

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Glaukoma merupakan kelompok neuropati optik yang ditandai dengan *excavatio* diskus optikus yang sering digambarkan sebagai *cupping*, disertai dengan hilangnya *retinal ganglion cells* (RGC) dan aksomnya serta kehilangan lapangan penglihatan. Sisi primer yang mengalami cedera adalah lamina kribrosa, yang terbukti secara struktural mengalami kerusakan pada mata dengan neuropati optik glaukoma.^{1,2,3}

Glaukoma dapat diklasifikasikan menjadi 3 kelompok yaitu glaukoma sudut terbuka (*open angle*), glaukoma sudut tertutup (*close angle*), dan glaukoma kongenital. Setiap kelompok ini dikelompokkan lagi menjadi subtype primer dan sekunder. Meskipun mekanisme molekular pasti penyebab glaukoma belum sepenuhnya diketahui, glaukoma memiliki 3 jaringan target, yaitu *trabecular meshwork*, diskus optikus (RGC dan akson), dan korteks visual.^{1,4}

World Health Organization (WHO) memperkirakan insiden glaukoma sekitar 2.4 juta orang pertahun. Populasi penderita glaukoma di seluruh dunia tahun 2020 diperkirakan sekitar 80 juta orang dengan 11,2 juta kebutaan terjadi bilateral. Studi meta-analisis memperkirakan prevalensi global glaukoma sekitar 3,5% pada populasi usia 40-80 tahun. Pada tahun 2040 penderita glaukoma diperkirakan berjumlah 111,8 juta orang, dengan peningkatan kasus glaukoma yang signifikan terbanyak terjadi di Asia dan Afrika. Persentase kebutaan akibat glaukoma mencapai 12,3 % di seluruh dunia, dan menjadikan glaukoma sebagai penyebab kebutaan kedua setelah katarak.^{5,6}

Prevalensi glaukoma di Indonesia berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007 adalah sekitar 0,46%, artinya sebanyak 4 sampai 5 orang dari 1000 penduduk Indonesia menderita glaukoma. Pada tahun 2017, jumlah kasus baru glaukoma pada pasien rawat jalan RS di Indonesia adalah 80.548 kasus. Berdasarkan jenis kelamin, penderita glaukoma wanita lebih banyak daripada laki-laki. Berdasarkan survey kebutaan *Rapid Assessment of Avoidable Blindness* (RAAB) tahun 2016, sekitar 2,7% penduduk Indonesia mengalami kebutaan dan angka kebutaan yang disebabkan oleh glaukoma mencapai 2,9 juta kasus.⁷

Menurut hasil RISKESDAS tahun 2007, kasus glaukoma tertinggi terdapat di Provinsi DKI Jakarta (1,85%), diikuti Provinsi Aceh (1,28%), Kepulauan Riau (1,26%), Sulawesi Tengah (1,21%), Sumatra Barat (1,14%) dan terendah di Provinsi Riau (0,04%). Pada tahun 2014, Dinas Kesehatan kota Padang melaporkan glaukoma menduduki peringkat ke-3 terbanyak penyakit mata setelah kelainan refraksi dan katarak di tahun 2013. Penelitian yang dilakukan oleh Ariesti A dan herriadi D, jumlah pasien glaukoma di RSUP Dr. M. Djamil Padang periode 2011 – 2012 berjumlah 203 orang. Yang terbanyak merupakan glaukoma primer sudut terbuka (50,25%), diikuti oleh glaukoma sekunder (19,70%), glaukoma primer sudut tertutup (11,50%), glaukoma juvenile (10,84%), glaukoma kongenital (4,4%), dan glaukoma normotensi (3,31%). Pada penelitian ini inflamasi merupakan penyebab paling banyak untuk glaukoma sekunder (30%).^{7,8}

