

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Stroke merupakan keadaan terjadinya defisit fungsi otak dan gangguan perkembangan otak baik fokal maupun general yang terjadi secara tiba-tiba. Gejala stroke dapat berlangsung selama 24 jam atau lebih serta menyebabkan risiko kematian. Secara global pada tahun 2019, stroke menjadi penyebab kematian nomor dua dan disabilitas nomor tiga yakni dengan rincian sebanyak 12,2 juta kasus insiden stroke, *disability-adjusted life-years* (DALs) sebanyak 143 juta kasus, serta kematian akibat stroke sebanyak 6,55 juta kasus (Feigin, 2021). Di Indonesia, prevalensi stroke berdasarkan diagnosis dokter pada penduduk usia tidak kurang dari 15 tahun yakni sebesar 10,9 per mil dengan prevalensi terbesar pada Provinsi Kalimantan Timur sebesar 14,7 per mil (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018).

Stroke menurut *National Center for Chronic Disease Prevention and Health* (2021) dapat dibedakan menjadi dua berdasarkan penyebabnya, yaitu stroke iskemik dan stroke hemoragik. Stroke iskemik disebabkan oleh gangguan suplai darah ke otak yang mengakibatkan disfungsi otak secara tiba-tiba sedangkan stroke hemoragik disebabkan adanya perdarahan di otak. Stroke hemoragik ini kemudian dibedakan kembali menjadi perdarahan intraserebral dan perdarahan subarachnoid. Perdarahan intraserebral merupakan jenis perdarahan intrakranial yang lebih umum terjadi dibandingkan perdarahan subarachnoid. Secara statistika, stroke hemoragik memang memiliki prevalensi insiden terjadinya kasus yang lebih kecil dibandingkan dengan stroke iskemik, namun stroke hemoragik khususnya perdarahan intraserebral menyebabkan disabilitas yang lebih besar (68,57%) dibandingkan stroke iskemik (63,48%) (Donkor, 2018). Selain itu, apabila dibandingkan dengan wilayah-wilayah lain di dunia, Asia Tenggara memiliki angka mortalitas akibat perdarahan intraserebral tertinggi (Virani *et al.*, 2021).

Adanya perdarahan di otak pada keadaan stroke hemoragik menyebabkan cedera primer dan sekunder. Cedera primer maupun sekunder akibat stroke hemoragik memiliki patofisiologi yang serupa yakni adanya perdarahan di otak. Beberapa saat setelah perdarahan, darah tersebut akan membentuk bekuan darah

yang disebut klot. Dengan adanya klot maka akan mengubah anatomi normal dari otak serta meningkatkan tekanan intrakranial (Aronowski and Zhao, 2011). Selain itu, pada bagian otak di sekitar hematoma akan mengalami kematian sel (Qureshi *et al.*, 2003). Dalam penelitiannya, Qureshi *et al* (2001) melaporkan bahwa ditemukan sejumlah besar nekrosis sel di sekitar hematoma pada korteks ipsilateral maupun kontralateral.

Cedera sekunder akibat perdarahan di otak dimulai saat sel darah merah terdegradasi sehingga merilis produk degradasinya berupa Fe dan heme. Selain bersifat toksik untuk sel neuron, akumulasi Fe dan heme meningkatkan produksi dari radikal bebas melalui reaksi fenton. Reaksi fenton terjadi ketika Fe maupun heme bereaksi dengan  $H_2O_2$  membentuk radikal hidroksil dan merusak membran lipid peroksida untuk menghasilkan radikal alkoksi dan peroksi yang mana dengan reaksi tersebut dapat menginduksi kerusakan sel dan berakhir pada kematian sel neuron (Aronowski and Zhao, 2011; Lok, 2011). Selain itu, komponen-komponen hasil degradasi dari sel darah merah juga mengaktivasi mikroglia. Mikroglia memiliki peranan dalam fagositosis sel imunokompeten. Sehingga dengan adanya aktivasi mikroglia pada kondisi stroke hemoragik menjadi pertanda adanya kerusakan saraf dan terjadi proses fagositosis neuronal (Dheen *et al.*, 2007; Qureshi *et al.*, 2009).

