

DISERTASI

**PENGARUH PEMBERIAN MLC901 TERHADAP EKSPRESI MIR30C-5P,
KADAR TGF-B1 , KADAR VEGFR1, KADAR VEGF, DERAJAT
DEMYELINISASI AKSON DAN PERUBAHAN *BEHAVIOR*
NYERI NEUROPATIK PADA RAT SPRAGUE DAWLEY**

*EFFECT OF MLC901 ON MIR30C-5P EXPRESSION, TGF-B1 LEVEL,
VEGFR1 LEVEL, VEGF LEVEL, DEGREE OF AXON DEMYELINATION AND
CHANGES IN NEUROPATHIC PAIN BEHAVIOR IN RAT SPRAGUE DAWLEY*



BAMBANG PRIYANTO

C013181015

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASAR
2023**

DISERTASI

**PENGARUH PEMBERIAN MLC901 TERHADAP EKSPRESI MIR30C-5P,
KADAR TGF-B1 , KADAR VEGFR1, KADAR VEGF, DERAJAT
DEMYELINISASI AKSON DAN PERUBAHAN BEHAVIOR NYERI
NEUROPATIK PADA RAT SPRAGUE DAWLEY**

***EFFECT OF MLC901 ON MIR30C-5P EXPRESSION, TGF-B1 LEVEL,
VEGFR1 LEVEL, VEGF LEVEL, DEGREE OF AXON DEMYELINATION
AND CHANGES IN NEUROPATHIC PAIN BEHAVIOR IN RAT
SPRAGUE DAWLEY***

Disusun dan diajukan
Oleh

Bambang Priyanto
C013181015

*Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 2 Agustus 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

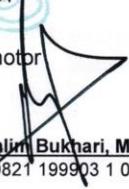
Menyetujui
Promotor,


Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS-FICS
Nip. 19551019 198203 1 001

Co. Promotor

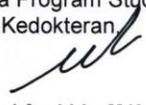
Co. Promotor


Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K)
Nip. 19570416 198503 1 001


dr. Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK(K)
Nip. 19700821 199903 1 001

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,


Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
Nip.19671103 199802 1 001


Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM Sp.GK
Nip.19680530 199603 2 001



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

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

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Bambang Priyanto
NIM : C013181015
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

PENGARUH PEMBERIAN MLC901 TERHADAP EKSPRESI MIR30C-5P, KADAR TGF-B1 , KADAR VEGFR1, KADAR VEGF, DERAJAT DEMYELINISASI AKSON DAN PERUBAHAN *BEHAVIOR* NYERI NEUROPATIK PADA RAT SPRAGUE DAWLEY

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

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

Makassar, 2 Agustus 2023

Yang menyatakan,

Bambang Priyanto

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya. Teriring Salam dan Sholawat kepada nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabat-sahabat beliau. Penulis berhasil menyelesaikan disertasi yang berjudul “Pengaruh pemberian MLC901 terhadap ekspresi miR30c-5p, kadar TGF- β 1, kadar VEGFR1, kadar VEGF, demyelinisasi akson dan *Behavior test* pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis” ini.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr.dr. Andi Asadul Islam, SpBS-FICS (K), sebagai promotor, yang dengan telaten membimbing, memberikan ide, memberi solusi dan mengarahkan penulis. Kepada Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D, Sp.MK(K) dan dr Agussalim Bukhari, M.Clin.Med, Ph.D, Sp.GK(K), sebagai co-promotor yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan kritik, saran dan perbaikan, serta memberikan dorongan secara terus-menerus kepada penulis ini dapat menyelesaikan disertasi ini.

Terimakasih sebesar-besarnya penulis ucapkan kepada tim penguji Dr. dr. Agus Turchan, SpBS(K), Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D., Sp.MK(K), Dr. dr. Sachraswaty Rachman Laiding, SpB, SpBP-RE(K), Dr. dr. Willy Adhimarta, SpBS(K), Dr. dr. Rizha Anshori Nasution, SpBS(K), Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS atas masukan, koreksi dan bimbingan yang telah diberikan sehingga disertasi ini menjadi lebih sempurna.

Ucapan terimakasih penulis haturkan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Studi Doktor yang telah memfasilitasi proses pendidikan hingga selesainya Pendidikan Doktor di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, serta kepada Rektor Universitas Mataram yang telah memberikan ijin belajar menempuh pendidikan Doktor dan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Mataram yang telah memfasilitasi penulis untuk dapat menempuh dan menyelesaikan pendidikan Doktor di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Kepada semua rekan-rekan dosen di Fakultas Kedokteran Universitas Mataram khususnya yang secara bersama-sama menempuh pendidikan Doktor di universitas Hasanuddin, terimakasih atas kebersamaan, dukungan dan pengertiannya.

Ucapan terimakasih yang tak terhingga semoga Allah memberikan balasan yang lebih baik kepada drh. Wahyu Setiawan Yuwana dan drh. Deshinta Putri Mbajeng Kinenda atas bantuan tenaga dan waktu menilai dan mengevaluasi 120 video penelitian, juga kepada Dr. dr Cahyono Kaelan, SpPA(K), Sp.S (K) yang telah membantu analisa pemeriksaan patologi anatomi sampel disertasi ini.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada orang tua Bapak Ir. Mohammad Affandi, MM, Ibu alm. Narima Hanim, Bapak Suwondo, Ibu Juz'ahillah, istri tercinta Dr. dr. Yusra Pintaningrum, Sp.JP(K), FIHA, FAPSCC, FAPSICC dan anak-anak Muhammad Syaafa Sayfullah, Muhammad Azalini Bara Iftikhar, serta Muhammad Azfar Ayman atas motivasi, dorongan, dan pengertiannya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan terhadap penulisan disertasi ini. Semoga kebaikan-kebaikan dari semua pihak diatas mendapat keberkahan dan dicatat sebagai amal ibadah oleh Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa disertasi ini masih jauh dari sempurna, namun berharap hasil disertasi ini dapat memberikan banyak manfaat baik untuk pasien, institusi, dan negara. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat penulis harapkan untuk dapat menyempurnakan disertasi ini.

Makassar, Agustus 2023

Bambang Priyanto

ABSTRAK

BAMBANG PRIYANTO. *Pengaruh Pemberian MLC901 terhadap Ekspresi miR30c-5p, Kadar Tgf- β 1, Ekspresi VEGFR1, Kadar VEGF Serum, Derajat Demyelinisasi Akson dan Perubahan Behavior Nyeri Neuropatik pada Rat Sprague Dawley* (dibimbing oleh Andi Asadul Islam, Mochammad Hatta, dan Agussalim Bukhari).

Penelitian ini bertujuan memahami dan membuktikan pengaruh pemberian MLC901 terhadap ekspresi miR30c-5p, kadar TGF- β 1, ekspresi VEGFR1, kadar VEGF, demyelinisasi akson dan *behavior test* pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis. Jenis penelitian yang dipakai adalah studi eksperimental (*true experimental*) dengan menggunakan rancangan percobaan acak lengkap. Setiap unit percobaan mempunyai peluang yang sama besar untuk menerima perlakuan. Rancangan penelitian yang dipakai adalah *pre test-post test control group design*, dengan populasi hewan coba sebagai kelompok penelitian diasumsikan sama. Unit eksperimen yang diambil adalah tikus *Sprague-Dawley* berjenis kelamin jantan dewasa berusia tiga bulan ke atas dan ditimbang berat badannya, dipilih sehomogen mungkin dan diberi nomor urut. Hewan coba dipelihara dengan pemeliharaan standar dan pemberian pakan dasar selama tujuh hari untuk adaptasi. Dilakukan pemeriksaan awal serum hewan coba yang meliputi ekspresi miR30c-5p, kadar TGF- β 1, ekspresi VEGF receptor1, kadar VEGF, dan *behavior tes*. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa MLC901 dapat mengurangi nyeri neuropatik pada hewan coba dengan menurunkan ekspresi miR30c-5p dan meningkatkan kadar TGF β 1 yang mempunyai efek menurunkan hipersensitifitas terhadap rangsang panas. Pemberian MLC901 terbukti menurunkan hipersensitifitas hewan coba yang mengalami nyeri neuropatik. Untuk pertama kalinya, hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian MLC 901 dapat menurunkan ekspresi miR30c-5p dan meningkatkan kadar TGF β 1.

Kata kunci: MLC901, ekspresi miR30c-5p, kadar Tgf- β 1, ekspresi VEGFR1, kadar VEGF serum, derajat demyelinisasi akson, nyeri neuropatik



ABSTRACT

BAMBANG PRIYANTO. *The Effect of MLC901 Administration on miR30c-5p Expression, Tgf- 81 Level, VEGFR1 Expression, Serum VEGF Level, Degree of Axonal Demyelination, and Changes in Neuropathic Pain Behavior in Sprague Dawley Rats* (supervised by Andi Asadul Islam, Mochammad Hatta, and Agussalim Bukhari)

The aim of this study is to find out and prove the effect of MLC901 administration on miR30c-5p expression, TGF-B1 level, VEGFR1 expression, VEGF level, axon demyelination, and behavior tests in animal models of neuropathic pain with circumferential lumbar stenosis. The type of research was an experimental study (true experimental) using a completely randomized trial design where each experimental unit had the same opportunity to receive treatment. The research design used was a pre-test-post-test control group design, with the experimental animal population as the study group assumed to be the same. The experimental unit taken was adult male Sprague-Dawley rats aged three months and over and weighed, selected as homogeneous as possible, and given serial numbers. Experimental animals were maintained with standard maintenance and basic feeding for seven days for adaptation. Initial examination of the serum of experimental animals included miR30c-5p expression, TGF-B1 level, VEGF receptor1 expression, VEGF level, and test behavior. This study results proves that MLC901 can reduce neuropathic pain in experimental animals by reducing miR30c-5p expression and increasing TGFB1 level which have the effect of reducing hypersensitivity to heat stimuli. The administration of MLC901 has been shown to reduce the hypersensitivity of experimental animals experiencing neuropathic pain. For the first time, the results of this study prove that administration of MLC 901 can reduce miR30c-5p expression and increase TGFB1 levels.

Keywords: MLC901, miR30c-5p expression, Tgf-B1 level, VEGFR1 expression, serum VEGF level, degree of axonal demyelination, neuropathic pain



DAFTAR ISI

| | |
|---|--------|
| HALAMAN PENGESAHAN | I |
| SURAT PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI | ii |
| KATA PENGANTAR | III |
| ABSTRAK | vi |
| ABSTRACT | vii |
| DAFTAR ISI..... | VIXI |
| DAFTAR GAMBAR..... | XIXIII |
| DAFTAR TABEL..... | XIIIx |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | XV |
| DAFTAR SINGKATAN | XVI |
| BAB 1 | 1 |
| Pendahuluan..... | 1 |
| 1.2. Latar Belakang Masalah | 1 |
| 1.3. Rumusan Masalah..... | 5 |
| 1.4. Tujuan Penelitian | 5 |
| 1.4.1 Tujuan Umum : | 5 |
| 1.4.2 Tujuan Khusus:..... | 6 |
| 1.5. Manfaat Penelitian | 7 |
| 1.5.1 Manfaat Keilmuan : | 7 |
| 1.5.2 Manfaat Klinis | 7 |
| 1.5.3 Manfaat Masyarakat : | 7 |
| Bab 2..... | 8 |
| Tinjauan Pustaka..... | 8 |
| 2.1 Definisi Dan Insiden Nyeri | 8 |
| 2.2 Mekanisme Nyeri..... | 9 |
| 2.3 Sistem Imun | 14 |
| 2.4 Nyeri Neuropatik | 17 |

| | | |
|--|---|----|
| 2.4.1 | Mekanisme Perifer | 19 |
| 2.4.2 | Mekanisme Sentral..... | 23 |
| 2.4.3 | miR30c-5p..... | 25 |
| 2.4.4 | TGFβ..... | 28 |
| 2.4.5 | VEGF | 32 |
| 2.5 | Stenosis Spinal Lumbal (SSL)..... | 38 |
| 2.5.1 | Klasifikasi Stenosis Spinal Lumbal (SSL)..... | 40 |
| 2.5.2 | Patofisiologi Nyeri Neuropatik Pada Stenosis Spinal Lumbal .. | 44 |
| 2.5.3 | Gejala Klinis Dan Diagnosis..... | 45 |
| 2.5.4 | Penanganan | 48 |
| 2.6 | MLC901 | 50 |
| 2.7 | Gangguan Saraf Perifer Dan Model Lesi Hewan Coba..... | 55 |
| 2.7.1 | Penyebab Gangguan Saraf Perifer | 55 |
| 2.7.2 | Klasifikasi Lesi Saraf Perifer | 56 |
| 2.7.3 | Model Lesi Saraf Perifer..... | 57 |
| 2.8 | Alat Pengukur Respon <i>Behavior</i> Hewan Coba..... | 65 |
| Bab 3 | | 68 |
| Kerangka Konseptual Dan Hipotesis Penelitian | | 68 |
| 3.1 | Kerangka Teori | 68 |
| 3.2 | Kerangka Konseptual..... | 72 |
| 3.3 | Hipotesis Penelitian | 72 |
| Bab 4 | | 73 |
| Metode Penelitian | | 73 |
| 4.1 | Jenis Penelitian..... | 73 |
| 4.2 | Unit Eksperimen, Replikasi Dan Randomisasi..... | 73 |
| 4.2.1 | Unit Eksperimen | 74 |
| 4.2.2 | Replikasi Sampel | 74 |
| 4.2.3 | Randomisasi..... | 74 |
| 4.3 | Variabel Penelitian..... | 75 |
| 4.3.1 | Klasifikasi Variabel | 75 |

| | | |
|----------------------|---|-------------------------------------|
| 4.3.2 | Definisi Operasional | 75 |
| 4.4 | Tempat Dan Waktu Penelitian | 77 |
| 4.4.1 | Tempat Penelitian | 77 |
| 4.4.2 | Waktu | 77 |
| 4.5 | Prosedur Penelitian | 77 |
| 4.6 | Metode Pemeriksaan Dan Pewarnaan..... | 79 |
| 4.6.1 | Teknik Pemrosesan Jaringan..... | 79 |
| 4.6.2 | Teknik Pewarnaan..... | 80 |
| 4.7 | Prosedur Pemeriksaan Ekspresi Gen | 80 |
| 4.7.1 | Ekstraksi Nucleic Acid | 80 |
| 4.7.2 | Cara Kerja Pengukuran Ekspresi et al 30c-5p Darah Rat..... | 81 |
| 4.8 | Pemeriksaan Elisa | 83 |
| 4.9 | Analisis Statistik | 84 |
| Bab 5 | | 85 |
| Hasil Dan Pembahasan | | 85 |
| 5.1 | Penelitian Pendahuluan Uji Alat..... | 85 |
| 5.2 | Karakteristik Subyek Penelitian..... | 88 |
| 5.3 | Pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap <i>Behavior</i> Hewan Coba | 93 |
| 5.4 | Pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap Ekspresi miR30c-5p..... | 95 |
| 5.5 | Pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap Kadar TGF β 1 | 97 |
| 5.6 | Pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap Kadar VEGF | 100 |
| 5.7 | Pengaruh Pemberian MLC901 Terhadap Kadar VEGFR1..... | 103 |
| 5.8 | Pemeriksaan Patologi Anatomi Derajat Demielinisasi Akson..... | 105 |
| Bab 6 | | 109 |
| Kesimpulan Dan Saran | | 109 |
| 6.1 | Kesimpulan | 109 |
| 6.2 | Saran | ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED. |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Skema <i>Gate Control Theory</i> dari Melzack | 11 |
| Gambar 2.2 Jalur transmisi nyeri | 13 |
| Gambar 2.3 Patogenesis nyeri neuropatik melalui regulasi gen pada ganglion akar dorsalis dan neuroinflamasi korda spinalis | 22 |
| Gambar 2.4 Ringkasan mekanisme kerja et al menimbulkan nyeri neuropatik pada cedera saraf perifer | 27 |
| Gambar 2.5 Berbagai peranan TGF- β pada cedera saraf perifer | 30 |
| Gambar 2.6 Skematik keluarga VEGF dan reseptor VEGFR, NRP | 33 |
| Gambar 2.7 Berbagai peranan VEGF pada berbagai jenis sel saraf yang tidak sehat | 34 |
| Gambar 2.8 Peranan VEGF pada neuropati diabetik | 36 |
| Gambar 2.9. Skema berbagai lokasi pada spinal stenosis | 41 |
| Gambar 2.10 Patofisiologi nyeri neuropatik pada SSL | 45 |
| Gambar 2.11 Model nyeri neuropatik saraf perifer pada hewan coba | 59 |
| Gambar 2.12 Gambar skematis model nyeri neuropatik kompresi <i>cauda equina</i> | 64 |

| | |
|---|-----|
| Gambar 5.1 Alat uji respon behavior hewan coba..... | 90 |
| Gambar 5.2 Grafik hasil pengukuran ekspresi miR30c, kadar TGFβ1, kadar VEGF dan kadar VEGFR1 kelompok Plasebo | 90 |
| Gambar 5.3 Grafik hasil pengukuran ekspresi miR30c, kadar TGFβ1 , kadar VEGF dan kadar VEGFR1 kelompok Obat..... | 91 |
| Gambar 5.4 pemeriksaan histoPA menggunakan pengecatan Luxol Fast Blue | 105 |
| Gambar 5.5 pemeriksaan histoPA kelompok plasebo, normal dan obat | 106 |
| Gambar 5.6 pemeriksaan histoPA kelompok plasebo hari 8 dan hari 14 | 106 |
| Gambar 5.7 pemeriksaan histoPA kelompok obat hari 8 dan hari 14 | 106 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2.1. Ringkasan miRNA yang berperan pada model nyeri neuropatik saraf perifer pada hewan coba | 27 |
| Tabel 2.2 Klasifikasi tingkat keparahan stenosis berdasarkan morfologi kantung dural pada MRI | 43 |
| Tabel 2.3 Kandungan bahan herbal dan bahan aktif serta efek dari MLC901 | 54 |
| Tabel 2.4 Ringkasan model nyeri neuropatik saraf perifer pada hewan coba | 65 |
| Tabel 5.1. Data berat badan tikus Sprague Dawley | 85 |
| Tabel 5.2. Karakteristik subyek penelitian dan hasil pengukuran suhu..... | 88 |
| Tabel 5.3. Uji normalitas data hasil pengukuran ekspresi miR30c, kadar TGF β 1, kadar VEGF dan kadar VEGFR1 hari 0 dan hari 2 | 91 |
| Tabel 5.4. Uji normalitas data hasil pengukuran ekspresi miR30c, kadar TGF β 1, kadar VEGF dan kadar VEGFR1 hari 7 dan hari 8 | 92 |
| Tabel 5.5. Uji normalitas data hasil pengukuran ekspresi miR30c, kadar TGF β 1, kadar VEGF dan kadar VEGFR1 hari 14 | 92 |
| Tabel 5.6 Rerata suhu perilaku primer pertama (T1)..... | 93 |
| Tabel 5.7. Uji independent samp;e test T1 | 94 |
| Tabel 5.8. Rerata ekspresi miR30c-5p..... | 96 |
| Tabel 5.9. . Mann-Whitney test ekspresi miR30c-5p | 96 |

| | |
|---|-----|
| Tabel 5.10. Nilai rerata kadar TGF β 1 | 98 |
| Tabel 5.11. Mann-Whitney test kadar TGF β 1 | 99 |
| Tabel 5.12. Nilai rerata kadar VEGF | 99 |
| Tabel 5.13 Mann-Whitney test kadar VEGF | 102 |
| Tabel 5.14. Nilai rerata kadar VEGFR1 | 104 |
| Tabel 5.15 Mann-Whitney test kadar VEGFR1 | 104 |
| Tabel 5.16. Uji Korelasi | 105 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|-----|
| Lampiran 1 Surat rekomendasi persetujuan etik dari komisi etik penelitian..... | 124 |
| Lampiran 2 Lembar pernyataan penilaian | 125 |
| Lampiran 3 Foto Kegiatan penelitian | 126 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|---------------|--|
| Ang1/Ang2 | : Angiopoietins1/2 |
| AMPA | : α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid |
| AST | : Astragaloside IV |
| BB | : Berat Badan |
| BBB | : Blood-Brain Barrier |
| Bcl-2 | : B-cell Lymphoma 2 |
| BSCB | : Blood Spinal Cord Barrier |
| BDNF | : Brain Derived Neurotrophic Factor |
| CGRP | : Calcitonin Gene-Related Protein |
| CCK | : Cholecystokinin |
| CCL-2 | : C-C motif chemokine ligand 2 |
| COX-2 | : Cyclooxygenase-2 |
| CSF-1 | : Colony Stimulating Factor |
| CT Scan | : Computed Tomography Scanning |
| EAA | : Excitatory Amino Acid |
| ECAM | : Endothelial Cell Adhesion Molecule |
| EPO | : Erythropoietin |
| EPSC | : Excitatory Post Synaptic Currents |
| GDNF | : Glial cell line-Derived Neurotrophic Factor |
| Hif1 α | : Hypoxic inducible factor 1 α |
| IASP | : International Association for the Study of Pain |

| | |
|----------------|--|
| IFN- γ | : Interferon γ |
| IPSC | : Inhibitory Post Synaptic Currents |
| JNK | : JUN amino-terminal kinase |
| LANSS | : Leads Assessment of Neuropathic Symptoms <i>and</i> Signs |
| MBD1 | : Methyl-CpG-binding domain protein 1 |
| MCP1 | : Monocyte chemoattractant protein-1 |
| MMPs | : Matrix metalloproteinases |
| MRI | : Magnetic Resonance Imaging |
| NGF | : Nerve Growth Factor |
| NMDA | : N-methyl-D-aspartate |
| NO | : Nitric Oxide |
| NRP | : Neuropilin |
| NSC | : Neural Stem Cell |
| OAINS | : Obat Anti Inflamasi Non Steroid |
| ORL1 | : Opioid receptor like1 |
| PGC 1 α | : Proliferator activated receptor Gamma coactivator 1 α |
| PGE2 | : Prostaglandine E2 |
| PIGF | : Placental Growth Factor |
| PPT | : Pin Prick threshold |
| RAGs | : Regeneration-Associated Genes |
| RCT | : Randomized Clinical Trial |
| ROS | : Reactive Oxygen Species |
| SP | : Substance P |

| | |
|--------------|---|
| SSEP | : Somato Sensory Evoked Potential |
| SS | : Somatostatin |
| SSL | : Stenosis Spinal Lumbal |
| TGF- β | : Transforming Growth Factor- β |
| TIMP-1 | : Tissue Inhibitor of Metallo Proteinase |
| TLR | : Toll-like Receptors |
| TMP | : Tetramethylpyrazine |
| TNF | : Tumor Necrosis Factor |
| VEGF | : Vascular Endothelial Growth Factor |
| VEGFR | : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor |
| VIP | : Vasoactive Intestinal Peptide |

