dan Rancan, 2002

Tabel 2.2 Jenis Sitokin Berdasarkan Aktivitas Biologis

Diantara sitokine-sitokine utama, TNF- α memainkan peranan vital, terutama dalam cedera sekunder dimana dapat menyebabkan terjadinya kerusakan secara akut tapi memiliki keuntungan pada fase subakut dari cedera.²²¹ Secara klinis, level TNF- α yang lebih tinggi berhubungan dengan mortalitas, kegagalan multi organ, dan peningkatan tekanan intracranial.²²² Tingkat kepadarahan dan mortalitas dari cedera otak traumatika dalam diperkirakan melalui peningkatan level dari IL-1 β , substansi P, CD40L, dan TIMP-1.²²³ Peningkatan ratio kadar IL-1 β di cairan serebrospinal terhadap serum pada manusia dan TGF- β pada tikus berhubungan dengan resiko yang lebih tinggi terhadap epilepsy pasca trauma (meskipun pada manusia, tidak terbukti adanya korelasi antara outcome klinis dan level dari TGF- β dalam cairan serebrospinal atau serum).²²⁴ Lebih lanjut, pada sebuah penelitian, ketika anti-TGF- β diberikan pada tikus dengan model kontusio spinal cord torakal, terjadi peningkatan dari preservasi axonal dan fungsi lokomotor.²²⁵

2.3.1.4 Kemokine pada cedera otak traumatika

Kemokine (CCL) merupakan protein *inflammatory* kemotaktik yang memediasi interaksi antara sel-sel *inflammatory* dan sel-sel target. Secara umum, kemokine biasanya berukuran 10KDa atau lebih kecil. Kemokine-kemokine

disintesis dan atau dilepaskan bersama dengan molekul mediator yang lain oleh berbagai tipe sel yang meliputi : astrosit, microglia, makrofag, eosinofil, neutrofil, sel dendritic, sel mast, dan *natural killer cells (NK cells)*.²²⁶ Pelepasan kemokine berperan sebagai *chemotactic guide* bagi *receptor-sensitive cells*, terutama melalui aktivasi *G protein-coupled receptor*.²²⁷ Seperti sitokine, kemokine dapat bersifat pro-dan atau anti-inflamasi. Setelah cedera otak traumatika, kemokine berperan menarik sel-sel immune ke lokasi cedera.²²⁸ Aktivitas spesifik dari kelas-kelas kemokine telah ditunjukkan pasca cedera otak traumatika.²²⁹ Salah satu contoh, CXC kemokine *CCL2, CCL3, CCL5, CCL7, CCL8, CCL13, CCL17 dan CCL22* menarik monosit dan makrofag. Kemokine lain, seperti *CCL1, CCL2, CCL17 dan CCL22*, terlibat dalam rekrutmen *lymphocyte-T*.²³⁰

Peran penting lainnya dari pelepasan sitokine dan kemokine adalah untuk mengaktivasi pengenalan reseptor (PRRs). *PRRs* merupakan protein dari *innate immune system* dan mengidentifikasi *danger-associated molecular pattern (DAMPs)* dari stress seluler. Proses identifikasi dan respon selanjutnya, membantu pertahanan sel dan atau jaringan yang mengalami kerusakan.²³¹ *PRRs* dibagi dalam beberapa subgroup, tergantung pada lokasi, tipe dan fungsi dari sel. Salah satu subgrupnya adalah *nucleotide-binding domain leucine-rich repeats (NLRs)*, yang juga disebut sebagai *nucleotide oligomerization domain (NOD)-like receptors*. Reseptor ini terletak dalam sitoplasma dan berperan untuk mengatur respon inflammatory, apoptosis, dan innate immune.²³² Protein-protein *family* dari *NLR* dapat diaktivasi oleh berbagai macam kerusakan sel atau jaringan pada cedera otak traumatika dan dapat membentuk *multi-protein complex* yang disebut sebagai “*inflammasomes*”.²³³ Komposisi unik dari inflammasome tergantung pada luas dan

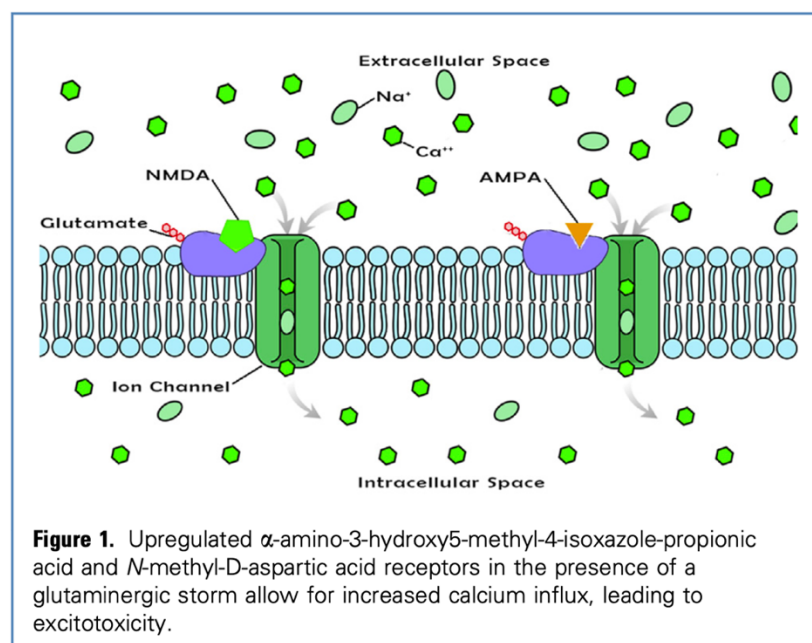
jenis kerusakan sela tau jaringan. Beberapa peneliti menduga adanya kontribusi spesifik dari protein-protein *family NLR (NLRP3-inflammasome)* pasca cedera otak traumatika. *NLRP3-inflammasome* terdeteksi dalam neuron, astrocyte, dan microglia dalam korteks pasca cedera otak traumatika, dan kompleks *NLRP3-inflammasome* berhubungan dengan peningkatan dari *IL1-β* dan *IL18*.²³³ Hal yang menarik bahwa *NLRP3-inflammasome* juga berhubungan dengan inflamasi sistem saraf pusat yang lain, termasuk pada penyakit *Alzheimer's (AD)*, yang mana meningkatkan faktor resiko pasca cedera otak traumatika.²³⁴

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kontribusi dari sitokin dan kemokin yang dilepaskan pasca cedera otak traumatika dimediasi oleh pelepasan, dan rekrutmen dari sel-sel imun ke lokasi cedera, dan mengkoordinasikan aktivitas selanjutnya dari sel tersebut. Sel-sel imun ini memiliki peranan yang sangat penting dalam innate immune response dan juga memungkinkan terjadinya transisi ke respon imun adaptive.²³

2.3.2 Mekanisme Kematian Sel

Eksitoksisitas selular merupakan mediator kunci dalam patofisiologi dari cedera otak traumatika. Hal ini terutama terjadi sebagai akibat dari upregulated reseptor N-methyl-D-aspartic acid dan α -amino-3-hydroxy 5-methyl-4-isoxazole-propionic acid dalam kondisi badai glutaminergic dalam ruang ekstraselular.²³⁵ Peningkatan level dari glutamate disertai dengan N-methyl-D-aspartic acid menyebabkan peningkatan ikatan dari reseptor ini sehingga terjadi overeksitasi, yang kemudian menyebabkan terbukanya receptor-associated ion channels dan terjadi influx dari ion sodium dan calcium.²³⁶ (Gambar 2.5) Clinical trials telah menunjukkan bahwa level glutamate meningkat segera setelah terjadi cedera otak

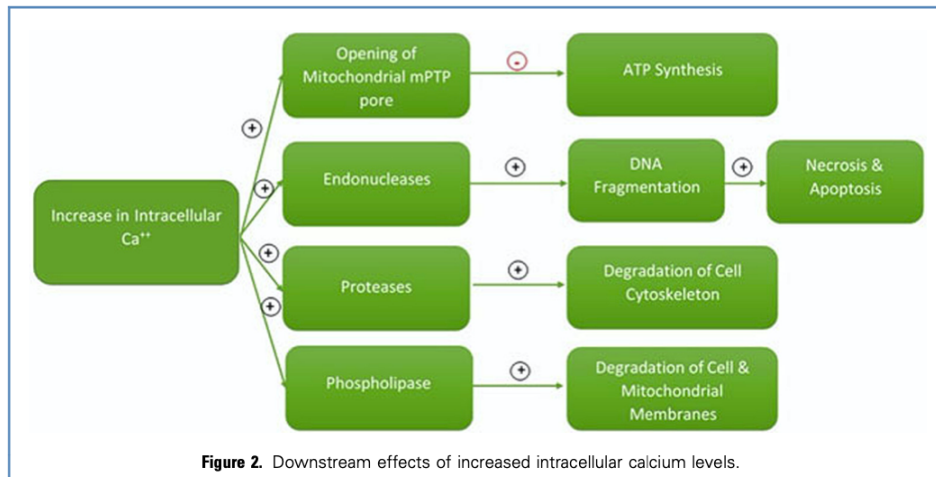
traumatika dan dapat bertahan hingga 24-48 jam, hal ini terutama akibat terjadinya disrupsi mekanikal pada blood-brain barrier (BBB). Telah disimpulkan bahwa peningkatan level glutamate berkontribusi pada penyebaran gelombang depolarisasi pada pasien, yang mana hal ini lebih sering dibandingkan dengan kejang sebagai komplikasi dari eksitoksisitas.²³⁷ Sebelumnya, gangguan homeostasis glutamate dihubungkan dengan outcome yang buruk, akibat dari terjadinya iskemia serebral dan peningkatan tekanan intracranial.¹⁹



Gambar 2.4 Peningkatan reseptor AMPA dan NMDA pada glutaminergic storm.¹⁹

Konsentrasi calcium intraselular yang tinggi dapat mengaktifasi enzim-enzim katabolik yang meliputi phospholipase yang menyebabkan kerusakan pada sel dan membrane mitokondria, protease yang menyebabkan erusakan pada sitoskeleton sel, dan endonuclease yang menyebabkan fragmentasi DNA (menyebabkan terjadinya apoptosis dan nekrosis). Peningkatan calcium yang tidak terkontrol akan berpengaruh pada fungsi dan mitokondria secara signifikan. Permeabilitas *transition pore mitochondrial*, yang bergantung pada calcium, tetap aktif untuk waktu yang lama, menyebabkan terjadinya ekstrusi dari calcium,

sehingga menyebabkan kerusakan potensial membran dari mitokondria. Perubahan kimia dan struktural ini mengganggu rantai transpor elektron, menyebabkan mitokondria tidak dapat memproduksi ATP.²³⁸ (Gambar 2.6) Kenyataannya beberapa penelitian mengungkapkan bahwa sintesis *ATP* dimulai dengan menggunakan *ATP* selular, sehingga meningkatkan *metabolic supply-demand gap*. Dengan peningkatan dari permeabilitas mitokondria, maka terjadi peningkatan *leakage* dari enzim, sehingga menyebabkan terjadinya *caspase-mediated apoptosis* dan peningkatan pembentukan dari *ROS* sebagai akibat dari disorganisasi rantai transpor elektron.²³⁹



Gambar 2.5 Efek dari peningkatan level kalsium intraselular.¹⁹

Salah satu karakteristik dari cedera otak traumatika adalah adanya astrogliosis akibat kelainan ekspresi gen, atau hipertrofi dari astrosit. Telah dikemukakan bahwa astrosit memainkan peranan yang penting dalam melokalisasi lokasi cedera dari jaringan otak sehat disekitarnya melalui pembentukan glial scar dan juga meregulasi level dari glutamate ekstraselular. *Glial scar* terutama dibentuk oleh proliferasi dari astrosit yang intens dan perubahan struktur jaringan permanen yang bertujuan untuk membatasi respon inflamasi dalam lesi.²⁴⁰ Dalam penelitian yang dilakukan oleh Shively *et al.*, laporan post-mortem dari 5 korban ledakan,

yang menarik ditemukan astrogliosis dan jaringan parut astroglial yang berat pada lapisan subpial glial, penetrasi pada pembuluh darah kortikal, gray-white matter junction, dan struktur yang melapisi ventrikel. Pada kasus astrositosis, astrosit yang teraktivasi secara berlebihan tidak dapat merefulasi level dari neurotoxin, hal ini memperburuk situasi.

Mekanisme kematian sel pasca cedera otak traumatika.²⁴¹

Mekanisme kematian sel pasca cedera otak traumatika secara umum dikategorikan menjadi nekrosis dan apoptosis. nekrosis merupakan proses pasif dengan karakteristik hilangnya keseimbangan ionik dari sel, menyebabkan terjadinya edema sel dan organel dan akhirnya *rupture*. Apoptosis, disisi lain, merupakan proses yang memerlukan energi dengan karakteristik kondensasi dan fragmentasi dari sitoplasma dan nukleus dengan mempertahankan struktur-struktur dari organel. Apoptosis merupakan sebuah contoh dari kematian sel terprogram dimana sel yang rusak secara aktif dapat diperbaiki dibandingkan dengan yang lebih pasif, cedera sel katastrofik yang secara instan menyebabkan kematian sel.²⁴²

Kematian sel terprogram meliputi apoptosis, *autophagy*, paraptosis, *calcium-dependent death*, dan *oncosis*; *aspases* dan faktor *pro-apoptotic* seperti *Bcl-2*, *JNK*, dan *analog ATG*, *ERK2*, *cathepsins*, dan *JNK*, masing-masing memediasi setiap proses ini.²⁴³

Menariknya, menginduksi aktivitas siklus sel pada neuron yang matang dapat menyebabkan kematian sel neuronal, seperti yang terlihat pada banyak kelainan neurodegeneratif. Cedera otak traumatika menyebabkan peningkatan dari banyak activator siklus sel seperti *cyclins*, *c-myc*, dan *cyclin-dependent kinase* dan terjadi penurunan inhibitor siklus sel.³⁶

Selanjutnya, *caspase-dependent pathway* memainkan peranan penting dalam kematian sel. *Caspase* merupakan protease yang diaktivasi oleh pembelahan proteolitik dan, melalui aktivasi enzim *caspase* yang berbeda, membentuk kompleks yang pada akhirnya melepaskan sitokrom c dari matriks mitokondria, menyebabkan efek akhir. Pasca cedera otak traumatika, *caspase 3* dan *12* yang utama teraktivasi dan terjadi ketidak seimbangan antara proapoptotic molekul (*Bcl-2* dan *Bcl-xL*), yang mempromosikan kematian sel.³⁷ Terdapat beberapa *caspase-dependent pathway* yang memodulasi kematian sel, dimana peningkatan permeabilitas mitokondria merupakan aksi sentral dan semua mekanisme molekular lainnya mengikuti. Protein seperti *DIABLO*, *HtrA2*, *apoptosis inducing factor (AIF)*, dan *endonuclease G* yang dilepaskan ke dalam sitosol, memodulasi kematian sel. Pelepasan dari *AIF* menyebabkan terjadinya kondensasi dari kromatin pada bagian periger dari nukleus bersama dengan fragmentasi *DNA*. Penelitian-penelitian telah menunjukkan bahwa pelepasan dari *AIF* bergantung pada *PARP-I*, yang menyebabkan deplesi dari *NAD⁺ sitosolic* dan menyebabkan disfungsi dari mitokondial dan permeabilitas membrane luar, hal ini yang menyebabkan kenapa inhibisi *PARP-I* pasca cedera otak traumatika terbukti memiliki efek neuroprotektif. Berbeda dengan mekanisme *caspase-dependent*, *AIF* berperan dalam situasi deplesi ATP dan menonjol di tengah area dari lesi post iskemia.²⁴⁴

Kematian sel terprogram autophagic melibatkan degradasi lysosomal dari organel-organel dan protein dan sering ditemukan pada sel-sel yang mati. Dalam kondisi inhibisi dari *caspase* dan permeabilisasi mitokondrial, *autophagic* sering menjadi mekanisme yang dominan terhadap kematian sel terprogram. Autophagic dapat juga sebagai kompensasi terhadap inhibisi apoptosis.²⁴³

Bagaimanapun, kematian sel neuronal tidak harus terjadi seperti ini dan masih banyak proses yang lebih kompleks yang melibatkan juga autophagy dan juga paraptosis, yang tidak memiliki morfologi apoptotic dan diregulasi oleh gen pada kondisi tidak adanya aktivitas dari caspase. Mengingat mekanisme molekuler terus berkembang, kematian sel neuronal saat ini diklasifikasikan sebagai kematian sel fisiologis dan eksitotoksik. Kematian sel fisiologis berarti kematian neuron dalam perkembangan atau karena cedera seperti etanol atau cedera otak traumatika, yang ditandai dengan peristiwa yang terjadi secara teratur dengan awalnya terjadi edema mitokondrial yang diikuti dengan vacuolisasi dari retikulum endoplasitik setelah ruptur dari sel membrane. Kematian sel eksitotoksik, yang sering terlihat dalam beberapa jam pasca cedera otak traumatika, berarti edema yang cepat dan ruptur dari organel-organel bersama dengan penggumpalan kromatin ditengah nukleus. Oleh karena itu, walaupun terjadi ruptur dari sel, membrane nucleus tetap intak.²⁴⁵

2.4 Sel Mast

Pada tahun 1863, Friedrich von Recklinghausen menemukan sel-sel granulaer di dalam mesenterium katak yang tidak terwarnai, kemudian pada tahun 1878, Paul Erlich, setelah melakukan pewarnaan disebut sebagai sel mast. Sel mast berfungsi seperti “gudang” dari substansi-substansi biologis aktif yang kuat. Sel mast secara farmakologis juga dikenal sebagai “time bombs”.⁸

Pencetus dari degranulasi sel mast meliputi stimulus mekanikal dan termal, mekanisme alergik, reseptor FcεRI, dan activator kimia seperti : komponen 48/80, polyamine, polymyxin B, carbachol. Myelin Basic Protein (MBP) memicu aktivasi

dari sel mast dan protease sel mast ikut berperan dalam demielinisasi system saraf pusat dan perifer.⁸

Sel mast memiliki berbagai macam mediator. Meskipun profil dari komponen mediator sel mast dapat bervariasi tergantung dari lokasi jaringannya, tahap perkembangannya dan tahap aktivasi. Sel mast mengandung : histamin (HA), serotonin (5-HT), platelet activating factor (PAF), prostaglandin D₂ (PGD₂), leukotriene C₄ (LTC₄) dan D₄ (LTD₄), bradykinin (BK), protease, glukoronidase, fosfolipase, thromboxane, heparin, tumor necrosis factor- α (TNF- α), granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), nerve growth factor (NGF), transforming growth factor β , interleukin : IL-1, 2, 3, 4, 5, 6, faktor kemotaktik untuk neutrofil, basofil, eosinofil, dan monosit.⁸

Asam arakidonat meningkatkan permeabilitas kapiler yang bergantung dari dosisnya sampai 2 mM; dosis yang lebih tinggi sampai 5 mM tidak menyebabkan peningkatan permeabilitas tambahan dan menyebabkan destruksi jaringan yang nyata disekitar tract dari jarum. Peningkatan permeabilitas terjadi dalam 2 jam pasca perfusi dan menetap hingga 24 jam. Efek dari 48 jam pemberian infus asam arakidonat adalah setengah dari 24 jam. Diduga (1) terdapat direct detergent effect terhadap asam arakidonat, (2) efek dari asam arakidonat yang dilepaskan dari membran melalui aktivasi fosfolipase A₂. Pemberian pre-treatment dengan dexametason secara signifikan menghambat peningkatan permeabilitas kapiler yang diinduksi oleh asam arakidonat. Pre-treatment (1 jam) dengan actinomycin D menekan efek inhibitor dari dexametason.²⁴⁶

Pemberian 5-HT, iv 10^{-6} – 10^{-4} M, menurunkan resistensi elektrik pada pial venules katak. Efek ini diblok oleh 5-HT antagonis ketanserin (efek pada

reseptor 5-HT_{2A}, dan pada derajat yang lebih rendah pada reseptor 5-HT₁). (catatan : DOI merupakan agonis dari reseptor 5-HT_{2A}), atau oleh verapamil. Kesimpulan : 5-HT₂ memediasi influx dari Ca²⁺ yang diikuti dengan kontraksi dari sel endothelial yang menyebabkan terbukanya tight junction. 5-HT melalui mekanisme ini dapat menginduksi penetrasi dari ion-ion berukuran kecil tapi tidak pada jenis yang lebih besar. Contohnya Na⁺-fluorescein tidak alami kebocoran.²⁴⁷

TNF- α , diproduksi, disimpan, dan dilepaskan oleh sel mast. TNF- α meningkatkan sensitivitas capsaicin dari neuron-neuron sensorik, dan dapat berkontribusi pada hyperalgesia. TNF- α dan IL-1 β dihasilkan oleh cedera dan penting dalam perkembangan kaskade inflamasi. Mereka juga meningkatkan pelepasan dari asam arakidonat dan sintesis eicanosoid, terutama PGE₂ dengan menginduksi PLA₂ dan aktivitas cyclooxygenase. Pelepasan dari PGE₂ dapat mensensitifisasi sel dan meningkatkan respon terhadap agen-agen inflamatori lain, seperti bradykinin. Sensitisasi disertai dengan peningkatan laju pembakaran dari axon-axon sensoris.⁸

2.4.1 Perubahan ekspresi sel mast dural dan reseptor histamin pasca cedera otak traumatika

Histamin diketahui berperan penting dalam perkembangan edema otak.²⁴⁸ Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa histamin meningkatkan permeabilitas vaskular dan water content di dalam otak.²⁴⁹ Sel mas mensekresikan histamin sebagai respon terhadap stimulus ekstrinsik. Pada cedera otak traumatika, kekuatan impact pada kranial akan ditransmisikan melalui dura ke otak. Karena duamatter mengandung sel mast, dihipotesakan bahwa cedera kepala dapat

mengaktivasi sel mast pada dural, menyebabkan terjadinya pelepasan histamin dan mengeksaserbasi cedera otak.²⁵⁰

Terdapat 3 tipe dari reseptor histamin yang telah diidentifikasi pada otak : reseptor histamin H1 (HRH1), HRH2, dan HRH3.²⁵¹ HRH3 terdistribusi secara luas di dalam otak dan diekspresikan dalam terminal presinaptik dari neuron-neuron histaminergik.²⁵² HRH3 merupakan auto-reseptor yang menghambat pelepasan histamine dan berperan sebagai protektor terhadap neurotoksisitas dari histamin. Dengan demikian, peningkatan release dari histamin menyebabkan aktivasi dari HRH3 dan HRH3 memediasi inhibisi dari sintesis dan release dari histamin.²⁵³

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivasi dari sel mast dural pada tikus dan mencit berlangsung selama 5 sampai 20 menit pasca cedera kepala.²⁵⁰ Sel mast yang teraktivasi akan melepaskan granul-granul sitoplasmik ke dalam jaringan sekitar. Tryptase merupakan salah satu komponen utama dari granul sitoplasmik yang terdapat di dalam sel mast. Penelitian lain menemukan bahwa intensitas tryptase immunostaining menurun pada sel mast yang mengalami degranulasi. Dengan menggunakan tryptase immunohistochemistry ditemukan bahwa terjadi penurunan jumlah sel mast pada hari ke 1 dan 4 pasca trauma dan akan mengalami perbaikan pada hari ke 7 dan 14 pasca trauma. Hal ini mengindikasikan bahwa sel mast dural teraktivasi pada tahap awal dan regenerasi granul-granul sitoplasmik terjadi pada fase akhir dari cedera otak traumatika.²⁵⁴

