

DISERTASI

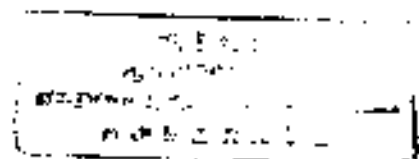
**PERAN
TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β DAN NITRIC OXIDE
TERHADAP TIMBULNYA APOPTOSIS DAN NEKROSIS
JARINGAN TRABECULAR MESHWORK
PENDERITA GLAUKOMA SUDUT TERTUTUP PRIMER**

OBSERVASI KLINIS DAN PENELITIAN BIOLOGI MOLEKULER
UNTUK MENJELASKAN
PATOGENESIS GLAUKOMA SUDUT TERTUTUP PRIMER *CREEPING*



ADELEIN NANNERL WITRYA HOETARJO - PAKASI

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2005**



**PERAN
TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β DAN NITRIC OXIDE
TERHADAP TIMBULNYA APOPTOSIS DAN NEKROSIS
JARINGAN TRABECULAR MESHWORK
PENDERITA GLAUKOMA SUDUT TERTUTUP PRIMER**

**OBSERVASI KLINIS DAN PENELITIAN BIOLOGI MOLEKULER
UNTUK MENJELASKAN
PATOGENESIS GLAUKOMA SUDUT TERTUTUP PRIMER**

DISERTASI

Untuk memperoleh gelar Doktor
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga
Dipertahankan pada hari Rabu, 21 Desember 2005
di hadapan Panitia Ujian Doktor Terbuka

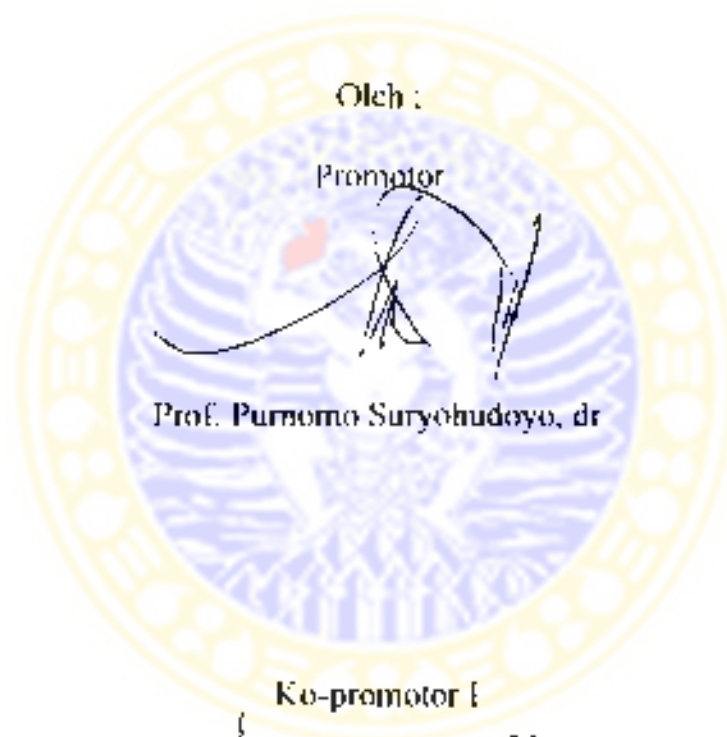
Oleh :

**ADELEIN NANNERL WITRYA HOETARJO - PAKASI
NIM 099813101D**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

Lembar pengesahan

NASKAH DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 2 DESEMBER 2005

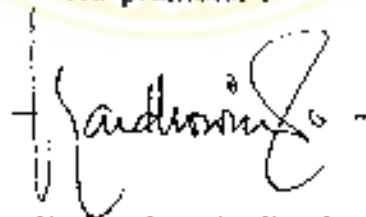


Oleh :

Promotor

Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr

Ko-promotor I



Dr. Tjahjono D. Gondhowiardjo, dr., SpM(K)

Telah diuji pada Ujian Doktor Tahap I
Tanggal : 25 Oktober 2005

PANITIA PENGUJI DISERTASI

Ketua : 1. Prof. Retno Handayani, dr., MS., PhD

Anggota : 2. Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr

3. Dr. Tjahjono D. Gonthowiardjo, dr., SpM(K)

4. Prof. Dr. Ganfira, dr., SpM

5. Prof. Kuntoro, dr., MPHIG., DrPH

6. Prof. Wisnujono Soewono, dr., SpM(K)

7. Widya Asmara, drh., MSc., PhD



**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga**

**Nomor : 8811/JO3/PP.2005
Tanggal : 14 Nopember 2005**

Promotor : (alm) Prof. M.N.E.Gumansalangi, dr., SpM(K)

Ko-promotor I : Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr

Ko-promotor II : Dr. Ujabjono D. Gondhowiandjo, dr., SpM(K)



**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga**

**Nomor: 7521 / J03 / PP / 2005
Tanggal : 23 September 2005**

Promotor : Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr

Ko-promotor I : Dr. Tjahjono D. Gondhowiardjo, dr., SpM(K)



**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga**

**Nomor: 8811 / JO3 / PP / 2005
Tanggal: 14 Nopember 2005**

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur yang tak terhingga saya panjatkan ke hadirat Tuhan Allah Yang Maha Pengasih dan Maha penyayang, atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga akhirnya saya dapat menyelesaikan disertasi ini. Proses pendidikan yang baru saja saya alami ternyata telah makin mematangkan diri saya dan saya patut bersyukur lagi karena dengan demikian saya menjadi makin percaya diri dan makin mantap melaksanakan tugas saya sehari-hari sebagai dosen dan sebagai seorang dokter mata.

Dengan selesainya penelitian ini saya ingin menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya serta rasa hormat kepada alm Prof. Els Gumansalangi, dr. Sp.M(K); Guru Besar dalam bidang Ilmu Penyakit Mata (spesialisasi Glaukoma) atas kesediaannya sebagai promotor. Dengan kesabarannya serta penuh perhatian dan pengernan beliau telah membimbing dan selalu memberikan dorongan pada saya. Pengalaman beliau yang amat luas dan dalam di bidang glaukoma telah sangat membantu saya meratakan jalan melaksakan penelitian. Amat disayangkan bahwa beliau tidak sempat memotivasi saya mencapai titik akhir penyelesaian disertasi ini, tetapi di samping Tuhan YME beliau pasti tahu dan bangga bahwa saya akhirnya dapat menyelesaikan disertasi ini.

Rasa hormat, terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan pula kepada Prof. Pumomo Saryohudoyo, dr., Guru Besar dalam bidang Biokimia dan Biologi Molekuler; sebagai Ko-Promotor I dan selanjutnya menjadi Promotor (sehubungan dengan berpulangnya Prof. Gumansalangi). Semenjak saya menjadi mahasiswa beliau di usia belasan tahun pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, sehingga menjadi mahasiswa lagi pada usia lebih dari setengah abad di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga; beliau masih tetap guru yang baik dan *care*, penasihat yang siap sewaktu-waktu (juga melalui telepon), bahkan teman yang penuh pengertian. Pengalaman berpuluh tahun beliau dalam bidang Biokimia dan Biologi Molekuler mempermudah saya sebagai seorang klinisi menyerap ilmu Biologi Molekuler yang sebenarnya sangat asing bagi saya, saat saya mulai menempuh pendidikan di Program Pasca Sarjana ini. Ketika secara mendadak Prof. MNE Gumansalangi meninggalkan kami di saat ujian, maka Prof. Pumomo dapat dengan arif menunjukkan pada saya untuk tetap tenang dan tekun menyelesaikan disertasi ini.

Kepada Dr. Tjahjono D Gondhowiardjo, SpM, PhD sebagai Ko-Promotor II saya sampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya atas kesediaan beliau membantu dan membimbing sekaligus mendorong saya. Dr. Tjahjono, seorang ilmuwan muda yang rendah hati dengan segudang prestasi nasional maupun internasional. Beliau amat sibuk menolong begitu banyak teman-teman saya yang juga ingin menyelesaikan Program Pasca Sarjana masing-masing, namun dalam kesibukan yang amat besar serta menyita waktu itu, apabila saya menilpon meminta waktu untuk konsultasi, beliau selalu mempunyai waktu untuk saya

Dengan selesainya disertasi ini perkenankanlah saya menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada . Rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. Med. H. Puruhito, dr., SpBTKV serta mantan Rektor Prof. H. Soedarto, dr., DTM&H, PhD., yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti Program Doktor di Universitas Airlangga. Saya sampaikan pula ucapan terima kasih ini kepada Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Prof. Dr. H. Moh. Arun. dr., SpP(K) dan mantan Direktur Program Pasca Sarjana Universtas Airlangga Prof. Dr. Soedijono.dr. SpTHT. ; yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk mengikuti pendidikan Program Doktor di Universitas Airlangga.

Selanjutnya rasa terima kasih saya sampaikan juga kepada Prof. Dr. Laba Mahaputra, drh., MSc. Wakil Direktur Program Pasa Sarjana Universitas Airlangga; Prof. Dr. Mandoyo Rukmo, drg., MSc., SpG., Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, serta Prof. Dr.Hj. Juliati Hood Assegaff, dr., MS., SpPA., FIAC., mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga atas pengarahan, nasihat dan dorongan yang di berikan selama saya menempuh program Doktor ini.

Terima kasih saya yang sebesar-besarnya saya sampaikan kepada pada Guru Besar dan penguji lainnya. Suasana ujian Kelayakan dan ujian Tertutup Tahap I amat tenang dan kondusif, sehingga saya amat tenang menghadapi semua pertanyaan yang di berikan pada saya. Beliau semua adalah Prof. Retno Handayani. dr., Msc., PhD; Prof. Dr. Gantira. dr., SpMIK); Bpk. Widya Asmara, drh., MSc., PhD; Prof. Kuntoro, dr., MPh . DrPH dan Prof. Wisnujono , dr., SpM(K). Saya tidak saja menghadapi sebuah ujian, ternyata saya juga belajar amat banyak dalam dua kesempatan itu.

Penelitian ini tidak akan pernah ada tanpa hadirnya penderita Glaukoma. Untuk itu saya amat berterima kasih pada mereka yang memungkinkan saya mengerjakan penelitian ini. Bantuan para penderita glaukoma tersebut akan merupakan jalan bagi para penderita glaukoma lainnya untuk memperoleh perbaikan atas kelainan yang di deritanya

Dengan selesainya disertasi ini perkenankan saya menyampaikan juga rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Rektor Universitas Brawijaya, Prof. Dr. H. Bambang Guritno, Ir dan mantan Rektor Universitas Brawijaya, Prof. Dr. H. Eka Afnan Troena, SE, atas ijin, dorongan dan semangat yang di berikan beliau berdua selama saya menempuh pendidikan di Program Doktor ini.

Kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, H. Hariyanto, dr. MSPH, dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Achmad Rudianto, dr., SpPD., KEMD, Pembantu Dekan I Prof. Dr. Muljohadi Ali, dr., MS., SpFK dan mantan Dekan I Hj. Hariyah Mahdi, Dr., Sp.M.; Pembantu Dekan II, H. Samsul Islam, dr., MKes., dan Pembantu Dekan III, H. Sri Poeranto, dr., MKes., SpParK., saya ucapkan terima kasih atas kesempatan dan dorongan untuk mengikuti pendidikan Program Doktor di Universitas Airlangga.

Ungkapan terima kasih juga ingin saya berikan kepada Kepala Laboratorium Medik Universitas Brawijaya Prof. Dr. H. Muljohadi Ali, dr., SpFK atas ijin yang di berikan kepada saya untuk menggunakan fasilitas laboratorium yang beliau pimpin. Begitu juga rasa terima kasih yang seluruhnya saya sampaikan kepada sejawat di Laboratorium Medik Universitas Brawijaya : Dr. I.G. Ketut Muliarta, dr., SpPA, Wibi Riawan, SSi., dan anggota staf Biomedik lainnya, sdr. Ucik yang dengan penuh kesabaran dan ketekunan menggunakan ketrampilannya membantu saya mulai dari mempersiapkan spesimen untuk penelitian, pengecatan, dan penghitungan sel-sel.

Terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya saya sampaikan pula kepada segenap dosen pembimbing di program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr., Prof Bambang Rabino Setokoesoemo, dr., Prof. Dr. P.G. Konthen, SpPD., Prof Eddy Pranowo Soedihyo, dr., MPH (alm.), Prof. Soetandyo Wignyosoebroto, MPA., Prof. Dr. Koento Wibisono Siswomihardjo, ; Prof. Dr. H.J. Glinka, SVD., Prof. Dr A. Zainuddin, Drs., Apt., Prof. Dr. Samanah, drh., MS.; Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., MS.; Widodo J. Pujihardjo, dr., MS., MPH., DrPH.; Dr FM Yudayana dr., MS., Dr Iwan Setiabudi, dr., SpPK, Prof. Siti Pariani, dr., MPH.,

PhD.; Prof. Dr. L. Dison Drs., MA., Prof. Dr. Kuntoro, dr. MPH. dan dr H. Fuad Amsyari, MPH., PhD.

Kepada Prof. D. Ma'rifin Husin, dr., MSc., SpFK, guru besar dalam bidang Farmakologi saya sampaikan penghargaan dan terima kasih tak terhingga atas kepeduliannya pada nasib saya yang merasa gelisah pada awal pendidikan. Dorongan, semangat dan nasihat yang saya peroleh dari beliau merupakan air penyejuk yang membuat saya tegar menyelesaikan pendidikan Doktor ini.

Kepada Prof. H. Sutiman Bambang Sunitro Drs., MS, DSc. saya sampaikan terima kasih sebesar-besarnya atas masukan-masukannya ketika saya memulai penelitian ini.

Kepada Dr. Sofimut, Jr., dan Drs. Yupono Msi, saya ucapkan terima kasih terima kasih tak terhingga atas bantuannya untuk analisis hasil penelitian ketika saya menyelesaikan penelitian ini. Sebagai dosen dengan begitu banyak mahasiswa bimbingan, bahkan sampai ke berbagai propinsi lain di Indonesia, ternyata bapak-bapak masih dapat memberikan waktu untuk saya.

Kepada Direktur RS Dr. Saiful Anwar Malang, H. Pawik Supriadi, dr. SpPD dan mantan Direktur RSSA Malang, Aman Ardjito Endarso, dr. MPH; saya sampaikan terima kasih saya yang sebesar-besarnya atas perhatian dan pengertiannya.

Ungkapan terima kasih saya sampaikan kepada mantan Kepala Laboratorium Ilmu Penyakit Mata Universitas Brawijaya, H. Retnaniadi, dr., SpM., dan Kepala Kepala Laboratorium Ilmu Penyakit Mata Universitas Brawijaya, H. Safarudin Refa, dr., SpM., serta semua teman sejawat di Laboratorium Ilmu Penyakit Mata atas pengertian dan kesempatan yang di berikan kepada saya untuk meninggalkan tugas-tugas di Laboratorium terutama pada akhir pendidikan saya.

Kepada teman-teman *homék* sekelas yang AREMA, teman-teman G-15 peserta Program Doktor di Universitas Airlangga dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, saya sampaikan terima kasih dan sayang kepada kalian semua yang telah menganggap saya sebagai *mahakny*. Sebagai kolega yang paling tua dalam grup, saya malu telah tertinggal amat jauh dari kalian semua dalam menyelesaikan Program Doktor ini. Teman-teman tercinta, Dr. H.M.Soemarmo, dr., SpB-KBD; Dr.H. Respati Suryanto Drjati, dr. SpOT. Prof. Dr. H. Sananto Santoso, dr, DTM&H, SpMK; Prof. Dr. H. Moh. Hidayat, dr, SpOT, FICS, Dr. H. Noorhandani AS, dr, DMM, SpMK; Dr. H. Djoni Djunaedi, dr, SpPD, KTI, Dr. H.M.Istiadjid ES, dr. SpS, SpBS; Dr.H. Abiyoso,dr. SpP(K); Dr. H. Bambang Pardjianto, dr. SpB; Dr. HMS Chandra Kusuma, dr, SpA(K);

Dr. Teguh Wahyu Sardjono, dr DTM&JL, Sp ParK; Dr. H. Hari Bagianto, dr.SpAn, KIC, Dr H Achdiat Agoes, dr, SpS dan Dr. H. Mardhani YS, dr. SpA., dengan kalian semua saya memperoleh kehidupan yang ceria dan segar yang mengurangi *stress* menghadapi segala kesulitan dalam belajar. Maklum kita semua *bonek* yang telah berani keluar dari "zona kenyamanan" untuk mengubah arah kehidupan pada usia yang tidak lagi muda. Sel otak kita sudah mulai tua dan sulit menerima pelajaran di bandingkan saat kita muda dulu, namun suasana indah dalam kebersamaan dengan kalian telah memudahkan semuanya sehingga semua dapat berjalan dengan baik

Rasa hormat, penghargaan dan terima kasih saya haturkan kepada kedua orang tua saya tercinta, almarhum ayahanda C.A Pakasi, MA, EdS dan almarhumah ibunda Prof. Dr. Soepartinah Pakasi, MA, EdS. ; yang selalu mendorong saya untuk terus belajar dan meraih gelar tertinggi dalam pendidikan. Ayah dan Ibu. ananda telah berhasil kini, sesuatu yang selalu anda berdua sarankan pada ananda untuk mencapainya. Mohon maaf, sebab baru kini dapat ananda persembahkan gelar ini pada usia yang tidak muda lagi. Anda berdua tidak sempat menyaksikan peristiwa ini secara langsung, tetapi saya tahu bahwa anda berdua puas karena saya telah mememudi jayu saya untuk "hersekolah" sampai tuntas, istilah yang selalu anda berdua sampaikan pada saya. Semoga Tuhan Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang memberikan tempat yang layak di sisiNya.

Kepada almarhum ayah mertua Bapak Hodojo Jan almarhum ibu mertua, Ibu Koesmah; saya sampaikan hormat, penghargaan dan terima kasih karena anda berdua penuh perhatian pada mantu yang banyak punya kemauan ini. Dengan penuh kesabaran anda berdua telah membuat saya dan stiani mempunyai ikatan yang teguh dalam mengarungi kehidupan yang penuh onak dan duri sekaligus mawar nan indah.

Akhirnya kepada suami tercinta, dr. Hoetarjo Soehadi, saya tidak tahu betapa besar hutang saya pada Bapak. Rasa hormat dan ungkapan terima kasih saya sampaikan, sekaligus bangga karena telah mampu memberikan ijin pada saya untuk menempuh pendidikan doktor pada usia saya yang tidak muda lagi. Saya patut meminta maaf karena seharusnya saya menemani Bapak pada usia pensiun ini, waktu yang seharusnya saya berikan untuk anda ternyata lebih banyak tersita untuk buku, makalah dan komputer saya serta untuk teman-teman diskusi saya.

