

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Retinopathy of prematurity (ROP) pertama kali dilaporkan oleh Theodore L. Terry pada tahun 1942. Kondisi ini dulunya disebut sebagai *retrolental fibroplasia*. ROP memiliki karakteristik terdapatnya proliferasi pembuluh darah retina yang abnormal. Faktor resiko seperti kelahiran prematur, berat badan lahir rendah, sepsis, transfusi darah dan penggunaan ventilasi mekanik yang menyebabkan paparan terhadap oksigen tinggi akan meningkatkan resiko terjadinya ROP.⁽¹⁻³⁾ ROP terutama ditemukan pada bayi prematur dengan usia kehamilan < 28 minggu dan berat lahir < 1500 gram. Jika tidak dilakukan terapi, ROP yang berat dapat menimbulkan ablasi retina dan menyebabkan kebutaan.^(4, 5)

Data yang diperoleh oleh *Canadian Neonatal Network* (2015), menyebutkan bahwa neonatus yang lahir sebelum usia gestasi 31 minggu, sebanyak 40-50% berkembang menjadi ROP dalam berbagai stadium dan sebanyak 7-8% menjadi *severe* ROP.⁽⁶⁾ Insiden ROP di India juga didapatkan meningkat karena peningkatan *survival rate* bayi baru lahir. Dari 26 juta kelahiran per tahun, sebanyak 2 juta merupakan bayi dengan berat lahir < 2000 gr yang beresiko untuk berkembangnya ROP sekitar 38-51,9%.⁽⁷⁾ Data di Indonesia diperoleh angka kejadian kelahiran prematur pada bayi lahir hidup di RS Cipto Mangunkusumo tahun 2007 adalah 20,22% dan sebanyak 71% dari bayi prematur mengalami ROP.⁽⁸⁾

Beberapa penelitian dalam mempelajari ROP pada manusia telah banyak dilakukan pada hewan coba. Untuk membedakan antara ROP pada manusia dengan percobaan retinopati pada hewan, digunakan istilah *Oxygen Induced Retinopathy* (OIR).⁽⁹⁾ OIR adalah metode penelitian secara *in vivo* dalam meneliti retinopati iskemik untuk menilai pertumbuhan pembuluh darah. OIR banyak digunakan untuk mempelajari aspek seluler dan molekuler pada vaskularisasi fisiologis dan patologis retina, salah satunya untuk mempelajari proses angiogenesis pada ROP. Dengan memahami mekanisme perkembangan normal vaskular retina dapat dengan baik mengetahui proses patofisiologi yang memicu kerusakan vaskular yang penting dalam pencegahan kehilangan visus akibat neovaskularisasi pada retinopati iskemik.⁽¹⁰⁾

Beberapa dekade sebelum dimulainya eksperimen OIR pada tahun 1950-an, para peneliti telah mengetahui bahwa retina memiliki level metabolisme dan glikolisis anaerob yang lebih tinggi dari jaringan tubuh lainnya, dan retina yang masih berkembang menunjukkan konsumsi oksigen yang lebih tinggi dari pada retina matur. Michaelson pada tahun 1940 mempelajari perkembangan vaskular retina normal pada manusia, tikus dan kucing, dan ditemukan bahwa pola pertumbuhan vaskular hampir sama pada hewan yang berbeda. Aston dkk kemudian yang pertama kali meneliti pengaruh perubahan konsentrasi oksigen terhadap perkembangan vaskular retina pada binatang, dengan menggunakan anak kucing yang memiliki kemiripan perkembangan vaskular dengan bayi. Dengan memvariasikan onset, durasi dan konsentrasi paparan oksigen yang diberikan pada kucing baru lahir,

didapatkan karakteristik 2 fase OIR, yaitu vaso-obliterasi dan vaso-proliferasi, yang menyerupai tahap perkembangan ROP.⁽¹¹⁾

