

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Glaukoma merupakan neuropati optik progresif yang ditandai dengan hilangnya *Retinal Ganglion Cell* (RGC) dan kelainan lapang pandang yang khas. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan pada tahun 2010 terdapat 3,2 juta jiwa mengalami kebutaan akibat glaukoma. Berdasarkan *Rapid Assesment of Avoidable Blindness* (RAAB) pada tahun 2014, glaukoma menjadi penyebab kebutaan kelima terbanyak di Indonesia sebesar 2,5% dari seluruh angka kebutaan. Glaukoma menyebabkan 42% kebutaan pada kedua mata. Tham *et al* menyatakan pada kelompok umur 40-80 tahun diperkirakan akan terus meningkat menjadi 76 juta jiwa pada tahun 2020 dan 111,8 juta jiwa pada tahun 2040. Saat ini glaukoma dianggap sebagai penyebab utama kebutaan permanen di seluruh dunia. Jika dibandingkan dengan angka kebutaan akibat katarak, angka kebutaan akibat glaukoma lebih kecil, namun kebutaan akibat glaukoma bersifat *irreversible*, sehingga menyebabkan permasalahan yang lebih besar dibandingkan dengan katarak. Pencegahan, deteksi dini dan penanganan secara efektif diperlukan untuk mencegah terjadinya kebutaan. Patogenesis glukoma bersifat multifaktorial. Penurunan penglihatan pada glaukoma disebabkan oleh kematian RGC. Tekanan intra okular (TIO) dan faktor seluler yang berhubungan dengan stres oksidatif dan iskemik dipercaya mengambil peran penting dalam kerusakan RGC.<sup>1-3</sup>

Kerusakan RGC bukan hanya disebabkan oleh peningkatan TIO namun faktor seluler yang berhubungan dengan stres oksidatif dan iskemik dipercaya mengambil peran penting dalam kerusakan RGC. Studi terbaru menunjukkan bahwa penurunan TIO tidak selalu mencegah hilangnya RGC dan neuropati optik. Progresifitas dapat berlanjut meskipun terjadi penurunan TIO secara efektif.<sup>4</sup> Sebuah penelitian di *Mayo Clinic* menunjukkan bahwa pasien glaukoma yang sudah dilakukan terapi tetap memiliki risiko kebutaan unilateral sebesar 27% dan 9% kebutaan bilateral dalam 20 tahun.<sup>5</sup> Studi lain dari *Early Manifest Glaucoma Trial* (EMGT) menunjukkan pada kasus glaukoma ringan-sedang yang baru didiagnosis dan dilakukan intervensi penurunan TIO sebesar 25% tetap terlihat adanya progresifitas sebesar 45% dalam 5 tahun.<sup>6</sup> Beberapa mekanisme diduga bertanggung jawab atas kematian RGC pada glaukoma, diantaranya apoptosis, inflamasi, dan eksitotoksisitas. Hilangnya faktor neurotropik, peningkatan konsentrasi asam amino eksitatori, seperti glutamat dan stres oksidatif dapat berkontribusi pada apoptosis RGC.<sup>7</sup> Glutamat merupakan asam amino esensial yang terletak hampir di semua sel dan diketahui berperan penting sebagai neurotransmitter eksitatori utama di sistem saraf pusat dan retina. Eksitotoksisitas di retina dianggap sebagai komponen penting dari terjadinya iskemia, dimana iskemia nervus optikus dihasilkan akibat blokade reseptor glutamat. Oleh karena itu, iskemia dan eksitotoksisitas menjadi salah satu komponen yang berperan dalam patogenesis penyebab glaukoma. Efek glutamat di mediasi oleh beberapa reseptor ionotropik dan di antara reseptor glutamat, reseptor *N-*

*Methyl-D-Aspartate* (NMDA) merupakan *ligand-gated ion channels* yang dapat memediasi transmisi sinaptik secara cepat pada glutamat dan berperan dalam kematian sel.<sup>8</sup>