Shimada et al,²⁵⁵ melakukan penelitian untuk melihat perubahan sel mast dural dan ekspresi dari HRH3 pada otak berdasarkan waktu dari hari ke 1-14 pasca trauma (controlled cortical impact / CCI). Ditemukan bahwa jumlah tryptase-immunoreactive sel mast di dalam dura secara signifikan menurun pada kelompok

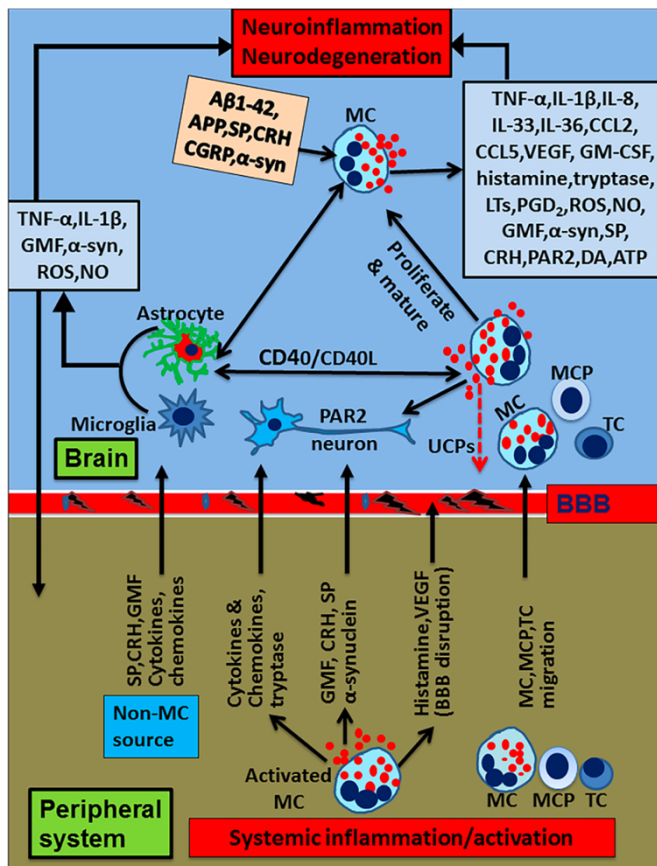
cedera otak traumatika dibandingkan dengan kelompok kontrol pada hari 1 dan 4 pasca trauma ($p < 0,05$). Pada hari ke 7 dan 14 pasca trauma, jumlah dari sel mast dural pada kelompok trauma mengalami perbaikan mencapai level yang sama dengan kelompok kontrol. Jumlah sel mast dural pada hari ke 1 pasca trauma lebih rendah dari pada hari ke 4 – 14 pada kelompok kontrol, meskipun tidak signifikan. Pada pemeriksaan immunohistochemistry dan ekspresi mRNA dari HRH3 ditemukan bahwa pada kelompok yang mengalami trauma terjadi peningkatan yang signifikan dari intensitas staining dan ekspresi mRNA HRH3 pada hari 1 dan hari ke 4 pasca trauma ($p < 0,05$, $p < 0,05$). Pada hari ke 7 dan ke 14 pasca trauma intensitas immunostaining menurun tapi masih tetap lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol sedangkan ekspresi mRNA dari HRH3 menurun ke level yang sama dengan kelompok kontrol.²⁵⁴ Diduga peningkatan HRH3 disebabkan oleh peningkatan pelepasan histamin. Penelitian lain yang menggunakan HRH3 agonis memperlihatkan peran protektif yang potensial dari HRH3 terhadap neurotoksisitas yang diinduksi oleh histamin pasca cedera kepala.²⁵⁵

Cedera kepala meningkatkan kadar histamin dalam otak.^{248,250} Pada penelitian eksperimental yang menggunakan tikus dan mencit ditemukan bahwa cedera pada tulang parietal meningkatkan kadar histamin pada korteks serebral dibawahnya pada periode 5 sampai 20 menit pasca trauma.²⁵⁰ Penelitian lain yang menggunakan tikus menunjukkan bahwa cedera penetrans pada korteks serebral meningkatkan kadar histamin dalam otak 5 jam pasca trauma.²⁴⁸ Kedua penelitian ini menduga bahwa peningkatan histamin dalam otak berasal dari sel mast dural atau jaringan otak yang mengalami cedera.²⁵⁵

2.4.2 Peran Sel Mast Dalam Neuroinflamasi dan Neurodegenerasi

Sel mast berperan krusial dalam reaksi alergik dan anafilaktik, imunitas selular dan adaptif, kerusakan jaringan, proses penyembuhan dan mekanisme nyeri.^{256–262} Sel mast terlibat dalam berbagai penyakit alergi dan inflamasi termasuk pada penyakit neurodegeneratif dan demyelinisasi.^{263–268} Inflamasi dan penyakit sistemik dapat mengeksaserbasi neuroinflamasi melalui beberapa jalur berbeda. Sel mast merupakan sensor multifungsi dan sel efektor dalam kelainan sistem saraf, vaskular dan immune.^{269,270} Di dalam otak, sel mast terutama terletak dekat dengan BBB, dan berkomunikasi dengan neuron-neuron, glia dan komponen neurovascular dengan melepaskan mediator-mediatornya dan melalui reseptor sel mast.^{270,271} Sel mast umumnya ditemukan dekat dengan sel-sel glia dalam kondisi neuroinflamasi, mengindikasikan interaksinya dengan sel-sel otak ketika terjadi neuroinflamasi. Berbagai faktor seperti species, jenis kelamin, usia dan kondisi lingkungan sekitar mempengaruhi jumlah dan luas aktivasinya di dalam otak.²⁷⁰ Selain itu, jumlah dari sel mast juga sangat bergantung pada pewarnaan dan teknik deteksi lain yang digunakan. Dalam kondisi fisiologis, jumlah total dari sel mast yang terdapat dalam sistem saraf pusat sangat terbatas, tetapi sel mast merupakan sel yang sangat kuat dan walaupun memiliki jumlah yang sedikit, sel mast dapat melepaskan mediator inflamasi yang cukup yang dapat mempengaruhi BBB dan mengaktifasi sel glia dan neuron-neuron dalam sistem saraf pusat.²⁷⁰ Sel mast melepaskan faktor-faktor neurotropik seperti nerve growth factor (NGF) dan memfasilitasi neurotransmisi, pertumbuhan neuronal dan pertahanan dalam otak normal,²⁷² akan tetapi, peningkatan jumlah dari sel mast yang terlibat dan aktivasinya dapat berakibat buruk, karena dapat meningkatkan permeabilitas BBB, mengaktifasi astrosit,

oligodendrosit, mikroglia, dan sel T dalam neuroinflamasi.²⁷³ Sel mast merupakan sel lokal dalam sistem saraf pusat,²⁷⁴ dan dapat melewati BBB ke dalam otak dari jaringan perifer pada kondisi neuroinflamasi,²⁷⁴ seperti juga dalam kondisi fisiologis.²⁷⁵ Sel mast dapat memanggil dan mengaktifasi sel-sel inflamasi lain dan menginduksi vasodilatasi dalam neuroinflamasi seperti yang dapat dilihat pada gambar 2.7.^{266,276}



Gambar 2.6
Diagram skematik memperlihatkan faktor-faktor inflamasi perifer dan sel pada neuroinflamasi dan neurodegenerasi.

Sel mast melepaskan sitokin atau kemokin multifungsional dan mediator-mediator neuroaktif termasuk IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, IL-33, TNF- α , *vascular endothelial growth factor (VEGF)*, *corticotropin-releasing hormone (CRH)*, *granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF)*, *CCL2*, *dopamine*, *substance P (SP)*, *histamine*, *tryptase*, *prostaglandins (PGD)*, *leukotrienes*, *ROS*,

reactive nitrogen species (RNS) dan *nitric oxide (NO)* secara selektif yang bergantung pada kondisi lingkungan mikro dan tipe dari stimulus.²⁷⁷⁻²⁸¹ Sitokin-sitokin seperti IL-1 β , dan TNF- α dalam konsentrasi yang tinggi dapat menginduksi kerusakan neuronal baik secara langsung atau melalui aktivasi sel-sel glia, dan sitokin-sitokin ini diduga sebagai target pengobatan dalam terapi cedera otak.²⁸²⁻

284

IL-1 dapat mengaktivasi sel mast untuk melepaskan mediator-mediator inflamatori.²⁸⁵ Mediator-mediator inflamatori dan vasoaktif yang berasal dari sel mast menyebabkan terjadinya vasokonstriksi, peningkatan permeabilitas vaskular, edema dan rekrutmen sel inflamatori ke lokasi inflamasi. Sel mast berperan dalam semua tahap inflamasi, kerusakan jaringan, dan mekanisme perbaikan jaringan pasca respon inflamasi selesai pada jaringan inflamasi.^{274,286-288} Sel mast merupakan sensor penting dari cedera dan kerusakan sel melalui penemuan IL-33 pasca dilepaskan dari sel-sel yang mengalami cedera.²⁸⁹ Mikroglia, sel imun lokal di otak dan sel mast dipertimbangkan sebagai 2 sel yang penting yang dapat memediasi terjadinya neuroinflamasi di dalam otak. Lebih lanjut, sel mast dapat merespon dan melepaskan banyak neuropeptide yang berpengaruh dalam proses neuroinflamasi.^{286,290} Sel mast berinteraksi dengan sel-sel T, astrosit, oligodendrosit, dan mikroglia selama pathogenesis dari penyakit neurodegenerative kronis.^{286,291-293} Sel mast dapat berkomunikasi dengan mikroglia, astrosit, dan neuron melalui CD40L, CD40, toll-like receptor 2 (TLR2), TLR4, protease activated receptor 2 (PAR2), CXCR4/C-X-C motif chemokine 12 (CXCL12) dan C5aR (CD88). Sel mast juga mempengaruhi migrasi glia dan aktivasi yang berhubungan dengan pelepasan mediator inflamasi.^{274,287,288,291}

Sel mast merupakan major link antara neuron dan neuroinflamasi.²⁹⁰ Lebih lanjut, sel mast dan mikroglia diketahui dapat memicu aktivasi dari 2 jalur signaling yang berbeda dalam neuroinflamasi.^{291,294} Sel mast berkomunikasi dengan komponen unit neurovascular dan menginduksi disfungsi kognitif.²⁹⁵ Penelitian terbaru melaporkan bahwa sel mast diaktivasi oleh protein proinflammatory otak glia maturation factor (GMF), memperkuat hubungan antara sel mast dan sel otak dalam neuroinflamasi.²⁹⁶ Astrosit juga mengekspresikan reseptor-reseptor bagi histamin sel mast sebagai tambahan terhadap reseptor-reseptor lain yang berperan dalam proses interaksi antara sel-sel ini.²⁹⁷ Protease yang berasal dari degranulasi sel mast *cleave* tryptase-activated receptors (PARs) yang diekspresikan pada permukaan neuron pada neuroinflamasi dan neurodegenerasi.²⁹⁸ Granul-granul sel mast juga mengandung dopamine yang dilepaskan setelah terjadi aktivasi.²⁹⁹ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktivasi dari sel mast menginduksi severitas dari EAE dan pada tikus dengan defisiensi sel mast menunjukkan adanya penurunan severitas penyakit EAE. Sel mast juga dapat bekerja di luar dari sistem saraf pusat untuk mempengaruhi efeknya di dalam sistem saraf pusat seperti yang ditunjukkan pada model EAE.³⁰⁰ Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa rekonstitusi sel mast pada tikus dengan defisiensi sel mast dapat mengembalikan kondisi seperti dengan pada tikus wild-type.²⁸⁹ Sel mast dapat berkomunikasi dengan neuron melalui cell adhesion molecule-1 (CADM), N-cadherin, dan melalui proses transgranulasi.^{301,302} Aktivasi sel mast menginduksi permeabilitas BBB dengan melepaskan molekul-molekul vasoaktif seperti histamine, protease, dan metalloproteinase.³⁰² Histamine yang berasal dari sel mast mempengaruhi *sleep-wakefulness* dan fungsi *behavioral basic* yang lain.³⁰³ Tipe dan kekuatan dari sinyal

aktivasi dan fenotip dari sel mast menentukan luas atau tingkat aktivasi sel mast dalam kondisi inflamasi. Aktivasi sel mast menyebabkan eksplosif degranulasi akut (proses cepat) dengan pelepasan mediator-mediator inflamasi ke dalam ruang ekstraselular, dan juga pelepasan selektif dari sitokin dan kemokin (proses lambat).²⁷⁶ Mediator-mediator derivat dari sel mast yang dapat merusak BBB meliputi CRH, histamin, VEGF, IL-8, TNF- α , tryptase, prostaglandin D2 (PGD₂), SP, bradykinin, endorphan, endothelin, neurotensin, NO, vasoactive intestinal polypeptide (VIP) dan urocortin.³⁰⁴⁻³⁰⁷

A β 1-42 merupakan komponen mayor dari plaq amyloid (APs) di dalam otak AD. A β 1-42 diketahui dapat mengaktivasi sel mast yang memiliki peran penting dalam pathogenesis dari AD.³⁰⁸ (Faktanya, adanya A β dan tau-protein terdeteksi di dalam sel mast dari organ perifer seperti kulit dan gaster dari pasien AD.³⁰⁹ Cedera neuron dopaminergic dapat terdeteksi melalui sel mast karena sel-sel ini dapat mendeteksi adanya cedera selular melalui mekanisme pengenalan terhadap IL-33.²⁸⁹ Para peneliti menduga bahwa selain aktivasi sel-sel glia yang telah diketahui dengan baik, aktivasi sel mast dan pelepasan sitokin-sitokin dan kemokin proinflamasi dari sel mast seperti peningkatan mediator-mediator sel glia yang dimediasi oleh sel mast dapat mengeksaserbasi kondisi neuroinflamasi yang menyebabkan terjadinya neurodegenerasi pada PD dan AD. Penelitian terbaru menduga bahwa aktivasi sel mast oleh GMF, MPP⁺ dan α -synuclein dan pelepasan sitokin-sitokin, kemokin dan molekul-molekul neurotoksik dan ekspresi dari GMF oleh sel mast dapat menjadi terget pengobatan baru untuk pasien dengan PD dan kondisi neuroinflamasi yang lain.^{296,310}

2.4.3 Mekanisme faktor-faktor inflamasi perifer dan sel-sel inflamasi menginduksi neuroinflamasi

Pasien dengan AD menunjukkan adanya abnormalitas pada jaringan perifer dari sel immune, dan sel inflamasi selain perubahan patologis yang ditemukan pada regio otak.³¹¹ Penelitian telah menunjukkan bahwa inflamasi perifer dapat mengeksaserbasi neuroinflamasi dan neurodegenerasi di dalam otak termasuk di dalam regio substantia nigra.³¹²⁻³¹⁶ Penelitian pada hewan coba telah menunjukkan bahwa inflamasi sistemik dapat menaktivasi mikroglia di dalam otak dan melepaskan mediator-mediator inflamatori.³¹⁷ Level yang tinggi dari IL-6, TNF- α , dan CCL2 di dalam plasma dan serum dari pasien dengan AD, PD, dan MS dan juga dalam berbagai penyakit kronis sistemik dapat menginduksi terjadi proses neurodegenerasi pada penyakit ini.³¹⁶ Inflamasi sistemik juga dapat meningkatkan permeabilitas BBB pada AD.³¹⁸ Normalnya BBB, dibentuk oleh sel-sel endothelial dan prosesus dari astrosit, menghambat transfer dari molekul-molekul dan sel yang berukuran lebih besar ke dalam otak. Sitokin atau kemokin dan molekul pro-inflamatori yang lain telah menunjukkan dapat melewati BBB dengan mekanisme transport aktif.³¹⁹ atau melalui organ sirkumventrikular yang tidak memiliki BBB.³²⁰ Mediator-mediator imun perifer dan inflamasi dapat berinteraksi dengan sel-sel endothelial BBB otak dan menginduksi terjadinya pelepasan molekul-molekul inflamatori tambahan termasuk PGD₂ ke dalam otak.³²¹ Sel-sel imun sistemik seperti sel T dapat menginfiltrasi ke dalam otak melewati BBB melalui pleksus khoroides atau CSF dapat menginduksi neurodegenerasi.^{192,322} Inflamasi perifer juga dapat ditranslasikan ke otak melalui nervus vagus melalui refleksi neural.³²³ Dengan adanya gangguan BBB pada penyakit neurodegeneratif, aliran

dari sel-sel imun dan molekul-molekul inflamatori yang melewati BBB meningkat dan terjadi peningkatan neuroinflamasi.^{318,324} Beberapa penelitian sebelumnya mengindikasikan bahwa aktivasi sel mast,^{273,325} seperti juga inflamasi perifer dapat mempengaruhi kerusakan BBB sehingga terjadi peningkatan dari permeabilitas terhadap mediator-mediator inflamatori dan infiltrasi sel-sel imun ke dalam otak sehingga menyebabkan penyebaran inflamasi perifer ke dalam otak.³¹⁸ Inflamasi perifer akibat injeksi LPS meningkatkan neuroinflamasi tanpa adanya peningkatan dari level A β pada model tikus dengan AD, mengindikasikan bahwa neuroinflamasi dapat meningkat tanpa adanya peningkatan dari level A β di dalam otak.³¹⁸ Penelitian terbaru melaporkan bahwa imunoterapi yang menginduksi pembersihan dari A β saja tidak dapat memperbaiki kognitif pada pasien AD dan mengindikasikan adanya kontribusi dari inflamasi sitemik pada pasien tersebut.³²⁶ Aktivasi mikroglia dan astrosit melepaskan mediator-mediator inflamasi, yang masuk ke dalam sistem perifer melalui BBB yang rusak dan merekrut sel-sel imun ke dalam otak, sehingga mengeksaserbasi mekanisme neuroinflamasi.³²⁶

Sebelumnya, otak dianggap sebagai organ yang memiliki imunologikal khusus tapi sekarang telah diketahui bahwa sistem imun perifer dan otak berkomunikasi melalui beberapa jalur.³²⁷ Telah ditunjukkan sebelumnya bahwa adanya tumor di dalam otak dapat mempengaruhi parameter imunologi di dalam darah perifer.³²⁸ Beberapa kondisi inflamasi perifer (Gambar 2.8) dapat mengaktivasi sel mast dan melepaskan mediator-mediator proinflamasi dan neurotoksik seperti GMF, α -synuclein, CRH, neurotensin, protease, sitokin, dan kemokin. Mediator-mediator ini dapat menyebabkan peningkatan dari mekanisme neuroinflamatori.³¹⁶ Mediator-mediator ini dapat menginduksi terjadinya

kerusakan pada BBB, kemudian akan masuk ke dalam otak, dan mengaktifasi sel glia dan neuron untuk melepaskan berbagai mediator neuroinflamatori. Lebih lanjut sel mast perifer, sel progenitor sel mast, dan sel T masuk ke dalam otak, berproliferasi, mature dan mensekresikan mediator-mediator inflamatori tambahan. Mediator-mediator inflamasi yang dilepaskan dari sel-sel ini akan mengaktifasi glia dan neuron untuk mensekresikan mediator-mediator inflamasi tambahan seperti GMF dan neuropeptide yang menurunkan ekspresi dari UCP, dan menginduksi kerusakan neuronal dan neurodegenerasi. Selanjutnya, glia dan sel mast dapat saling mereaktivasi satu sama lain di dalam otak melalui molekul-molekul ko-stimulator CD40/CD154 atau mediator-mediator inflamatori seperti TNF- α , IL-1 β atau IL-33. Tryptase sel mast dapat bekerja pada neuron melalui PAR2. Sel mast dapat tereaktivasi melalui mediator-mediatornya sendiri secara autokrin dan parakrin dan mengeksaserbasi jalur neuroinflamatori. A-synuclein atau MPP⁺ dari glia atau ekstraselular A β 1–42 dapat mengaktifasi sel mast untuk melepaskan mediator-mediator neuroinflamatori pada PD dan AD. Selain itu, beberapa mediator inflamatori dari jaringan perifer dapat mengganggu BBB, masuk ke dalam otak dan mengaktifasi berbagai jalur neuroinflamasi. Lebih lanjut, mediator-mediator inflamatori yang dilepaskan dari mikroglia dan astrosit yang teraktivasi masuk ke dalam sistem perifer melalui BBB yang rusak, mengaktifasi dan merekrut sel-sel imun dan inflamasi ke lokasi inflamasi di dalam otak. Akan tetapi, pengaruh faktor-faktor perifer pada neuroinflamasi dapat bervariasi antara satu individu dengan individu lainnya.³²⁹

2.5 Sel Mikroglia

Mikroglia merupakan fagosit mononuclear “lokal” dalam sistem saraf pusat, termasuk dalam sistem glial sel non-neuronal yang mendukung dan memproteksi fungsi neuronal. Mikroglia terdistribusi secara luas dalam otak dan medulla spinalis,³³⁰ dan berjumlah sekitar 5 – 20 % dari jumlah total populasi sel glial dalam parenkim sistem saraf pusat.³³¹ Fungsi yang adekuat dan normal dari mikroglia sangat penting dalam menjaga homeostasis dari sistem saraf pusat baik dalam kondisi normal maupun pada saat terjadi abnormalitas/penyakit.³³²

Terdapat 2 aspek fungsional utama dari mikroglia yakni sebagai pertahanan imun dan *maintenance* sistem saraf pusat. Sebagai sel imun, mikroglia berperan dalam menjaga, mendeteksi tanda-tanda awal dari adanya invasi patogen atau kerusakan jaringan pada sistem saraf pusat yang secara aktif dilindungi oleh BBB.³³³ Namun, dalam kondisi terjadinya inflamasi dari respon imun aktif, mikroglia dapat berpotensi menyebabkan kerusakan pada sistem saraf pusat dan berperan dalam perbaikan jaringan dan remodeling. Mungkin tidak mengejutkan, bahwa disregulasi aktivasi mikroglia dan inflamasi yang diinduksi oleh mikroglia ditemukan pada hampir semua kelainan pada otak; sehingga diduga mikroglia dapat memberikan efek langsung pada neuron, berkontribusi terhadap progresivitas dari penyakit.^{332,334,335}

Dalam beberapa tahun terakhir ini pentingnya peran dari mikroglia pada fungsi sistem saraf pusat yang normal semakin diakui. Selain fungsinya dalam hal imunitas, beberapa data menunjukkan peran yang baru dan fundamental dari mikroglia dalam mengontrol proliferasi dan diferensiasi neuronal dan juga dalam pembentukan koneksi sinaptik.³³⁶ Dalam kondisi normal, mikroglia secara konstan

selalu mengamati lingkungan mikro disekitarnya, memperluas prosesnya untuk membentuk kontak dengan sinaps neuronal, berkontribusi dalam modifikasi dan eliminasi struktur-struktur sinaptik.³³⁷ Mikroglia juga berperan dalam remodeling sirkuit neural post-natal karena terbukti berperan dalam memutus sinaptik pada saat perkembangan post-natal tikus.³³⁸

Dengan demikian, mikroglia menempati posisi sentral dalam pertahanan dan maintenance sistem saraf pusat.

