

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyempitan kanalis spinalis bersamaan dengan gangguan pada saraf dan struktur sekelilingnya, termasuk tulang dan jaringan lunak, dikenal juga sebagai stenosis spinalis. Penyempitan kanalis spinalis pada segmen vertebra lumbar yang disebut stenosis spinal lumbar (SSL), sering terjadi pada orang dewasa berusia lebih tua yang mencapai angka 200.000 orang di Amerika. Penyebab paling umum dari penyakit ini adalah proses degeneratif pada diskus, ligamentum flavum, dan sendi facet. Meskipun gejalanya beragam, hal tersebut dapat disebabkan oleh mekanisme neurovaskular, eksitasi akar saraf, atau kompresi mekanis kanalis spinalis. Mekanisme ini dapat muncul secara bersamaan dan merupakan penyebab umum dari nyeri neuropatik yang dapat mengganggu kualitas hidup.¹⁻⁴

Penyempitan pada diameter anteroposterior, lateral, atau sirkumferensial adalah tanda patologis penyempitan kanalis spinalis. Penelitian hewan coba yang menyerupai stenosis spinal biasanya menekankan satu arah, sementara penelitian dengan stenosis sirkumferensial masih jarang dilakukan. Kelainan motorik, kelainan elektrofisiologi serabut saraf, dan demielinisasi, semua gejala nyeri neuropatik, dapat disebabkan oleh model sirkumferensial spinal stenosis.⁵

Cedera sekunder medulla spinalis yang ditimbulkan akibat stenosis spinalis berupa kematian oligodendrosit, demielinisasi akson, dan lebih lanjut dapat menyebabkan degenerasi aksonal.⁶ Sampai saat ini, stenosis spinalis masih merupakan masalah yang penting karena teori patogenesisnya belum diketahui secara pasti, yang menyebabkan kesulitan dalam penanganan, pengobatan tidak efektif dan biasanya memerlukan terapi multimodal dan waktu yang lama, sehingga menyebabkan masalah kesehatan yang serius. Secara epidemiologis, prevalensi nyeri neuropatik diperkirakan meningkat antara 6,9–10% seiring bertambahnya usia. Kondisi ini lebih umum pada wanita dan orang berusia di atas 50 tahun, dan biasanya disebabkan oleh radikulopati lumbar dan servikal.⁷⁻⁹ Karena memerlukan biaya yang tinggi dan menyebabkan penurunan produktivitas, nyeri neuropatik sangat dapat

mengganggu perekonomian. Penderita mengalami nyeri hebat, kesulitan tidur, penurunan kualitas hidup, kecemasan, dan bahkan depresi. Di seluruh Eropa, setiap pasien menghabiskan 9 ribu euro (Spanyol) hingga 14 ribu euro (Jerman) untuk pengobatan nyeri neuropatik.⁸

Penanganan spinal stenosis biasanya difokuskan pada gejalanya daripada penyebabnya, karena gejala tetap muncul bahkan setelah pengobatan penyebabnya. Hal ini menyebabkan sekitar 20 persen pasien SSL mengalami depresi. Penanganan terhadap gejala yang ditimbulkan dapat berupa non-operatif dan operatif. Penanganan non-operatif berupa obat-obatan, fisioterapi, dan injeksi epidural kortikosteroid.^{2,10}

MLC901 adalah formula pengobatan tradisional yang disederhanakan dari MLC601. Mengandung 9 jenis herbal, yang populer di Cina dan baru-baru ini digunakan di Eropa. Penelitian menunjukkan bahwa MLC601 dan MLC901 efektif pada penelitian preklinis seluler dan stroke pada model hewan. Tiga mekanisme utama digunakan oleh MLC901 untuk mempengaruhi sistem saraf: neuroproteksi, neuroregenerasi, dan neurorestorasi. *Hypoxic inducible factor 1 α* (Hif1 α), erythropoietin (EPO), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), angiopoietins1/2 (Ang1/Ang2), dan faktor lain yang terkait dengan angiogenesis dimodulasi oleh peningkatan kadar MLC901. Sekarang diketahui bahwa faktor tersebut tidak hanya mengontrol proliferasi sel endotel tetapi juga mengontrol diferensiasi, regresi, dan permeabilitas vaskular sehingga memberikan efek neuroregenerasi setelah pemberian MLC901.^{11,12}

Transforming growth factor (TGF- β) telah lama diketahui merupakan sitokin anti-inflamasi yang berfungsi dalam respons terhadap kerusakan sel, terutama dalam fungsi sistem saraf. TGF- β memiliki kemampuan untuk mengurangi aktivitas glia pada korda spinalis dan mengurangi inflamasi, sehingga merupakan inhibitor kuat pada nyeri neuropatik. TGF- β juga dapat mengurangi nyeri melalui jalur transkripsi gen dan neuromodulasi pada ganglion akar dorsalis, serta meningkatkan ekspresi opioid endogen, menurunkan aktivasi glia dan pelepasan sitokin pro-inflamasi. TGF- β juga berperan dalam memodulasi plastisitas dan pertumbuhan neurit yang sangat

penting dalam regenerasi saraf dan menurunkan demielinisasi akson pada spinal stenosis.¹³⁻¹⁵

Tidak banyak penelitian yang dilakukan pada hewan coba yang menggunakan model sirkumferensial lumbar stenosis dan tidak banyak penelitian yang melihat bagaimana pemberian MLC901 mempengaruhi kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF- β 1, serta derajat demielinisasi akson. Dengan demikian, diharapkan penelitian ini akan memberikan wawasan yang berharga tentang potensi MLC901 sebagai terapi pemulihan pada cedera saraf tepi akibat *Circumferensial Lumbar Stenosis* (CLS). Hasil dari penelitian ini dapat membuka jalan bagi pengembangan terapi yang lebih efektif untuk penderita yang mengalami kondisi serupa. Penelitian ini juga dapat membantu dalam pemahaman yang lebih baik tentang peran MLC901 dalam mekanisme neuroregenerasi dan pengaruhnya pada tingkat molekuler.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah intervensi dengan metode sirkumferensial lumbar stenosis selama 7 hari mempengaruhi kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF β 1, serta menyebabkan demielinisasi akson pada hewan coba?
2. Apakah pemberian MLC901 pada hari ke-1 pasca intervensi sirkumferensial lumbar stenosis (H+8) mempengaruhi kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF β 1, serta menyebabkan demielinisasi akson pada hewan coba?
3. Apakah pemberian MLC901 selama 7 hari pasca intervensi sirkumferensial lumbar stenosis (H+14) mempengaruhi kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF β 1, serta menyebabkan demielinisasi akson pada hewan coba?

1.3 Hipotesis Penelitian

1. Terjadi penurunan kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF β 1, serta peningkatan demielinisasi akson 7 hari setelah pembedahan tanpa pemberian MLC901 pada kelompok kontrol.

2. Terjadi peningkatan kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF β 1, serta penurunan demielinisasi akson 1 hari setelah pemberian MLC901 (hari ke-8 setelah pembedahan).
3. Terjadi peningkatan kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF β 1, serta penurunan demielinisasi akson 7 hari setelah pemberian MLC901 (hari ke-14 setelah pembedahan).

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan umum :

Untuk memahami dan mengeksplorasi efek intervensi pembedahan sirkumferensial lumbar stenosis dan pemberian MLC901 terhadap kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF- β 1, serta pengaruhnya terhadap demielinisasi akson pada hewan coba.

1.4.2 Tujuan khusus :

1. Untuk mengetahui efek intervensi pembedahan sirkumferensial lumbar stenosis terhadap kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF β 1, serta pengaruhnya terhadap demielinisasi akson pada hewan coba kelompok kontrol/*pre-test*.
2. Untuk mengetahui efek intervensi pemberian MLC901 pada hari ke-1 pasca pembedahan sirkumferensial lumbar stenosis (H+8) terhadap kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF β 1, serta pengaruhnya terhadap demielinisasi akson pada hewan coba.
3. Untuk mengetahui efek intervensi pemberian MLC901 pada hari ke-7 pasca pembedahan sirkumferensial lumbar stenosis (H+14) terhadap kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF β 1, serta pengaruhnya terhadap demielinisasi akson pada hewan coba.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Keilmuan

1. Untuk memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai efek MLC901 terhadap kadar serum dan ekspresi imunohistokimia TGF- β 1, serta pengaruhnya terhadap demielinisasi akson pada hewan coba dengan sirkumferensial lumbar stenosis.
2. Sumbangan ilmu dan acuan ilmiah bagi penelitian berikutnya terkait sirkumferensial lumbar stenosis dan peranan MLC901.

1.5.2 Manfaat Klinis

Sebagai alternatif pengobatan pada kasus stenosis kanalis spinal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stenosis Spinalis

Stenosis spinalis adalah kondisi di mana terjadi kompresi dari akar saraf yang disebabkan oleh berbagai faktor patologis. Gejala dapat berupa nyeri, gangguan motorik dan sensorik. Gejala yang timbul tergantung dari tingkat kompresi dan lokasi tulang belakang yang terlibat, di mana daerah servikal dan lumbar adalah yang paling sering terlibat.¹⁶

Terdapat 3 anatomi dalam kanal vertebra yang dipengaruhi oleh stenosis spinalis. Pertama, kanal sentralis di mana tempat medulla spinalis berada, dimensi antero-posterior dapat menyempit sehingga menekan saraf dan menurunkan suplai darah ke medulla spinalis. Kedua, foramen saraf yang merupakan tempat keluarnya akar saraf dari medulla spinalis, foramen saraf dapat tertekan akibat herniasi diskus, hipertrofi sendi facet dan ligamen, atau ketidakstabilan dari korpus vertebra. Ketiga, lateral resesus di mana hanya terdapat pada regio lumbar yang merupakan area sepanjang pedikel tempat akar saraf masuk sebelum keluar melalui foramen saraf.^{17,18}

2.2 Stenosis Spinal Lumbar (SSL)

Penyempitan kanal spinalis pada regio lumbar oleh karena gangguan pada struktur saraf yang dikelilingi tulang dan jaringan lunak menyebabkan sindrom klinis yang dikenal sebagai stenosis spinal lumbar (SSL). Gejalanya beragam tergantung dari mekanisme neurovaskular, eksitasi akar saraf, atau kompresi mekanis kanal spinalis di mana semua mekanisme ini dapat bekerja secara bersamaan.¹

Penyakit progresif yang melibatkan semua segmen vertebra lumbar dikenal sebagai SSL degeneratif. Ketidakstabilan relatif yang disebabkan oleh degenerasi diskus intervertebralis menyebabkan hipermobilitas segmen vertebral, yang menyebabkan tekanan yang lebih tinggi pada sendi facet posterior. Ini diikuti oleh penyempitan ruang diskus intervertebralis, peningkatan sudut ekstensi, dan hipertrofi sendi facet, terutama sendi facet superior, yang menyebabkan kekakuan sendi lokal. Penebalan ligamen flavum atau kalsifikasi juga merupakan mekanisme penting dalam

stenosis. SSL degeneratif juga dapat disebabkan oleh tropisme sendi. Hal ini menyebabkan stenosis kanalis spinalis dan kompresi struktur saraf. Akibatnya, tekanan vaskular meningkat dan aliran darah vena epidural terganggu, yang dapat menyebabkan klaudikasio neurogenik intermiten.¹⁹

Meskipun stimulasi berulang atau trauma dalam pekerjaan tidak secara signifikan menyebabkan stenosis, hal ini tentu saja dapat memperburuk gejala stenosis yang sudah ada. Saat ekstensi lumbar, kanalis spinalis menjadi lebih menyempit dan terjadi kompresi jaringan saraf, dan secara bersamaan laju metabolisme akar saraf oleh gerakan ekstremitas bawah meningkat, tetapi aliran darah tidak ikut meningkat. Sirkulasi darah arteri yang terletak di permukaan akar saraf dan difusi cairan serebrospinal memberikan energi metabolik pada akar saraf kauda equina. Pada SSL, iskemia saraf dan gangguan konduksi saraf dapat terjadi ketika akar saraf mengalami tekanan yang tinggi di kanal spinalis. Penyumbatan vena dapat menyebabkan iskemia pada SSL yang melibatkan dua atau lebih segmen, dan kerusakan akar saraf dapat menyebabkan sensitisasi sentral dan perifer, yang dapat menyebabkan nyeri kronis.¹⁹

