

Neurogenesis pada Perdarahan Intraserebral Spontan

Robert Sinurat

Departemen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia

Abstrak

Perdarahan intraserebral spontan (PIS) adalah salah satu tipe stroke berdarah, akibat ruptur pembuluh darah sehingga darah menggenangi parenkim otak. Mortalitasnya mencapai 34,6% dan hanya 38% yang dapat pulih seperti sediakala atau dengan kecacatan ringan. Pada PIS terjadi cedera primer yaitu kerusakan neuron dan glia secara mekanis yang diikuti oleh deformasi, pelepasan neurotransmitter, disfungsi mitokondria dan depolarisasi membran sel. Selanjutnya terjadi cedera sekunder akibat pemecahan hemoglobin dan faktor koagulasi khususnya trombin. Produk tersebut akan mengaktifkan mikroglia sehingga menghasilkan zat toksik seperti *reactive oxygen species* (ROS), *matrix metalloproteinase* (MMP), *cyclooxygenase-2*, *prostaglandin*, *heme oxygenase-1* (HO-1), faktor komplemen, *tumor necrotizing factor α* (TNF α), dan *interleukin 1 β* yang mengakibatkan cedera jaringan. Selain cedera, juga terjadi penggantian sel mati melalui proses neurogenesis yaitu pertumbuhan sel punca neural di area subventrikel dan hipokampus. Sel tersebut akan bermigrasi ke area perdarahan karena terjadi perbedaan kadar *stromal derived factor-1* (sdf-1) pada kedua area tersebut. Sebanyak 80% sel yang bermigrasi tersebut akan mati sehingga hanya sedikit yang dapat menggantikan sel mati.

Kata Kunci: sel punca neural, habitat, mikroglia, zat toksik

Neurogenesis on Spontaneous Intracerebral Hemorrhage

Abstract

Spontaneous intracerebral hemorrhage (SICH) is a type of hemorrhagic stroke. There are brain vessels rupture which bleeds into parenchym. Mortality rate of ICH is about 34.6% and only 38% of the patients can be fully recovered. Mechanical disruption will appear by the bleeding as primary injury. The neuron and glia will be deformed, neurotransmitter released, dysfunctional mitochondria and cell membrane depolarization will occur. Primary injury will be followed by secondary injury due to degradation of blood product such as hemoglobin and coagulation factor, especially thrombin. These product will activate microglia resulted in the production of toxic factors i.e. reactive oxygen species (ROS), matrix metalloproteinase (MMP), cyclooxygenase-2 (Cox-2), prostaglandin, heme oxygenase -1 (HO-1), complement factor, tumor necrotizing factor α (TNF α), and interleukin 1 β . Furthermore, there is replacement of dead cells by neuroendogenesis process, performed by stem cells that normally exist in a special niche in subventricle zone and hippocampus.. The stem cells in the migrates to perihematoma zone attracted by the different concentration of stromal derived factor-1 (SDF-1) between the niche and the peri-hematoma area. But most of the activated cells (80%) will die and only small number survive to replace the dead cells.

Key words: neural stem cells, niche, microglia, toxic substance

Pendahuluan

Stroke merupakan penyakit dengan defisit neurologis permanen akibat perfusi yang tidak adekuat pada area tertentu di otak atau batang otak. Stroke dibagi menjadi dua yaitu tipe iskemia dan tipe perdarahan. Pada iskemia terjadi kekurangan suplai darah yang membawa energi dan oksigen ke jaringan otak. Ada tiga mekanisme yang mendasarinya yaitu trombosis, emboli dan menurunnya perfusi sistemik. Sementara itu jenis perdarahan terjadi karena pembuluh darah yang pecah sehingga jaringan otak tergenangi darah. Tipe perdarahan dibagi menjadi beberapa tipe, yaitu tipe perdarahan subaraknoid, tipe perdarahan subdural dan tipe perdarahan intraserebral. Perdarahan intraserebral sebagian besar berkaitan dengan hipertensi, gula darah tinggi, dan sebagian karena pemakaian antikoagulan dan amiloid angiopati.^{1,2}