Model glaukoma dengan induksi NMDA telah terbukti sebagai mekanisme kematian RGC pada patogenesis glaukoma non mekanis, dimana dosis berlebihan NMDA diketahui mampu menyebabkan stress oksidatif seluler dan terbukti menginduksi apoptosis RGC dan sel amakrin. Penelitian Kuehn *et al* (2017) menyatakan NMDA menyebabkan terjadinya peningkatan kadar kalsium intraseluler yang menyebabkan mekanisme kematian sel melalui aktivasi apoptosis intrinsik, seperti *caspase 3*, *bax*, *bcl-2*. Selain itu, NMDA juga secara langsung mengaktifkan mikroglia dengan cara inflamasi yang akan menambah kerusakan dari RGC.<sup>9</sup> Penelitian Nakazawa *et al* (2005) menunjukkan salah satu mekanisme kritis kematian RGC dengan induksi NMDA di retina tikus juga diatur oleh aktivasi *Phosphatase Protein* (PP) spesifik dan defosforilasi Akt, NMDA akan mengikat reseptor NMDA sehingga kadar kalsium intraseluler meningkat yang menyebabkan apoptosis sel.<sup>10</sup> Penelitian Parisi Eva *et al* (2010) juga menyatakan injeksi NMDA dapat menginduksi penurunan kadar  $1\alpha$ -hidroksilase dan sintesis  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  melalui aktivasi jalur *mitogen-activated protein kinase* pada sel *Human Kidney-2*.<sup>11</sup> Injeksi intravitreal NMDA menyebabkan aktivasi kaspase-3, kerusakan *deoxyribonucleic acid* (DNA), perubahan struktural, apoptosis RGC dan merusak sel ganglion retina. Pada dosis yang lebih rendah, injeksi NMDA intravitreal akut dapat merusak *Ganglion Cell - Inner Plexiform*

*Layer* (GC-IPL) tanpa efek merusak pada lapisan retina lainnya. Pemeriksaan mikroskopis menunjukkan penipisan pada GC-IPL serta berkurangnya jumlah nukleus dalam *Ganglion cell layer* (GCL) pada semua kelompok yang diinjeksi NMDA. Neurotoksisitas yang *irreversible* pada RGC juga terbukti terjadi setelah 8 jam pemberian NMDA. Hilangnya *retinal ganglion cell* dan *inner plexiform layer* (IPL) sangat berkorelasi dengan hilangnya lapang pandang secara keseluruhan sehingga GC-IPL merupakan biomarker potensial untuk mengevaluasi perkembangan glaukoma pada pasien.<sup>12,13</sup>

Terapi medikamentosa, laser dan pembedahan pada glaukoma saat ini hanya bertujuan untuk mempertahankan fungsi penglihatan yang tersisa dan meningkatkan kualitas hidup dengan cara menurunkan tekanan intraokular (TIO). Dibutuhkan terapi neuroprotektif di bidang glaukoma sebagai salah satu intervensi untuk mencegah kematian RGC lebih lanjut dan penting sebagai pelengkap untuk pengobatan glaukoma. Beberapa senyawa alami dan sintetis, telah dilaporkan sebagai agen terapi neuroprotektif, dimana efeknya memberikan perlindungan langsung pada RGC.<sup>14,15</sup> Beberapa agen terapi neuroprotektif tersebut, yaitu memantine, *alpha 2 adrenergic agonists* seperti brimonidine, *calcium channel blocking agents*, *nitric oxide synthase inhibitor*, sitikolin, flavonoid, *curcumin*, *ginkgo biloba extract* dan Vitamin D.<sup>14,15</sup> Vitamin D merupakan vitamin yang larut dalam lemak yang dikenal dalam dua bentuk umumnya: Vitamin D3 (*cholecalciferol*) dan Vitamin D2 (*ergocalciferol*). Vitamin D3 dibuat di kulit sebagai respon terhadap paparan sinar Ultraviolet B (UVB). Vitamin D disintesis dari perubahan prekursor 7-

dehydrocholesterol di kulit menjadi vitamin D3 oleh sinar matahari UVB. Pada penelitian awal dimata tikus, kelinci, dan sel epitel kornea manusia menunjukkan terdapat ekspresi reseptor vitamin D dan enzim pengaktif vitamin D3, yaitu *1 $\alpha$ -hydroxylase* (CYP27B1). Ekspresi reseptor dan metabolit vitamin D juga terlihat pada sel fibroblas sklera, sel endotel kornea, vitreus, sel epitel pigmen retina dan *non-pigmented ciliary body epithelial cells*.<sup>16,17</sup>

