

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Stroke iskemik akut merupakan penyakit yang terjadi akibat penurunan atau hilangnya sirkulasi darah secara tiba-tiba ke suatu area di otak, yang menyebabkan hilangnya fungsi neurologis.¹ Secara umum, stroke dibedakan menjadi dua, yaitu stroke iskemik (68 %), dan stroke hemoragik (32 %).² Stroke iskemik disebabkan oleh gangguan suplai darah ke otak, yang menyebabkan aliran perubahan metabolik dan molekuler sehingga terjadi gangguan fungsional dan kerusakan morfologis pada otak. Stroke iskemik akut sebagai proses inflamasi melibatkan aktivasi endotelial, perusakan sawar darah-otak, stres oksidatif, mediator inflamasi, neurotoksin dan infiltrasi sel leukosit serta platelet yang masif.³

Stres oksidatif berperan penting dalam kaskade patofisiologis kerusakan otak pada stroke akut.⁴ Stroke iskemik terjadi karena penurunan aliran darah di daerah otak secara drastis sehingga menyebabkan kekurangan oksigen dan glukosa di otak. Kekurangan oksigen dan glukosa di otak selama beberapa menit setelah iskemia menyebabkan disfungsi mitokondria sehingga produksi ATP berkurang dan produksi spesies oksidatif reaktif (ROS) secara berlebihan.⁵ Kelebihan produksi ROS menjadi gambaran utama pada *ischemia-reperfusion injury*.^{6,7} ROS yang dihasilkan selama fase iskemik dan reperfusi dari stroke iskemik menyebabkan stres oksidatif, peroksidasi lipid, oksidasi protein, dan kerusakan DNA dalam sel, yang mengakibatkan terganggunya sawar darah otak dan edema otak di jaringan otak.^{3,8}

Nuclear erythroid-related factor 2 (Nrf2) merupakan faktor transkripsi yang mengatur serangkaian gen antioksidan yang bertindak secara sinergi untuk menghilangkan ROS melalui reaksi enzimatik secara berurutan. Defisiensi Nrf2 secara signifikan lebih rentan terhadap cedera otak iskemik dan defisit neurologis. Hilangnya Nrf2 memperburuk defisit sensorimotor akut, memperburuk kerusakan iskemik, dan menunda pemulihan fungsional jangka panjang dari kerusakan iskemik.⁹ Hilangnya gen Nrf2 meningkatkan kerentanan terhadap berbagai stresor terutama karena kegagalan untuk menginduksi enzim fase II. Dengan demikian, Nrf2 juga berperan dalam patogenesis stroke iskemik.^{10,11}

Nrf2 pengatur utama stres oksidatif melalui beragam gen sitoprotektif dan detoksifikasi, yang berperan penting dalam menginduksi berbagai proses neuroprotektif endogen.¹² Fungsi utama Nrf2 melawan stres oksidatif, dengan mempertahankan homeostasis redoks antara sistem oksidan reaktif dan antioksidan endogen.¹¹ Neuroprotektif endogen merupakan mekanisme di mana otak melindungi dirinya dari rangsangan bahaya dan pemulihan dari kerusakan iskemik yang pada akhirnya mempengaruhi pemulihan fungsional. Neuroprotektif endogen menjadi target utama penelitian stroke. Oleh karena itu, penargetan Nrf2 merupakan strategi yang menjanjikan untuk pencegahan, terapi, atau penyembuhan penyakit.¹³

Nrf2 adalah jalur utama yang diaktifkan pada produksi ROS. Aktivasinya menginduksi ekspresi lebih dari 250 gen, mengatur beragam proses dari homeostasis redoks hingga detoksifikasi, metabolisme karbohidrat dan lipid, autophagy, apoptosis,

perbaikan DNA, dll. Mekanisme antioksidan yang terlibat dalam penyeimbangan ROS, seperti sistem thioredoxin (TRX) dan glutathione (GSH).¹⁴