Di Amerika Serikat hampir $\frac{3}{4}$ juta penduduk menderita stroke setiap tahun, dan 150 000 orang diantaranya meninggal dunia.² Di Indonesia prevalensi stroke sebesar 8,3 per 1000 penduduk sehingga diperkirakan ada 1 950 000 penderita.³ Di negara barat kira-kira 80% - 85% kasus stroke merupakan tipe iskemia sedangkan tipe perdarahan hanya sebesar 10-15%. Sebaliknya di Asia angka kejadian perdarahan lebih tinggi daripada di negara Barat. Di Jepang ditemukan 1 400 000 juta penderita stroke yang terdiri atas 61% iskemia, 25% perdarahan intraserebral (PIS), 11% perdarahan subaraknoid, dan hampir 132 000 orang meninggal dunia setiap tahun.⁴⁻⁶

Angka kejadian iskemia lebih banyak namun morbiditas dan mortalitas stroke berdarah lebih tinggi. Penelitian Yamada *et al.*⁵ mendapatkan angka mortalitas PIS sebesar 34,6%, dan hanya 38% yang mencapai *glasgow outcome scale* (GOS) empat atau lima setelah enam bulan

serangan. Pada GOS 5, pasien kembali pulih sempurna seperti sebelum sakit sedangkan GOS 4 adalah *moderate dissability*, pasien dapat melakukan aktivitas kehidupan sehari-hari seperti makan, minum, dan naik mobil umum namun tidak dapat melakukan aktivitas yang memerlukan kecakapan dan intelektual yang lebih tinggi. Penelitian Sinurat,⁷ di Rumah Sakit Universitas Kristen Indonesia di Jakarta mendapatkan angka kematian stroke berdarah pasca operasi mencapai 42%, dan 72% dari pasien yang selamat mengalami cacat berupa hemiparese maupun afasia.

Pada PIS terjadi kerusakan jaringan yang akan diikuti proses pemulihan atau regenerasi sel. Selama ini diyakini bahwa sel saraf pada susunan saraf pusat tidak akan mengalami regenerasi bila terjadi kerusakan sehingga kecacatannya tinggi. Penelitian terkini menunjukkan ada sel punca di area subventrikel dan hipokampus. Sel punca tersebut akan bermigrasi dan menjadi sel neuron, astrosit, dan oligodendrosit di area iskemia dan peri-hematoma, menggantikan sel yang mati.⁸

Paradigma yang menyatakan bahwa tidak ada proses regenerasi pada susunan saraf pusat setelah terjadi kerusakan ternyata telah berubah.⁸