Vitamin D telah digunakan sebagai neuroprotektif pada kelainan neurodegeneratif seperti *Alzheimer's disease* dan epilepsi. Penelitian tentang peran vitamin D pada mata juga banyak dilakukan pada kasus retinopati diabetika, dimana vitamin D terbukti memiliki efek sebagai antioksidan, antiapoptosis dan antiinflamasi sehingga dapat mempengaruhi ketebalan lapisan retina. Kalueff *et al* (2004) menunjukkan peran Vitamin D3 sebagai neuroprotektif pada sel saraf dengan mengurangi masuknya ion kalsium ke dalam sel saraf (*Calcium inflow*) serta meningkatkan kadar glutathion yang berperan mencegah stress oksidatif dan apoptosis.<sup>18</sup> Penelitian Robredo *et al* (2020) menyatakan peran vitamin D dalam perlindungan pada retina dan *retinal pigment epithelium* dari stress oksidatif, inflamasi dan apoptosis melalui penekanan mediator pro inflamasi, seperti Interleukin (IL)-6, IL-8, *Monocyte chemoattractant protein* (MCP)-1, Interferon (IFN)- $\gamma$ , dan *tumor necrosis factor* (TNF)- $\alpha$  serta juga berperan sebagai antioksidan dengan cara meningkatkan viabilitas sel, mengurangi produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan aktivitas *caspase 3*.<sup>19</sup>

Li Lu *et al* (2012) menunjukkan efek vitamin D pada perlindungan struktur retina di tikus Wistar model retinopati diabetik dengan cara menghambat apoptosis RGC dan menurunkan permeabilitas pembuluh darah retina melalui penurunan Rasio Bax atau Bcl-2.<sup>20</sup> Sebuah penelitian *cross-sectional* oleh Kim *et al* (2016) pada pasien dengan *Primary Open Angle Glaucoma* (POAG) melaporkan terdapatnya hubungan yang signifikan antara TIO, rasio *cup-to-disc* vertikal dan horizontal dengan kadar serum 25 (OH) D, dimana terbukti kadar serum 25 (OH) D secara signifikan lebih rendah pada kasus POAG stadium sedang sampai berat.<sup>21</sup>

Penggunaan hewan coba model glaukoma yang digunakan adalah tikus. Tikus memiliki anatomi dan perkembangan bilik mata depan, serta jalur aliran humor aquos yang serupa dengan manusia. Selain itu, tikus juga umum digunakan sebagai hewan model untuk menguji kondisi eksitotoksisitas pada saraf mata. Peningkatan TIO selama ini menjadi fokus utama manajemen glaukoma. Namun seiring dengan meningkatnya pengetahuan mengenai mekanisme patogenesis glaukoma. Glaukoma juga terbukti berkaitan dengan NMDA, dimana eksitotoksisitas yang dimediasi reseptor NMDA juga merupakan salah satu jalur terjadinya neuropati glaukoma. *N-methyl-D-Aspartate* terbukti dapat menginduksi apoptosis RGC dan secara mikroskopis menyebabkan penipisan ketebalan GC-IPL serta berkurangnya jumlah nukleus ganglion sel retina. Metode ini menurut literatur akan menyebabkan neurotoksisitas yang *irreversible* pada RGC setelah pemberian 8 jam.<sup>12,13</sup>

Vitamin D3 telah terbukti di beberapa penelitian mempunyai efek antioksidan, anti inflamasi dan antiapoptosis sehingga menimbulkan pertanyaan apakah vitamin D3 ini memiliki peran dalam hewan coba model glaukoma dengan induksi NMDA. Penelitian ini diharapkan dapat menilai pengaruh suplementasi vitamin D3 terhadap ketebalan GC-IPL pada tikus wistar model glaukoma dengan induksi NMDA. Sehingga vitamin D3 dapat dipertimbangkan untuk menjadi terapi pendamping pada glaukoma.