BAB I

PENDAHULUAN

1.2. Latar Belakang Masalah

Nyeri neuropatik merupakan masalah besar sampai saat ini karena teori tentang patogenesisnya yang belum diketahui secara pasti sehingga menyebabkan kesulitan dalam penanganannya. Belum ada pengobatan yang efektif pada nyeri neuropatik dan biasanya menggunakan multimodal terapi dan waktu yang lama sehingga menimbulkan masalah kesehatan yang besar. Secara epidemiologi diperkirakan prevalensi dari nyeri neuropatik berkisar antara 6,9-10% jumlahnya meningkat seiring dengan pertambahan populasi usia tua, ditemukan lebih banyak pada wanita, usia diatas 50 tahun dan umumnya disebabkan radikulopati lumbal dan servikal.(Colloca *et al.*, 2017; Tramullas *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2020)

Nyeri neuropatik menyebabkan terganggunya perekonomian karena memerlukan biaya tinggi dan menyebabkan produktifitas menurun. Penderita mengeluhkan nyeri yang hebat, gangguan tidur, penurunan kualitas hidup, kecemasan dan depresi. Biaya yang dihabiskan setiap pasien untuk pengobatan nyeri neuropatik di Eropa berkisar antara 9 ribu euro (Spanyol) sampai 14 ribu euro (Jerman) (Song *et al.*, 2020)

Penanganan nyeri neuropatik biasanya didasarkan pada gejala yang muncul dan bukan berdasarkan penyebab, karena meskipun penyebabnya diobati namun gejala nyeri neuropatik masih tetap ada seperti pada neuropati diabetes. Beberapa obat yang sering digunakan dibagi menjadi obat lini pertama, lini kedua dan lini ketiga. Obat pada lini pertama merupakan golongan antidepresan seperti amitriptyline dan duloxetine, selain itu

ada obat antiepileptik seperti pregabalin dan gabapentin. Pemberian kombinasi kedua obat tersebut lebih efektif dibandingkan hanya satu obat. Capsaicin yang menyebabkan desensitisasi pada gerbang ion termasuk golongan obat lini kedua. Tramadol suatu opioid agonis dan lidokain juga termasuk dalam obat lini kedua. Toxin botulinum, oxycodone dan morfin masuk dalam golongan obat lini ketiga. Antiepileptik yang baru seperti topiramate, oxcarbazepine, carbamazepine dan levetiracetam masuk juga ke dalam obat lini ketiga. Beberapa obat baru masih dalam pengembangan seperti obat *selective sodium channel blocker*, EMA401 suatu angiotensin II antagonis. Penanganan intervensi seperti blok saraf, modulasi struktur saraf (*microvascular decompression*) juga dilakukan sebagai alternatif penanganan nyeri neuropatik. Meskipun demikian sampai saat ini belum ada satupun jenis penanganan yang efektif pada nyeri neuropatik.(Colloca *et al.*, 2017)

Penelitian nyeri neuropatik pada tikus menemukan bahwa miRNA-30c-5p mempunyai potensi sebagai penyebab sekaligus target terapi. Ekspresi miRNA-30c-5p diketahui meningkat pada pasien dengan nyeri neuropati diabetik. Penelitian pada tumor hepatoseluler dan glioblastoma multiforme didapatkan bahwa miRNA-30c merupakan *inhibitor* yang menghambat progresifitas tumor. (Tramullas *et al.*, 2018; Liu, Li and Zhuang, 2019; Hu *et al.*, 2021) Mekanisme imun juga diketahui berperan dalam patogenesis nyeri neuropatik, melalui proses keseimbangan sitokin proinflamasi dan antiinflamasi. Salah satu sitokin anti-inflamasi selain *Interleukin-10* (IL-10) adalah *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β) yang bersifat immunosupresif. Pada cedera saraf perifer TGF-β dapat menghambat perkembangan nyeri maupun mengurangi nyeri yang sudah ada melalui mekanisme penurunan aktivasi mikroglia dan astrosit, menurunkan

ekspresi *C-C motif chemokine ligand 2* (CCL-2), menghambat infiltrasi sel imun ke dalam korda spinalis dengan meningkatkan integritas *Blood Spinal Cord Barrier* (BSCB). Diduga peranan TGF- β tersebut melibatkan sistem opioid endogen. (Austin and Moalem-Taylor, 2011; Tramullas *et al.*, 2018)

Stenosis spinalis adalah penyempitan kanal spinalis disertai gangguan pada saraf dan struktur sekelilingnya meliputi tulang dan jaringan lunak yang diakibatkan oleh faktor kongenital maupun proses degeneratif. Stenosis Spinal Lumbal (SSL) adalah penyempitan kanal spinalis pada segmen vertebra lumbal, sering dijumpai pada usia lanjut dengan perkiraan prevalensi pada orang dewasa di Amerika mencapai lebih dari 200.000 orang dewasa di Amerika, dengan penyebab tersering adalah proses degeneratif pada diskus, ligamentum flavum dan sendi faset. Gejala klinisnya bervariasi tetapi muncul sebagai akibat dari mekanisme neurovaskular, eksitasi akar saraf, atau kompresi mekanis kanal spinalis. Mekanisme ini dapat berjalan bersamaan dan merupakan penyebab umum nyeri neuropatik (Siebert *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2015; Song *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2017) Karakteristik patologis penyempitan kanal spinalis adalah penyempitan pada diameter anteroposterior dan lateral atau sirkumferensial spinal stenosis. Penelitian hewan coba yang menyerupai spinal stenosis biasanya memberikan satu arah penekanan saja dan penelitian yang melakukan sirkumferensial spinal stenosis masih jarang dilakukan. Model sirkumferensial spinal stenosis dapat menyebabkan kelainan motorik, kelainan elektrofisiologi serabut saraf dan demielinisasi yang merupakan bagian dari gejala nyeri neuropatik. (Cheung, Hu and Cheung, 2019)

Penyempitan kanal spinalis menyerupai kondisi iskemia dapat meningkatkan ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) pada ganglion akar dorsalis dan

kemudian mengakibatkan pemendekan jarak jalan (*Claudicatio Intermitten*). Efek VEGF diduga melalui ikatan dengan *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor1* (VEGFR1) dan *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor2* (VEGFR2), kadar VEGF meningkat pada kondisi hiperalgesia dan nyeri neuropatik. Pemberian antibodi antiVEGF menyebabkan hambatan angiogenesis patologis dan menimbulkan analgesia. (Watanabe *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2010)

MLC901 merupakan formula pengobatan tradisional yang disederhanakan dari MLC601, mengandung 9 jenis herbal dan banyak digunakan di Cina, mulai digunakan di Eropa, menunjukkan efektifitas yang sama dengan MLC601 pada penelitian preklinis selular dan stroke pada model hewan. MLC901 memberikan pengaruh pada sistem saraf melalui tiga mekanisme utama yaitu neuroproteksi, neuroregenerasi dan neurorestorasi. Peningkatan kadar MLC901 mendorong angiogenesis dengan memodulasi ekspresi faktor terkait angiogenesis seperti *Hypoxic inducible factor 1 α* (Hif1 α), *Erythropoietin* (EPO), VEGF dan *Angiopoietins1/2* (Ang1/Ang2). Faktor tersebut diketahui tidak hanya memediasi proliferasi sel endotel, tetapi juga mengatur diferensiasi, regresi, dan permeabilitas vaskular. Ini merupakan salah satu mekanisme neuroregenerasi setelah pemberian MLC901 (Chen *et al.*, 2013; Gandin *et al.*, 2016)

Masih jaranganya penelitian hewan coba yang menggunakan model nyeri neuropatik sirkumferensial spinal stenosis dan belum adanya penelitian tentang pengaruh MLC901 pada spinal stenosis dan nyeri neuropatik menjadi perhatian penulis melakukan penelitian untuk mengetahui **Pengaruh pemberian MLC901 terhadap ekspresi miR30c-5p, kadar TGF- β 1, kadar VEGFR1, kadar VEGF, derajat demyelinisasi akson dan perubahan *behavior* nyeri neuropatik pada hewan coba yang mengalami**

nyeri neuropatik dengan metode sirkumferensial spinal stenosis. Diharapkan dengan mengetahui pengaruh pemberian MLC901 dapat menjadi alternatif penanganan nyeri neuropatik pada kondisi stenosis kanal spinalis.

1.3. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apakah pemberian MLC901 mempengaruhi ekspresi miR30c-5p pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis?
2. Apakah pemberian MLC901 mempengaruhi kadar TGF- β 1 pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis?
3. Apakah pemberian MLC901 mempengaruhi kadar VEGFR1 dan kadar VEGF pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis?
4. Apakah pemberian MLC901 mempengaruhi demyelinisasi akson dan *behavior test* pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis?

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan umum :

Untuk memahami dan membuktikan pengaruh pemberian MLC901 terhadap ekspresi miR30c-5p, kadar TGF- β 1, kadar VEGFR1, kadar VEGF, demyelinisasi akson dan *behavior test* pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis.

1.4.2 Tujuan khusus:

1. Untuk mengetahui model nyeri neuropatik pada hewan coba dengan model sirkumferensial spinal stenosis
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian MLC901 terhadap ekspresi miR30c-5p pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis
3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian MLC901 terhadap kadar TGF- β 1 pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis
4. Untuk mengetahui pengaruh pemberian MLC901 terhadap kadar VEGFR1 pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis
5. Untuk mengetahui pengaruh pemberian MLC901 terhadap kadar VEGF pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis
6. Untuk mengetahui pengaruh pemberian MLC901 terhadap demyelinisasi akson pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis
7. Untuk mengetahui pengaruh pemberian MLC901 terhadap *behavior test* pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat keilmuan :

1. Untuk memberikan pemahaman peranan MLC901 terhadap ekspresi miR30c-5p, kadar TGF- β 1, kadari VEGFR1, kadar VEGF, demyelinisasi akson dan *behavior test* pada hewan coba model nyeri neuropatik dengan sirkumferensial lumbar stenosis.
2. Sumbangan ilmu dan acuan ilmiah bagi penelitian berikutnya terkait model nyeri neuropatik sirkumferensial spinal stenosis dan peranan MLC901.

1.5.2 Manfaat Klinis

1. Sebagai alternatif pengobatan pada kasus stenosis kanal spinalis.
2. Mengurangi angka kesakitan akibat nyeri neuropatik.

1.5.3 Manfaat Masyarakat :

Sebagai acuan dalam pengelolaan kesehatan yang dapat meringankan beban kesakitan akibat nyeri neuropatik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi dan Insiden Nyeri

International Association for the Study of Pain (IASP) mendefinisikan nyeri sebagai suatu sensori yang tidak menyenangkan, atau pengalaman emosional berkaitan dengan kerusakan jaringan aktual atau potensial, atau dijelaskan dengan istilah kerusakan. Kerusakan ini menggambarkan adanya sesuatu yang tidak normal di dalam tubuh dan hal ini merupakan peringatan yang alami (Mehjabeen Fatimah, Rahida Hilal, S.S.Alam, Junaid Nazir Dandroo, 2016)

Nyeri neuropatik didefinisikan sebagai nyeri yang dimulai atau disebabkan oleh lesi primer atau disfungsi sistem saraf dan bisa timbul sebagai akibat dari lesi atau penyakit yang mempengaruhi sistem somatosensorik. Terjadi perubahan molekuler diantaranya adalah munculnya gen *c-fos* pada korda spinalis sebagai respon terhadap stimulus perifer. *C-fos* adalah suatu protoonkogen yang terlibat dalam pengaturan perubahan struktural dan fungsional sel dimana gen ini terinduksi. (Park *et al.*, 2015)

Nyeri neuropatik merupakan nyeri kronis yang berhubungan dengan beberapa kejadian seperti kerusakan saraf dan penekanan mekanik sel saraf. Nyeri neuropatik juga ditemukan pada beberapa penyakit yang mempengaruhi fungsi saraf tepi seperti diabetes dan keganasan. Gangguan spinal seperti radikulopati akibat herniasi diskus, *spinal stenosis*, atau *spinal cord injury* merupakan penyebab umum nyeri neuropatik. (Kondo *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2017)

Nyeri yang tidak terkontrol merupakan masalah epidemik. Sekitar empat puluh lima persen orang Amerika Serikat mencari pengobatan untuk nyeri kronis pada saat tertentu dalam hidupnya, dan sekitar sepertiga populasi dunia menderita nyeri berulang atau nyeri kronis. Total biaya untuk penanganan nyeri di Amerika Serikat mencapai lebih dari seratus miliar dolar. Review sistematis studi epidemiologi memperkirakan prevalensi nyeri neuropatik sekitar 6,9-10%. Prevalensi nyeri neuropatik sentral dan perifer makin meningkat karena bertambahnya jumlah populasi usia tua (Desmoulin, Yasin *and* Chen, 2007; Song *et al.*, 2020)

Penelitian di negara-negara maju menunjukkan bahwa hampir tujuh puluh persen mereka yang mempunyai masalah kesehatan selalu diikuti dengan gejala nyeri dan dua puluh lima persen akan berkembang menjadi nyeri kronis. Ini merupakan masalah yang kompleks karena pemerintah akan terbebani biaya perawatan yang tidak sedikit dan akan terjadi penurunan produktifitas masyarakat. (von Kroff, Dworkin, Le Resche, 1990; Bowsher, 1991) Untuk mengatasi itu, sejak tahun 2001 di Amerika Serikat telah dicanangkan program “*Decade of Pain Control and Research*” yang bertujuan untuk mendapatkan strategi pengobatan nyeri secara aman, efektif dan efisien. (Harden, 2005) .

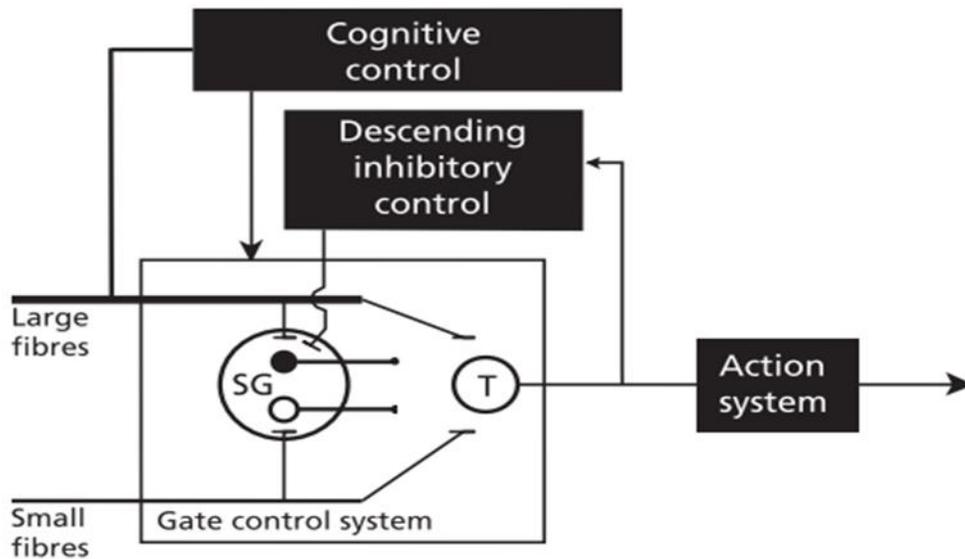
2.2 Mekanisme nyeri

Ada berbagai teori tentang mekanisme nyeri. Pada tahun 1644 Descartes menjelaskan tentang teori spesifisitas, yang menerangkan bahwa sistem nyeri merupakan suatu saluran langsung dari kulit menuju otak. Tiap stimulus mempunyai reseptor yang spesifik di bagian otak tertentu. Lokasi yang spesifik menentukan kualitas dari nyeri,

yang kemudian diproses di otak sehingga memunculkan banyak tipe reseptor khusus. (Rowbotham dan Macintyre, 2003)

Teori Pola (*Pattern Theory*) menerangkan bahwa pola dari informasi sensoris tergantung dari sensasi yang berbeda-beda. Teori ini gagal dibuktikan karena terdapat berbagai tipe reseptor yang ditemukan kemudian hari. Teori lainnya adalah, Teori Interaksi Sensori, yang didasarkan pada fakta bahwa intensitas dari stimulus dan efek sumasi di sentral menentukan respon terhadap nyeri. Teori ini juga menyatakan bahwa nyeri tidak berdiri sendiri, tetapi merupakan gabungan dari berbagai stimulasi sensorik seperti sentuhan, cahaya, suara, dan lain lain. (Rowbotham, 2003)

Teori yang umum digunakan saat ini diajukan oleh Melzack dan Wall pada tahun 1965, yaitu "*Gate Control*". Teori ini mengatakan bahwa mekanisme neural pada kornu dorsalis korda spinalis bersifat sebagai gerbang, yang bisa meningkatkan atau mengurangi aliran impuls dari perifer menuju ke pusat sistem saraf. *Input* dari serabut saraf sensoris dapat diatur oleh gerbang sebelum menimbulkan persepsi nyeri dan respon terhadap nyeri tersebut. Aktifitas dari serabut $A\beta$ yang berdiameter besar bersifat *inhibitor* dan serabut $A\delta$ dan C yang berdiameter kecil bersifat eksitator. Aktifitas dua jenis serabut tersebut dan adanya *inhibitor descendens* dan kontrol *cognitive* mempengaruhi gerbang untuk meningkatkan atau menurunkan transmisi sensorik (Kaye AH, 2005)



Gambar 2.1 Skema *Gate Control Theory* dari Melzack (Kaye AH, 2005)

Secara alamiah rasa nyeri baik yang bersifat akut maupun kronis merupakan konsekuensi dari kerusakan jaringan. Intensitas rasa nyeri sangat tergantung pada tingkat kerusakan jaringan, jenis jaringan yang rusak dan pengalaman emosional. (Garry, Jones and Fleetwood-Walker, 2004; Sneddon, 2004)

Rangsangan panas, kimia atau fisik yang mengenai permukaan tubuh akan mengaktifkan reseptor nyeri. Informasi ini diteruskan ke permukaan kornu dorsalis korda spinalis melalui serabut saraf aferen primer $A\delta$ dan C. Saraf pada kornu dorsalis korda spinalis selanjutnya menyampaikan informasi ini ke otak terutama batang otak, otak tengah (*midbrain*) dan talamus melalui jalur *ascending* untuk memberikan persepsi dan respon dari rangsangan tersebut. (Clarke and Harris, 2004; Djouhri and Lawson, 2004; Garry, Jones and Fleetwood-Walker, 2004; Morris *et al.*, 2004)