Patofisiologi Perdarahan Intraserebral Spontan dan Neurogenesis

a. Patofisiologi

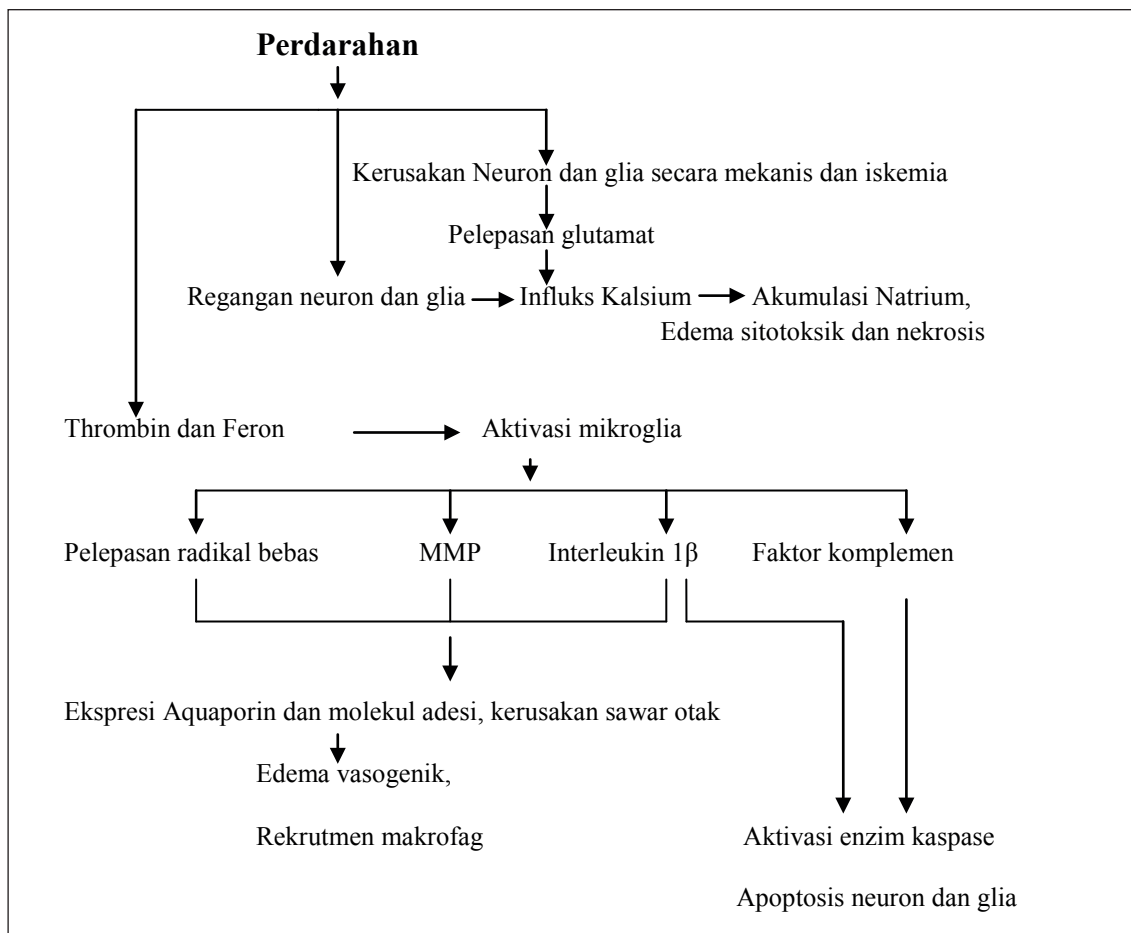
Cedera primer pada perdarahan intraserebral dapat terjadi akibat kerusakan neuron dan glia secara mekanis yang diikuti oleh deformasi, pelepasan neurotransmitter, disfungsi mitokondria dan depolarisasi membran sel. Desakan bekuan darah juga menekan mikrovaskular yang menimbulkan iskemia. Semua hal di atas menyebabkan pelepasan glutamat, yang diikuti masuknya kalsium ke intra sel secara berlebihan,

dan kegagalan mitokondria mengakibatkan akumulasi Natrium, edema sitotoksik dan nekrosis (Gambar 1). Kejadian itu berlangsung pada empat jam pertama pasca PIS.⁹

Selanjutnya akan terjadi cedera sekunder akibat degradasi hemoglobin dan faktor koagulasi khususnya trombin. Hal tersebut dimulai empat jam setelah serangan dan berlangsung sampai tujuh hari. Produk degradasi akan mengaktifasi mikroglia yang pada akhirnya berakibat kematian sel.⁹

Mikroglia bentuk yang aktif akan mengekspresikan substansi faktor toksik seperti *reactive oxygen species* (ROS), *matrix metalloproteinase* (MMP), *cyclooxygenase-2*,

prostaglandin, *heme oxygenase-1* (HO-1), faktor komplemen, *tumor necrotizing factor α* (TNFα), *interleukin 1β*.^{9,10} Disisi lain, ROS, TNFα, dan *interleukin 1β* akan menyebabkan peningkatan ekspresi protein *aquaporin 4* (AQ4) oleh sel astrosit, kerusakan sawar otak dan ekspresi molekul adesi. Hal itu meningkatkan permeabilitas sawar otak dan edema vasogenik serta perekrutan makrofag dan sel polimorfonuklear (PMN) terutama neutrofil. Neutrofil yang menginfiltrasi akan merusak jaringan otak melalui produksi ROS, dan memodulasi permeabilitas sawar otak.¹⁰⁻¹² Faktor komplemen khususnya C3a dan C5a dengan TNFα, dan *interleukin 1β* mengaktifkan enzim kaspase yang akan



Gambar 1. Kaskade kerusakan saraf pada PIS (dimodifikasi dari Qureshi)⁹

Keterangan: MMP, matrix metalloproteinase.

merangsang proses apoptosis neuron dan glia, dan mengakibatkan kematian sel.^{9,13,14}

