

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Stroke merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia, penyakit ini menempati posisi ketiga setelah penyakit jantung korone dan kanker baik negara berkembang maupun negara maju (Stroke forum, 2015). Stroke digolongkan sebagai penyakit kardioserebrovaskular dan termasuk penyakit katastropik dikarenakan berdampak besar secara sosial maupun ekonomi (Walter *et al.*, 2016). Pada negara Indonesia 7 dari 1000 individu terdiagnosa stroke pada tahun 2013 dan meningkat menjadi 10,9 dari 1000 individu pada tahun 2018 (Kementrian kesehatan, 2018). Stroke merupakan gangguan sirkulasi serebral dan gangguan neurologis fokal yang ditimbulkan oleh proses patologi pada pembuluh darah serebral (Masriadi, 2016). Stroke diklasifikasikan menjadi dua yaitu stroke iskemik dan stroke hemoragik. Stroke iskemik adalah gangguan peredaran darah yang disebabkan penyumbatan pada arteri serebral baik oleh emboli maupun oleh trombosis lokal yang menyebabkan kematian sel saraf di otak (Hughes, 2018). Stroke hemoragik adalah berkurangnya aliran darah pada otak dikarenakan pecahnya pembuluh darah arteri di otak, hal ini menyebabkan suplai oksigen di otak berkurang sehingga sel - sel di otak mengalami kerusakan (Gursoy-Ozdemir *et al.*, 2004). Harapan hidup seseorang yang terkena stroke hemoragik rata rata dalam satu bulan hanya 40%, hal ini tidak berubah selama 20 tahun terakhir (Van Asch *et al.*, 2010)

Stroke hemoragik menyebabkan kerusakan primer dan sekunder pada otak. Kerusakan primer disebabkan karena adanya hematoma dan tekanan intrakranial yang mengakibatkan inflamasi dan kerusakan pembuluh darah. Kerusakan sekunder merupakan dampak yang disebabkan oleh kerusakan primer seperti *Reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan, gangguan sawar darah, eksitotoksitas dan lainnya yang dapat menyebabkan defisit neurologis dan kematian sel (Aronowski & Zhao, 2011). Perdarahan serebral mengaktifkan kaskade koagulasi, yang akan menyebabkan pelepasan dan akumulasi trombin dalam jumlah besar di otak. Trombin memodulasi banyak jalur sinyal intraseluler seperti *mitogen activated protein kinase* (MAPK) dan *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K) di otak yang berperan dalam aktivasi glia (Zhang *et*

al., 2007). Trombin yang masuk ke dalam intraserebral mengakibatkan peningkatan sitokin pro inflamasi, gangguan sawar darah, modulasi NMDA, peningkatan edema otak dan berimplikasi pada defisit neurologis (Hua Y *et al.*, 2002). Selain pelepasan trombin, sel darah merah yang sudah melebihi 24 jam yang berada di jaringan akan melepaskan hemoglobin ke dalam ruang ekstraseluler. Molekul hemoglobin mengandung empat kelompok heme dan globin. Tiap kelompok heme terdiri dari cincin porifin dengan ferro ditengahnya dan nantinya akan teroksidasi dan mendestabilisasi molekul Hemoglobin (Hb) dan memicu reaksi inflamasi kaskade mengakibatkan kerusakan pada sawar otak (Arrownoski dan Zhao, 2011). Ferro memiliki potensi untuk menghasilkan hidroksi radikal melalui reaksi Fenton yang sangat toksik, menyebabkan produksi peroksidasi lemak. Selanjutnya hidroksi radikal akan mendegradasi lemak peroksida dan menghasilkan berbagai macam senyawa radikal yang menyebabkan kerusakan jaringan (Zhao *et al.*, 2009). Selain itu, degradasi lemak peroksida dapat menyebabkan pembentukan ROS yang kemudian menginduksi pelepasan sinyal apoptosis dari mitokondria sehingga memicu kematian sel neuron di berbagai bagian otak (Hua Y *et al.*, 2002).

Apoptosis sel merupakan kematian sel yang diakibatkan oleh kurangnya pasokan oksigen setelah terjadinya stroke, setelah beberapa waktu tertentu bagian sekitar sel yang mengalami apoptosis akan ikut terjadi kerusakan (Namura *et al.*, 1998). Apoptosis didasari dari berbagai jalur molekuler yang menyebabkan terjadinya apoptosis termasuk mitokondria, caspases, dan beberapa protein termasuk protein pro-apoptosis (Kanyal *et al.*, 2015). Hipokampus sendiri berperan dalam proses penyampaian informasi, pembentukan memori, dan regulasi perilaku yang akan dikerjakan (Stephenson, 1996). Hipokampus termasuk dalam sistem limbik yang mengatur emosi, ingatan, kebiasaan, motivasi dan penciuman jangka panjang (Catani *et al.*, 2013; Roxo *et al.*, 2011). Hipokampus memiliki dua lapisan yaitu hipokampus yang sebenarnya dan girus dentatus. Hipokampus berfungsi sebagai daya ingat dan memiliki empat area berbeda. Hipokampus sangat sensitif dengan kurangnya oksigen dengan berkurangnya sedikit oksigen mampu menyebabkan kerusakan pada bagian hipokampus (Myers *et al.*, 2008). Penelitian menunjukkan bahwa gangguan kognitif atau memori pasca stroke dipengaruhi akibat rusaknya bagian otak pada area *hippocampus* (Silva *et al.*, 2015).