Model percobaan pada OIR berhasil dilakukan pada beberapa spesies, seperti tikus, kucing dan anjing. Model tikus pada OIR lebih sering dipakai karena lebih memungkinkannya dilakukan manipulasi genetik. Selain itu, perkembangan vaskular retina pada tikus baru lahir, sesuai dengan kondisi manusia dengan usia kehamilan 26 minggu, sehingga berguna dalam studi angiogenesis retina pada kondisi normal dan patologis.⁽¹⁰⁾

Banyak hipotesis yang menjelaskan patogenesis ROP, namun secara umum disebutkan bahwa kelainan neovaskularisasi tersebut terjadi dalam 2 fase. Pada fase 1 terjadi penghentian pertumbuhan dan kehilangan pembuluh darah. Onset fase 1 terjadi saat bayi prematur lahir dimana berkaitan dengan kehilangan *maternal derived factors*, terjadi penurunan *Vascular Endothelial Growth Factors* (VEGF) dan *Insulin-like Growth Factors-1* (IGF-1). Kondisi ini menyebabkan terhentinya pertumbuhan normal pembuluh darah retina dan terjadi vasoobliterasi sehingga menimbulkan avaskular retina perifer. Fase 1 juga dicetuskan oleh faktor tambahan dari lingkungan ektrauterin terutama oksigen dengan level yang lebih tinggi dari pada intrauterin. Keadaan ini disebut dengan *relative hyperoxia* yang dalam mekanismenya akan semakin meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan penurunan VEGF. Sebagaimana pertumbuhan normal setelah kelahiran, retina menjadi semakin aktif secara metabolik. Pada kondisi ini, retina avaskular menjadi hipoksia dan memicu fase 2 ROP. Hipoksia pada fase ini menginduksi

peningkatan yang cepat dari *Hypoxia –inducible factor (HIF) growth factor* yang ditekan selama fase 1. ^(3, 12)

Prosedur pelaksanaan OIR yang dilakukan terhadap hewan coba kemudian dibuat dengan langkah-langkah yang efeknya menyerupai dengan fase perkembangan vaskular retina pada ROP. Tahap awal penelitian, tikus baru lahir akan diberikan paparan oksigen tinggi. Kondisi hiperoksia ini akan menyebabkan regresi pembuluh darah retina dan menghentikan pertumbuhan vaskular normal sehingga terbentuk area retina yang avaskular. Keadaan ini menyerupai fase 1 pada ROP. Pada tahap selanjutnya hewan coba tersebut dipindahkan ke udara ruangan, area retina avaskular akan menjadi hipoksia. Hipoksia ini akan menginduksi pelepasan faktor angiogenik yang menyebabkan pertumbuhan vaskular retina yang abnormal sehingga terbentuk neovaskularisasi. Fase neovaskular pada OIR ini menyerupai fase 2 pada ROP. ⁽¹³⁾

Retina merupakan jaringan yang sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif oleh *Reactive Oxygen Species (ROS)*. Disamping karena memerlukan konsumsi oksigen terbesar di dalam tubuh, di dalam retina juga mudah terjadi foto-oksidasi karena paparan konstan terhadap cahaya yang masuk. Konsumsi oksigen tinggi dan selalu terpapar cahaya memungkinkan retina menghasilkan ROS. Selain itu, kandungan *Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA)* yang tinggi dalam retina (pada segmen luar fotoreseptor) cenderung terjadi peroksidase lipid. Pada kondisi patologis seperti iskemik retina, terjadi ketidakseimbangan antara produksi ROS dan kemampuan membuang ROS oleh sistem anti oksidan endogen. ROS memicu berbagai jalur signal tubuh

yang selanjutnya menyebabkan kematian sel. Antioksidan dapat menghambat atau mencegah proses oksidatif sehingga dapat melindungi sel retina dari kerusakan iskemik.⁽¹⁴⁾

Efek anti oksidan L-carnitine pada berbagai jaringan telah banyak diteliti.^(15, 16) L-carnitine memproteksi jaringan dengan beberapa mekanisme yang melawan stress oksidatif dengan mencegah terbentuknya ROS sehingga menurunkan kerusakan membrane sel.⁽¹⁷⁾ L-carnitine yang disintesis dari *lysine* dan *methionine*, berperan penting dalam metabolisme lemak dengan merubah asam lemak rantai panjang untuk memproduksi energi melalui proses oksidasi dan fosforilasi oksidatif. Ini juga berperan dalam pembuangan asam lemak rantai pendek dan medium yang terakumulasi karena metabolisme lemak di mitokondria. L-carnitine juga diduga berperan dalam perlindungan membran sel dengan detoksifikasi *acyl CoA*.⁽¹⁸⁾