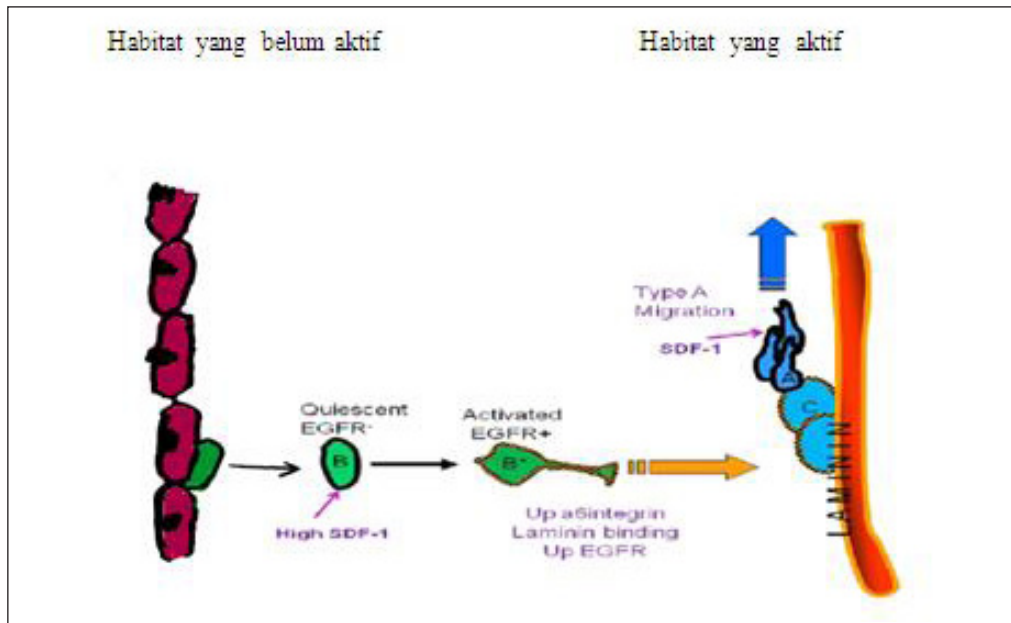
b. Neurogenesis pada Perdarahan Intra Serebral Spontan

Beberapa penelitian pada otak tikus dan manusia memperlihatkan neurogenesis atau pertumbuhan sel punca menjadi sel saraf. Penelitian Merkle *et al.*,¹⁵ pada tahun 2004 dengan teknik *labeling* pada tikus putih baru lahir dan pemeriksaan imunohistokimia menyimpulkan bahwa dinding ventrikel neonatal menghasilkan berbagai kelas sel otak yang berasal dari sel glia radial yaitu astrosit, sel endim, sel neuron, dan yang terpenting sel glia radial tersebut akan bertumbuh menjadi sel punca dewasa di *subventricle zone* (SVZ). Penelitian Sanai *et al.*,¹⁶ pada 65 spesimen subventrikel otak manusia yang didapat dari reseksi prosedur bedah saraf serta 45 spesimen otopsi menyimpulkan bahwa SVZ memiliki sel astrosit yang berproliferasi *in vivo* dan bersifat multipoten pada pengujian *in vitro*.

Shen *et al.*,¹⁷ pada tahun 2008 untuk pertama kali, menemukan *neural stem cells* (NSC) atau sel progenitor dengan petanda spesifik yang diekspresikan di daerah peri-hematoma ganglia basalis dan lobus parietal orang dewasa yang mengalami perdarahan intraserebral spontan. Penemuan tersebut sangat mendukung teori bahwa perdarahan intraserebral menginduksi neurogenesis pada otak orang dewasa. Spesimen yang diteliti didapat dari lima pasien perdarahan intraserebral spontan yang menjalani pembedahan dan diteliti dengan pemeriksaan imunohistokimia menggunakan *marker* Nestin, Musashi 1, serta TUJ-1 untuk mendeteksi NSC. Selain itu, proliferasi sel punca dapat dideteksi dengan imunohistokimia menggunakan *marker* antibodi primer monoklonal anti-Ki67.¹⁷