Kepada anak-anak tercinta, dr. Nandia Primadina Sp.M dan suaminya Fajar Harry Sampurno SE, MBA, PhD; Dania Dwinandi SE, MM dan suaminya Mohammad Ridwan SE, MKIT, MBA serta Domi Trianda dan isterinya Eva Rully Kurniawati, Mama sampaikan terima kasih karena kalian selalu mendoakan Mama dan menyuntikkan semangat untuk bisa menyelesaikan pendidikan dengan segera. Juga kepada cucu-cucu Avi dan Tantri, Dzaky dan Diduc, serta Aby: yang selalu menanyakan "kapan Oma selesai sekolah"; kalian semua membuat Oma selalu bergairah, bersemangat untuk harus dapat menyelesaikan studi dengan cepat dan baik.

Kepada seluruh pegawai Administrasi baik di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya maupun di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga yang selalu membantu saya menyelesaikan segala urusan administratif sehubungan dengan pendidikan saya, saya sampaikan terima kasih yang tulus. Bantuan anda semua tidak secara langsung berhubungan dengan pendidikan saya, namun tanpa bantuan anda semua, urusan pendidikan saya juga tidak selesai.

Akhirnya kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah membantu saya selama masa pendidikan Doktor ini, saya sampaikan terima kasih yang setinggi-tingginya, semoga Tuhan yang Maha Kasih dan Maha Penyayang melimpahkan rahmatnya. Amin.

RINGKASAN

Peran Transforming Growth Factor- β dan Nitric Oxide terhadap timbulnya Apoptosis dan Nekrosis jaringan Trabecular Meshwork penderita Glaukoma Sudut Tertutup Primer.

Observasi klinis dan penelitian biomolekuler untuk menjelaskan patogenesis Glaukoma Sudut Tertutup Primer *Creeping*

Adelein Nannerl Witrya Hoetarjo-Pakasi

Glaukoma merupakan penyebab kebutaan nomor 2, baik di Indonesia maupun di dunia. Angka kebutaan yang tinggi ini disebabkan beberapa hal. Pertama adalah patogenesis kelainan yang belum dipahami dengan benar yang mengakibatkan penatalaksanaan yang tidak tepat. Kebutuhan akibat glaukoma juga disebabkan karena penanganan yang terlambat akibat ketidaktahuan penderita akan kelainan yang sedang dideritanya.

Terdapat dua jenis glaukoma di mana penderita sering mendapatkan penanganan yang terlambat. Pertama, Glaukoma Sudut Terbuka Primer (GSRP) yang menunjukkan perjalanan penyakit panjang, menahun dan progresif, yang terjadi akibat meningkatnya Tekanan Intra Okuli (TIO) yang perlahan. Penderita GSRP tidak pernah merasakan sakit ataupun menunjukkan tanda merah pada matanya karena kemampuan adaptasi yang dimiliki makhluk hidup. Adaptasi juga menyebabkan penderita tak sadar akan kekurangannya. Ketika defek lapang pandang sudah amat luas barulah penderita sadar namun saat itu kerusakan saraf optik yang ireversibel telah terjadi.

Penanganan terlambat juga dialami penderita Glaukoma Sudut Tertutup Primer (GSTP) *Creeping* pada mana TIO meningkat amat perlahan; keadaan ini janggal untuk sebuah sudut tertutup. Tujuan penelitian adalah untuk mengungkapkan kejadian ini dengan cara membandingkannya terhadap dua bentuk glaukoma yang juga terjadi pada sebuah sudut tertutup yaitu GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut.

GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut terjadi karena *pupillary block* yang dapat dengan mendadak menghambat aliran keluar cairan akuos dari dalam bola mata. Keluhan penderita amat tergantung pada cepat dan tingginya TIO meningkat.

Pada GSTP Akut Lanjut, TIO meningkat amat cepat dan tinggi, sehingga timbul rasa sakit hebat di mata di sertai perasaan mau sampai (mau) muntah. Ketajaman penglihatan menurun dengan cepat karena timbulnya edema kornea. Semua keadaan ini menyebabkan penderita segera mencari pertolongan dokter.

Pada GSTP Subakut, TIO meningkat mendadak hanya untuk waktu yang singkat dan menjadi normal kembali secara spontan. Keadaan ini dapat di bantu dengan cara penderita menekan bola matanya (karena rasa sakit), dan ternyata tindakan ini dapat membantu karena TIO menurun spontan. Tekanan di dalam bola mata dapat meningkat lagi secara mendadak, peristiwa ini terjadi berulang sehingga akhirnya terjadi juga kenaikan TIO yang terlalu tinggi yang dapat merusakkan saraf optik.

Pada GSTP *Creeping*, TIO meningkat amat perlahan (bertahun-tahun) tanpa pernah menimbulkan rasa sakit. Ketidak-tahuan penderita akan adanya sebuah kelainan pada matanya menyebabkannya terlalu sering datang pada stadium akhir penyakit. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kejadian ini di sebabkan *iris crowding* pada dasar sudut Bilik Depan Mata sehingga ruangan BMD menjadi sempit / dangkal dan terjadi aposisi iris terhadap bagian perifer kornea. Dalam jangka panjang akan timbul perlekatan yang akan makin membuat sudut sempit itu menjadi lebih sempit lagi. Penyempitan yang perlahan menimbulkan hambatan perlahan dan kenaikan TIO yang perlahan pula.

Meskipun tidak berbeda bermakna namun secara klinis ternyata penderita GSTP *Creeping* merupakan kelompok usia yang paling tua di antara ketiga jenis GSTP. Berbeda dengan kedua jenis GSTP lainnya yang di dominasi oleh penderita perempuan, maka pada GSTP *Creeping* jumlah penderita laki-laki sama dengan perempuan. Penderita GSTP *Creeping* adalah mereka yang datang ke RS paling lambat (sampai bertahun) dan berbeda dengan kedua jenis GSTP lainnya yang ketika datang masih mempunyai tajam penglihatan yang cukup baik maka penderita GSTP *Creeping* datang ketika kedua belah matanya telah menderita atrofi saraf optik lanjut. Hal tersebut di buktikan dengan terdapatnya penggaungan cawan optik yang besar, yang berbeda bermakna di banding dua bentuk GSTP lainnya.

Melalui sebuah gonioskop, ketiga bentuk GSTP dapat di bedakan secara kwalitatif. Apabila di gunakan sebuah *Ultrasound Biomicroscope* maka membedakan besarnya sudut BMD dapat di lakukan secara kwantitatif dan akurat, namun belum

seluruh pusat Glaukoma di dunia mempunyai alat canggih ini (juga belum di RSSA Malang).

Dengan mempelajari reaksi sel endotel TM pada berbagai bentuk GSTP di harapkan di temukan perbedaan mendasar pada ketiga bentuk glaukoma sudut tertutup karena pada ketiga bentuk glaukoma tersebut terdapat perbedaan kenaikan TIO.

Telah di buktikan beberapa peneliti sebelumnya bahwa *shear stress* yang perlahan dan ringan akibat aliran cairan dalam pembuluh merangsang timbulnya Transforming Growth Factor beta (TGF- β) sedangkan tekanan hidraulik yang tinggi dan mendadak yang di berikan pada endotel merangsang timbulnya Nitric Oxide (NO).

TGF- β berfungsi pada TM sebagai penyeimbang TIO, melalui mekanisme perubahan matrik ekstra seluler pada membrana basalis endotel TM. NO berfungsi pada TM sebagai penyeimbang TIO melalui perubahan vakuol TM dengan cara merelaksasi vakuol apabila tekanan mulai meningkat. Dalam jumlah yang tinggi dan mendadak NO tidak lagi mungkin menjamin keseimbangan cairan akuos dalam TM bahkan dapat menimbulkan apoptosis dan dalam jumlah amat berlebihan iskemia yang timbul dapat menyebabkan timbulnya nekrosis.

Konsentrasi NO dan TGF- β yang akan di periksa di ambil dari cairan akuos, sedangkan apoptosis serta nekrosis di tentukan berdasarkan pemeriksaan jaringan TM

Hipotesis yang di ajukan adalah bahwa nilai ke empat variabel (TGF- β , NO, Apoptosis dan Nekrosis) pada GSTP *Creeping* berada di luar kedua GSTP lainnya, karena secara klinis GSTP *Creeping* di anggap mempunyai patogenesis yang berbeda di banding kedua jenis GSTP lainnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa variabel NO dan indek Apoptosis berbeda bermakna, sedangkan variabel TGF- β dan indek Nekrosis tidak berbeda bermakna. Untuk variabel yang berbeda bermakna, GSTP *Creeping* mempunyai nilai yang berada di antara GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut. Untuk variabel yang tidak berbeda bermakna justru nilainya di luar variabel kedua jenis GSTP lainnya.

Kesimpulan yang dapat di tarik adalah bahwa GSTP *Creeping* mempunyai mekanisme seperti GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut, namun juga mempunyai mekanisme tersendiri. Dengan demikian pada GSTP *Creeping* ada sebuah multi mekanisme (*pupillary block* dan *iris crowding*).

Variabel NO yang bermakna menunjukkan bahwa sifat dan amplitudo stres yang mengenai endotel berpengaruh. Variabel apoptosis yang bermakna menunjukkan bahwa mungkin ada peran (Tgase (dan bukan TGF- β 2) pada peristiwa ini. Untuk kedua variabel yang bermakna ini tidak ada *cut off* yang bisa di peroleh untuk GSTP *Creeping*

Kata Kunci : Trabecular meshwork, TGF- β 2, NO, Apoptosis, Nekrosis



SUMMARY

Transforming Growth Factor-Beta2 and Nitric Oxide as inducible factors of Apoptosis and Necrosis on the onset of Creeping Angle Closure Glaucoma

A clinical observation and biomolecular study to explain the mechanism of Creeping Angle Closure Glaucoma

Adelein Nannerl Witrya Hoetarjo-Pakasi

Glaucoma is the second cause of blindness in the whole world. This big sum of blindness is caused by the unknown pathogenesis of glaucoma that prevents doctors to help glaucoma patients properly. There are also a lot of patients who got too late a help caused by their ignorance.

There are two types of glaucoma where patients got too late a help. The first is a type of glaucoma in a wide open anterior chamber. It is called Primary Open Angle Glaucoma (POAG), a chronic longstanding and progressive disease caused by an increased intra ocular pressure (IOP). Patients suffering from POAG never show signs and symptoms until late in their disease when their visual fields are reduced to a minimum. In this stage an irreversible blindness occur.

The second is Creeping Angle Closure Glaucoma (CrACG) occurring in a closed anterior chamber in which also an increased IOP happened to raise very slowly. It is unusual to have a slow raised pressure in a closed angle. The 2 other types of glaucoma are Acute Angle Closure Glaucoma (AACG) and Subacute Angle Closure Glaucoma (SACG). In AACG there is sudden increase of IOP caused by pupillary block. Patients with AACG show a painful red eye with a sudden decrease of visual acuity. This will bring patients directly to a doctor and they can be helped early in the progress of their disease. In SACG a sudden raise in IOP occur but it relieves directly without any drugs or surgery. Afterwards it will again raise the IOP, patients are aware if it already burden the optic nerve.

In patients with CrACG the anterior chamber is closing slowly from the base of the angle. This is caused by iris crowding at the base of the angle and apposition of iris

to the peripheral part of the cornea. This process leads to a resistance for aqueous to flow into the Trabecular Meshwork and a slow raised IOP found. After years this close position sticks these organs together..

A big question that needs an answer is how it is possible to have that slow raised IOP in a closed angle. Purpose of this study is to find pathogenesis of CrACG by comparing it with the 2 other types of angle closure glaucoma. A biomolecular study was done to find an answer for the pathogenesis of CrACG.

Although not significantly different, clinically CrACG patients turned out to be the oldest group comparing to AACG and SACG. In AACG and SACG there is domination of women suffering the disease, but in CrACG the ratio of man is equal to women. Patients with CrACG come very late in their disease, this is true according to the c.d ratio that is significantly bigger than AACG and SACG.

A gonioscope can differentiate these 3 types of angle closure glaucoma qualitatively. If an UBM is used than a quantitative measurement can differentiate them better, but not every glaucoma center can provide this sophisticate machine.

Studying the endothelial cell reaction to stress put on these cell may help differentiate these 3 types of ACG and may tell the pathogenesis or mechanism of the slow rise of IOP in CrACG.

From studies earlier done with cultured trabecular cells it was found that an acute rise from hydraulic pressure can stimulate cells to produce Nitric Oxide (NO). On the other hand a slow shear stress in a vessel stimulate endothelium to produce Transforming Growth Factor Beta. (TGF- β).

TGF- β has a role in proliferation and if a big amount of TGF- β is produced there will be fibrosis in tissues. NO has a regularly role in the vascular endothelium and smooth muscle elsewhere to keep pressure in a balance. If NO is produced in an abundance, apoptosis and necrosis will occur.

Concentration of TGF- β 2 and NO will be measured from the aqueous humor tapped on site of operation. Apoptosis and necrosis could be counted from the TM that was cut on operation.

Hypotheses for the study is that TGF- β 2, NO, Apoptosis and Necrosis are variables that will be different in CrACG, since CrACG is another type of ACG. Concentration of TGF- β 2 will be the highest in CrACG and NO the lowest in Cr ACG.

Index of apoptosis will be the biggest in CrACG and index of necrosis will be the smallest in CrACG.

It turned out that there are significant differences for NO and Apoptosis but not for TGF- β 2 and Necrosis. For the significant variable differences, CrACG is located between AACG and SACG. For the not significant variable differences, CrACG is outside the variables of AACG and SACG.

Nitric Oxide, the variable that is significant different explains that amplitude of stress plays a significant role. Apoptosis, the variable that is also significant different will then explain the role of NO, maybe through tTgase (tissue transglutaminase) and not the role of TGF- β 2 (since TGF- β 2 is not a significant variable). For both these significant variables, biomolecular parameters of CrACG lies between AACG and SACG.

Conclusion is that CrACG has a multiple mechanism, both an iris crowding as well as a pupillary block mechanism. This study was not able to produce a cut off parameter for NO and Apoptosis especially for CrACG. If a further study should be done than variables like NO, Apoptosis and tTgase should be taken first.

Keywords : Trabecular Meshwork, TGF- β 2, NO, Apoptosis and Necrosis.

ABSTRACT

Transforming Growth Factor-Beta2 and Nitric Oxide as inducible factors for Apoptosis and Necrosis on the onset of Angle Closure Glaucoma

A clinical observation and biological and molecular study to explain the mechanism of Creeping Angle Closure Glaucoma

Adelein Nannerl Witrya Hoetarjo-Pakasi

OBJECTIVE: Creeping Angle Closure Glaucoma (CrACG) is one type of closed angle caused by iris crowding. Although it is a closed angle but it has symptoms mimicking symptoms of open angle glaucoma. It often put patients in a badly condition (blind) without knowing. Up till now there is no solid explanation for the pathogenesis or mechanism of the disease. A study was done to measure biomolecular parameters of aqueous humor and trabecular meshwork (TM) in order to explain mechanism of CrACG. The study was done by comparing it with Acute Angle Closure Glaucoma (AACG) and Subacute Angle Closure Glaucoma (SACG), since these later ones are closed angles glaucomas caused by pupillary blocking with different symptoms compared to CrACG.

Design: Aqueous humor and TM tissue was taken during trabeculectomy Transforming Growth Factor-Beta2 (TGF- β 2) is a cytokine produced when endothelial cells are exposed to shear stress, this kind of stress can be found in CrACG. Nitric Oxide is a gas produced when endothelial cells are exposed to acute and high hydraulic pressure, this kind of pressure can be found in AACG and SACG. TGF- β 2 and NO are different products after different stress on endothelial cells.

TGF- β 2 which is produced by trabecular cells, has an effect on regulation of aqueous humor dynamics by changing extra cellular matrix of the endothelium. Nitric Oxide is produced by oxidation of L-arginine through Nitric Oxide Synthases, which is found on epithelial cells of the iris and ciliary body. Nitric Oxide has also an effect on homeostasis of intraocular pressure by changing volume of vacuoles in the TM.

Over production of TGF- β 2 is followed by fibrosis and apoptosis. Overproduction of NO is followed by apoptosis and if it is too much then necrosis will occur.

TGF- β 2 is measured by the immunosorbent assay (ELISA). Nitric Oxide (NO) is measured by chemiluminescence assay.

Apoptosis is measured through caspase3 by Apoptag Kit. TGF- β 2 and necrosis is measured by hematoxylin eosin. Data obtained was tested through ANOVA and correlation analysis.

Result : NO ($p=0.026$) and Apoptosis ($p = 0.01$) are the only 2 variables that significantly differentiates CrACG from Acute Angle Closure Glaucoma (AACG) and Subacute Angle Closure Glaucoma (SACG), but the parameters of CrACG lies between parameters of AACG and SACG.

It means that CrACG has a pupillary blocking factor also.

Apoptosis is a factor caused by TGF- β 2 and also by NO. Since TGF- β 2 is a variable not significant different but NO is a variable of significant different, it means that apoptosis in CrACG is caused by NO. Necrosis is a not factor of importance in this study.

Conclusion : CrACG is a type of angle closure glaucoma with a multimechanism, that is both and iris crowding and pupillary blocking. A cut off variable of NO and Apoptosis for CrACG can not be produced in this study.

Keywords : Creeping Angle Closure Glaucoma, TGF- β 2 , NO, Apoptosis, Necrosis.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Kebutaan merupakan masalah dunia karena mengurangi produktivitas sumber daya manusia. Glaukoma adalah penyebab kebutaan nomor dua, baik di Indonesia (Sirhan, 1966) maupun disebagian besar negara di dunia (Hiratsuka, 2001). Tingginya angka kebutaan akibat glaukoma disebabkan karena penatalaksanaan yang belum memadai, karena patogenesis kelainan yang belum jelas. Kebutaan akibat glaukoma dapat pula disebabkan karena penderita datang berobat dalam stadium lanjut. Keterlambatan berobat terjadi karena beberapa jenis glaukoma menunjukkan gejala amat ringan yang menyebabkan ketidak-sadaran penderita akan adanya kelainan mata. Ketika penderita tersadar akan kelainan yang di deritanya maka biasanya kerusakan mata sudah berada dalam keadaan lanjut sehingga tidak memungkinkan pemulihan yang sempurna. Penyebab lain keterlambatan adalah faktor ekonomi sekaligus pemahaman tentang glaukoma yang masih amat rendah.

Degenerasi papil saraf optik yang terjadi pada glaukoma menyebabkan penurunan (defek) lapangan pandang yang ireversibel sehingga penderita mengalami kesulitan untuk melakukan pekerjaannya sehari-hari. Degenerasi papil saraf optik tersebut disebabkan terutama oleh tekanan intra okuli (TIO) yang tinggi, namun masih banyak penyebab lain seperti *exorbiticity*, gangguan (berkurangnya) aliran darah kedalam saraf optik, ketahanan genetik ataupun kelainan imunitas. Karenanya glaukoma dikenal sebagai suatu kelainan multifaktor.

