

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Cedera otak akut setelah iskemia serebral akibat stroke, termasuk ensefalopati hipoksik iskemik (EHI) bersama-sama adalah salah satu penyebab utama kematian dan kecacatan di seluruh dunia (Meloni, 2017; Allen *and* Brandon, 2011; Hansen *and* Soul, 2012; Gunawan *et al.*, 2018). Stroke pada anak lebih dari 1 bulan terjadi pada 13 per 100.000 anak per tahun, sedangkan pada neonatus lebih tinggi berkisar 25-40 kasus per 100.000 bayi (Rivkin *et al.*, 2017). Demikian pula, EHI mempengaruhi 2-9 per 1000 bayi yang lahir di negara maju dan berkembang (Eghbalian, 2010). Sebagian besar pasien stroke dan cedera otak hipoksik-iskemia (HI) mengalami cacat fisik dan/ atau neurologis seumur hidup yang serius (Handel *et al.*, 2007; Gunawan *et al.*, 2016). Beberapa teori mengungkapkan bahwa mekanisme kematian neuron akibat hipoksia bisa melalui beberapa cara yaitu pengaruh asam amino *excitatory*, *Nitric Oxide* (NO) dan radikal bebas, komponen komplemen, disfungsi mitokondria, kelebihan kalsium intra seluler dan proses nekrosis atau apoptosis (Ahmed *et al.*, 2015). Terdapat tiga jalur yang telah diidentifikasi memicu kematian neuron dalam kondisi fisiologis dan patologis (Won *et al.*, 2002; Harukuni *and* Bhardwaj, 2006), yakni aktivasi berlebihan dari reseptor *inotropic* glutamat, stres oksidatif dan apoptosis atau kematian sel terprogram (Allen *et al.*, 2011).

Meskipun banyak penelitian selama bertahun-tahun, masih belum ada terapi neuroprotektif farmakologis yang terbukti efektif secara klinis yang mampu mengurangi tingkat keparahan HI dan apoptosis. Rekomendasi pengobatan

antitrombotik untuk iskemia otak pediatrik yakni dengan menggunakan *low molecular-weight heparin* (LMWH). Namun efikasi dan tingkat keamanan pada anak masih dipertanyakan (Zaleska *et al.*, 2009). Meskipun hipotermia memberikan perlindungan pada EHI, hanya 1 dari 6 bayi yang mendapat manfaat dari hipotermia. Ada ketidakpastian yang melibatkan hipotermia dalam hal kedalaman dan lamanya pendinginan (Wachtel *and* Hendricks, 2011). Penggunaan interferon β , melatonin, *erythropoietin*, allupurinol, topiramate maupun magnesium sulfat masih dalam taraf uji coba dan belum terbukti efikasinya pada EHI (Shankaran, 2012; de Cerio *et al.*, 2013). Pemahaman yang lebih baik tentang patofisiologi cedera otak HI yang melibatkan apoptosis maupun marker kerusakan otak (Gunawan *et al.*, 2019) menjadi syarat penting untuk pengembangan terapi neuroprotektif baru dan efektif.

Inflamasi merupakan kontributor utama untuk cedera sekunder dan melibatkan peningkatan produksi kemokin dan sitokin. Sitokin pro-inflamasi, seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan IL-12 dapat diproduksi oleh sel endotel, mikroglia dan astrosit (Yang *et al.*, 2004). TNF- α dilepaskan pada tahap awal EHI dan mendorong respon inflamasi dengan meningkatkan ekspresi faktor kemotaksis, yang menginduksi perekrutan neutrofil dan monosit / makrofag ke dalam area yang cedera (Pineau *and* Lacroix, 2007). Interleukin-10 (IL-10) sebagai sitokin anti-inflamasi menggunakan sejumlah besar fungsi imunomodulator selama respon inflamasi dan sangat penting selama fase resolusi. Ekspresi IL-10 di otak meningkat dengan patologi sistem saraf pusat (SSP), meningkatkan kelangsungan hidup sel neuronal dan glial, dan mengurangi respon peradangan melalui sejumlah jalur sinyal (Strle *et al.*, 2001). Iskemia serebral mengaktifkan jalur

apoptosis mitokondria, yang ditandai dengan perubahan protein famili Bcl-2, pelepasan sitokrom c, dan aktivasi caspase-3 (Broughton *et al.*, 2013). Caspase-3 telah diidentifikasi sebagai mediator utama apoptosis pada hewan model HI. Asahi *et al* menunjukkan *upregulation* caspase-3 mRNA di otak tikus 1 jam setelah onset iskemia fokal (Asahi *et al.*, 1997). Caspase-3 membelah banyak protein substrat, termasuk *poli (ADP-ribose) polymerase* (PARP) (Namura *et al.*, 1998; Endres *et al*, 1997). PARP inaktivasi setelah pembelahan oleh caspase-3 menyebabkan cedera DNA dan kemudian terjadi kematian sel apoptosis. Area pada otak yang rentan mengalami kerusakan pasaca EHI adalah hipokampus (Martin *et al.*, 1997; Bhalala *et al.*, 2015). Iskemia serebral juga akan menginduksi stres oksidatif dengan akibat keluarnya *malondialdehyde* (MDA) sebagai produk sekunder peroksidase lipid. Kadar MDA memuncak pada 72 jam pasca HI. Selanjutnya, tingkat MDA menurun secara signifikan pada hari ke 5 (Ding *et al.*, 2014). Percobaan pada hewan dengan ligasi arteri karotis komunis (AKK) dan hipoksia untuk menginduksi iskemia otak telah banyak dilakukan (Xu *et al.*, 2019).