Pada organisme hidup, sel punca terlindung dari siklus mitosis karena terletak dalam lingkungan (*niche*) khusus. Lingkungan tersebut dibentuk oleh komponen selular dan non selular. Komponen non selular terdiri atas *extracellular matrix* (ECM), yaitu molekul kolagen, elastin, proteoglikan, fibronektin, dan laminin yang dihasilkan oleh sel endotel di sekitar sel punca. Sel punca berkontak dengan ECM melalui *integrin*, suatu protein transmembran yang berinteraksi dengan asam amino spesifik yang ditemukan pada ECM. Ohab *et al.*,¹⁸ menunjukkan ada *neurovascular niche* di daerah peri-infarct pasca stroke iskemik. Pada perdarahan intraserebral spontan juga terjadi proses iskemik di sekitar lesi yang memungkinkan terbentuknya *neurovascular niche* yang baru. Ada dua *niche* penting di SVZ, yaitu pertama di daerah apikal endim yang terdiri atas sel endim bersilia, dan sel *intercalated B* yang membatasi ventrikel lateralis. Kedua, *niche* vaskulatur basal yang kaya pembuluh darah dan berhubungan dengan lamina basal yang kaya *laminin*. Pada masa perkembangan embrional, sel *glial fibrillary astrocyt protein positif* (GFAP⁺) *astrocyt-like type* akan teraktivasi dan meningkatkan produksi/ aktivitas *epidermal growth factor reseptor* (EGFR) sehingga sel primitif tersebut menjadi sel GFAP⁺ EGFR⁺. Sel itu akhirnya menjadi sel GFAP⁺ EGFR⁺ *transit-amplifying type C*. Kedua jenis sel itu berhubungan erat dengan *niche vascular* SVZ. Sel tipe C selanjutnya menjadi tipe A yaitu *neuroblast*, suatu progenitor yang membelah selagi bermigrasi meninggalkan habitat/*niche* dan menjadi sel neuron (Gambar 2).¹⁹

Pada orang dewasa migrasi sel punca terjadi untuk mengganti sel mati, baik karena usia maupun bila terjadi lesi misalnya karena perdarahan. Migrasi sel punca melibatkan beberapa langkah, yaitu pertama *tethering* dan *rolling*, yang dimediasi oleh



Gambar 2. Model yang melukiskan awal pergerakan sel punca dari lapisan endolimf subventrikel ke pembuluh darah dan selanjutnya mencapai area lesi (dimodifikasi dari Kokovay¹⁹)

molekul adesi (*selectin* atau $\alpha 4$ *integrin*). Langkah kedua adalah kemotaksis yang dirangsang oleh kemoatraktan terutama melalui *G α -coupled seven transmembrane domain receptors*. Langkah berikutnya adalah *sticking* yang dimediasi oleh molekul adesi sekunder, terutama *integrin $\beta 2$* dan $\alpha 4$.²⁰ Migrasi atau pergerakan sel punca neural diatur melalui aksis SDF-1-CXCR4. SDF-1 merupakan kemoatraktan utama untuk memulai migrasi sel punca. Molekul SDF-1 secara rutin dihasilkan sel endotel sumsum tulang, mengakibatkan sel punca tetap tinggal dalam sumsum tulang disebut *integrin-mediated arrest of stem cell*.⁸ Pada keadaan iskemia, SDF -1 dilepaskan oleh jaringan yang cedera sehingga kadar SDF-1 di lokasi tersebut meningkat. Peninggian produksi SDF-1 di area lesi akan merekrut sel punca ke daerah tersebut sehingga terbentuk habitat baru. Selanjutnya sel punca akan membelah menjadi sel dewasa.^{8,21}

Kemokin CXCL12 atau SDF-1 merupakan salah satu protein yang mengatur

perjalanan leukosit ke lokasi lesi saat terjadi respons imun terhadap keadaan patologis. Selanjutnya protein tersebut akan berikatan dengan suatu reseptor yaitu reseptor *seven-transmembran G-protein coupled* yaitu CXCR4 dan CXCR7, namun hanya CXCR4 yang mengeluarkan sinyal, sehingga diduga sinyal CXCL2-CXCR4 merupakan faktor penting dalam pertumbuhan dan perkembangan sistem saraf dan migrasi sel punca sehingga dapat disebut aksis SDF-1/CXCR4 merupakan pusat pengaturan migrasi sel punca.¹⁹

Neurogenesis terjadi pada PIS tetapi Arvidson²¹ menyimpulkan, lebih dari 80% sel neuron yang baru terbentuk akan mati pada enam minggu pertama pasca-stroke, dan hanya kira-kira 0,2% dari sel yang rusak tergantikan oleh sel neuron baru.²¹ Karena itu dapat disimpulkan walaupun terjadi proses neurogenesis namun bila terjadi banyak kematian sel pada stroke khususnya PIS maka luaran klinis pasien akan buruk.