Kematian sel neuron dan glia akibat stroke hemoragik diklasifikasikan menjadi nekrosis dan apoptosis. Terdapat dua jalur utama yang menyebabkan apoptosis yakni jalur ekstrinsik dan intrinsik. Jalur ekstrinsik diperankan oleh reseptor permukaan sel. Setelah reseptor tersebut terikat dengan ligan, reseptor akan mengaktifkan kaspase 8 (Sayers, 2011). Jalur intrinsik apoptosis diinisiasi oleh *mitochondrial outer membrane permeabilization* (MOMP) dan kelompok *B-Cell lymphoma 2* (Bcl-2). Salah satu sel anggota kelompok Bcl-2 yaitu bax. Bax berperan dalam apoptosis sel dengan mengirimkan sitosol menuju membran terluar mitokondria. Peningkatan proporsi Bax/Bcl-2 memfasilitasi terjadinya apoptosis sel (Godoy *et al.*, 2010).

Stroke dapat menyebabkan apoptosis pada berbagai area otak salah satunya yaitu dorsal striatum. Dorsal striatum secara fungsional bertanggung jawab terkait motorik dan perencanaan tindakan, pengambilan keputusan, motivasi, dan persepsi terkait penghargaan. Dorsal striatum dibagi menjadi dua subdivisi yaitu dorsomedial striatum serta dorsolateral striatum. Dorsomedial striatum terlibat

dalam mediasi perilaku yang membutuhkan kesadaran sedangkan dorsolateral striatum terlibat dalam perilaku kebiasaan terkait sensorik yang telah dikenal sebelumnya (Alloway *et al.*, 2017; Cataldi *et al.*, 2022). Dengan demikian, pada kondisi stroke akan mengakibatkan defisit fungsi sensorik maupun motorik penderitanya.

Salah satu agen antiapoptosis endogen yang dapat diberikan dari luar yaitu rekombinan eritropoietin (rHuEPO). Eritropoietin (EPO) merupakan agen hemopoietik yang termasuk golongan *superfamily* sitokin tipe 1. Seiring berkembangnya waktu, banyak penelitian yang menunjukkan bahwa EPO tidak hanya menjadi agen hemopoietik namun juga sebagai neuroprotektan. Menurut Ponce (2012) efek neuroprotektan EPO dimediasi melalui mekanisme *Janus tyrosine-kinase-2* (JAK-2). EPO eksogen maupun endogen akan berikatan dengan reseptor EPO. Ikatan tersebut menyebabkan fosforilasi dan homodimerisasi JAK-2 yang selanjutnya menstimulasi homodimerisasi STAT-5. Masuknya STAT-5 yang telah mengalami homodimerisasi ke dalam nukleus sel yang mentranskripsi gen antiapoptosis yakni Bcl-2 dan Bcl-xl akan mencegah pelepasan sitokrom C dari mitokondria sehingga dapat mencegah kematian sel.

Selain aktivitas antiapoptosis, EPO juga memiliki peranan sebagai neuroprotektan secara tidak langsung dengan mempengaruhi sistem melanokortin. Pada suatu penelitian disebutkan bahwa EPOR (reseptor EPO) terkolokalisasi pada neuron POMC (*proopiomelanocortine*) (Teng *et al.*, 2013).  $\alpha$ -MSH (*Alpha Melanocyte Stimulating Hormone*) utamanya dihasilkan oleh neuron POMC di arcuate hipotalamus kemudian diproyeksikan menuju area ekstrapitalamus, salah satunya striatum (Eskay *et al.*, 1979; Delbende *et al.*, 1985; Forslin Aronsson *et al.*, 2006). Dengan demikian, penulis berasumsi apabila EPOR terikat dengan EPO maka akan meningkatkan ekspresi  $\alpha$ -MSH yang diproyeksikan menuju striatum. Ikatan antara  $\alpha$ -MSH dengan reseptornya yakni MC4R (*Melanocortine 4 Receptor*), memainkan peranan dalam fungsi neuroprotektan dengan cara menghambat ekspresi Bax dan meningkatkan ekspresi Bcl-2 sehingga mencegah terjadinya apoptosis (Caruso *et al.*, 2007). Selain itu, ikatan antara  $\alpha$ -MSH dan MC4R meningkatkan kadar NF-kB. Dengan adanya peningkatan NF-kB mampu menurunkan ekspresi dari sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan interleukin (Lasaga *et al.*, 2008). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa

sistem melanokortin memiliki peranan dalam upaya perbaikan cedera otak dan aktivitas  $\alpha$ -MSH/MC4R memberikan peran yang sangat dominan.