Glaukoma yang nyaris tanpa gejala disebabkan oleh kenaikan TIO yang meningkat tidak terlalu tinggi serta terjadi amat perlahan. Proses yang berlangsung perlahan

memungkinkan penderita melakukan adaptasi sehingga penderita terhindar dari keluhan nyeri. Pada glaukoma dengan TIO yang meningkat tinggi dan mendadak timbul perubahan mendadak sehingga timbul rasa sakit yang mengganggu penderita.

Tekanan Intra Okuli merupakan sebuah keseimbangan cairan dalam bola mata yang amat penting guna mempertahankan fungsi bola mata dengan baik. Tekanan Intra Okuli tercipta sebagai sebuah keseimbangan antara produksi cairan akuosa (*inflow*) dan keluarnya cairan akuosa dari dalam bola mata (*outflow*). Proses *inflow* adalah peristiwa aktif masuknya cairan akuosa ke dalam bola mata. Cairan akuosa diproduksi oleh badan siliar, masuk ke dalam Bilik Mata Belakang (BMB) dan selanjutnya mengalir melalui pupil ke dalam Bilik Mata Depan (BMD). Dan BMD sebagian besar cairan akuosa mengalir keluar (*outflow*) melalui jalur konvensional yaitu melalui *Trabecular Meshwork* (TM) kedalam Saluran Schlemm (SS) dan selanjutnya ke dalam *collector channels* untuk akhirnya masuk ke dalam vena vortikosa di mana cairan akuosa menjadi satu dengan cairan tubuh. Sebagian kecil cairan akuosa keluar dari bola mata melalui jalur inkonvensional yaitu jalur uvea-sklera dan langsung mengalir ke dalam vena.

Trabecular meshwork merupakan organ berbentuk segitiga, terletak pada sudut BMD dan berfungsi untuk mengatur keluarnya cairan akuosa dari bola mata. Organ ini terdiri dari jalur-jalur (*trabecular beams*) yang ditutupi sel endotel. Endotel yang menyelimuti TM amat penting karena mempunyai fungsi fagositosis (Rohen, 1968); sehubungan dengan itu TM dikenal sebagai sebuah *self cleaning structure*. Endotel TM juga memproduksi matrik ekstra seluler (MES) dan pengaturan *outflow* tercipta karena perubahan komposisi dan penggantian MES (Acott, 1985; Alexander, 1991). Apabila fungsi endotel terganggu (baik karena berubahnya jumlah maupun komposisi

MES atau karena berkurangnya sel endotel) maka akan terganggu pula fungsi filtrasi TM sehingga timbul hambatan *outflow* dan akhirnya terjadi kenaikan TIO. Hambatan Bilik Mata Depan yang terletak dalam segmen anterior bola mata merupakan ruangan yang terbentuk oleh TM dan bagian perifer kornea sebagai dinding anterior sudut BMD, permukaan anterior badan silia sebagai lekuk sudut dan bagian perifer iris (termasuk akar iris) sebagai dinding posterior.

Tekanan Intra Okuli meningkat apabila terdapat hambatan pada TM dan SS atau pada *collector channels*. Tekanan meningkat pula apabila TM tertutup, misalnya karena iris perifer beraposisi terhadap TM dan bagian perifer kornea. Hal ini dapat terjadi apabila dinding posterior beraposisi dengan dinding anterior BMD yang disebabkan sebuah cecusan (misalnya karena pupil yang mendadak menjadi lebar) sehingga selanjutnya BMD akan menutup.

Tekanan Intra Okuli meningkat perlahan dan tidak terlalu tinggi apabila ada hambatan pada TM di mana sebagian besar cairan akuosa tidak dapat keluar dari bola mata namun sebagian kecil masih dapat keluar melalui jalur uvea-sklera. Karena TIO meningkat perlahan dan tidak terlalu tinggi maka jaringan mata dapat beradaptasi sehingga tidak timbul gejala dan keluhan. Kondisi ini ditemukan pada sudut BMD yang terbuka. Dalam jangka panjang TIO yang tinggi ini akhirnya merusak saraf optik dan timbul Glaukoma Sudut terBuka Primer (GSBP).

Tekanan Intra Okuli dapat meningkat sangat tinggi dan mendadak apabila cairan akuosa terbungkus seluruhnya akibat bagian perifer iris beraposisi akut terhadap TM. Sudut BMD yang tertutup total menyebabkan baik jalur trabekular maupun jalur uvea-sklera tertutup, sehingga seluruh cairan akuosa terbungkus dalam BMD dan tak dapat keluar. Kenaikan TIO yang sangat tinggi dan akut menyebabkan jaringan mata tidak

sempat beradaptasi sehingga timbul gejala akibat bendungan. Gejala itu berupa hiperemia siliar, kornea menjadi keruh karena edema dan menyebabkan ketajaman penglihatan menurun tajam, semuanya terjadi secara mendadak. Selanjutnya timbul rasa nyeri akibat rangsangan pada saraf trigeminus. Kondisi ini ditemukan pada Sudut Tertutup Akut atau Sudut Tertutup Subakut yang apabila berlangsung terus akan menjadi Glaukoma Sudut Tertutup Primer Akut Lanjut (GSTP Akut Lanjut) atau Glaukoma Sudut Tertutup Primer Subakut (GSTP Subakut).

Bola mata dengan BMD dangkal disertai iris yang berinsersi lebih ke anterior akan menyebabkan iris terletak sangat dekat ke TM. Dalam keadaan midriasis, pupil yang lebar akan menyebabkan iris langsung beraposisi terhadap TM bagian bawah dan selanjutnya seiring iris bagian perifer. Aposisi ini dapat merambat dari TM bagian bawah menuju ke atas sehingga menutup seluruh permukaan TM dan menyebabkan hambatan *outflow*. Karena aposisi terjadi perlahan maka TIO meningkat perlahan pula sehingga menyebabkan keadaan tanpa gejala. Kondisi ini ditemukan pada Sudut Tertutup *Creeping* yang apabila berlanjut dapat merusakkan saraf optik dan dikenal sebagai Glaukoma Sudut Tertutup *Creeping* (GSTP *Creeping*).

Belum diketahui dengan benar apakah pada sudut yang tertutup terjadi juga kerusakan TM, baik karena TIO yang terlalu tinggi ataukah karena aposisi iris terhadap TM. Berdasarkan patofisiologi apabila terjadi kenaikan TIO dalam sudut tertutup (cairan akhosa yang terkumpul dalam BMB akan makin menekan iris ke anterior) kemudian bila sudut dapat dibuka (melalui pembedahan atau tindakan laser akan terbentuk lubang pada iris yang memungkinkan cairan akhosa mendapat jalan pintas ke TM) maka seharusnya TIO turun. Laporan penelitian ternyata menunjukkan bahwa

meski sudut dapat di buka tetapi TIO tetap tinggi (Aung, 2001). Hal ini menimbulkan kecurigaan adanya kelainan TM pada GSTP.

Hingga kini belum diketahui dengan pasti kemungkinan terjadinya kerusakan TM penderita GSTP Akut Lanjut maupun GSTP Subakut saat terjadi kenaikan TIO tinggi yang diiringi aposisi akut iris terhadap TM. Belum pula diketahui dengan pasti kerusakan TM saat aposisi perlahan iris terhadap TM pada penderita GSTP *Creeping*.

Fungsi TM sebagai *self cleaning structure* amat penting untuk membuat TM bersih selangka bebas hambatan. Telah dibuktikan pada TM penderita GSTP adanya tumpukan *plaque* yang menghambat cairan akuisa keluar (Lutjen-Drecoll, 1986). Berbeda dengan TM penderita GSTP yang telah banyak dipelajari, maka TM penderita GSTP hingga kini belum tuntas dipelajari.

Berat atau ringannya kerusakan yang terjadi pada jaringan amat tergantung pada lamanya dan berat atau ringannya jejas mengenai jaringan tersebut. Kerusakan TM penderita GSTP dapat pula tergantung pada berat atau ringannya serta lamanya jejas mengenai TM. Apakah aposisi akut iris terhadap TM merupakan jejas yang berat bagi TM penderita GSTP Akut Lanjut dan apakah keadaan itu merupakan jejas yang lebih ringan bagi TM penderita GSTP Subakut, belum diketahui dengan pasti. Apakah aposisi perlahan dan ringan pada GSTP *Creeping* merupakan jejas ringan bagi TM juga belum dapat dijawab dengan tuntas.

Kerusakan yang terjadi pada jaringan setelah sebuah jejas yang lama, atau yang berat maupun yang ringan dapat diterangkan menggunakan pendekatan biologi molekuler, karena melalui penelitian biologi molekuler reaksi sel terhadap keadaan sekelilingnya dipelajari dengan baik. Jejas yang mengenai endotel TM dapat terjadi karena tekanan hidraulik yang tinggi namun dapat pula terjadi karena aliran cairan

yang melaluinya. Aliran cairan dalam pembuluh darah merupakan sebuah *shear stress* bagi endotel yang dilaluinya dan mengingat bahwa endotel TM tidak berbeda dari endotel pembuluh darah (Chang, 1991) maka analog dengan keadaan tersebut akan dipelajari *shear stress* pada endotel TM (endotel TM dilahi oleh aliran cairan akuosa).

Shear stress akut mengubah sitoskeleton dan merangsang *signaling cascades* dalam endotel pembuluh darah sehingga produksi Nitrogen Oksida (NO) meningkat (Corson,1996; Norris 1995). Produksi NO yang meningkat terjadi pula apabila *shear stress* akut mengenai endotel non pembuluh darah seperti osteoblast (Johnson,1996). Pada sel kultur TM telah dilakukan penelitian dan ditemukan produksi NO tinggi apabila tekanan hidraulik meningkat tinggi dan mendadak (Matsuo, 2000).

Nitrogen Oksida terbentuk dari L-arginin dengan bantuan enzim *NO synthase* (NOS) Terdapat 3 bentuk NOS, yaitu *endothelial NOS* (eNOS), *neuronal NOS* (nNOS) dan *inducible NOS* (iNOS). eNOS dan nNOS merupakan *constitutive NOS* yang tergantung pada Ca^{++} , memproduksi NO dalam jumlah sedikit dan bekerja untuk waktu yang pendek, produksi ini terjadi akibat rangsang fisik. Nitrogen Oksida yang dilepaskan berfungsi sebagai mekanisme transduksi untuk proses fisiologis dalam tubuh. *Inducible NOS* diproduksi oleh sel makrofag atau endotel dan memproduksi NO untuk jangka panjang serta tidak tergantung pada kadar Ca^{++} . Nitrogen Oksida yang dilepaskan dapat berfungsi sebagai molekul sitotoksik untuk mikro-organisme atau sel tumor

Nitrogen Oksida menimbulkan relaksasi otot polos (Moncada, 1991) Di dalam mata, TM merupakan organ yang berfungsi sebagai pengatur aliran cairan akuosa karena mengandung otot polos. (Lepppe-Weihmes dkk. 1991). Telah dibuktikan juga bahwa TM dan otot siliar merupakan tempat produksi NO (Nathanson dkk,1995) Pada

percobaan hewan dibuktikan bahwa sel endotel TM berkontraksi saat diberi bahan *cholinergic* (Leppe-Weihses dkk, 1991) dan relaksasi saat diberi bahan *NO agonist* (Macpea O dkk, 1989).

Trabecular Meshwork merupakan organ penting yang mempertahankan keseimbangan TIO. TM mengandung endotel dan rongga-rongga (vakuola), perubahan bentuk dan volume rongga mengatur keseimbangan TIO. Dalam keadaan fisiologis, kadar NO dalam TM berfungsi untuk membuat keseimbangan TIO dengan cara mengatur tonus otot polos sehingga dapat diatur pula volume rongga dalam TM. Apabila TIO meningkat, endotel terangsang sehingga produksi NO meningkat, dalam keadaan relaksasi produksi ini menurun. Nitrogen Oksida penting untuk homeostasis, namun dalam jumlah terlalu banyak gas ini akan bersifat toksik sehingga terjadi kerusakan fungsi sel endotel dan timbul gangguan keseimbangan TIO yang akan berakhir dengan glaukoma.

Selain NO telah dibuktikan pula bahwa *Transforming Growth Factor-beta*(TGF- β) mempunyai peranan terhadap keseimbangan TIO di dalam BMD dan berperan pula pada timbulnya glaukoma (Inatani, 2001, Ozcan 2004). Tekanan yang berubah di dalam TM merangsang mRNA TGF- β sehingga terjadi perubahan komposisi MES dan terjadi penurunan TIO. Apabila kadar tersebut melampaui keseimbangan, akan terjadi penumpukan MES sehingga timbul glaukoma.

Pada GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut, tekanan dalam bola mata meningkat mendadak. Diperkirakan bahwa kenaikan TIO yang amat mendadak dan tinggi pada GSTP Akut Lanjut akan menimbulkan peningkatan kadar NO yang amat tinggi dalam BMD penderita GSTP Akut Lanjut, kadar ini lebih tinggi dibandingkan GSTP

Subakut. Pada *GSTP Creeping*, tekanan meningkat amat perlahan, sehingga diperkirakan bahwa pada kelainan ini kadar NO dalam BMD akan paling rendah.

Shear stress ringan dan menengah menimbulkan reaksi yang berbeda. Pada endotel pembuluh darah telah dibuktikan bahwa *shear stress* ringan dan menengah merangsang produksi TGF- β (Ohno, 1995; Cucina, 1998). Dengan menggunakan sel kultur TM, telah dibuktikan bahwa tekanan yang tinggi dan lama merangsang apoptosis melalui jalur tel-2 (Xue, 2002)

Pada *GSTP Creeping*, TIO meningkat perlahan, diperkirakan *shear stress* yang timbul akan menyebabkan kenaikan kadar TGF- β cairan aknosa penderita *GSTP Creeping*. *Shear stress* ini tidak besar pada *GSTP Akut Lanjut* dan *GSTP Subakut*, karena sudut BMD yang tertutup segera, sehubungan dengan itu diperkirakan bahwa kadar TGF- β pada *GSTP Akut Lanjut* dan *GSTP Subakut* akan lebih rendah di banding *GSTP Creeping*.

Trabecular Meshwork yang berfungsi dengan baik dipengaruhi pula oleh jumlah sel endotel yang terdapat di dalamnya. Apabila fungsi TM yang berkurang dapat disebabkan berkurangnya sel endotel, maka dapat diperkirakan bahwa kematian sel merupakan faktor yang cukup berpengaruh pada terjadinya *GSTP*

Pada *GSTP Akut Lanjut*, hambatan akut memicu keadaan hipoksia yang dapat berakhir dengan nekrosis. Pada *GSTP Creeping*, *stress* merupakan peristiwa ringan dan menengah yang mungkin memicu produksi TGF- β dan selanjutnya menyebabkan timbulnya apoptosis. Berfungsinya endotel dengan baik dipengaruhi oleh kedua peristiwa kematian sel tersebut di atas. Hingga kini belum diketahui apakah hambatan dalam TM terjadi karena berkurangnya sel endotel yang berfungsi dengan baik, dan

apakah berkurangnya endotel yang berfungsi dengan baik tersebut disebabkan proses apoptosis atau nekrosis yang terlibat di dalamnya.

Semua pertanyaan-pertanyaan tersebut di atas merangsang peneliti mencari jawabannya dengan meneliti keberadaan TGF- β dan NO serta kemungkinannya memicu proses apoptosis dan nekrosis pada ketiga bentuk GSTP tersebut.

1.2. Rumusan Masalah

- 1.1.1. Apakah *shear stress* ringan menyebabkan konsentrasi TGF- β 2 cairan akuosa yang paling tinggi pada penderita GSTP *Creeping*, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut?
- 1.1.2. Apakah tekanan hidraulik tinggi dan mendadak menyebabkan konsentrasi NO cairan akuosa yang paling tinggi pada penderita GSTP Akut Lanjut, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*?
- 1.1.3. Apakah indeks apoptosis jaringan TM yang paling tinggi terdapat pada penderita GSTP *Creeping*, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut?
- 1.1.4. Apakah indeks nekrosis jaringan TM yang paling tinggi pada penderita GSTP Akut Lanjut, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*?

1.2. Tujuan Penelitian

- 1.2.1. Membuktikan bahwa *shear stress* ringan menyebabkan konsentrasi TGF- β 2 cairan akuosa paling tinggi pada penderita GSTP *Creeping*, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut

- 1.2.2. Membuktikan bahwa tekanan hidrolik tinggi dan mendadak menyebabkan konsentrasi NO cairan akuosa paling tinggi pada penderita GSTP Akut Lanjut, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*
- 1.2.3. Membuktikan bahwa indeks apoptosis jaringan TM yang paling tinggi terdapat pada penderita GSTP *Creeping*, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut
- 1.2.4. Membuktikan bahwa indeks nekrosis jaringan TM yang paling tinggi terdapat pada penderita GSTP Akut Lanjut, lebih rendah pada GSTP Subkut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*

1.3. Manfaat Penelitian

1.3.1. Manfaat akademis.

Penelitian biologi molekuler dapat memberikan jawaban lebih pasti untuk menerangkan patogenesis terjadinya sebuah kelainan. Diharapkan hasil penelitian yang diperoleh dapat dimanfaatkan untuk :

1. penatalaksanaan GSTP *Creeping* dengan lebih baik melalui terapi konservatif.
2. metode dalam penelitian ini dapat juga dipakai untuk menjawab banyak keraguan dalam patogenesis sebuah kelainan yang belum terungkap
3. penelitian biologi molekuler membuka cakrawala para klinisi bahwa penelitian biologi molekuler merupakan penelitian yang menantang dan mengasyikkan yang sekaligus dapat menjawab banyak ketidak-pastian di dunia kedokteran.

1.3.2 Manfaat klinis

Pengobatan yang benar adalah dengan memberikan obat pada lokasi yang tepat dengan dosis dan waktu yang tepat. Apabila parameter biologi molekuler menunjukkan hasil yang bermakna maka pemberian antagonisnya akan dapat memberikan dampak positif bagi penderita.

Kenaikan kadar NO yang memberikan dampak merusak dapat ditanggulangi dengan memberikan antagonis iNOS secara lokal, sehingga produksi NO dapat dikurangi dan kerusakan lebih lanjut dapat dicegah.

TGF- β 2 dapat menyebabkan perlekatan yang menghambat aliran cairan aknos keluar dari bola mata. Saat ini sudah ditemukan bahan anti TGF- β 2 sehingga perlekatan yang luas dapat dicegah. Apabila bahan anti TGF- β 2 ini dapat bekerja dengan baik maka tindakan operatif untuk GSTP *Creeping* dapat ditiadakan.

