

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Glaukoma merupakan suatu kelompok neuropati optik progresif yang ditandai dengan adanya ekskavasio atau *cupping optic nerve head* (ONH), kehilangan *retinal ganglion cell* (RGC), dan defek lapang pandang. Tekanan intra okuler (TIO) saat ini tidak merupakan bagian dari definisi glaukoma, namun merupakan faktor risiko glaukoma yang secara signifikan berpengaruh terhadap perkembangan dan progresivitas glaukoma, termasuk pada *normal-tension glaucoma* (NTG). Penurunan TIO pada glaukoma dengan TIO tinggi maupun normal dapat memperlambat progresivitas glaukoma.¹⁻³

Glaukoma merupakan penyebab utama *visual impairment* dan kebutaan ireversibel di dunia, sehingga menyebabkan masalah kesehatan masyarakat yang signifikan. Prevalensi dan morbiditas glaukoma diperkirakan meningkat seiring peningkatan jumlah populasi usia lanjut. Tham et al. memperkirakan 76 juta orang pada tahun 2020 dan 111,8 juta orang pada tahun 2040 pada kelompok usia 40-80 tahun mengalami glaukoma. Selain itu, Tham et al. memperkirakan jumlah kejadian glaukoma primer paling tinggi terjadi pada populasi Asia, dengan 18,8 juta orang mengalami POAG dan 9 juta jiwa mengalami PACG pada populasi Asia. Pada tahun 2020, 4,13 juta orang berusia 50 tahun atau lebih mengalami *visual impairment* derajat sedang dan berat, serta 3,6 juta orang mengalami kebutaan akibat glaukoma di dunia.⁴⁻⁶

Prevalensi kebutaan di Indonesia berdasarkan survei *Rapid Assessment of Avoidable Blindness* (RAAB) Indonesia tahun 2013-2017 sebesar 2,7% pada laki-laki dan 3,3% pada perempuan pada 15 provinsi di Indonesia, dengan jumlah total penduduk Indonesia yang mengalami kebutaan mencapai 1,6 juta orang. Prevalensi glaukoma di Indonesia menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 sebesar 0,46%, yang dapat diartikan sebagai 4 sampai 5 orang dari 1.000 penduduk Indonesia mengalami glaukoma. Jumlah kunjungan rawat jalan pasien glaukoma pada pasien rawat jalan rumah sakit di Indonesia pada tahun 2015-2017 selalu mengalami peningkatan setiap tahun, dengan jumlah kasus baru glaukoma pada

tahun 2017 mencapai 80.548 kasus. Deteksi dini glaukoma dan progresivitas glaukoma diperlukan agar dapat dilakukan penanganan yang tepat untuk mengurangi beban akibat glaukoma (*glaucoma burden*).^{7,8}

Glaukoma dapat diklasifikasikan berdasarkan etiologi (primer dan sekunder), sudut kamera okuli anterior berdasarkan pemeriksaan gonioskopi (sudut terbuka dan sudut tertutup), dan onset usia (anak dan dewasa). Glaukoma primer merupakan glaukoma yang tidak disebabkan oleh kondisi lain, sedangkan glaukoma sekunder merupakan glaukoma yang disebabkan oleh kondisi lain. Glaukoma primer anak (*primary pediatric glaucoma*) dapat diklasifikasikan sebagai glaukoma kongenital primer (dengan onset mulai dari 0 bulan) dan *juvenile open angle glaucoma* (JOAG) dengan onset 4-40 tahun.^{1,9}

Lamina kribrosa merupakan bagian dari sklera posterior yang memiliki fenestrasi tempat akson RGC keluar dari mata untuk menjadi nervus optik dan merupakan titik lemah pada mata yang rentan terhadap gaya mekanik. Berbagai faktor seperti TIO dan tekanan cairan serebrospinal retrolaminar berinteraksi sehingga menciptakan *stress* pada lamina kribrosa. *Stress* ini kemudian menyebabkan regangan (*strain*) dan remodeling lamina kribrosa. Remodeling lamina kribrosa bergantung kepada struktur anatomi mata individu (seperti elastisitas dan ukuran ONH), serta predisposisi genetik individu. Remodeling lamina kribrosa menyebabkan kerusakan akson RGC melalui berbagai mekanisme seperti kompresi mekanik, disfungsi mitokondria, dan neuroinflamasi.^{1,2}