## **I.2. Rumusan Masalah**

Apakah GC-IPL lebih tebal pada tikus Wistar model glaukoma dengan induksi NMDA yang diberi suplementasi Vitamin D3 oral daripada kontrol?

## **I.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Membuktikan GC-IPL lebih tebal pada tikus Wistar model glaukoma dengan induksi NMDA yang diberi suplementasi Vitamin D3 oral daripada kontrol

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Memperoleh data ketebalan GC-IPL pada tikus Wistar model glaukoma dengan induksi NMDA dan diberikan suplementasi Vitamin D3 oral
2. Memperoleh data ketebalan GC-IPL pada tikus Wistar model glaukoma dengan induksi NMDA dan tidak diberikan suplementasi Vitamin D3 oral

3. Membandingkan dan menganalisis ketebalan GC-IPL pada tikus Wistar model glaukoma dengan induksi NMDA yang diberikan suplementasi Vitamin D3 oral dan yang tidak diberikan.

#### **I.4. Manfaat Penelitian**

##### **I.4.1. Manfaat bagi Ilmu Pengetahuan dan Penelitian**

1. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan data ilmiah mengenai pengaruh suplementasi Vitamin D3 oral terhadap pencegahan penipisan ketebalan GC-IPL tikus Wistar model glaukoma dengan induksi NMDA
2. Memberikan landasan ilmiah untuk penelitian selanjutnya tentang pengembangan dan pemanfaatan suplementasi Vitamin D3 untuk manusia di bidang Ilmu Kesehatan Mata.

##### **I.4.2. Manfaat bagi Klinisi**

Memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat suplementasi Vitamin D3 oral terhadap ketebalan GC-IPL sebagai pendamping obat anti glaukoma.

##### **I.4.3 Manfaat bagi Masyarakat**

Memberikan informasi mengenai potensi suplementasi Vitamin D3 oral terhadap kesehatan saraf mata



## I.5. Orisinalitas Penelitian

Upaya penelusuran pustaka telah dilakukan penulis dan tidak dijumpai adanya penelitian atau publikasi sebelumnya yang dapat menjawab permasalahan penelitian.

**Tabel 1.** Penelitian sebelumnya yang berhubungan dengan penelitian ini<sup>12</sup>,

19-21

No.	Peneliti, Judul Penelitian, Nama Jurnal, Tahun Terbit	Desain Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Lambuk <i>et al</i> , <i>Dose-dependent effects of NMDA on retinal and optic nerve morphology in rats</i> , Int J Ophthalmol, 2019	Studi eksperimental pada tikus model NMDA, menilai efek tergantung dosis dari NMDA pada morfologi retina dan saraf optik dengan menggunakan pewarnaan <i>toluidine blue</i> dan <i>hematoxylin eosin</i> , serta dilakukan uji TUNEL untuk mendeteksi sel apoptosis.	Pemberian NMDA secara intravitreal terkait dosis dapat menimbulkan kerusakan nervus optikus. NMDA menurunkan ketebalan <i>Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer</i> (GC-IPL) dan menurunkan jumlah RGC. <sup>12</sup>
2.	Kim <i>et al</i> , <i>The Relationship between Vitamin D and Glaucoma: A Kangbuk Samsung Health Study</i> ,	Studi <i>retrospective cross-sectional</i> pada pasien glaukoma, menilai hubungan vitamin D dengan	Tingkat 25(OH)D rendah berhubungan secara signifikan dengan peningkatan risiko glaukoma. <sup>21</sup>