Saat ini pemakaian NO dan TGF- β 2 secara lokal masih terus diteliti walaupun pada binatang percobaan hal ini telah terbukti.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pengertian Umum Glaukoma

Glaukoma, penyebab kebutaan permanen, merupakan kelainan unik karena kelainan primer terletak di segmen anterior sedangkan penyebab kebutaan terletak pada segmen posterior bola mata. Kelainan ini berkembang dalam dua kejadian terpisah namun berhubungan erat. Pertama adalah hambatan aliran cairan akuosa keluar dari bola mata (*outflow*) yang menyebabkan terkumpulnya cairan akuosa di dalam bola mata. Kejadian kedua merupakan akibat dari terkumpulnya cairan akuosa sehingga terjadi peningkatan tekanan di dalam bola mata (Tekanan Intra Okuli - TIO). Kenaikan TIO dapat sedemikian tingginya melampaui batas ketahanan saraf optik sehingga menyebabkan kerusakan bahkan kematian saraf optik. Pada umumnya TIO yang tinggi lebih sering disebabkan menurunnya *outflow* dan bukan karena meningkatnya produksi cairan akuosa oleh badan siliar (*inflow*) (Phelps, 1994).

Hambatan *outflow* dapat terjadi karena bermacam sebab di segmen anterior bola mata, baik pada sudut bilik mata depan (BMD), pada *trabecular meshwork* (TM) maupun pada Saluran Schlemm (SS). Hambatan *outflow* dapat terjadi mendadak dalam beberapa menit sampai beberapa jam, namun dapat juga terjadi amat perlahan sampai bertahun; karena itu kematian saraf optik dan kebutaan akibat glaukoma dapat terjadi mendadak namun dapat pula terjadi bertahun-tahun, sampai 1-2 dekade.

Manifestasi klinis glaukoma dibedakan berdasar beberapa kriteria. Klasifikasi umum yang telah disepakati pakar glaukoma adalah pengelompokan berdasar besarnya sudut BMD. Pengelompokan menjadi glaukoma sudut terbuka atau sudut tertutup

adalah atas dasar seberapa dekat (aposisi) permukaan iris menempel ke arah TM atau menutup TM

Dalam sudut yang terbuka terdapat sebuah ruangan antara iris dan kornea bagian perifer, ruangan ini cukup besar sehingga memudahkan cairan akuosa masuk ke TM. Apabila ada hambatan dalam sebuah sudut yang terbuka maka hambatan *outflow* di sebabkan vakuola di dalam TM tertutup, baik karena perubahan degeneratif atau tertutup oleh membran fibro-vaskuler maupun oleh timbunan *plaque* (Lutjen-Drecoll, 1986). Timbunan *plaque* terjadi amat perlahan karena itu hambatan aliran cairan akuosa dalam sudut terbuka berlangsung menahun dan glaukoma yang ditimbulkannya merupakan glaukoma dengan perjalanan penyakit panjang serta menahun dan dikenal sebagai Glaukoma Sudut Terbuka Primer (GSBP).

Dalam sudut yang tertutup, iris menempel ke arah kornea bagian perifer menyebabkan sudut BMD tertutup dan menyulitkan cairan akuosa masuk ke dalam BMD. Hambatan aliran cairan akuosa dalam sudut tertutup dapat terjadi mendadak menyebabkan kenaikan TIO yang juga mendadak. *Outflow* yang tiba-tiba terganggu disebabkan *pupillary block*, yaitu sebuah keadaan di mana pupil menempel erat ke arah lensa, menghambat cairan akuosa masuk ke dalam BMD sehingga tekanan di dalam BMB meningkat. Karena iris bersifat lentur maka tekanan tinggi dalam BMB akan menyebabkan iris menggelembung kedepan (*iris bombe*) dan menutup TM. Kenaikan TIO yang mendadak akibat gangguan keseimbangan *inflow* dan *outflow* menimbulkan rasa sakit hebat dan penglihatan mendadak turun. Kelainan yang ditimbulkannya dikenal sebagai Sudut Tertutup Primer Akut. Apabila tidak segera mendapatkan pertolongan maka TIO yang tinggi itu akan menimbulkan perlekatan organ segmen depan bola mata sehingga BMD makin tertutup dan TIO menjadi makin tinggi.

Akhirnya akan timbul kerusakan saraf optik dan kelainan yang ditimbulkannya disebut sebagai GSTP Akut Lanjut.

Kadang-kadang *pupillary block* dapat mengulangi sendiri sehingga TIO turun spontan, penderita segera akan merasa nyaman kembali; namun blokade dapat berulang. Apabila keadaan ini sering kali terjadi akhirnya TIO yang makin meningkat akan dapat menyebabkan kerusakan saraf optik dan kelainan yang ditimbulkannya disebut sebagai GSTP Subakut

Tidak selalu hambatan dalam BMD tertutup terjadi mendadak. Terdapat sebuah bentuk glaukoma dalam sudut tertutup di mana hambatan *outflow* terjadi perlahan dan menahun. Keadaan ini disebabkan karena sudut BMD menutup secara perlahan mulai dari dasar sudut BMD dan perlahan penutupan BMD terjadi makin ke anterior. Tekanan di dalam bola mata akan meningkat perlahan dan glaukoma yang ditimbulkannya juga terjadi amat perlahan. Kelainan ini dikenal sebagai GSTP *Creeping* yang tidak menunjukkan gejala pada stadium dini dan mempunyai perjalanan penyakit ringan dan menahun. (Meskipun menahun, GSTP *Creeping* bukan GSTP kronik, istilah kronik bahkan tidak lagi dipakai untuk glaukoma karena keadaan tenang pasca serangan GSTP akut juga tidak disebut sebagai GSTP Kronik).

Perjalanan penyakit yang panjang, menahun dan nyaris tanpa keluhan subyektif terdapat baik pada GSBP maupun pada GSTP *Creeping*; meski perjalanan penyakit sama ringan dan sama panjangnya, namun penatalaksanaan GSBP dan GSTP *Creeping* berbeda karena secara anatomi kedua bentuk glaukoma ini berbeda.

Sukses penatalaksanaan sebuah kelainan tergantung pada seberapa banyak dan seberapa dalam serta luas patogenesis kelainan itu telah dipahami para ahli. Proses penyakit dalam tubuh manusia (baik akut atau menahun) melalui beberapa tahapan.

Tahapan itu adalah sebagai berikut . 1. Tahap awal pada mana terjadi reaksi terhadap rangsang baik internal maupun eksternal berupa perubahan molekuler ataupun seluler. 2. Tahap kelainan aktif di mana perubahan biologi molekuler dan seluler menyebabkan kerusakan jaringan sehingga terdapat keluhan-keluhan akibat berkurangnya atau hilangnya fungsi organ. 3. Tahap terminal yang masih reversibel, pada mana kelainan menjadi sembuh dan fungsi organ menjadi normal kembali. 4. Tahap akhir yang bersifat irreversibel pada mana kerusakan berat dan lanjut menyebabkan timbulnya jaringan parut yang menurunkan fungsi organ secara permanen

Tahap awal glaukoma merupakan kejadian di segmen anterior bola mata, berupa perubahan biologi molekuler dan seluler endotel TM yang menimbulkan kelainan vakuola dalam TM atau berupa perubahan fisik maupun psikhis yang menimbulkan *pupillary block*. Tahap kedua adalah kerusakan jaringan TM atau tertutupnya sudut BMD yang dapat menurunkan *outflow* sehingga TIO meningkat. Tahap ketiga adalah yang lazim terjadi pada GSTP Akut, berupa gejala obyektif dan subyektif yang nyata akibat kenaikan TIO yang mendadak. Apabila TIO dapat diturunkan dengan baik pada saat yang tepat, maka tidak akan ada kerusakan organ mata. Tahap 4 adalah kematian saraf optik akibat kenaikan TIO yang terlalu tinggi melampaui batas ketahanan *lamina cribrosa* pada kepala saraf optik.

Masalah utama pada GSTP *Chronic* adalah bahwa tahap 1 berlangsung sangat ringan dan perlahan karena berlangsung pada tahap molekuler dan seluler. Tidak terdapat gejala nyata yang dapat dilihat pada tahap 1 ini. Pada tahap 2 juga belum terdapat gejala nyata karena perubahan seluler pada sekelompok sel belum tentu menimbulkan kerusakan organ. Pada tahap 3 sudah dapat terjadi permulaan kerusakan organ (saraf optik) yang akan menimbulkan defek lapangan pandang. Karena lapangan

pandangan kedua mata bertumpuk (*overlapping*) di daerah nasal maka kekurangan lapangan pandang dalam stadium dini tak pernah dirasakan penderita. Ketika penderita sadar akan kelainan yang sedang dideritanya ia sudah berada dalam tahap 4, saat lapangan pandang menjadi sempit sekali.

Tanda awal yang minimal menyebabakan pengobatan dini (yang sebaiknya dapat diterapkan pada setiap kelainan) tidak dapat dilaksanakan untuk penderita GSTP *Creeping*, karena tidak adanya tanda-tanda nyata pada tahap 1, 2 dan 3.

Penelitian ini dikerjakan untuk memperoleh tanda-tanda klinis GSTP *Creeping* yang mungkin membedakannya dari GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut dan sekaligus memperoleh parameter biomolekuler GSTP *Creeping* yang memungkinkan memberikan terapi medikamentosa untuk kelainan ini. Dengan demikian sebuah tindakan operatif dapat dihindarkan mengingat kecenderungan perlekatan yang sering mengikuti GSTP *Creeping*.

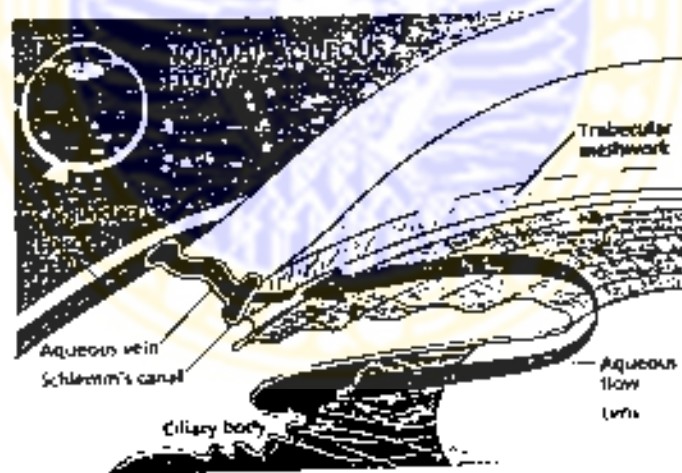
2.2. Aliran Cairan Akuosa di dalam Bola mata

Untuk dapat memahami dengan baik patogenesis glaukoma, perlu dipahami dinamika aliran cairan akuosa di dalam bola mata. Akuosa adalah cairan bening yang mengalir dalam BMD dan berfungsi untuk memberi nutrisi organ di dalam BMD yang tidak mempunyai pembuluh darah (kornea, lensa, TM dan *vitreous* bagian anterior).

Ada 3 tahap penting produksi cairan akuosa. Pada tahap 1, diperlukan aliran darah yang cukup ke dalam prosesus siliaris. Pada tahap 2, sebagian plasma tersaring masuk dalam jaringan prosesus siliaris. Selanjutnya pada tahap 3, Prosesus Siliaris memproduksi cairan akuosa (1.5 - 3.0 μ l/mnt), cairan akuosa ini akan berada dalam bola mata \pm 100 menu

Cairan akuosa yang baru saja diproduksi masuk ke BMB selanjutnya melalui pupil masuk ke BMD untuk akhirnya keluar dari bola mata melalui TM dan SS (*outflow*). Sebagian besar (75%) cairan akuosa menggunakan jalur ini dan kurang dari 25% keluar dari bola mata melalui uvea-sklera. Sebagian amat kecil keluar melalui *vitreous* dan retina. Dalam bola mata keseimbangan antara *inflow* dan *outflow* penting untuk menciptakan TIO yang stabil dan keseimbangan yang baik merupakan faktor amat penting guna mempertahankan bola mata selalu dalam keadaan optimal.

Inflow merupakan sebuah peristiwa transpor aktif oleh epitel badan silier yang memproduksi cairan akuosa ke dalam BMB. Cairan akuosa primer ini akan bercampur dengan cairan di dalam BMB menjadi cairan akuosa sekunder dan mengalir melalui pupil ke dalam BMD, selanjutnya ke dalam TM dan SS, akhirnya ke dalam *vena vorticososa* di mana cairan akuosa ini menjadi satu dengan aliran darah.



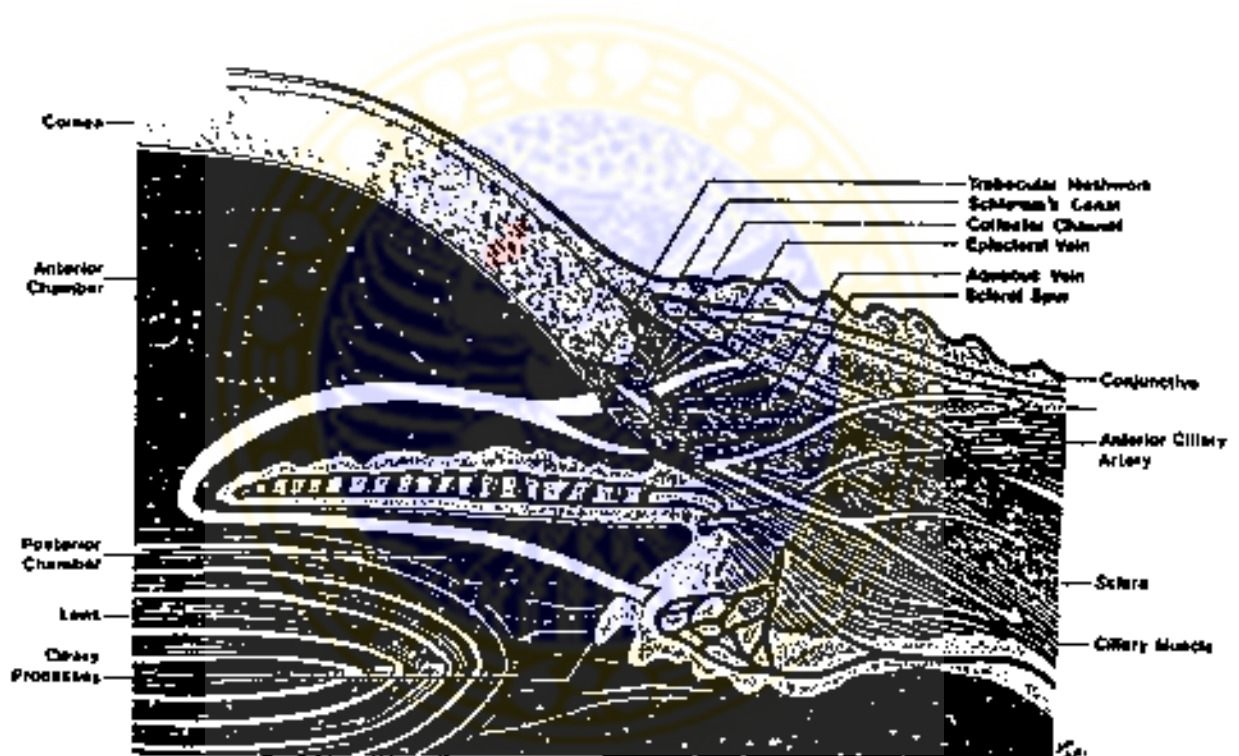
Gambar 1. Aliran cairan akuosa dalam mata normal

Setelah produksi oleh badan silier, cairan akuosa berada dalam Bilik Mata Belakang. Kemudian mengalir diantara lensa dan iris ke arah pupil dan masuk ke dalam Bilik Mata Depan, selanjutnya ke dalam *Trabecular Meshwork*, Saluran Schlemm dan akhirnya ke dalam *vena vorticososa*, di mana cairan akuosa akan bercampur dengan darah.

Dianbul dari: Basic and Clinical Science Course, Section Glaucoma, AAO (2000-2003) hal 7

Terdapat 2 cara *outflow* yang berbeda di dalam sudut BMD. Cara konvensional atau aliran *outflow* yang utama adalah melalui TM (*TM pathway*). Setelah TM, cairan akuosa mencapai SS dan selanjutnya langsung masuk ke dalam *vena vorticosa*. Aliran konvensional ini tergantung pada tingginya TIO.

Cara yang tidak konvensional adalah *uveo-scleral pathway* di mana cairan akuosa meninggalkan BMD dengan cara difusi melalui ruangan interseluler diantara fiber otot silier. Tidak banyak cairan akuosa meninggalkan bola mata melalui mekanisme ini.



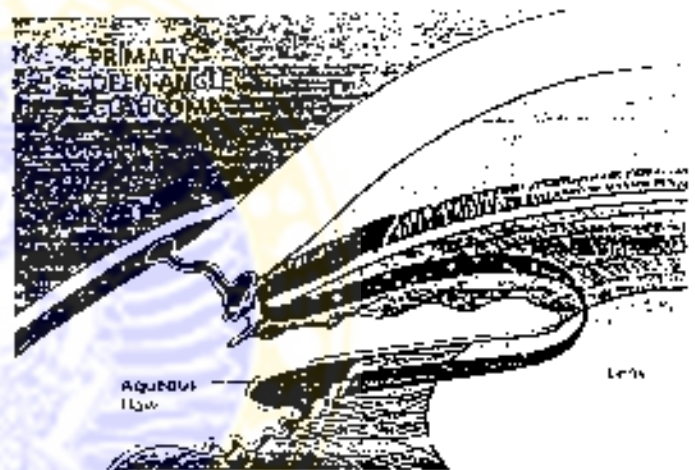
Gambar 2. Aliran cairan akuosa keluar bola mata
Setelah produksi oleh epitel badan silier, cairan akuosa masuk ke dalam Bilik Mata Belakang.; selanjutnya melalui pupil masuk ke dalam Bilik Mata Depan. Setelah BMD terdapat aliran utama melalui *Trabecular Meshwork* kemudian ke dalam Saluran Schlemm dan akhirnya ke *vena vorticosa*. Aliran kedua adalah melalui jalan uveo-sklera ke dalam pembuluh vena di dalam sklera. Aliran paling kecil adalah melalui stroma iris.