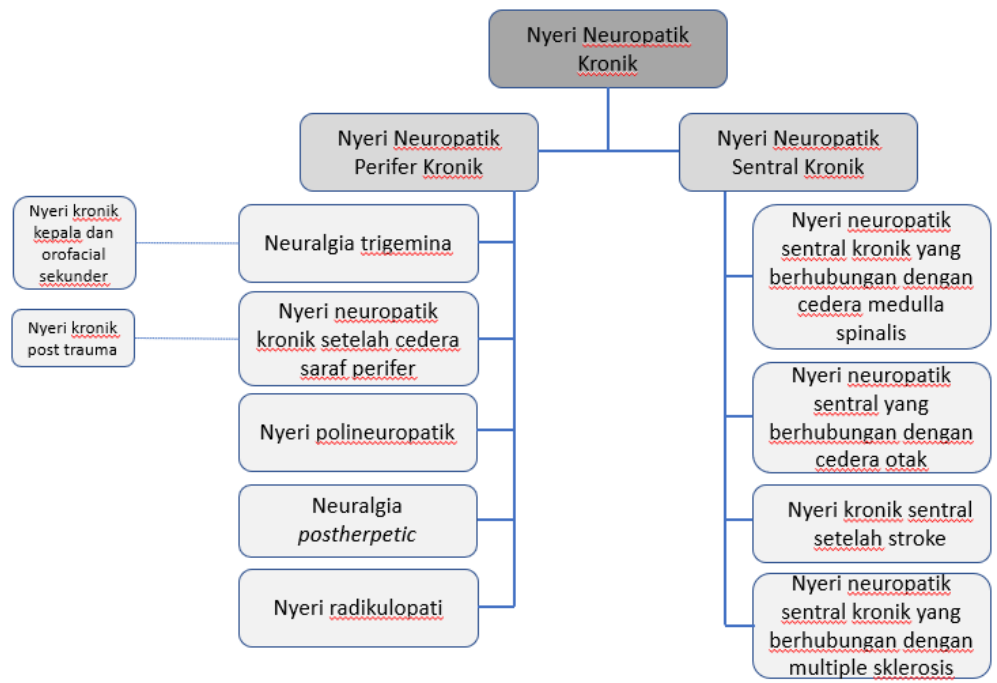
2.3 Nyeri Neuropatik

Nyeri didefinisikan oleh *International Association for the Study of Pain* (IASP) sebagai suatu pengalaman sensorik yang tidak menyenangkan, atau pengalaman emosional yang terkait dengan kerusakan jaringan aktual atau potensial. Kerusakan ini menunjukkan adanya sesuatu yang tidak normal di dalam tubuh.²⁰

Nyeri yang dimulai atau disebabkan oleh lesi primer atau disfungsi sistem saraf disebut nyeri neuropatik. Nyeri ini memiliki gejala seperti nyeri spontan, hiperalgesia, dan alodinia, serta bertahan lama setelah lesi primernya sembuh. Mekanisme sensitisasi sentral dan perifer bertanggung jawab atas gejala ini. Mekanisme sensitisasi ini kemudian meningkatkan eksitabilitas saraf karena perubahan dalam ekspresi dan aktivitas gerbang ion seperti *sodium-gated voltage-gated* atau *ligand-gated transient receptor potential channels*, reseptor perifer dan sentral seperti Cannabinoid1 atau NMDA. Mekanisme imun juga memodulasi dan membantu proses sensitisasi.²¹

Nyeri neuropatik bersifat *non-self-limiting* dan muncul sebagai bagian dari proses patologi suatu penyakit. Keberadaan neurotransmitter menyebabkan nyeri melalui stimulasi reseptor serabut A-delta dan C polimodal yang ada di kulit, tulang, jaringan ikat, otot, dan organ visera. Stimulus ini dapat berupa mekanik, kimia, suhu, serta tumor dan infeksi. Sekresi neurotransmitter seperti prostaglandin, histamin, serotonin, substansi P, dan cholecystokinin (CCK), *vasoactive intestinal peptide* (VIP), *calcitonin gene-related peptide* (CGRP), dan lainnya dihasilkan oleh reaksi stimulus ini.²¹

Nyeri neuropatik akut adalah nyeri yang bertahan selama kurang dari 3 bulan, sedangkan nyeri neuropatik kronik bertahan lebih dari 3 bulan. Nyeri neuropatik kronik menurut IASP dibagi menjadi nyeri neuropatik kronik perifer dan sentral. Nyeri neuropatik kronik perifer dibagi menjadi neuralgia trigemina, nyeri neuropatik kronik setelah cedera saraf perifer, nyeri polineuropatik, neuralgia *postherpetic*, dan nyeri radikulopati (Gambar 2.1).²²



Gambar 2.1. Klasifikasi nyeri neuropatik kronik²²

Sensitisasi neuron terhadap stimulus noxious melalui jaras nyeri sampai ke pusat merupakan awal dari nyeri neuropatik perifer maupun sentral. Bagian jaras ini dimulai dari kornu dorsalis, traktus spinoalamikus (struktur somatik) dan kornu dorsalis (untuk

viseral). Kemudian berlanjut ke korteks prefrontal, korteks insula, limbik, dan talamus somatomotorik. Sensitisasi neuron bergantung pada peningkatan aktivitas neuron, rendahnya ambang batas stimulus terhadap aktivitas neuron itu sendiri, dan luasnya penyebaran area yang mengandung reseptor hingga akhirnya menghasilkan peningkatan letupan-letupan neuron dari berbagai neuron.²¹

Neuropati diabetes, neuralgia pasca herpes, neuralgia trigeminal, dan nyeri cedera medulla spinalis karena stenosis spinalis adalah beberapa penyakit yang dapat menyebabkan nyeri neuropatik.¹ Sensitisasi ini biasanya dikaitkan dengan denervasi jaringan saraf yang disebabkan oleh lesi, stimulasi terus-menerus, impuls aferen yang berasal dari perifer maupun sentral, dan aktivasi kanal ion di akson yang terkait dengan reseptor *α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid* (AMPA)/kainat dan *N-methyl-D-aspartate* (NMDA).²¹

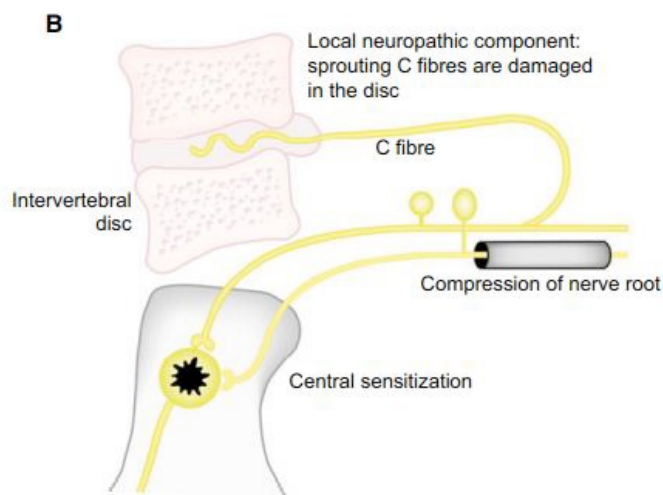
Penderita yang mengalami nyeri neuropatik dapat menunjukkan gejala positif, seperti parestesia, disestesia, hiperalgesia, dan alodinia. Gejala negatif juga dapat muncul berupa kelainan sensorik (hipoestesia dan hipoalgesia), kelemahan motorik, dan perubahan pada refleks. Mereka mungkin mengeluhkan nyeri tiba-tiba, rasa terbakar, dan sengatan listrik tajam yang berulang. Namun, perubahan patologis sekunder seperti spastisitas, gangguan miksi dan defekasi, serta disfungsi otonom adalah penyebab dari berbagai jenis nyeri.¹³

Proses patologi yang berlangsung, termasuk perubahan sensitisasi baik perifer maupun sentral menyebabkan nyeri neuropatik. Perubahan ini mempengaruhi fungsi sistem inhibitorik serta mengganggu interaksi somatik dan simpatetik sehingga menimbulkan keluhan alodinia dan hiperalgesia. Terapi nyeri neuropatik masih menjadi masalah karena kerusakan neuron yang bersifat ireversibel. Hal ini biasanya disebabkan oleh proses apoptosis, yang disebabkan oleh modulasi intrinsik kalsium di neuron sendiri dan proses inflamasi dari sumber eksternal. Hal inilah yang menjadi dasar bahwa nyeri kronis pada sistem saraf tidak dapat diperbaiki. Oleh karena itu, nyeri neuropatik harus segera diobati untuk mencegah plastisitas sebagai nyeri kronis.²³

2.3.1 Patofisiologi Nyeri neuropatik pada Stenosis Spinal Lumbar

Keterlibatan neuropatik belum sepenuhnya dipahami, dan berbagai mekanisme dianggap memainkan peran penting. Kombinasi mekanisme timbulnya nyeri nosiseptif dan neuropatik diduga berperan, sehingga timbul istilah sindrom nyeri campuran.

Beberapa jenis proses patologis pada aksis tulang belakang dapat dikaitkan dengan berbagai gejala, seperti kehilangan sensasi, kelemahan motorik, dan nyeri. Ini dapat terjadi karena kompresi akar saraf mekanis (nyeri akar neuropatik mekanis), kerusakan pada *sprout* nosiseptif diskus yang mengalami degenerasi (nyeri neuropatik lokal), atau peran mediator inflamasi seperti kemokin dan sitokin, yang bahkan dapat berasal dari diskus degeneratif tanpa tekanan mekanis (Gambar 2.2).²⁴



Gambar 2.2. Patofisiologi nyeri neuropatik yang terkait dengan SSL²⁴

2.4 Sistem Imun yang berhubungan dengan Nyeri Neuropatik

Mediator-mediator inflamasi yang dihasilkan oleh sel residen dan yang dikeluarkan oleh infiltrasi sel inflamasi, termasuk sel mast dan makrofag, akan meningkat ketika sistem saraf perifer rusak. Kondisi algesik terjadi ketika mediator pro-inflamasi seperti histamin, bradikinin, ATP, *cyclooxygenase*, dan *lipooxygenase* meningkat. Sitokin pro-inflamasi, seperti *Interleukine 1 β* (IL-1 β), *Tumor Necrosis Factor* (TNF), IL-6, IL-15, IL-17, dan IL-18, dapat meningkatkan nyeri. Sedangkan, sitokin anti-inflamasi, seperti IL-4, IL-10, dan *Transforming growth factor* β (TGF- β) dapat mengurangi nyeri.