Nrf2 diekspresikan oleh sebagian besar tipe sel, yang terjadi di sitosol oleh protein inhibitor, *Kelch-like ECH-associated protein* (Keap 1). Adanya peningkatan tekanan oksidatif, Nrf2 dilepaskan dan ditranslokasikan ke nukleus, dimana Keap1 mengikat dan mengaktivasi *antioxidant responsive element* (ARE) dan meregulasi beberapa gen yang terkait dengan sintesis glutathione dan pertahanan terhadap antioksidan. Tekanan oksidatif yang berlebih menyebabkan terjadinya modifikasi posttranslasiional Nrf2.¹¹

Glutathione (GSH) merupakan salah satu antioksidan yang terdiri dari tripeptida yang terdiri dari glutamat, sistein dan glisin. Glutathione melindungi sel terhadap stres oksidatif dalam perannya sebagai antioksidan. Glutathione dinyatakan mempunyai efek perlindungan pada sel endotel otak terhadap hidrogen peroksida (H₂O₂), yang dikatalisis oleh serum glutathione peroksidase (GPx). Penelitian pada tikus, GPx memperbaiki volume infark serebral setelah stroke iskemik, memperbaiki gangguan sawar darah otak setelah cedera iskemik, dan meningkatkan kelangsungan hidup sel endotel otak. Glutathione dapat meningkatkan Nrf2 dan mengaktifkan jalur pensinyalan yang dimediasi Nrf2. Glutathione adalah target yang menjanjikan untuk melindungi sel-sel endotel otak dalam kondisi cedera dan penyakit otak.¹⁵

Penelitian klinis terkait efek glutathione terhadap kadar Nrf2 pada pasien stroke iskemik akut serta dampaknya pada keluaran klinis pasien masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini tertarik untuk melakukan kajian suplementasi efek glutathione

terhadap perubahan kadar Nrf2 pada pasien stroke iskemik akut serta dampaknya pada keluaran klinis.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat hubungan pemberian suplemen Glutathione terhadap perubahan kadar Nrf2 serum dan perbaikan skor NIHSS pasien stroke iskemik akut.

1.3. Orisinalitas Penelitian

Tabel 1. Penelitian Terdahulu

No.	Nama peneliti (Tahun)	Judul penelitian	Metode	Hasil penelitian
1	Zhong-Jun Chen, Xu-Sheng Zhao, Tie-Ping Fan, Heng-Xu Qi, Di Li (2021) ¹⁶	Glycine Improves Ischemic Stroke Through miR-19a-3p/AMPK/GSK-3 β /HO-1/Nrf2 Pathway	Studi Kasus Eksperimental. Pasien stroke iskemik dan individu sehat dimana sel PC12 diberi oxynglucose deprivation (OGD), glisin dan miR-19a mimics, kemudian dilakukan pengukuran ekspresi Nrf2	Ekspresi relatif Nrf2 pada sel OGD dan glisin lebih besar secara signifikan dibandingkan sel oxynglucose deprivation (OGD), glisin dan miR-19a mimics dengan (*P < 0,05) pada pasien stroke iskemik.
2	Magdalena P. Kasprzak, Anna Olasińska-Wiśniewska, Bogna Gryszczyńska, Magdalena Budzyń, Maciej Lesiak, Olga Trojnariska, Maria Iskra (2020) ¹⁷	Changes in the Nrf2/Keap1 ratio and PON1 concentration in plasma of patients undergoing the left main coronary artery stenting	Studi Kasus Eksperimental. Pasien dengan penyakit arteri koroner simtomatik dan 50% stenosis LMCA yang diobati dengan LM angioplasty.	Konsentrasi Keap1/Nrf2 mengalami penurunan yang diamati dalam 24 jam (*P \leq 0.05). Penelitian pada pasien iskemik ditemukan kadar Nrf2 dengan median 82,67 pg/mL.