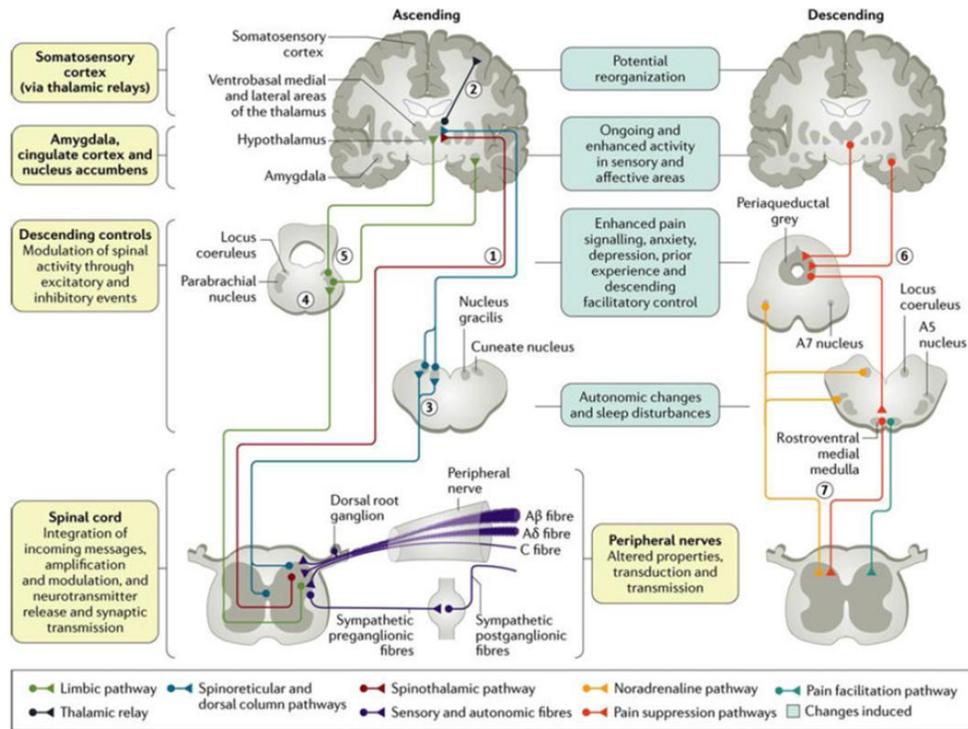
Pada kondisi normal, stimulus menyakitkan (*noxious*) merangsang serabut aferen nosiseptif yang kemudian diubah menjadi potensial aksi dan menyandakan lokasi,

intensitas, kualitas dan durasi stimulus tersebut. Informasi ini kemudian ditransmisikan menuju *central* dan diproses di korda spinalis dan otak menimbulkan refleksi menjauhi stimulus dan persepsi terhadap nyeri. Semakin tinggi intensitas stimulus makin tinggi sensasi nyeri yang dihasilkan. (Dickenson, 1997)

Rangsang nyeri dibawa dari nosiseptor melalui serabut saraf perifer menuju kornu dorsalis korda spinalis, yang selanjutnya naik melalui beberapa jalur. Jalur *ascenden* spinotalamikus di proyeksi ke korteks serebri melalui area ventrobasal medial dan lateral, selanjutnya korteks akan mempersepsikan lokasi dan intensitas nyeri. (Colloca *et al.*, 2017)

Jalur *ascenden* berikutnya melalui spinoretikular dan kornu dorsalis menuju nukleus kuneatus dan nukleus gracilis. Kondisi cemas dan takut serta fungsi otonom naik mempengaruhi nyeri yang ditransmisikan menuju sistem limbik melewati hipotalamus dan amygdala. (Colloca *et al.*, 2017)

Jalur *descenden* eferen dari amygdala dan hipotalamus menuju substansia grisea periaqueduct, *locus coeruleus*, nukleus A5 dan A7 serta rostroventral medial medulla, kemudian di proyeksikan ke area spinalis melalui jalur *descenden* noradrenalin. Jalur ini bertanggung jawab terhadap proses inhibisi melalui α_2 adrenoceptor. Pada kondisi neuropati terjadi kehilangan inhibisi noradrenalin dan meningkatkan eksitasi serotonin *descenden* melalui 5-HT₃ reseptor. Gambaran transmisi nyeri ini tampak pada gambar 2.2 (Colloca *et al.*, 2017)



Gambar 2.2 Jalur transmisi nyeri (Colloca *et al.*, 2017)

Kerusakan pada serabut saraf perifer (A β , A δ dan C) mempengaruhi proses transduksi dan transmisi melalui perubahan fungsi kanal ion. Selanjutnya akan mempengaruhi aktifitas korda spinalis yaitu terjadi eksitasi berlebihan bersamaan dengan hilangnya proses inhibisi. Akibat kerusakan jaringan terjadi sensitisasi nosisseptor perifer (sensitisasi perifer) dan sensitisasi neuron kornu dorsal korda spinalis (sensitisasi spinal). Keduanya mempunyai peranan penting timbul dan bertahannya hiperalgesia mekanik. *Input* berulang dari serabut tipe C dapat dengan kuat membangkitkan sensitisasi spinal. Sensitisasi ini dihambat secara selektif oleh reseptor antagonis *N-methyl-D-aspartate* (NMDA), *Cyclooxygenase-2* (COX-2) *inhibitor* dan nosiseptin suatu agonis *opioid receptor like1* (ORL1). (Yamamoto and Sakashita, 1999; Colloca *et al.*, 2017)

2.3 Sistem Imun

Kerusakan sistem saraf perifer akan meningkatkan mediator-mediator inflamasi baik oleh sel residen maupun yang dikeluarkan oleh sel infiltrasi inflamasi diantaranya sel mast dan makrofag. Peningkatan mediator proinflamasi seperti histamin, bradikinin, ATP, *cyclooxygenase* dan *lipoxygenase* menyebabkan terjadinya kondisi algesia. Sitokin pro inflamasi seperti IL1- β , *Tumor Necrosis Factor* (TNF), IL-6, IL-15, IL-17, IL-18, *Interferon* γ (IFN- γ) dapat meningkatkan nyeri sedangkan sitokin anti inflamasi, IL-4, IL-10 dan TGF- β menyebabkan analgesik. Dalam kondisi homeostasis sitokin antiinflamasi terutama IL-10 akan dikeluarkan sebagai umpan balik negatif untuk menghambat gen yang mengkode proinflamasi dan reseptornya. Namun pada kondisi saraf yang mengalami kerusakan akan mengeluarkan IL1- β , TNF dan IL-16 yang saling meningkatkan produksinya melalui umpan balik positif, memperkuat kaskade inflamasi. Beberapa sitokin berperan tidak langsung terhadap nyeri dengan meningkatkan produksi mediator nyeri seperti *Prostaglandine E2* (PGE2), namun sebagian besar berperan langsung dengan mensensitisasi nosiseptor, meningkatkan permeabilitas BSCB, terutama oleh CCL2 dan IL1- β . Akumulasi dari proses inflamasi tersebut ditambah dengan kondisi hipereksitabilitas dan faktor lain mengakibatkan pengeluaran sinyal listrik yang persisten. (Austin and Moalem-Taylor, 2011; Tramullas *et al.*, 2018)

Beberapa penelitian yang berkembang terakhir ini membuka peranan respon neuroimun spinal terhadap nyeri, yaitu dengan ditemukannya mediator inflamasi seperti TNF, IL-1, IL-6, dan PGE2 pada eksudat inflamasi. Sintesa dan pelepasan mediator inflamasi selain berfungsi dalam proses penyembuhan juga meningkatkan nyeri dengan menurunkan ambang eksitasi dan menarik nosiseptor lainnya. Mediator proinflamasi

seperti *Nerve Growth Factor* (NGF), *Nitric Oxyde* (NO), IL-1, IL-6 dan TNF akan disekresi oleh sistem imun sebagai reaksi akibat kerusakan atau cedera sel. Sitokin proinflamasi berkontribusi pada kerusakan akson, juga memodulasi aktifitas spontan nosiseptor dan menstimulus sensitifitas. Gen yang berhubungan dengan respon imun dan aktivasi mikroglia bisa dijadikan *marker* adanya nyeri neuropatik karena ekspresinya meningkat (*upregulated*) pada model nyeri neuropatik *chronic constriction injury*.(Bennett, 1999; Qia and Meals, 2006; Scholz and Woolf, 2007)

Reaksi inflamasi pada cedera saraf perifer fase paling awal dimulai dengan pelepasan NGF, *chemokine* dan *leukotriene-B4* yang bersifat menarik makrofag dan netrofil. Makrofag dan matrik metaloproteinase yang dilepaskan oleh sel schwann yang rusak menyebabkan kerusakan sawar darah-saraf (*blood-nerve barrier*). Pelepasan mediator vasoaktif seperti *calcitonin gene-related protein* (CGRP), Substansi P (SP), Bradikinin dan NO menyebabkan hiperemia dan pembengkakan. Kondisi perubahan vaskular ini menyebabkan invasi sel imun sehingga dalam waktu 48 jam setelah cedera pada tempat lesi, terbentuk infiltrat padat yang berisi makrofag, limfosit T dan sel mast. (Scholz and Woolf, 2007)

Percobaan pada hewan membuktikan pemberian NGF secara sistemik akan mengakibatkan hiperalgesia dan sebaliknya pemberian antagonis akan menghilangkan hiperalgesia tersebut. Pemberian antagonis IL-1 juga menurunkan perilaku nyeri neuropatik, meskipun mekanisme aksinya belum jelas, diduga adanya sinyal kaskade yang kompleks menyebabkan produksi komponen pronosiseptif atau sel Schwann. TNF juga merupakan mediator proinflamasi yang diduga berperan dalam terjadinya nyeri neuropatik. Hal ini dibuktikan adanya korelasi antara ekspresi TNF dengan *allodynia* atau

hiperalgesia pada nyeri neuropatik.(Zuo *et al.*, 2003; McMahon, Cafferty and Marchand, 2005)

Marchand dalam *review* mengenai peranan sistem imun pada penyakit kronis, dengan jelas menyebutkan peranan sel mast, neutrofil dan makrofag setelah kerusakan jaringan. Sel tersebut menyebabkan depolarisasi nosiseptor dengan melepaskan berbagai mediator imun, sedangkan peranan sel T yang menginfiltrasi saraf kurang dipahami. Sel mikroglia yang teraktivasi, meningkatkan produksi kalsium melalui jalur intraseluler dan menyebabkan bertambahnya pelepasan mediator inflamasi yang membangkitkan peningkatan perangsangan sel saraf orde kedua.(Marchand, Perretti and McMahon, 2005)

Informasi imunologi diatas penting untuk keperluan terapi dimasa mendatang dengan mengukur jumlah mRNA sitokin spinal. Hal ini hampir sama dengan penjelasan dari Winkelstein, yang mengukur jumlah mRNA sitokin spinal (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10a, IL-10b dan TNF α) dalam respon terhadap peningkatan nyeri kronis sebelum dan setelah terapi.(Winkelstein *et al.*, 2001)

Pentingnya biomekanisme dan hubungan fisik medis memerlukan perubahan fundamental dalam konsep ideologi ketika mencoba menghubungkan mekanisme abnormal (*radiculopathy*) dengan nyeri spinal kronis yang disebabkan aktivasi sistem imun. Hal ini didukung oleh konsep model nyeri kronis dari DeLeo dan Winkelstein yang menghubungkan biomekanika (*radiculopathy*) dengan respon imunologis sebagai kontributor yang penting dalam kompleks kaskade yang menyebabkan timbulnya nyeri kronis. (DeLeo and Winkelstein, 2002; Winkelstein, 2004)

2.4 Nyeri Neuropatik

Nyeri neuropatik didefinisikan sebagai nyeri yang diawali atau disebabkan oleh suatu lesi primer atau disfungsi pada sistem saraf, mempunyai karakteristik nyeri spontan, hiperalgesia dan *allodynia* dan bertahan dalam waktu lama setelah cedera primernya sembuh. Gejala ini berhubungan dengan mekanisme sensitisasi sentral dan perifer yang kemudian meningkatkan eksitabilitas saraf karena perubahan ekspresi dan aktifitas gerbang ion, seperti *voltage-gated sodium channel* atau *ligand-gated transient receptor potential channels*, reseptor perifer dan sentral (mis. Cannabinoid1 atau NMDA. Induksi apoptosis, aktivasi mikroglia dan *inhibitor* endogen serta mekanisme imun sudah diketahui memodulasi dan berkontribusi pada proses sensitisasi. (Niederberger, Kühlein and Geisslinger, 2008)

Nyeri neuropatik adalah *non-self-limiting* dan nyeri yang dialami bukan bersifat sebagai protektif biologis namun adalah nyeri yang berlangsung dalam proses patologi penyakit itu sendiri. Nyeri ini dipicu oleh keberadaan neurotransmitter sebagai reaksi stimulasi terhadap reseptor serabut A δ dan C polimodal yang berlokasi di kulit, tulang, jaringan ikat, otot dan organ visera. Stimulus ini bisa berupa mekanik, kimia dan suhu, demikian juga infeksi dan tumor. Reaksi stimulus ini berakibat pada sekresi neurotransmitter seperti prostaglandin, histamin, serotonin, substansi P, juga *somatostatin* (SS), *cholecystokinin* (CCK), *vasoactive intestinal peptide* (VIP), CGRP dan lain sebagainya. (Niederberger, Kühlein and Geisslinger, 2008)

Nyeri neuropatik perifer maupun sentral berawal dari sensitisasi neuron sebagai stimulus noxious melalui jaras nyeri sampai ke sentral. Bagian dari jaras ini dimulai dari kornu dorsalis, traktus spinothalamikus (struktur somatik) dan kornu dorsalis (untuk

viseral), sampai talamus sensomotorik, limbik, korteks prefrontal dan korteks insula. Karakteristik sensitisasi neuron bergantung pada meningkatnya aktifitas neuron, rendahnya ambang batas stimulus terhadap aktifitas neuron itu sendiri (misalnya terhadap stimulus yang nonnoksious) dan luasnya penyebaran area yang mengandung reseptor yang mengakibatkan peningkatan letupan-letupan dari berbagai neuron. (Niederberger, Kühlein *and* Geisslinger, 2008)

Sensitisasi ini pada umumnya berasosiasi dengan terjadinya denervasi jaringan saraf akibat lesi ditambah dengan stimulasi yang terus menerus, adanya impuls aferen yang berasal dari perifer maupun sentral dan juga bergantung pada aktivasi kanal ion di akson yang berkaitan dengan reseptor *α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid* (AMPA)/kainat dan NMDA. (Niederberger, Kühlein *and* Geisslinger, 2008)

Nyeri neuropatik merupakan nyeri yang terjadi karena adanya lesi primer atau disfungsi sistem saraf dan dapat timbul akibat lesi atau penyakit yang mempengaruhi sistem somatosensori. Penyakit yang dapat menimbulkan nyeri neuropatik yaitu neuropati diabetes, neuralgia pasca herpes, neuralgia trigeminal, dan nyeri cedera saraf tulang belakang karena penyempitan tulang belakang (Park *et al.*, 2015)

Gejala nyeri neuropatik dapat berupa gejala positif, *paresthesia*, *disesthesia*, hiperalgesia dan *allodynia*. Gejala negatif berupa kelainan sensorik (hipoestesia dan hipoalgesia), kelemahan dan kelainan motorik, perubahan pada refleks. Penderita mungkin mengeluhkan adanya nyeri spontan, rasa terbakar dan sengatan listrik yang tajam dan intermiten. Sedangkan perubahan patologis sekunder seperti spastisitas,

gangguan miksi dan defekasi serta disfungsi otonom bertanggung jawab pada kondisi nyeri yang berbeda.(Vranken, 2011)

Nyeri neuropatik muncul akibat proses patologi yang berlangsung berupa perubahan sensitivitas baik perifer maupun sentral yang berdampak pada fungsi sistem *inhibitoric* serta gangguan interaksi antara somatik dan simpatetik. Keadaan ini memberikan gambaran umum berupa *allodynia* dan hiperalgesia.(Dogrul *et al.*, 2003)

Permasalahan pada nyeri neuropatik adalah menyangkut terapi yang berkaitan dengan kerusakan neuron dan bersifat irreversibel. Pada umumnya hal ini terjadi akibat proses apoptosis yang dipicu baik melalui modulasi intrinsik kalsium di neuron sendiri maupun akibat proses inflamasi sebagai faktor ekstrinsik. Kejadian inilah yang mendasari konsep nyeri kronis yang irreversibel pada sistem saraf. Atas dasar ini jugalah maka nyeri neuropatik harus secepat mungkin diterapi untuk menghindari proses mengarah ke plastisitas sebagai nyeri kronis. (Dogrul *et al.*, 2003)

2.4.1 Mekanisme Perifer

Banyak faktor perifer yang berperan pada kondisi nyeri neuropatik, diantaranya adalah sensitivitas nosiseptor yang abnormal, timbulnya sensitivitas adrenergik abnormal pada nosiseptor, pembentukan aktifitas ektopik pada sel saraf yang rusak atau pada ganglion akar dorsalis, pembentukan *ephaptic connections* pada akson yang mengalami demyelinisasi dan gangguan gerbang ion.(Bridges, Thompson and Rice, 2001)

Pada pengamatan setelah cedera saraf, terjadi peningkatan jumlah aktivasi spontan pada serabut aferen yang cedera yang lebih dikenal sebagai *ectopic discharge*. Aktivasi spontan ini pada awalnya diduga berkaitan dengan neuroma namun saat ini

diketahui juga dapat berasal dari ganglion akar dorsalis dan beberapa titik sepanjang saraf. Aktivasi spontan ini diduga disebabkan oleh peningkatan osilasi membran sehingga lebih cepat mencapai ambang batas aktivasi. Aktivasi ini selanjutnya mengalami amplifikasi karena rangsangan secara silang neuron sekitarnya. (Bridges, Thompson *and* Rice, 2001)

Pengamatan lain menunjukkan bahwa setelah cedera saraf terjadi perubahan potensial membran pada ganglion akar dorsalis, perangsangan silang antara serabut tipe A dengan serabut tipe C dan munculnya impuls nyeri. Impuls nyeri yang muncul dapat berasal dari neuron yang cedera maupun neuron yang masih intact. (Bridges, Thompson *and* Rice, 2001)

Gerbang natrium merupakan hal yang paling penting pada fisiologi dari rangsangan membran, termasuk membran saraf. Salah satu penemuan penting untuk terjadinya aktivasi ektopik adalah perubahan ekspresi gerbang natrium pada badan sel dan ujung neuroma saraf perifer setelah cedera saraf. Setelah cedera saraf perifer terjadi juga reorganisasi sumber dan tingkat ekspresi berbagai jenis gerbang ion. Ekspresi beberapa sub tipe gerbang natrium mengalami penurunan, namun yang lain muncul secara *de novo* atau mengalami translokasi menuju bagian lain neuron. (Bridges, Thompson *and* Rice, 2001)

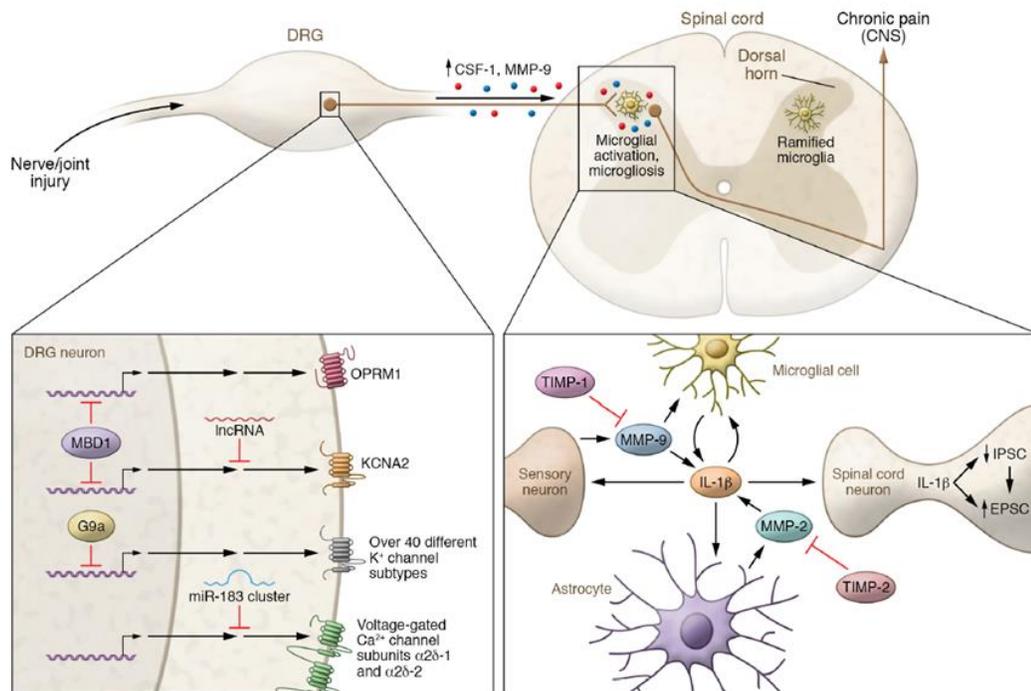
Neurotrophin diketahui merupakan faktor krusial dari mekanisme perubahan pada ekspresi gerbang natrium pada cedera saraf perifer. Telah diketahui bahwa pada kultur ganglion akar dorsalis, akan terjadi peningkatan ekspresi beberapa tipe gerbang dan penurunan ekspresi tipe yang lain. Selain gerbang natrium, gerbang kalsium juga

mempunyai peranan pada timbulnya hiperalgesia dan *allodynia* setelah cedera saraf perifer. (Bridges, Thompson *and* Rice, 2001)

Mekanisme perifer lain yang berperan pada pembentukan nyeri neuropatik adalah adanya *sprouting* kolateral saraf yang terputus menuju kulit. Mekanisme kopling antara sistem saraf simpatis dan sistem saraf sensoris berperan mempertahankan nyeri setelah cedera saraf. (Janig *et al*, 1996 seperti dikutip oleh Bridges, Thompson, Rice, 2001) Peningkatan bradikinin, suatu mediator inflamasi, setelah cedera saraf menjadi pertimbangan untuk memberikan antagonis bradikinin dalam penanganan nyeri neuropatik. (Bridges, Thompson *and* Rice, 2001)