Sitokin anti-inflamasi, khususnya IL-10, akan dilepaskan sebagai umpan balik negatif untuk menghentikan gen yang mengkode pro-inflamasi dan reseptornya selama homeostasis. Namun, dalam kasus kerusakan saraf, IL-1 β , TNF, dan IL-16 dilepaskan bersamaan, sehingga meningkatkan kaskade inflamasi melalui umpan balik positif. Beberapa sitokin mempengaruhi nyeri secara tidak langsung dengan meningkatkan produksi *Prostaglandine E2* (PGE2), tetapi sebagian besar sitokin bertindak langsung dengan mensensitisasi nosiseptor dan meningkatkan permeabilitas *blood-spinal cord barrier* (BSCB), terutama oleh *C-C Motif Chemokine Ligand 2* (CCL2) dan IL-1 β . Pengeluaran sinyal listrik persisten disebabkan oleh akumulasi proses inflamasi tersebut, kondisi hipereksitabilitas, dan faktor-faktor lain.^{9,25}

Ditemukannya mediator inflamasi seperti TNF, IL-1, IL-6, dan PGE2 pada eksudat inflamasi, telah membuka peranan respons neuroimun spinal terhadap nyeri pada beberapa penelitian baru-baru ini. Selain membantu proses penyembuhan, sintesis, dan pelepasan mediator inflamasi meningkatkan nyeri dengan menurunkan ambang eksitasi dan menarik nosiseptor lainnya. Sitokin pro-inflamasi berkontribusi pada kerusakan akson, juga memodulasi aktivitas spontan nosiseptor dan meningkatkan sensitivitas, serta menyekresi mediator pro-inflamasi seperti *nerve growth factor* (NGF), *nitric oxide* (NO), IL-1, dan IL-6 sebagai reaksi terhadap cedera atau kerusakan sel. Karena ekspresinya meningkat pada model nyeri neuropatik *chronic constriction injury*, sehingga gen yang berhubungan dengan respons imun dan aktivasi mikroglia dapat berfungsi sebagai indikator adanya nyeri neuropatik.²⁶⁻²⁸

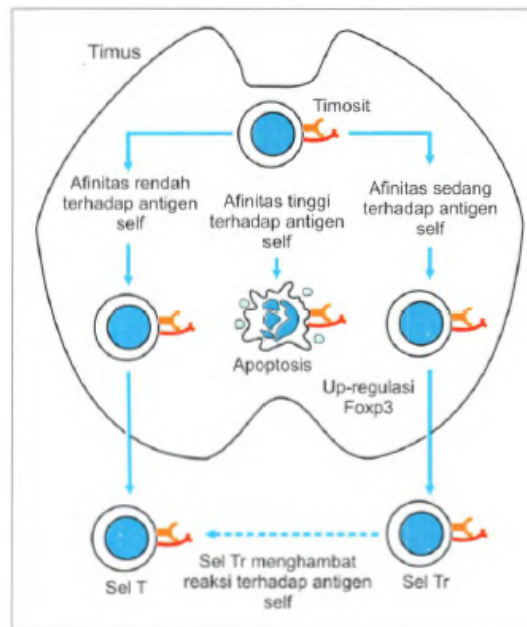
Marchand menjelaskan bagaimana sel mast, neutrofil, dan makrofag berfungsi setelah kerusakan jaringan pada penyakit kronis. Sel-sel tersebut melepaskan berbagai mediator imun untuk menyebabkan depolarisasi nosiseptor, namun peran sel T dalam menginfiltrasi saraf masih belum jelas sepenuhnya. Ketika sel mikroglia teraktivasi, akan terjadi peningkatan produksi kalsium melalui jalur intraseluler dan pelepasan mediator inflamasi sehingga menghasilkan perangsangan sel saraf orde kedua yang lebih besar.²⁹

Ketika mencoba menghubungkan mekanisme abnormal (radikulopati) dengan nyeri spinal kronis yang disebabkan aktivasi sistem imun, perlu ada perubahan besar

dalam pemahaman ideologi tentang pentingnya biomekanisme dan hubungan fisik medis. Ide ini didukung oleh model nyeri kronis dari DeLeo dan Winkelstein, yang menghubungkan biomekanika (radikulopati) dengan respons imunologis sebagai komponen penting dalam kompleks kaskade yang menyebabkan nyeri kronis.^{30,31}

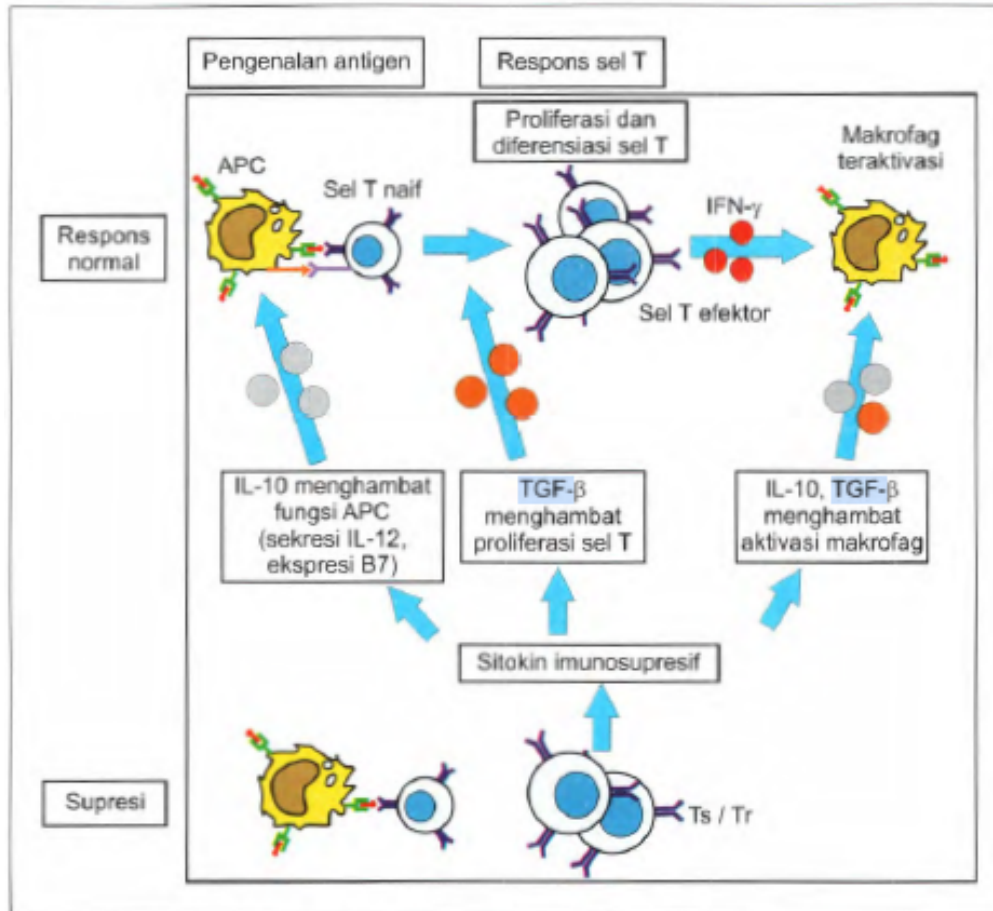
2.5 TGF β sebagai Sitokin Anti-inflamasi

TGF- β merupakan sitokin immunosupresif yang poten dan diproduksi dari sel Treg yang berasal dari timosit di timus. Sel T berasal dari sumsum tulang, tetapi proliferasi dan diferensiasi terjadi pada kelenjar timus. Timosit dengan afinitas tinggi untuk *self* antigen disingkirkan pada fase ini, timosit dengan afinitas rendah diseleksi positif dan dilepas ke sirkulasi, sedangkan timosit dengan afinitas sedang untuk antigen yang ditemukan di timus meningkatkan regulasi faktor transkripsi Foxp3 kemudian menjadi sel Treg, yang selanjutnya berfungsi untuk mengontrol respons sel T self-reaktif (Gambar 2.3).³²



Gambar 2.3. Sel Treg dibentuk dari timosit selama seleksi negatif di timus³²

Sel Treg memproduksi sitokin immunosupresif berupa TGF- β dan IL-10 yang berfungsi menghambat aktivasi makrofag namun dengan cara yang berbeda. IL-10 menghambat fungsi *Antigen Presenting Cell* (APC), sedangkan TGF- β menghambat proliferasi sel T (Gambar 2.4).³²



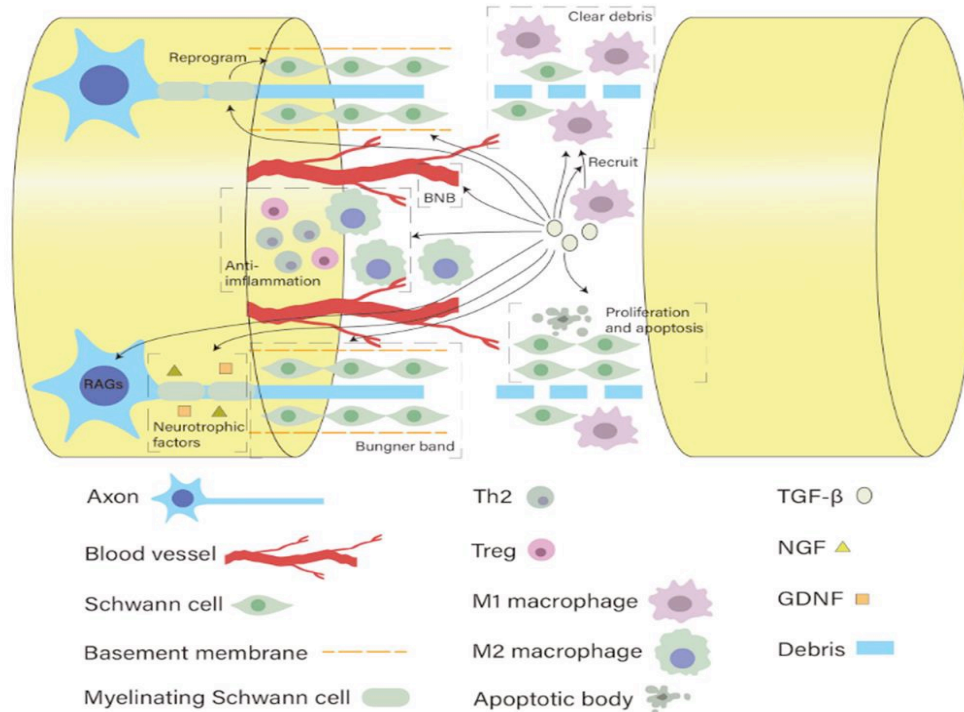
Gambar 2.4. Mekanisme kerja sel T regulator³²

Aktivasi makrofag menyebabkan keluarnya sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1 β , TNF, IL-6, IL-15, IL-17, IL-18, dan interferon γ (IFN- γ) sebagai respons terhadap kerusakan sel saraf (Gambar 2.5). Sitokin anti-inflamasi, seperti IL-4, IL-10, dan TGF- β , bertindak sebagai anti nyeri. TGF- β , salah satu sitokin anti-inflamasi yang berfungsi dalam respons terhadap kerusakan sel, terutama dalam fungsi sistem saraf. TGF- β memiliki kemampuan untuk mengurangi aktivitas glia pada korda spinalis dan mengurangi inflamasi, yang merupakan inhibitor kuat pada nyeri neuropatik. TGF- β merupakan inhibitor kuat pada nyeri neuropatik dan dilepaskan pada lokasi cedera saraf perifer serta meningkatkan regenerasi saraf dengan memulai berbagai perubahan fenotip pada sel schwan, memodulasi sistem imun, mengaktifkan kemampuan pertumbuhan intrinsik sel saraf, dan mengontrol permeabilitas BSCB.^{9,32-}

IL-1, GM-CSF	Mengaktifkan respons fase akut serta meningkatkan produksi neutrofil dan monosit oleh sumsum tulang
TNF- α , IL-1	Meningkatkan adhesi leukosit ke endotel lokal untuk memungkinkan leukosit bergerak sesuai sinyal kemotaktik dari kemokin
IL-1, IL-12, IL-18, IL-1	Aktivator umum sel T
IL-12, IL-18	Mengaktifkan masing-masing Th1 dan sel NK yang meningkatkan pelepasan IFN- γ dan TNF
IL-1, IL-6 dan TNF- α disebut sitokin proinflamasi	Efek lokal: induksi molekul adhesi (ICAM) pada endotel menarik neutrofil ke tempat cedera Efek sistemik: Terhadap hipotalamus menimbulkan demam dan anoreksi Merangsang sumsum tulang, mengerahkan neutrofil (jumlah meningkat) Terhadap hati untuk memproduksi APP (CRP, MBP dan SAP) Terhadap lemak dan otot, pengaruh terhadap metabolisme protein dan energi Mengaktifkan fase awal respons imun spesifik