2.5.1 Asal dari Mikroglia

Berbagai teori mengenai asal dari mikroglia telah menjadi perdebatan yang lama dari para ahli. Penjelasan pertama mengenai sel ini dilakukan oleh Franz Nissl pada akhir abad ke-19, dimana ia mendeskripsikan rod cells (“stabchencellen”) sebagai elemen reaktif dari glial dengan potensi melakukan migrasi, fagositosis, dan proliferasi. Pada akhir abad ke-19 juga, W. Ford Robertson memperkenalkan nama “mesoglia” untuk mendeskripsikan elemen fagositosis derivat dari mesoderm di dalam sistem saraf pusat yang memiliki asal yang berbeda dari neuron dan neuroglia. Neuroglia pertama kali diperkenalkan oleh Virchow, pada tahun 1856, yang dinamakan “nevernitt” yang berarti nerve-glue, kemudian diterjemahkan sebagai “neuroglia”, meskipun mereka berhubungan dengan populasi makroglia, yang terdiri dari astrosit dan oligodendrosit.¹⁹³ Santiago Ramon y Cajal kemudian mengganti nama sel tersebut sebagai “elemen ketiga dari sistem saraf” untuk membedakannya dari neuron dan neuroglia, dan menyatakan bahwa sel-sel tersebut mungkin berasal dari mesodermal. Konsep “elemen ketiga” ini kemudian direvisi pada tahun 1919 oleh del Rio-Hortega, merupakan murid dari Ramon y Cajal, yang membuat perbedaan antara berbagai tipe sel dalam sel-sel “elemen ketiga”

berdasarkan perbedaan fungsi dan morfologinya. Del Rio-Hortega memperkenalkan nama “sel mikroglia” untuk menggambarkan elemen ketiga non-neuronal, non-astrokit yang berbeda dari oligodendroglia neuroectodermal atau oligodendrosit.³³⁹ Del Rio-Hortega menggunakan teknik silver staining untuk menggambarkan 2 tipe sel yang berbeda asal, distribusi, bentuk, dan fungsi: populasi mayor, disebut sebagai oligodendroglia, tidak memiliki aktivitas fagositosis, dan populasi minor yang dikenal sebagai elemen ketiga dari sistem saraf pusat berasal dari mesodermal, mengandung korpuskel fagosit dengan aktivitas migrasi dan fagositosis.¹⁹³

Teori lain mengenai asal dari mikroglia meliputi mikroglia merupakan derivat dari perisit yang berhubungan dengan pembuluh darah atau dari subependymal disekitar ventrikel lateral. Data menunjukkan adanya homologi fenotipik antara monosit / makrofag dan mikroglia yang divalidasi dengan pemeriksaan imunohistokimia yang melaporkan bahwa ekspresi spesifik dari marker makrofag, meliputi F4/80, Fc reseptor, dan CD11b pada mikroglia tikus.³⁴⁰ Akhirnya, sebuah penelitian genetik penting menemukan bahwa tikus yang tidak memiliki PU.1, sebuah faktor transkripsi penting untuk sel myeloid, juga tidak memiliki mikroglia. Hal ini menegaskan bahwa mikroglia berasal dari myeloid dan secara bersamaan diduga bahwa sel-sel ini mungkin secara ontogenetik berhubungan dengan makrofag.¹⁹³

2.5.2 Lokasi Sel Mikroglia

Mikroglia terdapat dalam sistem saraf pusat sebagai sel fagosit mononuclear dan berasal dari myeloid.^{332,341,342} Dalam hal ini, mikroglia dapat dibandingkan dengan makrofag lokal pada jaringan dari organ-organ lain seperti sel-sel Kupffer

pada hepar, sel-sel dendritik pada kulit dan epitel permukaan lain. Selama perkembangan, terdapat gelombang besar migrasi dari progenitor myeloid primitif ke dalam sistem saraf pusat untuk menjadi mikroglia lokal. Terdapat bukti bahwa makrofag perivascular dalam sistem saraf pusat, juga berasal dari myeloid, dapat berasal dari sirkulasi. Populasi lain dari makrofag dalam sistem saraf pusat terdapat di dalam leptomeninges dan pleksus khoroid. Pengetahuan mengenai fungsi dari populasi ini masih relative kurang, tapi diduga mereka memiliki fungsi monitoring dan scavenging yang berhubungan dengan lokasinya. Sebagai contoh, makrofag perivascular dan leptomeningeal penting dalam scavenging produk-produk darah pasca perdarahan subarachnoid.³⁴³ Jelas, jika kapasitas sel-sel yang bersirkulasi ke dalam otak dan berfungsi sebagai mikroglia / makrofag bertahan hingga masa dewasa, atau dapat diinduksi dan ditingkatkan pada manusia.

2.5.3 Fungsi dari mikroglia

Mikroglia dapat menunjukkan fungsi yang berbeda-beda pada tahap yang berbeda dalam hidup baik secara fisiologis dan dalam respon terhadap, atau kontribusi terhadap, berbagai situasi patologis seperti yang dirangkum dalam tabel 2.5 walaupun dalam realitas tampaknya bahwa pada waktu tertentu, masing-masing sel microglial seperti memiliki fungsi yang berbeda.³⁴⁴

Fungsi	Contoh
Perkembangan sistem saraf pusat	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivitas fagositosis selama perkembangan neuronal/sinaptik seperti “pruning” dari neuron dan koneksi yang berlebihan • Perkembangan dipengaruhi oleh sekresi dari sitokin, neurotrophin, dan growth factors.

<p>Mengenali pathogen (innate immune function)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Reseptor-reseptor (seperti, Toll-like receptor, TLR) mengenali perubahan antigen pada permukaan dari pathogen dikenal sebagai pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) seperti endotoksin lipopolisakarida (LPS) • Mekanisme yang sama mungkin juga terlibat dalam respon terhadap akumulasi dari protein ekstraselular (seperti plak amyloid)
<p>Fagositosis</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Menelan dan destruksi oleh enzim pencernaan dalam lisosom dari : <ul style="list-style-type: none"> ○ Berbagai tipe sel yang rusak (contoh, infark) ○ Neuron (contoh, neuronophagia, Wallerian degeneration, tract degeneration) ○ Mikroorganisma (contoh. Abses) ○ Sel-sel yang terinfeksi virus (contoh, herpes encephalitis) ○ Produk-produk pemecahan eritrosit dan hemoglobin (seperti hemosiderin) pasca perdararahan.
<p>Presentasi atigen</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Presentasi pathogen (contoh, pada infeksi bakteri, jamur, virus) berikatan dengan MHC untuk aktivasi sel T limfosit • Mungkin berkaitan juga dalam penyakit autoimmune
<p>Pengenalan antibody yang berikatan (fungsi imun adaptif)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Respon terhadap antibody yang berikatan dengan pathogen (opsonisasi)

	<ul style="list-style-type: none"> • Mungkin juga berhubungan dengan penyakit autoimun (seperti, demielinisasi, sindroma paraneoplastic)
Sitotoksitas	<ul style="list-style-type: none"> • Reactive oxygen species / respiratory burst (H₂O₂, NO) • Sitokin-sitokin (contoh, IL, TNF, interferon, TGF, CSF) • Sekresi glutamate dan aspartate
Remodeling matriks ekstraselular	<ul style="list-style-type: none"> • Protease (MMPs mendegradasi matriks ekstraselular)
Modulasi respon imun/inflamasi	<ul style="list-style-type: none"> • Chemokines (“memanggil” sel-sel inflammatory yang lain) • Reseptor CD200 (CD200 yang disekresikan oleh neuron memiliki peran anti-inflammatory).
Repair	<ul style="list-style-type: none"> • Memfasilitasi plastisitas dan synaptogenesis dengan membuang sel-sel debris
Stem cells	<ul style="list-style-type: none"> • Regulasi proliferasi dari stem cells (seperti, granul sel neuron dari hipokampus)
Tumor	<ul style="list-style-type: none"> • Respon terhadap sel-sel neoplastik, regulasi proliferasi sel tumor
Transport lipid	<ul style="list-style-type: none"> • Sekresi partikel lipoprotein yang mengirim lipid ke neuron untuk memperbaiki membrane sel dan sinaps, fasilitasi plastisitas sinaptik
Masuknya virus ke sistem saraf pusat	<ul style="list-style-type: none"> • CCR 5 dan CD4 merupakan reseptor untuk masuknya HIV ke dalam makrofag dan selanjutnya ke dalam sistem saraf pusat

Support mycobacteria	<ul style="list-style-type: none"> • Memfasilitasi intracytoplasmic survival dari mikobakteria (contoh, tuberculosis)
Demielinasi	<ul style="list-style-type: none"> • Destruksi mielin / fagositosis (contoh, multiple sclerosis)

MHC, major histocompatibility complex; IL, interleukin; TGF, transforming growth factor; CSF, colony-stimulating factor; MMP, matrix metalloproteinase; HIV, human immunodeficiency virus; CCR5, C-C chemokine receptor 5.

Tabel 2.3 Fungsi dari Mikroglia.³⁴⁴

2.5.4 Morfologikal *states* dari mikroglia

2.5.4.1 *Ramified* Mikroglia

Mikroglia memiliki morfologi yang berbeda bila dibandingkan dengan makrofag pada jaringan yang lain. Tipikal morfologi dari mikroglia pada manusia adalah dalam bentuk sel dengan banyak prosesus pendek dan halus (Lihat gambar 2.8),³⁴⁴ yang memiliki luas permukaan yang besar dan meluas ke sekitarnya, sehingga menempatkan mereka dalam posisi yang bagus untuk memonitor perubahan yang terjadi pada lingkungan lokalnya. Morfologi ini sering disebut sebagai “ramified”, sebelumnya dianggap mencerminkan kondisi istirahat atau kondisi yang relative inaktif. Akan tetapi, video mikroskopik in vivo pada tikus memperlihatkan bahwa prosesus dari mikroglia secara konstan bergerak seolah-olah secara konstan tetap aktif.⁽⁷⁾ Prosesus mikroglia memanjang ke arah sel di dekatnya dan membentuk sebuah matriks yang meluas hingga keseluruhan sistem saraf pusat. Morfologi mikroglia memiliki kemiripan yang mencolok sel dendritic epithelial (sel-sel Langerhans). Fungsi dari sel-sel dendritic epithelial adalah menjaring antigen asing dari lingkungan eksternal, sebagai contoh bakteri dan virus, melalui interaksi dengan reseptor permukaan sel dan Toll-like receptors³⁴⁴ Sel-sel dendritic yang teraktivasi kemudian berjalan ke limfonodi lokal dan

mempresentasikan antigen bersama dengan major histocompatibility complex (MHC) class II kepada limfosit untuk menstimulasi respon imun adaptif. Sebaliknya, meskipun morfologinya serupa, tampaknya mikroglia tidak memiliki kapasitas untuk membentuk ‘afferent’ arm dari sistem imun, salah satu alasan sistem saraf pusat merupakan lokasi yang relative memiliki “immune privileged”.⁽⁸⁾ Meskipun demikian, pada jaringan otak manusia post-mortem terdapat MHC-II positive mikroglia yang berlimpah dan, akibatnya, MHC II immunohistokimia sering dipakai dalam praktek neuropatologikal untuk mengidentifikasi mikroglia. (Gambar 2.8E).³⁴⁴

2.5.4.2 Makrofag /*amoeboid* mikroglia

Sel-sel dengan morfologi makrofag berkembang dalam sistem saraf pusat dalam situasi dimana fagositosis berperan. Sel-sel tersebut berbentuk spheris, tidak memiliki prosesus, dan terdapat sejumlah vacuola fagosit (Gambar 2.8).³⁴⁴ Banyak sel-sel dengan morfologi makrofag muncul sebagai respon terhadap kerusakan akut dari jaringan sistem saraf pusat seperti trauma, infark, dan infeksi. Sel-sel seperti makrofag juga sering terdapat dalam jaringan otak yang berkembang, memiliki fungsi yang potensial dalam ‘pruning’, membuah neuron dan sinaps aberrant. Pelabelan “amoeboid” mengimplikasikan bahwa sel tersebut memiliki kemampuan untuk bergerak.³⁴⁴ Sel-sel ini pada dasarnya tidak dapat dibedakan dari makrofag ditempat lain dalam tubuh, sebuah observasi sumber yang berpotensi membingungkan. Pertama, secara terminology, seharusnya sel-sel dalam sistem saraf pusat tersebut secara sederhana dapat disebut sebagai ‘makrofag’ untuk mencerminkan penampakkannya dan fungsinya yang mirip atau sama dengan makrofag di tempat lain dalam tubuh atau, sebagai alternatif dapat disebut sebagai

“*amoeboid microglia*” untuk mengenali adanya potensi mereka memiliki asal yang berbeda. Kedua, adanya ketidak jelasan dari mana asal dari sel-sel ‘*macrophage-like*’ di dalam sistem saraf pusat. Apakah mereka berasal dari perubahan mikroglia lokal atau mereka berasal dari monosit dalam sirkulasi yang masuk ke dalam otak sebagai respon terhadap adanya kerusakan jaringan, seperti yang terjadi di bagian lain dari tubuh.⁹ Penelitian pada hewan mengindikasikan bahwa, paling tidak dalam kondisi tertentu, monosit dalam sirkulasi dapat masuk ke dalam sistem saraf pusat dan berkembang menjadi mikroglia selama usia dewasa.^(5,9) Akan tetapi, observasi dalam praktik neuropatologi klinis menunjukkan bahwa pada tepi dari lesi, sebagai contoh tumor atau infark, terdapat gradasi dari ramified microglia dengan prosesus halus multiple yang terletak relatif jauh dari lesi, hingga mikroglia dengan prosesus yang lebih sedikit dan pendek, hingga sel-sel macrophage-like ditengah-tengah dari lesi. Observasi tersebut tampaknya mendukung bahwa sel-sel *macrophage-like* berasal dari sel mikroglia lokal yang sudah ada sebelumnya dibandingkan dengan yang berasal dari monosit dalam sirkulasi. Kedua potensi asal dari makrofag di dalam otak, tentunya tidak ada yang secara eksklusif benar dan ada kemungkinan bila kedua mekanisme tersebut dapat terjadi.³⁴⁴

2.5.5 Konsep perbedaan stadium aktivasi dari makrofag perifer

Di dalam jaringan non-neural, stadium sebelum aktivasi dan asal dari stimulus aktivasi berperan penting dalam menentukan spektrum dari molekul yang disekresikan oleh makrofag (Tabel 2.6)⁽²⁵⁾ Aktivasi dari makrofag, meskipun berpotensi untuk membantu organisme sebagai contoh untuk membunuh pathogen, dapat juga menyebabkan dampak buruk terjadinya destruktif yang berhubungan dengan kerusakan jaringan (dikenal sebagai aktivasi klasik atau M1).

Lebih lanjut, berdasarkan tipe dari cedera, aktivasi makrofag yang teraktivasi dapat menunjukkan profile yang toleran, yang dikenal sebagai aktivasi alternatif atau M2.⁽²⁶⁾ Definisi dari tipe aktivasi didasarkan pada karakteristik dari monosit / makrofag perifer pada percobaan in vitro, dan telah dikomfirmasi pada tikus.³⁴⁴

Penelitian yang dilakukan oleh Madathil et al mencoba untuk menentukan stadium aktivasi mikroglia pada tahap awal dari cedera (6-72 jam) pasca cedera concussive tunggal atau berulang pada tikus. Mereka menemukan bahwa terjadi aktivasi mikroglia yang kuat pasca cedera concussive pada otak. Lebih lanjut, mereka menemukan bahwa multiple concussive menginduksi morfologi mikroglia rod-shaped yang unik yang juga ditemukan pada model cedera otak diffuse yang lain. Pemeriksaan histological menunjukkan adanya fenotip M-1 positif MHC-II yang dominan pasca concussive. Meskipun terdapat ekspresi yang bersamaan dari marker M-1 dan M-2, hasil ekspresi gen menunjukkan dengan jelas bahwa marker M-1 pro-inflamasi lebih dominan baik pasca cedera concussive tunggal dan berulang.³⁴⁵

2.5.5.1 Aktivasi klasik (M1)

Aktivasi klasik (M1) didefinisikan sebagai respon makrofag terhadap microorganisma yang menghasilkan ekspresi level tinggi pada sitokin-sitokin proinflamasi dan meningkatkan kapasitas mikrobisidal. Interferon- γ menyebabkan aktivasi M1, sebuah respon yang biasanya berhubungan dengan pertahanan host terhadap pathogen intraselular.⁽²⁷⁻²⁹⁾ Aktivasi klasik merupakan stadium aktivasi yang paling banyak diteliti pada model hewan coba.

2.5.5.2 Aktivasi alternatif (M2)

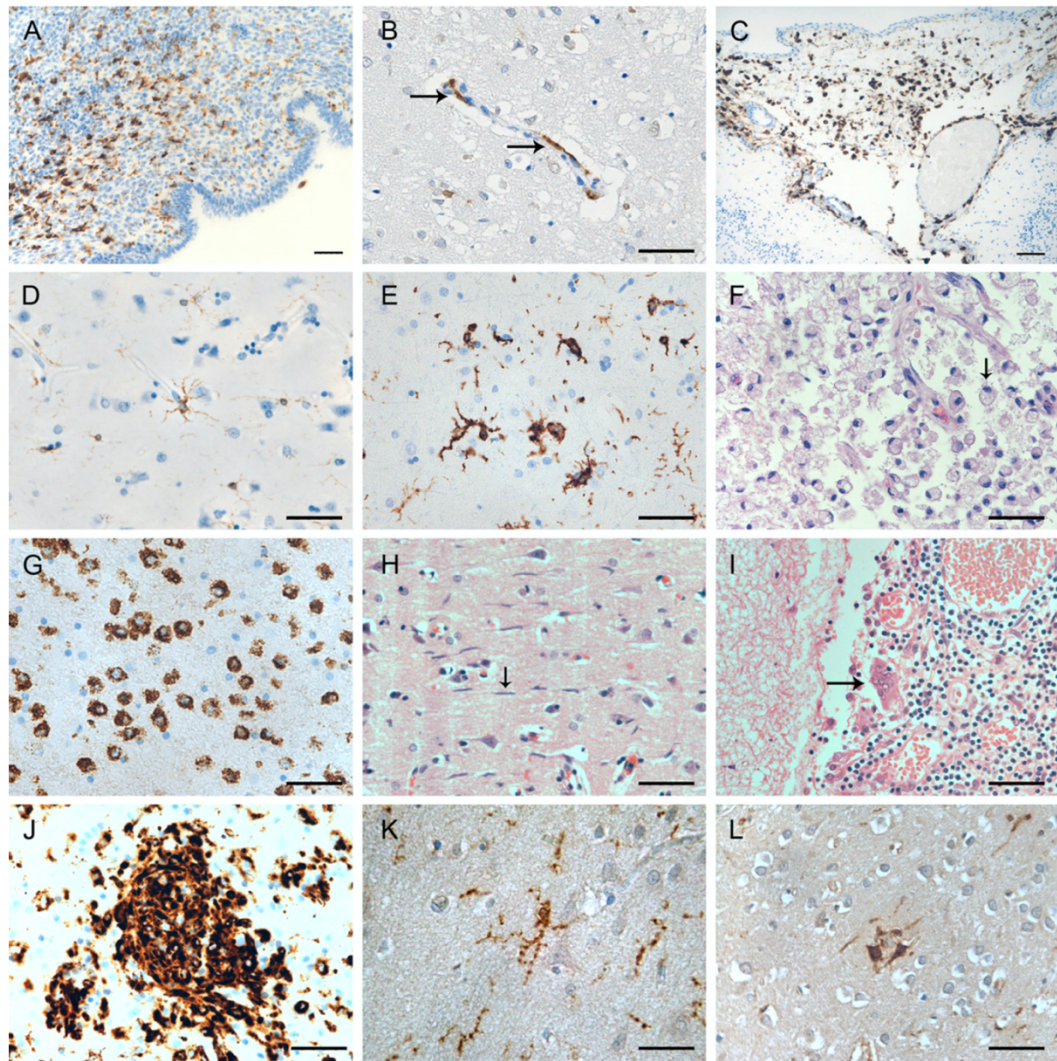
Awalnya terjadi setelah paparan dengan sitokine Th2, interleukin (IL)-4, dan ditingkatkan oleh makrofag melalui reseptor mannose.⁽³⁰⁾ Reseptor mannose dapat mengikat struktur-struktur pada permukaan virus, bakteri, dan jamur yang memungkinkan terjadinya fagositosis. Aktivasi makrofag oleh sitokin Th2, IL4 dan IL-13⁽³¹⁾ berimplikasi pada rentang proses patofisiologi dan patologi meliputi homeostasis, inflamasi, alergi, keganasan dan repair.^(26,31)

Kategori M2 lebih lanjut dibagi berdasarkan fungsi, pertama, untuk perbaikan jaringan dengan penyembuhan luka dan kedua, sebuah kondisi yang memerlukan deaktivasi (Tabel 2.6). Evidens terbaru menduga bahwa sel makrofag yang sama memiliki potensi untuk mengadopsi profile dari M1 atau M2 berdasarkan tipe dari stimulus (contoh, penuaan, cedera atau penyakit kronis) atau pada status sel inisial, apakah sudah teraktivasi atau belum, sebelum adanya stimulus.⁽²⁶⁾

	<i>M1 (Classic activation)</i>	<i>M2 (Alternative activation: wound healing)</i>	<i>M2 (Alternative activation: regulatory)</i>
Alternative terms		Tissue repair	Anti-inflammatory
Stimulus	Interferon- γ , TNF- α	IL-4, IL-13, TREM2?	IL-10, glucocorticoids
Source	Natural killer, T helper 1 lymphocytes.	Granulocytes responding to tissue injury, fungi and parasites (chitin), T helper 2 lymphocytes	Macrophage
Macrophage products	Pro-inflammatory cytokines: IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-23 Oxygen free radicals	Extracellular matrix components Arginase 1 Chitinase	TGF β 1, IL-10
Cell surface proteins	MHC II?	Mannose receptor (CD206)	
Functions	Kill micro-organisms and other cellular targets. Phagocytosis Present antigen to lymphocytes. May cause collateral damage to host cells.	Tissue repair/wound healing Phagocytosis Increases production/remodelling of extracellular matrix	Inhibits inflammation Phagocytosis

TNF, Tumor necrosis factor; IL, interleukin; TREM2, Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells; MHC, major histocompatibility complex.

Tabel 2.4 Perbedaan stadium aktivasi dari makrofag yang dengan ekstrapolasi mungkin berlaku pada mikroglia.⁽²⁵⁾



Gambar 2.7 Berbagai macam stadium morfologi dari mikroglia / makrofag di dalam sistem saraf pusat.³⁴⁴

2.5.6 Aktivasi Mikroglia pada Cedera Otak Traumatika

Mikroglia memiliki beragam fungsi dalam otak yang meliputi, sebagai pemutus sinaptik, berperan dalam proses perbaikan sistem saraf pusat, dan memediasi respon imun terhadap infeksi perifer. Mikroglia secara cepat teraktivasi sebagai respon terhadap kerusakan sistem saraf pusat. Berdasarkan asal dari stimulus, mikroglia memiliki beberapa tahap aktivasi, yang berhubungan dengan perubahan morfologi dari mikroglia, ekspresi gen dan fungsi. Telah dilaporkan sebelumnya bahwa aktivasi awal dari mikroglia pasca cedera otak traumatika

berkontribusi dalam merestorasi homeostasis dalam otak. Disisi lain, ketika mikroglia teraktivasi secara kronis, sel-sel tersebut menunjukkan fenotip klasik, melepaskan molekul-molekul proinflamasi, selanjutnya menyebabkan kerusakan jaringan, dan berpotensi menyebabkan terjadinya neurodegenerasi.³⁴⁶

Cedera kepala merupakan faktor resiko mayor pada terjadinya demetia, diduga karena adanya plaq amyloid- β (A β) pada sekitar 30 % pemeriksaan post-mortem jaringan otak dari pasien cedera otak traumatika.³⁴⁷ Selain itu, cedera otak tramatika juga berhubungan dengan penyakit Parkinson.³⁴⁸

Secara umum terjadinya kelainan neurologis akibat dari cedera otak traumatika diinisiasi dan diperberat oleh adanya respon inflamasi. Aktivasi mikroglia terjadi pada tahap awal pasca cedera otak traumatika eksperimental.³⁴⁹ dan pada manusia dengan cedera otak traumatika,^{350,351} dan dapat bertahan hingga bertahun-tahun.