Inflamasi merupakan respons yang kompleks dan sangat teratur yang terjadi segera setelah infeksi ataupun *injury* jaringan. Proses inflamasi diinisiasi oleh sel-sel sistem imun untuk membangun kembali homeostasis jaringan. *Injury* terus-menerus pada jaringan menyebabkan terjadinya inflamasi kronik, ditandai dengan produksi mediator inflamasi yang berlebihan, yang kemudian berkontribusi terhadap disfungsi dan kematian sel. Neuroinflamasi merupakan respons inflamasi pada sistem saraf pusat. Astrosit dan mikroglia merupakan sel-sel yang memperantarai terjadinya respons inflamasi pada sistem saraf pusat, sedangkan astrosit, sel Muller, dan mikroglia merupakan sel-sel yang memperantarai terjadinya respons inflamasi pada retina dan nervus optik. *Glia-driven*

neuroinflammation merupakan inflamasi *low-grade* (parainflamasi) dikarenakan retina dan nervus optik bersifat *immune privileged*.¹⁰⁻¹³

Channel pada soma dan dendrit RGC yang sensitif terhadap stimulasi mekanik, seperti *channel Transient Receptor Potential Vanilloid 4* (TRPV4) dapat diaktivasi oleh gaya regang yang ditimbulkan oleh TIO, sehingga menyebabkan masuknya ion Ca^{2+} ke dalam RGC. Ion Ca^{2+} selanjutnya memicu terbukanya *channel* Pannexin, sehingga terjadi pelepasan adenosin trifosfat (ATP). Pelepasan ATP kemudian menyebabkan aktivasi sel glia. Selain itu, sel RGC yang mengalami kerusakan melepaskan faktor *damage-associated molecular patterns* (DAMPs), yang menyebabkan aktivasi glia melalui *Toll-like receptor* (TLR) pada glia. Glia yang mengalami aktivasi kemudian berubah bentuk menjadi ameboid dan mengalami redistribusi di dalam retina dan nervus optik serta menghasilkan mediator inflamasi seperti sitokin dan interleukin.^{11,14,15}

Salah satu sitokin yang dihasilkan oleh astrosit, mikroglia, dan sel Muller adalah *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), yang bertindak sebagai modulator respons neuroinflamasi yang penting pada glaukoma, dengan ukuran molekul 17kDa. Jalur *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) yang diaktivasi oleh ikatan TNF- α dengan reseptor TNF- α pada RGC kemudian menyebabkan peningkatan mediator imun lainnya, sehingga menyebabkan amplifikasi siklus neuroinflamasi. Selain itu, TNF- α meningkatkan sintesis *Bcl-2-associated X protein* (BAX) di dalam RGC, suatu faktor pro-apoptotik dari keluarga *B-cell lymphoma 2* (BCL-2), sehingga menginisiasi apoptosis RGC.¹⁶⁻¹⁸

Berbagai penelitian pada hewan coba dan manusia telah menunjukkan bahwa kadar TNF- α dalam serum atau intraokular meningkat pada mata dengan glaukoma, serta paparan mata normal terhadap TNF- α menginduksi apoptosis RGC. Penelitian Kitaoka et al. menunjukkan injeksi intravitreal TNF- α pada tikus dapat menginduksi degenerasi akson 2 minggu hingga 2 bulan setelah injeksi, dengan penurunan jumlah RGC yang signifikan pada 2 bulan setelah injeksi. Penelitian Nakazawa et al. menunjukkan bahwa TNF- α memediasi efek sitotoksik hipertensi okuler pada RGC melalui mekanisme yang melibatkan aktivasi mikroglia dan penurunan oligodendrosit. Penelitian Roh et al. menunjukkan peningkatan TIO menyebabkan peningkatan kadar TNF- α pada retina tikus dalam waktu 3 hari, dan