Penutup

Paradigma baru yang menunjukkan ada proses neurogenesis pada pasien pasca-stroke, sangat penting untuk menjadi pijakan berbagai penelitian dasar maupun penelitian klinik. Pemahaman tentang peran sel punca dalam menggantikan sel-sel neuron yang mati akan bermanfaat untuk tatalaksana sehingga diharapkan luaran klinis pasien penderita stroke termasuk perdarahan intraserebral dapat lebih baik.

Daftar Pustaka

1. Greenberg MS (eds). Hand book of neurosurgery. Edisi ke-4. Lakeland Florida: Greenberg Graphics; 1996.
2. Caplan LR. Caplan's stroke: a clinical approach. Edisi ke-4. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009: 25-9.
3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Profil kesehatan Indonesia 2008. Jakarta; 2009.
4. Qureshi AI, Tuhim S, Broderick JP, Batjer H, Hondo H, Hanley DF, *et al.* Spontaneous intracerebral hemorrhage. *N Engl J Med.* 2001; 344: 1450-60.
5. Yamada Y, Metoki N, Yoshida H, Satoh K, Kato K, Hibino T, *et al.* Genetic factors for ischemic and hemorrhagic stroke in Japanese individuals. *Stroke.* 2008; 39: 2211-8.
6. Sturm JW, Mackay MT, Thrift AG. Stroke among women, ethnic groups, young adults, and children. Dalam: Fisher M(ed). Hand book of clinical neurology. New York: Elsevier BV; 2009: 338.
7. Sinurat R.: Outcome of spontaneous intracerebral hemorrhagic after surgery (abstract). Proceedings of 9th Asian Congress of Neurological Surgeons; Istanbul, Turkey. Sept 2-5, 2012.
8. Otero L, Zurita M, Bonilla C, Rico MA, Aguayo C, Rodriquez A, *et al.* Endogenous neurogenesis after intracerebral hemorrhage. *Histol Histopathol.* 2012; 27: 1-13.
9. Qureshi IA, Mendelow AD, Hanley D. Intracerebral haemorrhage. *Lancet.* 2009; 373: 1632-44.
10. Wang J, Dore S. Heme oxygease-1 exacerbates early brain injury after intracerebral haemorrhage. *Brain.* 2007; 130: 1643-52.
11. Shinohara Y. Hemorrhagic stroke syndromes: clinical manifestations of intracerebral and subarachnoid hemorrhage. Dalam: Fisher M (ed),. Handbook of clinical neurology. New York: Elsevier BV; 2009: 577.
12. Wang J. Preclinical and clinical research on inflammation after intracerebral hemorrhage. *Prog Neurobiol.* 2010; 92 (4): 463-77.
13. Katsuki H. Exploring neuroprotective drug therapies for intracerebral hemorrhage. *J Pharmacol Sci.* 2010; 114: 366-78.
14. Yang S, Nakamura T, Hua Y, Keep RF, Younger JG, He Y, *et al.* The role of complement C3 in intracerebral hemorrhage-induced brain injury. *J Cereb Blood Flow Met.* 2006; 26: 1490-5.
15. Merkle FT, Tramontin AD. Radial glia give rise to adult neural stem cells in the subventricular zone. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101: 17528-32.
16. Sanaï N, Tramontin AD, Hinojosa AQ, Barbaro NM, Gupta N, Kunwar S, *et al.* Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature.* 2004; 427: 740-4.
17. Shen J, Xie L, Mao XO, Zhou Y, Zhan R, Greenberg DA, *et al.* Neurogenesis after primary intracerebral hemorrhage in adult human brain. *J Cereb Blood Flow Met.* 2008; 28: 1460-8.
18. Ohab JJ, Fleming S, Blesch A, Carmichael ST. A neurovascular niche for neurogenesis after stroke. *J Neurosci.* 2006; 16 (50): 13007-16.
19. Kokovay E, Goderie S, Wang Y, Lotz S, Lin G, Sun Y, *et al.* Adult SVZ lineage cells home and to leave the vascular niche via differential responses to SDF1/CXCR4 signaling. *J Stem.* 2010; 7: 163-73.
20. Laird DJ, Andrian UH, Wagers AJ. Stem cell trafficking in tissue development, growth, and disease. *Cell.* 2008; 132: 612-30.
21. Arvidson A. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nature Med.* 2002; 8 (9): 963-70.