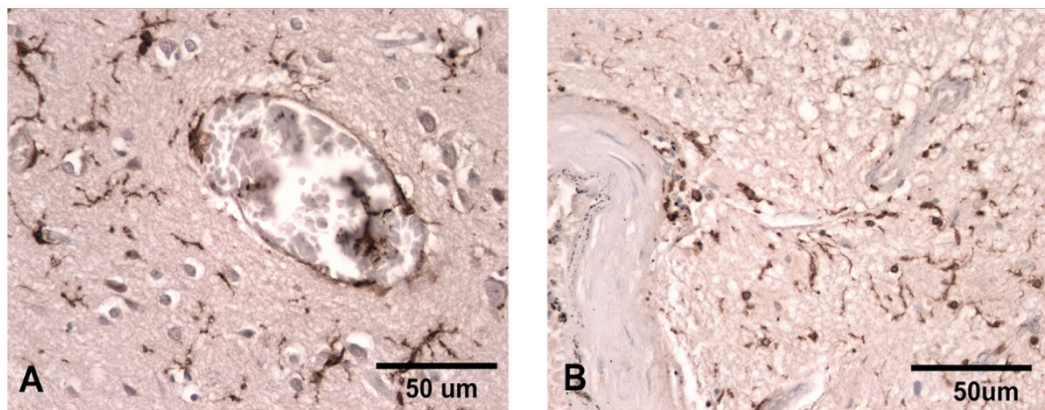
2.5.6.1 Tahap aktivasi mikroglia pada cedera otak traumatika

Cedera otak traumatika terjadi ketika adanya kerusakan atau gangguan pada struktur dan fisiologi dari otak akibat adanya cedera biomekanikal ekstrinsik pada cranium, yang menyebabkan terjadinya kerusakan pada neuronal, axonal, dan vaskular. Sebagai respon terhadap cedera otak traumatika, terjadi reaksi imunologikal yang kompleks pada jaringan otak yang mirip dengan yang terjadi pada cedera reperfusi iskemik.³⁵² Diduga bahwa, sebagai makrofag, mikroglia dapat bermigrasi ke lokasi cedera, yang bertujuan untuk menciptakan lingkungan protektif untuk mengurangi konsekuensi kerusakan akibat cedera.³⁵³ Fungsi akut dari mikroglia dalam respon terhadap cedera otak traumatika adalah untuk mengeradikasi debris-debris selular dan molekular. Eradikasi sel-sel yang rusak

oleh mikroglia merupakan tahap yang sangat penting dalam restorasi lingkungan otak yang normal. Sel-sel yang rusak melepaskan Danger-associated molecular patterns (DAMPs), yang dapat menjadi stimulus inflamasi yang kuat, menyebabkan kerusakan jaringan lebih lanjut.^{354,355} Lebih lanjut, mikroglia yang teraktivasi juga mampu melepaskan substansi-substansi berbahaya seperti sitokin-sitokin pro-inflamasi, reactive oxygen species (ROS), nitrogen species, dan neurotransmitter eksitatorik seperti, glutamate, yang dapat mengeksaserbasi terjadinya kerusakan selular.¹⁰² Selain dapat menyebabkan kerusakan secara langsung, sitokin-sitokin pro-inflamasi juga dapat menstimulasi pelepasan glutamate dari mikroglia secara autocrine / paracrine. Dengan demikian, tergantung pada jumlah sitokin yang dilepaskan, dapat menyebabkan kerusakan langsung pada neuron, sinaps, dan dendritik, melalui reseptor inotropik glutamate dan mengganggu kemampuan buffering glutamate oleh astrosit dengan menghambat transporter glutamate astrositik.³⁵⁶

Seperti pada cedera lain pada sistem saraf pusat, kelihatannya bahwa aktivasi mikroglia pada cedera otak traumatika menghasilkan fenotip yang berbeda, yang berhubungan dengan tahap neurotoksik atau neuroprotektif. Berdasarkan tahap atau stadium dari penyakit dan kronisitasnya, mikroglia terstimulasi secara berbeda yang berhubungan dengan perubahan morfologi, ekspresi gene, dan fungsi dari mikroglia. Mikroglia teraktivasi in-situ oleh sitokin-sitokin proinflamasi seperti IFN- γ , IL-1 α , IL-6, dan TNF- α .³⁵⁷ Morfologi mikroglia dapat berubah dari bentuk normal, bentuk *ramified* menjadi hipertrofik, “*bushy*” morphology. Sebagai respon terhadap kerusakan jaringan yang luas dan invasi pathogen, mikroglia dapat berubah menjadi bentuk amoeboid, terutama berperan

dalam fagositosis / seperti makrofag dan menjadi susah dibedakan dengan makrofag yang berinfiltrasi. (lihat gambar 2.9). Secara umum, terdapat beberapa cara aktivasi dari mikroglia, yang pertama M1 atau aktivasi secara klasik dan M2 atau aktivasi alternatif dan cara yang lain sama dengan makrofag. M1 memiliki fenotip proinflamatori yang memproduksi dan melepaskan sitokin-sitokin yang dapat mengeksaserbasi cedera neural.³⁵⁸ Sedangkan M2 berhubungan dengan pelepasan faktor-faktor neurotrofik yang menginduksi terjadinya repair dan berperan sebagai fagositosis.



Gambar 2.8 ilustrasi pewarnaan Iba-1 morfologi ramified microglial yang berhubungan dengan aktivitas pertahanan normal (A) dibandingkan dengan yang ditemukan pada pasien yang telah terjadi kerusakan pada vaskulatur dan mikroglia tampak berbentuk lebih bulat (B). Scale bar 50 µM.³⁴⁶

Akan tetapi, dapat beberap tahun belakangan, analisis transkriptomik menemukan bahwa mikroglia dan makrofag menunjukkan repertoire transkripsional yang lebih luas dari M1 dan M2, tergantung dari perbedaan sinyal lingkungan yang diterima.^{359,360} Dengan demikian, jarang ditemukan fenotip microglial yang jelas dari M1 atau M2 pada penyakit kronis, karena kondisi ini dapat mengalami transisi dan kadang-kadang terjadi aktivasi yang mixed. Hal ini tampaknya sangat penting dalam cedera otak traumatika yang ditunjukkan oleh banyak penelitian dengan

hewan coba memperlihatkan adanya ekspresi mixed dari marker-marker berbeda yang berhubungan dengan kedua fenotip M1 dan M2, juga beberapa peneliti menunjukkan adanya kondisi transisi (Mtrans).¹⁶³ Selain itu, perekrutan monosit yang berasal dari sumsum tulang ke dalam parenkim otak yang cedera pasca percobaan cedera otak traumatika dan diferensiasi selanjutkannya menjadi makrofag memperumit interpretasi temua, terutama yang berkaitan dengan kemampuan dari sel-sel ini untuk mengubah fenotip.

Sebagai tambahan berdasarkan observasi klinis bahwa, outcome dari cedera otak traumatika dapat berbeda antara pria dan wanita dewasa dan dewasa muda post-pubertas pada beberapa penelitian meskipun tidak semuanya,³⁶¹ dengan wanita memiliki mortalitas dan komplikasi yang lebih rendah.³⁶²⁻³⁶⁴ Hal ini dikaitkan dengan astrosit dan mikroglia, seperti pada penelitian baru-baru ini.³⁶⁵ Hormon steroid gonadal seperti progesterone dan estradiol terlibat secara langsung dalam respon glial pada kondisi cedera.³⁶⁶ Lebih lanjut, seperti progesterone yang dapat menggeser polarisasi makrofag dari fenotip M1 ke M2.³⁶⁷ Kelihatannya memungkinkan bahwa efek yang sama dapat terjadi pada mikroglia juga.

Relevansi dari mikroglia dalam respon patofisiologikal umum dari cedera otak traumatika telah diidentifikasi sebagai target terapeutik yang potensial,³⁶⁸ dan telah dibuktikan dalam beberapa penelitian yang menginvestigasi efek dari beberapa obat pada polarisasi mikroglia pada model cedera otak. Meskipun penelitian pada hewan coba mengindikasikan bahwa repon mikroglia / makrofag terhadap cedera otak traumatika dengan fenotip M2 kemudian berubah menjadi M1, dan bahwa jumlah sel M1 memiliki korelasi yang kuat dengan severitas dari cedera pada white matter,³⁶⁹ hal ini mungkin berbeda pada manusia. Akan tetapi, terapi

yang mengarahkan mikroglia / makrofag kepada fenotip M2 pasca cedera otak traumatika dapat menawarkan strategi antiinflamasi yang baru. Beberapa dari obat-obat tersebut meliputi minocycline, minozac, etanercept, pioglitazone telah diterima oleh FDA,^{370,371} mengkonfirmasi tolerabilitas dan keamanan dari obat-obat tersebut.

Penelitian dengan menggunakan positron emission tomography (PET) yang menggunakan translocator protein 18 kDA (TPSO), sebuah marker dari respon aktivasi sel glial, melaporkan adanya reaktivitas glial yang lebih tinggi pada pensiunan pemain sepak bola, sehingga diduga neuroinflamasi yang terjadi dapat berkontribusi pada masalah neuropsikiatri yang terjadi kemudian.³⁷² Mikroglia kaya akan sensor damage-associated molecular patterns (DAMPs) dan dengan cepat berespon terhadap cedera setelah mendeteksi adanya DAMPs.³⁷³ Ketika teraktivasi, mikroglia melepaskan sitokin-sitokin, dan kemokin yang menarik sel-sel imun perifer untuk menginfiltrasi parenkim otak.³⁷⁴ Selain itu, mikroglia berespon terhadap lingkungan inflamasi dengan mengubah morfologinya dan dengan aktivasi fenotip spesifik.³⁷³ Mirip dengan makrofag perifer, mikroglia memofikasi stadium aktivasinya tergantung dari stimulus. Dua stadium polarisasi mikroglia yang unik telah ditemukan, tipe M-1 (fenotip klasik) dan tipe M-2 (fenotip alternatif).³⁷⁵ Sementara M-1 merupakan proinflamasi dan memiliki efek yang merugikan pada proses perbaikan, M-2 berperan sebagai anti-inflamasi dan mendukung perbaikan jaringan.³⁷⁵ Mikroglia M-1 mensekresikan level yang tinggi dari IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , kemokin, dan ROS.³⁷⁶ Fenotip M-2 mensekresikan faktor-faktor neurotropik dan sitokin anti-inflamasi (IL-6, IL-10) dan dibagi lagi

menjadi M2a, M2b, dan M2c bergantung pada spesifik fenotip marker, dan diinduksi oleh kondisi atau faktor pencetus yang berbeda.³⁷⁷

2.5.6.2 Perubahan jaringan transkripsional dari sel mikroglia berdasarkan waktu pasca cedera otak traumatika

Aktivasi mikroglia ditandai dengan transformasi morfologis dan perubahan transkriptomik yang berhubungan dengan stadium inflamasi yang spesifik.

Penelitian yang dilakukan oleh Saef Izzy et al, menganalisis perubahan gen inflamasi dari mikroglia yang diisolasi dari jaringan otak yang mengalami cedera berdasarkan waktu pada hari ke 2, 14, dan 60 pasca *controlled cortical impact (CCI)* pada tikus.³⁷⁸

Mikroglia merupakan *macrophage-like cells* yang terdapat di dalam sistem saraf pusat dan berperan penting dalam neuroinflamasi.^{379,380} Sel-sel ini merupakan responder pertama dalam cedera otak dan aktivasinya yang persisten dalam cedera otak traumatika pada model hewan dan pada manusia dengan cedera otak traumatika berkontribusi terhadap defisit fungsional jangka panjang.^{346,380} Karakteristik dari sel mikroglia yang teraktivasi didasarkan pada transformasi morfologis dari bentuk *ramified (resting state)* menjadi *amoeboid (activate state)*.^{346,380}

Pada penelitian ini dianalisis perubahan transkripsi gen inflamasi dari mikroglia yang diisolasi dari jaringan otak yang mengalami cedera berdasarkan waktu dengan menggunakan *nanosting gene expression analysis platform* hingga 60 hari pasca *controlled cortical impact (CCI)* pada tikus.³⁸¹

- Ekspresi gen mikroglia pada hari ke-2 pasca cedera

Terdapat 152 gen yang teridentifikasi mengalami perubahan signifikan pada hari ke-2 pasca cedera dibandingkan dengan kelompok kontrol, dimana terjadi peningkatan dari 51 gen dan penurunan dari 101 gen. Gen-gen yang berhubungan dengan kemotaksis (CXCL1, CXCL3, CCL19, CXCR1, CXCR2, CXCR4, CCR2) dan juga signaling sitokin (IL1b, IL1R2, IL23a, IL6, TNF, dan IFNB1) secara signifikan meningkat, diduga berperan dalam proses rekrutmen mikroglia dari area di sekitar jaringan otak yang mengalami cedera.³⁸² Gen-gen yang terlibat dalam jalur signaling sitokin anti-inflamatory transforming growth factor-beta (TGF- β) (TGFB1, TGFBR1, SMAD3, SKI) mengalami penurunan yang signifikan pada hari ke-2 pasca cedera. Selain itu, gen-gen dari jalur interferon gamma (IFN- γ) (HFE, TAPI, JAK2, STAT1, CD86, FCGRI, PSMB9, IRF8, IRF1, CXCL9) juga mengalami penurunan pada hari ke-2 pasca cedera.³⁷⁸

IL23a merupakan gen yang paling signifikan mengalami peningkatan pada hari ke-2 pasca cedera. IL23a merupakan sitokin yang diperlukan dalam ekspansi dan survival dari sel-sel TH17 yang juga mendorong populasi sel T patogenik yang menginduksi inflamasi.³⁸³

Dalam penelitian ini juga ditemukan bahwa terjadi peningkatan yang signifikan dari ekspresi gen CXCR2, merupakan kemokin yang berperan dalam regulasi migrasi neutrofil pada cedera kepala tertutup yang dapat juga berperan dalam cedera otak sekunder.¹¹² Gen lain yang juga terinduksi adalah CD109, yang diketahui memodulasi reseptor endositosis

dan degradasi TGF- β .³⁸⁴ Selain itu juga terjadi peningkatan IL1 β dan CXCL chemokine ligand 1 (CXCL1), *chemoattractant* untuk neutrofil.^{385,386}

Pada penelitian lain yang menggunakan *single-cell RNA sequencing study* juga ditemukan bahwa pada hari pertama pasca cedera dengan *fluid percussion injury*, terjadi peningkatan yang signifikan dari IL1 β dan CXCL1.³⁸⁶ Penelitian lain menemukan bahwa selain terjadi peningkatan dari kemokin di atas, terjadi juga penurunan dari jalur sitokin IFN γ dan TGF- β yang disertai dengan peningkatan dari gen-gen proinflamasi yang disebut sebagai *heterogenous inflammatory*.^{162,387}

- Ekspresi gen mikroglia pada hari ke-14 pasca cedera

Penelitian yang dilakukan oleh Saef Izzy et al, mengidentifikasi 127 gen yang secara statistik mengalami perubahan yang signifikan dalam fase subakut, meliputi 102 gen yang mengalami peningkatan dan 24 gen mengalami penurunan dibandingkan dengan pada kelompok kontrol. Mirip dengan yang ditemukan pada hari ke-2 pasca cedera, banyak gen-gen yang terlibat dalam signaling kemokin (CCL3, CCL4, CCL5, CCL8, CCL19, CXCL1, CXCL9, CXCL10, CXCL13, CXCR1, CXCR4) dan signaling sitokin proinflamasi mengalami peningkatan. Gen-gen jalur interferon gamma meliputi IRF1, IRF7, JAK2, MX1, STAT1, TAP1, CCL5, CCL8, CD274, CD86, CD83, CXCL10, CXCL9, IFIH1, LFIT2, IL1RN mengalami peningkatan yang signifikan pada hari ke 14 pasca cedera dibandingkan dengan pada hari ke-2 pasca cedera. Ekspresi dari *signaling gene* TGF- β , yang mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan dengan pada kelompok kontrol pada hari ke-2 pasca cedera, tampak

meningkat pada hari ke-14 pasca cedera dibandingkan dengan hari ke-2 pasca cedera. CD109 menjadi salah satu gen yang paling tinggi peningkatannya pada fase subakut,³⁸⁴ walaupun gen jalur TGF- β mengalami penurunan.

Pada hari ke-14 pasca cedera, reseptor makrofag yang memiliki struktur kolagen (Marco), *scavenger reseptor* pada makrofag yang berperan dalam regulasi fagositosis respon imun selular, merupakan salah satu gen yang meningkat secara signifikan.³⁸⁸ Sistem komplemen merupakan mediator kunci lain yang memiliki banyak fungsi, meliputi opsonisasi, fagositosis, kemotaksis sel imun, dan lisis sel, dan lain sebagainya.³⁸⁹

Terjadi peningkatan yang signifikan pada ekspresi gen dari komponen komplemen C1s, C3, dan C4a, yang berperan sebagai komplemen penting dalam fase subakut.³⁸⁹⁻³⁹¹ Berdasarkan data ini diduga bahwa terjadi peningkatan kapasitas fagositosis pada hari ke-14 pasca cedera, mungkin untuk pembersihan debris-debris yang disebabkan oleh cedera.³⁷⁸

DNA Primase Subunit 1 (Prim1) dan Cxcl3 merupakan gen yang mengalami penurunan pada hari ke-14 pasca cedera. Cxcl3 berperan penting dalam promosi migrasi neutrofil melewati *barrier epitel*.^{382,392} Penurunan Cxcl3 pada hari ke-14 ini konsisten dengan penurunan infiltrasi neutrofil pada hari ke 7 pasca CCI pada model tikus.¹¹⁵ Penurunan dari jalur cyclic AMP (cAMP) pada fase akut pasca cedera juga bertahan sampai hari ke-14 pasca cedera.³⁹³ Perbaikan dari level cAMP pada *fluid-percussion injury*

dan model lain dari cedera sistem saraf pusat berhubungan dengan perbaikan outcome fungsional.^{393–395}

- Ekspresi gen microglial pada fase kronis pasca cedera (hari ke-60 pasca cedera)

Pada fase kronis pasca cedera, ditemukan adanya perubahan yang signifikan dari 191 gen, meliputi 120 gen yang mengalami peningkatan dan 71 gen yang mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Peningkatan gen pada fase kronis terlibat dalam jalur imun selular dan adaptif seperti sitokin dan kemokin. Oleh karena itu, diduga terjadi evolusi menuju stadium pro-inflamasi pada fase kronis.³⁷⁸

IL-3, sitokin yang menstimulasi proliferasi dari sel-sel myeloid merupakan salah satu gen yang paling banyak terinduksi pada hari ke-60 pasca cedera. Pada penelitian lain ditemukan bahwa pemberian injeksi IL-3 pada hari ke-2 sampai hari ke-7 setelah trauma penetrasi pada tikus, dapat menurunkan kerusakan jaringan otak dan memperbaiki fungsi motoric pada bulan ke-2, sehingga diduga bahwa IL-3 memiliki peran reparative.³⁹⁶

Pada fase ini juga terjadi penurunan dari hypoxia-inducible transcription factor-1 α (HIF-1 α), yang secara akut meningkat pasca cedera.^{397,398} Gen ini terlibat pada kerusakan *blood-brain barrier (BBB)*,³⁹⁹ pembentukan edema⁴⁰⁰ dan apoptosis.⁴⁰¹

Mikroglia merupakan *highly plastic cells*, dapat berubah secara cepat menjadi fenotip pro-inflamasi (M1-like) dan anti-inflamasi (M2-like) sesuai dengan kebutuhan.^{402–405} Dalam kondisi homeostasis normal, mikroglia berada dalam *surveillance state*, secara konstan mengambil sample dari lingkungan ekstraselular melalui motilitas dan proses ramified-nya. Ketika terjadi kerusakan jaringan atau

infeksi, maka sel-sel ini akan teraktivasi, retraksi dari prosesusnya dan berubah menjadi amoeboid seperti makrofag perifer.⁴⁰⁵ Mikroglia yang teraktivasi mengadopsi fenotip M1-like klasik akan mensintesis dan melepaskan molekul-molekul proinflamasi yang meliputi sitokin IL-1 β , IL-6, IL-12, dan *tumor necrosis factor α* (TNF α) dan kemokin CCL2 dan CXCL9.⁴⁰⁶ Sitokin-sitokin proinflamasi ini akan menginduksi perubahan pada intraselular Ca²⁺ yang dapat merubah plastisitas sinaptik, pelepasan neurotransmitter, dan eksitabilitas neuronal.^{407,408} Sebaliknya mikroglia M2-like dipertimbangkan sebagai tahap aktivasi ‘alternatif’ yang bersifat anti-inflamasi (diinduksi oleh IL-4, IL-10, IL-13, dan *transforming growth factor- β*) yang berperan dalam tahap resolusi neuroinflamasi melalui peningkatan aktivitas fagositosis dan perbaikan jaringan.⁴⁰⁹ Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa mikroglia sangat heterogeny dan dapat mengadopsi berbagai fenotip, tergantung dari perubahan akut dari lingkungan neuralnya. Sel ini memainkan peran yang dinamis dalam neuroinflamasi, mempengaruhi baik dalam resolusi cedera atau perbaikan jaringan maupun yang menyebabkan terjadinya disfungsi atau destruksi.