Gambar 2.5. Sitokin yang diproduksi makrofag³²

Pada cedera saraf perifer, TGF- β meningkatkan rekrutmen dan kemampuan sel schwan dan makrofag untuk membersihkan debris mielin dengan mengatur ekspresi *receptor Tyrosine Kinase* (rTK) dan *Matrix metalloproteinase* (MMP). TGF- β mengatur jumlah sel Schwan, melindungi membran basal, meningkatkan migrasi, dan membentuk pita Büngner. TGF- β mempengaruhi *pericyte* dan *tight junction* untuk mengontrol BSCB. Selain itu, TGF- β mempolarisasi makrofag M1 menjadi fenotip M2 dan mendukung sel *T regulator* (Treg) dan *T helper 2* (Th2) untuk menciptakan kondisi yang mendukung pertumbuhan sel. TGF- β juga mengaktifkan neuron *regeneration-associated genes* (RAGs) untuk mengeluarkan faktor neurotrofik Nerve Growth Factor (NGF) dan *Glial Cell Derived Neurotrophic Factor* (GDNF), yang meningkatkan kapasitas pertumbuhan sel saraf (Gambar 2.6).³⁴



Gambar 2.6. Fungsi-fungsi TGF-β dalam cedera saraf perifer³⁴

Sitokin anti-inflamasi TGF-β melakukan berbagai fungsi yang bersifat immunosupresif, termasuk menghentikan proliferasi limfosit dan produksi sitokin. TGF-β1, TGF-β2, dan TGF-β3 adalah tiga isomer TGF-β yang terhubung 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 membawa RI ke dalam kompleks pensinyalan.³⁵

TGF-β1 berasal dari precursor yang disebut pre-pro TGF-β1, yang kemudian berkembang menjadi latent TGF-β1 melalui berbagai proses. *Latency Associated Protein* (LAP) menghambat ikatan TGF-β1 matur terhadap reseptornya sehingga bentuk latent ini belum aktif. Dengan kata lain, TGF-β1 menjadi aktif apabila TGF-β1 matur dilepaskan dari struktur LAP. Pada hewan, TGF-β2 dan TGF-β3 diekspresikan pada sel neuron dan glia di banyak lokasi di sistem saraf pusat dan perifer, sedangkan TGF-β1 hanya pada meninges. Namun, beberapa penelitian baru-baru ini menemukan bahwa TGF-β1 meningkat pada otak hewan coba.³⁶

2.5.1 Pengaruh TGF-β1 Terhadap Nyeri Neuropatik

Pada penelitian Sun et al., ditemukan bahwa latihan dan olahraga dapat meningkatkan aktivasi TGF- β 1, yang menghambat astrogliosis, dan memiliki efek anti nyeri. TGF- β pada cedera saraf perifer mengurangi nyeri dengan menghalangi aktivasi mikroglia dan astrosit, mengurangi ekspresi CCL-2, dan berkerjasama dengan IL-10 meningkatkan integritas BSCB. Semua ini akan mencegah infiltrasi sel imun tambahan pada kornu dorsalis korda spinalis. TGF- β meningkatkan ekspresi opioid endogen, menurunkan aktivasi glia dan pelepasan sitokin pro-inflamasi.^{9,25,36}

Kadar TGF- β yang menurun berdampak pada berkurangnya hambatan pada neuroinflamasi dan aktivasi mikroglia pada manusia dan hewan pada kondisi nyeri kronis. TGF- β mengurangi nyeri juga dapat melalui jalur transkripsi gen dan neuromodulasi pada ganglion akar dorsalis. TGF- β mengaktivasi reseptor TGF- β pada neuron dalam hitungan menit, hal ini akan menormalisasi kondisi hipereksitabilitas ganglion akar dorsalis akibat proses cedera saraf dan plastisitas sinaps pada korda spinalis. TGF- β merupakan target dari miR-30c-5p, yang meningkat pada korda spinalis, ganglion akar dorsalis, cairan serebrospinal, dan plasma setelah cedera saraf isiadikus pada tikus. miR-30c-5p inhibitor akan meningkatkan TGF- β . Proses ini juga diduga berjalan dalam dua arah dengan melalui sistem opioid.¹⁴

TGF- β 1 menghambat sensitisasi sentral dan menurunkan hipersensitivitas kronik sehingga homeostasis medulla spinalis dapat kembali normal. Hal ini diduga disebabkan oleh efek pleiotrofik TGF- β 1 pada sel neuron dan glia, termasuk pada kerusakan neuron, mikrogliosis, aktivasi mikroglia dan astrosit, serta mengurangi respons inflamasi sentral.³⁵

2. 6 Gejala Klinis dan Diagnosis Stenosis Spinal Lumbar (SSL)

Gejala klinis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang diperlukan dalam mendiagnosis SSL. Pasien dengan SSL biasanya menunjukkan gejala nyeri punggung unilateral atau bilateral bersama dengan nyeri menjalar ke kaki yang bertahan selama beberapa bulan hingga tahun. Nyeri terletak dibagian lumbar dan dapat menjalar ke daerah gluteal, selangkangan, dan tungkai. Radikulopati dapat

menjadi gejala dari stenosis resesus lateral atau foraminal. Meskipun gejala SSL biasanya disertai dengan gejala lain, klaudikasio neurogenik merupakan gejala yang paling spesifik.²

Gejala klinis dari klaudikasio neurogenik berbeda dengan klaudikasio intermiten vaskular, di mana gejala nyeri pada klaudikasio neurogenik membaik setelah fleksi (delordosis) tulang belakang, seperti saat sedang bersepeda. Pada pasien SSL, nyeri tidak mereda saat berdiri dan lebih mirip dengan nyeri punggung bagian bawah. Selain itu, diketahui bahwa sekitar 20 persen pasien SSL mengalami depresi dan 25 persen mengalami perasaan tidak puas dengan kehidupan mereka sebelum operasi.²

Nyeri neuropati pada pasien dengan stenosis spinal lumbar (SSL) serupa dengan radikulopati lumbar, yaitu nyeri yang menjalar dari punggung ke bokong kemudian ke ekstremitas bawah. Pada SSL, gerakan seperti berjalan dan menuruni tangga (ekstensi lumbar) dapat memperburuk nyeri, sedangkan gerakan seperti duduk akan meringankannya.³⁷

Selain itu, pasien SSL dengan gejala kelemahan pada tungkai bawah sering ditemukan hasil negatif pada tes lasague. Untuk pemeriksaan penunjang, foto polos x-ray lumbosakral dapat digunakan sebagai pemeriksaan rutin untuk pasien yang mengalami sakit punggung. Jika dilakukan dalam posisi antero-posterior (AP), obliq, dan lateral akan menunjukkan tautan kerucut lumbosacral, dengan spina dalam posisi fleksi dan ekstensi. Ini dilakukan untuk mengetahui ketidakstabilan segmen dan deformitas. Selain spondilolistesis degeneratif dan skoliosis degeneratif, temuan radiografi tersebut dapat menunjukkan kemungkinan adanya lumbar stenosis degeneratif.^{2,38,39}

Pemeriksaan CT scan juga dapat digunakan untuk mengevaluasi tulang, terutama pada bagian resesus lateral. CT scan juga dapat menunjukkan abnormalitas pada sendi facet dan diskus lateralis yang menunjukkan kemungkinan adanya stenosis lumbar, serta dapat membedakan stenosis sekunder yang disebabkan oleh fraktur.^{2,38,39}

Pemeriksaan MRI telah menjadi standar emas untuk diagnosis lumbar stenosis dan perencanaan operasi. MRI memiliki kelebihan karena dapat mengakses jumlah

segmen yang terkena, serta mengevaluasi tumor dan infeksi. MRI juga dapat melihat penebalan kapsuler, abnormalitas sendi facet, herniasi diskus, osteofit, dan ada atau tidaknya lemak epidural. Ini juga dapat membedakan stenosis sentral dan lateral. MRI dengan kombinasi potongan axial dan sagital juga dapat mengevaluasi foramen neural dan kanal sentral. MRI dengan potongan sagital dapat memperlihatkan kemungkinan adanya tumor metastasis ke arah spinal.^{2,38,39}

2.7 Tatalaksana Stenosis Spinal Lumbar (SSL)

Pada pasien dengan SSL, tatalaksana dapat dibagi menjadi manajemen non bedah dan bedah. Manajemen non bedah dapat dilakukan pada pasien dengan gejala ringan-sedang, mencakup pemberian obat-obatan, fisioterapi, injeksi spinal, perubahan gaya hidup, dan rehabilitasi. Selain itu, pelatihan dalam pemakaian orthosis, terapi termal, ultrasonografi, pijat, terapi traksi, dan simulasi elektrik juga dapat dilakukan. Manajemen bedah dapat berupa laminektomi dekompresi.¹⁰

Penanganan non bedah/non operatif termasuk:

1. Obat-obatan:

Obat anti nyeri, antidepresan, opioid, dan anti kejang. Obat anti nyeri seperti ibuprofen, naproxen, dan asetaminofen dapat diberikan untuk meredakan nyeri dalam waktu singkat. Diketahui bahwa antidepresan, seperti amitriptilin, dapat meredakan nyeri kronis. Untuk meredakan nyeri yang disebabkan oleh kerusakan saraf, antikejang seperti gabapentin dan pregabalin juga dapat digunakan. Selain itu, analgesik atau opioid, seperti hidrokodon dan oksikodon, juga dapat membantu meredakan nyeri dengan cepat.¹⁰

Berdasarkan panduan praktek klinis neorologis PERDOSSI 2016 tentang pemberian obat pada kasus konservatif:

- Analgesik dan obat anti inflamasi non steroid (OAINS), yang dimaksudkan untuk mengurangi rasa nyeri sehingga mempercepat penyembuhan. Contoh OAINS

yang sering digunakan adalah ibuprofen, desketoprofen, dan natrium atau kalium diklofenak. *Muscle relaxant* seperti diazepam, eperison, dan karisprodol.

- Opioid hanya digunakan untuk kasus berat, walaupun cukup efektif mengurangi rasa nyeri, tetapi memiliki efek samping seperti mengantuk dan mual. Terapi analgetik adjuvan digunakan untuk nyeri campuran seperti anti konvulsan dan anti depresan.
- Menggabungkan pregabalin dan celecoxib menurunkan skor nyeri yang lebih baik.
- Injeksi kombinasi anestesi lokal dan kortikosteroid ke jaringan lunak di sekitar titik picu tulang punggung.

2. Fisioterapi

Pasien dengan stenosis spinal biasanya akan berusaha mengurangi nyeri dengan tidak berolahraga. Akan tetapi hal itu dapat menyebabkan kelemahan otot, yang nantinya akan menyebabkan nyeri yang lebih berat. Dengan demikian, tujuan fisioterapi adalah untuk mengembalikan kekuatan dan ketahanan serta mempertahankan fleksibilitas dan stabilitas spinal.