Pada hipokampus, amigdala, otak kecil dan korteks serebral di hewan pengerat dan manusia ditemukan ekspresi *Brain derived neutrophic factor* (BDNF) yang tinggi dan ekspresi terbesar pada neuron hipokampus (Hofer *et al.*, 1990). Tingkat ekspresi

BDNF mulai meningkat selama perkembangan janin dan mulai menurun saat dewasa. Pada otak orang dewasa, BDNF mempertahankan tingkat ekspresi yang tinggi untuk mengatur transmisi rangsangan sinaptik, aktivitas penghambatan, dan plastisitas (Tyler *et al.*, 2002; Wardle dan Poo, 2003). BDNF merupakan golongan neurotropin yang memiliki peran penting dalam kelangsungan hidup dan diferensiasi perkembangan neuron (Huang dan Reichardt, 2001). BDNF memiliki reseptor *tropomyosin receptor kinase* (TrkB) yang berafinitas tinggi. Pada reseptor TrkB ini yang mengatur kelangsungan hidup sel, proliferasi, dan pertumbuhan saraf. Saat ligan BDNF mengikat TrkB menyebabkan dimerisasi dan autofosforilasi yang mengaktifkan jalur persinyalan MAPK, PI3-K dan *Phospholipase C-gamma* (PLC γ). Aktivitas reseptor BDNF tidak hanya meningkatkan neurogenesis tetapi juga menekan apoptosis bersama dengan modulasi aktivitas sinaptik oleh berbagai kaskade pensinyalan (Li *et al.*, 2015)

Pada sebuah penelitian ekspresi BDNF dipercaya dapat ditingkatkan dengan pemberian eritropoietin. (Viviani *et al.*, 2005). BDNF berperan dalam peningkatan daya tahan neuron dan merangsang pertumbuhan baru dan pembentukan sinapsis. Eritropoietin (EPO) digunakan dalam penatalaksanaan klinis dalam mengoati anemia, EPO berperan dalam faktor pertumbuhan hematopoietik (Siren, *et al.*, 2001). Pada masa perkembangan janin, EPO diproduksi pada hati dan setelah lahir produksi EPO dialihkan ke ginjal. Selain pada kedua organ tersebut ekspresi reseptor EPO juga ditemukan pada bagian hipokampus, amigdala, dan korteks di otak (Ponce *et al.*, 2013). Mekanisme eritropoietin menjadi agen anti apoptosis bermula dari reseptor EPO yang mengikat EPO endogen dan eksogen. Setelah EPO bergabung dengan reseptornya JAK-2 (Janus tyrosine-kinase-2) akan di fosforilasi yang mengarah ke persinyalan *signal transducer and activator of transcription 5* (STAT-5). Karena hal ini STAT 5 terstimulasi dan menyebabkan adanya homodimerisasi. STAT-5 yang telah terhomodimerisasi masuk kedalam inti sel yang terdapat antiapoptosis Bcl-2 yang di transkripsi. Bcl-2 memiliki kemampuan mencegah pelepasan sitokrom c dari mitokondria. Sitokrom c memiliki fungsi sebagai sintesis glikogen, siklus sel, dan kematian sel. Dicegahnya pelepasan sitokrom-c, maka akan mencegah kematian sel. Sehingga, EPO dapat disebut sebagai agen antiapoptosis. (Ponce, *et al.*, 2013).

Pada hewan coba yang diinduksi stroke iskemik dilaporkan bahwa adanya perbaikan fungsi kognitif hewan dengan penginjeksian Eritropoietin. Perbaikan kognitif ini diduga karena penurunan volume cedera di *hippocampus* pada hewan yang diinjeksi EPO dengan dosis 5.000 IU/kgBB (Hralova, *et al.*, 2014). Peningkatan kecepatan menuju

platform pada pengujian dengan *morris water maze* juga terlihat setelah pemberian EPO dosis 5.000 IU/kgBB pada model stroke neonatal (Gonzalez, *et al.*, 2009). Berdasarkan Pustaka diatas peneliti tertarik untuk menggali lebih dalam apakah eritropoietin juga mampu menurunkan cedera di hipokampus yang disebabkan induksi stroke hemoragik dan diperlukan penelitian untuk membuktikan adanya pengaruh pemberian eritropoietin (EPO) terhadap individu (Mencit) yang diinduksi stroke hemoragik dilihat dari Ekspresi mRNA BDNF yang disekresikan oleh neuron hipokampus dan fungsi kognitif dari mencit.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian eritropoietin mampu meningkatkan fungsi kognitif pada mencit yang diinduksi stroke hemoragik?
2. Apakah pemberian eritropoietin mampu meningkatkan ekspresi mRNA BDNF pada area hipokampus otak mencit yang diinduksi stroke hemoragik?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menganalisis pengaruh pemberian eritropoietin terhadap peningkatan fungsi kognitif pada mencit yang mengalami stroke hemoragik.
2. Menganalisis pengaruh pemberian eritropoietin terhadap peningkatan ekspresi mRNA BDNF pada area hipokampus otak mencit yang mengalami stroke hemoragik.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi peran eritropoietin dalam perbaikan kondisi stroke hemoragik serta keterlibatan dalam pengembangan obat baru melalui mekanisme yang melibatkan reseptor BDNF.