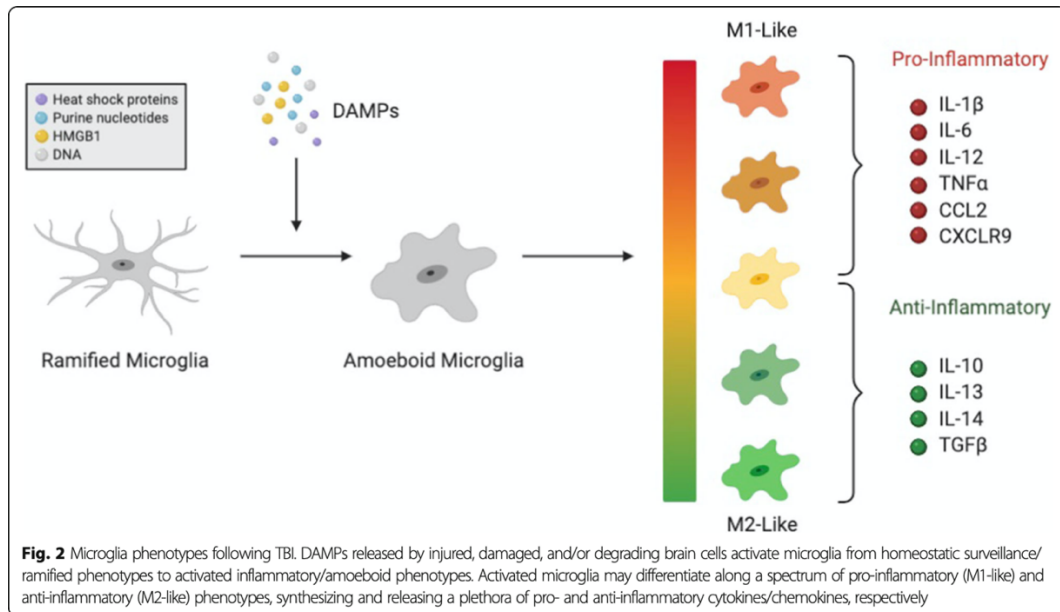
Dalam periode akut pasca cedera, kerusakan pada membrane neuronal oleh kekuatan mekanikal dan DAI menyebabkan terjadinya pelepasan molekul-molekul yang dapat menyebabkan kerusakan (DAMPs; seperti ATP, HMGB1 dan *heat shock protein*), sebagai signal yang melalui reseptornya dapat mengaktivasi mikroglia, dan merubahnya menjadi fenotip inflamatoris (Gambar 2.10).⁴¹⁰⁻⁴¹² Selain respon akut ini, molekul-molekul derivat dari mikroglia dan DAMPs dapat memodulasi fungsi dari *blood-brain barrier (BBB)* dari pembuluh darah cerebral.⁴¹⁰ Walaupun sebelumnya diyakini bahwa sistem saraf pusat merupakan *immune-*

privileged organ akibat adanya barrier ini dan tidak adanya *antigen presenting cells* yang klasik, saat ini telah diketahui bahwa sel-sel imun perifer dapat memiliki akses ke dalam parenkim otak dalam kondisi cedera dan atau infeksi.^{412,413} Seperti banyak penyekin neuroimunologis yang lain, cedera otak traumatica dapat menyebabkan kerusakan pada BBB dan menyebabkan terjadinya invasi dari sel-sel imun perifer yang memainkan peran dinamis dalam inflamasi post-cedera.⁴¹⁴

Dalam model eksperimental cedera otak traumatika, waktu terjadinya kerusakan dari BBB sering terjadi secara biphasic dan tergantung dari severitas cedera dan metode induksi cedera.⁴¹⁵ Pada model dengan cedera otak traumatika sedang hingga berat, perubahan permeabilitas BBB diobservasi segera terjadi setelah cedera (2 jam pasca cedera) dan menetap sampai hari ke 7 pasca cedera.^{415,416} Sebaliknya, pada cedera otak traumatika ringan, terdapat variabilitas yang tinggi pada gangguan permeabilitas BBB yang diobservasi dan penelitian lain menyatakan bahwa tidak terdapat perubahan pada permeabilitas BBB.^{360,416-420} Lebih lanjut, cedera diffuse menyebabkan respon yang berbeda berdasarkan jenis kelamin, dimana pria lebih rentan mengalami kerusakan pada permeabilitas BBB dari pada wanita.^{418,421}

Sejalan dengan perubahan permeabilitas BBB yang terjadi secara dinamis, infiltrasi dari sel-sel imun perifer tampak terjadi pada tipe sel yang spesifik dan bergantung dari waktu. Neurofil dalam sirkulasi merupakan sel-sel pertama yang berinfiltrasi, biasanya terjadi dalam 1 jam pertama dan mencapai puncak 24 jam pasca cedera, menginisiasi peningkatan signal inflamatorik.^{422,423} Makrofag derivat dari monosit masuk ke dalam sistem saraf pusat dalam 24 jam pasca cedera dan mencapai puncak sekitar 96 jam pasca cedera, dengan mudah melewati BBB yang

dibantu oleh neutrofil.^{139,424,425} Sel-sel T dan dendritic, mencapai puncak pada 72 jam pasca cedera, memiliki profile yang mirip dengan monosit tapi dalam jumlah kecil.^{226,426}



Gambar 2.9 Fenotip mikroglia pasca Cedera Otak Traumatika.⁴²⁷

2.5.7 Aktivasi Mikroglia Oleh Histamin dan Substansi P

Mikroglia yang teraktivasi memiliki fungsi efektor imun yang secara tipikal berhubungan dengan makrofag. Mikroglia merupakan sel imun lokal di dalam otak, memegang peranan yang penting dalam pertahanan imun dari sistem saraf pusat. Konsekuensinya, sel-sel ini berperan penting menentukan respon imun proteksitif atau kerusakan inflamasi yang progresif pada penyakit sistem saraf pusat.⁴²⁸⁻⁴³¹ Respon mikroglia terhadap cedera traumatic dan adanya organisma infeksi dengan melakukan migrasi ke lokasi cedera, dimana mereka akan berproliferasi. Ketika terpapar dengan stimulasi yang abnormal, seperti neurotoksin, debris neuronal, atau cedera, mikroglia secara gradual teraktivasi dan memproduksi faktor-faktor host, meliputi TNF- α , prostaglandin E2 (PGE2), interleukin-6, nitric oxide (NO), dan

ROS. Akumulasi dari proinflamatori dan faktor-faktor sitotoksik ini secara langsung dapat menyebabkan kerusakan neuron dan menginduksi aktivasi lebih lanjut dari mikroglia, menghasilkan vicious cycle.^{432,433} Dengan demikian, maka inhibisi dari aktivasi microglial dan proses inflamasi selanjutnya mungkin merupakan strategi terapeutik yang baru untuk mengeliminasi efek yang buruk dari mikroglia.⁴³⁰

Histamine merupakan mediator inflamasi yang kuat dan merupakan regulator dari respon imun innate dan adaptive. Histamin menginduksi reaksi inflamasi lokal baik secara langsung pada sel target atau secara tidak langsung dengan mengaktifasi sistem efektor humoran dan atau selular yang lain. Histamin dilepaskan dari sel mast dapat menginduksi aktivasi dari sel Th1 dan Th2.⁴³⁴ Terdapat 4 reseptor histamin yang sudah teridentifikasi : H₁, H₂, H₃, dan H₄.⁴³⁵⁻⁴³⁸

Aktivasi mikroglia telah terbukti merupakan tanda awal yang sering mendahului dan memicu kematian sel pada penyakit neurodegenerative kronik.^{430,432,439} Protein proinflamasi kunci yang disintesis dan dilepaskan oleh mikroglia yang teraktivasi adalah TNF- α .⁴⁴⁰ Adanya peningkatan level dari TNF- α telah didokumentasikan pada berbagai macam penyakit neurodegenerative kronis (seperti AD, penyakit Parkinson, dan amyotrophic lateral sclerosis) dan akut (seperti stroke dan cedera kepala).⁴⁴¹ Penelitian terbaru mengarisbawahi peran krusial dari IL-6, merupakan salah satu protein proinflamasi yang dilepaskan oleh mikroglia yang teraktivasi, di dalam sistem saraf pusat.⁴⁴² Di dalam sistem saraf pusat, IL-6 dapat memicu inflamasi yang berhubungan dengan respon selular, meliputi neurogenesis, gliogenesis, pertumbuhan sel, pertahanan sel, myelinasi dan demielinasi.⁴⁴³⁻⁴⁴⁵ IL-6 normalnya diekspresikan dengan kadar yang relative rendah

dalam otak, tapi akan meningkat di dalam CSF dan otak ketika terjadi cedera otak atau inflamasi.⁴⁴⁶

Jumlah yang signifikan dari histamin otak tidak hanya dikandung di dalam neuron tapi juga di dalam sel mast otak.^{447,448} Penelitian yang dilakukan oleh Zhu et al, menunjukkan adanya interaksi antara mikroglia dan histamin dapat memodulasi aktivasi dari mikroglia dan produksi dari IL-6, TNF- α dan ROS dari mikroglia yang teraktivasi. Penelitian ini menemukan bahwa histamine dengan kadar 10 ng/ml sudah dapat menginduksi peningkatan 5,7 kali lipat dari TNF- α yang dilepaskan dan 3.6 kali lipat dari IL-6 dari mikroglia, mengindikasikan bahwa histamin merupakan stimulus yang kuat dalam aktivasi mikroglia. Dalam penelitian ini juga ditemukan bahwa histamine juga dapat menginduksi terjadinya peningkatan produksi dari ROS. ROS merupakan molekul penting yang disekresikan oleh mikroglia.⁴⁴⁹ Berdasarkan sejumlah eviden, diduga bahwa stress oksidatif yang diinduksi oleh ROS yang berasal dari mikroglia merupakan kontributor mayor terhadap neurodegenerasi.^{450,451} Proses ini melibatkan aktivasi dari p38 dan JNK MAPKs melalui peningkatan MKK signaling. Potensial membrane mitokondrial dan MAPKs telah menunjukkan dapat meregulasi aktivasi mikroglia dan produksi dari faktor-faktor proinflamasi dari mikroglia.⁴⁵²⁻⁴⁵⁵ Dalam penelitian ini diduga bahwa histamine dapat menginduksi depolarisasi membrane mitokondrial dari mikroglia. Berdasarkan hasil ini, diduga bahwa histamine dapat menginduksi terjadinya aktivasi microglial dengan menurunkan membrane potensial dari mikroglia dan meregulasi MAPKs.⁴⁵⁶

Penelitian lain juga menunjukkan bahwa histamine dapat menginduksi pelepasan dari TNF- α dan IL-6 dari mikroglia melalui mekanisme yang sama,

dimana bergantung pada aktivasi dari H₁R dan H₃R. secara umum diketahui bahwa efek stimulator dari histamin dalam sistem imun dimediasi oleh H₁R sedangkan efek inhibitor paling sering melibatkan H₂R.⁴⁵⁷ Konsep ini juga didukung oleh model multiple sclerosis (MS), yang menunjukkan adanya efek ganda dari histamine disebabkan oleh perbedaan patofisiologi dari 4 reseptor histamine. Dengan demikian, H₁R dan H₄R terlibat dalam eksaserbasi dari penyakit, dan H₂R dan H₃R mungkin efektif dalam memperbaiki penyakit.⁴⁵⁸ Hasil ini mengindikasikan bahwa histamine memiliki efek proinflamasi pada mikroglia melalui H₁R dan H₄R. Akan tetapi dalam penelitian lain ditemukan bahwa histamine dapat menginduksi terjadinya produksi dari ROS terutama melalui H₁R, H₂R, dan H₄R; oleh karena itu, hal ini mungkin melibatkan suatu mekanisme yang berbeda dari pelepasan faktor-faktor proinflamasi.⁴⁵⁶

2.6 Histamine

Pada otak yang normal atau sehat, kadar konsentrasi histamine hanya dalam nanomolar di dalam cairan serebro spinal manusia dan tikus.⁴⁵⁹ Level histamine dalam sirkulasi dan invasi histaminergik meningkat secara drastis pasca terjadi cedera otak atau degenerasi. Dalam kondisi patologis ini, respon inflamasi dapat memicu terjadinya degranulasi dari sel-sel mast, yang menyebabkan pelepasan masif dari histamin dalam cairan serebro spinal dan parenkim otak.⁴⁶⁰⁻⁴⁶²

Sebagai amine biogenic, histamine disintesis dari L-histidine melalui katalisis oleh histidine decarboxylase. Sel-sel mast dan basofil merupakan sumber utama dari histamine dalam jaringan perifer.⁴⁶³ Di dalam otak, histamine terutama diproduksi oleh neuron histaminergic, sel mast, dan mikroglia.^{303,464,465} Histamine merupakan mediator yang terlibat dalam berbagai proses fisiologis, seperti regulasi

sekresi hormone pituitary, regulasi fungsi gastrointestinal dan sirkulasi.⁴⁶⁶ Histamine juga memainkan peranan yang penting di dalam sistem saraf pusat. Histamine dapat mempengaruhi pelepasan neurotransmitter dan fungsi dari otak.^{467,468} Histamine mengalami disregulasi pada penyakit neurodegenerative seperti AD⁴⁶⁹⁻⁴⁷¹ dan PD.⁴⁶⁹⁻⁴⁷¹ Selain itu, histamine merupakan mediator yang kuat dari inflamasi dan merupakan regulator dari respon imun adaptive dan selular.

Terdapat 4 macam reseptor histamine yang telah teridentifikasi : H1R, H2R, H3R dan H4R.⁴⁷² Penelitian yang dilakukan oleh Ferreira et al. melaporkan bahwa *N9 microglial cell line* mengekspresikan level yang rendah dari H1R, H2R dan H3R pada level mRNA tapi level tinggi dari H4R.⁴⁷³ Penelitian lain yang dilakukan oleh Dong et al. melaporkan bahwa pada kultur mikroglia terdapat ekspresi dari semua reseptor histamine, yang meliputi H1R, H2R, H3R, dan H4R.²⁷¹ Penelitian yang dilakukan oleh Zhang et al. melalui analisis *flow cytometry* ditemukan bahwa mikroglia pada korteks serebral mengekspresikan H1R, H2R, H3R, dan H4R. hasil ini mengindikasikan bahwa pada mikroglia otak tikus terdapat ekspresi dari semua subtype reseptor histamine.⁴⁷⁴

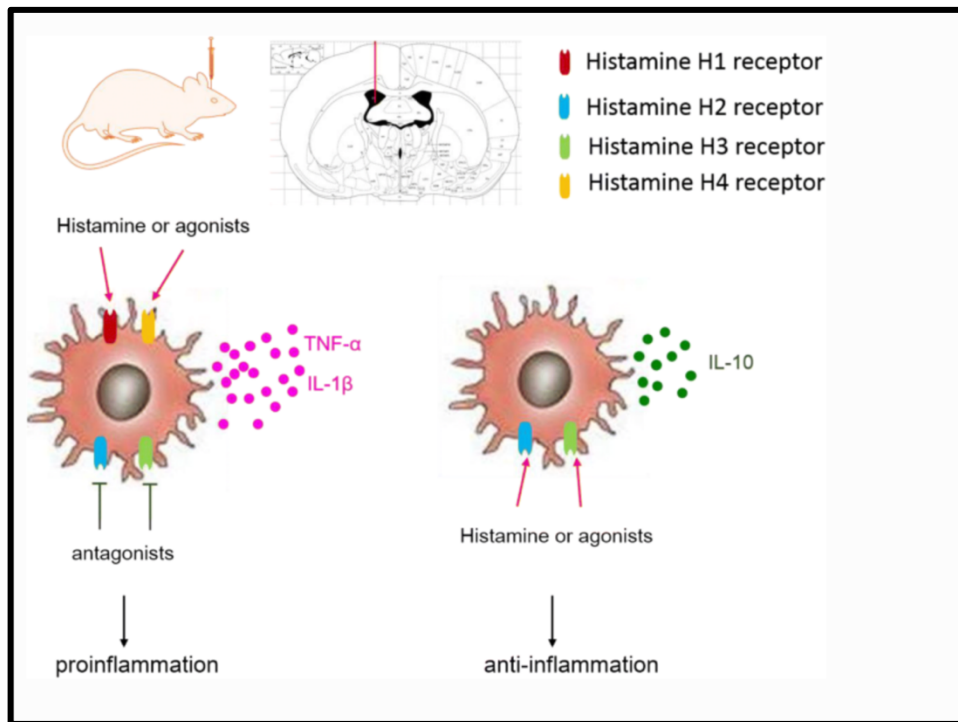
Reseptor histamine tersebar diberbagai regio dari otak. Telah diketahui bahwa histamin mengatur *satiety signalling*, nyeri, siklus bangun-tidur, sirkuit motor, dan fungsi neuroimun terutama melalui 4 subtype reseptornya (Panula and Nuutinen 2013; Provensi et al. 2014). Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa histamine berperan penting dalam aktivasi mikroglia pada penyakit neurologis. Sebagai contoh, histamine dapat meregulasi aktivasi dari mikroglia melalui reseptor H1R atau H4R pada PD (Rocha et al. 2016; Zhou et al. 2019), yang menyebabkan terjadinya pelepasan dari faktor-faktor pro-inflamasi. Histamin yang dilepaskan

dari sel mast (MCs) kemudian akan menstimulasi aktivasi dari mikroglia pada AD.⁴⁷⁵

Histamine menginduksi aktivasi mikroglia otak dan produksi dari sitokin pro-inflamasi. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Zhang et al. mikroglia yang teraktivasi dideteksi dengan menggunakan Iba1 *immunohistochemistry*. Dilakukan analisis imunohistokimia pada 0,5 jam, 8 jam, 24 jam, dan 72 jam memperlihatkan bahwa pemberian 40 µg histamine menginduksi sekitar 23, 27, 45, dan 28 % aktivasi mikroglia, secara berurutan; dan 80 µg histamine menginduksi 67, 82, 100 dan 66 % aktivasi mikroglia, secara berurutan. Penelitian ini mengindikasikan bahwa pemberian histamin dapat menginduksi aktivasi mikroglia mulai 0,5 jam, mencapai puncak pada 24 jam, dan menurun pada 72 jam. Penelitian ini juga mengevaluasi faktor-faktor inflamasi yang ditentukan dengan menggunakan ELISA, ekspresi mRNA dideteksi dengan qRT-PCR. Dengan pemberian 40 dan 80 µg histamine, pada 0,5 jam terjadi peningkatan dari TNF- α hingga 404 % dan 529 % dibandingkan dengan kelompok kontrol, yang mencapai puncak pada 24 jam dan menurun pada 72 jam. IL-1 β mengalami peningkatan sekitar 205 % dan 271 % setelah pemberian 40 dan 80 µg histamine pada 8 jam. Level IL-10 mengalami peningkatan signifikan sekitar 589 % dan 845 % setelah pemberian 40 dan 80 µg histamine pada 72 jam. Hasil ini menunjukkan bahwa histamine dapat menginduksi terjadinya aktivasi dari mikroglia dan pelepasan faktor-faktor inflamatorik TNF- α , IL-1 β dan IL-10 pada otak tikus.⁴⁷⁴

Histamine merupakan mediator inflamasi mayor perifer dan neurotransmitter di dalam sistem saraf pusat. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa histamine dapat menginduksi aktivasi mikroglia dan pelepasan faktor-faktor

proinflamasi pada sel mikroglia yang dikultur. Ditemukan bahwa pada mikroglia otak tikus terdapat ekspresi dari semua atau 4 tipe reseptor histamine. Histamine dapat menginduksi aktivasi mikroglia dan selanjutnya memproduksi faktor-faktor inflamatorik TNF- α , IL-1 β dan IL-10, dan efek ini terutama diinhibisi oleh antagonis H1R dan H4R. Akan tetapi, antagonis H2R dan H3R secara signifikan meningkatkan produksi dari TNF- α dan IL-1 β , sedangkan agonis H2R atau H3R meningkatkan pelepasan dari IL-10. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa histamine dapat menginduksi aktivasi mikroglia dan pelepasan faktor-faktor proinflamasi dan anti-inflamasi pada otak tikus.⁴⁷⁴



Gambar 2.10 Reseptor-reseptor histamine⁴⁷⁴

Histamine merupakan amine biogenic dengan efek yang ekstensif pada beberapa sel imun perifer dan saat ini diketahui sebagai modulator imunitas selular yang potensial. Pada otak tikus, histamin diproduksi oleh neuron-neuron histaminergic, sel mast dan sel-sel mikroglia.^{303,476-480} Histamine memiliki beragam fungsi melalui aktivasi 4 sub tipe reseptor *G-protein-coupled* yang berbeda (H1R,

H2R, H3R, dan H4R).^{463,473} Sel-sel mikroglia, sel imun selular di dalam sistem saraf pusat, mengekspresikan semua reseptor histamin.²⁷¹ Histamine dapat memodulasi migrasi dari sel-sel mikroglia N9 dan interleukin-1 β (IL-1 β).⁴⁷³ Penelitian lain juga menunjukkan bahwa histamine juga dapat memodulasi pelepasan dari (IL-1 β), *tumor necrosis factor (TNF)-alpha*, *IL-6*, *nitric oxide (NO)*, produksi *re-active oxygen species (ROS)*, dan menginduksi disfungsi dari potensial membrane mitokondrial.^{271,456,463,481-483} Histamine juga menginduksi fagositosis mikroglia terhadap patogen-patogen asing dan sel-sel apoptotik. Terdapat beberapa reseptor mikroglia yang dapat mengenali target-target ini, seperti F ϵ -gamma receptor (Fc γ R), yang berikatan dengan IgG dari partikel-partikel yang mengalami opzonisasi, dan reseptor phosphatidylserine (PS) (PSR), yang berikatan dengan PS pada *outer membrane* dari sel-sel apoptotic. Secara umum, fagositosis dianggap menguntungkan karena dapat mengeliminasi sel-sel yang mengalami stress atau apoptosis, dan dapat mempertahankan jaringan neuronal yang sehat. Akan tetapi, fagositosis juga dapat mengaktifasi kaskade *respiratory burst*, yang memproduksi ROS toksik yang menginduksi sitotoksitas,^{484,485} terutama *nicotamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase (Nox) system* yang bertanggung jawab dalam produksi ROS yang dihubungkan dengan fagositosis microglial dan kematian neuronal.^{486,487} Histamine menginduksi fagositosis microglial melalui aktivasi H1R dan memproduksi ROS melalui aktivasi H1R dan H4R. kedua respon microglial bergantung pada aktivasi dari sistem Nox. Dengan demikian, histamine memiliki peran yang penting dalam pathogenesis dari penyakit-penyakit otak yang berhubungan dengan kondisi inflamasi. Ditemukan adanya peningkatan level atau kadar dari histamine di dalam cairan serebro spinal dan parenkim otak. Penelitian

eksperimental farmakologis dan *clinical trials* menduga bahwa sistem histaminergic memiliki implikasi dalam etiologi dan atau progresi dari beberapa penyakit neurodegeneratif,^{488,489} seperti pada penyakit Parkinson's (PD).^{460,461,468,490} Dalam penelitian lain telah ditemukan bahwa substantia nigra (SN) sangat rentan terhadap aksi neurotoksik dari mikroglia^{411,491} dan terutama terhadap histamine.⁴⁹² Hal ini disebabkan oleh sekretom dari mikroglia yang terekspose oleh histamine dapat menginduksi terjadinya degenerasi dair neuron dopaminergic (DA).⁴⁶³ Telah diketahui bahwa aktivasi mikroglia merupakan *early sign* yang biasanya terjadi dan menyebabkan kematian neuronal pada penyakit neurodegenerative kronis.^{430,432,439}

Penelitian lain menemukan bahwa hanya antagonis H1R (mepyramine maleate, 1 μ M) yang secara signifikan menghambat fagositosis yang diinduksi oleh histamine ketika dibandingkan dengan kelompok dengan pemberian histamine tanpa disertai dengan antagonis H1R ($p < 0,001$). Hasil ini konsisten dengan pada perlakuan dengan pemberian agonis H1R (2-pyridylethylamine, 100 μ M) dimana mampu memberikan efek yang mirip dengan ketika diinduksi dengan histamine. Proses fagositosis ini diduga akibat Fc γ R-microglial phagocytosis yang diinduksi oleh histamine melalui aktivasi H1R.⁴⁶⁵

Penelitian lain coba menilai kemampuan histamin dalam memodulasi PSR-mediated phagocytosis dengan menggunakan fluorescent PS atau PS liposomes.⁴⁹³ Ditemukan bahwa histamine dapat menyebabkan peningkatan yang signifikan (2 kali lipat) dari fagositosis atau uptake dari PS liposomes ($P < 0.05$). Annexin V yang berikatan dengan residu PS digunakan sebagai inhibitor fagositosis yang diinduksi PS. Didapatkan bahwa annexin V dapat menghambat induksi histamine

pada uptake PS liposomes. Pada penelitian ini juga dilakukan evaluasi terhadap efek histamine pada fagositosis microglial secara in vivo dengan menginjeksikan histamine pada SN tikus yang diikuti dengan PS liposomes. Kemudian dinilai volume dari sel CD11b+ (sel-sel microglial resident/invading macrophages) yang mengandung PS liposomes secara quantitaf.⁴⁹³ Didapatkan bahwa histamine secara signifikan meningkatkan prosentase volume sel CD11b+ yang mengandung PS liposomes dibanding kelompok tikus yang hanya diberikan saline ($P < 0.05$). disimpulkan bahwa histamine dapat menginduksi fagositosis dari partikel atau sel-sel yang mengandung residu PS pada permukaannya baik secara in vivo dan in vitro, sehingga meningkatkan kerentanan dari neuron yang stress atau mati mengalami fagositosis oleh mikroglia.

