

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Neuropati Optik Traumatika (NOT) adalah kondisi dimana terjadi cedera akut pada nervus optikus akibat trauma langsung maupun tidak langsung yang menyebabkan kehilangan penglihatan. Gejala NOT bisa berupa kehilangan penglihatan, kelainan lapang pandang, penurunan tajam penglihatan, kehilangan penglihatan warna dan defek pupil aferen. Insidensi terjadinya NOT adalah sekitar 0,7-2,5%. Berdasarkan *International Optic Nerve Trauma Study (IONTS)*, 85% pasien dengan NOT adalah laki-laki dengan rata-rata usia 34 tahun. Penyebab paling umum dari NOT adalah cedera tidak langsung pada saraf optik akibat trauma orbita atau trauma kepala yang ditransmisikan ke bagian intrakanalikular saraf optik. NOT secara langsung dapat terjadi akibat cedera tembus atau dari fragmen tulang di kanalis optikus atau orbita yang menyebabkan disrupsi saraf optik.<sup>1,2,3</sup>

Patofisiologi NOT bersifat multifaktorial dan belum diketahui secara pasti. NOT dapat disebabkan oleh trauma kepala akibat benda tumpul, dengan kerusakan primer akibat disrupsi nervus optikus atau akibat kerusakan sekunder karena peradangan, disfungsi vaskular, atau pembengkakan nervus optikus.<sup>4</sup> Trauma menyebabkan serangkaian peristiwa patologis yang meliputi peningkatan stress oksidatif, pelepasan mediator inflamasi, gangguan sawar darah otak, defisit neurotropin, eksitotoksisitas, iskemia, inflamasi, dan

aktivasi glial, serta masuknya kalsium intraseluler yang semuanya berkontribusi pada kematian sel ganglion retina (RGC) yang dapat menyebabkan kebutaan *irreversible*. Beberapa jalur pensinyalan dapat bertindak secara paralel di retina atau RGC yang mengakibatkan kematian sel.<sup>2,3,4</sup>

RGC adalah neuron sistem saraf pusat dengan somanya berada di retina bagian dalam dan aksonnya berjalan di sepanjang saraf optik. RGC berfungsi mengirimkan informasi visual dari retina ke otak. Pada penelitian sebelumnya oleh Vorwer et al mengungkapkan bahwa RGC yang mengalami injuri akan melepaskan glutamat ekstraseluler yang menginduksi eksitotoksisitas sel. Konsentrasi glutamat yang tinggi akan mengaktivasi reseptor *N-methyl-d-aspartate* (NMDA) dan *α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid* (AMPA) sehingga menyebabkan masuknya kalsium secara ekksesif ke dalam sel, yang diikuti oleh disfungsi mitokondria, pembentukan radikal bebas, dan stres oksidatif dan akhirnya menyebabkan kematian sel.<sup>5,6,7</sup>

Sel glia bertanggung jawab atas homeostasis RGC di dalam retina dengan mengatur lingkungan ekstraseluler melalui pengiriman metabolit dan pembuangan faktor toksik. Pada kondisi trauma pada otak, mikroglia akan lebih reaktif dan menghasilkan mediator inflamasi yang berlebih sehingga memicu terjadinya apoptosis dan kerusakan neuronal yang lebih berat. Sel glial berpartisipasi dalam cedera jaringan sebagai penanda terjadinya proses peradangan saraf dengan memproduksi sitokin-sitokin proinflamasi seperti

*tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), memproduksi *nitric oxide* (NO) dan *reactive oxygen species* (ROS).<sup>7,8</sup>