Savos pada (2011) dan Ulya (2020) mengukur kadar  $\alpha$ -MSH pada hewan coba yang mengalami stroke iskemik. Hasilnya diperoleh bahwa kadar  $\alpha$ -MSH menurun pada hewan coba dengan kondisi stroke iskemik. Pada pasien dengan stroke iskemik juga terjadi penurunan kadar  $\alpha$ -MSH pada awal kondisi stroke. Peningkatan kadar dari  $\alpha$ -MSH diprediksi mampu memberikan hasil yang positif atau minimal dapat mencegah terjadinya kondisi yang lebih buruk pada pasien stroke (Zierath *et al.*, 2011). Selaras dengan kenaikan kadar  $\alpha$ -MSH, penelitian-penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi MC4R juga dapat memberikan perbaikan fungsi motorik dan sensorik pada hewan coba yang mengalami stroke iskemik (Ulya *et al.*, 2021).

Terdapat beberapa bukti yang menyebutkan bahwa peningkatan kadar dari  $\alpha$ -MSH/MC4R dapat memberikan perbaikan pada kondisi cedera otak utamanya stroke iskemik. Pada kondisi stroke hemoragik, ekspresi MC4R mengalami peningkatan setelah adanya perdarahan di otak. Peningkatan tersebut berlangsung hingga 24 jam dan kemudian terjadi penurunan yang sangat signifikan pada hari ke-3 (Chen *et al.*, 2019). Pada kondisi stroke iskemik telah dibuktikan bahwa pemberian rHuEPO dapat memberikan perbaikan fungsi kognitif, sensorik, dan motorik (Khotib *et al.*, 2019; Ulya, 2020). Selaras dengan adanya perbaikan fungsi kognitif, sensorik, dan motorik pada mencit stroke iskemik juga terjadi peningkatan ekspresi dari MC4R di otak. Dengan demikian, maka diasumsikan bahwa efek perbaikan fungsi kognitif, sensorik, maupun motorik dengan pemberian rHuEPO dipengaruhi oleh aktivitas dari MC4R. Sehingga dilakukan suatu percobaan eksperimental untuk melihat apakah terdapat *positive outcomes* serta terjadi peningkatan ekspresi dari MC4R dengan pemberian rHuEPO pada hewan coba yang diinduksi stroke hemoragik. Adanya *positive outcomes* diidentifikasi dengan uji behavioral motorik dan sensorik pada hewan coba.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana efek pemberian terapi rHuEPO terhadap fungsi motorik pada hewan coba yang diinduksi stroke hemoragik melalui metode pengukuran *ladder rung walking test*?
2. Bagaimana efek pemberian terapi rHuEPO terhadap fungsi sensorik pada hewan coba yang diinduksi stroke hemoragik melalui metode *adhesive removal tape test*?
3. Bagaimana efek pemberian terapi rHuEPO terhadap perubahan ekspresi MC4R di dorsal striatum pada hewan coba yang diinduksi stroke hemoragik?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Menganalisa efek rHuEPO terhadap fungsi motorik pada hewan coba yang diinduksi stroke hemoragik melalui metode pengukuran *ladder rung walking test*.
2. Menganalisa efek rHuEPO terhadap fungsi sensorik pada hewan coba yang diinduksi stroke hemoragik melalui metode *adhesive removal tape test*.
3. Menganalisa efek pemberian terapi rHuEPO terhadap perubahan ekspresi MC4R di dorsal striatum pada hewan coba yang diinduksi stroke hemoragik.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait efek terapi rHuEPO serta keterlibatan MC4R terhadap perbaikan fungsi motorik dan sensorik pada keadaan stroke hemoragik. Kemudian dengan adanya informasi tersebut dapat menginspirasi peneliti lain untuk memperdalam hubungan *signaling* EPO/EPOR dan  $\alpha$ -MSH/MC4R yang selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai target terapi dari stroke hemoragik yang hingga saat ini masih mengandalkan pembedahan dan antikoagulan.