Di awal terapi, pasien diajarkan untuk mengubah kebiasaan mereka, seperti mengangkat beban dan melakukan aktivitas yang menyebabkan hiperekstensi tulang belakang. Yang termasuk dalam fisioterapi dalam perawatan SSL adalah olahraga berjenis aerobik, kekuatan, dan fleksibilitas serta olahraga khusus untuk fleksi lumbar seperti bersepeda, *body weight supported treadmill walking*, latihan koordinasi otot, dan latihan keseimbangan. Menurut beberapa studi, fisioterapi tidak dapat memperbaiki SSL itu sendiri, tetapi dapat meningkatkan fungsi pasien dengan SSL. Sebuah studi klinis *Randomized (RCT)* bahkan menemukan bahwa meningkatkan aktivitas fisik pada pasien SSL dapat mengurangi gejala SSL dengan cara yang belum diketahui.¹⁰

2.7.1 MLC 901

MLC901 (NeuroAiD II) adalah kombinasi dari sembilan bahan 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. Banyak penelitian telah menunjukkan keamanan dan efektivitasnya. Bahan aktif dalam campuran ekstrak ini termasuk *astragaloside IV* (AST-IV), *salvianolic acid B* (SAB), tanshinone IIB (TSB), *tetramethylpyrazine* (TMP), *ferulic acid*, ligutilide, dan *butylidenephthalide*, asarone, total *paeony glycoside* (TPG), dan *hydroxyl safflower yellow A* (HSYA).⁴⁰

MLC901 memiliki sifat neuroprotektif dan neuroproliferatif pada hewan yang diuji baik *in vitro* maupun *in vivo*. Hal ini dicapai melalui pengaruh antioksidan, mendorong proliferasi sel, dan mendorong stimulasi akson dan dendrit sirkuit neuron setelah cedera otak. Secara umum, MLC901 memiliki tiga efek positif, yaitu neurogenesis, neurorestorasi, dan neuroproteksi, dengan efek yang terakhir lebih sedikit daripada yang lain. Setelah diberikan MLC901 pada tikus yang mengalami cedera iskemik, mereka menunjukkan peningkatan fungsi kognitif, pemulihan neurologis, penurunan neurodegenerasi, dan kelangsungan hidup yang lebih baik.⁴⁰⁻⁴⁵

Pemberian MLC901 dapat menghambat influks Ca^{2+} yang berlebih, mengaktivasi saluran K_{ATP} yang berdampak pada terjadinya hiperpolarisasi, dan mencegah ekskresi eksitotoksik glutamate terutama pada neuron yang kekurangan energi. Selain itu, MLC901 juga menghambat glibenklamid yang merupakan inhibitor spesifik dari K_{ATP} sehingga terjadi aktivasi dari saluran K_{ATP} .^{46,47}

MLC 901 dapat menurunkan tingkat protein Bax (molekul proapoptosis yang kuat, anggota keluarga B-cell lymphoma 2 yang menyebabkan caspase terminal teraktivasi) sehingga terjadi penurunan apoptosis dan MLC901 mampu merangsang sekresi *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), sebuah faktor pertumbuhan penting yang mengatur plastisitas otak dan kelangsungan hidup saraf. Ekspresi BDNF di neuron kortikal ditingkatkan dengan pemberian MLC901 selama 6 minggu (6 mg/ml), menurut data *in vitro*.^{42,48}

Menurut penelitian *in vitro* yang dilakukan pada kultur sel kortikal, MLC901 membantu dalam pembentukan arborisasi aksonal dan dendritik, serta jaringan neuritik yang padat dengan pemanjangan dan peningkatan jumlah

percabangan. Peningkatan sinaptogenesis terkait erat dengan peningkatan kepadatan dan percabangan ini.⁴⁶

TMP dapat bersifat neuroprotektif dan anti-inflamasi pada saraf dengan menurunkan jalur sinyal JUN amino-terminal kinase (JNK), JNK-MMP2/9. Pada cedera korda spinalis, TMP mengaktivasi jalur *Peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator 1-α* (PGC-1α) dan menurunkan apoptosis sel saraf, menghambat inflamasi dan meningkatkan angiogenesis. Selain itu, TMP juga dapat menurunkan apoptosis sel saraf dengan cara menurunkan ekspresi miR214-3p, meningkatkan Bcl-2, dan mengatur caspase-3.⁴⁹

MLC901 dapat berfungsi sebagai pencegahan sekaligus pengobatan. Pemberian intraperitoneal secara cepat (1 µg/tikus dalam bolus 500 µl) meningkatkan kelangsungan hidup dan menurunkan luas infark sekitar 50% dibandingkan dengan tikus kontrol pada 30 jam setelah terjadi iskemia. Selain itu, pengobatan awal MLC901 selama 6 minggu dalam air minum (6 mg/ml) sebelum induksi iskemia menunjukkan efek penurunan infark yang signifikan.⁴⁶

Pada kondisi iskemia, MLC901 mempertahankan cadangan sel mikroglia normal, yang biasanya menurun. Ini berdampak pada ekspresi gen berbagai sitokin dan kemokin yang muncul. MLC901 diketahui tidak mempengaruhi sitokin anti-inflamasi IL-10, tetapi menurunkan ekspresi sitokin pro-inflamasi seperti IL-11, IL-1β, IL-6 dan TNF-α, serta meningkatkan ekspresi ILR-4Rα, yang merupakan marker anti-inflamasi spesifik dalam kondisi M2. Ekspresi MMP-9 diturunkan oleh MLC901. Tabel 2.1. merinci kandungan bahan herbal dan aktif serta efek MLC901.⁵⁰

Tabel 2.1. Kandungan bahan herbal dan aktif serta efek dari MLC901⁵¹

No	Bahan Herbal	Bahan aktif	Efek utama	Efek tambahan
1	Radix astragali	Astragaloside IV (AST-IV)	Antiviral, anti-inflamasi, antioksidan, antihiperglikemia, antiasma kronik gastroproteksi, neuroproteksi and antiapoptosis	Meningkatkan katabolisme lipid, meningkatkan fungsi mitokondria menurunkan BB
2	Radix salvia miltiorrhizae	Salvianolic acid B (SAB), tanshinone	Efek neuroprotektif melalui penghambatan jalur TLR4/MyD88/TRAF6, menghambat transkripsi NFκB dan respons sitokin pro-inflamasi IL-1β, IL-6, TNFα	Pengobatan ketergantungan obat, menstimulasi pelepasan dopamin
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:TPA = 7:3
4	Rhizoma chuanxiong	Total lingustici phenolic acids (TLPA), tetramethylpyrazine (TMP) , ferulic acid	Antioksidan, anti-inflamasi, antiapoptosis, vasodilatasi, angiogenesis, supresi kerusakan mitokondria, proteksi endotel, mengurangi proliferasi dan migrasi sel otot polos pembuluh darah, neuroproteksi	Mengurangi neuroinflamasi dan nyeri neuropatik, antiangiogenik
5	Radix angelicae sinensis	Ligustilide , butylidenephtalid, 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
6	Carthamus tinctorius	Hydroxyl safflower yellow A (HSYA)	Anti-inflamasi, antioksidan, obat kardiovaskular, efek neuroproteksi	Anti asma, mengurangi fibrosis paru
7	Prunus persica	Astragalin, vitamin	Antikanker, anti-inflamasi, antioksidan, neuroprotektif, antidiabetik, kardioprotektif, antiulcer, dan antifibrosis	Menurunkan CCL-4, menghambat NFκB dan TNFα, IL-1β
8	Radix polygalae	Presenegenin/ Reiniosides	Immunoadjuvant, antiproliferative, anti-inflamasi, <i>hypolipidemic</i> , antidepressan, neuroproteksi, meningkatkan memori	

9	Rhizoma acori tatarinowii	β -asarone	Anti-inflamasi, menekan ekspresi IL-6, IL-1 β , menginduksi NO synthase (i-Nos) dan ekspresi COX-2, menghambat aktivasi mikroglia	Memperbaiki gangguan ingatan dan <i>synaptic plasticity</i> , meningkatkan BB
---	---------------------------	------------------	---	---

2.7.2 Pengaruh MLC901 Terhadap Demielinisasi Akson dan TGF- β 1 Pada Stenosis Spinalis

Pada saat terjadi kompresi pada cauda equina, aliran darah akan berkurang pada akar saraf yang tertekan dan menyebabkan iskemia. Pada kondisi iskemia akan terjadi peningkatan pelepasan mediator-mediator inflamasi oleh sel residen atau infiltrasi sel inflamasi seperti sel mast dan makrofag. Sitokin pro-inflamasi yang dikeluarkan berupa IL-1 β , TNF, IL-6, IL-15, IL-17, IL-18, *interferon- γ* (IFN- γ), sedangkan sitokin anti-inflamasi berupa IL-4, IL-10 dan TGF- β . Sitokin IL-10 dilepaskan dalam kondisi homeostasis untuk menghentikan gen yang mengkode pro-inflamasi dan reseptornya. Namun, pada kerusakan saraf, sitokin IL-1 β , TNF, dan IL-6 dilepaskan satu sama lain dengan umpan balik positif sehingga meningkatkan kaskade inflamasi.

Salah satu efek peningkatan TNF α di medulla spinalis adalah peningkatan permeabilitas BSCB. Efek ini terjadi melalui reduksi yang dimediasi TNF α pada ekspresi *tight junction protein Zonula occludens-1* (ZO-1) dan occluding melalui aktivasi *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- κ B). Karena efek pada ekspresi TNF α , bradikinin yang merupakan vasodilator juga memainkan peran secara tidak langsung dalam mengatur permeabilitas pembuluh darah. Saat terjadi kerusakan pada BSCB maka akan terjadi peningkatan permeabilitas, yang akan menyebabkan makrofag masuk dari pembuluh darah yang terluka dan menumpuk di lingkungan mikro medulla spinalis, kemudian makrofag akan mengekspresikan lebih banyak sitokin dan kemokin, yang pada gilirannya akan semakin meningkatkan permeabilitas BSCB. Kurangnya adenosin trifosfat (ATP) yang disebabkan oleh iskemia dan defek saluran ion akan mengakibatkan ketidakseimbangan ion. Selain itu, akumulasi air dalam sel dan kompartemen ekstraseluler akan memperburuk edema jaringan saraf.^{25,52,53}

TGF- β , suatu immunosupresif yang kuat, berfungsi dalam sensitisasi perifer ini dengan menghentikan proliferasi limfosit dan produksi sitokin. Selain itu, TGF- β mempengaruhi diferensiasi sel T dan merangsang pembentukan regulator sel T immunosupresif. Pada cedera saraf, TGF- β juga berperan menurunkan aktivasi astrosit, mikroglia, dan oligodendroglia di kornu dorsalis yang diinisiasi oleh TNF α dan IL-6, kemudian selanjutnya terjadi pelepasan TNF α , IL-1 β , NO, ATP dan prostaglandin. TGF- β dan IL10 mengurangi infiltrasi sel imun ke dalam kornu dorsalis dan meningkatkan integritas BSCB, sehingga TGF- β bertanggung jawab dalam mencegah kebocoran BSCB. TGF- β juga berperan meningkatkan ekspresi opioid endogen, menurunkan aktivasi glia, dan pelepasan sitokin pro-inflamasi.^{13,54}

Pada cedera saraf perifer, TGF- β meningkatkan rekrutmen dan kemampuan sel schwan dan makrofag untuk membersihkan debris mielin dengan mengatur ekspresi *Receptor Tyrosine kinase* (rTK) dan *Matrix metalloproteinase* (MMP). TGF- β mengatur jumlah sel Schwan, melindungi membran basal, meningkatkan migrasi, dan membentuk pita Bungner. Selain itu, TGF- β mempolarisasi makrofag M1 menjadi fenotip M2 dan mendukung sel Treg dan Th2 untuk menciptakan kondisi yang mendukung pertumbuhan sel. TGF- β juga mengaktifkan neuron RAG untuk mengeluarkan faktor neurotrofik NGF dan GDNF yang berfungsi meningkatkan kapasitas pertumbuhan sel saraf.³⁴

Jika ada gangguan pada nosiseptor ujung saraf perifer, akan terjadi perubahan densitas dan hipereksitabilitas. Sel-sel glia di sepanjang akson akan mengalami proliferasi, peningkatan distribusi, *sprouting*, dan meningkatkan ekspresi gerbang. Maladaptasi terjadi pada ganglia akar dorsalis badan sel sensorik, termasuk perubahan pada struktur membran, karakteristik sinap, dan lokasi sinap. Adanya sinyal yang tidak biasa dari perifer menuju neuron orde kedua bersama dengan kesalahan dalam transduksi dan transmisi adalah hasil akhir dari mekanisme maladaptasi ini. Sitokin pro dan anti-inflamasi terlibat dalam regulasi jalur sinyal yang beragam. Salah satu tujuan utama adalah untuk mendorong regenerasi, yaitu mendorong

pertumbuhan aksonal dan merangsang pembentukan koneksi baru. Sitokin anti-inflamasi termasuk TGF- β sebagai modulator plastisitas dan pertumbuhan neurit sangat penting dalam regenerasi saraf.^{54,55}

MLC901 memiliki efek neuroprotektif dan neuroregenerasi pada cedera otak traumatik. Pemberian MLC901 dapat mengaktivasi Akt dan K_{ATP} Channels, serta dapat menurunkan nekrosis, apoptosis, eksitosisitas, dan stress oksidatif. Selain itu, pemberian MLC901 dapat menurunkan defisit fungsional dan meningkatkan sinaptogenesis, serta menginduksi neurogenesis, neuroproliferasi, efek neurogenik dan pertumbuhan neurite. Diharapkan bahwa efek MLC901 terhadap BSCB, neurogenesis, dan kondisi iskemia akan membantu pemulihan gangguan saraf perifer yang disebabkan oleh stenosis spinalis.