Di ambil dari Duane's Clinical Ophthalmology Vol 3, Chap 43, hal 2

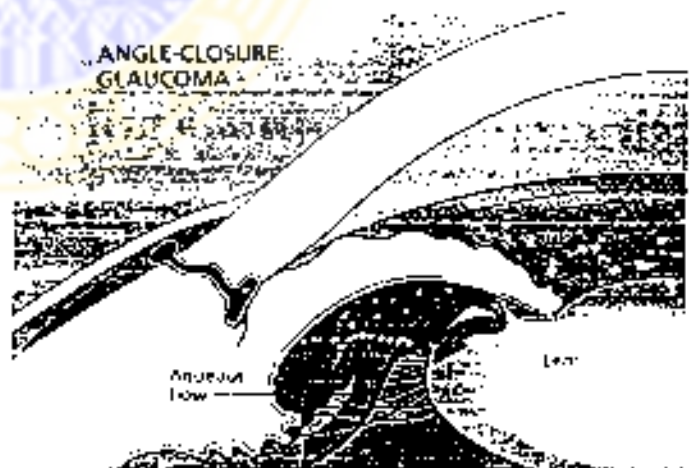
Dalam BMD yang terbuka aliran cairan akuosa leluasa mengalir kedalamnya, namun selanjutnya terhambat oleh banyaknya *plaque* yang menyumbat TM (Rohen, 1972; Lutjen-Drecoll, 1986) Hambatan ini meningkatkan TIO secara perlahan dan menyebabkan perjalanan penyakit GSBP yang panjang dan menahun.

Dalam BMD yang sempit / tertutup, aliran cairan akuosa terhambat pada daerah pupil (*pupillary block*) atau pada bagian perifer sudut BMD oleh karena PAS (*peripheral Anterior Synochiae*). Hambatan pada daerah pupil dapat terjadi sangat mendadak dan dapat menimbulkan GSBP Akut, sedangkan hambatan pada bagian perifer sudut BMD lebih sering menimbulkan GSBP *Creeping*.

Di dalam sudut yang terbuka, cairan akuosa dapat masuk kedalam BMD, namun terhambat pada *Trabecular Meshwork*



Di dalam sudut yang tertutup cairan akuosa tidak dapat masuk kedalam BMD



Gambar 1 Aliran cairan akuosa dalam sudut terbuka dan sudut tertutup
Diambil dari Basic and Clinical Science Course
AAO, 2001-2002, Section Glaucoma, hal 11 dan 12

2.3. Trabecular Meshwork

Trabecular meshwork terdiri dari jalinan jalur-jalur jaringan ikat yang tersusun membentuk ruangan-ruangan (*vacuol*). Pada TM yang terletak dekat uvea, besar ruangan ini $20\mu - 70\mu$ dan makin ke arah korneo-sklera vakuola menjadi makin kecil ($2\mu - 20\mu$). Jalur-jalur TM terdiri dari kolagen, fibronektin dan laminin (Acott,1996, Polansky, 1994, Yue,1996). Jalur-jalur tersebut tertutup oleh selapis sel TM yang memegang peranan penting untuk menciptakan sebuah keseimbangan antara *inflow* dan *outflow*.

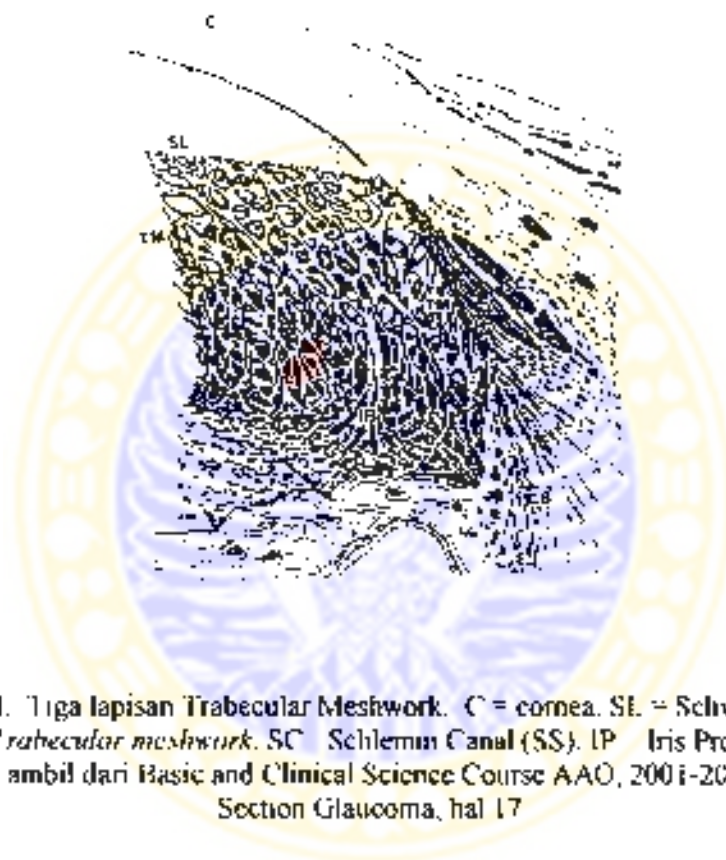
2.3.1. Bagian-bagian Trabecular Meshwork

Trabecular Meshwork terbagi dalam 2 bagian besar yaitu TM anterior yang tak berhubungan dengan filtrasi cairan akuosa dan TM posterior yang berfungsi sebagai alat filtrasi. TM anterior terletak di belakang garis Schwalbe dan tidak berhubungan dengan SS. Bagian ini diliputi sel trabekula yang sangat berdekatan letaknya dan berhubungan dengan keratosit dari bagian posterior kornea.

Lebih ke posterior terletak bagian kedua TM yaitu bagian yang berfungsi untuk filtrasi. Bagian ini dapat dikenal dari ketiga lapisannya mulai dari dalam ke luar :1) lapisan uvea yang letaknya paling dekat ke BMD, 2) lapisan korneo-sklera dan 3) lapisan *cribriform (juxtacanalicular)* yang mempunyai hubungan langsung dengan SS.

Bagian paling dalam adalah *uveal meshwork* dan merupakan lanjutan jaringan ikat yang berasal dari iris dan stroma badan silier, bagian ini seluruhnya tertutup endotel. Di bagian posterior, *uveal meshwork* berhubungan dengan badan silier dan akar iris dan di anterior dengan perlahan bentukan ini menyatu dengan lapisan dalam stroma kornea dan *corneo-veleral meshwork*. Lapisan ini terdiri dari jalur-jalur yang tidak sama besarnya namun tersusun *radial* dan saling berhubungan untuk kemudian

membentuk jaringan dengan pori atau lubang (diameter 10 –20 μ). Bagian ini tidak banyak berpengaruh pada hambatan *outflow* karena mempunyai ruangan atau vakuola yang relatif besar



Gambar 4. Tiga lapisan Trabecular Meshwork. C = cornea. SL = Schwalbe line
 TM = Trabecular meshwork. SC = Schlemm Canal (SS). IP = Iris Processes.
 Di ambil dari Basic and Clinical Science Course AAO, 2001-2001,
 Section Glaucoma, hal 17

Lapisan berikutnya yang terletak lebih ke dalam adalah lapisan *cornuoscleral meshwork* yang mulai dari taji sklera sampai ke kornea dan mengisi *sulcus sclera*. Bagian ini paling besar dari seluruh TM dan terdiri dari jalur-jalur pipih yang terbentuk dari glikoprotein, kolagen, asam hialuronik dan jaringan ikat elastik. Jalur ini dibungkus oleh sel mirip endotel yang terikat pada membran basal

Lapisan paling luar adalah lapisan *cribriform* (jaringan *juxtacumular* atau *endothelial meshwork* atau jaringan berpori) dan merupakan bagian TM yang terletak dekat pada dinding dalam SS. Bagian ini mengandung jaringan dengan fibril yang amat halus berupa *fiber* elastik dan sejumlah *fiber* seperti fibroblast dengan letak memanjang dan tersusun dalam lapisan. Sel-sel di dalamnya terendam dalam MES yang halus yang nampak seperti ruangan-ruangan kosong dan melalui ruangan kosong inilah cairan akuosa mengalir. Bagian ini merupakan tempat hambatan aliran cairan akuosa yang paling besar.

Lapisan berikutnya yang terletak lebih ke dalam adalah lapisan *corneoscleral meshwork* yang mulai dari tepi sklera sampai ke kornea dan mengisi *sulcus sclerae*. Bagian ini adalah yang paling besar dari seluruh TM dan terdiri dari jalur-jalur pipih yang terbentuk dari glikoprotein, kolagen, asam hialuronik dan jaringan ikat elastik. Jalur ini dibungkus oleh sel mirip endotel yang terikat pada membrana basalis.

Paling luar adalah lapisan *cribriform* (jaringan *juxtacumular* atau *endothelial meshwork* atau jaringan berpori) merupakan bagian TM yang terletak dekat pada dinding dalam SS. Bagian ini mengandung jaringan dengan fibril yang amat halus berupa *fiber* elastik dan sejumlah *fiber* seperti fibroblast dengan letak memanjang dan tersusun dalam lapisan. Sel-sel di dalamnya terendam dalam MES yang halus yang nampak seperti ruangan-ruangan kosong dan melalui ruangan kosong inilah cairan akuosa mengalir. Bagian ini merupakan tempat hambatan aliran cairan akuosa yang paling besar.

2.3.2. Fungsi Trabecular Meshwork

Trabecular meshwork merupakan alat filtrasi dalam BMD dan dikenal sebagai alat pembersih diri atau *self cleaning structure* yang memungkinkan TM bersih dari *debris*. Dalam saluran bersih, *outflow* berlangsung lancar sehingga keseimbangan IIO dapat di pertahankan

Sel-sel yang menyelimuti jalur-jalur dalam TM secara morfologis merupakan sel endotel dan mempunyai reseptor lipoprotein pada permukaannya seperti endotel pembuluh darah (Chang,1991). Sel TM merupakan endotel dengan fungsi utama fagositosis (Rohen, 1968; Grierson, 1973; Rohen 1975, Grierson, 1978; Richardson,1989; Polansky,1984; Grierson, 1986, Barak , 1988; Johnson, 1989, Buller,1990, Zhou, 1995).

Selain membersihkan TM dari *debris*, sel endotel mampu membersihkan sel darah merah, granula pigmen dari berbagai ukuran dan bakteri. Studi pada kera, kelinci dan kucing menunjukkan bahwa setelah menangkap *debris* sel TM berubah bentuk menjadi bulat, melepaskan diri dari jalur TM dan bermigrasi. Telah dibuktikan bahwa setelah fagositosis, sel TM kehilangan kemampuan perlekatanannya dengan membrane basalis (Zhou, 1995).

Terdapat 3 macam sel TM, 1) sel trabekula, yang menutup jalur-jalur coraco-scleral meshwork dan jalur-jalur uveal meshwork seperti lazimnya epitel yang selalu melekat pada basal lamina, sel trabekula ini berfungsi sebagai sel fagosit, 2) sel *cribriform*, yang tersebar tak merata pada MES lapisan cribriforma, sel ini tidak melekat pada basal lamina tetapi sel yang paling luar terikat pada endotel SS melalui hantukan sitoplasma seperti jamur. 3) sel endotel yang menyelimuti SS

Pada TM telah ditemukan reseptor spesifik untuk *neurotransmitter* dan *neuropeptide*, seperti asetilkolin dan epinefrin yang memungkinkan sel TM dapat mengetahui aktivitas fiber sensoris dan autonomik yang menginervasi jaringan TM. Selain itu, endothelin-1 dan bradikinin dapat merangsang mekanisme sinyal interseluler dalam TM. Meskipun demikian hingga kini belum diketahui dengan pasti bagaimana sel TM mendeteksi kenaikan TIO atau bagaimana deteksi tersebut dapat mengubah transkripsi gen yang timbul akibat rangsangan kenaikan TIO.

Dugaan sementara adalah bahwa mungkin *ion channels* dalam TM yang berubah bentuk akibat *stress* dan mengubah aktivitas channel yang akan membuka apabila TIO meningkat. *Stress* pada membran sel akibat meningkatnya TIO juga menyebabkan keluarnya K^+ dari sitosol dan pada waktu istirahat terjadi penurunan membran potensial sel. Belum diketahui apakah peristiwa ini menyebabkan ekspresi gen yang berubah atau aktivitas sel yang lain.

2.3.3. Permeabilitas Trabecular Meshwork

Inseri ligamen otot siliar pada TM menunjang terjadinya permeabilitas TM terhadap cairan akuosa. Apabila otot siliar berkontraksi, tempat insersi akan tertarik dan menyebabkan pelebaran rongga antar sel dalam TM, dengan demikian permeabilitas jaringan meningkat. Sejalan dengan itu aliran keluar melalui uvea-sklera menurun.

Sebaliknya apabila otot siliar relaksasi maka ruangan antar sel TM menjadi sempit yang menghambat aliran cairan akuosa keluar, namun sejalan dengan itu aliran uvea-sklera meningkat. Keadaan tersebut menunjukkan bahwa distribusi aliran cairan akuosa keluar di antara jalur TM dan jalur uveo-sklera tergantung pada tonus otot siliar.

Terdapat beberapa faktor lain yang mempengaruhi permeabilitas TM. Epinefrine dapat menginduksi merelaksasi otot siliar melalui aktivasi β_2 -*adrenoreceptor*, tetapi

obat ini menaikkan aliran cairan keluar melalui TM. Kemungkinan ada modulator lain berhubungan aliran cairan akuosa ini.

2.4. Perubahan Morfologi TM pada glaukoma

Perubahan morfologi sistem *outflow* telah banyak dipelajari pada GSBP. Pada umumnya hasil penelitian diperoleh berdasarkan pemeriksaan menggunakan *scanning electron microscopy* pada spesimen TM yang dituai saat melakukan trabekulektomi. Penelitian yang dilakukan oleh Potau dkk pada penderita GSBP stadium lanjut menunjukkan perubahan ultrastruktur TM yaitu berkurangnya sel endotel dan penebalan membrana basalis. Pada inti jalur-jalur TM terdapat peningkatan *plaque* dan degenerasi kolagen. Keadaan ini juga terdapat pada TM orang tua yang tidak menderita GSBP, namun pada GSBP perubahan tersebut terdapat dalam jumlah yang lebih besar (Potau, 2000). Banyak sekali penelitian TM penderita GSBP stadium lanjut telah dilakukan, namun hingga kini belum pernah dilakukan penelitian TM pada stadium dini GSBP.

Beberapa tahun sebelum Potau, telah dilaporkan bahwa berkurangnya *outflow* pada penderita GSBP disebabkan akumulasi MES dalam lapisan *cribriform* dan *juxta canalicular* TM (Rohen, 1972). Akumulasi MES pertama kali disebut sebagai '*plaque*' oleh Rohen. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa bahan '*plaque*' tersebut berasal dari penebalan serabut elastik (Lutjen-Drecoll, 1981; Rohen, 1981) dan terdiri dari elemen fibril yang terbenam dalam bermacam glikoprotein (Lutjen-Drecoll, 1986).

Lebih lanjut telah dibuktikan peningkatan ekspresi *uracil transglutaminase* (Tgase) dalam TM penderita GSBP (Welge-Luzen, 2000). Enzim Tgase diproduksi oleh meningkatnya TGF- β 1 atau TGF- β 2. Tgase ekstraseluler mengadakan polimerisasi fibronectin yang selanjutnya menyebabkan akumulasi MES.

Banyak sekali laporan penelitian morfologi TM penderita GSBP namun hanya satu laporan penelitian di temukan untuk penderita GSTP. Sihota melakukan penelitian pada GSTP Akut Ia menemukan edema menyeluruh TM disertai bentuk TM yang tidak teratur disertai vakuola yang makin kecil dan makin sedikit. Jalur-jalur TM menjatu pada beberapa tempat. Secara umum sel endotel banyak berkurang, sedangkan sel endotel yang tersisa berbentuk polimorfik dan bergerombol (Sihota, 2001)

2.5. Glaukoma Sudut Tertutup Primer

BMD yang sempit / tertutup dapat sewaktu-waktu menutup dan menghambat aliran cairan akuosa keluar bola mata. Terdapat tiga bentuk perjalanan penyakit GSTP, 1) GSTP Akut, yang timbul mendadak karena penutupan seluruh BMD, 2) GSTP Subakut, yang terjadi *intermitten* dengan serangan lebih ringan (hanya beberapa bagian saja dari seluruh BMD yang tertutup), dan 3) GSTP dengan perjalanan penyakit amat perlahan disebabkan penutupan sudut BMD yang terjadi secara perlahan dimulai dari dasar sudut BMD dan perlahan "merayap" ke anterior, karena itu kelainan ini dikenal sebagai GSTP *Creeping*. Apabila tidak dilakukan pemeriksaan yang cermat maka dengan mudah GSTP *Creeping* di kurukan dengan GSBP.

Pada ketiga bentuk GSTP tersebut penyebab utama kenaikan TIO adalah menutupnya sudut BMD. Penutupan tersebut dapat bersifat sementara karena aposisi iris terhadap kornea namun dapat pula bersifat menetap karena PAS (*peripheral anterior synechiae*)

2.5.1. Penyebab menutupnya sudut BMD

2.5.1.1. Faktor Anatomi

Dengan ditemukannya beberapa alat pemeriksaan yang canggih seperti *Ultrasound BioMicroscopy (UBM)* maka di ketahui bahwa parameter struktur organ dalam BMD penderita GSTP berbeda dibandingkan normal. Mata dengan sudut sempit atau tertutup mempunyai diameter kornea lebih kecil, BMD lebih dangkal, lensa lebih tebal dengan posisi lensa lebih ke anterior serta sumbu bola mata lebih pendek (Lowe, 1989). Terdapat korelasi antara parameter2 tersebut di atas. Sumbu bola mata pendek menunjukkan bola mata yang lebih kecil. Sesuai keadaan ini terdapat diameter kornea yang lebih kecil, BMD yang lebih dangkal serta lensa yang lebih tebal.

Dengan UBM ditemukan *TCPD (Trabecular-Ciliary Process Distance)*, *ACD-500 (Angle Opening Distance at 500micron from scleral spur)* serta *SCPA (Scleral Ciliary Process Angle)* yang kecil. Angka2 ini berbeda sangat bermakna antara GSTP akut, GSTP kronik dan mata normal (Marchini, 1998).

Pada umumnya tak ada perbedaan besar BMD mata kanan dan kiri, tetapi kedalaman BMD tergantung pada posisi permukaan anterior lensa yang ditentukan oleh posisi lensa sepanjang sumbu bola mata dan ditentukan pula oleh ketebalan lensa.