No.	Nama peneliti (Tahun)	Judul penelitian	Metode	Hasil penelitian
3	Valcarcel-Ares MN, Gautam T, Warrington JP, Bailey-Downs L, Sosnowska D, De Cabo R, et al. (2012) ¹⁸	Disruption of Nrf2 signaling impairs angiogenic capacity of endothelial cells: implications for microvascular aging	Studi Kasus Eksperimental. Penelitian pada sel <i>coronary arterial endothelial cells</i> (CAECs), meniru fenotipe penuaan vaskular	siRNA-Nrf2 yang dilemahkan signifikan meningkatkan t50 yang menandakan gangguan <i>adhesiveness</i> of CAECs. (*P ≤ 0.05).
4	Steele M, Fuller S, Patel M, Kersaitis C, Ooi L, Munch G. (2013) ¹⁹	Effect of Nrf2 activators on release of glutathione, cysteinylglycine and homocysteine by human U373 astroglial cells	Studi Kasus Eksperimental. Penelitian pada sel astrocitoma manusia U373-MG, inkubasi 24 jam dan ditambahkan media segar yang mengandung berbagai konsentrasi potensial penambah GSH selama 48 jam.	Sel U373 diberikan dengan R-lipoic acid (LA), Tert-butylhydroquinone (TBHQ), sulforaphane (SFN) atau Poligonum cuspidatum mengandung 50% resveratrol (PC-Res) selama 48 jam, menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan dengan kontrol. (*P ≤ 0.05). Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa sulforaphane diidentifikasi sebagai "penguat GSH dan Cys-Gly"
5	Anam, Churriyyatul, Wati, Nyoman Suci, Retnaningsih. (2018) ²⁰	Pengaruh Pemberian Glutathione terhadap Penurunan Kadar Matriks Metalloproteinase – 9 (MMP –9) dan Luas Infark pada Stroke Iskemik dibandingkan dengan Terapi Standar	Studi Kasus Kontrol Semua tikus putih dikelompokkan secara random (acak) ke dalam 4 kelompok, masing – masing 7 ekor. Diadaptasi selama 7 hari, kemudian diinduksi stroke	Terdapat perbedaan bermakna (*P < 0,05) pada kelompok perlakuan, baik pada pengukuran kadar MMP – 9 maupun pengukuran luas infark

No.	Nama peneliti (Tahun)	Judul penelitian	Metode	Hasil penelitian
			iskemik dengan metode UCAO. Pemberian glutathione 21,6 mg/100 gBB ataupun dengan Aspirin 0,54 mg/100 gBB dilakukan setelah 4 jam pasca induksi. Dinilai marker MMP – 9.	
6	Adchara Janyou, Piyawadee Wicha, Jinatta Jittiwat, Apichart Suksamrarn, Chainarong Tocharus & Jiraporn Tocharus. (2017) ²¹	Dihiyrocapsaicin Attenuates Blood Brain Barrier and Cerebral Damage in Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion via Oxidative Stress and Inflammatory	Studi Kasus Eksperimental. Semua tikus putih coba dikelompokkan secara acak ke dalam 5 kelompok. Pemberian secara intraperitoneal DHC 2,5 mg/kg, 5 mg/kgbb, 10 mg/kgbb. Setelah 24 jam diukur kadar glutathione peroxidase, Nrf2.	Terdapat perbedaan bermakna ($p < 0.05$) pada kelompok perlakuan, baik pada pengukuran kadar GPx, Nrf2 maupun pengukuran luas infark.
7	Alfieri A, Srivastava A, Siow RC, Cash D, Modo M, et al. (2013) ²²	Sulforaphane preconditioning of the Nrf2/HO-1 defense pathway protects the cerebral vasculature against blood–brain barrier disruption and neurological deficits in stroke	Studi Kasus Eksperimental. Tikus Sprague-Dawley jantan. Semua tikus coba dikelompokkan secara acak ke dalam 9 kelompok. Pemberian sulforaphane 5 mg/kg.	Total kadar Nrf2 di kompleks gliovaskular meningkat secara signifikan setelah reperfusi 4-24 jam, dengan ekspresi Nrf2 menurun setelah 72 jam. (* $P \leq 0.05$). Sulforaphane meningkatkan ekspresi Nrf2, HO-1, di otak. Sulforaphane (5 mg/kg ip) meningkatkan