Mekanisme kerusakan progresif dan kematian RGC, serta akson nervus optikus pada glaukoma belum sepenuhnya diketahui. Proses neurodegenerasi yang diakibatkan glaukoma, dimulai dari retina dan nervus optikus hingga ke jalur visual di korteks serebri. Tekanan intraokuler (TIO) sebelumnya dianggap sebagai penyebab utama glaukoma, tetapi ternyata terdapat mekanisme patogen lain pada glaukoma, diantaranya proses inflamasi, stress oksidatif, abnormalitas metabolisme, dan gangguan aliran darah.^{9,10,11,12}

Para-inflammation merupakan respon adaptif terhadap stres dan malfungsi. Tingkat fisiologis *para-inflammation* diperlukan untuk mempertahankan homeostasis jaringan dan mengembalikan fungsinya, tetapi akan terganggu homeostasisnya ketika jaringan terkena stres dan/atau malfungsi untuk waktu yang lama. *Para-inflammation* yang berlebihan dan tidak terkendali akibat stress oksidatif dalam waktu yang lama pada kondisi glaukoma, dapat mengaktifkan jalur *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B) sehingga sel *trabecular meshwork* dan sel imun retina (mikroglia, astrosit, dan sel *Muller*) menghasilkan transkripsi sitokin inflamasi termasuk *endothelial leucocyte adhesion molecule* (ELAM)-1, Interleukin-1 α (IL-1 α), Interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8), dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) yang menyebabkan kerusakan yang ireversibel pada *trabecular meshwork* dengan modifikasi matriks ekstraseluler serta menyebabkan degenerasi diskus optikus dan retina. Penanda stress inflamasi ini dikaitkan dengan glaukoma dengan TIO tinggi oleh karena etiologi yang berbeda.^{11,12,13}

Analisis sitokin dalam cairan biologis untuk kelainan okuler dan sistemik menjadi penelitian yang paling menarik saat ini. Perubahan sitokin dan kemokin pada akuos humor telah diobservasi pada beberapa kondisi seperti uveitis, retinopati diabetik, *age related macular degeneration* (AMD) dan glaukoma. Peningkatan konsentrasi TNF- α , *transforming growth factor* (TGF)- β 2, *vascular endothelial growth factor* (VEGF), IL-1, IL-6, dan IL-8, telah diobservasi pada *glaucomatous* akuos humor dan *trabecular meshwork*. Peran penting sitokin di akuos humor dan *trabecular meshwork* pada patogenesis glaukoma primer belum jelas. Akumulasi radikal bebas dapat menginduksi stress oksidatif yang menyebabkan kematian sel trabekula serta peningkatan regulasi sitokin inflamasi seperti TGF- β 2, TNF- α , IL-1, IL-6, dan IL-8. Almasieh dkk (2012) melaporkan bahwa aktivasi ekstrinsik dan intrinsik apoptosis terlibat dalam kerusakan RGC pada glaukoma dan komponen dari kedua jalur termasuk TNF- α , FasL, IL-1 α , IL-1 β , dan IL-6, dikaitkan dengan patogenesis

kerusakan RGC serta pengurangan seluleritas *trabecular meshwork* pada mata glaukoma.

9,14,15,16,17

Penelitian lain juga dilakukan oleh Ghanem AA dkk (2011), yang menginvestigasi level TNF- α dan IL-6 pada akueus humor dan plasma mata pasien dengan glaukoma primer sudut terbuka. Level TNF- α dan IL-6 lebih tinggi secara signifikan pada akueus humor pasien dengan glaukoma primer sudut terbuka dibandingkan dengan kelompok kontrol. Peningkatan konsentrasi TNF- α dan IL-6 pada akueus humor bertanggung jawab menyebabkan perubahan matriks ekstraseluler pada *trabecular meshwork*.¹⁸

Saat ini semakin banyak penelitian yang menunjukkan bahwa beberapa sitokin seperti TNF- α memainkan peran penting dalam jalur neuroinflamasi dan juga bisa sebagai target terapi untuk glaukoma. TNF- α merupakan sitokin pro-inflamasi dengan efek pleiotik pada berbagai jenis sel sebagai elemen penting dalam homeostasis sistem imun dan mediator apoptosis.¹⁶