Adanya cedera saraf perifer menimbulkan nyeri neuropatik melalui regulasi gen pada ganglion akar dorsalis dan neuroinflamasi pada korda spinalis. Pada neuron sensorik primer, *Methyl-CpG-binding domain protein 1* (MBD1) secara epigenetik menekan ekspresi reseptor-opiod dan saluran kalium sub tipe Kv1.2 (dikodekan oleh Kcna2). Ekspresi Kcna2 juga ditekan oleh *long non coding RNA* (lncRNA). Aktivitas G9a di neuron ganglion akar dorsalis meningkat setelah cedera saraf, menghasilkan penurunan epigenetik lebih dari 40 sub tipe saluran kalium. Kluster miR-183 mengatur subunit 2δ -1 dan 2δ -2 *voltage-gated calcium channel*, target molekuler gabapentin. Pada nyeri kronis terjadi aktivasi mikroglia di korda spinalis dimana cedera saraf dan cedera sendi menginduksi upregulasi *Matrix metalloproteinases-9* (MMP-9) dan *Colony Stimulating Factor* (CSF-1) di neuron ganglion akar dorsalis, yang kemudian menjalani perpindahan aksonal menuju kornu dorsalis medula spinalis. Setelah dilepaskan, MMP-9 dan CSF-1 menginduksi aktivasi mikroglia (misalnya, fosforilasi p38) dan mikrogliosis (proliferasi dan perubahan morfologis) di korda spinalis ipsilateral, yang mengarah pada

perkembangan nyeri kronis. Proses ini kemudian memicu neuroinflamasi korda spinalis yang merupakan bagian dari proses sensitisasi sentral. Setelah aktivasi, mikroglia memproduksi dan melepaskan IL-1 β , yang menginduksi sensitisasi sentral dan nyeri kronis melalui dua jalur regulasi presinaps dan pascasinaps, yang mengarah pada peningkatan *Excitatory Post Synaptic Currents* (EPSC) dan penurunan *Inhibitory Post Synaptic Currents* (IPSC). IL-1 β juga memodulasi aktivasi mikroglia dan astrosit di korda spinalis. Produksi MMP-2 yang lambat tetapi persisten didalam astrosit berkontribusi pada nyeri neuropatik fase akhir. Keduanya, baik MMP-9 dan MMP-2 terlibat dalam mengatur pembelahan dan aktivasi IL-1 β . Penghambatan MMP-9 dan MMP-2 oleh *Tissue Inhibitor of Metallo Proteinase* (TIMP-1) dan TIMP-2 menghambat nyeri neuropatik. (Gambar 2.3) (Buchheit *et al.*, 2020)



Gambar 2.3 Patogenesis nyeri neuropatik melalui regulasi gen pada ganglion akar dorsalis dan neuroinflamasi korda spinalis. (Buchheit *et al.*, 2020)

2.4.2 Mekanisme Sentral

Beberapa mekanisme sentral yang berperan menimbulkan nyeri neuropatik adalah reorganisasi anatomis korda spinalis, hipereksitabilitas akibat sensitisasi sentral dan modulasi sistem opioid endogen dan cannabinoid. Pada nyeri neuropatik terdapat beragam interaksi timbal balik antara sel neuron dan glia membentuk unit yang menghubungkan antara aktivasi glia dengan sensitisasi sentral/spinal (Bridges, Thompson and Rice, 2001; Zhang *et al.*, 2022)

Sensitisasi sentral memfasilitasi dan memperkuat transfer sinaptik dari nosiseptor ke neuron kornu dorsalis. Pada awalnya proses ini dipacu oleh *input* nosiseptor ke medula spinalis (*activity dependent*), kemudian terjadi perubahan molekuler neuron (*transcription dependent*). (Woolf, 2004)

Proses sensitisasi sentral diawali dengan aktivasi kinase intraseluler, memacu fosforilasi gerbang ion dan reseptor, dan terjadi perubahan fenotip neuron. Sensitisasi sentral dan perifer merupakan bentuk plastisitas sistem saraf, dimana terjadi perubahan fungsi sebagai respon perubahan *input* (kerusakan jaringan). Pada keadaan aliran sensoris yang masif akibat kerusakan hebat jaringan, dalam beberapa detik neuron di medula spinalis akan menjadi hiperresponsif. Reaksi ini menyebabkan munculnya nyeri akibat stimulus nonnoksious (misalnya: nyeri akibat sentuhan ringan) dan terjadinya hiperalgesia sekunder (nyeri pada jaringan sehat disekitar jaringan yang rusak). (Woolf, 2004)

Sensitisasi sentral dapat juga terjadi karena sensitisasi nosiseptor akibat inflamasi dan aktifitas ektopik spontan setelah cedera saraf. Sensitisasi sentral merupakan urutan kejadian di kornu dorsalis yang diawali dengan pelepasan transmitter dari nosiseptor,

perubahan kepadatan reseptor sinaptik, perubahan ambang rangsang, yang kesemuanya secara dramatis meningkatkan transmisi nyeri. (Woolf, 2004)

Salah satu reseptor yang berperan utama dalam perubahan ini adalah reseptor NMDA. Selama proses sensitisasi sentral, reseptor ini akan mengalami fosforilasi dan meningkatkan kepekaannya terhadap glutamat. Respon berlebih pada glutamat ditandai oleh hilangnya blokade ion magnesium dan terjadi pembukaan gerbang ion yang lebih lama. Eksitabilitas membran dapat diaktifkan baik oleh *input* yang di bawah ambang (*subthreshold*) maupun respon berlebih pada *input* di atas ambang (*suprathreshold*). Fenomena ini menyebabkan munculnya nyeri pada rangsang yang di bawah ambang (*allodynia*) dan respon nyeri berlebih akibat rangsang minimal (hiperalgesia), serta perluasan sensitifitas area yang tidak cedera (hiperalgesia sekunder). (Woolf, 2004)

Reorganisasi anatomis korda spinalis setelah cedera saraf berupa perubahan terminasi ujung saraf pada kornu dorsalis. Ujung saraf besar A β , yang bermielin, dalam keadaan normal berakhir pada lamina III dan IV namun setelah cedera saraf berakhir lebih superfisial pada lamina II. Konsekuensi dari reorganisasi ini adalah adanya *input* tambahan berupa *low threshold sensory neurons* bagi saraf orde kedua. (Bridges, Thompson and Rice, 2001)

Pada kondisi normal stimulus nyeri, ujung sentral serabut saraf A δ dan C melepaskan *Excitatory Amino Acid* (EAA) seperti glutamat dan aspartate, neurotrofin/*Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) dan peptida (SP, neurokinin A, CGRP). BDNF akan mengaktifasi tyrosin kinase B reseptor sedangkan SP dan Neurokinin A menyebabkan desensitisasi kornu dorsalis melalui interaksinya dengan reseptor neurokinin 1 dan 2. CGRP berperan dalam influks kalsium, menurunkan

metabolisme SP dan meningkatkan pelepasan SP dan EAA yang kesemuanya berakibat peningkatan sensitivitas. (Bridges, Thompson *and* Rice, 2001)

2.4.3 miR30c-5p

MiRNAs merupakan RNA kecil *non coding* dengan panjang sekitar 19-25 nukleotida berperan dalam perkembangan embriologi, diferensiasi sel induk/progenitor. miRNA juga berperan penting dalam mengatur inflamasi, apoptosis dan proses onkogenesis. Sampai saat ini puluhan ribu miRNAs dari lebih 150 spesies sudah ditemukan dengan nomenklatur yang baku. Karakteristik rangkaian yang bisa dimasukkan kedalam suatu miRNA di antaranya adalah terdiri dari sekitar 22 nukleotida, dibuat dari RNA dengan ukuran khusus yang berada dalam kumpulan DNA komplementer, bersifat sebagai konservasi filogenetik, memiliki *hairpin* yang sebagai regulator penting. *Precursor* miRNA (pre- miRNA) ditulis sebagai 'mir' sedangkan *mature* miRNA ditulis miR. Jika beberapa miRNA mempunyai rangkaian yang berdekatan diberi tambahan angka dan huruf untuk membedakannya. Misal mir-33 atau mir-4990. Untuk membedakan spesies diberikan huruf didepan sebagai pembeda misal pada homo sapien (hsa) menjadi hsa-mir-367, *rattus norvegicus* (rno) menjadi rno-mir-1, dan untuk spesies gorilla ditulis menjadi ggo-mir-155. Untuk membedakan evolusi diantara berbagai keluarga miRNA yang berdekatan diberikan tambahan huruf setelah angka misal hsa-mir-451a, hsa-mir-451b, jika lokus yang berbeda menghasilkan produk *mature* yang sama diberikan tambahan angka setelah nama lengkap, misal ggo-mir-515-1 dan ggo-mir-515-2 menghasilkan produk miRNA yang sama yaitu ggo-miR-515. Nama yang menunjukkan lokus genomik ditulis dengan pola *italic* untuk membedakan dengan

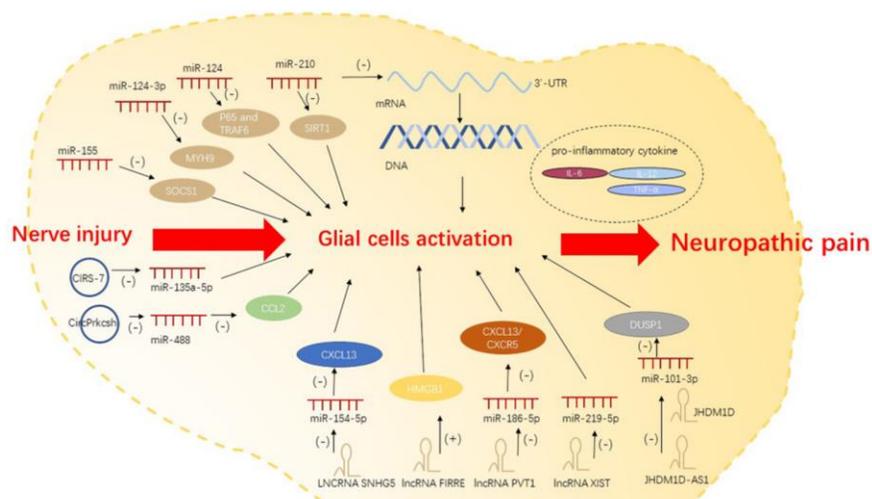
rangkaian yang *mature*, disarankan menambahkan tanda tambahan yang mengindikasikan RNA *double-stranded* asal pembuatan dari suatu rangkaian matur, misal dme-miR-1-5p dari tangkai prekursor 5' dan dme-miR-1-3p berasal dari tangkai prekursor 3'. Beberapa nama bisa berbeda dari nomenklatur di atas karena sudah lebih dulu dikenal (Winter *et al.*, 2009; Meštrović, 2018; Chen *et al.*, 2020)

miR30c-5p merupakan keluarga dari miRNA30 yaitu miR30a, 30b, 30c, 30d dan 30e. Studi tentang miRNA memberikan wawasan baru tentang jalur yang terlibat dalam perkembangan dan persistensi nyeri neuropatik. Beberapa miRNA telah terbukti menginduksi analgesia atau hipersensitivitas pada model hewan, melalui penargetan berbagai jalur yang terkait dengan rangsangan saraf, sinyal intraseluler, komunikasi sel glial dan respon imun. Molekul-molekul ini dapat memberikan efeknya dengan berbagai cara, dengan cara yang paling banyak digunakan adalah melalui represi mRNA, mereka berikatan dengan target dan mencegah proses translasi menjadi protein. (Tramullas *et al.*, 2018; Morchio *et al.*, 2023)

miRNAs memodulasi ekspresi gen pada level post-traskripsi, kerja mekanik dari miRNA berfungsi sebagai regulator antisense pada gen target dengan ikatan pada 3' UTR mRNA. Setelah cedera saraf perifer et al akan berikatan pada faktor transkripsi spesifik atau 3' UTR mRNA untuk menghambat translasi mRNA dan degradasi sehingga mempengaruhi fenotip sel dan keadaan aktif sel glia. miR-124-3p dan miR-210 dapat sekaligus bersifat menghambat dan meningkatkan aktivasi sel glia. Jalur penghambatan miRNA pada cedera saraf perifer dan peranan miRNA pada nyeri neuropatik digambarkan secara ringkas pada Gambar 2.4 dan Tabel 2.1

Tabel 2.1 Ringkasan miRNA yang berperan pada model nyeri neuropatik saraf perifer pada hewan coba (Zhang *et al.*, 2022)

| Pain model | Dysregulated miRNAs | Regulation | Target | Site | References |
|------------|---------------------|----------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| pSNL | miR-23a | Downregulation | TXNIP/NLRP3 axis | Spinal glial cell | Pan et al., 2018 |
| CCI | miR-26a-5p | Downregulation | MAPK6 | Spinal cord | Zhang et al., 2018 |
| CCI | miR-146a-5p | Upregulation | IRAK1/TRAF6 signaling | DRG, SDH | Wang Z. et al., 2018 |
| CCI | miR-34c | Downregulation | NLRP3 | Spinal cord | Xu et al., 2019 |
| SNI | miR-30c-5p | Upregulation | BAMBI | Spinal cord, DRG, CSE, plasma | Tramullas et al., 2018 |
| CCI | miR-381 | Downregulation | HMGB1/CXCR4 | Spinal cord | Zhan et al., 2018 |
| SNL | miR-124-3p | Downregulation | Egr1 | DRG, SDH | Jiang et al., 2021 |
| CCI | miR-34c-5p | Upregulation | SIRT1/STAT3 | DRG | Mo et al., 2020 |
| CCI | LncRNA XIST | Upregulation | miR-150/ZEB1 axis | Spinal cord | Yan et al., 2018 |
| CCI | LncRNA XIST | Upregulation | miR-137/TNFAIP1 axis | Spinal cord | Zhao et al., 2018 |
| CCI | LncRNA XIST | Upregulation | miR-544/STAT3 axis | Spinal cord | Jin et al., 2018 |
| CCI | LncRNA NEAT1 | Upregulation | miR-381/HMGB1 axis | Spinal cord | Xia et al., 2018 |
| CCI | LncRNA CRNDE | Upregulation | miR-136/IL6R axis | Spinal cord | Zhang D. et al., 2019 |
| SNL | LncRNA SNHG1 | Upregulation | CDK4 | Spinal cord | Zhang J. Y. et al., 2020 |
| SNL | Kcna2 antisense RNA | Upregulation | Zinc finger protein 1/Kcna2 | DRG | Zhao et al., 2013 |
| SNL | circAnks1a | Upregulation | miR-324-3p/VEGFB | SDH | Zhang S. B. et al., 2019 |
| CCI | Circ_0005075 | Upregulation | miR-151a-3p/NOTCH2 axis | Spinal cord | Zhang Y. et al., 2021 |
| CCI | circRNA zRANBI | Upregulation | miR-24-3p/LPAR3 | Spinal cord | Wei et al., 2020 |



Gambar 2.4 Ringkasan mekanisme kerja miRNA menimbulkan nyeri neuropatik pada cedera saraf perifer (Zhang *et al.*, 2022)

Penelitian nyeri neuropatik pada tikus menemukan bahwa miRNA-30c-5p mempunyai potensi sebagai penyebab sekaligus target terapi. Ekspresi miRNA-30c-5p

diketahui meningkat pada pasien dengan nyeri akibat diabetik neuropati. Penelitian pada tumor hepatoseluler dan glioblastoma multiforme didapatkan bahwa miRNA-30c merupakan *inhibitor* yang menghambat progresifitas tumor melalui hambatan pada proliferasi dan kemampuan invasi sel tumor dan meningkatkan sensitivitas sel tumor terhadap kemoterapi. et als memodulasi ekspresi gen pada level post-traskripsi (Tramullas *et al.*, 2018; Liu, Li and Zhuang, 2019; Chen *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2021)

2.4.4 TGF β

Sebagai respon terhadap kerusakan sel saraf tubuh mengeluarkan sitokin pro inflamasi seperti IL1- β , TNF, IL-6, IL-15, IL-17, IL-18, IFN- γ yang dapat meningkatkan nyeri sedangkan sitokin anti inflamasi, seperti IL-4, IL-10 dan TGF- β menyebabkan analgesik. TGF- β merupakan salah satu sitokin antiinflamasi yang ikut berperan dalam respon terhadap kerusakan sel terutama dalam fungsi sistem saraf. TGF- β dapat menekan aktifitas glia pada korda spinalis dan menekan inflamasi, merupakan *inhibitor* kuat pada nyeri neuropatik. Sebagai respon terhadap cedera saraf perifer TGF- β akan dilepaskan pada lokasi cedera untuk meningkatkan regenerasi saraf dengan cara menginisiasi berbagai perubahan fenotip pada sel schwann, memodulasi sel imun, mengaktifasi kemampuan pertumbuhan intrinsik sel saraf dan mengatur permeabilitas BSCB. (Tramullas *et al.*, 2018; Ye *et al.*, 2022; Mou *et al.*, 2023)

Pada cedera saraf perifer TGF- β meningkatkan rekrutmen dan kapasitas makrofag dan sel schwann untuk membersihkan debris mielin dengan mengatur ekspresi reseptor MrTK dan MMP. Memprogram ulang sel schwann dengan mengatur jumlahnya, melindungi membran basal dan meningkatkan migrasi dan arahnya membentuk pita

Bungner. Mengatur permeabilitas *blood nerve barrier* dengan mempengaruhi *pericyte* dan *tight junction*. Berperan sebagai anti inflamasi dengan mempolarisasi makrofag M1 menjadi fenotip M2 dan menopang sel Treg dan Th2 untuk menciptakan kondisi mendukung pertumbuhan sel. Meningkatkan kapasitas pertumbuhan sel saraf dengan mengaktifkan *Regeneration-Associated Genes* (RAGs) neuron mengeluarkan faktor neurotrofik NGF dan GDNF. (Gambar 2.5) (Ye *et al.*, 2022)

TGF- β , sitokin anti inflamasi ini mempunyai fungsi imun yang luas dan bersifat immunosupresif. TGF- β menghambat proliferasi limfosit dan produksi sitokin, mempengaruhi diferensiasi sel-T dan meningkatkan pembentukan sel-T regulator immunosupresif. TGF- β mempunyai 3 isomer yaitu TGF- β 1, TGF- β 2 dan TGF- β 3 yang berikatan dengan reseptor transmembran tipe 1 (RI) dan tipe 2 (RII). Sinyal TGF- β melibatkan ikatan *ligand* pada reseptor serine/threonine kinase RII aktif yang kemudian melibatkan RI ke dalam kompleks pensinyalan.(Echeverry *et al.*, 2009)



Gambar 2.5 Berbagai peranan TGF-β pada cedera saraf perifer (Ye *et al.*, 2022)

TGF-β1 berasal dari *precursor* yang disebut pre-pro TGF-β1 yang kemudian berkembang menjadi laten TGF-β1 melalui multi proses. Bentuk laten ini belum aktif karena pengaruh *latency associated protein* (LAP) yang menghambat ikatan TGF-β1 *mature* pada reseptornya. Aktivasi dari TGF-β1 terjadi bila TGF-β1 *mature* dilepaskan dari struktur LAP. Pada hewan TGF-β2 dan TGF-β3 diekspresikan pada sel neuron dan glia di banyak tempat pada sistem saraf pusat dan perifer, sedangkan TGF-β1 hanya terbatas pada meningen. Tetapi banyak penelitian belakangan menemukan peningkatan TGF-β1 pada otak hewan coba. (Sun *et al.*, 2022)