pada hari ke-7, kadar TNF- α meningkat 17 kali lipat lebih tinggi dari normal dan kadar TNF- α menetap tinggi setidaknya selama 4 minggu. Penelitian Jung et al. menunjukkan adanya hubungan fluktuasi TIO dan kadar TNF- α akuos humor pasien POAG.¹⁹⁻²²

Kadar *biomarker* terkait glaukoma dapat diukur pada darah maupun cairan mata, seperti vitreus dan akuos humor. Vitreus merupakan salah satu jaringan intraokuler yang dapat diteliti terkait glaukoma dikarenakan vitreus terletak berdekatan dengan RGC, sehingga vitreus dapat berperan sebagai reservoir potensial *biomarker* akibat RGC yang mengalami *injury*. Badan vitreus berbatasan dengan *blood-aqueous barrier* dan *blood-retina barrier*. *Blood-retina barrier* bagian dalam memungkinkan molekul kecil untuk masuk, sedangkan molekul dengan ukuran lebih dari 2 nm tidak dapat berdifusi. Penelitian Spurlock et al menunjukkan sitokin TNF- α dan IL-1 β mulai dapat dideteksi 1 hari setelah perlakuan peningkatan TIO repetitif pada vitreus tikus. Penelitian Sawada et al. menunjukkan bahwa kadar TNF- α dalam akuos humor pasien glaukoma meningkat secara signifikan dibandingkan dengan pasien dengan mata non glaukoma. Penelitian Ghanem et al. menunjukkan adanya perbedaan rerata kadar TNF- α akuos humor ($38,3 \pm 5,1$ pg/ml) dan plasma darah ($15,8 \pm 2,5$ pg/ml) pasien POAG.²³⁻²⁸

Glaukoma merupakan penyakit neurodegeneratif dengan TIO sebagai faktor risiko utama. TIO menyebabkan stress pada ONH dan maupun badan sel RGC yang kemudian menyebabkan terjadinya neuroinflamasi. Target terapi glaukoma saat ini adalah untuk mengontrol TIO. Namun, progresivitas glaukoma dapat terus terjadi walaupun telah dilakukan terapi untuk mengontrol TIO. Terapi neuroprotektif berusaha untuk memperbaiki dampak neuroinflamasi yang dapat menyebabkan kerusakan dan kematian RGC, dengan cara menghambat jalur biokimia spesifik yang dapat mencegah *injury* saraf ataupun menstimulasi penyembuhan saraf independen terhadap TIO. Katekin, suatu keluarga kimia flavonoid, adalah senyawa polifenol yang ditemukan pada berbagai tanaman, terutama dalam teh hijau. Sifat antioksidan dan antiinflamasi katekin teh hijau secara *in vitro* dan *in vivo* telah terbukti dengan baik, sehingga teh hijau dapat menjadi terapi potensial untuk menghambat degenerasi RGC pada glaukoma.^{29,30}

Teh hijau merupakan olahan tanaman teh *Camellia sinensis* yang diperoleh dengan cara memanggang daun teh segar tanpa dilakukan fermentasi. Berbagai macam unsur dalam teh hijau, antara lain polifenol, asam amino, polisakarida, saponin, dan alkaloid. Daun teh segar melalui prosedur ekstraksi yang dikontrol dengan baik untuk memperoleh ekstrak teh hijau. Katekin merupakan jenis paling banyak polifenol flavanoid pada teh hijau. *Epigallocatechin gallate* (EGCG) merupakan katekin dengan jumlah paling banyak pada teh hijau dan telah terbukti memiliki sifat anti oksidan dan anti inflamasi pada berbagai jenis sel. EGCG dapat mengikat protein dan asam nukleat lebih erat dibandingkan kandungan teh hijau lainnya disebabkan oleh struktur molekular EGCG. EGCG yang diberikan secara oral dapat memasuki jaringan mata, termasuk vitreus. EGCG mulai dapat dideteksi pada vitreus tikus setelah 4 jam pemberian EGCG secara oral dan mencapai konsentrasi maksimal pada vitreus tikus dalam 10 jam.³⁰⁻³³