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. Penelitian terbaru pada hewan coba yang mengalami gangguan saraf perifer menunjukkan bahwa terdapat peningkatan ekspresi miR-30c-5p yang berkaitan dengan TGF- β sebagai target. Peningkatan miR-30c-5p akan menurunkan kadar TGF- β .^{9,46,56}

2.8 Gangguan Saraf Perifer dan Model Lesi Hewan Coba

2.8.1 Penyebab Gangguan Saraf Perifer

Lesi saraf perifer dapat disebabkan oleh beberapa faktor berikut:⁵⁷

1. Transeksi saraf akut : Dalam kebanyakan kasus laserasi saraf, terjadi neurotmesis atau transeksi lengkap seluruh akson dan jaringan ikat di sekitarnya, sehingga terjadi pemisahan yang jelas di kedua ujung saraf. Cedera ini biasanya disebabkan oleh kaca, pisau, fraktur tulang, dan iatrogenik.
2. Kompresi saraf kronik : Perubahan mekanis dan vaskular adalah bagian dari perubahan patologis yang terjadi pada kompresi kronis atau berulang. Perubahan pertama adalah demielinasi fokus di tempat kompresi.

3. Cedera injeksi
4. Cedera saraf iskemia
5. Cedera radiasi
6. Cedera tarikan
7. Cedera akibat suhu dingin

2.8.2 Klasifikasi lesi saraf perifer

Lesi saraf perifer telah diklasifikasikan dalam berbagai kategori, tetapi klasifikasi yang baik harus berdasarkan:

1. Kerusakan komponen dari serabut saraf
2. Gangguan fungsi dari serabut saraf
3. Kemampuan untuk pulih secara spontan.

Pada tahun 1943, Seddon membuat 3 klasifikasi dari lesi saraf perifer, yaitu
.57

1. Neuropraxia: Keadaan di mana fungsi saraf perifer hilang dalam waktu yang singkat karena gangguan konduksi, pada keadaan ini tidak ada kerusakan pada sistem saraf dan dapat kembali ke fungsi normal setelah 3 minggu.
2. Axonotmesis: Keadaan di mana terjadi kerusakan struktur akson tetapi jaringan endoneurium tetap utuh, pada keadaan ini saraf dapat pulih secara spontan, tetapi juga dapat terjadi degenerasi Wallerian pada sisi distal lesi .
3. Neurotmesis: kerusakan pada akson, mielin, dan komponen jaringan pembungkusnya. Seringkali terjadi fibrosis di lokasi sehingga tidak terjadi penyembuhan spontan.

Sunderland membagi lesi saraf perifer menjadi lima tingkat pada tahun 1951
.58

1. Tingkat I : menunjukkan neuropraxia.
2. Tingkat II : menunjukkan axonotmesis.

3. Tingkat III : menunjukkan kerusakan pada akson dan endoneurium, sedangkan perineurium tetap utuh, sehingga tidak dapat sembuh secara spontan karena terjadi fibrosis intraneural.
4. Tingkat IV: menunjukkan kerusakan pada akson, endoneurium, dan perineurium, sedangkan epineurium masih utuh.
5. Tingkat V : menunjukkan kerusakan menyeluruh, menyebabkan pembentukan jaringan fibrosis di antara lesi.

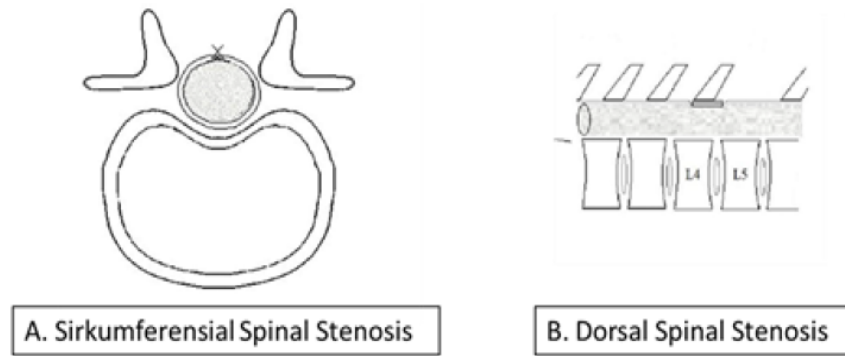
Makinnon dan Dellon pada tahun 1988 mengusulkan klasifikasi tambahan dari klasifikasi Sunderland, yaitu grade VI di mana terjadi kerusakan saraf perifer yang lebih kompleks.⁵⁸

2.8.3 Model lesi saraf perifer

Cedera saraf perifer ataupun saraf pusat dapat menyebabkan nyeri neuropatik. Model nyeri neuropatik pada hewan coba berusaha mendekati pola penyebab dari nyeri neuropatik. Model nyeri neuropatik pada korda spinalis ini bisa didapatkan dari beberapa mekanisme, seperti kontusio, pembedahan, dan radiasi laser yang menyebabkan iskemia, serta penggunaan neurotransmitter yang menyebabkan eksitotoksisitas. Model seperti ini menyebabkan hiperalgesia mekanis dan panas.⁵⁹

2.8.3.1 Kompresi Kauda Equina (Spinal stenosis)

Untuk melakukan kompresi kauda equina, biasanya digunakan silikon pada bagian dorsal epidural L4-L5. Selain itu, ada yang mengatur derajat stenosis untuk mencegah fibrosis epidural. Dari hari pertama hingga hari keempat belas, mulai terlihat gangguan perilaku berupa klaudikasio neurogenik intermiten. Gejala neuropatik berupa gangguan motorik, kelainan elektrofisiologi serabut saraf, dan demielinisasi diakibatkan semua efek dari model sirkumferensial spinal stenosis yang masih jarang dilakukan. Gambar 2.7. Menunjukkan skema kompresi kauda ekuina.^{5,59,60}



Gambar 2.7. Representasi skematis dari model nyeri neuropatik kompresi kauda ekuina⁵

Pada penelitian terbaru yang dilakukan oleh Priyanto et al., ditemukan bahwa metode ini telah terbukti menyebabkan nyeri neuropatik pada hewan coba yang diteliti menggunakan alat *hot plate place test*. Nyeri neuropatik pada penelitian tersebut dinilai menggunakan *behavioral test* dan *face grimace scale*.⁵¹

2.9 Degenerasi Wallerian

Degenerasi wallerian (WD) mengacu pada proses patologis degenerasi sekunder akson dan selubung mielin yang terjadi di distal dari lokasi cedera akut pada badan sel saraf atau akson proksimal. Cedera menimbulkan respons yang kuat dari sel-sel non-neuronal di saraf tepi, terutama di *stump* saraf distal.

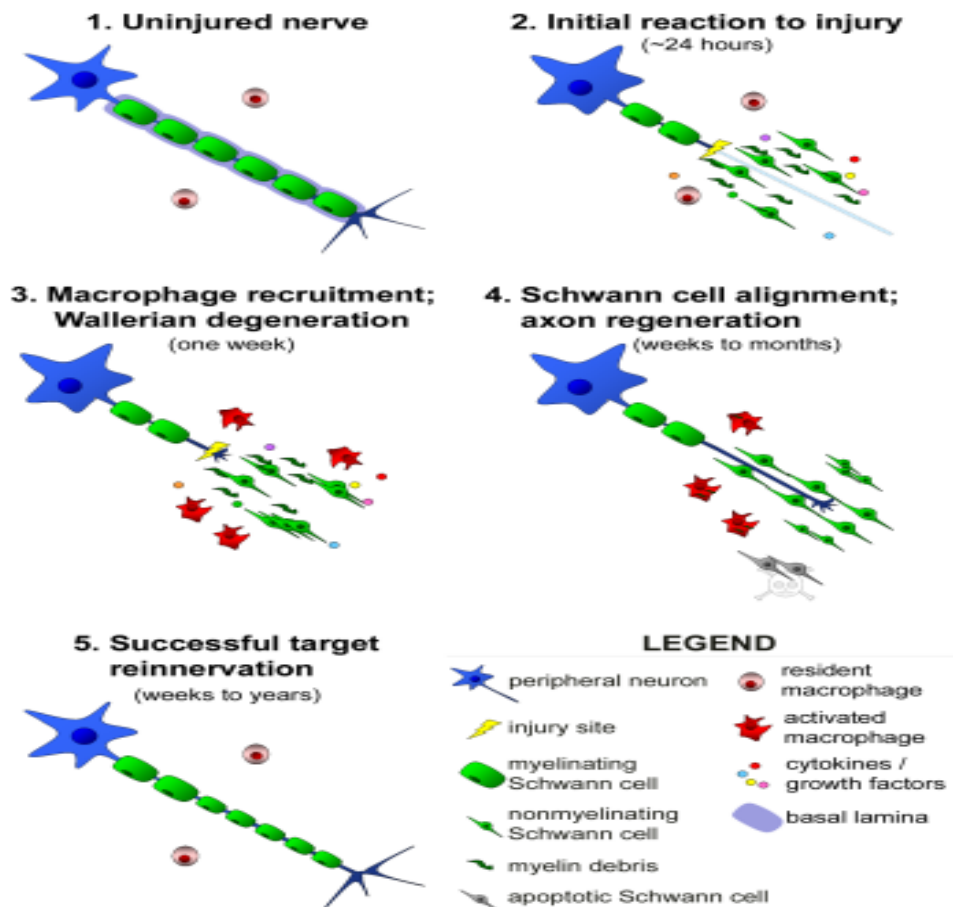
Gambar 2.8 menunjukkan perkembangan degenerasi Wallerian dan regenerasi akson setelah *peripheral nerve injuries* (PNI). Akson tunggal dengan sel Schwann bermielin yang saling terkait, meskipun lamina basal mengalami fagositosis dan degenerasi mielin. Endoneurium saraf yang tidak cedera terdiri dari akson, sel Schwann yang berasosiasi (mielin dan tidak mielin), dan makrofag yang tidak aktif (1). Sel Schwann yang mengalami denervasi mielin melepaskan mielinnya segera setelah PNI. Selanjutnya, sel Schwann ini berproliferasi di dalam tabung lamina basalnya, menghasilkan sitokin atau faktor trofik, serta memfagosit sisa-sisa yang terlepas. Selain itu, hipertrofi sel soma, perpindahan inti ke posisi eksentrik, dan pembubaran badan Nissl adalah tanda mulainya reaksi di dalam

badan sel neuron (2). Cedera menyebabkan degenerasi Wallerian dalam waktu satu minggu. Makrofag residen diaktifkan oleh faktor terlarut yang dibuat oleh sel Schwann dan akson yang mengalami cedera, yang menyebabkan rekrutmen makrofag hematogen. Makrofag yang teraktivasi membersihkan sisa-sisa mielin dan akson, menghasilkan faktor-faktor yang memudahkan migrasi sel Schwann, dan regenerasi akson (3). Setelah periode jeda, akson yang cedera membentuk *growth cone* dan mulai beregenerasi sepanjang pita Büngner yang dibentuk oleh sel Schwann. Tabung ini memberikan lingkungan pertumbuhan yang baik dan memungkinkan akson untuk berkembang menuju target perifer yang potensial. Denervasi jangka panjang sel Schwann (misalnya selama beberapa bulan) meningkatkan kematian sel Schwann dan kurang mendukung regenerasi (4). Jika akson mampu melintasi lokasi cedera dan lingkungannya mendukung pertumbuhannya di sepanjang *stump* distal, maka akson dapat terhubung dengan target perifer. Sel Schwann yang bermielin melakukan remielinasi pada bagian akson yang beregenerasi, tetapi mielinnya lebih tipis dan nodalnya lebih pendek daripada bagian akson yang tidak mengalami cedera (5).⁶¹