	Korean J Ophthalmol, 2016	glaukoma, dilakukan pengambilan sampel darah pada pasien glaukoma dan diukur kadar serum 25-hidroksivitamin D (25(OH)D)	
3.	Li Lu <i>et al</i> , <i>Vitamin D3 Protects against Diabetic Retinopathy by Inhibiting High-Glucose-Induced Activation of the ROS/TXNIP/NLRP3 Inflammasome Pathway</i> , Journal of Diabetes Research, 2018	Studi eksperimental pada Tikus model Diabetes, untuk menilai mekanisme yang mendasari efek 1,25-dihidroksivitamin D (Vitamin D3) pada kerusakan pembuluh darah retina yang diinduksi diabetes dan apoptosis sel endotel pembuluh darah retina dengan menggunakan pewarnaan fluoresensi dan protein diperiksa dengan menggunakan Western blotting	Vitamin D3 menurunkan ROS yang diinduksi diabetes dan memberikan efek perlindungan terhadap kerusakan vaskular retina dan apoptosis sel pada retinopati diabetika melalui penghambatan jalur inflamasi ROS / TXNIP / NLRP3. <sup>20</sup>
4.	Fernandez-Robredo P <i>et al</i> , <i>Vitamin D Protects against Oxidative Stress and Inflammation in Human</i>	Studi eksperimental, mengevaluasi secara <i>in vitro</i> dari jalur molekuler dimana vitamin D dapat mengatasi stres	Vitamin D secara efektif melawan stres oksidatif yang disebabkan oleh hidrogen peroksida (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ). Selain itu, peningkatan kadar protein proinflamasi seperti Interleukin (IL) -6, IL-8, <i>Monocyte</i>

*Retinal Cells, Antioxidants, 2020*

oksidatif pada epitel pigmen retina dewasa (ARPE-19) dan *human retinal endothelial cell lines* (HREC), dengan fokus pada efek antioksidan dan anti-inflamasinya pada integritas sel, stres oksidatif, dan pelepasan sitokin.

*chemoattractant protein (MCP) -1*, Interferon (IFN), dan *tumor necrosis factor (TNF) α* yang dipicu oleh lipopolisakarida. Paparan lipopolisakarida terbukti menurun secara signifikan dengan pemberian Vitamin D.<sup>19</sup>

---

Perbedaan penelitian yang akan dilakukan dengan penelitian sebelumnya adalah penelitian ini secara spesifik akan menilai secara langsung peran suplementasi Vitamin D3 oral terhadap ketebalan GC-IPL pada tikus Wistar dengan induksi NMDA, dimana pada penelitian sebelumnya belum ada yang menilai secara spesifik antara hubungan Vitamin D3 dengan ketebalan GC-IPL pada tikus Wistar dengan induksi NMDA. Penelitian ini merupakan suatu studi eksperimental, dimana akan meneliti dan mengukur data kuantitatif ketebalan GC-IPL dengan dan tanpa suplementasi Vitamin D3 oral, serta membandingkan data kuantitatif ketebalan GC-IPL antara yang diberikan dengan yang tidak diberikan suplementasi Vitamin D3 oral pada tikus wistar model glaukoma dengan induksi NMDA.

Penelitian-penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa peningkatan jumlah reseptor NMDA menyebabkan penurunan sintesis Vitamin D. Pemberian NMDA secara intravitreal terkait dosis juga dapat menimbulkan kerusakan nervus optikus, menurunkan ketebalan GC-IPL dan jumlah RGC. Hal ini dapat mendukung

adanya hubungan penurunan serum Vitamin D dalam darah dengan meningkatnya kasus glaukoma.<sup>11,12,21</sup> Terdapat pula penelitian Vitamin D yang terbukti memiliki efek neuroprotektif, antiinflamasi dan antioksidan yang mempengaruhi lapisan sel ganglion dan ketebalan retina pada retinopati diabetika.<sup>19,20</sup> Namun, penelitian yang mengkaji peran Vitamin D3 sebagai neuroprotektif, anti inflamasi dan antioksidan terhadap ketebalan GC-IPL pada glaukoma masih terbatas. Oleh sebab itu, Rancangan penelitian diajukan untuk menguji potensi suplementasi Vitamin D3 sebagai agen neuroprotektif terhadap glaukoma akibat kerusakan RGC pada tikus model glaukoma dengan induksi NMDA sangat diperlukan.

Penelitian ini menggunakan desain studi eksperimental dengan rancangan *post-test only randomized controlled group design*. Penelitian akan mengamati dan menganalisis pengaruh suplementasi Vitamin D3 oral pada ketebalan GC-IPL retina tikus Wistar dengan induksi NMDA pada kelompok yang diberi suplementasi Vitamin D3 oral dengan dosis 500 IU/KgBB/24 jam dibandingkan dengan kelompok plasebo.