Kemampuan histamin dalam menginduksi fagositosis microglial selain melalui aktivasi reseptor-reseptor spesifik, histamin juga dapat meninduksi fagositosis microglial dengan melakukan modifikasi pada sitoskeleton mikroglial itu sendiri. Histamine dapat menginduksi terjadinya perubahan pada membrane mitrokondrial melalui polimerisasi aktin dan meningkatkan *acetylated α -tubulin* pada prosesus microglial yang terlibat dalam stabilisasi *phagocytic cups/protrusion*. Perubahan sitoskeleton yang diinduksi oleh histamine berhubungan dengan fagositosis dinamis dari mikroglia.

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa selain terjadi efek yang benefisial dari fagositosis microglial, terdapat pula resiko akan adanya stress oksidatif yang disebabkan oleh fagositosis microglial yang diinduksi oleh histamine. Penelitian untuk mengevaluasi efek dari histamin pada produksi ROS dilakukan oleh Sandra M Rockha et al, dimana pemberian 100 μ M histamine secara

signifikan meningkatkan level ROS dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P < 0,001$). Produksi ROS yang diinduksi oleh 100 μM histamine ini secara total diinhibisi oleh antagonis H1R atau H4R. Level ROS yang dihasilkan dengan pemberian H1R atau H4R agonis mirip dengan pada pemberian 100 μM histamine, yakni $P < 0,01$ dan $P < 0,05$ secara berurutan. Pemberian bersama antagonis H1R dan H4R dengan histamine, terjadi inhibisi produksi ROS yang diinduksi oleh histamin pada level yang sama ketika hanya diberikan salah satu dari antagonis tersebut. Berdasarkan hasil ini dapat disimpulkan bahwa produksi ROS yang diinduksi oleh histamine terjadi melalui aktivasi H1R dan H4R.⁴⁶⁵

Penelitian lain menggunakan apocynin untuk mengklarifikasi peran dari sistem Nox dalam pembentukan ROS yang diinduksi oleh histamine. Secara signifikan apocynin menghambat produksi ROS yang diinduksi oleh histamine pada sel-sel microglial N9 hingga mencapai level yang hampir sama dengan pada kelompok kontrol ($P < 0,001$). Berdasarkan hasil ini diduga bahwa aktivasi Nox dan produksi ROS berperan dalam fagositosis yang diinduksi oleh histamine. Secara signifikan histamine dapat meningkatkan level protein Nox pada 6 dan 12 jam pasca pemberian, pada N9 *cell line* dan *primary murine microglial cells*. Aktivasi fungsional dari Nox1 bergantung pada aktivasi *small GTPase*, *Rac1*. Penelitian mengungkapkan bahwa dalam waktu 1 jam pasca pemberian, histamin dapat meningkatkan level ekspresi dari *Rac1*. Secara keseluruhan, hasil ini mengungkapkan bahwa *Nox1/Rac1 signaling* dan pembentukan ROS berperan dalam fagositosis yang diinduksi oleh histamine.⁴⁶⁵

Berdasarkan penelitian sebelumnya, histamine dapat menginduksi kematian sel dopaminergic (DA) melalui reaktivitas microglial. efek neurotoksik yang

diinduksi oleh histamine dapat dihambat atau dicegah dengan mem-*block* H1R.^{492,494} Penelitian lain berhipotesa bahwa histamine mungkin menginduksi lingkungan inflamatif melalui peningkatan level dari ROS yang memicu neuron-neuron DA terekspose oleh PS pada membrane luarnya sehingga menstimulasi fagositosis microglial, stress oksidatif, dan akhirnya terjadi kematian neuronal DA.⁴⁶⁵

Histamine merupakan modulator penting dalam fagositosis microglial dan produksi ROS. Antihistamin H1 mungkin dapat digunakan sebagai target terapeutik potensial untuk mencegah aktivasi microglial yang diinduksi oleh histamine. Reseptor blocker histamine H1 mencegah aktivasi mikroglia awal, yang selanjutnya akan menurunkan akumulasi sel immune pada MS.⁴⁹⁵

Sitokin-sitokin proinflamasi, seperti TNF- α dan IL-1 β berhubungan dengan penyakit atau kelainan pada otak, terutama ketika terdapat dalam konsentrasi yang tinggi.⁴⁹⁶ Produksi TNF- α dan IL-1 β yang diinduksi oleh histamine dapat dihambat oleh antagonis H1R atau H4R. Penelitian yang dilakukan oleh Zhang et al. mengevaluasi pemberian antagonis dari ke-4 reseptor histamine untuk menentukan sub-tipe reseptor mana yang memiliki efek pada aktivasi mikroglia yang diinduksi oleh histamine dan pelepasan faktor-faktor proinflamasi di dalam otak. Didapatkan bahwa antagonis H1R cetirizine (10 μ M) dan antagonis H4R A943931 (10 μ M), secara parsial menghambat aktivasi mikroglia yang diinduksi oleh histamine (80 μ g) pada 24 jam dan pelepasan faktor-faktor proinflamasi TNF- α dan IL-1 β . Sedangkan, antagonis H2R ranitidine (10 μ M) dan antagonis H3R carbinoxamine ditrifluoroacetate (10 μ M), dapat meningkatkan aktivasi mikroglia yang diinduksi oleh histamine (secara statistic tidak signifikan) tapi tidak memiliki efek pada

produksi TNF- α dan IL-1 β yang diinduksi oleh histamine. Hasil ini menunjukkan bahwa antagonis H1R atau H4R menghambat aktivasi mikroglia dan pelepasan TNF- α dan IL-1 β yang diinduksi oleh histamine, dan diduga histamine menginduksi aktivasi mikroglia dan pelepasan dari TNF- α dan IL-1 β melalui H1R dan H4R.⁴⁷⁴

Histamine dipercaya memiliki peran ganda dalam penyakit neurologis, evidens menunjukkan bahwa histamin sangat krusial terlibat dalam memodulasi neuroinflamasi yang dimediasi oleh mikroglia.⁴⁹⁷ Histamine memodulasi motilitas mikroglia dan pelepasan sitokin, dan merupakan modulator penting dalam fagositosis microglial dan produksi ROS, kedua hal tersebut berperan dalam kerentanan dan kematian sel neuron DA pada SN secara *in vivo*.⁴⁶⁵ Untuk mengetahui subtype reseptor histamine yang menyebabkan terjadinya pelepasan sitokin inflamatorik, maka dalam penelitian yang dilakukan oleh Zhang et al. menggunakan agonis subtype reseptor histamine. 100 μ M agonis H1R 2-pyridylethlamine, secara signifikan meningkatkan pelepasan TNF- α dan IL-1 β di dalam otak dalam 8 jam. Antagonis H1R antagonis cetirizine (10 μ M) terutama menghambat pelepasan TNF- α dan IL-1 β yang diinduksi oleh 2-pyridylethlamine (100 μ M). Akan tetapi, 2-pyridylethlamine tidak menstimulasi pelepasan dari IL-10. Hasil yang berbeda ditemukan pada penggunaan agonis H2R amthamine (100 μ M) dan agonis H3R (R)-(-)- α -methylhistamine (100 μ M), tidak ditemukan adanya pengaruh pada produksi dari TNF- α dan IL-1 β otak tikus dalam 8 jam, tapi setelah 24 jam, terjadi peningkatan dari IL-10. 4-methylhistamine, yang merupakan metabolit active dari H4R, juga digunakan dengan dosis 100 μ M selama 8 jam. Hasilnya terjadi peningkatan produksi dari TNF- α dan IL-1 β . Hasil ini menunjukkan

bahwa agonis H1R atau H4R dapat menstimulasi pelepasan TNF- α dan IL-1 β , sedangkan agonis H2R atau H3R mempengaruhi pelepasan IL-10. histamine dapat menginduksi pelepasan TNF- α dan IL-1 β pada otak tikus terutama melalui H1R dan H4R dan dapat menginduksi pelepasan IL-10 melalui H2R dan H3R. aktivasi H1R dan H4R memiliki efek proinflamasi dan aktivasi H2R dan H3R memiliki efek antiinflamasi.⁴⁷⁴ Inhibisi dari aktivasi fenotip mikroglia M1 dan neuroinflamasi dapat menjadi terapi klinis yang prospektif terhadap penyakit-penyakit neurodegenerative yang berhubungan dengan neuroinflamasi.⁴⁹⁷

2.7 Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α)

Peran dari respon inflamasi cerebral dalam memediasi luaran selular pasca cedera otak traumatika telah mendapat perhatian yang tinggi. Kaskade inflamasi pasca traumatik telah didokumentasikan baik secara klinis dan eksperimental cedera otak traumatika, meliputi influks dari leukosit ke dalam jaringan otak yang cedera,^{108,139} peningkatan dan pelepasan sitokin, seperti tumor necrosis factor- α (TNF), interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-10 dan IL-12.^{118,498,499} Sitokin-sitokin pro dan antiinflamasi berinteraksi secara kompleks tapi belum sepenuhnya dipahami mengenai hubungannya atau perannya dalam proses kerusakan dan penyembuhan, diduga bahwa inflamasi post traumatik memiliki peran ganda pasca cedera otak traumatika.^{91,122,123,357,500}

Telah diketahui secara luas bahwa sitokin, kemokin, dan growth factor inflamatori berperan penting dalam patofisiologi dari cedera otak traumatika. Walaupun inisiasi dari respon inflamasi juga memiliki peran yang signifikan untuk menginduksi mekanisme neuroreparatif sebagai respon terhadap stres fisiologis,^{123,501,502} akan tetapi bila hal ini terjadi secara berlebihan atau tidak

terkendali, maka dapat menyebabkan disfungsi neuronal dan degenerasi dengan menginduksi terjadinya kaskade patologikal dari neuroinflamasi.⁵⁰³⁻⁵⁰⁵ Sesaat setelah cedera otak traumatika, terjadi sintesis dan pelepasan sitokin-sitokin proinflamasi oleh astrosit dan mikroglia, terutama TNF- α dengan mRNA dan level protein yang meningkat secara akut dalam waktu singkat sekitar 17 menit pasca cedera ditemukan pada pemeriksaan otak post-mortem dari pasien yang baru meninggal pasca cedera otak traumatika.⁵⁰⁶ Sebuah urutan paralel dari peningkatan sitokin telah dijelaskan pada model penelitian tikus dengan cedera otak traumatika dimana TNF- α mengalami peningkatan mendahului munculnya sitokin-sitokin lainnya.⁵⁰⁷⁻⁵⁰⁹ Berdasarkan jalur signalingnya, TNF- α dapat mengeksaserbasi terjadinya trauma dan stres oksidatif di dalam otak dan berkontribusi dalam pelepasan glutamate dan disfungsi BBB yang kemudian akan menyebabkan terjadinya influks dari faktor-faktor inflamatori lebih lanjut dari darah ke dalam otak.⁵¹⁰

Tumor necrosis factor- α (TNF- α) merupakan sitokin pleiotropic yang secara cepat meningkat dalam otak pasca cedera dan diketahui terlibat dalam perubahan blood-brain barrier, inflamasi, trombogenik, dan vaskular pasca cedera otak traumatika.^{141,511,512} Level TNF- α dalam jaringan otak, cairan serebrospinal, dan plasma diketahui mengalami peningkatan dalam beberapa penyakit sistem saraf pusat, meliputi penyakit Alzheimer,⁵¹³ multiple sklerosis,⁵¹⁴ penyakit Parkinson,⁵¹⁵ meningitis meningococal,⁵¹⁶ dan infeksi HIV.⁵¹⁷ Elemen selular utama yang mampu memproduksi TNF- α dalam jaringan otak telah teridentifikasi pada banyak tipe sel yang berbeda setelah terjadi berbagai macam stimulasi / cedera, meliputi sel endotelial dari plexus choroid,⁵¹⁸ astrosit dan mikroglia yang teraktivasi,⁵¹⁹⁻⁵²¹

dan makrofag setelah terjadi iskemia,^{128,522} seperti juga pada neuron sentral setelah terapi lipopolysakarida,⁵²³ iskemia focal serebral,¹²⁸ dan cedera otak.⁵²⁴

TNF- α , merupakan subtype utama dari TNF, merupakan sitokin dengan fungsi biologis yang luas dan merupakan mediator yang penting dalam sistem saraf pusat yang terlibat dalam respon inflamasi dan immune. TNF- α diketahui memiliki kontribusi yang besar dalam respon inflamasi pada model cedera otak.⁵²⁵

2.7.1 Sintesis Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α)

Dalam otak, TNF diproduksi oleh microglia, astrosit, sel endotelial, dan juga oleh neuron, dan memiliki peran mulai dari menginduksi apoptosis dan kematian sel nekrotik sampai menstimulasi pertumbuhan dan differensiasi sel. Tumor necrosis factor disintesis sebagai monomeric type-2 transmembrane protein (tmTNF) yang diinsersikan ke dalam membran sebagai homotrimer dan dibelah oleh matrix metalloprotease TNF converting enzyme menjadi 51kDa soluble circulating trimer (solTNF); tmTNF dan solTNF aktif secara biologis.⁵⁰⁵

2.7.2 Peran Ganda Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α)

Tumor necrosis factor berikatan dengan dua reseptor permukaan yang berbeda, yakni; TNFR1 (p55) dan TNFR2 (p75).^{526,527} Reseptor glycoprotein membran ini secara spesifik berikatan dengan TNF, akan tetapi kedua reseptor tersebut memiliki perbedaan dalam ekspresinya, afinitas ligand, struktur sitoplasmik, dan jalur aktivasi signaling. Beberapa respon biologis klasik dari TNF dimediasi oleh p55, yang mana terdapat pada sebagian besar tipe sel, dan dapat teraktifasi oleh ikatan dengan solTNF atau tmTNF.⁵⁰⁵ Hasil akhir dari aktivasi reseptor p55 meliputi apoptosis, dan aktivasi dari 2 faktor transkripsi : nuclear factor kB (NF- κ B) dan c-Jun N-terminal kinase (JNK).⁵²⁸ Berbeda dengan reseptor

p75 yang paling banyak terdapat pada sel-sel sistem imun, sel endotelial, dan kelompok neuronal spesifik, dan terutama diaktivasi oleh tmTNF. Saat ini dipercaya bahwa aktivasi dari reseptor p75 akan menginisiasi proinflamasi dan prosurvival signaling.⁵⁰⁵

Pada berbagai model penyakit dan cedera sistem saraf pusat, TNF menunjukkan 2 aktivitas yakni neurotoksik dan neuroprotektif. Hal ini dipercaya bergantung pada beberapa faktor yang meliputi ekspresi spesifik dari sel, waktu ekspresi dari TNF, konsentrasi ligand, dan pengaruh dari jalur signaling lainnya. Pada model eksperimental dari cedera otak traumatika diketahui bahwa TNF meningkat pada fase early pasca trauma dan mencapai puncak dalam beberapa jam pasca inisial trauma.⁵⁰¹ TNF juga tampaknya dilepaskan lebih cepat dari pada sitokin proinflamasi yang lain dan menginisiasi aktivasi dari beberapa sitokin dan growth factors dan juga recruitment dari sel-sel imun. Manipulasi farmakologis spesifik yang ditujukan untuk menurunkan produksi dari TNF dan menghambat aktivitasnya secara akut diketahui berhubungan dengan perbaikan luaran pasca trauma.^{507,529} Akan tetapi, penelitian lebih lanjut yang menggunakan genetically engineered mice lacking TNF atau reseptornya menunjukkan hasil yang kontradiktif, sehingga diduga bahwa sitokin ini mungkin memiliki efek yang buruk pada fase akut pasca cedera otak traumatika namun berperan dalam proses regeneratif / pleiotropic pada fase kronik pasca trauma.^{530,531}

Perbedaan keterlibatan reseptor TNF pada cedera otak traumatika mungkin merupakan salah satu kunci untuk mengerti mengenai peran kompleks dari TNF dalam cedera otak.^{532,533} Pada murine model dengan iskemia retinal, aktivasi dari reseptor p55 ditemukan berhubungan dengan peningkatan kerusakan jaringan,⁵³⁴

sementara itu aktivasi dari reseptor p75, ditemukan memiliki fungsi protektif. Pada model kejang yang diinduksi oleh asam kainic, aktivasi p55 akan mengeksaserbasi kejang,⁵³⁵ sementara aktivasi p75 akan menginhibisi terjadinya kejang. Hal ini hampir sama dengan pada model cryolesion, delesi reseptor p55 akan menyebabkan terjadinya penurunan reaksi inflamasi dan menurunkan apoptosis. sebaliknya, TNF berhubungan dengan neuroproteksi pasca iskemia serebral terjadi via reseptor p55⁵³⁶⁻⁵³⁸ mengindikasikan bahwa peran fungsional dari reseptor TNF masih perlu diteliti lebih jauh.⁵³⁹

Dalam penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa delesi reseptor p55 berhubungan dengan penurunan gangguan kognitif pasca cedera otak traumatika.⁵³⁹ Pada penelitian dengan desain yang sama, Yang et al.⁵⁰⁸ juga menunjukkan peran protektif dari p75/Fas. Untuk lebih mengklarifikasi mengenai peran dari 2 TNF reseptor dalam responnya terhadap cedera otak traumatika, mereka membandingkan luaran neurobehavioral dan histologis pasca cedera otak traumatika pada wild-type (WT) tikus dan tikus yang secara genetik mengalami defisiensi baik pada reseptor p55 (p55 (-/-)) atau reseptor p75 (-/-). Untuk mengetahui lebih lengkap mengenai karakteristik dari mekanisme secara molekular yang mendasari efek dari manipulasi genetik pada reseptor TNF pasca cedera otak, maka mereka mengevaluasi perubahan pada ekspresi mRNA dari gene proapoptotic dan antiapoptotic dan menilai respon mikroglia / makrofag (M/M) pada cedera kortikal pada 3 strain tikus pasca cedera otak traumatika.⁵³⁹

Pada penelitian sebelumnya telah ditunjukkan bahwa peningkatan ekspresi TNF- α mRNA neuronal terjadi pada tahap awal pada tikus yang mengalami iskemia kortikal mendahului infiltrasi leukosit yang terjadi pasca stroke

fokal.^{128,523,524} Ekspresi awal dari TNF- α mRNA dan protein diidentifikasi dalam mikroglia dan makrofag yang teraktivasi setelah terjadi iskemia pada otak tikus.⁵²² Administrasi langsung dari TNF- α ke dalam otak akan menyebabkan terjadinya peningkatan dramatis dari adhesi leukosit pada dinding vaskular dan infiltrasi dari sel inflamatory ini ke dalam jaringan tapi tidak terdapat efek neurotoksisitas pada neuron di lokasi penyuntikan.¹²⁸

TNF- α merupakan mediator dari cedera otak iskemia fokal. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Barone et al. dilakukan pemberian TNF- α melalui injeksi intracerebrovascular (ICV) (2,5 atau 25 μ mol) 24 jam sebelum terjadinya permanent atau transient middle cerebral artery occlusion (MCAO) selama 80 dan 160 menit. Pada 24 jam berikutnya dilakukan evaluasi defisit neurologis, luasnya iskemia hemisfer dan edema pada hewan coba tersebut. Pada hewan coba yang dilakukan injeksi *intracerebroventricular* (ICV) 24 jam sebelum *middle cerebral artery occlusion* (MCAO) menyebabkan terjadinya infark hemisferik dengan luas $13,1 \pm 1,3\%$. Injeksi 2,5 μ mol TNF- α 24 jam sebelum dilakukan permanent MCAO menyebabkan peningkatan yang signifikan ($P < .05$) dari ukuran infark menjadi $18,9 \pm 1,7\%$. Injeksi 25 μ mol TNF- α menyebabkan infark dengan ukuran yang lebih luas ($P < .01$) menjadi $27,1 \pm 1,3\%$. Pada kelompok hewan coba yang diberikan 2,5 μ mol TNF- α juga ditemukan terjadi peningkatan ukuran edema otak yang signifikan ($P < .05$) sampai $9,8 \pm 1,6\%$ dibandingkan dengan kelompok kontrol $4,4 \pm 0,7\%$.⁵⁴⁰

Dalam penelitian ini juga ditemukan bahwa pemberian agent inhibitor dari TNF- α dapat menurunkan injury stroke. Pada penelitian ini TNF- α endogen (sentral) dihambat sebelum dan selama stroke fokal dengan pemberian injeksi ICV *anti-TNF- α monoclonal antibody* (mAB) atau *soluble TNF receptor I* (sTNF-RI)

secara berulang dan ditemukan pemberian inhibitor TNF- α tersebut secara signifikan menurunkan focal ischemic injury. Pada kelompok yang diberikan 60 pmol mAb didapatkan volume infark $117,4 \pm 7,0 \text{ mm}^3$; $P < .05$ dibandingkan dengan pada kelompok kontrol $147,2 \pm 7,5 \text{ mm}^3$. Hasil yang identik juga ditemukan pada kelompok hewan coba yang mendapatkan sTNF-RI dimana didapatkan penurunan volume infark secara signifikan dibandingkan dengan pada kelompok kontrol (vehicle= $119.5 \pm 7.5 \text{ mm}^3$; 5 μg or $\approx 0.3 \text{ nmol}$ sTNF-RI= $97.8 \pm 8.5 \text{ mm}^3$; 12.5 μg or $\approx 0.7 \text{ nmol}$ sTNF-RI= $89.0 \pm 7.6 \text{ mm}^3$; $P < .05$).⁵⁴⁰

2.7.3 Mediasi Kerusakan Jaringan dan Fungsional Outcome Oleh Tumor

Necrosis Factor- α (TNF- α) Pasca Cedera Otak Traumatika

Anggota dari kelompok tumor necrosis factor receptor (TNFR) dan ligandnya terinduksi pada tahap awal pasca cedera akut sistem saraf pusat dan dapat menginisiasi jalur signaling intraselular yang banyak dan kompleks yang dapat berkontribusi dalam mekanisme injury dan juga dalam proses regenerasi.⁵⁴¹ Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) merupakan sitokin pleiotropic yang mentransduksikan signal kematian sel dan survival melalui reseptor-reseptornya TNFR1 dan TNFR2.⁵⁴²

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Berrrrpohl D et al.⁵⁴³ mereka mencoba melihat peran dari TNF alpha dan Fas dalam memediasi kerusakan jaringan dan fungsional outcomenya pasca cedera otak traumatika pada tikus. Dalam penelitian ini dibandingkan dengan tikus wild type (WT), tikus dengan TNF- α /Fas -/- memiliki performance motorik yang lebih baik pada hari 1 – 4 ($P < 0,05$), memori spasial yang lebih baik pada hari ke 8 – 14 ($P < 0,05$), dan ukuran lesi yang kecil pada minggu ke 2 dan 6 pasca controlled cortical impact (CCI) ($P < 0,05$).