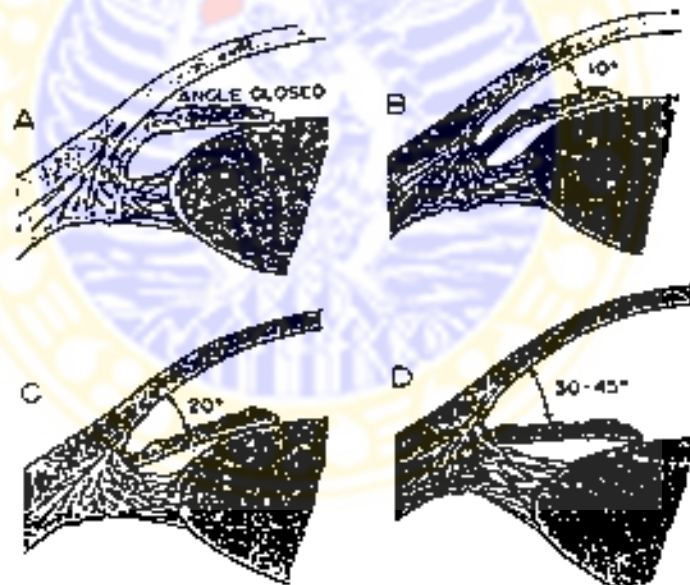
BMD dangkal dengan iris yang memencung merupakan bentuk umum BMD pada GSTP. Dalam keadaan ini diafragma lensa-iris terletak lebih ke anterior dibanding orang normal sehingga BMD menjadi dangkal dan sempit pada ujung sudut. Apabila sudut BMD menjadi amat sempit, TM dapat tertutup dengan mudah karena letak iris yang menjadi amat dekat ke kornea.

Terdapat pula konfigurasi iris berbentuk *plateau* yang memudahkan penutupan sudut BMD. Kedalaman normal terdapat pada bagian sentral BMD karena iris yang

datar, namun dataran iris tersebut tiba-tiba melekat sekali pada kornea dan tirus ke arah dasar sudut BMD. Dengan konfigurasi seperti ini maka apabila pupil menjadi lebar, maka segera sudut BMD tertutup secara mendadak.

Ketebalan lensa juga mempengaruhi kedalaman sudut BMD. Lensa tebal dalam BMD normal dapat menyebabkan BMD menjadi dangkal. Demikian juga pada bola mata yang relatif kecil, lensa normal dapat menyempitkan sudut BMD.

Faktor anatomi di atas merupakan faktor predisposisi menutupnya sudut BMD, tetapi faktor pencetus adalah paling penting untuk terjadinya penutupan sudut sebenarnya. Baik faktor fisiologi maupun faktor farmakologi dapat menjadi pencetus timbulnya serangan glaukoma



Gambar 5 Beberapa macam kedalaman sudut BMD

Berbagai kedalaman sudut Bilik Mata Depan A. Pada sudut yang tertutup, iris terdorong ke anterior setelah pupillary block. Iris yang menempel ke kornea akan menutup TM secara total B. Meskipun iris terdorong sedikit ke anterior, BMD masih sedikit terbuka C. Sudut yang termasuk golongan tertutup namun mempunyai kecenderungan kecil untuk menutup D. Sudut BMD yang terbuka lebar dengan BMD yang dalam

Di ambil dari Duane's Clinical Ophthalmology Vol 3, Chap 44, hal 12

2.5.1.2. Faktor fisiologi dan farmakologi

Serangan glaukoma dapat terjadi karena faktor fisiologi dan faktor farmakologi. Hambatan aliran cairan akuos dalam bola mata paling sering disebabkan blokade daerah pupil yang menyebabkan penimbunan cairan akuosa dalam BMB, keadaan ini menaikkan tekanan didalam BMB sehingga iris yang lentur akan mencembung kedepan (*iris bombe*) menyebabkan sudut BMD yang sempit menjadi makin sempit bahkan sampai tertutup sama sekali. Blokade daerah pupil dapat terjadi mendadak, keadaan ini menimbulkan serangan GSTP akut.

Faktor lain penyebab penutupan sudut BMD adalah bentuk dan diameter pupil. Dalam keadaan dilatasi (terutama posisi *mid-dilatation*) batas pupil merapat pada permukaan anterior lensa, pada posisi ini lebih mudah terjadi *relative pupillary block*, sehingga aliran cairan akuos akan terhambat pada daerah ini. Dengan cepat tekanan di dalam BMB meningkat menyebabkan *iris bombe* yang akan segera menutup sudut BMD (yang awalnya sudah sempit). Dengan demikian akan mudah timbul serangan GSTP yang akut pada keadaan ini.

Pupil yang terlalu kecil (*miosis*) dapat juga menyebabkan sudut BMD menutup. Kontraksi otot siliar badan siliar yang terjadi saat miosis akan merelaksasikan Zonula Zinni sehingga terjadi pergeseran lensa ke anterior; keadaan ini akan membuat sudut BMD makin sempit. Miosis juga memperbesar dataran iris yang menempel pada lensa, keadaan ini makin menghambat aliran cairan akuos dari BMB ke BMD.

Obat yang menyebabkan dilatasi pupil dapat juga berdampak pada timbulnya GSTP akut, karena dalam keadaan midriasis ketebalan iris yang terkumpul pada sudut BMD dapat menghambat cairan akuosa masuk ke dalam TM.

2.5.2. Mekanisme Menutupnya BMD

Beberapa faktor dapat menyebabkan sudut BMD sempit menjadi makin sempit atau tertutup. Faktor pertama adalah *relative pupillary block* yang menyebabkan *iris bombe* dan segera menutup BMD. Kedua, bentuk *plateau iris* di mana iris bagian perifer terletak amat dekat ke kornea bagian perifer, sehingga di perifer sudut BMD amat sempit namun di daerah anterior iris mendatar sehingga di sentral BMD narapak dalam. Keadaan ini sering ditemukan pada saat pupil dalam keadaan midriasis di mana akar iris seolah mengumpul pada sudut BMD yang paling dalam.

Wang telah meneliti penderita GSTP lebih dari 10 tahun Ia membuat *review* dari 76 artikel pilihan dari berbagai jurnal yang diterbitkan di Cina dan berbagai negara lain. Wang menyimpulkan bahwa GSTP adalah bentuk glaukoma yang paling sering ditemukan pada penduduk Sino Mongoloid. Menurut Wang ada 3 mekanisme penutupan sudut BMD : 1). Penutupan *multimechanism* yang terdapat pada 54.8% penderita. Penutupan sudut terutama terjadi secara *creeping angle closure* yang disebabkan karena kombinasi blokade pupil dan iris yang mengumpul pada dasar sudut BMD, blokade pupil dan posisi badan siliar yang amat ke anterior ataupun kombinasi antara ketiganya. 2). Pada 38.1% orang Cina terjadi penutupan sudut karena blokade pupil. Keadaan ini dapat menimbulkan serangan akut ataupun serangan subakut. Blokade pupil bereaksi baik sekali terhadap tindakan iridektomi (baik iridektomi memakai pisau maupun dengan sinar laser. 3). Penutupan sudut BMD tanpa blokade pupil, terjadi karena iris yang mengumpul pada dasar sudut BMD ataupun karena posisi badan siliar yang terlalu ke anterior. Keadaan ini jarang terjadi (7.8%) dan biasanya diderita orang muda berusia kurang dari 40 tahun. (Wang, 2002).

2.5.3. Klasifikasi GSTP

Terdapat beberapa macam cara pengelompokan bentuk klinis GSTP karena belum sepenuhnya patogenesis kelainan ini disepakati pakar glaukoma dunia. Dengan hanya memperhatikan gejala klinis saja maka pada awalnya GSTP dikelompokkan menjadi GSTP akut, GSTP subakut dan GSTP kronik. Tanpa pemeriksaan teliti menggunakan gonioskop maka sering GSTP kronik ini dikelirukan dengan GSBP.

Berdasarkan mekanisme penutupan sudut BMD, maka Duane mengelompokkan glaukoma menjadi bentuk primer dan sekunder. Bentuk primer glaukoma adalah apabila kelainan utama terletak pada sudut BMD dan bentuk sekunder apabila kelainan pertama terletak diluar sudut BMD yang akhirnya menyebabkan penutupan sudut BMD.

GSTP dapat juga dikelompokkan berdasar waktu dan sifat penutupan sudut BMD, dengan demikian terdapat bentuk GSTP akut, GSTP subakut (*intermittent*) dan GSTP kronik. Berdasarkan sifat penutupan TM maka GSTP dikelompokkan menjadi GSTP dengan penutupan berbentuk aposisi dan penutupan sudut akibat *synechiae*.

Ritch menyatakan GSTP akut yang kemudian menjadi tenang bukan GSTP kronik, melainkan dapat dikelompokkan menjadi 2 keadaan yaitu GSTP akut yang terkendali dengan pengobatan sehingga penderita menjadi normal kembali, dan GSTP akut yang terberkekalai akibat penanganan yang terlambat sehingga meninggalkan tanda sisa (berupa PAS) dan akhirnya menyebabkan kebutaan (Ritch, 2001).

Bonomi menyatakan bahwa secara klinis dapat timbul beberapa bentuk GSTP yang memerlukan terapi berbeda. Mata dengan sudut sempit mungkin berada dalam keadaan tersebut seumur hidup dalam kehidupan seseorang tanpa sekalipun menimbulkan serangan. Penderita ini tidak menderita glaukoma namun mempunyai risiko untuk mendapat serangan glaukoma. Penutupan sudut BMD dapat pula terjadi

secara intermiten dan berulang: bila terjadi serangan glaukoma akut ringan untuk waktu singkat, maka biasanya keadaan akan menjadi reda sendiri tanpa meninggalkan sisa (PAS) dan penderita tidak mendapatkan kerugian apapun pada ketajaman penglihatannya. Apabila terjadi serangan akut yang cukup lama, penderita mendapatkan GSTP akut dengan gejala klinis yang hebat yang dapat menyebabkan kebutaan dalam waktu singkat. Dalam perjalanan penyakitnya GSTP akut dapat menjadi baik setelah terapi dan dikenal sebagai GSTP Akut yang terkontrol. Apabila setelah terapi keadaan tetap buruk, biasanya sudah terdapat PAS yang luas dan penglihatan tetap buruk. Keadaan ini dikenal sebagai GSTP Akut Lanjut.

Apabila tidak pernah mendapatkan serangan akut, namun sudut BMD yang sempit makin memipit secara perlahan karena pembentukan PAS yang luas, keadaan ini menimbulkan Glaukoma Sudut Tertutup Primer *Creeping* atau *Creeping Angle Closure Glaucoma* (Bonomi, 2001). Sama seperti perjalanan penyakit GSBP maka penderita *Creeping Angle Closure Glaucoma* tak pernah merasakan sakit sehingga seringkali penderita baru sadar akan kekurangannya ketika kerusakan akibat glaukoma sudah parah dan penderita tak mampu lagi melakukan pekerjaan untuk kebutuhan dasar sehari-hari.

Klasifikasi Bonomi yang ditentukan oleh perjalanan penyakit dan gejala klinis, sulit ditetapkan pada orang Eropa di mana glaukoma dengan serangan akut dan hebat jarang didapatkan. Pada orang2 Eropa bentuk klinis GSTP yang tenang lebih banyak didapatkan. Sehubungan dengan itu Foster mengusulkan klasifikasi yang berbeda yaitu dengan membedakan secara cermat antara mekanisme meningkatnya TIO dengan akibat yang ditimbulkannya.

Menurut Foster sebuah mata dengan aposisi yang amat dekat antara bagian perifer iris dengan bagian posterior TM di sebut sebagai *Primary Angle Closure Suspect*. Orang dengan struktur segmen depan mata seperti ini secara klinis normal namun mempunyai risiko besar mendapatkan serangan glaukoma. Apabila pada sudut BMD yang sempit itu terjadi *pupillary block*, tekanan di dalam BMB meningkat tinggi mendorong iris yang lentur ke anterior (iris bombe) sehingga TM akan makin tertutup dan TIO makin tinggi. Keadaan ini dikenal sebagai *Primary Angle Closure*, (PAC). Aposisi iris dan lensa akan makin kuat sehingga dapat timbul *glaukomflecken* yaitu keadaan dimana pigmen iris tertinggal pada lensa dan menimbulkan kekeruhan lensa. Pigmen iris juga dapat menumpuk pada TM.

Dalam keadaan PAC, saraf optik masih dalam keadaan baik. Kalau akhirnya TIO yang terlalu tinggi menyebabkan kerusakan saraf optik barulah penderita dikenal sebagai *Primary Angle Closure Glaucoma* (PACG) atau GSTP (Foster, 2002).

Berbeda dengan Bionomi maka penderita PAC bagi Foster adalah juga mereka yang mendapatkan serangan namun kemudian sembuh tanpa sisa, sehingga status orang ini sebenarnya adalah normal. Di dalam klasifikasi Foster, istilah Glaukoma Sudut Tertutup Intermiten / Subakut dan Glaukoma Sudut Tertutup *Creeping* tidak dikenal.

ISGEO (*International Society for Geographical and Epidemiology Ophthalmology*) menganjurkan klasifikasi orang dengan BMD sempit sebagai berikut :

1) PACS (*Primary Angle Closure Suspects*) terdapat pada mata dengan fungsi baik namun mempunyai sudut BMD yang sempit / tertutup. 2) PAC (*Primary Angle Closure*) adalah mata dengan sudut BMD tertutup yang mendapatkan serangan atau meningkatnya TIO tinggi dan mendadak namun terkendalikan dengan baik sehingga tidak menyebabkan kerusakan saraf optik. 3) PACG (*Primary Angle Closure*

Glaucoma) adalah mereka dengan TIO tinggi yang akhirnya menyebabkan kerusakan saraf optik. Penderita PACG dapat didahului sebuah serangan (menimbulkan gejala) namun juga dapat menderita glaukoma tanpa serangan (akhirnya menderita kerusakan saraf optik tanpa pernah merasakan gejala). Kelompok terakhir ini sama dengan *creeping angle closure glaucoma* yang telah di kenal oleh Salmon (1998).

Penelitian ini menggunakan istilah GSTP Akut Lanjut untuk GSTP dengan serangan akut yang berlangsung terus menerus, GSTP Subakut untuk GSTP dengan serangan intermiten berulang yang diikuti gejala klinis yang ringan dan dapat menghilang spontan untuk kemudian muncul kembali, serta istilah GSTP *Creeping* untuk GSTP dengan penutupan sudut mulai dari dasar BMI dan menunjukkan perjalanan penyakit menahun tanpa gejala klinis dalam stadium awal.

2.5.4. GSTP *Creeping*

Perjalanan penyakit GSTP *Creeping* berlangsung menahun. Pada banyak kelainan, sebuah perjalanan yang panjang disebut sebagai penyakit kronik, namun istilah kronik dapat juga menggambarkan peristiwa lanjutan sebuah keadaan akut.

Lowe menggunakan istilah kronik dalam perspektif seperti itu. Ia menggunakan gonioskop dan meneliti berbagai bentuk glaukoma, selanjutnya ia mengelompokkan GSTP menjadi: 1) GSTP akut, 2) GSTP intermiten dan 3) *Creeping Angle Closure Glaucoma*, masing-masing bentuk glaukoma tersebut dapat berlanjut menjadi sebuah keadaan yang sama yang dikenal sebagai glaukoma khronik (Lowe, 1988).

Setelah *Ultra sound Biomicroscope* (UBM) di temukan oleh Pavlin dkk, morfologi segmen anterior mata dapat dipelajari dengan lebih baik sehingga pengukuran parameter organ segmen anterior dapat dilakukan dengan lebih tepat. Schubungan

dengan itu pengelompokan yang dianjurkan Lowe tidak lagi dapat digunakan karena ternyata ke tiga bentuk glaukoma tersebut mempunyai parameter anatomi berbeda.

Telah di sepakati kini bahwa glaukoma dengan perjalanan penyakit menahun merupakan sebuah kelainan anatomi segmen anterior bola mata di mana penutupan TM terjadi akibat aposisi iris terhadap kornea bagian perifer sehingga dalam keadaan lama akan terbentuk PAS. Ada 2 faktor predisposisi untuk terjadinya keadaan tersebut, pertama adalah blokade daerah pupil dan kedua yaitu konfigurasi iris berbentuk *plateau iris* (Salmon, 1998).

Blokade daerah pupil menyebabkan timbulnya *iris bombe* yang selanjutnya menutup sudut yang sempit itu dengan lebih kuat akibat aposisi iris terhadap daerah perifer kornea. Dengan demikian seluruh TM akan tertutup oleh iris sehingga cairan akuosa tak dapat masuk ke dalam TM dan menimbulkan GSTP Akut.

Aposisi menahun dapat disertai serangan subakut ringan dan berulang yang juga menyebabkan timbulnya perlekatan (PAS). Pada awalnya PAS berbentuk sempit mencapai daerah TM namun selanjutnya dapat melebar. PAS akan makin mempersempit sudut BMD yang awalnya sempit sehingga akhirnya TIO meningkat. Mekanisme penutupan sudut menahun seperti ini sering terdapat pada bangsa di Eropa dan glaukoma yang ditimbulkannya merupakan glaukoma dengan serangan berulang yang bersifat subakut (GSTP Subakut).

Mekanisme penutupan BMD pada GSTP *Creeping* merupakan penutupan sudut BMD yang dimulai dari dasar sudut BMD yang secara perlahan dan bertahap menutup seluruh BMD, seolah-olah perlekatan yang terjadi "merayap" dari dasar sudut BMD ke arah taju sklera dan akhirnya ke TM. Keadaan ini lazim dikenal sebagai *creeping angle closure*. Secara umum keadaan ini mengesankan iris yang bersersi ke anterior.

Apabila PAS telah secara permanen menutup BMD maka TIO akan meningkat, peningkatan TIO melampaui batas ketahanan lamina cribrosa akan menimbulkan glaukoma. Mekanisme penutupan ini sering terjadi pada bangsa2 di Afrika dan Asia.

Baik GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*, keduanya merupakan glaukoma sudut tertutup dengan perjalanan penyakit menahun. Tidak lagi tepat menggunakan istilah GSTP kronik untuk kedua keadaan tersebut, karena istilah GSTP kronik mempunyai makna yang terlalu luas.

2.6. Transforming Growth Factor-beta.

Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) merupakan sitokin multi-fungsi. TGF- β diproduksi dalam keadaan inaktif (laten), supaya dapat berfungsi maka sitokin ini harus di aktifkan secara biologis, hal mana terjadi apabila ada ikatan sitokin dengan MES. Proses aktivasi ini memerlukan *lyase, thrombin dan plasmin*. Dalam keadaan *in vivo*, TGF- β dilepaskan dari ikatannya melalui *thrombospondin-1* dan matrix glikoprotein yang bekerja dengan cara mengubah konformasi protein pengikat dan TGF- β yang laten. TGF- β dapat juga diaktifkan dengan cara melepaskannya dari prekursor memakai bantuan *plasmin*.

TGF- β mempunyai 5 isoform ($\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$ dan $\beta 5$) namun hanya $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$ saja diketahui terdapat pada manusia. Dikenal 3 jenis reseptor pada permukaan sel (TGF- $\beta 1$, TGF- $\beta 2$ dan TGF- $\beta 3$) dengan kemampuan mengikat sitokin ini. Ikatan TGF- β pada reseptor menimbulkan *inputs* atau sinyal yang diteruskan ke inti sel. Sinyal yang diteruskan mempengaruhi fase transkripsi gen khusus dan menstabilkan mRNA yang terbentuk untuk segera menjalani translasi. Setiap sel dalam tubuh (sel epitel, sel endotel, sel darah dan sel dalam jaringan) dapat memproduksi TGF- β .