Augustus Volney Waller adalah orang pertama yang mencatat perubahan morfologi pada saraf *glossopharyngeal* dan hipoglosus katak 160 tahun yang lalu, dan proses degeneratif ini dikenal sebagai degenerasi Wallerian. Salah satu aspek penting dari degenerasi Wallerian adalah degenerasi intrinsik dari akson distal yang terlepas. Ini memicu rangkaian respons seluler non-neuronal yang membersihkan sisa-sisa penghambat di saraf tepi dan menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan kembali akson beberapa bulan setelah cedera.^{61,62}

Setelah *peripheral nerve injury* (PNI), degenerasi akson pada saraf distal memicu proses degeneratif berikutnya, namun degenerasi akson tidak terjadi secara instan. Segmentasi akson yang terlepas tetap utuh selama berhari-hari setelah PNI, dan ketika distimulasi, segmen tersebut masih dapat mengirimkan potensial aksi. Untuk tikus muda dan mencit, jeda antara cedera dan degenerasi akson adalah 24 hingga 48 jam, tetapi untuk akson primata, termasuk manusia, memerlukan beberapa hari. Akhirnya, akson mengembang dan membengkak

sebelum granular sitoskeleton hancur dengan cepat menjadi potongan-potongan kecil yang selesai dalam waktu 1 jam.^{61,63}



Gambar 2.8. Perkembangan degenerasi Wallerian dan regenerasi akson setelah *peripheral nerve injuries* (PNI). Lamina basal (warna ungu)

Degenerasi yang disebabkan oleh cedera didasari oleh terjadinya mekanisme intrinsik pada akson yang terlepas. Untuk memulai proses, kalsium dari penyimpanan ekstraseluler dan intraseluler harus masuk ke dalam aksoplasma. Calpain, suatu protease penting untuk kerusakan sitoskeletal dan degenerasi akson, diaktifkan ketika kalsium masuk. Proses degeneratif ini juga melibatkan aktivasi sistem ubiquitin-proteasome akson. Kerusakan selubung mielin, akumulasi makrofag, dan regenerasi aksonal adalah hasil dari proses degeneratif ini. Oleh karena itu, proses degeneratif yang lebih luas ditentukan oleh

waktu di mana disintegrasi granular sitoskeleton dan degenerasi akson terjadi. Gangguan BSCB dan awal perubahan seluler yang terkait dengan degenerasi adalah beberapa perubahan yang terjadi pada saraf segera setelah degenerasi akson yang diinduksi oleh PNI.

BSCB terdiri dari sel-sel endotel tidak berfenestrasi yang terhubung oleh ikatan yang ketat, yang membatasi pergerakan protein, hormon, ion, dan zat beracun dari darah ke jaringan saraf. Meskipun BSCB sering rusak di tempat cedera, BSCB ini tidak akan rusak di tempat lain di sepanjang saraf sampai degenerasi akson terjadi. Pada saat itu, sawar sebagian melemah di sepanjang saraf distal yang terkena cedera. Ini terjadi selama setidaknya empat minggu setelah cedera. Puncak respons inflamasi akut dikaitkan dengan permeabilitas perineural maksimal pasca-transeksi, yang mencapai dua kali lipat permeabilitas normal saraf dalam waktu empat hingga tujuh hari. Peningkatan permeabilitas BSCB akan memfasilitasi perbaikan jaringan untuk memasuki saraf. Sekitar dua minggu setelah cedera, permeabilitas BSCB perineurial menurun. Namun, mulai empat minggu setelah transeksi, permeabilitas kembali meningkat. Peningkatan permeabilitas kedua ini mungkin menunjukkan perubahan yang diperlukan untuk memperoleh homeostatis kembali setelah degenerasi Wallerian.^{61,64}

Sel Schwann merupakan sel glial yang melapisi sistem saraf perifer dan terdiri dari 90 persen sel berinti dalam saraf perifer. Sel Schwann sangat penting untuk fungsi normal dan perbaikan saraf. Selain memberikan dukungan trofik untuk pertumbuhan, mematangkan, dan regenerasi akson, serta lamina basal yang dibentuk oleh sel Schwann yang mengelilingi akson terkait, dan komponen-komponennya membantu pertumbuhan akson. Saraf perifer dewasa terdiri dari dua jenis sel Schwann, yaitu sel Schwann bermielin dan tidak bermielin.

Di sekeliling akson kaliber besar (motorik atau sensorik), sel Schwann bermielin membentuk selubung mielin berlapis-lapis. Sel-sel ini tersebar merata di sepanjang akson dan berasosiasi dengan satu segmen akson tunggal. Akson dengan mielin dapat menghantarkan potensial aksi lebih cepat daripada tanpa mielin, hal ini disebabkan karena isolasi yang diberikan mielinnya. Sebaliknya, beberapa akson tidak bermielin berdiameter kecil ditutupi secara longgar oleh sel

Schwann yang tidak bermielin, juga dikenal sebagai sel Remak. Proses sitoplasma sel Schwann tidak bermielin memisahkan dan mengelilingi akson. Sistem ubiquitin-proteasome bertanggung jawab atas proses dediferensiasi sel Schwann di saraf distal segera setelah terjadinya PNI. Bahkan sebelum degenerasi akson terjadi, sel Schwann mengubah ekspresi gen dan menghasilkan mielin yang berhubungan dengan akson sebagai reaksi terhadap cedera.

Dalam 48 jam setelah cedera, sel Schwann berhenti menghasilkan protein mielin, meningkatkan regulasi gen yang terkait dengan regenerasi (*Growth Associated Protein 43*, faktor neurotropik dan reseptornya, neuregulin dan reseptornya), dan mulai proliferasi. Sekitar empat hari setelah cedera, sel Schwann bermielin dan tidak bermielin membelah, mencapai puncak proliferasi mereka. Sel Schwann yang berproliferasi terbatas pada tabung lamina basal, di mana sel-sel sejajar membentuk pita Büngner, yang menyediakan substrat pendukung dan faktor pertumbuhan untuk regenerasi akson.^{61,65}

Telah dijelaskan bagaimana sel Schwann dan sel imun merasakan cedera pada akson di dekatnya dalam penelitian terbaru. *Toll-like receptors* (TLRs) mengidentifikasi patogen mikroba dan mengaktifkan respons inflamasi di dalam sel. Selanjutnya, reseptor ini mengidentifikasi kerusakan jaringan dengan mengikat ligan endogen yang biasanya tidak ada di lingkungan ekstraseluler, seperti *heat shock proteins*, mRNA, dan komponen *degraded extracellular matrix* (ECM).

Berbagai TLR diekspresikan dalam sel Schwann seperti TLR3, TLR4, dan TLR7 yang diekspresikan secara konstitutif dalam sel yang tidak distimulasi, dan TLR1 meningkat setelah aksotomi. Sel Schwann melakukan peran penjaga di sistem saraf perifer, seperti yang ditunjukkan oleh pola ekspresi TLR. Memang, PNI menyebabkan perubahan yang bergantung pada TLR, seperti aktivasi faktor transkripsi, ekspresi sitokin, perkembangan degenerasi Wallerian, dan pemulihan fungsional. Secara *in vitro*, neuron nekrotik yang diduga mengandung ligan TLR pada sel Schwann yang meningkatkan ekspresi mediator inflamasi seperti TNF- α , *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), dan *monocyte chemoattractant protein-*

1 (MCP-1) mRNA. Efek tersebut berkurang dengan menggunakan sel Schwann dari tikus yang kekurangan TLR2 atau TLR3.

Boivin dan rekannya menunjukkan bahwa tikus yang kekurangan sinyal TLR (tikus yang kekurangan TLR2-, TLR4-, atau MyD88) menunjukkan ekspresi sitokin pro-inflamasi yang lebih rendah dan akumulasi makrofag pada saraf skiatik distal, penundaan degenerasi Wallerian, dan pemulihan fungsional. Sebaliknya, pembersihan mielin dan pemulihan fungsional dipercepat dengan suntikan tunggal ligan TLR2 atau TLR4. Secara umum, ligan TLR endogen yang dibebaskan dari disintegrasi akson, mengikat TLR yang ditemukan pada sel Schwann dan sel imun (seperti makrofag) sehingga mengaktifkan kaskade inflamasi yang mungkin penting untuk mendorong regenerasi akson. Selain itu, data lain menunjukkan bahwa ligan reseptor P2 (seperti purin) bekerja pada sel Schwann untuk menyebabkan peradangan yang diinduksi aksotomi.^{61,66}

Sel Schwann juga berperan awal dalam menghilangkan sisa-sisa mielin, yang menjadi penghalang untuk menumbuhkan kembali akson di saraf distal. Setelah akson mengalami degenerasi dan menghilang, selubung mielin sel Schwann berpartisipasi secara longitudinal untuk membentuk ovoid kecil. Puing-puing mielin ini mengandung molekul yang menghambat pertumbuhan aksonal termasuk *myelin-associated glycoprotein* (MAG) dan *glikoprotein oligodendrosit-mielin* (OMgp). Sel Schwann berperan aktif dalam menghilangkan sisa-sisa mielin yang berasal dari sel Schwann yang mati atau rusak, mereka dapat mendegradasi mielinnya sendiri dan memfagosit sisa-sisa ekstraseluler. Sel Schwann juga mengekspresikan *major histocompatibility complex II* (MHC-II); namun, apakah mereka dapat bertindak sebagai sel penyaji antigen masih belum jelas.⁶⁷

Aktivasi kelompok enzim fosfolipase-A2 (PLA2) menentukan degradasi awal mielin setelah PNI. Fosfolipid fosfatidilkolin dihidrolisis menjadi lisofosfatidilkolin (yang memicu pemecahan mielin) dan asam arakadonat (yang dapat dimetabolisme menjadi eikosanoid pro-inflamasi). Sitokin (termasuk TNF- α dan IL-1 β) meningkatkan ekspresi dan aktivasi PLA2 pada sel lain, oleh karena itu, setelah PNI, mediator inflamasi ini juga dapat mengontrol aktivasi PLA2 dalam sel Schwann. Menariknya, bentuk PLA2 yang disekresikan dan sitosol diatur

dalam sel Schwann serta makrofag dalam beberapa jam setelah cedera, dan terus meningkat selama dua minggu. Perjalanan waktu ini dikaitkan dengan degenerasi Wallerian setelah PNI, dan kembalinya tingkat PLA2 basal tiga minggu setelah PNI dikaitkan dengan regenerasi dan remyelinasi akson.