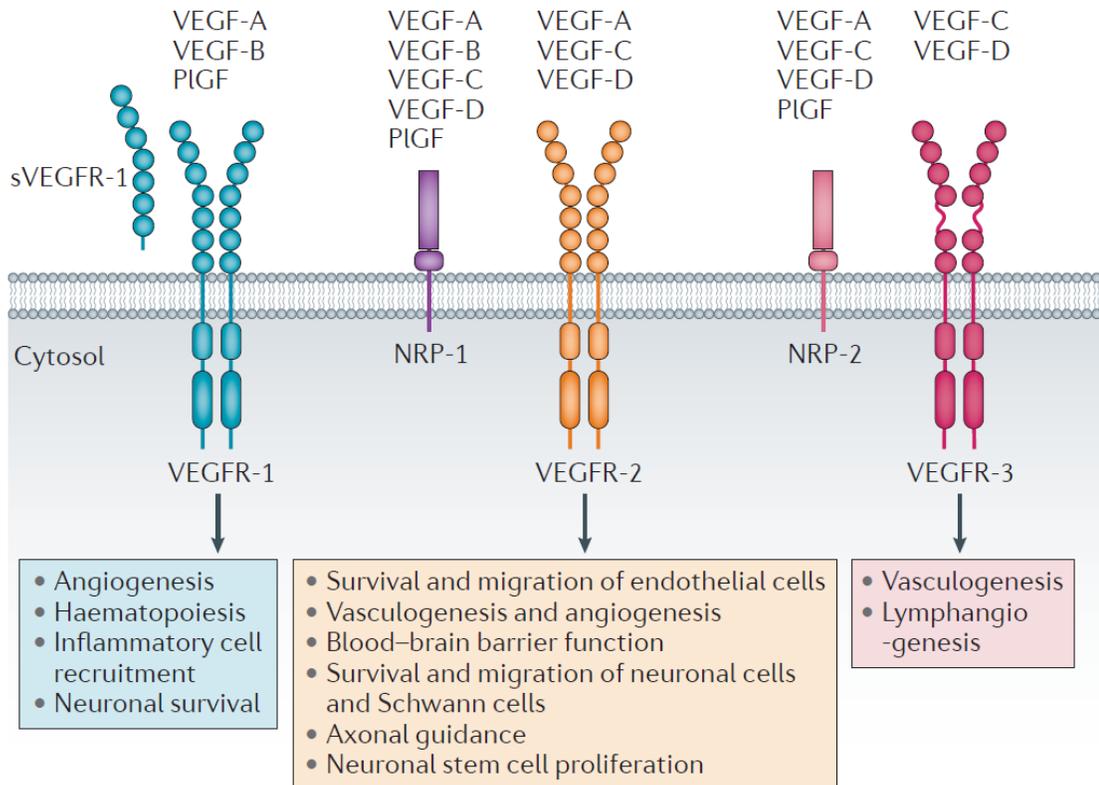
Pada penelitian Sun dan kawan kawan dibuktikan bahwa latihan/*exercise* dapat meningkatkan aktivasi TGF- β 1 yang menghambat astrogliosis sehingga menimbulkan efek analgesia. Pada cedera saraf perifer TGF- β menurunkan pembentukan nyeri dan nyeri yang sudah ada melalui hambatan aktivasi mikroglia dan astrosit, menurunkan ekspresi CCL-2 dan bersama IL-10 meningkatkan integritas BSCB yang akan mencegah infiltrasi sel imun tambahan pada kornu dorsalis korda spinalis. Diduga efek nosiseptif TGF- β melibatkan aktifitas sistem opioid dengan meningkatkan ekspresi opioid endogen di samping itu TGF- β diketahui menekan aktivasi glia, menghambat pelepasan sitokin pro-inflamasi. (Austin *and* Moalem-Taylor, 2011; Tramullas *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2022)

Pada kondisi nyeri kronis baik pada manusia maupun hewan terjadi *downregulate* TGF- β menyebabkan berkurangnya hambatan pada neuroinflamasi dan aktivasi mikroglia. Penghambatan nyeri neuropatik oleh TGF- β juga terjadi melalui jalur transkripsi gen dan neuromodulasi pada ganglion akar dorsalis. TGF- β secara cepat dalam hitungan menit mengaktivasi reseptor TGF- β pada neuron yang akan menormalisasi kondisi hipereksitabilitas ganglion akar dorsalis karena proses cedera saraf dan plastisitas sinaps pada korda spinalis. TGF- β merupakan target dari miR-30c-5p, yang biasanya meningkat pada korda spinalis, ganglion akar dorsalis, cairan serebrospinal dan plasma setelah terjadinya cedera saraf isiadikus pada tikus. TGF- β akan di *downregulated* oleh mir-30c-5p dan di *upregulated* oleh mir-30c-5p *inhibitor*. Proses ini juga diduga berjalan dalam dua arah dengan melalui sistem opioid. (Buchheit *et al.*, 2020)

Pada nyeri neuropatik TGF- β 1 berperan dalam mengembalikan homeostasis dari medulla spinalis dengan cara menghambat sensitisasi sentral dan menurunkan hipersensitifitas kronik. Efek ini diduga disebabkan oleh efek pleiotrofik TGF- β 1 pada sel neuron dan glia termasuk hambatan pada beberapa kejadian seperti kerusakan neuron, mikrogliosis dan aktivasi mikroglia dan astrosit dan mengurangi respon inflamasi sentral. (Echeverry *et al.*, 2009)

2.4.5 VEGF

VEGF pada awalnya ditemukan pada sistem saraf pusat dari organisme primitif yang kurang akan struktur vaskular, dan di duga aktifitas VEGF tidak tergantung pembuluh darah, meskipun selanjutnya VEGF diketahui merupakan suatu *Growth Factor* endotel yang mampu merangsang pembentukan pembuluh darah (angiogenesis). VEGF atau dinamakan juga VEGF-A merupakan anggota tertua dari suatu faktor pertumbuhan yang terdiri dari VEGF, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E dan *Placental Growth Factor* (PlGF) yang akan berikatan dengan reseptor tirosin kinase pada permukaan sel dinamakan VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3 dan reseptor non-tirosin kinase dari keluarga *neuropilin* (NRP) yaitu NRP-1, NRP-2, yang akan berfungsi sebagai co-reseptor VEGFR. VEGF akan berikatan dengan VEGFR-1, VEGFR-2, NRP-1 dan NRP-2. VEGF-B berikatan dengan VEGFR-1, NRP-1 dan NRP-2, sedangkan VEGF-C dan VEGF-D berikatan dengan VEGFR-3VEGFR-2, NRP-1 dan NRP-2. (Gambar 2.6) (Lange *et al.*, 2016)



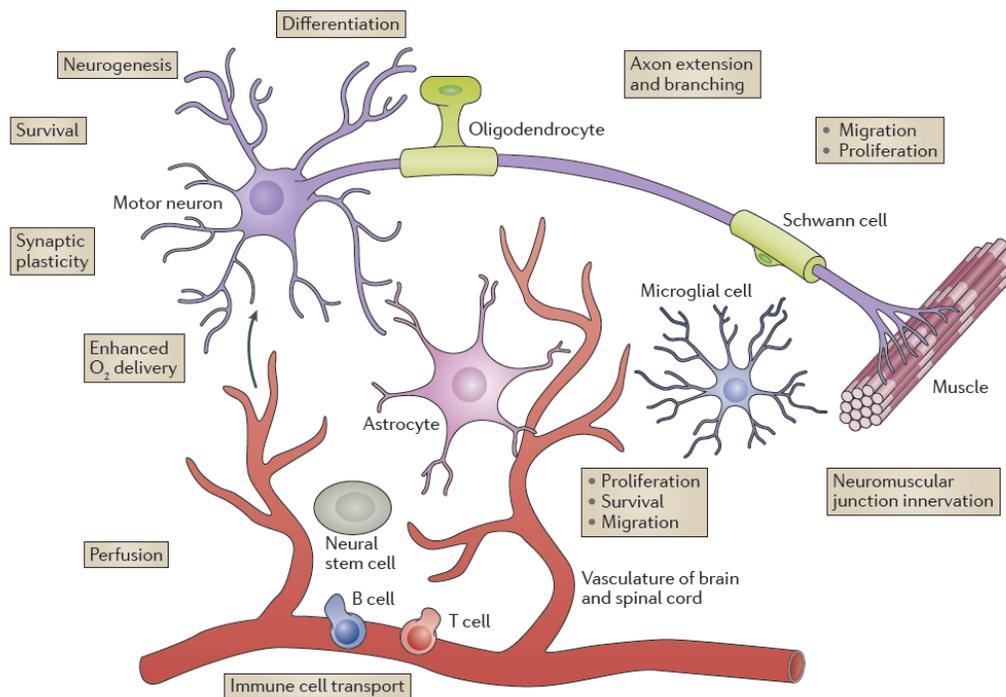
Gambar 2.6 Skematik keluarga VEGF dan reseptor VEGFR, NRP (Lange *et al.*, 2016)

Peranan VEGF pada penyakit sistem saraf sangat beragam meliputi berbagai efek menguntungkan pada banyak jenis sel saraf selain peranannya pada pembuluh darah sebagai faktor permeabilitas yang bersifat meningkatkan perfusi sistem saraf. Namun pada kadar yang tinggi VEGF akan mempengaruhi homeostasis sistem saraf karena menyebabkan disfungsi *Blood-Brain Barrier* (BBB). (Lange *et al.*, 2016)

Pada perkembangan sistem saraf VEGF memiliki dua fungsi yaitu mengatur pembentukan pembuluh darah dan sebagai penuntun migrasi sel saraf dan *axonal pathfinding*, dimana fungsi kedua ini tidak berkaitan dengan efek pada pembuluh darah. Matriks ekstraseluler yang berikatan dengan VEGF mengatur migrasi sel granula

serebelum menuju tujuan akhirnya melalui sinyal VEGFR-2 didalam granulnya, begitu pula migrasi *facio-branchial motoneurons* pada otak belakang diatur melalui co-reseptor NRP-1. (Lange *et al.*, 2016)

Pada otak sehat VEGF mengatur kepadatan mikrovaskular, mengontrol permeabilitas pembuluh darah dan menjaga proses fenestrasi endotel pada pleksus koroid, merangsang proliferasi dan meningkatkan neurogenesis *neural stem cell* (NSC). Sedangkan pada kondisi penyakit sistem saraf VEGF mempunyai efek pada berbagai jenis sel saraf. VEGF berperan sebagai penjaga neuron yang sakit melalui efek neuroprotektif, merangsang neurogenesis dan diferensiasi sel saraf, merangsang pemanjangan dan percabangan akson dan meningkatkan plastisitas sinap. (gambar 2.7)(Lange *et al.*, 2016)



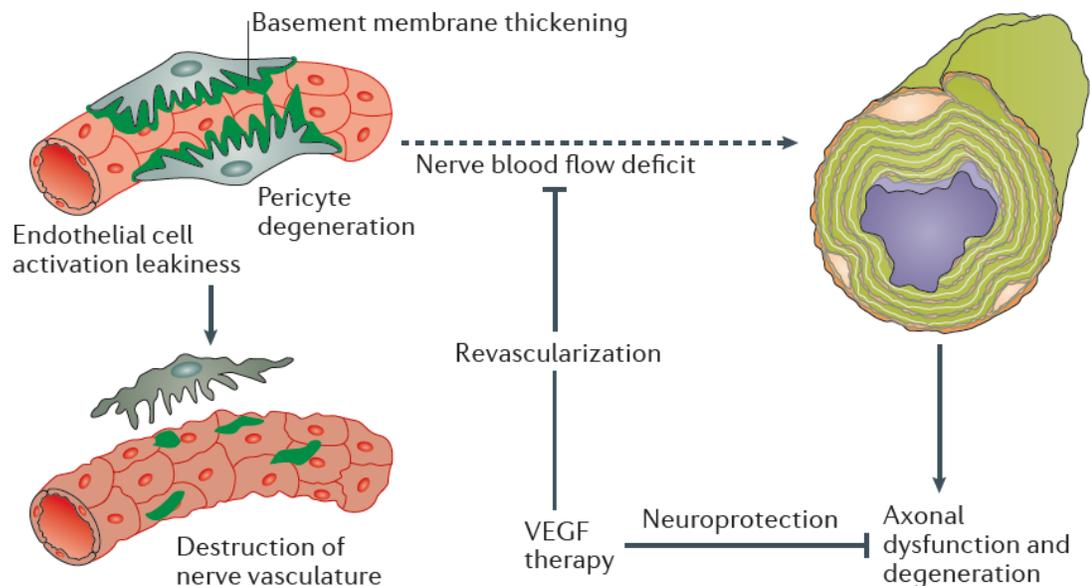
Gambar 2.7 Berbagai peranan VEGF pada berbagai jenis sel saraf yang tidak sehat. (Lange *et al.*, 2016)

Pada kadar yang rendah VEGF dibutuhkan bagi sel endotel untuk bertahan hidup dan menjaga integritas BBB yang akan menjaga otak terhadap bahan perusak. Sebaliknya pada kadar yang tinggi VEGF akan merusak BBB dan menimbulkan penyakit neurologis melalui beberapa mekanisme seperti keluarnya protein neurotoksik, yang akan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) dan inflamasi yang pada akhirnya memicu respon imun. Selain itu pada kadar yang tinggi VEGF akan memicu pembentukan pembuluh darah yang rapuh dan perdarahan. (Lange *et al.*, 2016)

Pada kondisi neuropati perifer terjadi degenerasi akson perifer motorik, sensorik dan/atau otonom yang menghasilkan banyak gejala seperti kelemahan otot, kesemutan, parestesia, nyeri dan/atau disfungsi organ. Neuropati diabetik di duga berkaitan dengan penebalan basal membran dan kerusakan *blood-nerve barrier*. Secara *in vitro* dibuktikan bahwa produk akhir dari glikasi lanjut menyebabkan degenerasi pericyte dan merangsang pelepasan TGF β yang mengakibatkan penebalan membran basal dan kemudian menghalangi difusi oksigen ke sekeliling akson dan pericyte. Kerusakan *blood-nerve barrier* pada neuropati diabetik dan induksi kemoterapi sebagian disebabkan karena berkurangnya protein claudin-5 pada *tight junction*. Penurunan neuropati perifer setelah pemberian VEGF-plasmid intramuskular disebabkan oleh penghambatan degenerasi akson dan peningkatan pemulihan saraf melalui vaskularisasi dan perfusi, hal ini terjadi pada iskemia kaki dan model neuropati diabetik dan induksi kemoterapi. (Lange *et al.*, 2016)

Kondisi hipoksia menyebabkan peningkatan ekspresi VEGF pada sel schwann dan sel-sel saraf tikus yang mengalami neuropati diabetik. Konsentrasi gula yang tinggi meningkatkan produksi VEGF namun disertai penurunan produksi VEGFR-1 oleh sel

schwann dan sel saraf sehingga meningkatkan kadar *free* VEGF (*a VEGF trap*). Peranan VEGF pada sel schwann menstimulasi migrasi dan kemampuan bertahan hidup. Hambatan sinyal saraf dari ikatan VEGF-NRP-1 meningkatkan degenerasi akson. (Gambar 2.8) (Lange *et al.*, 2016)



Gambar 2.8 Peranan VEGF pada neuropati diabetik (Lange C *et al.*, 2016)

Selain efek pada pembuluh darah, VEGF juga memiliki efek neuroprotektif pada akson saraf perifer. Pada percobaan *in vitro* diketahui ikatan VEGF-VEGFR2 menjaga saraf sensorik ganglion akar dorsal dari pengaruh hiperglikemia dan obat kemoterapi paclitaxel melalui induksi Hsp90 deasetilasi yang meningkatkan anti apoptosis Bcl-2. Ekspresi VEGFR2 yang berlebih pada sel saraf dapat mengurangi hipersensitifitas namun bentuk negatif VEGFR2 yang lebih dominan memiliki efek yang berlawanan, terpisah dari pengaruh pada pembuluh darah. (Lange *et al.*, 2016)

Pada percobaan neuropatik hewan coba diduga VEGF berperan melalui ikatan dengan VEGFR1 dan VEGFR2 yang kadarnya meningkat pada kondisi hiperalgesia dan nyeri neuropatik. VEGF kemungkinan meningkatkan nyeri melalui reseptor P2X_{3/2/3} pada ganglia akar dorsal, karena pemberian antibodi antiVEGF menyebabkan penurunan hiperalgesia dengan menghambat aktivasi reseptor P2X_{3/2/3} dan menghambat transmisi aferen primer yang dimediasi oleh reseptor VEGFR2 dan reseptor P2X_{3/2/3}. Pemberian Anti-rVEGF menurunkan ekspresi VEGFR2 dan P2X_{3/2/3} sehingga nyeri neuropatik bisa berkurang. Cedera saraf alveolar inferior meningkatkan ekspresi VEGF-A pada kornu dorsal korda spinalis pada hari ke 1, 3 dan 5 setelah cedera. Peningkatan ekspresi VEGF-VEGFR1 menyebabkan timbulnya nyeri neuropatik dan juga meningkatkan permeabilitas BBB. Diketahui bahwa VEGFR1 diekspresikan pada sel endotel korda spinalis. Sedangkan hambatan pada reseptor VEGFR2 tidak menyebabkan perubahan permeabilitas, VEGFR2 diekspresikan pada sel astrosit. Supresi ekspresi VEGF menggunakan VEGF-A₁₆₄siRNA menyebabkan pemanjangan efek antialodinia.. Pemberian antibodi antiVEGF menyebabkan hambatan angiogenesis patologis dan menimbulkan analgesia. Penelitian dengan kompresi *cauda equina* yang mirip dengan kondisi iskemia menimbulkan penurunan jarak jalan dan peningkatan ekspresi VEGF pada ganglia akar dorsalis pada hari ke 3, 14 dan 28 tapi tidak disertai dengan peningkatan densitas pembuluh darah sebagai penanda angiogenesis. Penelitian dengan lompresi pada *cauda equina* ini menunjukkan kemungkinan peningkatan ekspresi VEGF merupakan proses adaptasi neuron terhadap iskemia akibat kompresi pada *cauda equina* melalui efek angiogenik dan neurotrofik. (Lin *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2019)

VEGF memiliki efek positif dan negatif terhadap disfungsi neurologi. Seperti pada kondisi stroke, pada epilepsi VEGF pada satu sisi menginduksi kerusakan BBB dan kebocoran vaskular tetapi pada sisi yang lain mempunyai efek neuroproteksi, pada cedera spinal kadar VEGF yang tinggi memiliki efek negatif karena mengakibatkan peningkatan permeabilitas vaskular setelah cedera spinal. Kadar VEGF yang dipertahankan dalam kadar basal setelah pemberian MLC901 mempunyai efek positif memperbaiki *outcome* setelah cedera spinal. Hal ini kemungkinan disebabkan efek neuroprotektif masih dipertahankan pada kadar VEGF yang rendah. VEGF sendiri memiliki peran dalam menstimulasi pemanjangan akson dan meningkatkan kelangsungan hidup neuron ganglia akar dorsalis. Secara klinis selain VEGF berperan dalam neuroprotektif tetapi harus diingat pula efeknya untuk menyebabkan kerusakan BBB dan kebocoran pembuluh darah. (Watanabe *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2010; Lange *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2019; Wahyudi *et al.*, 2022)

2.5 Stenosis Spinal Lumbal (SSL)

Stenosis Spinal Lumbal (SSL) merupakan sindrom klinis yang disebabkan oleh penyempitan kanal spinalis dengan gangguan pada struktur saraf yang mengelilingi tulang dan jaringan lunak. Gejala klinisnya bervariasi tetapi muncul sebagai akibat dari mekanisme neurovaskular, eksitasi akar saraf, atau kompresi mekanis kanal spinalis, mekanisme ini dapat berjalan bersamaan (Park *et al.*, 2015).

SSL degeneratif adalah penyakit progresif yang melibatkan semua segmen vertebra lumbal. Ketidakstabilan relatif yang diinisiasi oleh degenerasi diskus intervertebralis menyebabkan hipermobilitas segmen vertebral, mengakibatkan

peningkatan tekanan pada sendi faset posterior, diikuti dengan penyempitan ruang diskus intervertebralis, peningkatan sudut ekstensi, dan hipertrofi sendi faset, terutama proses hipertrofi artikular superior. Proses hipertrofik artikular menyebabkan kekakuan sendi lokal (ankilosis). Selain itu, kalsifikasi atau penebalan ligamen kuning merupakan mekanisme penting dalam stenosis. Tropisme sendi juga dapat menjadi faktor yang menyebabkan stenosis spinal lumbal degeneratif. Hal ini menyebabkan stenosis kanal spinalis dan kompresi struktur saraf, yang dapat menyebabkan klaudikasio neurogenik intermiten karena bendungan aliran darah vena epidural dan peningkatan tekanan vaskular. (Lee *et al.*, 2020)

Meskipun trauma minor atau stimulasi berulang yang berhubungan dengan pekerjaan tidak berkontribusi secara signifikan terhadap terjadinya stenosis, namun hal ini dapat memperburuk gejala stenosis yang sudah ada. Saat lumbal mengalami ekstensi, kanal spinalis menjadi lebih sempit dan jaringan saraf mengalami kompresi, dan secara bersamaan laju metabolisme akar saraf oleh gerakan ekstremitas bawah meningkat, tetapi tidak disertai dengan peningkatan aliran darah. Akar saraf *cauda equina* memperoleh energi metabolik dari sirkulasi darah arteri yang terletak di permukaan akar saraf dan difusi cairan serebrospinal.