Dan ketiga jenis TGF- β ini, maka TGF- β 2 terdapat paling banyak dalam bola mata (Tanihara, 1997). Kadar TGF- β 2 yang tinggi dilaporkan terdapat dalam cairan akuosa (Cousins, 1989; Grantin,1990, Jampel,1990). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa TGF- β 2 di produksi oleh TM, badan silier, kornea dan pigmen epitel retina (Helbig, 1991; Knisely, 1991; Tanihara, 1993; Nishida, 1994; Peress, 1994)

Pada umumnya mRNA untuk TGF- β 1 terdapat dalam sel endotel, sel darah dan sel jaringan ikat. mRNA untuk TGF- β 2 terdapat pada sel epitel dan sel saraf sedangkan mRNA untuk TGF- β 3 terdapat pada sel mesenchym. Selama masa perkembangan embrio TGF- β 1 dan TGF- β 3 diekspresikan saat organ di bentuk sedangkan TGF- β 2 di ekspresikan kemudian saat organ telah berkembang dan sel epitel mengalami diferensiasi.

Setiap isoform dibentuk sebagai bagian dari sebuah molekul prekursor besar yang mengandung sebuah daerah propeptid TGF- β . Selanjutnya TGF- β dilepaskan dari propeptid sebelum prekursor disekresikan oleh sel tetapi masih tetap terikat pada propeptide melalui ikatan non-kovalen. Setelah sekresi, sebagian besar TGF- β disimpan dalam MIES.

Baik kelebihan produksi maupun kekurangan TGF- β dapat menyebabkan kelainan dalam tubuh, seperti *atherosclerosis*, fibrosis pada ginjal, hati ataupun pada paru-paru. Mutasi gen untuk TGF- β ataupun reseptornya dapat menyebabkan timbulnya keganasan ataupun kelainan pembuluh darah.

2.6.1. Peran TGF- β

Transforming Growth Factor-beta merupakan protein dengan banyak fungsi seperti proliferasi dan diferensiasi sel, penyembuhan luka, pembentukan pembuluh darah baru dan perkembangan embrio. TGF- β memegang peranan penting pula pada fibrosis dan regenerasi jaringan dan juga TGF- β menjamin keseimbangan imun organ.

TGF- β merupakan regulator kuat untuk deposit MES, melalui 2 mekanisme berikut. Pertama adalah dengan merangsang fibroblast yang memproduksi protein untuk bahan MES serta protein untuk adhesi sel seperti kolagen, fibronectin dan integrin. Kedua, TGF- β menurunkan produksi enzim yang mendegradasi MES seperti kolagenase, heparinase dan stromelisin serta meningkatkan produksi protein yang menghambat enzim yang mendegradasi massa ekstra seluler seperti *plasminogen-activator inhibitor* dan *tissue inhibitor of metalloproteinase*. (TIMP) Hasil akhir adalah meningkatnya MES.

TGF- β berfungsi merangsang timbulnya pembuluh darah baru, menghambat aktivasi dan proliferasi sel radang. Pada sel normal TGF- β berfungsi sebagai penekan pertumbuhan tumor dengan cara menghambat proliferasi atau merangsang timbulnya apoptosis.

Secara umum TGF- β berfungsi dalam 2 peristiwa biologis. Pertama adalah fungsinya pada proses proliferasi dan diferensiasi sel. Jaringan dalam organ yang mengalami kerusakan kemudian masuk dalam stadium regenerasi menunjukkan kadar TGF- β yang tinggi. Sitokin ini juga berfungsi pada neoplasia dan fibrosis yang mengikuti kelainan menahun. TGF- β merangsang pertumbuhan sel *mesenchym*, sekaligus menghambat proliferasi epitel, endotel dan sel hematopoetik. Akibatnya sitokin ini merangsang pembentukan pembuluh darah baru. TGF- β merangsang

produksi komponen MES seperti fibronektin, kolagen dan proteoglikan. Ketiga protein ini berfungsi sebagai *ligand* untuk integrin pada permukaan sel. TGF- β dapat menaikkan produksi fiber setempat dengan cara meningkatkan chemotaksis dan proliferasi fibroblast.

Peristiwa kedua adalah sehubungan dengan efek imun dalam tubuh. Limfosit B mempunyai reseptor dengan afinitas tinggi terhadap TGF- β . Sitokin ini menekan proliferasi sel limfosit B dan produksi IgG dan IgM, serta merangsang sel limfosit B untuk memproduksi IgA

2.7. Nitrogen Oksida (NO)

Nitrogen Oksida merupakan molekul paling kecil di alam, karena hanya terdiri dari satu atom nitrogen dan satu atom oksigen. Karena kecilnya molekul ini maka dengan mudah NO melalui membran sel untuk menembus ke sel lain memungkinkan komunikasi antar sel yang amat baik.

Nitrogen Oksida adalah gas tidak berwarna, bersifat tidak stabil (waktu paruhnya hanya 6-30 detik) dan sangat reaktif. Nitrogen Oksida dapat dibentuk oleh bermacam sel dalam tubuh, membantu reaksi fisiologis dalam tubuh namun sekaligus juga dapat bersifat toksik apabila terdapat dalam kadar tinggi.

Nitrogen Oksida terbentuk karena oksidasi L-arginine melalui enzim NOS (*Nitric Oxide Synthase*). Terdapat 2 bentuk NOS yaitu *constitutive NOS* yang aktifitasnya tergantung pada kadar kalsium disekelilingnya dan memproduksi NO terus menerus. Bentuk ini terdapat dalam 2 *isoform* yaitu bNOS (brain NOS) dan eNOS (endothelial NOS) (Nathan C, 1994; Bredt, 1994)

Bentuk kedua adalah *inducible NOS* (iNOS) yang tidak tergantung pada kadar kalsium disekelilingnya, melepaskan NO dalam jumlah besar serta bersifat sitotoksik dan sitostatik, tidak saja terhadap patogen dalam tubuh melainkan juga terhadap sel yang sehat (Michael, 2000; Nathan C, 1991). *Inducible NOS* diproduksi oleh berbagai sel tubuh seperti fibroblast, makrofag, juga epitel iris dan badan silier. Produksi tersebut makin meningkat setelah mendapat rangsangan sitokin seperti interleukin-1 β , *tumor necrosis factor- α* dan lipopolysaccharide (LPS). (De Vos AF, 1994; Yoshida, 1994). Di dalam mata, pada sel otot badan silier dan sel endotel sepanjang TM dan SS terdapat eNOS, di tempat-tempat inilah NO diproduksi (Nathanson, 1995).

Dengan waktu paruh yang amat pendek maka NO hanya dapat berfungsi tidak jauh dari tempat gas tersebut diproduksi. Setelah masuk ke dalam sel NO pada umumnya akan berikatan dengan enzim *guanylate cyclase*, ikatan ini merupakan katalisator untuk pembentukan *cyclicGMP*, sitokin ini mengaktifasi signal intraseluler untuk merangsang respons khusus sel tersebut. Selanjutnya NO bereaksi dengan oksigen membentuk peroksinitrit, sebuah oksidan kuat.

Efek NO tergantung kadarnya dalam jaringan, makin tinggi makin toksik (Damoulis, 1997; Veeramachandri N, 1999) dan tergantung pula pada kecepatan dan saat NO diproduksi (Ing, 1999).

2.7.1. Peran Nitrogen Oksida

Nitrogen Oksida berfungsi pada banyak aspek dalam tubuh manusia. Di dalam sistem pembuluh darah NO diproduksi dengan bantuan eNOS. Endotel pembuluh darah memproduksi NO dalam keadaan basal, produksinya meningkat apabila terdapat rangsang yang menaikkan kalsium intraseluler yang selanjutnya mengaktifkan NOS. Mediator biokimiawi seperti *thrombin*, *adenosine difosfat* dan bradikinin merupakan

rangsang fisiologis yang menyebabkan produksi NO. Rangsang fisiko-kimiawi yang merangsang produksi NO adalah *shear stress* dan *cyclic strain*. Setelah diproduksi NO berdifusi dan sel endotel ke dalam sel otot polos di mana NO menyebabkan relaksasi otot polos dengan cara aktivasi *guanylate cyclase*.

Nitrogen Oksida melindungi tubuh dari serangan kuman dan virus. Hal ini ditunjukkan dengan meningkatnya kadar NO apabila sel darah putih mengenal adanya serangan kuman dan virus.

Di dalam susunan saraf pusat, NO merupakan *neurotransmitter* yang memungkinkan konduksi antar sel saraf berlangsung dengan baik. Sel saraf yang mempersarafi otot bergaris menggunakan *neurotransmitter* asetilkolin, di dalam otak *neurotransmitter* tersebut adalah GABA, namun dalam banyak organ lain belum dikenal bentuk *neurotransmitter* tersebut (kemungkinan besar adalah bahwa organ-organ tersebut menggunakan NO sebagai *neurotransmitter* -nya).

Keseimbangan IJO dalam mata dipertahankan oleh NO. Sebuah penelitian membuktikan bahwa sel kultur TM yang diberi tekanan hidraulik akan menyebabkan produksi NO, selanjutnya produksi ini meningkat sesuai dengan makin tingginya tekanan hidraulik yang diberikan pada sel tersebut (Matsuo, 2000). Penelitian lain menggunakan mata donor membuktikan apabila tekanan di dalam bola mata dinaikkan dari 10 mmHg menjadi 25 mmHg maka dengan signifikan akan terjadi kenaikan produksi NO dari 3.6 ± 0.9 pmol/min menjadi 5.9 ± 1.6 pmol/min, keadaan ini menunjukkan kenaikan sebesar 66% (Schneeman, 2003).

Percobaan hewan menunjukkan bahwa NO yang diteteskan pada permukaan bola mata ataupun disuntikkan ke dalam *vitreous* dapat menurunkan tekanan di dalam bola mata (Nathanson, 1992; Schuman, 1994; Wang, 1995; Heber-Cohen, 1996).

2.8. Apoptosis dan Nekrosis

Sel berfungsi sesuai struktur dan lokalisasinya di dalam organ, mengalami diferensiasi serta melakukan tugas khusus sesuai fungsi organ. Sel berhubungan dengan sekitarnya serta mengalami *stress* atau rangsang dari sekitarnya ; namun demikian dengan banyaknya perubahan yang dialami sebuah sel, ia tetap dapat melaksanakan fungsinya dengan baik.

Apabila terdapat rangsang yang melampaui batas ketahanan sel akan timbul kematian sel. rangsang tersebut berupa kekurangan aliran darah ke dalam organ, infeksi oleh kuman atau virus ataupun akibat reaksi imun.

Apoptosis dan nekrosis merupakan 2 buah bentuk kematian sel yang berbeda secara morfologi dan molekuler. Apoptosis adalah bentuk kematian sel yang fisiologis dan terkendali, keadaan ini terjadi setelah aktivasi program genetik di mana sel akan mengalami degradasi DNA dan selanjutnya kehilangan fungsinya. Apoptosis tidak menimbulkan reaksi radang di sekelilingnya. Nekrosis adalah bentuk kematian sel sebagai reaksi pasif terhadap jejas atau kekurangan oksigen di sekitar sel. Pada peristiwa nekrosis sel membengkak dan mengalami lisis, isi sel keluar dan menimbulkan reaksi radang di sekitarnya.

2.8.1. Apoptosis

Istilah apoptosis dipakai untuk peristiwa kematian sel berdasarkan program genetik (Kerr dan Curie, 1972). Istilah ini di ambil dari bahasa Yunani yang berarti terlepasnya daun dari pohon setelah daun itu menjadi layu di musim gugur (Apo berarti "terpisah dari" dan ptosis berarti "jatuh dan") Apoptosis dikenal juga dikenal sebagai *programmed cell death* yang merupakan proses fisiologis; karena itu apoptosis juga disebut *physiologic cell death* dan dikenal pula sebagai sebuah *active cell death*.

Apoptosis merupakan peristiwa yang terjadi aktif, terjadi normal pada perkembangan embryo tetapi juga pada perkembangan beberapa macam penyakit. Apoptosis terjadi dalam jaringan sebagai mekanisme mempertahankan sel untuk menjamin fungsi organ yang baik. Apoptosis juga berfungsi sebagai mekanisme pertahanan pada reaksi imun atau pada keadaan di mana sel menjadi rusak karena penyakit atau bahan2 racun.

Apoptosis terjadi juga pada proses menjadi tua. Dalam tubuh manusia setiap hari terbuang 70-100 triliun sel secara apoptosis. dengan cara ini homeostasis dalam tubuh manusia terjamin. Untuk tujuan homeostasis maka apoptosis terjadi sebagai mekanisme pembuang sel rusak (Lockshin, 1990); karena itu apoptosis merupakan peristiwa yang terjadi baik pada keadaan fisiologis maupun pada keadaan patologis.

2.8.1.1. Peran Apoptosis

Apoptosis diperlukan tubuh sama pentingnya seperti mitosis untuk proses perkembangan. Contoh keadaan ini adalah pembentukan jari tangan dan kaki semasa embrio, terlepasnya lapisan endometrium saat menstruasi dan contoh pada katak adalah menghitangnya ekor katak saat katak menjadi dewasa.

Apoptosis juga berfungsi untuk menghancurkan sel yang tidak lagi diperlukan tubuh, seperti sel T limfosit sitotoksik yang membuang sel yang telah terinfeksi oleh virus atau setelah sel kanker kena radiasi atau kemoterapi.

2.8.1.2. Bagaimana Apoptosis terjadi

Apoptosis terjadi akibat berkurangnya atau hilangnya signal positif atau akibat diterimanya signal negatif. Sel berfungsi dengan baik karena diterimanya rangsangan terus menerus dari sel lain di sekitarnya. Signal positif adalah misalnya *growth factor* untuk sel saraf atau IL-2, yang penting untuk mitosis sel limfosit. Signal negatif dapat

berupa meningkatnya kadar oksidan di dalam sel, kerusakan DNA oleh oksidan atau oleh sinar UV, sinar X ataupun obat-obatan kemo. Signal dapat juga berasal dari molekul yang berikatan pada reseptor spesifik pada permukaan sel yang memberikan signal sehingga program apoptosis dijalankan. Aktivator kematian sel ini adalah TNF (*Tumor Necrosis Factor*) yang mengikatkan diri pada TNF receptor, limfotoksin yang berikatan pada TNF receptor atau Fas Ligand, molekul yang berikatan pada reseptor spesifik pada permukaan sel yang disebut Fas (CD95). Peristiwa apoptosis seperti ini merupakan kejadian yang dirangsang keadaan dan luar sel.

Dari dalam sel, apoptosis dapat terjadi melalui jalur bcl2 dan bax, yang merupakan protein homolog, kedua protein ini bekerja seperti model "yin dan yang" Bcl-2 merupakan protein yang menekan peristiwa apoptosis dan bax adalah protein yang melancarkan timbulnya apoptosis. Kedua protein ini dapat berikatan bcl-2 + bcl-2, dapat juga berikatan bax+bax, namun dapat pula berikatan bcl-2 + bax. Apabila dalam ikatan bcl-2 + bax, bcl-2 lebih besar maka peristiwa apoptosis akan dicegah. Apabila bax lebih besar dalam ikatan bcl-2 + bax, maka peristiwa apoptosis akan segera terjadi.

Ikatan bax + bax menimbulkan lubang pada membran mitokondria sehingga *cytochromeC* akan masuk dalam sitoplasma sel, di mana protein ini bergabung dengan APAF-1 (*Apoptosis Activating Factor*). Ikatan ini akan berikatan lagi dengan pro-caspase 9 yang akan menjadi aktif dan mengaktifkan pro-caspase3 sehingga timbul caspase 3 yang akan segera memulai kejadian apoptosis.

Apabila ikatan yang terjadi merupakan ikatan bcl-2 + bax maka dalam membran mitokondria tidak akan terdapat lubang sehingga keduanya *cytochromeC* dapat dicegah. Dengan demikian apoptosis akan di cegah.

2.8.1.3. Tanda-tanda Apoptosis

Apoptosis terjadi pada sel satu persatu tanpa diikuti radang daerah di sekelilingnya. Perubahan yang terjadi pada sel terjadi bertahap sampai akhirnya sel yang mengalami apoptosis tersebut difagosit dan menghilang. Berturut-turut secara morfologis terjadi perubahan berikut: (Darzynkiewicz, 1996): 1) sel mengalami dehidrasi sehingga ukurannya menjadi makin kecil, 2) kondensasi kromatin dimulai dari bagian tepi nukleus di ikuti menghilangnya membran inti, 3) Fragmentasi DNA (tanda khas apoptosis) dan kondensasi *chromatin* dalam sel sehingga sel mengkerut 4) terbentuk *apoptotic bodies* yang merupakan benjolan pada membran sel.

Secara umum apoptosis ditentukan berdasarkan tanda-tanda kondensasi *chromatin* dalam sel, pecahnya dinding inti sel, aktivasi nuklease dan fragmentasi DNA, pembentukan *apoptotic bodies* dan sel apoptosis menunjukkan *cell surface markers* yang menyebabkannya sel apoptosis dikenali oleh fagosit yang akan mencynapkannya.

Secara biokimia sel yang sedang mengalami apoptosis menunjukkan penurunan *transmembran potential* pada *mitochondria*, peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS), eksternalisasi residu *phosphatidylserine* pada kedua lapis membran sel dan degradasi DNA dalam fragmen-fragmen sebesar 180.000 – 200.000 bp.

2.8.1.4. Rangkaian peristiwa apoptosis

Apoptosis merupakan proses aktif yang memerlukan energi dan di lanjutkan degradasi DNA, setelah itu secara keseluruhan sel akan dieliminasi dengan cara fagositosis. Peristiwa yang telah diprogram secara genetik ini terjadi dalam empat tahap berurutan dan saling tumpang-tindih (Cotran, 1999). Ke empat tahap tersebut adalah sebagai berikut : 1) tahap *signaling* (*signaling pathways*), 2) tahap modulasi dan

integrasi activator (*control of death activators and death effectors*), 3) tahap eksekusi (*common execution phase, nuclear and cellular fragmentation*) dan 4) tahap pembersihan (*removal of dead cells, apoptotic bodies*).

1. Tahap *signaling*.

Pencetus peristiwa apoptosis (*signals of apoptosis*) dapat dikelompokkan sebagai berikut: 1.1) stimulan khusus untuk terjadinya apoptosis (*specific death ligand*) yaitu substansi yang melalui interaksi antara *ligand* dan reseptor akan memicu tanda-tanda kematian (*death signals*). Dalam kelompok ini termasuk TNF- α dan *Fas-ligand*. 1.2) penurunan (*withdrawal*) kadar hormon dan hormon pertumbuhan; 1.3) keadaan yang menyebabkan kerusakan DNA seperti radiasi sinar UV, toksin dan radikal bebas; 1.4) stimulan yang langsung mengaktifkan tahap eksekusi seperti *caspase*.