Pada kondisi trauma terjadi gangguan pada transpor neurotropin retrograde ke RGC yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel. *Brain-derived neurotropic factor* (BDNF) adalah salah satu neurotropin yang mendukung kelangsungan hidup neuron dan mendorong sinaptogenesis serta diferensiasi neuron. Terapi pemberian faktor neurotropik yang diturunkan dari otak (BDNF) atau obat-obat BDNF saat ini menjadi hal yang potensial karena dapat memberikan efek perlindungan dan regeneratif setelah terjadinya trauma. Pemberian BDNF secara *in vivo* terbukti dapat menyelamatkan berbagai jenis neuron dari iskemia, trauma dan kondisi toksik. *Brain-derived neurotropic factor* (BDNF) dapat mengurangi apoptosis neuron dengan meningkatkan ekspresi protein anti apoptosis Bcl-2 dan menghambat kelebihan kalsium intraseluler. Selain itu juga berperan dalam penghambatan aktivitas Caspase-3 setelah berikatan dengan reseptor *Tropomyosin receptor kinase B* (TrkB). Caspase-3 adalah salah satu kunci eksekusi apoptosis yang bertanggung jawab baik sebagian atau seluruhnya untuk pembelahan proteolitik dari banyak protein kunci dalam proses apoptosis.<sup>9,10,11</sup>

Pengobatan neuropati optik traumatika sampai saat ini masih kontroversial. *International Optic Nerve Trauma Study* (IONTS) menganalisis 133 kasus NOT yang diobati dengan kortikosteroid, dekompresi bedah dan observasi. Dalam penelitian tersebut didapatkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan pada tajam penglihatan antara ketiga kelompok. Beberapa bukti

klinis lain yang mendukung efektivitas terapi kortikosteroid/operasi dekompresi menimbulkan pertanyaan tentang efisiensi terapi untuk meningkatkan hasil visual. Belakangan ini, studi eksperimental *laboratory setting* menghasilkan banyak informasi yang berkaitan dengan terapi proteksi, pencegahan apoptosis dan regenerasi sel ganglion retina yang menunjukkan harapan pengembangan penanganan yang efektif untuk trauma saraf optik.<sup>12</sup>

Studi longitudinal oleh Kanamori et al menemukan bahwa terjadi penurunan ketebalan lapisan saraf sel ganglion pada dua minggu setelah trauma dan menetap sampai 20 minggu. Penanganan trauma saraf optik pada *golden period* tersebut diperlukan untuk mengembalikan stabilitas retina dan visual setelah terjadinya trauma.<sup>13</sup>

Asam valproat (VPA) adalah salah satu obat yang sering digunakan sebagai antiepilepsi. Secara global, sekitar satu juta orang mengonsumsi VPA setiap hari. Analisis elektrofisiologi *in vivo* menunjukkan bahwa gangguan penglihatan dapat dicegah pada retina yang diberi pengobatan asam valproat. Hal tersebut ditunjukkan secara histologi dan fungsional. Asam valproat dapat meningkatkan ekspresi BDNF pada sel glial Muller yang memiliki efek neurotropik dan neuroprotektif. Asam valproat juga dapat menekan stress oksidatif yang disebabkan NMDA pada retina. Temuan tersebut dapat menguatkan kemungkinan penggunaan VPA secara luas sebagai agen anti-apoptosis dan neuroprotektor.<sup>14</sup>

Penelitian sebelumnya mengenai pengaruh pemberian asam valproat sebagai agen neuroprotektor telah banyak diteliti pada kasus-kasus

neurodegeneratif. Namun, penelitian pengaruh asam valproat pada kasus neuropati optik traumatika belum pernah diteliti. Efek obat ini diharapkan dapat bekerja pada beberapa mekanisme yaitu sebagai anti-apoptosis, anti-oksidan dan neuroprotektor sehingga dapat dijadikan alternatif ataupun *adjuvant* pada penanganan neuropati optik traumatika. Penelitian terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina tikus model NOT masih sangat terbatas. Oleh karena itu, peneliti merasa perlu melakukan penelitian mengenai pengaruh asam valproat terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina pada tikus model neuropati optik traumatika.

## **1.2. Rumusan Masalah**

### **1.2.1 Rumusan Masalah Umum**

Apakah terdapat pengaruh pemberian asam valproat oral terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina pada tikus model neuropati optik traumatika?

### **1.2.2. Rumusan Masalah Khusus**

1. Apakah ekspresi BDNF lebih tinggi pada kelompok tikus model neuropati optik traumatika yang diberikan asam valproat oral dibandingkan dengan kelompok kontrol?
2. Apakah densitas sel ganglion retina lebih tinggi pada tikus model neuropati optik traumatika yang diberikan asam valproat oral dibandingkan dengan kelompok kontrol?

3. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi BDNF dengan densitas sel ganglion retina pada tikus model neuropati optik traumatika yang diberikan asam valproat oral?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Tujuan umum penelitian adalah membuktikan pengaruh pemberian asam valproat oral terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina pada tikus model neuropati optik traumatika.

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Menganalisis ekspresi BDNF tikus model neuropati optik traumatika yang diberikan asam valproat oral dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Menganalisis densitas sel ganglion retina tikus model neuropati optik traumatika yang diberikan asam valproat oral dibandingkan dengan kelompok kontrol.
3. Menganalisis hubungan antara ekspresi BDNF dengan densitas sel ganglion retina tikus model neuropati optik traumatika yang diberikan asam valproat oral.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1. Manfaat untuk Ilmu Pengetahuan**

Memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian asam valproat oral terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina pada tikus model neuropati optik traumatika.

### **1.4.2. Manfaat bagi Pelayanan Kesehatan**

Hasil penelitian ilmiah ini diharapkan dapat:

1. Memberikan dasar ilmiah mengenai potensi asam valproat terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina pada tikus *Sprague-Dawley* model neuropati optik traumatika.
2. Melengkapi data terkait potensi neurotropin dan anti-apoptosis asam valproat pada kondisi neuropati optik traumatika.
3. Sebagai pertimbangan pemberian asam valproat sebagai terapi *adjuvant* pada kondisi trauma (dalam penelitian ini dalam kondisi neuropati optik traumatika), namun masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

### **1.4.3. Manfaat bagi Penelitian Selanjutnya**

Sebagai dasar pengembangan untuk penelitian selanjutnya tentang pengaruh asam valproat terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina tikus *Sprague-Dawley* model neuropati optik traumatika.

## 1.5. Orisinalitas Penelitian

Berdasarkan penelusuran pustaka, belum ada penelitian tentang pengaruh pemberian asam valproat terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina pada tikus *Sprague-Dawley* model neuropati optik traumatika. Beberapa penelitian yang menyerupai penelitian ini yang menghubungkan antara pemberian asam valproat dengan ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina ditampilkan pada tabel 1.

**Tabel 1.** Penelitian sebelumnya yang berhubungan dengan penelitian ini

No.	Peneliti, Judul, Nama Jurnal, Tahun	Tujuan Penelitian	Desain dan Subjek Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Biermann J et al. <sup>15</sup> <i>Valproic Acid-Mediated Neuroprotection and Regeneration in Injured Retinal Ganglion Cells</i> <i>Investigative Ophthalmology and Visual Science (2010)</i>	Meneliti potensi asam valproat dalam mencegah kematian RGC dan meningkatkan regenerasi aksonal setelah trauma saraf optik	Studi eksperimental Tikus model NOT	Regenerasi akson pada RGC yang mengalami injuri lebih baik setelah diberikan VPA dibandingkan kontrol. Neuroproteksi dan neuroregenerasi yang dimediasi VPA disertai penurunan Caspase-3, induksi CREB dan aktivasi pERK 1/2
2.	Kimura A, et al. <sup>16</sup> <i>Valproic Acid Prevents NMDA-</i>	Meneliti efek neuroprotektif VPA pada pada model	Studi eksperimental	VPA menstimulasi peningkatan regulasi BDNF