Peningkatan ekspresi TNF- α telah dilaporkan pada spesimen glaukoma seperti akueus humor, *trabecular meshwork*, retina, dan saraf optik. Pada studi *in vivo*, produksi dan pelepasan TNF- α mengalami *upregulation* lebih awal setelah peningkatan TIO atau iskemia. TNF- α dapat memediasi efek sitotoksik akibat peningkatan TIO yang terus menerus sehingga menyebabkan apoptosis RGC. Pada tikus model glaukoma, peningkatan TIO yang diinduksi oleh laser fotokoagulasi menyebabkan level TNF- α meningkat signifikan dibanding tikus normal. TNF- α dan TGF- β merupakan sitokin yang memiliki efek *fibroangiogenic growth factor*, berperan dalam proliferasi terbentuknya jaringan fibrosa pada jaringan koneksi di dinding dalam kanalis *Schlemm*. Akumulasi serat kolagen, iregularitas dari *striate*, dan aglomerasi material mikrofibril akan mengganggu ekskresi akueus humor di dinding bagian dalam *trabecular meshwork*, akibat obstruksi oleh fragmen seluler. Pada dinding

bagian luar *trabecular meshwork* terjadi deposit material ekstraseluler dan kolagen, serta degenerasi sel, menyebabkan kolaps lamella trabekula. ^{9,19,20,21,22}

Peningkatan tekanan intra okuler (TIO) merupakan salah satu faktor resiko yang paling signifikan untuk perkembangan dan progresivitas terjadinya glaukoma, dan menjadi satu-satunya faktor resiko yang bisa di modifikasi. Hubungan antara TIO dan inflamasi sangat kompleks, peningkatan TIO yang berlebihan dapat menyebabkan gangguan pada *blood aqueous barrier* sehingga memungkinkan masuknya sel-sel dan mediator inflamasi ke dalam akuous humor, menghasilkan peningkatan konsentrasi protein akuous pada sistem akuous *outflow*. Inflamasi di *anterior chamber* dapat mengubah sirkulasi akuous humor. ^{23,24}

Beberapa penelitian pada model hewan telah dilakukan untuk memahami patologi glaukoma dan perkembangan strategi baru untuk proteksi nervus optikus dari kondisi *glaucomatous optic neuropathy*. Tikus laboratorium menjadi sistem model hewan yang mudah diinduksi untuk mempelajari glaukoma. Struktur anatomi tikus memiliki beberapa kesamaan dengan manusia terutama segmen anterior okuler, sirkulasi akuous humor, dan perubahan saraf optik yang disebabkan oleh peningkatan TIO. Peningkatan TIO yang diinduksi secara artifisial pada tikus telah terbukti menyebabkan hilangnya RGC dan kerusakan saraf optik yang signifikan. Beberapa cara telah dikembangkan untuk menginduksi peningkatan TIO pada hewan model glaukoma diantaranya kauterisasi vena episklera, injeksi cairan hipertonic ke dalam vena episklera, pemberian viskoelastik atau *microbeads* kedalam *anterior chamber*, serta laser fotokoagulasi *trabecular meshwork* atau vena episklera.

^{25,26,27,28,29}

Terapi untuk glaukoma terbatas pada penurunan TIO baik dengan menggunakan terapi medikamentosa, terapi laser, atau tindakan operasi. Terkadang terapi ini tidak cukup untuk menahan progresivitas glaukoma. Beberapa pasien terus mengalami progresivitas dan kehilangan lapangan pandang yang lebih berat meskipun telah tercapai penurunan TIO sesuai