Pada SSL, ketika akar saraf berada di bawah tekanan yang meningkat di kanal tulang belakang, dapat terjadi iskemia saraf dan gangguan konduksi saraf. Iskemia dapat terjadi karena penyumbatan vena dan berkontribusi pada SSL yang melibatkan dua atau lebih segmen vertebra. Jika akar saraf rusak, dapat terjadi sensitisasi baik perifer maupun sentral, yang dapat menyebabkan nyeri kronis (Lee *et al.*, 2020)

Penyebab dari SSL dibagi menjadi dua yaitu stenosis kongenital dan stenosis didapat atau karena proses degeneratif. Pada stenosis kongenital dapat dijumpai adanya penyempitan kanal vertebral dengan etiologi idiopatik maupun sekunder, untuk penyempitan kanal sekunder terjadi karena displasia tulang seperti achondroplasia. Sedangkan pada SSL yang degeneratif dapat terjadi karena penyakit metabolik (seperti penyakit paget), tumor, infeksi, perubahan osteoartritik atau ketidakstabilan dengan atau tanpa spondilolistesis. Selain itu SSL degeneratif dapat juga terjadi karena hipertrofi sendi faset, hernia intervertebralis, pembengkakan diskus, pembentukan osteofit, hipertrofi ligamentum flavum dan terbentuknya jaringan parut yang berlebihan atau proliferasi tulang setelah pembedahan atau karena infeksi maupun trauma (Lurie *and* Tomkins-Lane, 2016; Wu *et al.*, 2017)

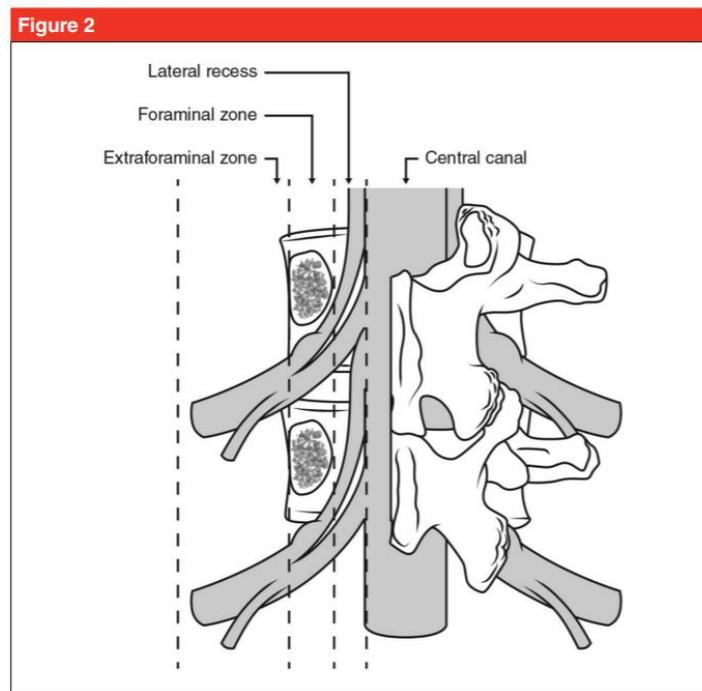
2.5.1 Klasifikasi Stenosis Spinal Lumbal (SSL)

Secara klinis belum ada penelitian yang tervalidasi mengenai klasifikasi dari SSL namun secara umum sering berdasarkan elemen deskriptifnya yakni klasifikasi berdasarkan etiologi, lokasi, dan tingkat keparahan stenosis pada pencitraan radiologi (Schroeder, Kurd *and* Vaccaro, 2016)

Berdasarkan etiologinya SSL diklasifikasikan menjadi stenosis primer (kongenital) dan stenosis sekunder. Stenosis primer (kongenital) didefinisikan sebagai displasia tulang yang mengarah pada penyempitan kanal tulang belakang, dengan pembagian lebih lanjut menjadi stenosis kongenital idiopatik dan akondroplastik. Stenosis sekunder dapat disebabkan oleh degeneratif yang terjadi karena penyakit metabolik (seperti penyakit paget), tumor, infeksi, perubahan osteoartritik atau

ketidakstabilan dengan atau tanpa spondilolistesis (Siebert *et al.*, 2009; Sá *et al.*, 2014; Schroeder, Kurd and Vaccaro, 2016)

Berdasarkan lokasinya SSL terbagi menjadi stenosis zona *central*, *reses lateral*, *foraminal* dan *extraforaminal* (Schroeder, Kurd and Vaccaro, 2016)



Gambar 2.9. Skema berbagai lokasi pada spinal stenosis (Schroeder, Kurd and Vaccaro, 2016)

Adanya kombinasi pada *disc-osteophyte complex* dan hipertrofi ligamentum flavum menyebabkan stenosis *central*. Hipertrofi sendi faset disertai timbulnya osteofit menyebabkan stenosis *reses lateral*. Stenosis *foraminal* dapat terjadi akibat hilangnya ketinggian diskus secara substansial, timbulnya diskus foraminalis atau osteofit, atau terdapat angulasi pada skoliosis degeneratif sedangkan stenosis *extraforaminal* disebabkan oleh terjadinya herniasi pada diskus lateral (Schroeder, Kurd and Vaccaro, 2016)

Terdapat beberapa parameter yang digunakan untuk menilai tingkat keparahan stenosis pada radiologi pencitraan namun klasifikasi yang umum digunakan yakni tingkat keparahan stenosis ringan, sedang, dan berat. Stenosis ringan didefinisikan sebagai adanya penurunan sebesar $<1/3$ pada ruang yang tersedia untuk *neural elements*, stenosis sedang didefinisikan sebagai adanya penurunan sebesar $1/3 - 2/3$ pada ruang yang tersedia untuk *neural elements* sedangkan stenosis berat didefinisikan sebagai adanya penurunan $>2/3$ pada ruang yang tersedia untuk *neural elements*. Klasifikasi lainnya diusulkan oleh Schizas *et al* yang menilai tingkat keparahan stenosis berdasarkan morfologi kantung dural pada MRI (Lurie *and* Tomkins-Lane, 2016; Schroeder, Kurd *and* Vaccaro, 2016; Lee *et al.*, 2020)

Tabel 2.2. Klasifikasi tingkat keparahan stenosis berdasarkan morfologi kantung dural pada MRI (Schroeder, Kurd *and* Vaccaro, 2016; Lee *et al.*, 2020)

| Grade | Deskripsi |
|--|--|
| A (tidak stenosis atau stenosis minor) | Terdapat cairan cerebrospinal pada kantung epidural dengan distribusi yang tidak homogen (berlaku untuk grade A1-A4) jika tidak sesuai maka dapat termasuk grade B, C, atau D. |
| A1 | Rootlets terletak di bagian dorsal dan cairan serebrospinal menempati <50% dari kantung dural. |
| A2 | Rootlets terletak di bagian dorsal namun sudah menyentuh kantung dural dan membentuk konfigurasi tapal kuda. |
| A3 | Rootlets terletak di bagian dorsal dan cairan serebrospinal menempati >50% dari kantung dural. |
| A4 | Rootlets terletak di bagian tengah dan menempati sebagian besar area dari kantung dural. |
| B (stenosis sedang) | Rootlets menempati seluruh area dari kantung dural namun masih dapat diidentifikasi. |
| C (stenosis berat) | Rootlets tidak dapat dikenali, kantung dural tampak berwarna abu-abu homogen dengan penipisan komplit yang terjadi pada ruang cairan serebrospinal dan terlihat adanya lemak epidural pada bagian posterior. |
| D (stenosis ekstrim) | Rootlets tidak dapat dikenali dan tidak dan terlihat adanya lemak epidural pada bagian posterior. |

Klasifikasi yang lebih mudah diusulkan oleh Lee *et al* yang menilai tingkat keparahan stenosis berdasarkan derajat pemisah *cauda equina* pada MRI (Lee *et al.*, 2020)

Grade 0 (tidak stenosis atau stenosis ringan)

Tidak terdapat *lumbar canal central stenosis* dan tidak tampak adanya obliterasi pada ruang cairan serebrospinal anterior.

Grade 1 (stenosis ringan)

Terdapat *lumbar canal central stenosis* ringan yang mengacu pada obliterasi ringan dari ruang cairan serebrospinal anterior dan semua *cauda equina* tampak terpisah dengan jelas antara satu sama lain.

Grade 2 (stenosis sedang)

Terdapat *lumbar canal central stenosis* sedang yang mengacu pada obliterasi sedang dari ruang cairan serebrospinal anterior dan tampak beberapa agregasi *cauda equina* yang tidak dapat diidentifikasi satu sama lain secara visual.

Grade 3 (stenosis berat)

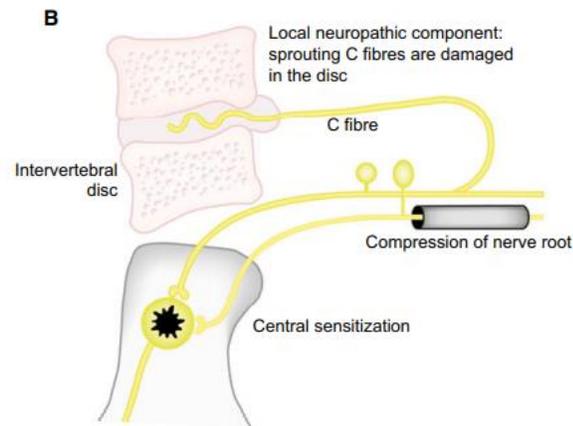
Terdapat *lumbar canal central stenosis* berat yang mengacu pada obliterasi berat dari ruang serebrospinal anterior, terdapat tanda kompresi kantung dural, dan seluruh *cauda equina* tampak sebagai satu bundel.

SSL secara klinis dapat diklasifikasikan berdasarkan *grade 1, 2 dan 3*. *Grade 1* (klaudikasio intermiten neurogenik) ditandai dengan berkurangnya jarak berjalan kaki yang disebabkan oleh nyeri dan defisit sensomotorik intermiten singkat yang saat istirahat terasa biasa saja namun dapat memburuk ketika berjalan. *Grade 2* (paresis intermiten) mengacu pada adanya defisit sensitivitas persisten, hilangnya refleks, dan paresis intermiten (Siebert *et al.*, 2009). *Grade 3* dicapai jika terdapat paresis progresif persisten, yang disertai dengan nyeri regresi parsial (Siebert *et al.*, 2009)

2.5.2 Patofisiologi nyeri neuropatik pada Stenosis Spinal Lumbal

Nyeri neuropatik dapat disebabkan oleh lesi nosiseptif dalam diskus yang mengalami degenerasi. Selain itu, dapat juga diakibatkan oleh kompresi mekanis dari

akar saraf atau oleh efek dari mediator inflamasi yang timbul dari diskus degeneratif yang mengakibatkan inflamasi dan kerusakan pada akar saraf (Baron *et al.*, 2016).



Gambar 2.10 Patofisiologi nyeri neuropatik pada SSL (Baron *et al.*, 2016)

2.5.3 Gejala Klinis dan Diagnosis

Diagnosis SSL dapat ditegakkan berdasarkan presentasi klinis, pemeriksaan fisik dan penunjang. Gejala klinis yang biasanya muncul pada pasien dengan SSL berupa nyeri punggung unilateral atau bilateral disertai nyeri pada kaki yang berkembang dan bertahan selama beberapa bulan hingga tahun. Nyeri punggung yang dirasakan terlokalisir pada tulang belakang bagian lumbal dan dapat menjalar ke daerah gluteal, selangkangan dan tungkai, yang seringkali menunjukkan pola pseudoradikuler. Pada kasus stenosis reses lateral atau stenosis foraminal dapat timbul gejala berupa radikulopati. Klaudikasio neurogenik merupakan gejala SSL yang paling spesifik meskipun hampir selalu disertai dengan gejala lebih lanjut. (Siebert *et al.*, 2009)

Secara klinis, klaudikasio neurogenik dapat dibedakan dengan klaudikasio intermiten vaskular yakni berdasarkan gejala nyeri regresi setelah fleksi (*delordosis*)

tulang belakang (misalnya, saat bersepeda). Berbeda dengan klaudikasio vaskular, sensasi nyeri pada pasien SSL tidak mereda saat berdiri dan memiliki proporsi relatif pada nyeri punggung bagian bawah (sebagai indikator patologi seperti ketidakstabilan tulang belakang bersamaan atau *arthrosis* sendi faset) disertai adanya komponen nyeri tungkai. Selain itu, diketahui bahwa sekitar 20% pasien dengan SSL menunjukkan gejala depresi dan 25% merasakan perasaan tidak puas dengan kehidupan mereka sebelum melakukan operasi (Siebert *et al.*, 2009)

Adapun presentasi klinis yang dapat ditemukan pada seseorang dengan nyeri neuropatik dan SSL sedikit berbeda dengan presentasi klinis penderita SSL saja yakni berdasarkan suatu penelitian di Turki yang menyebutkan bahwa terdapat beberapa kriteria diagnosis berdasarkan pengukuran alat skrining berupa kuisisioner tes DN4. Kuisisioner ini berisi tujuh pertanyaan yang berkaitan dengan gejala dan tiga pertanyaan terkait dengan pemeriksaan klinis. Setiap pertanyaan memiliki skor 1 (positif) atau 0 (negatif), dan apabila terdapat skor total ≥ 4 dari 10 pertanyaan maka hal ini menunjukkan adanya nyeri neuropatik yang terjadi. Kuisisioner ini menilai beberapa gejala seperti rasa terbakar, kesemutan, kepekaan terhadap sentuhan, nyeri akibat tekanan ringan, nyeri seperti sengatan listrik, nyeri dingin atau panas, dan mati rasa, yang merupakan gejala khas nyeri neuropatik dan diketahui berkorelasi dengan adanya peningkatan usia, peningkatan indeks massa tubuh, dan skor skala analog visual pada nyeri neuropatik. Penelitian lain juga menyebutkan nyeri bokong dan nyeri pada kaki juga diketahui berkaitan dengan adanya nyeri neuropatik (Ağırman *and* Akgün, 2018)

Nyeri neuropati pada kasus *Lumbar Spinal Stenosis* (LSS) memiliki rasa nyeri yang sama kualitasnya dengan radikulopati lumbar, yaitu nyeri yang menjalar dari

punggung melalui bokong kemudian menuju ke ekstremitas bawah. Pada LSS Gerakan seperti berjalan dan menuruni tangga (ekstensi lumbar) dapat memperburuk nyeri, sedangkan gerakan seperti duduk akan meringankan nyeri (Patel, *et al.*, 2018)

Nyeri neuropati yang ditimbulkan pada LSS dapat berupa nyeri tajam dan mati rasa. Hal ini dapat dilihat melalui skor LANSS (*Leads Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs*). Yang termasuk karakteristik nyeri neuropati berupa nyeri saat dilakukan sentuhan ringan seperti saat menggunakan baju, nyeri seperti sengatan listrik yang terjadi secara tiba-tiba, nyeri yang panas, *allodynia* dan *Pin Prick threshold* (PPT) yang positif. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Park *et al.*, 2015 didapatkan bahwa 1/3 pasien dengan LSS memenuhi karakteristik dari nyeri neuropati berdasarkan skor LANSS (Park *et al.*, 2015)

Selanjutnya, pemeriksaan fisik berupa tes *lasegue* (tes meregangkan kaki secara pasif) sering ditemukan dengan hasil negatif pada pasien SSL disertai dengan perasaan kaki yang berat. Pada pemeriksaan penunjang dapat dilakukan Foto polos *x-ray* lumbosakral digunakan sebagai penilaian rutin untuk pasien dengan *back pain*. Apabila dilakukan dalam posisi AnteroPosterior, lateral dan obliq akan tampak gambaran kerucut *lumbosacral junction*, dan spina dalam posisi fleksi serta ekstensi. Hal ini dilakukan untuk mendapat informasi ketidakstabilan segmen maupun deformitas. Penemuan radiografi yang mengarahkan kecurigaan pada lumbal stenosis degeneratif adalah pada keadaan spondilolistesis degeneratif dan skoliosis degeneratif (Fraser *et al.*, 2003; Fortin and Wheeler, 2004; Siebert *et al.*, 2009)

CT scan juga dapat dilakukan untuk mengevaluasi tulang, khususnya pada bagian *resesus lateral*. Selain itu *CT scan* juga dapat memberikan visualisasi abnormalitas sendi

faset, abnormalitas diskus laterali yang mengarahkan kecurigaan pada lumbar stenosis, serta dapat membedakan stenosis sekunder akibat fraktur. (Fraser *et al.*, 2003; Fortin and Wheeler, 2004; Siebert *et al.*, 2009)

Magnetic Resonance Imaging (MRI) menjadi *gold standar* diagnosis *lumbar stenosis* dan sebagai media untuk perencanaan operasi. Kelebihan MRI adalah dapat mengakses jumlah segmen yang terkena dan dapat mengevaluasi bila terdapat tumor serta infeksi. Selain itu, MRI juga dapat membedakan kondisi stenosis *central* dan stenosis *lateral*, melihat penebalan kapsuler, abnormalitas sendi faset, osteofit, herniasi diskus, dan ada atau tidaknya lemak epidural. MRI dengan potongan sagital dapat memperlihatkan spina untuk mencari kemungkinan adanya tumor yang bermetastasis ke arah spinal. MRI dengan kombinasi potongan *axial* dan *sagital* juga dapat mengevaluasi *canal central* dan *foramen neural* (Fraser *et al.*, 2003; Fortin and Wheeler, 2004; Siebert *et al.*, 2009)

2.5.4 Penanganan

Tatalaksana pada kasus *Lumbar Spinal Stenosis* dapat dibagi atas manajemen non bedah dan manajemen bedah. Manajemen non bedah dapat dilakukan pada pasien dengan gejala ringan hingga sedang. Manajemen non bedah dapat berupa pemberian obat-obatan, fisioterapi, injeksi spinal, modifikasi gaya hidup, dan rehabilitasi. Perawatan lain berupa latihan penggunaan orthosis, terapi termal, ultrasonografi, pijat, simulasi elektrik, dan terapi traksi. Sedangkan manajemen bedah dapat dilakukan dekompresi dengan laminektomi (Lurie and Tomkins-Lane, 2016)

Penanganan Non bedah / non operatif meliputi :

Obat-obatan

Beberapa obat-obatan yang dapat diberikan pada pasien dengan LSS yakni obat pereda nyeri, antidepresan, anti kejang, dan opioid. Obat pereda nyeri yang dapat diberikan dapat berupa ibuprofen, naproxen, serta asetaminofen. Pereda nyeri ini dapat diberikan untuk mengatasi nyeri dalam periode singkat. Pemberian antidepresan seperti amitriptilin, diketahui dapat meredakan nyeri yang bersifat kronis. Penggunaan antikejang seperti gabapentin dan pregabalin digunakan untuk meredakan nyeri yang disebabkan oleh rusaknya saraf. Selain itu pemberian analgesik (opioid) berupa oksikodon dan hidrokodon juga dapat membantu meredakan nyeri dalam waktu singkat (Lurie *and* Tomkins-Lane, 2016)

Terapi konservatif pemberian obat-obatan berdasarkan panduan praktek klinis neorologis PERDOSSI 2016 :

Analgetik dan obat anti inflamasi non steroid (OAINS), yang bertujuan untuk mengurangi rasa nyeri sehingga mempercepat kesembuhan. Contoh OAINS yang sering digunakan yaitu ibuprofen, desketoprofen dan natrium atau kalium diklofenak. Muscle relaxant, sebagai obat pelemas otot. Contohnya seperti diazepam, eperison dan karisprodol. Opioid, penggunaan obat ini sebagai terapi hanya digunakan pada kasus berat. Opioid cukup efektif untuk mengurangi rasa nyeri namun memiliki efek samping seperti mual dan mengantuk. Analgetik ajuvan, penggunaan terapi ini digunakan pada nyeri campuran. Contohnya seperti anti konvulsan dan anti depresan. Kombinasi pregabalin dan celecoxib lebih efektif untuk menurunkan skor nyeri. Suntikan campuran berupa anestesi lokal dan kortikosteroid kedalam jaringan lunak pada titik picu disekitar tulang punggung

Fisioterapi

Umumnya pasien dengan stenosis spinal akan menjadi kurang aktif untuk mengurangi rasa nyeri yang dirasakan. Akan tetapi hal tersebut dapat menyebabkan kelemahan otot yang berkontribusi pada nyeri yang lebih terasa. Maka fisioterapi bertujuan untuk membentuk kembali kekuatan dan ketahanan, mempertahankan serta meningkatkan fleksibilitas dan stabilitas spinal.

Terapi ini diawali dengan pemberian edukasi untuk memodifikasi aktifitas seperti mengangkat beban dan melakukan kegiatan yang menyebabkan hiperekstensi tulang belakang. Yang termasuk fisioterapi pada perawatan LSS yakni olahraga seperti aerobik, kekuatan, dan fleksibilitas, olahraga spesifik untuk fleksi lumbar seperti bersepeda, *body weight supported treadmill walking*, *muscle coordination training*, *balance training*, dan olahraga-olahraga lainnya.

Berdasarkan beberapa studi, fisioterapi tidak mampu memperbaiki LSS itu sendiri, tetapi fisioterapi dapat meningkatkan fungsi pasien dengan LSS. Bahkan ada studi *Randomized Clinical Trial* (RCT) yang menyatakan bahwa peningkatan aktifitas fisik pada pasien LSS dapat menurunkan gejala-gejala LSS dengan mekanisme yang masih belum diketahui (Lurie *and* Tomkins-Lane, 2016)

2.6 MLC901

MLC901 (NeuroAiD II) merupakan kombinasi dari 9 komponen herbal yaitu *Radix astragali*, *Radix salvia miltiorrhizae*, *Radix paeoniae rubra*, *Rhizoma chuanxiong*, *Radix angelicae sinensis*, *Carthamus tinctorius*, *Prunus persica*, *Radix polygalae* dan *Rhizoma acori tatarinowii* yang kemanjuran dan keamanannya sudah banyak diteliti

secara praklinis dan klinis. Campuran ekstrak ini mengandung bahan aktif seperti *astragaloside IV (AST-IV)*, *salvianolic acid B (SAB)*, *tanshinone IIB (TSB)*, *tetramethylpyrazine (TMP)*, *ferulic acid*, *ligutilide* dan *butylidenephthalide*, β -asarone, *hydroxyl safflower yellow A (HSYA)* *total paeony glycoside (TPG)* dan *presenegenin*. (Huang *et al.*, 2019)

Pada hewan coba percobaan *in vitro* dan *in vivo* MLC901 memiliki sifat neuroprotektif dan neuroproliferatif dengan cara memfasilitasi restorasi sirkuit neuron melalui efek antioksidan, promosi dari proliferasi sel dan stimulasi dari akson dan dendrit sirkuit neuron setelah cedera otak. Secara umum terdapat 3 efek positif dari MLC901 yaitu neurogenesis, neurorestorasi dan neuroproteksinya dengan efek yang terakhir lebih lemah dibandingkan yang lain. Tikus yang mengalami cedera iskemik dan diberikan MLC901 menunjukkan peningkatan kelangsungan hidup, pemulihan neurologis, penurunan neurodegenerasi dan meningkatkan fungsi kognitif (Quintard *et al.*, 2011, 2014; Kumar *et al.*, 2016; Suwanwela *et al.*, 2018; Theadom *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2019)

Pemberian MLC901 dapat mencegah eksitotoksitas dengan menghambat influks Ca^{2+} yang berlebihan, mengaktivasi kanal K_{ATP} yang menginduksi kondisi hiperpolarisasi dan mencegah pelepasan eksitotoksik glutamate terutama pada neuron yang menderita kekurangan energi. Aktivasi kanal K_{ATP} juga disebabkan karena efek MLC901 yang menghambat glibenklamid, *inhibitor* spesifik K_{ATP} (Moha Ou Maati *et al.*, 2012; Heurteaux *et al.*, 2013).