Carnitine juga diketahui berperan penting bagi janin dan ditransportasikan melalui plasenta selama masa kehamilan. Sejalan dengan bertambahnya usia kehamilan, janin akan meningkatkan jumlah penyimpanan carnitine. Pada bayi prematur, level enzim katalisator (*α-butyrobetaine hydroxylase*) dalam jalur biosintesis carnitine masih rendah, sehingga lebih beresiko untuk terjadi defisiensi carnitine. Dan penelitian saat ini diketahui bahwa kadar serum carnitine yang rendah pada bayi prematur berkaitan dengan kejadian *Respiratory Distress Syndrome* (RDS).⁽¹⁹⁾

Penggunaan L-carnitine pada bayi prematur telah diteliti oleh Ozturk dkk (2015). Studi tersebut menilai efektifitas pemberian L-carnitine pada bayi

prematur yang mengalami *Respiratory Distress Syndrome* (RDS). Dari penelitian tersebut didapatkan bahwa L-carnitine yang diberikan pada bayi prematur dengan RDS dapat meningkatkan level carnitine plasma dan menurunkan durasi penggunaan ventilasi mekanik dan kebutuhan surfaktan.⁽²⁰⁾

Penggunaan terapi metabolik berupa kombinasi dari asam lemak omega-3 dan *acetyl-L-carnitine* mulai diperkenalkan sebagai terapi dini untuk *Age Related Macular Degeneration* (ARMD) dengan cara memperbaiki disfungsi mitokondria. Sistem ini secara khusus memperbaiki metabolisme lipid dan produksi *Adenosine Triphosphate* (ATP) didalam *Retinal Pigment Epithelium* (RPE), meningkatkan proses *turnover* fotoreseptor dan menurunkan pembentukan ROS.⁽¹⁸⁾

Keles dkk (2014) melakukan penelitian untuk menilai efektifitas L-carnitine pada tikus percobaan yang mengalami OIR (*Oxygen Induced Retinopathy*). Dalam penelitian tersebut dinilai level *malondyaldehyde* (MDA) dalam plasma yang merupakan produk peroksidase lipid akibat ROS. Dari penelitian tersebut didapatkan bahwa terjadi penurunan level MDA pada hewan coba setelah diterapi dengan L-carnitine.⁽²¹⁾

L-carnitine juga diketahui memiliki efek protektif terhadap sel RPE dari kerusakan oksidatif. Hal tersebut dilaporkan oleh Shamsi dkk (2007) yang meneliti bahwa setelah pemberian L-carnitine terjadi perubahan potensial aktivitas antioksidan dari RPE yang sebelumnya diinduksi dengan stress oksidatif.⁽²²⁾

Smith dkk (1994) melakukan penelitian pada tikus yang mengalami OIR (*Oxygen Induced Retinopathy*) dengan menilai secara kuantitatif neovaskularisasi retina yang terjadi. Diperiksa secara histopatologi terhadap jaringan retina tikus tersebut, gambaran *neovascular tuft* yang muncul dinilai dengan menghitung jumlah *vascular endothel nuclei* yang melewati *Internal Limiting Membrane* (ILM). Hasil penelitian tersebut didapatkan bahwa *neovascular tuft* pada retina tikus OIR ditemukan secara signifikan lebih banyak dibandingkan pada retina tikus normal.⁽²³⁾

Namun saat ini belum terdapat penelitian yang mempelajari pengaruh pemberian L-carnitine dengan gambaran histopatologi *neovascular tuft* yang muncul pada retina hewan coba yang mengalami OIR. Berdasarkan uraian diatas peneliti ingin mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah *neovascular tuft* pada retina tikus yang mengalami *Oxygen Induced Retinopathy* dengan pemberian L-carnitine dibandingkan tanpa L-carnitine.