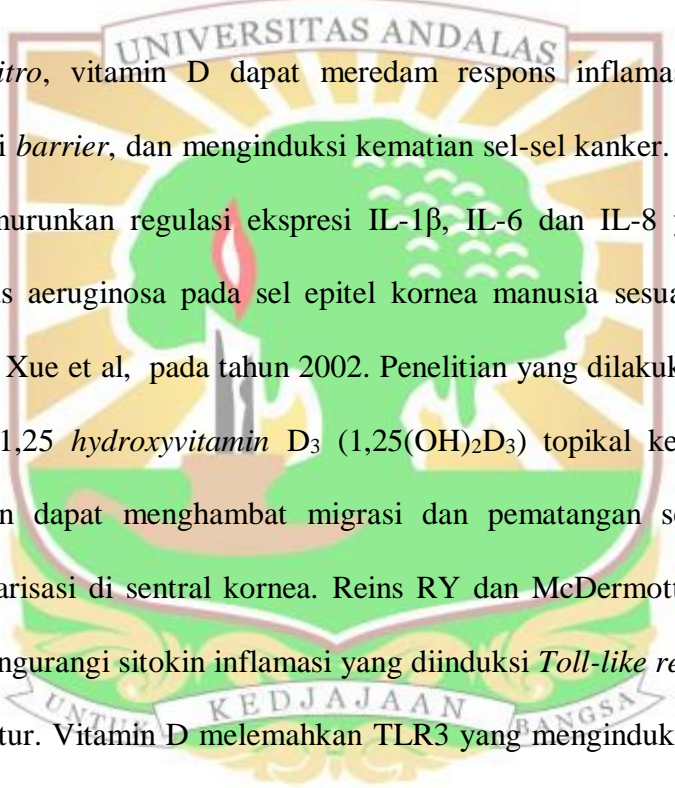
dengan target terapi. Hal ini mungkin disebabkan karena terdapat mekanisme lain yang diduga terjadi pada patogenesis glaukoma diantaranya disfungsi mekanik dan vaskular, stres oksidatif, neuroinflamasi, dan eksotoksisitas. Identifikasi faktor resiko yang bisa dimodifikasi dan modalitas terapi terbaru telah diteliti guna mencegah progresivitas glaukoma. Saat ini, banyak penelitian menunjukkan adanya hubungan antara marker stres oksidatif dan marker inflamasi terhadap resiko glaukoma sudut terbuka. Penggunaan antioksidan menjadi alternatif terapi untuk pengobatan glaukoma, salah satunya adalah penggunaan vitamin D.³⁰

Beberapa studi melaporkan bahwa level serum vitamin D secara signifikan lebih rendah pada pasien glaukoma dibandingkan pasien sehat. Penelitian yang dilakukan oleh Kim et al pada tahun 2012-2013, yang memeriksa kadar serum vitamin D pada 150 pasien glaukoma primer sudut terbuka. Wanita dengan level 25(OH)D₃ yang rendah memiliki resiko glaukoma yang lebih besar secara signifikan dibanding wanita dengan level 25(OH)D₃ yang lebih tinggi. Mereka melaporkan terdapat korelasi antara insufisiensi vitamin D dengan glaukoma primer sudut terbuka *moderate* dan *severe*. Penelitian yang dilakukan Kocaturk dkk, melaporkan bahwa pasien dengan defisiensi vitamin D memiliki TIO yang lebih tinggi dibandingkan individu sehat, meskipun tidak signifikan.³¹⁻³³

Vitamin D adalah hormon multifungsi yang diketahui memiliki peranan yang penting dalam berbagai fungsi biologis disamping fungsi utamanya mengatur homeostasis kalsium. Vitamin D juga dapat mempengaruhi regulasi imunitas, proliferasi, diferensiasi, apoptosis, dan angiogenesis. Sejumlah besar penelitian menunjukkan bahwa kadar vitamin D cukup penting dalam menjaga kesehatan tubuh dan sangat penting pada jaringan tertentu.^{34,35,36}

Kadar serum vitamin D 30 nm/ml (75nmol/L) dianggap kadar yang optimal untuk membatasi pelepasan hormon paratiroid (PTH) dan untuk meningkatkan penyerapan kalsium di usus. Kekurangan vitamin D dikaitkan dengan resiko dan atau keparahan banyak penyakit

termasuk kanker, penyakit kardiovaskuler, *sarcopenia*, *osteoarthritis* (OA), infeksi, dan reaksi rejeksi post transplantasi. Individu yang kekurangan vitamin D lebih mudah mengalami penyakit autoimun seperti multipel sclerosis, diabetes melitus, penyakit radang usus, dan penyakit jaringan ikat seperti *rheumatoid arthritis* (RA), dan *systemic lupus erythematosus* (SLE). Di bidang oftalmologi, beberapa penelitian membuktikan bahwa terdapat hubungan antara beberapa penyakit mata dengan vitamin D diantaranya miopia, retinoblastoma, AMD, retinopati diabetik, uveitis, inflamasi pada permukaan okuler (*dry eye*), dan glaukoma. ³⁶