No.	Nama peneliti (Tahun)	Judul penelitian	Metode	Hasil penelitian
				kadar basal Nrf2 (*P ≤ 0.05). Sebagai kesimpulan, penargetan jalur Nrf2/HO-1 di pembuluh darah mikro otak dengan sulforaphane dapat mencegah gangguan BBB dan cedera otak, membatasi volume lesi dan defisit neurologis setelah stroke iskemik.
8	Song J, Kang SM, Lee WT, Park KA, Lee KM, Lee JE (2014) ¹⁵	Glutathione Protects Brain Endothelial Cells from Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress by Increasing Nrf2 Expression.	Studi Kasus Eksperimental. Penelitian pada murine brain endothelial cells.	Kadar protein Nrf2 menurun dengan perlakuan H ₂ O ₂ . GSH meningkatkan tingkat basal protein Nrf2. Perawatan bersama GSH meningkatkan kadar protein Nrf2 dibandingkan dengan perawatan H ₂ O ₂ . (*P ≤ 0.05).

Pada penelitian oleh Anam *et al.* (2018), Adchara J *et al.* (2017) dan Song J *et al.* (2014) dilakukan pada tikus stroke iskemik dengan pemberian glutathione setelah diinduksi dengan oklusi a. cerebri media disertai dengan kontrol, kemudian dikaji hubungannya dengan perubahan kadar matriks metalloprotein, kadar Nrf2, kadar Glutathione dan luas infark, berdasarkan penelitian Alfieri *et al.* (2013) menyatakan bahwa ekspresi protein Nrf2 dan HO-1 di pembuluh darah mikro serebral di daerah peri-infark meningkat setelah 4-72 jam di astrosit perivaskular daripada endotelium

serebrovaskular.

Penelitian-penelitian tersebut dilakukan secara eksperimental pada model tikus. Pemberian glutathione telah dilakukan pada penelitian sebelumnya, namun belum dilakukan pada manusia. Pengukuran kadar Nrf2 pada manusia telah dilakukan oleh Chen *et al.* (2021), Kasprzak *et al.* (2020), dan Steele M *et al* (2013) namun tidak dikaitkan dengan penggunaan antioksidan dan pengukuran serum Nrf2 pada darah.

Perbedaan utama penelitian ini dengan penelitian-penelitian sebelumnya adalah penelitian ini dilakukan pada pasien stroke iskemik akut yang diperiksa kadar Nrf2 serum pada hari ke – 1, ke – 14. Pasien kelompok perlakuan diberikan terapi standar + suplemen glutathione sedangkan kelompok kontrol hanya diberikan terapi standard selama 14 hari. Kadar Nrf2 serum diperiksa pada hari ke – 1, ke –14, dan menilai skor NIHSS hari ke – 1, ke – 14 pasien stroke iskemik akut.

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan umum

Mengetahui hubungan perubahan kadar Nrf2 dengan perbaikan skor NIHSS pasien stroke iskemik akut yang mendapatkan suplementasi antioksidan glutathione.

1.4.2. Tujuan khusus

- a. Mengetahui perbedaan perubahan kadar Nrf2 serum pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada pasien stroke iskemik akut.

- b. Mengetahui perbedaan skor NIHSS pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada pasien stroke iskemik akut.
- c. Mengetahui hubungan perubahan kadar Nrf2 serum dengan perbaikan skor NIHSS pada kelompok kontrol pasien stroke iskemik akut.
- d. Mengetahui hubungan perubahan kadar Nrf2 serum dengan perbaikan skor NIHSS pada kelompok perlakuan pasien stroke iskemik akut.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Bidang Akademis

- a. Menambah pengetahuan dalam penatalaksanaan pasien stroke iskemik akut.
- b. Menambah pengetahuan mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi keluaran klinis neurologis stroke iskemik akut.

1.5.2. Bidang Penelitian

- a. Memberikan informasi mengenai manfaat suplemen glutathione pasien stroke iskemik akut.
- b. Sebagai bahan informasi dan dijadikan sebagai rujukan untuk penelitian selanjutnya.

1.5.3. Bidang Pelayanan Kesehatan

- a. Sebagai bahan informasi untuk penelitian selanjutnya, khususnya untuk penatalaksanaan stroke iskemik akut.