Terapi sel punca mempunyai potensi untuk memperbaiki kerusakan neurologis yang disebabkan oleh cedera otak HI (Xu *et al.*, 2017; Malendez *et al.*, 2013). Kemampuan ini dimanfaatkan sebagai terapi untuk memperbaiki kerusakan neurologis dan kerusakan degeneratif yang berat (Banerjee *et al.*, 2012). Penelitian Zhang menggunakan transplantasi intravena sel punca umbilical mesenkimal manusia pada tikus model EHI. Transplantasi pada fase awal dapat meningkatkan tingkah laku tikus dengan EHI dan menurunkan gliosis (Zhang *et al.*, 2014). Sel punca neural mempunyai kapabilitas untuk menghasilkan neuron,

oligodendrosit dan astrosit. Efek imunoregulator dan anti inflamasi sel punca neural telah dikonfirmasi dengan penelitian *in vitro* terutama pada ensefalomielitis. Secara *in vitro*, NSC merangsang pertumbuhan akson dan menunjukkan efek protektif melalui sekresi faktor neurotropik *Glial cell line-derived Neurotrophic Factor* (GDNF), *Brain Derived Nerve Factor* (BDNF), *Nerve Growth Factor* (NGF) dan *neurotrophin-3* (NT-3) (Llado *et al.*, 2004; Kamel *et al.*, 2007). NGF eksogen mempunyai peran untuk plastisitas neuron dan regenerasi dan juga inhibisi apoptosis neuronal pasca cedera otak (Dixon *et al.*, 1997; Goss *et al.*, 1998). Pada kultur NGF *in vitro* dengan *immunocytochemical staining* pada hari 10 menunjukkan bahwa NGF disintesis oleh MSC (Chen *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2005). Studi pada spinal menunjukkan bahwa transplantasi NSC dapat menciptakan homeostasis di daerah yang cedera untuk perbaikan dan regenerasi jaringan dengan secara signifikan menurunkan tingkat mRNA TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan IL-12 (Cheng *et al.*, 2016). MSC juga menunjukkan adanya supresi yang signifikan pada pelepasan radikal bebas dan memberikan perlindungan antioksidan yang dibuktikan tingkat MDA yang lebih rendah pada HI (Ding *et al.*, 2014).

Berbagai jenis tipe sel punca, jenis dan tipe kondisi, serta cara pemberian yang efektif, masih terus diteliti. Dipikirkan sumber sel punca yang banyak tersedia dan mudah didapat tanpa tindakan invasif, yakni sel adiposa (Zuk *et al.*, 2002; Amirkhani *et al.*, 2017). Mekanisme efek potensial *Adipose-derived Neural Stem Cell* (ADNSC) pada untuk mencegah kerusakan otak karena HI masih belum dapat dijelaskan. Mekanisme efek potensial sel punca pada HI masih berupa hipotesis yaitu efek neuroproteksi, neuroregenerasi, dan mengurangi

inflamasi yang terjadi pada sistem saraf. Berdasarkan pada hal-hal tersebut maka diperlukan penelitian pemberian transplantasi intraserebral ADNSC pada tikus wistar yang diinduksi ligasi AKK dan hipoksia untuk menjelaskan mekanisme pencegahan progresivitas kerusakan otak pada iskemia otak.

1.3 Rumusan masalah

Dari analisis yang telah disampaikan diatas maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah transplantasi intraserebral ADNSC dapat menurunkan ekspresi TNF- α di hipokampus pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia?
2. Apakah transplantasi intraserebral ADNSC dapat meningkatkan ekspresi IL-10 di hipokampus pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia?
3. Apakah transplantasi intraserebral ADNSC dapat meningkatkan ekspresi NGF di hipokampus pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia?
4. Apakah transplantasi intraserebral ADNSC dapat menurunkan ekspresi MDA di hipokampus pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia?
5. Apakah transplantasi intraserebral ADNSC dapat menurunkan ekspresi Caspase-3 di hipokampus pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia?
6. Apakah transplantasi intraserebral ADNSC dapat menurunkan neuron yang mengalami Apoptosis di hipokampus pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia?

7. Bagaimana mekanisme pencegahan progresivitas kerusakan otak melalui transplantasi intraserebral ADNSC pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia?

1.4 Tujuan

1.4.1 Tujuan Umum

Menjelaskan mekanisme pencegahan progresivitas kerusakan otak pasca transplantasi intraserebral ADNSC pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia.

1.4.2 Tujuan khusus

1. Menganalisis penurunan ekspresi TNF- α di hipokampus pasca transplantasi intraserebral ADNSC pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia.
2. Menganalisis peningkatan ekspresi IL-10 di hipokampus pasca transplantasi intraserebral ADNSC pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia.
3. Menganalisis peningkatan ekspresi NGF di hipokampus pasca transplantasi intraserebral ADNSC pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia.
4. Menganalisis penurunan ekspresi MDA di hipokampus pasca transplantasi intraserebral ADNSC pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia.
5. Menganalisis penurunan ekspresi Caspase-3 di hipokampus pasca transplantasi intraserebral ADNSC pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia.

6. Menganalisis penurunan ekspresi Sel yang mengalami Apoptosis di hipokampus pasca transplantasi intraserebral ADNSC pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia.
7. Menganalisis mekanisme pencegahan progresivitas kerusakan otak melalui transplantasi intraserebral ADNSC pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia.

1.5 Manfaat penelitian

1.5.1 Manfaat Teoritis

Diperoleh informasi mengenai mekanisme pencegahan progresivitas kerusakan otak pasca transplantasi intraserebral ADNSC pada iskemia otak yang dilakukan ligasi AKK dan hipoksia

1.5.2 Manfaat Praktis

Mendapatkan wawasan baru sebagai dasar pengembangan penanggulangan pencegahan progresivitas kerusakan otak pasca iskemia otak.