Fungsi proteksi dari gambaran histopatologis dan defisit motorik pada tikus dengan TNF α /Fas -/- ini hilang pada tikus yang diberikan recombinant TNF α sebelum CCI, dan pada tikus TNF α -/- yang diberikan antibodi anti-Fas ligand mengalami perbaikan memori spasial seperti pada kelompok tikus WT (P<0,05). Tikus dengan tumor necrosis factor-alpha/Fas -/- mengalami penurunan jumlah sel kortikal yang mengalami kerusakan pada plasmalemma pada jam ke 6 (P<0,05 dibandingkan dengan kelompok tikus WT), dan terjadi penurunan aktivitas matrix metalloproteinase-9 yang menurun pada otak yang mengalami cedera pada 48 dan 72 jam pasca CCI. Pada tikus immature yang mengalami CCI, inhibisi genetik pada TNF α dan Fas menunjukkan efek benefit pada gambaran histopatologis dan memori spasial pada saat dewasa (P<0,05 dibandingkan dengan kelompok WT), sehingga diduga efek benefit dari inhibisi TNF α /Fas mungkin bersifat permanen. Berdasarkan data yang didapatkan dalam penelitian ini diduga bahwa jalur signaling yang diinisiasi oleh TNF α dan Fas memegang peranan yang penting dalam patogenesis cedera otak traumatika, dan mekanisme biokimia untuk menurunkan TNF α dan Fas mungkin dapat menjadi target terapeutik baru.⁵⁴³

Pasca cedera otak, TNF- α dilepaskan oleh astrosit, sel endotel vaskular, sel-sel mikroglia dan neuron dalam sistem saraf dan dapat mengaktifasi leukosit polimorfonuklear, meningkatkan ekspresi dari molekul adhesi leukosit-sel endotelial, menyebabkan adhesi leukosit pada dinding kapiler, dan melakukan infiltrasi ke dalam jaringan otak. Leukosit yang teraktivasi dapat melepaskan berbagai macam mediator inflamasi, radikal bebas oksigen, yang memainkan peranan penting dalam kerusakan jaringan pasca iskemia / reperfusi cerebral. TNF- α lebih lanjut dapat mengaktivasi makrofag dan mikroglia untuk menghasilkan

metabolit inflamatori, mempertahankan dan meningkatkan respon inflamasi, dan kemudian menyebabkan re-injury pada jaringan otak. Selain itu, TNF- α memiliki efek toksik langsung pada pembuluh darah kapiler, yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel-sel endotelial dan kemudian menyebabkan terjadinya mikro spasme arterial, meningkatkan permeabilitas kapiler, dan mengagregasi infiltrasi leukosit perifer dan edema otak.⁵²⁵

TNF- α memainkan peranan penting pada iskemia serebral: menjadi kemotaktik terhadap leukosit dan menginduksi pembentukan molekul adhesi untuk jenis selular yang lain, seperti beberapa jenis leukosit, sel-sel endothelial, dan target sel lain, sehingga meningkatkan inflamasi dalam jaringan otak. Lebih lanjut, TNF- α memiliki efek pada peningkatan trombogenesis dengan meningkatkan level *plasminogen-activating inhibitor-1 tissue factor* dan *platelet-activating factor*, dan menghambat *tissue plasminogen activator activity*.¹²⁸

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa TNF- α terlibat dan beberapa jalur krusial dalam sistem saraf pusat (lihat gambar 2.12).^{505,544-550} Jalur ini menginduksi aktivasi dari mikroglia dan astrosit, mempengaruhi integritas BBB, meningkatkan transmisi glutamatergic, dan regulasi plastisitas sinaptik. Lebih lanjut, sebuah mekanisme dari sinapsis eksitatori dilaporkan berhubungan dengan promosi TNF- α pada reseptor *amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid* (AMPA) dan penurunan dari reseptor *γ -aminobutyric acid* (GABA) pada permukaan sel. Berdasarkan temuan ini dapat diduga bahwa TNF- α mungkin berperan dalam regulasi transmisi sinaptik pada sinaps eksitatori, sehingga meningkatkan transmisi sinaptik eksitatori dan menurunkan transmisi sinaptik inhibitori.⁵⁵¹⁻⁵⁵⁴

Beberapa penelitian juga melaporkan mengenai bagaimana TNF- α terlibat dalam stimulasi *tissue factor* dan ekspresi molekul adhesi dan dalam induksi peningkatan aktivitas atau peningkatan level dari nitric oxide, faktor VIII/von Willebrand, dan platelet activating factor. Dalam hal prokoagulan, TNF- α juga berhubungan dengan endothelin, supresi dari sistem trombomodulin-protein C-protein S, menurunkan tissue plasminogen activator, dan stimulasi pelepasan plasminogen activator inhibitor-1. Selain itu juga menyebabkan peningkatan kadar MMP, yang secara aktif mempengaruhi permeabilitas vaskular, dan meningkatkan respon terhadap TNF- α . TNF- α juga dapat menginduksi sintesis radikal bebas oksigen pada sel endotelial dengan meningkatkan beberapa enzim regulator seperti xanthine oxidase, cyclooxygenase, dan nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen oxidase, yang merupakan enzim kunci dalam jalur produksi radikal bebas oksigen.^{553,554}

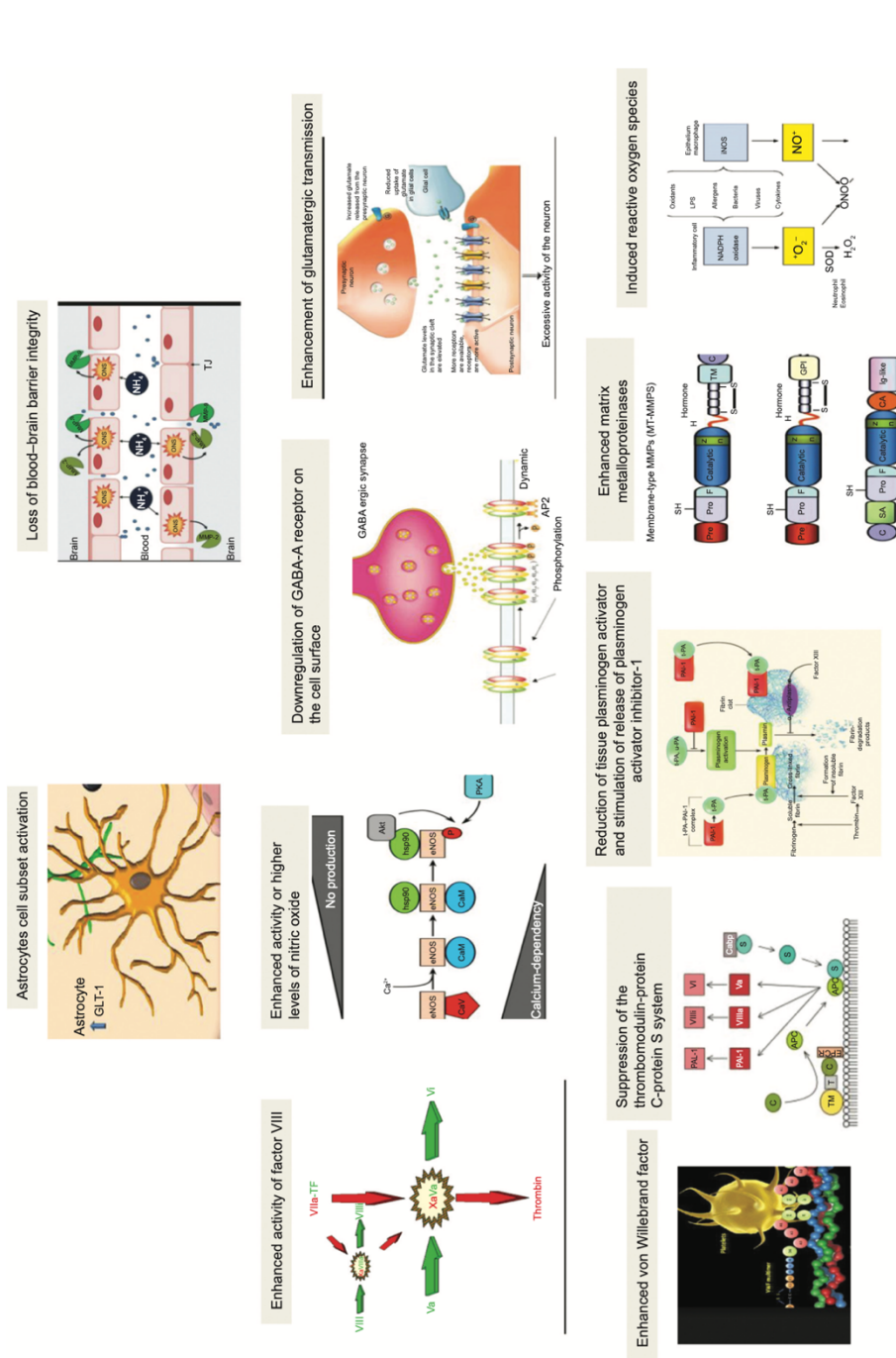


Figure 2 TNF- α -related crucial events within the CNS during TBI and acute ischemic stroke. **Abbreviations:** Akt, serine/threonine-protein kinase; AP2, activating protein 2; APC, antigen presenting cell; Cabp, calcium binding protein; CaM, calmodulin; cNOS, central nervous system; eNOS, endothelial nitric oxide synthase; EPCR, endothelial protein C receptor; GLT-1, glial glutamate transporter; hsp90, heat shock protein 90; Ig, immunoglobulin; iNOS, inducible nitric oxide synthase; LPS, lipopolysaccharide; MMP, matrix metalloproteinase; NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen; ONS, base-modified oligonucleotides; PAI, plasminogen-activating inhibitor; PAL-1, phenylalanine ammonia-lyase I; PKA, protein kinase A; SOD, superoxide dismutase; TBI, traumatic brain injury; TF, tissue factor; t-PA, tissue plasminogen activator; TNF, tumor necrosis factor; u-PA, urokinase plasminogen activator; VWF, von Willebrand factor; VIIIa, factor VIIIa; Va, factor Va.

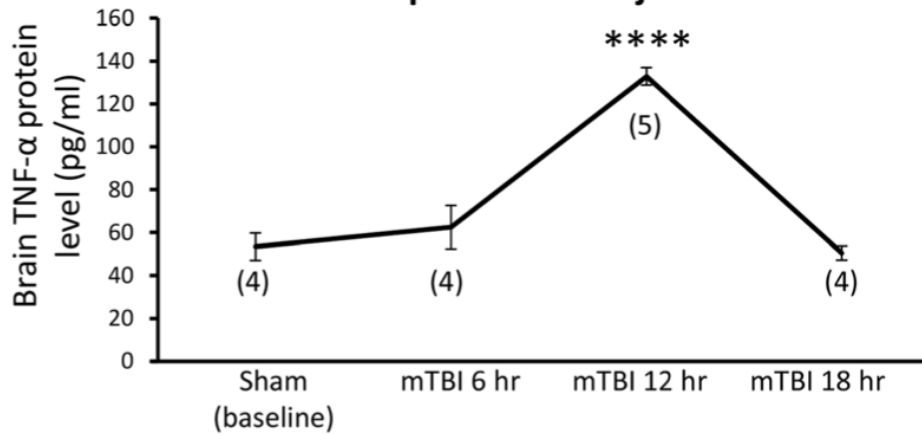
Gambar 2.11 crucial events TNF- α dalam sistem saraf pusat pada COT dan stroke iskemia.⁵¹⁰

2.7.4 Perubahan Kadar atau Level TNF- α Pasca Cedera Otak Traumatika Berdasarkan Waktu

Level TNF- α meningkat secara progresif pada kerusakan otak iskemik pasca cedera otak traumatika.⁵⁵⁵ Level TNF- α yang tinggi sangat berhubungan dengan kerusakan BBB⁵⁰⁷ dan kematian sel pasca cedera otak traumatika dan iskemia. TNF- α dilaporkan sebagai mediator dalam mekanisme kematian neuronal pada model eksperimental kerusakan neuronal yang disebabkan oleh *oxygen-glucose deprivation* (OGD model) in vitro dan pada model kerusakan iskemia otak pada hewan akibat oklusi atau ligasi pembuluh darah arteri otak.⁵³¹ Pada beberapa jalur apoptosis dari kematian neuron memperlihatkan adanya agregasi perifer yang dilaporkan berhubungan dengan peningkatan level dari TNF- α .¹²⁸

Level TNF- α dalam jaringan otak mengalami perubahan yang bergantung pada waktu. Dalam model penelitian yang menggunakan tikus yang mengalami cedera otak traumatika ringan, Baratz et al. memperlihatkan peningkatan dari level protein dari TNF- α dalam otak dimana telah terjadi peningkatan level dari TNF- α pada 6 jam pasca cedera dan peningkatan 2,5X (level puncak) terjadi pada 12 jam pasca cedera, dan kembali ke baseline pada 18 jam ($P < 0,0001$) (lihat gambar 2.13). Pada jam ke 12 terjadi peningkatan level 132,9 pg/ml dibandingkan dengan level baseline 53,4 pg/ml.⁵⁵⁶

A mTBI-induced time-dependent changes in brain TNF- α levels compared to uninjured shams



Gambar 2.12 *mTBI induces a time-dependent rise in brain TNF- α levels.*⁵⁵⁶

Dampak COT meningkatkan kadar TNF- α telah dilaporkan dalam CSF dan serum pasien.^{554,557} Dalam suatu penelitian, konsentrasi TNF- α yang diukur dalam CSF dan serum pasien COT pada interval 24 jam, ditemukan bahwa TNF- α secara signifikan meningkat dari kontrol.^{118,119,123,428} Mengingat bahwa ekspresi TNF- α pada hewan biasanya memuncak dan kembali menurun dalam 24 jam pertama ini mungkin tidak mengejutkan. Kenaikan tertunda dan berkelanjutan dalam pengukuran TNF- α di CSF manusia (3 hari - 3minggu) dibandingkan dengan fluktuasi yang cepat diamati pada jaringan otak mungkin mencerminkan mekanisme yang berbeda dari metabolisme sitokin dan degradasi di lingkungan ini. TNF- α mRNA dan protein dapat dideteksi pada jaringan otak post-mortem dari pasien COT yang meninggal dalam 17 menit dari cedera.⁵⁰⁶ Dalam studi lain, Hayakata et al.⁵⁵⁸ meneliti CSF dari 23 pasien COT parah dan kadar puncak TNF- α 20-30 pg / mL tercatat dalam 24 jam. Mereka kemudian mencoba untuk menganalisis asosiasi dari tingkat TNF- α dengan peningkatan ICP dan hasil yang buruk (GOS <4 di 6 bulan), tetapi tidak ada korelasi ditemukan. Dalam sebuah studi

berikutnya kelompok yang sama diukur TNF- α baik di CSF dan serum dari 35 pasien COT dengan atau tanpa cedera tambahan di persis 6 jam setelah cedera.^{558,559} Mereka melaporkan bahwa tingkat TNF- α lebih tinggi pada CSF (median 18 pg / mL) versus serum (median 5 pg / mL) tanpa cedera tambahan. Sekali lagi, tidak ada korelasi antara TNF- α dan GCS, ICP, atau hasil neurologis. Baru-baru ini, Stein et al.⁵⁶⁰ menganalisis CSF dan serum sampel dari 24 pasien pada interval 12 jam selama 7 hari setelah menderita COT parah. Pada pasien yang sama ICP dan CPP terus-menerus dipantau sehingga hubungan antara kadar sitokin dan perubahan berikutnya dalam ICP atau CPP bisa diselidiki. Mereka melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi TNF- α serum (dan tidak CSF) cukup berkorelasi dengan kenaikan ICP atau penurunan CPP. Namun, mereka tidak menemukan hubungan dari setiap konsentrasi sitokin [IL-1 β , Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8), Interleukin-10 (IL-10), atau TNF- α] dengan hasil (GOS <5).⁵⁶⁰

Sitokin di deteksi pada otak yang diproduksi secara primer oleh limfosit dan monosit aktive yang menginfiltrasi sistem nervus. Pada media luka, TNF α terutama meningkat pada 1 jam, 4 jam mencapai level maksimum pada 1,4 kali dari pada kontrol. Pada media kultur iskemik, TNF- α tidak berubah antara 1 sampai 2 jam. kemudian meningkat pada 4 jam, level maksimum 2,2 kali pada nilai kontrol dengan nilai 8 jam.⁵⁶¹

Seperti IL-1 β , TNF- α dianggap sebagai sitokin pro-inflamasi murni dalam jangka pendek pada penelitian COT [153]. Waktu pelepasan TNF- α luar bisa konsisten dalam paradigma eksperimental pada COT fokal pada tikus (kerusakan korteks tertutup, perkusi cairan, atau luka tikam), dengan mendeteksi level 1 jam paska kerusakan, konsentrasi maksimal 3-8 jam, dan penurunan pelepasan dalam

24 jam dalam otak. Pada kerusakan difus, level serum TNF- α meningkat dalam 24 jam dengan hilangnya paparan pada jaringan otak, menandakan bahwa kerusakan difus menginduksi respon imun yang berbeda. Sama halnya dengan TNF- α , IL-6 menunjukkan peranan pada neuro-inflamasi yang dideteksi dalam 1 jam paska injuri pada binatang, diikuti dengan konsentrasi puncak antara 2 sampai 8 jam.⁵⁶²

TNF- α dalam serum maupun CSF telah dilaporkan dalam dunia klinis terhadap pasien dengan COT berat. Secara berlawanan, efek neuroproteksi dan neurotoksis telah dianjurkan pada COT dalam manusia, dalam hubungan timbal balik antara TNF- α dengan pro-inflamasi IL-18 dan anti-inflamasi IL-10. IL-6 merupakan bentuk sitokin yang berkonsentrasi tinggi pada CSF manusia. Penilaian pada populasi COT menampilkan level maksimal dari IL-6 pada CSF antara 3 dan 6 hari, dengan penurunan yang tetap pada pelepasan sesudahnya.⁵⁶¹

Penelitian yang dilakukan oleh Chang Liu dan Jianwei Tang menemukan bahwa pada pasien dengan multiple trauma, terjadi peningkatan kadar atau level dari sitokin proinflamasi dan reseptornya dalam darah. Pada saat pasien tiba di rumah sakit, kadar TNF- α dan TNFR meningkat dibandingkan dengan kelompok kontrol. Peningkatan dari TNFR1 dan TNFR2 juga terdeteksi pada leukosit, terutama pada limfosit dan monosit. Level ekspresi dari sitokin dan reseptornya berhubungan dengan ISS. Level TNF- α dan TNFR tetap meningkat secara signifikan sampai hari ke 3-5 pasca trauma seperti yang dapat dilihat pada gambar 2.14 berikut ini.⁵⁶³

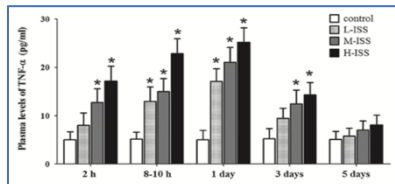


Figure 1. Time-course of plasma TNF- α levels in response to injury. Blood samples were collected at hospital admission (usually within 2 h of injury), and 6-8 h (8-10 h after trauma) and 1-5 days after admission. Plasma was analyzed for TNF- α levels using enzyme immunoassay. Traumatic injury resulted in an increase in plasma TNF- α levels, particularly in patients with high severity scores. Data are presented as the means \pm SD, n=20 per group. *P<0.05, compared with the healthy controls. TNF- α , tumor necrosis factor α ; L/M/H-ISS, low/medium/high injury severity score.

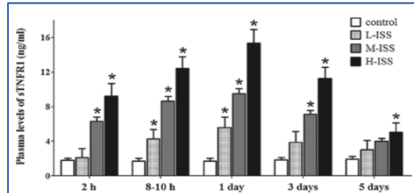


Figure 2. Plasma levels of sTNFR1 in patients with severe trauma. Traumatic injury upregulated the expression of the soluble receptor, with peak levels 1 day after trauma. Patients in the H-ISS group exhibited the highest sTNFR1 plasma levels at all five time points examined. Data are presented as the means \pm SD, n=20 per group. *P<0.01, compared with the healthy controls. sTNFR1, soluble tumor necrosis factor receptor 1; L/M/H-ISS, low/medium/high injury severity score.

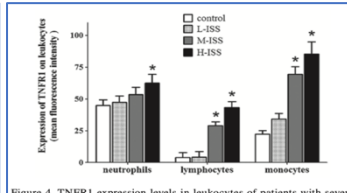


Figure 4. TNFR1 expression levels in leukocytes of patients with severe trauma. In the control patients, TNFR1 was highly expressed on neutrophils, moderately on monocytes and marginally on lymphocytes. Traumatic injury induced increased expression levels of the receptor, particularly on lymphocytes and monocytes. The blood samples were obtained within 2 h of injury, and surface expression levels of the receptor were assessed by flow cytometry. Values indicate mean fluorescence intensity and are presented as the mean \pm SD, n=20 per group. *P<0.01, compared with the healthy controls. TNFR1, tumor necrosis factor receptor 1; L/M/H-ISS, low/medium/high injury severity score.

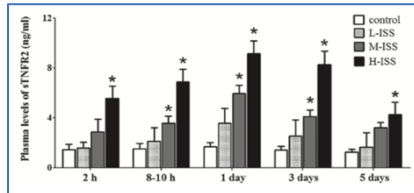


Figure 3. Plasma levels of sTNFR2 in patients with severe trauma. Elevated plasma levels of sTNFR2 were detected in the H-ISS and M-ISS groups, but not in the L-ISS group. Patients in the H-ISS group exhibited the highest sTNFR2 levels in the early phase of injury and even five days after trauma. Data are presented as the means \pm SD, n = 20 per group. *P<0.01, compared with the healthy controls. sTNFR2, soluble tumor necrosis factor receptor 2; L/M/H-ISS, low/medium/high injury severity score.

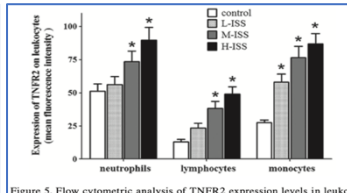


Figure 5. Flow cytometric analysis of TNFR2 expression levels in leukocytes. Monocytes were sensitive to traumatic injury and enhanced TNFR2 expression levels were detected in all trauma patients compared with the control individuals. Significantly increased receptor expression levels in neutrophils and lymphocytes were identified in patients with severity scores \geq 6 (M-ISS and H-ISS groups). The blood samples were obtained within 2 h of injury, and surface TNFR2 expression levels are presented as the mean fluorescence intensity. Data are presented as the means \pm SD, n=20. *P<0.01, compared with the healthy controls. TNFR2, tumor necrosis factor receptor 2; L/M/H-ISS, low/medium/high injury severity score.