	<i>Induced Retinal Ganglion Cell Death via Stimulating of Neuronal TrkB Receptor Signaling</i>	eksitotoksisitas NMDA yang menyerupai gambaran patologi pada glaukoma.	Tikus model eksitotoksisitas NMDA	pada sel glia Muller melalui sinyal reseptor TrkB. VPA menekan stress oksidatif yang diinduksi NMDA
	<i>Visual Research Project (2014)</i>			
3.	Ben Simon G.J et al. <sup>17</sup>  <i>Traumatic Optic Neuropathy in a Rat Model - The Effect of Traumatic Brain Injury (TBI) on Retinal Ganglion Cells (RGCs) Survival After Optic Nerve Crush, and the Role of Brain Derived Neurotrophin Factor (BDNF) in Immune Mediated Neuroprotection</i>	Mempelajari efek cedera otak terhadap RGC setelah trauma saraf optik dan mengevaluasi peran neurotropik BDNF sebagai neuroproteksi yang dimediasi imun	Studi eksperimental  Tikus model NOT setelah cedera otak	Cedera otak dapat menyebabkan perlindungan saraf yang dimediasi imun untuk menyelamatkan RGC yang sekarat. Efek neuroprotektif meningkat seiring peningkatan BDNF
	<i>Investigative Ophthalmology &amp; Visual Science May 2005</i>			
4.	Kathleen Heng et al. <sup>18</sup>  <i>BDNF and cAMP Promote Retinal Ganglion Cell Survival and Function in a Porcine Model of Traumatic Optic Neuropathy</i>	Menguji hipotesis bahwa BDNF dan cAMP Bersama-sama meningkatkan RGC survival pada model babi NOT	Studi eksperimental  Babi model NOT	Pada pemeriksaan imunofluoresensi menunjukkan peningkatan RGC dan akson survival pada retina yang

Kebaruan penelitian ini adalah penelitian ini menilai pengaruh pemberian asam valproat oral terhadap ekspresi BDNF dan densitas sel ganglion retina tikus model neuropati optik traumatika.

Perbedaan dengan penelitian sebelumnya adalah:

1. Penelitian sebelumnya menyelidiki apakah VPA mencegah kematian RGC dan meningkatkan regenerasi axon setelah trauma saraf optik. Mekanisme trauma secara langsung dengan menjepit saraf optik selama 10 detik. Asam valproat diberikan secara subkutan atau intravitreal dengan dosis 300 mg/kgBB. Variabel yang diperiksa yaitu densitas RGC, akson RGC, caspase-3, CREB, *histone-deacetylase*, dan pERK1/2. Pada penelitian ini, asam valproat yang digunakan adalah per oral dengan konversi dosis 15 mg. Sediaan VPA injeksi saat ini belum ada di Indonesia, sehingga peneliti ingin menggunakan VPA per oral yang banyak digunakan secara luas di bidang medis terutama pada kasus-kasus neurodegeneratif. Perbedaan lain yaitu lama penjepitan saraf optik selama 3 detik, karena pada penjepitan selama 10 detik menyebabkan kerusakan *irreversible* pada seluruh akson. Perhitungan RGC pada penelitian sebelumnya juga dilakukan secara *in vitro* dengan menghitung pertumbuhan akson retina pada media tanam.
2. Penelitian sebelumnya menyelidiki apakah VPA dapat melindungi RGC dari kerusakan eksitotoksistas dengan menggunakan tikus model eksitotoksistas

NMDA. Variabel yang diperiksa yaitu ketebalan rata-rata kompleks sel ganglion. RGC diperiksa secara *in vivo* dengan menggunakan SD-OCT dan elektroretinografi multifocal. Variabel lain yaitu BDNF dihitung secara kuantitatif menggunakan *real time*-PCR. Penelitian ini menggunakan tikus model NOT, untuk perhitungan densitas RGC dengan pemeriksaan histopatologi sedangkan BDNF secara imunohistokimia

3. Penelitian sebelumnya mempelajari efek cedera kepala terhadap RGC *survival* setelah trauma saraf optik. Trauma saraf optik terjadi beberapa saat setelah cedera kepala. RGC dan BDNF diperiksa 2 minggu setelah trauma dengan perlakuan pemberian metil prednisolone sebagai neuroprotektor. Pada penelitian ini, perlakuan dengan pemberian asam valproat oral yang sebelumnya juga sudah banyak diteliti dan berperan di bidang neurologi.
4. Penelitian sebelumnya meneliti RGC axon *survival* dan regenerasi axon pada babi model trauma saraf optik dengan perlakuan pemberian BDNF dan CPT-cAMP intravitreal. Hasil penelitian menunjukkan pemberian BDNF dan cAMP meningkatkan keluaran fungsional dan histologi RGC dimana kombinasi keduanya merupakan neuroprotektor penting setelah terjadi trauma saraf optik. Pada penelitian neuroprotektor yang diberikan adalah asam valproate dan model hewan coba menggunakan tikus *Sprague-Dawley*.