1.2 Rumusan Masalah

Oxygen Induced Retinopathy merupakan metode yang digunakan dalam mempelajari proses dan abnormalitas angiogenesis yang dilakukan pada hewan coba. Hewan coba yang paling sering digunakan adalah tikus, dimana pemeriksaan terhadap retina tikus, selain dapat mengetahui perkembangan vaskular normal juga dapat mempelajari kondisi patologis yang bisa menyebabkan kehilangan fungsi penglihatan, salah satunya adalah ROP. Prosedur yang dilakukan dalam langkah-langkah OIR dilakukan menyerupai

dengan kondisi ROP pada manusia, dimana terdapat fase Vasoobliterasi (VO) dan Neovaskularisasi (NV). ROP merupakan kelainan okular dengan karakteristik abnormalitas vaskular yang terjadi dalam 2 fase perubahan patologis. Fase 1 dimulai dengan berhentinya pertumbuhan pembuluh darah retina setelah lahir prematur. Bayi prematur seringkali terpapar dengan oksigen tinggi didalam inkubator setelah lahir, suatu kondisi hiperoksia relatif, yang kemudian menimbulkan penurunan VEGF yang dilanjutkan dengan regresi pembuluh darah retina. Setelah penghentian terapi oksigen, bayi kemudian dipindahkan ke ruangan dengan tekanan oksigen normal, terjadi kondisi hipoksia relatif. Selama perkembangan, terjadi peningkatan kebutuhan metabolik untuk pertumbuhan pembuluh darah retina. Oleh sebab itu, peningkatan kebutuhan terhadap oksigen menimbulkan trauma hipoksia pada retina. Kondisi hipoksia relatif pada retina memicu kelainan proliferasi pembuluh darah dan menimbulkan neovaskularisasi, ini merupakan fase ke-2 ROP.⁽¹⁴⁾

Pertumbuhan pembuluh darah abnormal berkaitan dengan disfungsi dan degenerasi lokal neuronal. Penelitian pada tikus percobaan dengan kelainan retina yang menyerupai penyakit pada manusia, didapatkan bahwa neovaskularisasi intra dan sub retina berhubungan dengan kematian sel fotoreseptor. Kematian sel tersebut diakibatkan oleh meningkatnya proses stress oksidatif. Dalam patofisiologi ROP, kondisi hipoksia retina yang terjadi memicu terjadinya stress oksidatif didalam sel. Pemberian antioksidan dapat melindungi retina terhadap degenerasi fotoreseptor dan mencegah terbentuknya neovaskularisasi akibat kerusakan neuronal.⁽²⁴⁾ Dari beberapa

penelitian, diketahui bahwa L-carnitine berperan dalam mekanisme melawan stress oksidatif dengan mencegah terbentuknya ROS. Berdasarkan rumusan masalah diatas peneliti ingin mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah *neovascular tuft* pada retina tikus yang mengalami *Oxygen Induced Retinopathy* dengan pemberian L-carnitine dibandingkan tanpa L-carnitine.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui perbandingan gambaran histopatologi jumlah *neovascular tuft* pada retina tikus yang mengalami *oxygen induced retinopathy* dengan dan tanpa pemberian L-carnitine.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui jumlah *neovascular tuft* pada retina tikus yang mengalami *oxygen induced retinopathy* tanpa pemberian L-carnitine.
2. Mengetahui jumlah *neovascular tuft* pada retina tikus yang mengalami *oxygen induced retinopathy* dengan pemberian L-carnitine.
3. Membandingkan jumlah *neovascular tuft* pada retina tikus yang mengalami *oxygen induced retinopathy* dengan dan tanpa pemberian L-carnitine

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bidang Klinis

Hasil penelitian ini dapat dipakai sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut dalam manajemen ROP pada bayi prematur.

1.4.2 Bidang Penelitian

Memberikan kontribusi terhadap ilmu pengetahuan mengenai manfaat pemberian L-carnitine terhadap vaskularisasi retina pada tikus yang mengalami *oxygen induced retinopathy*.