Secara *in vitro*, vitamin D dapat meredam respons inflamasi terhadap infeksi, meningkatkan fungsi *barrier*, dan menginduksi kematian sel-sel kanker. Pengobatan dengan vitamin D bisa menurunkan regulasi ekspresi IL-1 β , IL-6 dan IL-8 yang diinduksi oleh infeksi *Pseudomonas aeruginosa* pada sel epitel kornea manusia sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Xue et al, pada tahun 2002. Penelitian yang dilakukan oleh Suzuki et al (2000), pemberian 1,25 *hydroxyvitamin* D₃ (1,25(OH)₂D₃) topikal ke kornea tikus yang dilakukan penjahitan dapat menghambat migrasi dan pematangan sel Langerhans, dan menunda neovaskularisasi di sentral kornea. Reins RY dan McDermott melaporkan bahwa Vitamin D dapat mengurangi sitokin inflamasi yang diinduksi *Toll-like receptor* (TLR) dalam sel epitel yang dikultur. Vitamin D melemahkan TLR3 yang menginduksi inflamasi pada sel epitel kornea manusia. Selain itu, baik 1,25(OH)₂D₃ dan 25(OH)D₃ dapat meningkatkan fungsi *barrier* epitel kornea melalui peningkatan regulasi protein *tight junction occludin* dan *zonula occludens 1* (ZO-1) (Yin et al., 2011). Vitamin D memiliki potensi untuk membalikkan efek kerusakan pada *barrier* epitel kornea selama infeksi dan melindunginya terhadap kondisi inflamasi. Pada model keratoplasti tikus, Daeng et al (2004) menemukan bahwa 1,25(OH)₂D₃ dapat mengurangi reaksi penolakan transplantasi kornea, menghambat sitokin pro inflamasi IL-1 α dan TNF- α . Studi eksperimental yang dilakukan oleh Kutuzova

dkk (2012) mendapatkan bahwa pemberian $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ topikal $5\mu\text{g}$ dapat mengurangi TIO pada hewan percobaan.^{37,38,39}

Penelitian saat ini mendapatkan kadar metabolit vitamin D signifikan dapat ditemukan di akuous humor, *tear film*, dan vitreus kelinci. Kadar vitamin D plasma yang tinggi, dapat melindungi terhadap AMD dan glaukoma. Penelitian yang dilakukan oleh Lin et al (2012) terhadap kelinci yang mengkonsumsi suplementasi vitamin D3 oral 7 IU/mgBB (*cholecalciferol*) selama 8 minggu, ditemukan konsentrasi metabolit vitamin D yang lebih tinggi di segmen anterior mata seperti di akuous humor dan *tear film*.^{11,40}

Pemahaman yang komprehensif tentang mekanisme inflamasi okuler yang terlibat dalam glaukoma diperlukan sebelum mempertimbangkan potensi target terapi anti-inflamasi.¹¹ Penggunaan vitamin D topikal maupun sistemik sudah dipelajari pada penyakit glaukoma. Tetapi masih butuh penelitian lebih lanjut mengenai efektifitas, efikasi, serta mekanisme kerjanya. Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin mengetahui lebih lanjut pengaruh pemberian vitamin D oral terhadap ekspresi TNF- α pada *trabecular meshwork* tikus model glaukoma.