Beberapa penelitian menunjukkan ekstrak teh hijau serta EGCG secara khusus memberikan manfaat terkait TNF- α maupun glaukoma. Penelitian Ren et al. menunjukkan pada RGC dan sel glia retina ditemukan reseptor *67 kDa laminin receptor* (67LR). Penelitian Byun et al. menunjukkan EGCG berikatan dengan 67LR untuk menstimulasi *Toll-interacting protein* (Tollip). Peningkatan Tollip menghambat jalur TLR, yang kemudian menyebabkan deaktivasi jalur (NF- κ B) dan MAPK yang berperan dalam inflamasi. Penelitian Yang et al. menunjukkan bahwa lebih sedikit RGC yang mengalami apoptosis pada tikus yang mengalami *injury* iskemia retina dengan pemberian ekstrak teh hijau oral. Ekstrak teh hijau juga mengurangi *marker* inflamasi (TLR4, IL-1 β dan TNF- α) yang disebabkan oleh cedera iskemik. Densitas RGC tikus model glaukoma dengan peningkatan TIO selama 2 minggu (penelitian Zhang et al.) dan 4 minggu (penelitian Shen et al.) yang diberikan EGCG lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang tidak diberikan EGCG. Penelitian Zhang et al. juga menunjukkan bahwa pemberian EGCG secara signifikan menurunkan kadar sitokin inflamasi (IL-4, IL-6, IL-1 β dan IL-13, TNF- α dan IFN- γ) pada darah tikus glaukoma.³⁴⁻³⁸

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, peneliti tertarik melakukan penelitian mengenai pengaruh EGCG oral terhadap kadar TNF- α vitreus tikus model glaukoma. Penelitian ini menggunakan tikus model glaukoma dengan

induksi peningkatan TIO dengan cara kauterisasi tiga vena episklera, yang menimbulkan peningkatan TIO secara akut (satu hari setelah kauterisasi vena episklera), dengan peningkatan TIO dapat bertahan secara kronik (hingga beberapa minggu). Peningkatan TIO tersebut menyebabkan apoptosis RGC dan remodeling ONH, menyerupai kelainan pada pasien glaukoma. Penelitian Zhang et al. menunjukkan penurunan signifikan kadar TNF- α retina tikus glaukoma setelah pemberian EGCG, dengan kadar TNF- α retina tikus model glaukoma dengan pemberian EGCG oral selama 28 hari lebih menurun daripada tikus model glaukoma dengan pemberian EGCG oral selama 14 hari, sehingga peneliti melakukan pemeriksaan kadar TNF- α vitreus 28 hari setelah kauterisasi vena episklera. *Reactive oxygen species* (ROS) berperan dalam patogenesis glaukoma dengan menstimulasi jalur apoptosis dan inflamasi pada tingkat *trabecular meshwork*. Kadar sitokin inflamasi pada akuos humor berasal dari inflamasi kronik *trabecular meshwork* dan difusi sebagian kecil sitokin dari posterior ke akuos humor, sehingga peneliti memilih meneliti vitreus pada penelitian ini.^{36,39,40} Penelitian ini memiliki perbedaan dengan penelitian lain dalam hal variabel terikat berupa kadar TNF- α vitreus tikus model glaukoma, yang peneliti dapatkan belum pernah diteliti pada tikus model glaukoma dengan peningkatan TIO kronik. Hasil penelitian ini dapat menjadi pengembangan strategi berupa penggunaan EGCG sebagai terapi adjuvan pada glaukoma.