De et al. menemukan bahwa mencegah ekspresi dan aktivitas PLA2 pada cedera saraf skiatik distal memperpanjang waktu pembersihan degenerasi mielin dan akson. Oleh karena itu, setelah PNI, aktivitas PLA2 diperlukan untuk memulai pemecahan mielin dan perkembangan degenerasi Wallerian. Selain berproliferasi dan memfagositosis sisa-sisa setelah PNI, sel Schwann pada *stump* saraf distal mengeluarkan faktor trofik yang mendorong pertumbuhan akson, serta sitokin dan kemokin yang merekrut sel imun ke dalam saraf yang cedera. Dalam seminggu setelah cedera, sel imun yang direkrut, terutama makrofag, bertanggung jawab atas pembuangan sisa-sisa dan pembuatan faktor pertumbuhan pada tahap berikutnya dari degenerasi Wallerian.

Setelah tikus menjalani transeksi saraf skiatik, sel Schwann di saraf distal mensintesis sitokin pro-inflamasi TNF- α dan interleukin (IL)-1 α dalam waktu 5 jam, sedangkan produksi IL-1 β tertunda hingga 24 jam. Ekspresi mRNA IL-6 dan *leukemia inhibitory factor* (LIF) meningkat dalam waktu 3 jam setelah PNI, kedua faktor ini dihasilkan oleh sel Schwann dan diperlukan untuk kemotaksis sel imun. Faktanya, pemberian IL-6 meningkatkan ekspresi mRNA LIF dan MCP-1 (juga dikenal sebagai CCL2) pada sel Schwann, dan pemberian LIF meningkatkan ekspresi mRNA MCP-1 pada sel Schwann. Selain itu, TNF- α meningkatkan produksi MMP-9 dan MCP-1 di mana keduanya diperlukan untuk menginduksi akumulasi makrofag melalui aksotomi. Data yang dikumpulkan menunjukkan bahwa setelah PNI, sel Schwann yang teraktivasi memulai rangkaian sitokin dan kemokin yang meningkatkan dan menyempurnakan respon inflamasi.⁶¹

Sel Schwann mensekresi molekul ECM dan faktor trofik sehingga mendorong regenerasi akson. Laminin mendukung pertumbuhan akson yang kuat, dan merupakan komponen (ECM terbanyak kedua di sistem saraf perifer (setelah kolagen). Dua dari lima belas trimer laminin diekspresikan pada saraf perifer yang utuh (laminin 2-a2b1g1 dan laminin 8-a4b1g1), dan ekspresinya

meningkat setelah PNI. Pada kondisi ini, hilangnya subunit laminin g1 dalam sel Schwann secara efektif menghilangkan ekspresi laminin fungsional dalam sistem saraf perifer, mengubah fisiologi sel Schwann (seperti kesalahan dalam diferensiasi dan pencabutan akson), dan sangat menghambat pertumbuhan akson setelah lesi saraf skiatik. Oleh sebab itu, laminin sangat penting untuk mempertahankan dan memperbaiki saraf tepi yang cedera. Laminin bekerja langsung pada neuron dan sel Schwann dengan mengikat reseptor tertentu, seperti integrin dan distroglikan. Ini meningkatkan adhesi dan menyediakan hubungan molekuler antara ECM dan sitoskeleton aktin yang menghasilkan mielinisasi dan pertumbuhan neurit.^{61,68}

Faktor trofik yang berbeda dilepaskan oleh sel Schwann untuk mendukung kelangsungan hidup dan pertumbuhan neuron. Sitokin pro-inflamasi IL-6, yang meningkat pada neuron dan sel non-neuronal setelah PNI, memberi sinyal melalui reseptornya untuk meningkatkan ekspresi RAGs dalam neuron dan mendorong pertumbuhan neurit. Faktor neurotropik seperti NGF juga meningkat sebagai akibat dari cedera saraf dan dapat mendorong pertumbuhan kembali akson, meskipun protein ini tidak diperlukan untuk semua model cedera dalam regenerasi akson perifer.

Sel Schwann melepaskan banyak sitokin dan faktor pertumbuhan, tetapi dalam beberapa situasi, sel-sel ini dapat membatasi ketersediaan faktor pemacu pertumbuhan yang disekresikan dengan mengikat protein-protein itu sendiri. Laboratorium Ramer menunjukkan bahwa ekspresi sel Schwann dari reseptor pengikat faktor neurotropik p75NTR membatasi kemampuan akson untuk berkembang sebagai respons terhadap faktor neurotropik dengan menggunakan sistem ko-kultur yang melibatkan sel Schwann dan neuron DRG. Jika dibandingkan dengan sel Schwann *wildtype*, neuron *wildtype* yang dikultur pada sel Schwann p75NTR-null terdapat lebih banyak neurit. Pengobatan dengan Trk-Fc, yang merupakan reseptor Trk larut, menghilangkan efek ini. Ini menunjukkan bahwa potensi regeneratif akson perifer yang cedera dibatasi oleh sekuestrasi faktor neurotropik oleh sel Schwann p75NTR. Selain itu, regenerasi akson setelah cedera akar dorsal juga diperiksa. Menariknya, setelah cedera akar dorsal, akson

pada tikus p75NTR^{-/-} diregenerasi ke dalam sistem saraf pusat, infus Trk-Fc menghambat proses ini. Oleh karena itu, meskipun sel Schwann melepaskan faktor pertumbuhan, mereka juga mengikat beberapa protein dan meningkatkan kemampuan sel Schwann untuk mendorong pertumbuhan akson.

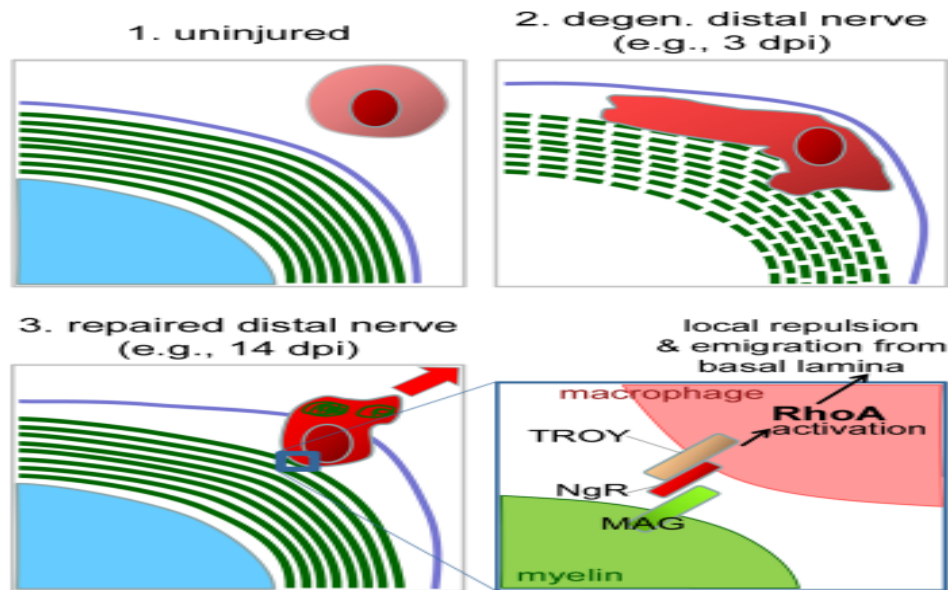
Cara fisiologi sel Schwann dipengaruhi oleh pengikatan faktor neurotropik ke reseptor permukaan sel (termasuk p75NTR) masih perlu dijelaskan. Faktor lain berkontribusi pada perbaikan saraf secara tidak langsung. Neuregulin, misalnya, yang berasal dari neuron mendorong migrasi sel Schwann dan membantu pemulihan. Akson tikus transgenik yang mengalami cedera yang kekurangan neuregulin-1 beregenerasi lebih lambat daripada akson *wildtype*, mengalami hipomielinasi, dan menunjukkan pertumbuhan terminal yang menyimpang pada sambungan neuromuskular.^{61,69}

Meskipun sel Schwann di saraf distal pada awalnya membantu regenerasi akson, kemampuan mereka untuk bertahan hidup dan mendukung pertumbuhan akson berkurang dalam waktu delapan minggu setelah denervasi. Salah satu faktor yang membatasi keberhasilan regenerasi akson perifer jarak jauh adalah hilangnya dukungan yang bergantung waktu pada saraf distal. Banyak sel Schwann denervasi mati dalam beberapa bulan setelah cedera, meninggalkan lamina basalnya yang akhirnya rusak dan hilang. Selain itu, sel Schwann yang bertahan pada saraf yang cedera jangka panjang mulai atrofi dan gagal membantu pertumbuhan akson. Menariknya, pengobatan dengan TGF- β , suatu sitokin yang dilepaskan oleh proliferasi sel Schwann dan makrofag, dapat mengaktifkan kembali sel Schwann yang mengalami denervasi kronis. Singkatnya, sel Schwann yang mengalami denervasi mendorong perbaikan saraf dengan berproliferasi, mensekresi faktor trofik dan sitokin, serta memfagositosis puing-puing mielin. Namun, dukungan sel Schwann yang diaktifkan kembali berkurang setelah denervasi kronis berlangsung selama 1-2 bulan.⁶¹

Protein dalam mielin yang baru terbentuk membantu meredakan respons inflamasi dengan membantu makrofag keluar dari lamina basal setelah cedera dan regenerasi. Akson yang bermielin pada saraf tepi yang tidak terluka dikelilingi oleh banyak selubung mielin yang rapat, lamina basal menutupi area ini. Di luar lamina

basal, makrofag residen berfungsi sebagai pengawasan (1). Degenerasi dan penguraian mielin dimulai pada akson setelah cedera saraf tepi. Makrofag residen dan hematogen yang teraktivasi terakumulasi dan menembus lamina basal, tempat mereka memfagosit mielin dan sisa akson. Fagositosis yang dimediasi makrofag sangat penting untuk perbaikan saraf karena puing-puing menghentikan regenerasi dan pertumbuhan akson (2). Setelah fagositosis sisa-sisa, regenerasi akson, dan remielinisasi, makrofag tidak lagi berguna dalam lamina basal. Makrofag sarat dengan sisa-sisa bermigrasi dari lamina basal, hal ini ditunjukkan oleh adanya protein pada permukaan mielin yang baru terbentuk. Glikoprotein terkait mielin (MAG) yang ditemukan pada membran mielin berinteraksi dengan reseptor NgR dan mitra pemberi sinyalnya TROY pada membran makrofag. Ketika kompleks reseptor ini terlibat di ujung belakang makrofag, GTPase RhoA kecil diaktifkan secara lokal. Ini menghasilkan sinyal tolakan lokal dan pergerakan menuju sumber aktivasi (mielin). Pada akhirnya, setelah remielinasi, makrofag keluar dari lamina basal (3). Terlampir pada Gambar 2.9.⁶¹

Setelah cedera medulla spinalis, terjadi kerusakan langsung dan ketidakseimbangan faktor lingkungan mikro lokal yang lebih lanjut menyebabkan demielinisasi. Namun, mekanisme demielinisasi belum jelas sepenuhnya. Nekrosis dan apoptosis dari oligodendrosit berpotensi menjadi penyebab utama demielinisasi aksonal. Tingkat apoptosis oligodendrosit di episentrum lesi memuncak dalam seminggu setelah cedera medulla spinalis. Hal ini menyebabkan demielinisasi akson yang mengalami cedera paling parah pada waktu tersebut, sedangkan akson yang tidak mengalami cedera di sekitar lesi masih tetap bermielin.⁴⁴



Gambar 2.9. Proses remielinisasi akson. Penampang melintang menunjukkan akson tunggal (pirus) dengan mielin (hijau), lamina basal (ungu), dan makrofag residen (merah muda)

Xue F et al meneliti bahwa 3 hari setelah operasi kompresi, selubung mielin mulai hancur. Pada hari ke-8 setelah operasi kompresi, mielin mengalami kerusakan parah, dan pada hari ke-12 setelah operasi kompresi, sebagian besar selubung mielin hilang, akson menjadi tidak bermielin, karena serabut saraf dipenuhi massa jaringan inflamasi, susunan akson yang tidak bermielin tidak beraturan, namun struktur akson masih utuh.⁷⁰