1.2 Rumusan Masalah

Glaukoma adalah penyakit neurodegeneratif progresif multifaktorial yang merupakan penyebab kebutaan ireversibel paling sering setelah katarak. Glaukoma ditandai dengan hilangnya sel RGC, penipisan *retinal nerve fiber layer* (RNFL), *cupping glaucomatous*, dan kehilangan lapangan pandang. Hal ini dikaitkan dengan mekanisme patologis glaukoma diantaranya stress oksidatif, inflamasi, gangguan metabolisme, dan berkurangnya perfusi okuler. Proses inflamasi telah diidentifikasi pada pasien glaukoma atau pada beberapa penelitian dengan menggunakan hewan model glaukoma. Beberapa studi menjelaskan bahwa terdapat peningkatan kadar dan ekspresi beberapa sitokin pro-inflamasi pada akuous humor

dan *trabecular meshwork* pasien glaukoma, yang terlibat dalam inisiasi dan progresivitas glaukoma. Dengan menggunakan imunohistokimia, Baudouin melaporkan adanya sel inflamasi dendritik yang menginfiltrasi *trabecular meshwork*, yang dikaitkan dengan penurunan selularitas *trabecular meshwork* pada pasien glaukoma. Taurone et al, menemukan peningkatan yang signifikan ekspresi IL-6, IL-1 β , dan TNF- α pada spesimen *trabecular meshwork* pasien glaukoma primer sudut terbuka dengan TIO yang tinggi. ^{6,11,13}

Pemahaman yang komprehensif mengenai mekanisme inflamasi pada glaukoma penting untuk pertimbangan target terapi anti-inflamasi potensial untuk terapi adjuvant pada pasien glaukoma. ⁹ Vitamin D merupakan hormon multifungsi yang tidak hanya mempengaruhi homeostasis kalsium tetapi juga berperan penting pada regulasi sistem imun, pertumbuhan dan survival sel. Beberapa dekade terakhir, vitamin D banyak dipelajari memiliki efek protektif pada kesehatan mata.⁴¹ Beberapa peneliti telah menyelidiki peran vitamin D yang mempengaruhi beberapa sel imun seperti limfosit, makrofag, monosit, serta mikroglia, dan sel dendritik. Studi *in vivo* dan *in vitro* pada hewan menunjukkan bahwa paparan vitamin D ke limfosit mengakibatkan penurunan proliferasi sel B dan sel T, produksi immunoglobulin, dan apoptosis. Sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi diregulasi oleh vitamin D, dimana produksi sitokin pro-inflamasi di supresi (IL-1, IL-6, IFN- γ , TNF- α) dan sitokin anti-inflamasi di induksi (IL-4, IL-10, TGF- β). ³⁸

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dipaparkan, maka peneliti ingin mengevaluasi pengaruh pemberian vitamin D oral terhadap ekspresi TNF- α pada *trabecular meshwork* tikus model glaukoma.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian Vitamin D oral terhadap ekspresi TNF- α pada *trabecular meshwork* tikus model glaukoma.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui ekspresi TNF- α pada *trabecular meshwork* tikus model glaukoma dengan dan tanpa pemberian vitamin D oral.
2. Mengetahui perbedaan rerata ekspresi TNF- α pada *trabecular meshwork* tikus model glaukoma dengan dan tanpa pemberian vitamin D oral.
3. Mengetahui perbedaan rerata antar kelompok ekspresi TNF- α pada *trabecular meshwork* tikus model glaukoma dengan dan tanpa pemberian vitamin D oral.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bidang Akademis

Dapat menjadi salah satu sumbangan terhadap ilmu pengetahuan mengenai etiopatogenesis proses inflamasi di *trabecular meshwork* dalam hubungannya dengan mekanisme glaukoma melalui hewan coba (tikus putih) yang mengalami peningkatan tekanan intraokuler melalui kauterisasi vena episklera.

1.4.2 Bidang Klinik

Secara klinis hasil penelitian diharapkan dapat dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut untuk memperlambat progresivitas glaukoma yang diinduksi inflamasi akibat peningkatan tekanan intraokuler dan alternatif pemberian terapi adjuvan yang tepat, efektif dan rasional.

1.4.3 Bidang Masyarakat

Memberi edukasi kepada masyarakat mengenai komplikasi glaukoma akibat peningkatan tekanan intraokuler dan proses inflamasi yang ditimbulkannya, serta alternatif penggunaan vitamin D sebagai terapi adjuvan dalam manajemen pasien glaukoma.