MLC901 menyebabkan penurunan apoptosis dengan menurunkan tingkat protein Bax, yang merupakan molekul proapoptosis yang kuat, anggota keluarga Bcl-2 yang memicu aktivasi caspase terminal .(Quintard *et al.*, 2011; Heurteaux *et al.*, 2013)

Eksperimen *in vitro* pada kultur sel kortikal telah menunjukkan bahwa MLC901 membantu mengembangkan arborisasi aksonal dan dendritik serta jaringan neuritik yang padat dengan pemanjangan dan peningkatan jumlah percabangan. Peningkatan kepadatan dan percabangan ini mempunyai korelasi yang kuat dengan peningkatan sinaptogenesis (Heurteaux *et al.*, 2013)

Salah satu mekanisme yang mungkin dari efek MLC901 yang dijelaskan sebelumnya termasuk kemampuannya untuk merangsang sekresi BDNF yang merupakan faktor pertumbuhan penting yang mengatur kelangsungan hidup saraf dan plastisitas otak. Data *in vitro* menunjukkan bahwa pengobatan MLC901 selama 6 minggu (6 mg/ml) meningkatkan ekspresi BDNF di neuron kortikal (Heurteaux *et al.*, 2010, 2013)

Pada kondisi iskemia MLC901 mempunyai dua efek angiogenesis yang berbeda tergantung dengan waktu. Pada fase awal MLC901 menurunkan kadar VEGF dan *Hypoxic inducible factor 1 α* (Hif1 α) kemungkinan untuk menjaga integritas BBB tetapi pada fase lanjut meningkatkan VEGF dan Hif1 α untuk meningkatkan angiogenesis dan remodelling pembuluh darah. Kandungan TMP pada MLC901 memiliki efek antiangiogenik dengan menghambat ox-LDL yang menginduksi ekspresi *endothelial cell adhesion molecule 1* (ECAM1), VEGF, VEGFR2, Notch1, Jagged1, and Hes1 melalui jalur VEGF/VEGFR2 dan Jagged1/Notch1. TMP juga menghambat jalur VEGF/Hippo/YAP sehingga *sprouting* pembuluh darah dan pematangan *junction* berkurang (Gandin *et al.*, 2016; Lin *et al.*, 2022)

TMP memiliki efek menurunkan nyeri neuropatik dan proses inflamasi saraf dengan menghambat jalur sinyal *JUN amino-terminal kinase* (JNK), JNK-MMP2/9, efek analgesia mungkin juga disebabkan peranan TMP yang mengatur ekspresi protein Bcl-2 dan caspase-3 untuk menghambat apoptosis. TMP mempunyai efek neuroprotektif pada cedera korda spinalis dengan mengaktivasi jalur PGC-1 α dan menghambat apoptosis sel saraf, menghambat kerusakan sel saraf dengan menghambat inflamasi dan meningkatkan angiogenesis, hambatan apoptosis sel saraf juga diduga karena TMP menurunkan ekspresi miR214-3p dan meningkatkan Bcl-2 (Lin *et al.*, 2022)

MLC901 dapat berfungsi sebagai pengobatan dan sekaligus pencegahan. Pemberian intraperitoneal secara akut (1 μ g/tikus dalam bolus 500 μ l) menginduksi tingkat kelangsungan hidup yang tinggi dan secara drastis menurunkan infark serebral dengan penurunan volume stroke sekitar 50% dibandingkan dengan tikus kontrol pada 30 jam setelah iskemia. MLC901 juga efektif dalam pencegahan, karena pengobatan awal MLC901 selama 6 minggu yang diberikan dalam air minum (6 mg/ml) sebelum induksi iskemia menyebabkan penurunan yang nyata dari kematian hewan yang dirawat dan penurunan infark otak mereka. (Heurteaux *et al.*, 2013)

MLC901 pada kondisi iskemia mempertahankan cadangan normal sel mikroglia yang biasanya menurun, mempengaruhi ekspresi gen berbagai sitokin dan kemokine yang muncul. MLC901 menurunkan ekspresi sitokin pro inflamasi seperti IL-11, IL-1 β , IL-6 dan TNF- α dan meningkatkan ekspresi ILR-4R α yang merupakan *marker* antiinflamasi spesifik pada *M2 state.*, namun MLC901 juga diketahui tidak mempengaruhi IL-10 yang termasuk sitokin antiinflamasi. MLC901 menurunkan ekspresi matrix metalloproteinase

(MMP-9). Kandungan bahan herbal dan bahan aktif beserta efek MLC901 diringkas dalam tabel 2.3(Widmann *et al.*, 2018)

Tabel 2.3 Kandungan bahan herbal dan bahan aktif serta efek dari MLC901

| No | Bahan Herbal | Bahan aktif | Efek utama | Efek tambahan | Referensi |
|----|----------------------------|--|--|--|--|
| 1 | Radix astragali | Astragaloside IV (AST-IV) | antiviral, antiinflamasi, antioksidan, antihiperlikemia, antiasma kronik gastroproteksi, neuroproteksi <i>and</i> antiapoptosis | meningkatkan katabolisme lipid, meningkatkan fungsi mitokondria menurunkan BB | (Huang <i>et al.</i> , 2019; Luo <i>et al.</i> , 2021) |
| 2 | Radix salvia miltiorrhizae | salvianolic acid B (SAB), tanshinone | Efek neuroprotektif melalui penghambatan jalur TLR4/MyD88/TRAF6, menghambat transkripsi NFκB dan respon sitokin pro inflamasi IL-1β, IL-6, TNFα | Pengobatan ketergantungan obat, menstimulasi pelepasan dopamin | (Cao <i>et al.</i> , 1996; Koo, Kwon <i>and</i> Kim, 2004; Huang <i>et al.</i> , 2019) |
| 3 | Radix paeoniae rubra | total paeony glycoside (TPG) | Antikoagulasi, meningkatkan memori, imunoregulator, antikanker, antioksidan dan antidiabetik | Menurunkan stress oksidatif, inflamasi dan apoptosis saraf, proteksi BBB dengan kombinasi TPG:TPLA = 7:3 | (Huang <i>et al.</i> , 2019; Gu <i>et al.</i> , 2020) |
| 4 | Rhizoma chuanxiong | Total lingustici phenolic acids (TLPA), tetramethylpyrazine (TMP) , ferulic acid, | antioksidan, antiinflamasi, antiapoptosis, vasodilatasi, angiogenesis, supresi kerusakan mitokondria, proteksi endotel, mengurangi proliferasi dan migrasi sel otot polos pembuluh darah, neuroproteksi | Mengurangi neuroinflamasi dan nyeri neuropatik, antiangiogenik | (Huang <i>et al.</i> , 2019; Gu <i>et al.</i> , 2020; Lin <i>et al.</i> , 2022) |
| 5 | Radix angelicae sinensis | Ligustilide , butylidenephtalid e, ferulic acid | Menghambat neuro inflamasi dengan menekan produksi TNF-α, PGE2, NO pada makrofag. Menurunkan lipopolisakarida yang menginduksi TNFα, IL-1β dan MCP-1 pada mikroglia, menghambat aktivasi glia, dan ekspresi TLR4 | Menghambat nyeri inflamasi kronik, menurunkan hipersensitifitas | (Qian <i>et al.</i> , 2016; Huang <i>et al.</i> , 2019) |

Lanjutan Tabel 2.3 Kandungan bahan herbal dan bahan aktif serta efek dari MLC901

| No | Bahan Herbal | Bahan aktif | Efek utama | Efek tambahan | Referensi |
|----|---------------------------|------------------------------------|--|---|---|
| 6 | Carthamus tinctorius | hydroxyl safflower yellow A (HSYA) | Antiinflamasi, antioksidan, obat kardiovaskular, efek neuroproteksi | Anti asma, mengurangi fibrosis paru | (Guo <i>et al.</i> , 2019; Huang <i>et al.</i> , 2019) |
| 7 | Prunus persica | Astragalin, vitamins | antikanker, antiinflamasi, antioksidan, neuroprotektif, antidiabetik, kardioprotektif, antiulcer, dan antifibrosis | Menurunkan CCL-4, menghambat NFκB dan TNFα, IL-1β | (Riaz <i>et al.</i> , 2018; Huang <i>et al.</i> , 2019) |
| 8 | Radix polygalae | Presenegenin/ Reinosides | immunoadjuvant, antiproliferative, antiinflamasi, <i>hypolipidemic</i> , antidepressan, neuroproteksi, meningkatkan memori | | (Toshio Miyase, Hideki Saitoh, 1995; Huang <i>et al.</i> , 2019) |
| 9 | Rhizoma acori tatarinowii | β-asarone | Antiinflamasi, menekan ekspresi IL-6, IL-1β, menginduksi NO synthase (i-Nos) dan ekspresi COX-2, menghambat aktivasi mikroglia | Memperbaiki gangguan ingatan dan synaptic plasticity, meningkatkan BB | (Huang <i>et al.</i> , 2019; Lam <i>et al.</i> , 2019; Xiao <i>et al.</i> , 2019) |

2.7 Gangguan Saraf Perifer dan Model Lesi Hewan Coba

2.7.1 Penyebab Gangguan Saraf Perifer

Penyebab lesi saraf perifer dapat dibagi menjadi : (Sharon *et al.*, 2004)

1. Trauma mekanik: berhubungan dengan lesi kompresi yang akut sebagai contoh *Saturday night paralysis* dari nervus radialis dan *'tourniquet paralysis'* akibat pemasangan tourniquet.

2. *Crush injury* mengakibatkan lesi saraf perifer yang lebih parah, biasanya disertai dengan kerusakan jaringan disekitarnya.
3. *Laceration injury* yang dapat disebabkan oleh trauma tumpul maupun luka tusuk
4. Trauma tarikan
5. *Cold injury*

2.7.2 Klasifikasi lesi saraf perifer

Berbagai macam klasifikasi dari lesi saraf perifer telah dibuat, akan tetapi klasifikasi yang baik harus berdasarkan :

1. Kerusakan komponen serabut saraf
2. Adanya gangguan fungsi serabut saraf
3. Kemampuan untuk “sembuh” secara spontan

Berdasarkan hal tersebut pada tahun 1943 Seddon membuat klasifikasi lesi saraf perifer menjadi 3 yaitu :

1. *Neuropraxia*: hilangnya fungsi saraf perifer dalam waktu yang pendek akibat gangguan konduksi, tidak didapatkan adanya kerusakan sistem saraf dan dapat kembali secara normal tidak lebih dari 3 minggu
2. *Axonotmesis*: Adanya kerusakan struktur akson tetapi jaringan endoneuriumnya masih tetap utuh, dapat sembuh secara spontan, tetapi dapat juga terjadi degenerasi Wallerian pada sisi distal lesi

3. *Neurotmesis*: Terdapat kerusakan akson, mielin dan komponen jaringan pembungkusnya perineurium atau epineurium. Tidak mungkin terjadi penyembuhan secara spontan seringkali terjadi fibrosis ditempat lesi.

Pada tahun 1951 Sunderland membagi lesi saraf perifer menjadi 5 grade, yaitu :

(Grant, Goodkin, Kliot, 1999)

- Grade I = *neuropraxia*

- Grade II = *axonotmesis*

- Grade III = terjadi kerusakan akson dan endoneurium tetapi perineurium masih tetap utuh, sehingga tidak dapat sembuh secara spontan, terjadi pembentukan jaringan fibrosis intraneural.

- Grade IV = terjadi kerusakan pada fasikulus (akson, endoneurium dan perineurium tetapi epineurium tetap utuh.

- Grade V = terjadi kerusakan secara komplit, sehingga terbentuk jaringan fibrosis diantara lesi

Pada tahun 1988 Makinnon dan Dellon memperkenalkan grade VI klasifikasi dari Sunderland dengan kerusakan saraf perifer yang lebih kompleks (Grant, Goodkin and Kliot, 1999)

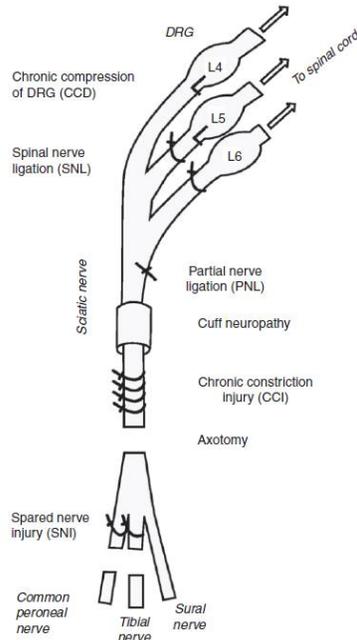
2.7.3 Model lesi saraf perifer

Nyeri neuropatik dapat timbul setelah cedera saraf perifer maupun cedera saraf pusat, juga disebabkan oleh adanya iskemia, gangguan metabolik maupun adanya toksin. Model nyeri neuropatik pada hewan coba berusaha untuk mendekati pola dari penyebab tersebut. Model nyeri neuropatik karena cedera pada korda spinalis didapat melalui

kerusakan langsung berupa kontusio, lesi pembedahan, radiasi laser untuk menimbulkan iskemia, penggunaan neurotransmitter yang menyebabkan eksotoksisitas. Model spinal cord seperti ini menimbulkan hiperalgesia mekanis dan panas yang dapat dilihat dengan perubahan perilaku hewan coba melalui tes *place preference*. (Stemkowski and Smith, 2011)

Model nyeri neuropatik akibat gangguan saraf perifer dapat berupa ligasi/pemotongan saraf spinal, ligasi/lesi pada saraf isiadikus, ligasi cabang saraf spinal (SNI/*spared nerve injury*), injeksi inflammatory irritant (zymosan). Meskipun Tes *Behavior* tidak dapat membedakan jenis cedera yang kita berikan namun dapat memberikan penurunan ambang menarik diri (*withdrawal threshold*) terhadap stimulus panas dan nyeri, dan juga gerakan spontan menjaga ekstremitas yang cedera.

Beberapa gangguan seperti trauma, kompresi, infeksi, penyakit metabolik, neurotoksin, tumor dan lainnya bertanggung jawab terhadap timbulnya nyeri neuropatik pada manusia. Kondisi neuropathi pada manusia ini sudah lama ditirukan pada hewan dengan model nyeri neuropatik perifer, seperti ligasi saraf spinal, *spared nerve injury*, *chronic constriction injury*, cedera saraf sebagian. Sebagian besar model tersebut tampak pada gambar 2.11 (Stemkowski and Smith, 2011)



Gambar 2.11 Model nyeri neuropatik saraf perifer pada hewan coba (Stemkowski *and* Smith, 2011)

Penekanan kronis ganglion akar dorsalis

Pada model ini ganglion dorsalis L4 dan L5 ditekan menggunakan batang besi stainless. Penekanan kronis menimbulkan perilaku terkait nyeri pada sisi ipsilateral, seperti *allodynia* kulit, nyeri spontan yang muncul 1 hari setelah cedera saraf dan bertahan hingga lebih dari 1 bulan. Efek kompresi kronis ganglion akar dorsalis diduga berhubungan dengan peningkatan eksitabilitas sel saraf akibat penekanan ganglion dan aktifitas sistem saraf simpatis. Pada manusia, penonjolan diskus atau stenosis spinalis dapat menekan ganglion akar dorsal dan menimbulkan nyeri pinggang bawah dan nyeri isiadikus. (Niederberger, Kühlein *and* Geisslinger, 2008; Stemkowski *and* Smith, 2011)

Ligasi Saraf Spinal

Pada percobaan mononeuropati ini, saraf spinal L5 dan L6 unilateral distal dari ganglion akar dorsalis dilakukan ligasi kuat menghasilkan hiperalgesia dan *allodynia* dalam waktu 24 jam dan paling lambat 4 bulan. Pada varian model ini hanya L5 yang diligasi. Model ini dapat disamakan dengan kondisi cedera saraf pleksus atau akar dorsalis pada manusia. Peneliti dapat menilai perubahan pada akson diantaranya redistribusi gerbang sodium yang merupakan kondisi munculnya nyeri neuropatik (Niederberger, Kühle *and* Geisslinger, 2008; Stemkowski *and* Smith, 2011)

Partial Nerve Ligation (Ligasi Sebagian Saraf Spinal)

Metode ini digunakan untuk meniru munculnya gejala nyeri spontan pada manusia setelah cedera saraf parsial, dengan melakukan penjahitan dan pengikatan unilateral secara kuat pada hampir separuh saraf isiadikus. Hewan coba akan menunjukkan perilaku yang mirip dengan konstiksi saraf kronis yang muncul dalam hitungan jam dan bertahan hingga lebih dari 7 hari. Metode ini juga dapat menimbulkan nyeri pada sisi kontralateral, memunculkan gejala nyeri bilateral. Simpatotomi dan pendinginan kulit dapat mengurangi gejala yang muncul pada percobaan ini. (Stemkowski *and* Smith, 2011)

Ligasi sebagian saraf Isiadikus (Spared Nerve Injury)

Ligasi unilateral sekitar 33-50% saraf isiadikus dengan memisahkan cabang distal pada paha atas menimbulkan cedera saraf sebagian. Model ini didasarkan pada pemisahan dan ligasi dua dari tiga cabang saraf isiadikus: saraf tibialis dan peroneus

komunis diligasi sedangkan saraf suralis dibiarkan intak. Perbedaan dengan beberapa model neuropati yang lain adalah adanya area degeneratif akson yang terbatas, sehingga memungkinkan melakukan percobaan perilaku antara area kulit yang tidak terkena dengan area kulit yang mengalami denervasi. (Niederberger, Kühlein *and* Geisslinger, 2008; Stemkowski *and* Smith, 2011)

Teknik ini dapat memunculkan gejala kurang dari 24 jam dan bertahan hingga lebih dari 6 bulan. Setelah pembedahan, hewan mengalami nyeri spontan yang ditandai oleh perilaku mencakar dan menjilat kaki belakang sisi ipsilateral. Sebagai tambahan, hewan menderita *allodynia* terhadap stimulasi mekanik dan hiperalgesia terhadap suhu dan rangsangan mekanis yang nyata, *autotomy* tidak dijumpai dan terjadi deafferensiasi sedang. (Niederberger, Kühlein *and* Geisslinger, 2008; Stemkowski *and* Smith, 2011)

Perubahan perilaku dan kelainan sensoris pada model ini berhubungan dengan gejala sindrom nyeri regional yang kompleks pada manusia setelah cedera saraf perifer. *Sprouting* menuju ganglion akar dorsalis membutuhkan waktu lebih lama sekitar 8 minggu dan gejala yang timbul bisa berkurang dengan simpatektomi. (Niederberger, Kühlein *and* Geisslinger, 2008; Stemkowski *and* Smith, 2011)

Chronic Constriction Injury (CCI)

Pada model lesi neuropatik yang sangat nyeri ini saraf isiadikus mengalami konstriksi kronis dengan cara pengikatan longgar setinggi pertengahan paha. Hal ini menghasilkan inflamasi saraf yang berhubungan dengan deafferensiasi ekstensif distal dari ligasi. Model ini dapat digunakan untuk meneliti perilaku terkait nyeri meliputi

alodinia dingin dan mekanik, hiperalgesia panas dan kimia. Model ini sama dengan kondisi klinis kompresi saraf kronis pada manusia yang dapat terjadi setelah penonjolan diskus lumbal atau saraf terjepit, keracunan logam berat, anoksia dan kelainan metabolik (Niederberger, Kühlein *and* Geisslinger, 2008; Stemkowski *and* Smith, 2011)

Hewan menunjukkan tanda-tanda perilaku seperti sikap badan abnormal yang cenderung menjaga bagian yang sakit, pemanjangan kuku pada ekstremitas belakang ipsilateral disebabkan kurangnya perhatian dan penggunaan ekstremitas tersebut. Efek ini timbul dalam waktu 24 jam setelah pembedahan dan paling akhir dalam periode 2 bulan. (Niederberger, Kühlein, Gisslinger, 2009; Martin dan Eisenach, 2001)

Perubahan fisiologis yang terjadi pada model lesi ini berupa penurunan imunoreaktivitas terhadap CGRP dan substansi P, sedangkan terhadap met-enkefalin terjadi peningkatan. *Firing* spontan pada DRG dan neuron kornu dorsalis lumbal lebih tinggi dibanding kontralateral. Aktivitas metabolik pada berbagai tempat di otak yang terlibat dalam transmisi nyeri juga meningkat. *Sprouting* akson simpatis menuju ganglion akar dorsalis dimulai pada hari ke 4 dan paralel dengan perubahan perilaku yang muncul. Pemeriksaan histologis menunjukkan kehilangan selektif dari akson A α dan A β distal dari lesi, degenerasi trans-sinaps sel neuron pada kornu dorsalis korda spinalis (Stemkowski PL, Smith PA, 2013; Martin dan Eisenach, 2001).