1.2 Rumusan Masalah

Glaukoma merupakan suatu kelompok neuropati optik progresif dengan TIO sebagai faktor risiko utama. Glaukoma adalah penyebab utama *visual impairment* serta kebutaan ireversibel di dunia, sehingga menyebabkan masalah kesehatan masyarakat yang signifikan. TIO menyebabkan stress pada ONH maupun badan sel RGC yang kemudian menyebabkan terjadinya neuroinflamasi. Neuroinflamasi merupakan respons inflamasi pada sistem saraf pusat dengan astrosit, sel Muller, dan mikroglia sebagai sel-sel yang memperantarai terjadinya respons inflamasi pada retina dan nervus optik. TIO menimbulkan gaya mekanik yang menyebabkan aktivasi sel glia dan pelepasan mediator inflamasi, seperti sitokin dan interleukin.^{10,11,29}

Akibat neuroinflamasi pada glaukoma, sel glia retina menghasilkan salah satu sitokin yang paling awal muncul yaitu TNF- α , dengan ukuran molekul 17kDa (kurang dari 2 nm), sehingga dapat mengalami difusi ke vitreus. TNF- α menyebabkan aktivasi berbagai jalur inflamasi intraseluler RGC, seperti NF-kB, dan dapat bersifat toksik secara langsung terhadap RGC dengan meningkatkan sintesis BAX yang menyebabkan kerusakan lebih lanjut hingga apoptosis RGC. Vitreus merupakan salah satu jaringan intraokuler yang dapat diteliti terkait glaukoma dikarenakan vitreus dapat berperan sebagai reservoir potensial *biomarker* akibat RGC yang mengalami *injury* dengan adanya infiltrasi sitokin inflamasi pada vitreus. *Blood-retina barrier* bagian dalam memungkinkan molekul kecil (ukuran kurang dari 2 nm) untuk berdifusi ke vitreus.^{12,17,18,24}

Saat ini terapi glaukoma bertujuan untuk menurunkan TIO. Namun, progresivitas glaukoma dapat terus terjadi walaupun telah dilakukan terapi untuk mengontrol TIO. Terapi neuroprotektif digunakan untuk memperbaiki dampak neuroinflamasi pada glaukoma. Katekin merupakan senyawa polifenol yang ditemukan pada teh hijau yang memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi. EGCG merupakan katekin dengan jumlah paling banyak pada teh hijau dan pada beberapa penelitian terbukti dapat mempertahankan densitas RGC pada tikus model glaukoma dibandingkan dengan tikus yang tidak diberikan EGCG.^{29,30}

Dari uraian tersebut, dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana perbandingan rerata kadar TNF- α vitreus pada tikus model glaukoma dengan dan tanpa pemberian EGCG oral?
2. Bagaimana korelasi TIO dan kadar TNF- α vitreus pada tikus model glaukoma dengan pemberian EGCG oral?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menilai pengaruh pemberian EGCG oral terhadap kadar TNF- α vitreus pada tikus model glaukoma.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menilai perbandingan rerata kadar TNF- α vitreus pada mata tikus model glaukoma dengan dan tanpa pemberian EGCG oral.
2. Menilai korelasi TIO dan kadar TNF- α vitreus pada tikus model glaukoma dengan pemberian EGCG oral.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bidang Pendidikan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap ilmu pengetahuan mengenai neuroinflamasi pada glaukoma dan pengaruh pemberian EGCG oral terhadap kadar TNF- α vitreus pada tikus model glaukoma.

1.4.2 Bidang Klinik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan terhadap penelitian lebih lanjut mengenai neuroinflamasi pada glaukoma dan pengaruh EGCG oral sebagai anti inflamasi pada pasien glaukoma.

1.4.3 Bidang Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan masyarakat mengenai perjalanan penyakit glaukoma berupa peningkatan tekanan intraokuler dan proses inflamasi yang terjadi, serta penggunaan EGCG oral sebagai terapi adjuvan pada pasien glaukoma.