Gambar 2.13 Level TNF- α dan TNFR pasca trauma⁵⁶³

2.7.5 Potensial Terapi Inhibitor TNF- α Pasca Cedera Otak Traumatika

Peran dari TNF- α juga telah dievaluasi secara khusus pada kasus traumatik. Beberapa peneliti meneliti peran dari TNF- α dalam patofisiologi cedera otak traumatika akut.(70) Mereka menganalisis TNF- α kinetik yang meliputi ekspresinya, lokalisasinya, dan regulasi pada eksperimental model tikus yang mengalami cedera kepala. Peneliti ini mengobservasi peningkatan level TNF- α dalam konteks otak pasca cedera otak traumatika pada 1 jam dan 4 jam pasca trauma, tapi tidak pada jam ke 12, 24, atau 72 jam pasca trauma. Pada fase awal (antara 1-4 jam) pasca cedera otak traumatika, terjadi peningkatan level dari TNF- α secara signifikan yang terdeteksi melalui immunocytochemical pada neuron dari

korteks serebral yang mengalami cedera, dimana positif immunohistochemistry staining terhadap TNF- α dilaporkan terdapat dalam jumlah kecil pada astrosit, sel-sel ventrikular, dan pembuluh darah kapiler, walaupun immunohistochemistry yang positif ini tidak hanya dievaluasi pada kasus dengan cedera otak traumatika. Lebih lanjut, peneliti ini tidak mengobservasi ekspresi dari TNF- α pada sel makrofag didalam zona hemorrhagic sepanjang kapsula eksterna dan korpus kalosum.

Dalam penelitian yang sama, pemberian selektif TNF- α antagonis-sTNF- α reseptor intracerebroventricular pada fase awal pasca cedera otak traumatika (15 menit dan 1 jam pasca cedera otak traumatika) secara signifikan memperbaiki outcome pada eksperimental tikus, dimana pemberian intravenous dengan obat yang sama tidak mendapatkan hasil yang sama. Hasil ini menegaskan fakta bahwa peningkatan TNF- α yang berhubungan dengan cedera otak traumatika bertanggung jawab terhadap banyak kerusakan neurologis.(71)

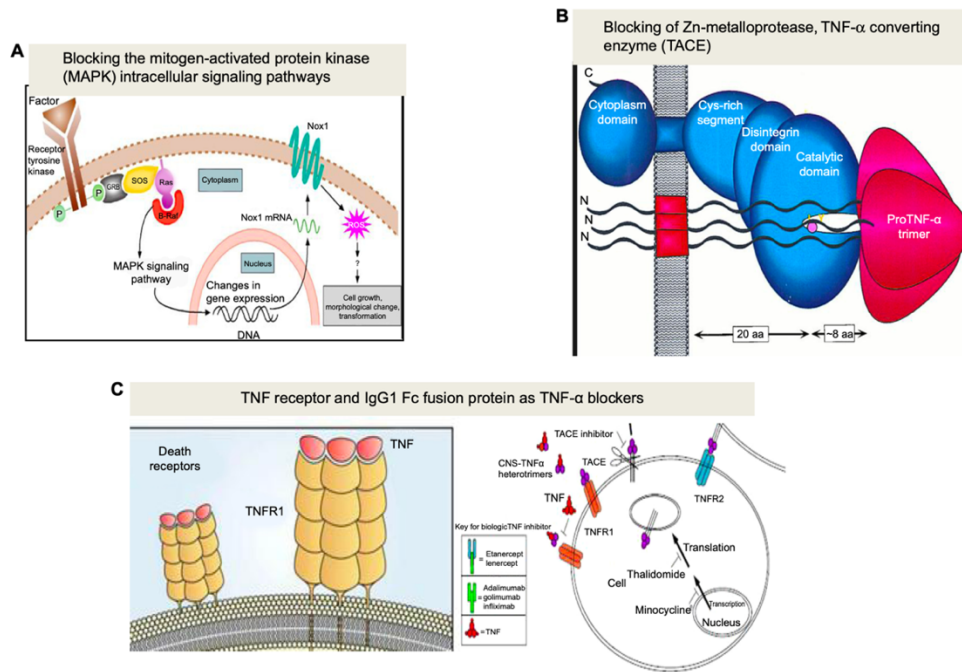


Figure 4 TNF- α related inflammation and apoptosis-associated regulatory pathways as possible therapeutic targets in ischemic and TBI-related neuronal damage (A-C). **Abbreviations:** aa, amino acids; B-raf, rapidly accelerated fibrosarcoma-B; Fc, fragment crystallizable region; Cys, cystatin; IgG, immunoglobulin G; mRNA, messenger RNA; NOX-1; NADPH oxidase 1; NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; ROS, reactive oxygen species; TBI, traumatic brain injury; TNF, tumor necrosis factor; TNFR1, TNF- α receptor-1; TNF- α converting enzyme; TNFR2, tumor necrosis factor receptor 2.

Gambar 2.14 Target terapeutik yang memungkinkan terhadap *TNF- α related inflammation* pada COT dan iskemia.⁵¹⁰

Etanercept dilaporkan efektif dalam menurunkan edema serebral, gangguan motorik dan kognitif yang diinduksi oleh cedera otak traumatika. tampaknya efektivitas etanercept berhubungan dengan kenyataan bahwa obat ini mampu mencapai lokasi lesi pada jaringan otak akibat cedera otak traumatika dan untuk menurunkan gangguan motorik dan kognitif akibat cedera otak traumatika dengan menginduksi terjadinya neurogenesis yang melibatkan jalur-jalur seperti doublecortin (DCX), merupakan *microtubule-associated protein*. DCX mengalami peningkatan sebagai prekursor neuronal pada perkembangan otak, dengan demikian dapat menjadi kandidat target marker dari regenerasi neuronal yang dicapai dengan menghambat TNF- α . Ekspresi DCX dilaporkan paling tinggi di dalam area subventrikular dari ventrikel lateral dan pada zona subgranular pada girus dentata / permukaan hilus dari hippocampus pada jaringan otak dewasa.(70,72) Pada kondisi regenerasi neuronal pasca cedera otak traumatika, peningkatan jumlah pembelahan sel dalam zona subventrikular dan subgranular yang diekspresikan oleh neuron-neuron immature secara simultan dengan ekspresi dari DCX. Beberapa eksperimental model menduga bahwa TNF- α dari sel glia menyebabkan neurotoksisitas dan bahwa neurotoksisitas yang disebabkan oleh TNF- α dapat reversible dengan memblok TNF- α .(73)

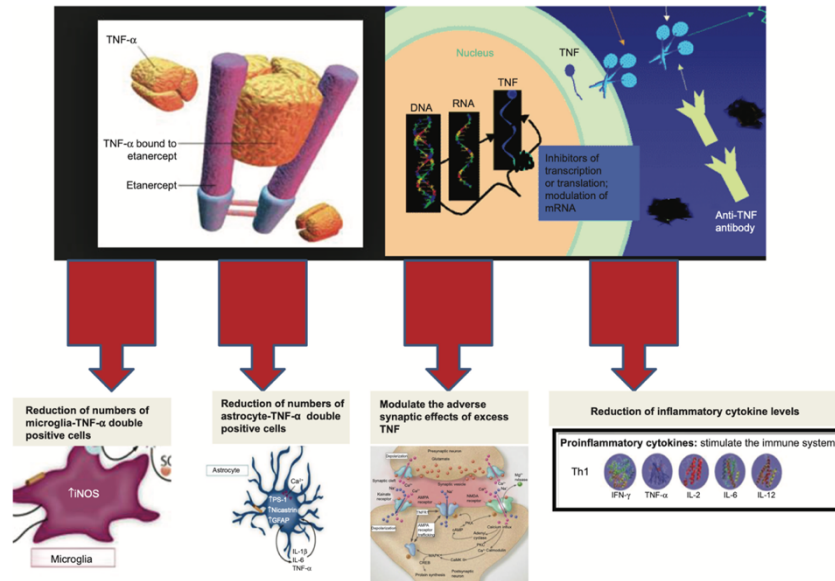


Figure 5 Etanercept effectiveness on inflammatory pathogenesis pathways of neuronal damage after TBI or ischemic stroke. Abbreviations: AMPA, α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid; CaMK, calmodulin-regulated kinase; cAMP, cyclic adenosine-mono-phosphate; CREB, cAMP response element-binding protein; IFN, interferon; IL, interleukin; iNOS, inducible nitric oxide synthase; MAPK, mitogen-activated protein kinase; mRNA, messenger RNA; NPfDA, N-methyl-D-aspartate; PKA, protein kinase A; PKC, protein kinase C; PS, phosphatidylinositol synthase; TBI, traumatic brain injury; Th, T helper; TNF, tumor necrosis factor; TNFR1, TNF- α receptor-1.

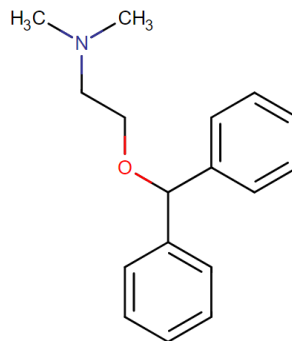
Gambar 2.15 Efektivitas etanercept dalam jalur patogenesis inflamasi pasca COT atau stroke iskemia.⁵¹⁰

Penelitian lain melaporkan bahwa pemberian terapi TNF- α reseptor (TNFR) atau anti- TNF- α antibodi dapat menurunkan promosi ekspresi reseptor AMPA yang diinduksi oleh tetrodotoxin dan meningkatkan *spontaneous miniature excitatory synaptic current (mEPSC) amplitude*, dimana mereka telah dilaporkan dapat menurunkan *miniature inhibitory synaptic current amplitude*.(66,68)

Belarbi et al. melakukan sebuah penelitian untuk mengevaluasi potensial terapeutik dari analog thalidomide, 3,6'-dithiothalidomide (DT), merupakan agen anti-TNF- α , pada model dengan neuroinflamasi kronis. Mereka memperlihatkan bahwa pemberian infus LPS kronis menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi gene dari sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-1 β dalam hipokampus dan pemberian pengobatan dengan DT dapat menormalisasi level dari TNF- α tapi tidak dengan IL-1 β . Peneliti juga menunjukkan bahwa pemberian treatment dengan DT dapat secara signifikan memperbaiki gangguan kognitif pada hippocampus yang diinduksi oleh neuroinflamasi kronis.(74)

2.8 Difenhidramin Hidroklorida

Difenhidramin ditemukan pada tahun 1943 oleh Geoge Rieveschl, seorang professor di universitas Cincinnati.⁵⁶⁴ Pada tahun 1946, obat ini menjadi obat antihistamin pertama yang disetujui oleh FDA Amerika Serikat. Pada tahun 1960-an, difenhidramin ditemukan dapat menghambat reuptake neurotransmitter serotonin.⁵⁶⁵ Penemuan ini mengarah pada pencarian antidepresan yang layak dengan struktur serupa dan efek samping yang lebih sedikit, yang berpuncak pada penemuan fluoxetine, penghambat reuptake serotonin selektif (SSRI).^{565,566} Diphenhydramine atau diphenhydramine HCL memiliki nama kimia 2-(Difenolmetoksi)-N,N-dimetiletamin hidroklorida dan struktur kimia $C_{17}H_{21}NO.HCl$.⁵⁶⁷



Gambar 2.16 Struktur Difenhidramin.⁵⁶⁸

Difenhidramin hidroklorida (HCl) secara global tersedia sebagai obat yang dijual bebas untuk obat alergi, batuk dan flu. Ini merupakan sebuah etanolamine dan generasi pertama antagonis H1 yang bersifat reversible, yang menghambat ikatan histamine pada reseptor H1 secara kompetitif.⁵⁶⁹ Antagonis H1, terutama etanolamine, memiliki aktivitas antihistamin dan antimuskarinik yang signifikan serta digunakan sebagai obat sedatif. Di Amerika Serikat, difenhidramin dijual secara bebas dan diindikasikan untuk menghilangkan sementara gejala pilek,

bersin, gatal pada hidung atau tenggorokan, dan mata berair akibat alergi serbuk bunga atau alergi saluran pernapasan atas lainnya.⁵⁷⁰

2.8.1 Farmakodinamik

Obat Difenhidramin merupakan antihistamin dari kelas etanolamin. Difenhidramin berperan sebagai antagonis reseptor histamin H1 dan juga memiliki mekanisme aksi lainnya. Difenhidramin bersifat kompetitor terhadap histamin bebas dalam menempati reseptor histamin H1 terutama di saluran pencernaan, uterus, pembuluh darah besar dan otot bronkus.⁵⁷¹

Ikatan obat Difenhidramin dengan reseptor histamin H1 dapat mengurangi reaksi inflamasi, vasodilatasi, bronkokonstriksi dan edema. Obat antihistamin H1 saat berikatan dengan reseptor histamin dapat menurunkan faktor transkripsi respons imun NF- κ B melalui enzim fosfolipase C. Jalur sinyal fosfatidilinositol (PIP2) juga dapat mengurangi pengenalan antigen dan pengeluaran sitokin pro inflamasi serta faktor kemotaksis. Antihistamin juga dapat mengurangi pengeluaran histamine dengan cara menurunkan konsentrasi ion kalsium sehingga dapat menstabilkan sel *mast*.⁵⁷² Mengingat bahwa Difenhidramin adalah antihistamin generasi pertama seperti Difenhidramin dapat melewati sawar otak (*blood brain barrier*) dan dapat berikatan dengan reseptor histamin H1 di sistem saraf pusat, mengakibatkan kantuk, dan menekan pusat batuk di medula.^{466,573}

Difenhidramin yang merupakan turunan dari etanolamin juga memiliki efek antikolinergik yang lebih besar dibandingkan dengan golongan antihistamin lainnya. Efek antikolinergik ini biasanya digunakan pada orang dengan Parkinson dan orang yang mengkonsumsi obat antipsikosis dalam waktu lama karena berperan sebagai antidiskinesia untuk mengurangi gejala ekstrapiramidal. Selain itu, Obat

Difenhidramin juga dapat berikatan dengan reseptor asetilkolin muskarinik M2 sehingga menimbulkan efek antikolinergik pada sistem saraf pusat, hal ini dapat menjelaskan mengapa difenhidramin dapat bekerja sebagai antiemesis, walaupun cara kerjanya belum diketahui secara pasti.⁵⁷⁴

2.8.2 Farmakokinetik

Farmakokinetik Difenhidramin terdiri dari beberapa aspek, seperti aspek absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresinya. Farmakokinetik difenhidramin pada dewasa telah dilaporkan untuk dosis tunggal 25 dan 50 mg.⁵⁷⁵⁻⁵⁷⁷ Dosis intravena 50 mg, parameter farmakokinetik difenhidramin termasuk total clearance sistemik 6.16 mL/min/kg, distribusi volume terminal adalah 4.54 L/kg, dan waktu paruh terminal adalah 8.5 jam.⁵⁷⁶

Obat difenhidramin diabsorpsi dengan baik pada saluran pencernaan dengan waktu mencapai konsentrasi plasma puncak sekitar 1-4 jam. Difenhidramin terdistribusi secara luas ke seluruh bagian tubuh termasuk sistem saraf pusat. Obat ini berikatan dengan protein plasma (*plasma binding protein*) 98-99% dan dimetabolisme terutama di hati menjadi N-DesmetilDifenhidramin dan dipfenhidramine N-glukoronida.⁵⁷⁴ Difenhidramin diekskresi dalam bentuk metabolit melalui urin dan sebagian kecil bisa berbentuk obat utuh. Waktu paruh eliminasi dari tubuh membutuhkan waktu sekitar 2,4-9,3 jam.⁵⁷⁸

Dosis difenhidramin oral dalam 2 studi, difenhidramin mencapai konsentrasi maksimum pada 2.3 dan 2.2 jam, dan waktu paruh terminalnya masing-masing adalah 9.2 dan 9.8 jam. Dalam studi lain yang dilakukan pada orang dewasa setelah pemberian oral 1,25 mg / kg, hasil serupa diamati untuk parameter paparan

sistemik setelah menyesuaikan dosis, dengan konsentrasi maksimum terjadi pada 1,7 jam, dan waktu paruh terminal eksponensial 9,2 jam.⁵⁷⁹

2.8.3 Efek samping dan Interaksi obat

Efek samping dari pemberian obat difenhidramin dapat memberikan efek ringan hingga berat, seperti rasa kantuk dan gangguan saluran pencernaan. Efek samping tersering yang timbul oleh penggunaan difenhidramin adalah penurunan kesadaran, rasa kantuk, ketidakseimbangan saat berjalan, pusing, sakit kepala, dan konsentrasi terganggu. Efek samping lainnya yang mungkin timbul adalah gangguan kardiovaskular (dada terasa berat, palpitasi, ekstrasistol, hipotensi, takikardia), *wheezing*, ataksia, gangguan neurologis (parastesia, tremor, atau kejang), rasa kering pada mulut, hidung dan tenggorokan, menggigil, insomnia, gangguan saluran pencernaan, gangguan penglihatan dan pendengaran (pandangan kabur, diplopia, tinnitus), gangguan berkemih, dan kelainan hematologi (anemia hemolitik, trombositopenia, atau granulosis).⁵⁷⁸

Obat difenhidramin juga dapat memberikan efek kecanduan bila dikonsumsi bersamaan dengan obat penekan aktivitas sistem saraf pusat (SSP) seperti obat golongan hipnotis, sedasi, penenang dan antidepresan trisiklik (TCAs). Difenhidramin dapat memperpanjang efek kerja obat Monoamin Oksidase Inhibitor (MAOIs). Obat ini dapat meningkatkan efek obat antikolinergik seperti atropin. Obat difenhidramin tidak boleh dikonsumsi bersamaan dengan alkohol.⁵⁷⁸

2.8.4 Kontraindikasi

Obat difenhidramin dikontraindikasikan untuk penderita asma akut, glaukoma sudut sempit, *benign prostatic hyperplasia (BPH)*, ulkus peptikum,

obstruksi piloroduodenal, obstruksi saluran kencing dan porfiria. Pada pasien dengan *benign prostatic hyperplasia*, efek antikolinergik dari obat ini dapat menyebabkan retensi urin. Pada pasien dengan glaukoma sudut sempit, pemberian obat ini dapat memperparah kondisi tersebut. Penggunaan obat difenhidramin pada ibu menyusui dengan bayi neonatus dan prematur sebaiknya dihindari.⁵⁶⁷

2.8.5 Peran difenhidramin dalam cedera kepala

Cedera otak traumatik (TBI) dianggap sebagai beban utama di seluruh dunia. Dilaporkan memiliki morbiditas dan mortalitas yang tinggi bersama dengan biaya perawatan kesehatan yang lebih tinggi. TBI melibatkan serangkaian kejadian yang sangat beragam yang diklasifikasikan sebagai cedera primer dan sekunder, yang menyebabkan kerusakan sementara atau permanen pada otak. Perkembangan cedera primer TBI menjadi cedera sekunder adalah penentu utama untuk menilai prognosis TBI. Berbagai penelitian melaporkan bahwa stres oksidatif yang berlebihan, pembentukan radikal bebas, dan kondisi inflamasi, yang mendorong kerusakan saraf dan apoptosis diklasifikasikan sebagai alasan utama kerusakan permanen otak setelah berkembang menjadi cedera sekunder.⁵⁸⁰

Inflamasi adalah hasil dari rangkaian kejadian yang memicu respon terhadap adanya tipe agen-agen berbahaya yang berbeda pada organisme. Awalnya, inflamasi diketahui sebagai pertahanan yang timbul untuk mengisolasi dan menghancurkan agen berbahaya dan memperbaiki kerusakan-kerusakan yang ada. Tetapi akhirnya, diketahui bahwa inflamasi dapat menyebabkan kerusakan pada tubuh dan menyebabkan kematian karena kegagalan multiorgan. Pada sistem saraf, neuroinflamasi terlibat dalam pelepasan beberapa factor yang menyebabkan perubahan pada parenkim otak, rusaknya sawar darah otak, hipereksibilitas

neuronal dan kerusakan sel.⁵⁸¹ Oleh karena itu, jika tidak dikontrol atau ditangani secara dini, akibat dari cedera sekunder mengancam nyawa dan seringkali berakibat fatal. Dalam beberapa dekade terakhir, berbagai upaya yang berhasil telah dilakukan untuk mengontrol perkembangan cedera TBI, atau untuk membatasi efek merusaknya. Namun, tidak satupun dari metode ini yang terbukti efektif untuk mencegah atau membatasi kerusakan yang disebabkan oleh TBI karena etiologi multifaktorialnya.⁵⁸⁰

Komplikasi serius dari cedera kepala adalah edema, edema perifokal dapat menyebabkan cedera kepala sekunder dan edema menyeluruh yang dapat mengancam jiwa. Patogenesis dari edema pada cedera kepala bersifat kompleks dan termasuk destruksi dari pembuluh darah kecil, gangguan mikrosirkulasi dan cedera primer, perubahan permeabilitas dinding pembuluh darah menyebabkan kebocoran plasma ke jaringan, hal ini diduga akibat terlepasnya atau aktifnya substansi-substansi yang disebut dengan mediator kimia respon inflamasi. Substansi-substansi yang terlibat adalah amines, asam arachidonic, leukotrin, dan radikal bebas. Mediator inflamasi adalah molekul-molekul yang dihasilkan melalui aktivasi sel yang memperkuat dan memperpanjang respon inflamasi. Baru-baru ini, telah diduga bahwa histamine memegang peranan dalam perkembangan edema cerebri. Histamin merupakan mediator inflamasi yang poten dan sering dihubungkan dengan reaksi alergi, dilatasi vaskuler, dan perubahan jaringan, serta memiliki aktifitas kemotaksis yang tinggi. Masuknya histamin ke dalam arteri karotis interna menyebabkan edema, rusaknya sawar darah otak, dan vasodilatasi serebral.^{248,582,583} Difenhidramin adalah H1 generasi pertama yang bekerja dengan membatasi

pelepasan histamin. Difenhidramin juga dikenal untuk aktifitas antioksidan yang signifikan.⁵⁸⁰

Penelitian yang dilakukan Wenyong et al menemukan bahwa difenhidramin memiliki efek neuroprotektif pasca cedera otak traumatika. difenhidramin dapat menurunkan edema serebral dan mencegah terjadinya degenerasi neuronal dengan menurunkan level dari Bcl-2 dan meningkatkan level dari Bax. Selain itu dapat juga menurunkan inflamasi dan stress oksidatif.⁷

Secara umum antihistamin dapat berperan dalam memodulasi reaksi inflamasi dengan menurunkan level atau kadar dari sitokin-sitokin proinflamasi. Penelitian yang dilakukan oleh Bocsan et al,⁵⁸⁴ menemukan bahwa pemberian antihistamin H1 (levocetirizine) secara signifikan dapat menurunkan kadar atau level dari IL-6 dan TNF- α .⁵⁸⁴ Penelitian Sabine Küsters et al,⁵⁸⁵ menemukan bahwa azelastine memiliki peran sebagai anti-inflamasi dengan menurunkan pelepasan TNF- α dan menghambat LTC4.⁵⁸⁵

Histamin dapat berperan sebagai autokrin regulator dari pelepasan sitokin oleh sel mast.⁵⁸⁶ Penelitian yang membandingkan efek inhibitor rupatadine, loratadine, dan cetirizine terhadap pelepasan TNF- α pada kultur *human cell mast (HMC-1)* mendapatkan bahwa rupatadine dan loratadine dapat mencegah terjadinya pelepasan dari TNF- α , sedangkan loratadine dapat menghambat pelepasan TNF- α sebesar 57%. Disimpulkan bahwa antihistamine dapat menghambat pelepasan dari TNF- α dari *human mast cells* dan monosit.⁵⁸⁷