Cuff neuropathy

Mirip dengan CCI tetapi dengan meletakkan polyethylene bulat dengan diameter yang sama di sepanjang saraf isiadikus untuk mengurangi interpretasi antar peneliti

akibat pengikatan longgar. (Niederberger, Kühlein *and* Geisslinger, 2008; Stemkowski *and* Smith, 2011)

Berbeda dengan CCI, cuff neuropathy menghasilkan perubahan yang konsisten pada serabut distal lesi. Perubahan yang terjadi seperti penurunan yang menetap pada akson besar bermyelin, tetapi transiet saja pada akson kecil bermyelin dan tidak bermyelin. Seiring kehilangan akson besar bermyelin sehingga menurunkan fungsi dari cuff, tidak berkorelasi dengan perilaku nosifensive sehingga diduga ada faktor lain misalnya inflamasi sebagai faktor penyebab neuropatik selain kehilangan akson. (Stemkowski *and* Smith, 2011)

Aksotomy (Pembentukan Neuroma)

Untuk menginduksi neuroma, saraf isiadikus diligasi dengan kuat setinggi pertengahan paha menggunakan benang silk dan kemudian dipotong. Ujung distal tabung saraf dibiarkan terbuka. Sekitar 5 mm distal dari ujung stump dieksisi untuk mencegah regenerasi. Ujung saraf yang membentuk neuroma menunjukkan hipereksitabilitas dan sensitisasi mekanik dan merupakan model cedera saraf yang menarik. (Niederberger, Kühlein, Gisslinger, 2009)

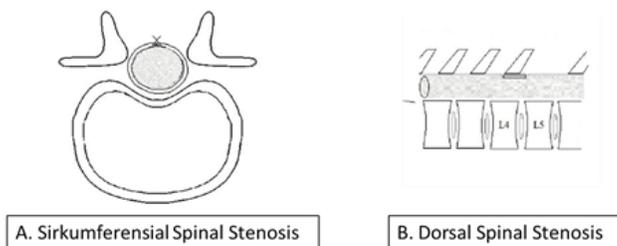
Penghancuran saraf

Pada model ini saraf isiadikus dibuka setinggi pertengahan paha dan dihancurkan menggunakan forsep hemostat bergerigi. Hiperalgnesia dan *allodynia* terhadap raba dan suhu muncul dalam waktu 3 minggu dan berakhir paling tidak dalam 52 minggu. Saraf

yang rusak mengalami degenerasi wallerian sekaligus mengalami proses regenerasi. (Niederberger, Kühlein, Gisslinger, 2009)

Kompresi *cauda equina* (Spinal Stenosis)

Kompresi *cauda equina* biasanya dilakukan dengan memberikan kompresi melalui silikon yang diletakkan pada bagian dorsal epidural L4-L5. Ada juga yang mengatur derajat stenosis untuk menghindari terjadinya epidural fibrosis. Perubahan perilaku muncul pada hari pertama sampai hari ke 14. Menimbulkan gangguan perilaku, claudicatio neurogenik intermitten. Model sirkumferensial spinal stenosis masih jarang dilakukan dapat menyebabkan kelainan motorik, kelainan elektrofisiologi serabut saraf dan demielinisasi yang merupakan bagian dari gejala nyeri neuropatik. Ringkasan dari model nyeri neuropatik saraf perifer tampak pada tabel 2.4, gambar skematis dari kompresi *cauda equina* tampak pada gambar 2.12 (Watanabe *et al.*, 2007; Stemkowski *and* Smith, 2011; Cheung, Hu *and* Cheung, 2019)



Gambar 2.12 Gambar skematis model nyeri neuropatik kompresi *cauda equina* (Cheung, Hu *and* Cheung, 2019)

Tabel 2.4 Ringkasan model nyeri neuropatik saraf perifer pada hewan coba (Stemkowski and Smith, 2011)

| Model | Prosedur | Perilaku terkait nyeri | Korelasi Klinis | Onset | Puncak | Durasi | HistoPA |
|--|--|---|---|---|--|--|---|
| Kompresi Ganglion Akar Dorsalis | Implantasi stainless unilateral pada foramen L4 atau ganglion akar dorsal L5 | Postur dan Gait Asimetrik Alodinia mekanik Hiperalgnesia mekanik dan panas Nyeri spontan | Nyeri pinggang bawah kronis, sciatica, hyperalgnesia dan alodinia mekanik | 1 hari | 1-2 hari : alodinia mekanik dan hyperalgnesia panas 4 hari : hiperalgnesia mekanik 7 hari : hyperalgnesia dingin <1 minggu: nyeri spontan | 2 minggu : alodinia mekanik 3 minggu hyperalgnesia panas >5 minggu nyeri spontan | Sprouting simpatis menuju ganglion akar dorsalis |
| Ligasi Saraf Spinal (SNL) | Pengikatan kuat segmen L5-6 unilateral (Silk 6.0) | Postur dan Gait Asimetrik Alodinia mekanik dan dingin Hiperalgnesia panas Nyeri spontan Hilang dengan simpatektomi | Nyeri causalgia | 1 hari (alodinia) 3 hari (hyperalgnesia) | 1-2 minggu | 5 minggu | Sprouting simpatis menuju ganglion akar dorsalis |
| Ligasi Saraf Parsial (PNL) | Pengikatan kuat 1/3-1/2 saraf isiadikus unilateral (silk 8.0) | Postur dan Gait Asimetrik Alodinia mekanik Hiperalgnesia mekanik dan panas Nyeri spontan Bisa dihilangkan dengan simpatektomi | Nyeri causalgia, ikut mengenai sisi kontralateral Nyeri yang dipengaruhi simpatis | Hitungan jam | Tergantung tes behavioral dan parameter yang dinilai | > 7 bulan | N/A |
| Ligasi Sebagian Saraf Isiadikus (SNI) | Ligasi (silk 5.0) dan transeksi distal saraf tibial dan peroneal | Postur dan Gait Asimetrik Alodinia mekanik dan dingin pada lateral kaki belakang Hiperalgnesia mekanik dan panas pada lateral kaki belakang | Kumpulan gejala nyeri neuropatik | <24 jam | 14 hari | > 6 bulan | Sprouting saraf simpatis menuju ganglion akar dorsal L4. |
| Konstriksi Kronis (CCI) | Pengikatan longgar saraf isiadikus | Postur dan Gait Asimetrik Alodinia mekanik dan dingin Hiperalgnesia panas dan kimia Autotomy | Mononeuropati perifer nyeri hebat, seperti nyeri spontan, disestesia Sindrome nyeri regional yang kompleks (causalgia, distrofi reflek simpatis) | 2 hari | 10-14 hari | 2 bulan | Tidak ada kerusakan akson proksimal lesi Kehilangan selektif serabut saraf besar bermielin Atraksi otot Degenerasi transsinap lamina I-II ipsil dan kontralateral Sprouting saraf simpatis menuju DRG |
| Cuff Neuropathy | Meletakkan polyethilen cuff dengan diameter yang tetap pada saraf isiadikus | Postur dan Gait Asimetrik Alodinia mekanik dan dingin Autotomi | Mononeuropati perifer nyeri hebat, seperti nyeri spontan, disestesia | 3 hari | 10-14 hari | 28 hari | Kehilangan menetap akson besar bermielin distal lesi Konkmitan Wallerian degenerasi Reaksi inflamasi Peningkatan akson simpatis |
| Axotomy | Pemotongan saraf isiadikus unilateral | Postur dan Gait Asimetrik, Autotomy, dapat dihilangkan dengan simpatektomi | Anesthesia Dolorosa | 2 minggu | 107 hari | N/A | Neuroma, degenerasi saraf distal, sprouting akson menuju DRG |
| Penghancuran Saraf | Penghancuran saraf isiadikus menggunakan forsep bergeligi | Hiperalgnesia mekanik dan suhu | N/A | 3 minggu | N/A | 52 minggu | Degenerasi wallerian |
| Kompresi Kauda Equina | Memberikan media kompresi | Gangguan motorik Hiperalgnesia Claudicatio | Gejala penekanan Saraf, Claudicatio intermitten neurogenik | 1 hari | 14 hari | N/A | Demielinisasi akson |

2.8 Alat Pengukur Respon *Behavior* hewan Coba

Sebagai bagian dari parameter penelitian, respon *Behavior* hewan coba yang menunjukkan adanya neuropatik perlu di buktikan dengan suatu alat. Pengujian terhadap alat tersebut dilakukan untuk membuktikan manfaatnya dalam menguji respon *Behavior* hewan coba dengan kondisi nyeri. Prinsip kerja dari alat yang digunakan adalah adanya rangsangan panas (*thermal test*). *Hot Plate test* pertama kali diperkenalkan pada tahun 1944 untuk menentukan *threshold* panas pada tikus. Pada *Hot Plate Test* yang konvensional, hewan coba diletakkan pada permukaan besi dengan suhu 50⁰C-54⁰C dan mencatat waktu laten yaitu jangka waktu sampai hewan coba memunculkan nocifensive *Behavior*. *Dynamic hot plate test* pertama kali diperkenalkan pada tahun 1984 dengan

menggunakan alat pemanas yang meningkat suhunya. Pada alat tes dinamik ini, hewan coba diletakkan pada suhu pemanas yang tidak menyakitkan (*non noxious*) biasanya $<42^{\circ}\text{C}$ kemudian naik secara perlahan dan konstan sampai timbul respon nocifensive. Respon yang timbul tergantung pada suhu awal, suhu ruangan dan kecepatan pemanas, dimana pemanas yang naik secara cepat memberikan respon pada suhu yang lebih tinggi. (Deuis, Dvorakova and Vetter, 2017)

Respon *nocifensive* yang timbul karena panas berupa menjilat kaki depan (*Forepaw Licking*), menjilat kaki belakang (*Hindpaw Licking*), menghentakkan kaki (*Stamping*), berdiri bersandar pada dinding (*Leaning*) dan melompat (*Jumping*). Kualitas data yang didapatkan akan lebih baik bila mencatat waktu timbulnya perilaku dibandingkan mencatat jenis perilaku tertentu dan bila menggunakan suhu yang lebih rendah. (Deuis, Dvorakova and Vetter, 2017)

Kekurangan yang bisa di temukan pada penggunaan hot plate test adalah kecenderungan munculnya *learned Behavioral responses*, stimulus panas dapat mengenai keempat telapak kaki dan ekor terutama bila menguji efek panas hanya pada satu sisi saja. (Deuis, Dvorakova and Vetter, 2017)

Tikus yang di letakkan pada pemanas pertama kali menunjukkan pola perilaku eksplorasi yang dilanjutkan dengan bereaksi terhadap stimulus panas dan berakhir dengan upaya melarikan diri. Perilaku eksplorasi yang paling dominan adalah mengendus (*sniffing*), menghentakkan kaki merupakan perilaku yang berkaitan erat yang menunjukkan respon terhadap panas yang menyakitkan sedangkan sikap *leaning* merupakan perilaku utama pada proses melarikan diri. (Espejo and Mir, 1993)

Untuk menilai adanya stimulus panas yang menyakitkan, pengamatan dapat dibagi dua kelompok perilaku, yaitu kelompok respon primer yang terdiri dari : menjilat kaki depan, menjilat kaki belakang dan menghentakkan kaki. Pada kelompok respon primer ini, perilaku menjilat kaki belakang dan menghentakkan kaki berkaitan erat dengan adanya respon panas yang menyakitkan. Selanjutnya adalah kelompok kedua, yaitu upaya melarikan diri yang meliputi *leaning* dan melompat. Perilaku melompat dapat dijadikan patokan *nociceptive threshold*. Pola yang sering tampak bila hewan coba diletakkan pada pemanas adalah mengendus diikuti menghentakkan kaki dan berakhir dengan melompat. Urutan perilaku yang sering tampak pada tikus yang diberikan stimulus panas adalah immobile-sniff, walk-sniff, forepaw licking, hindpaw licking, stamping dan leaning dengan durasi lebih dari 5 detik. (Espejo *and* Mir, 1993)

Ekspresi wajah hewan coba dapat digunakan untuk menilai intensitas nyeri yang subyektif. Ada 5 ekspresi wajah yang biasa diamati yaitu penyempitan kelopak mata, pengembungan hidung, dagu yang menonjol, posisi telinga dan posisi kumis. (Deuis, Dvorakova *and* Vetter, 2017)

pro inflamasi seperti IL-1 β , TNF, IL-6, IL-15, IL-17, IL-18, IFN- γ dapat meningkatkan nyeri sedangkan sitokin anti inflamasi, IL-4, IL-10 dan TGF- β menyebabkan analgesik. Dalam kondisi homeostasis sitokin antiinflamasi terutama IL-10 akan dikeluarkan sebagai umpan balik negatif untuk menghambat gen yang mengkode proinflamasi dan reseptornya. Namun pada kondisi kerusakan saraf akan dikeluarkan IL-1 β , TNF dan IL-16 yang saling meningkatkan produksinya melalui umpan balik positif, memperkuat kaskade inflamasi. Beberapa sitokin berperan tidak langsung terhadap nyeri dengan meningkatkan produksi mediator nyeri seperti PGE₂, namun sebagian besar berperan langsung dengan mensensitisasi nosiseptor, meningkatkan permeabilitas BSCB, terutama oleh CCL2 dan IL-1 β . Akumulasi dari proses inflamasi tersebut ditambah dengan kondisi hipereksitabilitas dan faktor yang lain mengakibatkan pengeluaran sinyal listrik yang persisten.

Proses sensitisasi perifer secara ringkas menunjukkan adanya rangsang persisten dan kondisi hipereksitabilitas yang disebabkan oleh sensitisasi nosiseptor, perubahan ekspresi gerbang ion, perubahan serabut saraf serabut A β yang ikut melepaskan SP dan CGRP normalnya hanya oleh A δ dan C. Hipereksitabilitas juga disebabkan oleh *sprouting* serabut kolateral dari area intak ke area denervasi dan *sprouting* serabut saraf simpatis menuju ganglia akar dorsal.

Gangguan pada nosiseptor ujung saraf perifer serabut C dan serabut A δ mengakibatkan perubahan densitas dan hipereksitabilitas. Sel-sel glia di sepanjang akson bereaksi dengan proliferasi, peningkatan distribusi, *sprouting* dan meningkatkan ekspresi gerbang. Pada ganglia akar dorsalis badan sel sensorik mengalami maladaptasi berupa perubahan komposisi membran, properti sinap dan lokasi sinap. Hasil akhir dari

mekanisme maladaptasi ini adalah adanya sinyal abnormal dari perifer menuju neuron orde kedua, dengan kesalahan pada transduksi maupun transmisi. (Meacham K, *et al.* 2017.)

Peranan TGF- β dalam sensitisasi perifer ini adalah suatu immunosupresif kuat yang menghambat proliferasi limfosit dan produksi sitokin. TGF- β mempengaruhi diferensiasi sel T dan merangsang pembentukan sel T regulator immunosupresif. Peranan ini juga dengan menurunkan aktivasi mikroglia dan astrosit dan menurunkan ekspresi dari CCL2. TGF- β bersama dengan IL10 menurunkan infiltrasi lanjutan dari sel imun ke dalam kornu dorsalis dengan meningkatkan integritas BSCB (Meacham K, *et al.* 2017.)

Pada cedera saraf terjadi aktivasi mikroglia, oligodendroglia dan astrosit di kornu dorsalis oleh IL-6 dan terjadi pelepasan lanjutan dari TNF α , IL-1 β , NO, ATP dan prostaglandin. Mediator ini meningkatkan nyeri melalui pelepasan neurotransmitter presinap dan atau eksitabilitas post sinap. Neurotrofin seperti NGF, BDNF dan GDNF dilepaskan yang meningkatkan nyeri.(Vranken, 2011)

Pada kondisi neuropatik hampir semua gen yang berkaitan dengan respon imun dan mengaktivasi mikroglia mengalami peningkatan ekspresi. Ekspresi gen CGRP akan mengalami peningkatan yang tinggi di kornu dorsalis pada kondisi neuropatik. Peningkatan ekspresi gen dynorphin, COX-2 dan SP mengakibatkan perubahan fenotip/morfologi permanen pada kornu dorsal korda spinal. (Vranken, 2011)

Penelitian pada pasien diabetes neuropatik yang mengalami nyeri ditemukan peningkatan ekspresi miR30c-5p yang berkaitan dengan TGF- β sebagai target namun diduga juga berhubungan dua arah. Peningkatan mirR30c-5p akan menurunkan TGF- β dan TGF- β yang berfungsi normal akan mencegah peningkatan miR30c-5p dan

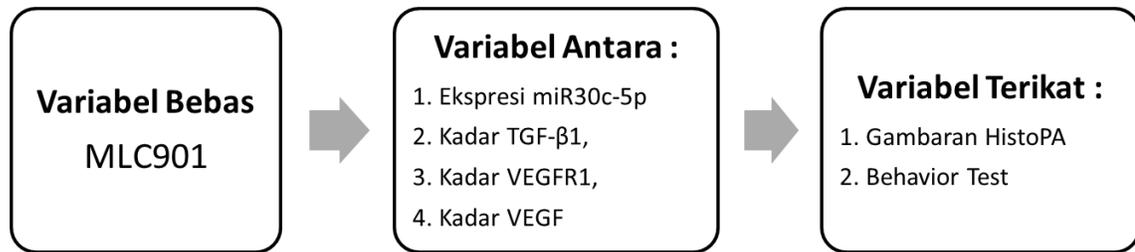
pembentukan nyeri neuropatik. Gangguan homeostasis pada sistem pengaturan nyeri desenden berperan besar atas timbulnya nyeri kronis. Salah satu diantaranya adalah sistem inhibisi opioid. Penurunan fungsi TGF- β diduga berkaitan dengan penurunan inhibisi opioid ini. (Tramullas *et al.*, 2018)

Kompresi pada *cauda equina* menyebabkan penurunan aliran darah pada akar saraf yang tertekan, namun terdapat proses adaptasi vaskular yang memungkinkan terjadinya perbaikan dan toleransi. VEGF sebagai stimulator angiogenesis akan meningkat pada kondisi hipoksia, pada otak, jantung, korda spinalis dan akar saraf. Penelitian menunjukkan terjadi peningkatan ekspresi VEGF pada sel schwann, ganglia akar dorsal pada kompresi *cauda equina* hewan coba, namun peningkatan VEGF ini tidak disertai dengan peningkatan angiogenesis. Peningkatan ini kemungkinan merupakan suatu adaptasi neuron terhadap iskemia. Peningkatan VEGF pada ganglia akar dorsal meskipun kompresi terjadi pada bagian proksimal menunjukkan kemungkinan efek neurotrofik VEGF selain angiogenesis. Meskipun demikian masih terdapat kontroversi mengenai peranan VEGF dalam pembentukan nyeri neuropatik. Penelitian menunjukkan peningkatan ekspresi VEGF A yang dikeluarkan astrosit pada model trigeminal neuropatik, dan penurunan ekspresi VEGF A menyebabkan efek anti *allodynia*. (Lee, *et al* 2010; Watanabe K, *et al*, 2007)

MLC901 menunjukkan efek neuroprotektif dan efek neuroregenerasi pada cedera otak traumatik. Pemberian MLC901 dapat menurunkan nekrosis, menurunkan apoptosis, menurunkan eksitoksisitas, aktivasi Akt Pathway, aktivasi K ATP Channels, reduksi Stress Oksidatif, menurunkan defisit fungsional, induksi neurogenesis, meningkatkan sinaptogenesis, induksi neuroproliferasi, induksi efek neurogenik, induksi pertumbuhan

neurite, dan meningkatkan ekspresi VEGF. Pengaruh MLC901 pada BSCB, neurogenesis dan kondisi iskemia diharapkan berkontribusi dalam menurunkan nyeri neuropatik akibat stenosis spinalis

3.2 Kerangka Konseptual



Gambar 3.2 Kerangka Konseptual Penelitian

3.3 Hipotesis Penelitian

1. Terjadi penurunan ekspresi miR30c-5p setelah pemberian MLC901
2. Terjadi peningkatan kadar TGF β1 setelah pemberian MLC901
3. Terjadi peningkatan kadar VEGF Reseptor1 (VEGFR1) setelah pemberian MLC901
4. Terjadi peningkatan kadar VEGF setelah pemberian MLC901
5. Terjadi penurunan demyelinisasi akson setelah pemberian MLC901
6. Terjadi perbaikan *Behavior* tes setelah pemberian MLC901