2. Tahap modulasi.

Berbagai sinyal tahap pertama (*1st signal messenger*) yang mengaktifkan beberapa perangkat *2nd messenger* di dalam sel yang kemudian memodulasi *death activators* dan selanjutnya mengaktifkan *death effectors*. Termasuk golongan *death activator* adalah *transcription factors* dan Ca^{2+} ion. *Death activator* memodulasi kelompok protein *Bcl-2 family* yang kemudian memicu *death effector* (*Bax* dan *Bad*) atau menghambat *death effector* (*Bcl-2* dan *Bcl-xL*). Termasuk golongan *death effectors* adalah *protease*, *endonuclease* dan *transglutaminase*.

3. Tahap eksekusi.

Tahap ini merupakan bagian akhir peristiwa apoptosis dan terjadi segera setelah sel memutuskan diri untuk memasuki program kematiannya. Tahap ini berlangsung \approx 1 jam dan dapat ditentukan berdasar gambaran apoptosis berupa pembentukan benjolan pada permukaan sel (*apoptotic bodies*), kondensasi *chromatin* dan fragmentasi DNA.

Berbagai perangkat *death effector* seperti berbagai jenis enzim protease, endonuklease dan *transglutaminase* merupakan eksekutor yang dapat menyebabkan fragmentasi berbagai struktur di dalam sel. Enzim2 tersebut dapat bekerja karena didahului oleh rangkaian aktivasi kelompok enzim *caspase* sehingga terjadi aktivasi nuklease dan protease (Thomberry, 1998 , Cotran, 1999).

3.1) endonuklease memotong rantai DNA pada daerah internukleosom. Setiap nukleosom besarnya 180-200 bp, karena itu pemotongan menghasilkan fragmen DNA yang sama dengan kelipatan 180 – 200 bp

3.2) Protease memotong protein sitoskeleton dan berbagai struktur sel lainnya.

3.3) *Transglutaminase* menyebabkan *crosslinkage* dan berbagai struktur sel sehingga akhirnya sel akan mengkerat (*shrinkage*). Seluruh tahap eksekusi dapat dibagi dalam 3 peristiwa bertuntutan yaitu : 1. Tahap Reorganisasi *Actin* Pada tahap ini sel melepaskan diri dari MFS di dasar sel, selanjutnya melakukan reorganisasi *actin* sehingga sel berbentuk bulat. *Actin* akan berbentuk cincin pada bagian perifer dalam persiapan untuk membentuk benjolan (*bleb*). 2. Tahap kontraksi Actin-MyosinII atau tahap pembentukan *bleb* Keadaan ini terjadi karena aktivitas myosin II, pada saat yang sama hubungan membran dan *actin* melemah pada beberapa tempat dan menimbulkan penonjolan di tempat yang lemah. 3. Tahap Disolusi *Actin* atau tahap Kondensasi saat pembentukan *bleb* berhenti dan diikuti pelepasan *apoptotic bodies* atau kondensasi menjadi bola kecil dengan *actin* yang mengalami degradasi. Mengecilnya sel merupakan persiapan supaya lebih mudah dapat di sel apoptosis fagosit (Mills , 1999)

4. Tahap eliminasi

Apoptotic bodies yang baru terbentuk merupakan *ligand* bagi fagosit yang akan menelan atau mengeliminasi *apoptotic bodies*. Proses tersebut terjadi melalui sebuah

ligand-receptor interaction. Savil (1993) menemukan struktur baru pada sel yang sedang mengalami apoptosis serta reseptor komplementernya pada fagosit, berikut ini :

- (1). *Sialic acid side-chain sugar* yang berinteraksi dengan *lectin receptor* dari fagosit.
- (2). *Thrombospondin* yang berinteraksi dengan *thrombospondin receptor* pada fagosit.
- (3). *Phosphatidylserine* yang berinteraksi dengan *phosphatidylserine receptor*.

2.8.1.5. Mendeteksi dan menghitung apoptosis

Mengukur apoptosis tidak mudah karena peristiwa ini berlangsung singkat (6 jam), terjadi pada sel satu persatu dan perubahan morfologis baru nampak setelah sel memastikan diri untuk mati. Setelah apoptosis, sel menghilang karena di telan oleh fagosit dan tidak meninggalkan sisa (tak ada tanda peradangan). Hingga kini teknik menghitung apoptosis belum sampai pada penghitungan yang spesifik dan sensitif yang memungkinkan mengukur apoptosis secara teliti.

2.8.1.5.1. Teknik penghitungan berdasar perubahan morfologi sel.

A. Perubahan morfologi di lihat dengan mikroskop cahaya.

Pengerutan sel merupakan bentuk morfologis yang paling mudah di lihat sehingga dapat di hitung. Di samping itu dapat juga di lihat sel yang terlihat ada kondensasi chromatin serta mempunyai *apoptotic bodies*. Jumlah sel yang menunjukkan apoptosis dikenal dengan indeks apoptosis, yaitu jumlah sel yang mengalami apoptosis dalam setiap 100 sel dalam jaringan.

B. Perubahan morfologi di lihat dengan mikroskop elektron

Dengan mikroskop elektron perubahan sel yang mengalami apoptosis dapat dilihat dengan lebih teliti, namun pemeriksaan dengan mikroskop elektron terlalu canggih untuk sebuah pemeriksaan rutin sehingga cara ini lebih sering digunakan untuk memperoleh informasi kualitatif tentang apoptosis.

C. Perubahan *cell scatter pattern* di ukur dengan *flow cytometry*.

Integritas membran sitoplasma menghilang dengan segera pada nekrosis tetapi pada umumnya menetap dalam stadium dini apoptosis. Pada stadium lebih lanjut terjadi perubahan sitoskeleton yang menyebabkan timbulnya *apoptotic bodies*. Fenomena ini dapat diamati menggunakan *flow cytometry*, dengan alat ini diukur perubahan yang berakhir sebagai sebuah *scatter pattern*. *Forward light scatter* menggambarkan diameter sel dan *right angle scatter* mengukur struktur bagian dalam sel. Pada stadium awal apoptosis membran sel masih intak meskipun sel mengeriput, sedangkan pada peristiwa nekrosis sel membengkak dengan segera sehingga terjadi kerusakan membran sel. Ini berarti bahwa pada stadium apoptosis, *forward scatter* akan menghilang, sedangkan *right angle scatter* akan meningkat atau tetap (Darzynkiewicz, 1992).

2.8.1.5.2. Teknik penghitungan berdasar fragmentasi DNA

A. Mengukur aktivitas endonuklease

Pengukuran secara langsung fragmentasi DNA yang terjadi karena aktivitas endonuklease, merupakan sebuah petunjuk (*marker*) khas apoptosis dan merupakan pengukuran yang sering di gunakan. Endonuklease bekerja pada penghubung antar nukleosom karena itu di hasilkan potongan-potongan DNA sebesar 180-200bp. Pemotongan ini menunjukkan gambaran tangga (*ladder of bands*) apabila diperiksa dengan *agarose electrophoresis gel*

B. Mengukur kandungan DNA dengan *flow cytometry*

Sebagai akibat aktivitas endonuklease, banyak DNA hilang dari inti sel maka sel yang mengalami apoptosis menunjukkan pengecatan DNA yang rendah apabila di ukur dengan *flow cytometry*.

C. Menandai potongan2 DNA

Aktivitas endonuklease menghasilkan potongan-potongan DNA yang seragam besarnya. Ujung potongan berupa 3 hydroxyl dapat ditandai oleh beberapa modifikasi nukleotid (seperti biotin-dUTP, fluorescein-dUTP) melalui sebuah reaksi yang dikatalisir oleh terminal desoxynucleotidyl transferase (TdT). Paling sering digunakan kini adalah TdT mediated X-dUTP nick end labeling (TUNEL)

2.8.1.5.3. Teknik penghitungan berdasar perubahan membrane sel

A. Mengukur pengecatan yang terbangun

Fase inisiasi apoptosis di mulai dengan perubahan dinding sel. Berbeda dengan nekrosis, selama peristiwa apoptosis integritas sitoplasma dan fungsi transpor aktif melalui membran masih bekerja dengan baik, jadi sel masih mempertahankan asimetri yang baik antar kedua lapis membran selnya. Karena fungsi transpor aktif membran masih baik maka sel yang mengalami apoptosis tidak akan mengecat Trypan Blue atau PI, sebaliknya sel yang mengalami nekrosis akan mengecatnya.

B. Pengecatan dengan *Annexin V* assay untuk mengenal *Phosphatidylserine*

Perubahan membran plasma pada sel yang sedang mengalami apoptosis merupakan redistribusi bermacam spesies fosfolipid di antara kedua lapis membran sel. Dalam keadaan sehat, sel mempertahankan asimetri di antara kedua lapis membrannya. Tanda khas asimetri ini adalah tidak terdapatnya *phosphatidylserine* (PS) pada lapis luar membran sel. *Annexin V* merupakan bahan yang dapat secara spesifik mengikat PS pada sel apoptosis apabila terdapat Ca^{++} . *Annexin* merupakan bahan diskriminator kuat untuk

membedakan sel yang sedang mengalami apoptosis dari sel yang sedang mengalami nekrosis. Teknologi ini menunjukkan bahwa PS yang terdapat pada permukaan sel yang sedang mengalami apoptosis merupakan gambaran umum dan khas apoptosis, tanpa tergantung pada penyebab apoptosis.

Selubungan dengan afinitas yang tinggi dan membran yang mengandung PS terhadap Annexin V maka pemeriksaan ini mudah dilakukan. Sel yang mudah terikat Annexin dicampur dalam sebuah media mengandung 1.8mM calcium. Propium Iodide (PI) 2µg/ml ditambahkan pada campuran tersebut untuk mengecat sel yang mempunyai integritas membran sel yang masih baik. Annexin V akan segera mengikat sel dengan PS pada permukaannya. Karena itu analisa dapat segera dilakukan setelah campuran tersedia tanpa perlu inkubasi ataupun mencucinya (*washing out*). Analisis dilakukan menggunakan mikroskop fluorescein dan *flow cytometry*. Dengan cara ini sel yang baik dan sel yang mati dapat segera di bedakan, karena sel sehat tak mengandung cat. Sel apoptosis dengan membran sel yang masih intak hanya akan terikat oleh Annexin V sedangkan sel yang mengalami nekrosis sekunder (yaitu fase lanjutan apoptosis) akan mengecat keduanya .

2.8.1.5.4. Tehnik penghitungan berdasar perubahan sitoplasma

A. Perubahan aktivitas enzim di dalam sel

Enzim intrasel memegang peranan penting pada fase eksekusi apoptosis guna menjamn proses fagositosis yang baik. Caspase mempunyai peranan utama pada peristiwa apoptosis. Setiap anggota keluarga caspase yang merupakan sebuah *cysteine protease* mempunyai kemampuan yang tak lazim untuk memisahkan substrat setelah asparta residu. Dengan melakukan

mapping pada *cleavage site* PARP, di temukan tetrapeptide sebagai tempat *cleavage* caspase3. Dengan menganalisa aktivitas caspase 3 dapat di ketahui aktivitas ensim ini yang sekaligus menggambarkan apoptosis dalam jaringan. Protease ini sederhana, sangat peka dan dengan cepat dapat diukur dalam sebuah *cell lysate*

B. Pengukuran calcium flux

Meningkatnya Ca^{2+} dalam sitosol juga merupakan tanda proses apoptosis. Meningkatnya Ca^{2+} dalam sitosol yang diukur dengan *probe* khas untuk Ca^{2+} merupakan sebuah indikator kuat kematian sel.

C. Pengukuran disfungsi mitokondria

Saat kini *mitochondria* dianggap sebagai pusat penentuan terjadinya apoptosis. Menurunnya *mitochondrial membrane potential* merupakan tanda awal dan umum apoptosis. Menurunnya *membran potential* secara mendadak terjadi sebelum fragmentasi DNA, dan penurunan ini merupakan tanda pening (*point of no return*) untuk sebuah sel yang telah menentukan saat kematiannya. Karena *membrane potential* menurun maka sel kehilangan kemampuannya untuk menyimpan fluorochrome (Rhodamine 123) di dalam *mitochondria*.

2.8.2. Nekrosis

Nekrosis adalah sebuah bentuk kematian sel yang bersifat pasif, katabolik dan terjadi pada jaringan hidup (kematian sel pada jaringan yang diawetkan bukan peristiwa nekrosis). Nekrosis dapat terjadi sebagai reaksi terhadap jejas yang besar / hebat (berkurangnya suplai darah secara mendadak dalam jumlah besar ke dalam sebuah organ) atau dapat terjadi karena bahan sitotoksik yang berlebihan. Apabila apoptosis

menupakan peristiwa "bunuh diri" (kematian sel itu direncanakan) maka nekrosis merupakan kematian sel yang mendadak atau "pembunuhan sel". Apabila apoptosis terjadi pada sel satu persatu maka nekrosis terjadi pada segerombolan sel sekaligus.

2.8.2.1. Tanda-tanda Klinis Nekrosis

Organ yang mengalami nekrosis menunjukkan tanda pembengkakan dengan kemerahan karena vasodilatasi. Apabila banyak terdapat sel saraf perasa dalam organ itu maka akan timbul rasa sakit yang hebat. Pada umumnya orang dengan kelainan jaringan yang mengalami nekrosis menunjukkan tanda kesakitan (pada apoptosis keadaan ini tidak pernah terjadi).

2.8.2.2. Mekanisme terjadinya Nekrosis

Nekrosis diawali ketidak-mampuan sel untuk menjaga homeostasis, yaitu keadaan di mana sel tidak bisa mengontrol volumenya akibat gangguan permeabilitas membran sel. Perubahan morfologis yang terjadi pada nekrosis adalah akibat 2 proses yaitu kerusakan enzim dan denaturasi protein. Pada peristiwa nekrosis, membran sel mengalami kerusakan sehingga kehilangan kemampuan permeabilitasnya yang selektif. Akibatnya akan terjadi pembengkakan sel beserta *organelle* di dalam sel. Demikian juga dengan mitokondria, akhirnya terjadi kebocoran dan isi sel akan keluar. Aktivasi enzim-enzim seperti hidrolase, fosfolipase, protease, RNA-ase dan DNA-ase selanjutnya akan menyebabkan disintegrasi sel dan inti sel di mana bahan yang keluar akan menimbulkan reaksi radang untuk daerah di sekeliling nekrosis. Degradasi DNA pada nekrosis terjadi tidak sebanyak pada apoptosis dan produk degradasi berupa potongan-potongan DNA yang tidak sama panjangnya.

2.8.2.3. Tanda-tanda Nekrosis

Membran sel yang rusak adalah bentuk pecahnya membran sel, diikuti membengkaknya seluruh sel beserta inti sel. Inti sel yang membesar / membengkak nampak lebih gelap (*pyknosis*) selanjutnya akan pecah (*karyolysis*) dan sering terjadi bersamaan pecahnya membran sel. Terdapat potongan-potongan DNA dengan besaran yang berbeda-beda.

2.9. TGF- β 2 dan Glaukoma

Isoform TGF- β 2 adalah isoform yang paling banyak terdapat di dalam bola mata (Tanihara, 1997). Sitokin ini ada dalam kadar tinggi di cairan akuosa (Granstein, 1990; Jampel, 1990). Selain itu sitokin ini juga terdapat dalam air mata (Connor 1989, Kokawa, 1996).

Di dalam mata TGF- β 2 di produksi oleh organ segmen anterior mata seperti TM, badan silier, kornea dan juga oleh sel epitel pigmen retina (Helbig, 1991, Kinsely, 1991, Nishida, 1994, Tanihara, 1993 dan Tripathi, 1994). Sitokin ini diproduksi dalam keadaan laten dan supaya bisa berfungsi maka sitokin ini harus diaktifkan dulu.

Peress (1994) menggunakan mata donor segar dan membuktikan bahwa epitel badan silier memproduksi TGF- β 2 dan TGF- β 3. Wordinger (1998) menggunakan sel kultur TM dan menemukan berbagai jenis mRNA untuk beberapa hormon pertumbuhan seperti TGF- β , HGF, EGF, PDGF, FGF dan TNF- α .

Jampel (1990) menggunakan cairan akuosa dari penderita yang menjalani ekstraksi katarak dan menemukan kadar TGF- β sebesar 2.3-8.1 ng/ml di mana 61% berada dalam keadaan aktif. Dari 24 sampel yang diperiksanya semuanya adalah jenis TGF- β 2 dan tidak satupun sampel mengandung TGF- β 1.

Tripathi (1994) meneliti kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa 15 penderita GSBP stadium lanjut dan membandingkannya terhadap 15 orang normal yang menjalani ekstraksi katarak. Jumlah total TGF- β 2 dalam cairan akuosa orang normal berkisar di antara 0.41 – 2.24 ng/ml (mean \pm SD: 1.48 ± 0.68 ng/ml) di mana 4.88 37% berada dalam keadaan aktif. Dibandungkan orang normal maka penderita GSBP menunjukkan kadar TGF- β 2 yang lebih tinggi, yaitu 2.70 ± 0.76 ng/ml ($p < 0.01$) dan bentuk aktifnya juga lebih tinggi yaitu 18.33 ± 15.50 % ($p < 0.05$).

Inatani (2004) membandingkan kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa 40 penderita GSBP, 26 penderita GSTP (Inatani tidak menunjukkan jenis GSTP), 18 penderita *Pseudoexfoliation syndrome* dan 7 penderita glaukoma sekunder disebabkan uveitis. Pada penderita GSBP, Inatani menemukan kadar 293.6 ± 33.6 pg/ml, pada GSTP ditemukannya 147.5 ± 28.1 pg/ml, pada *Pseudoexfoliation Syndrome* 135.8 ± 30.2 pg/ml dan pada glaukoma sekunder 41.0 ± 10.7 ng/ml. Keadaan ini menunjukkan bahwa pada GSBP kadar TGF- β 2 lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.0005$) dan menyatakan bahwa TGF- β 2 mempunyai peran pada patogenesis GSBP.

Ozcan (2004) membandingkan kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa 17 penderita GSBP terhadap 6 penderita katarak, dan menemukan pada penderita GSBP kadar yang lebih tinggi (2.74 ± 1.23 ng/ml) secara bermakna ($p = 0.02$) dibandingkan penderita katarak (1.67 ± 0.3232 ng/ml).

Penelitian mutakhir dilakukan Yamamoto (2004) yang mengukur kadar TGF- β 2 cairan akuosa 96 penderita katarak berusia 17-88 tahun, serta membandingkan TGF- β 2 terhadap usia penderita, panjang sumbu bola mata dan lokalisasi kekeruhan lensa. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa total TGF- β 2 menurun dengan meningkatnya usia, berubah kadarnya sesuai perubahan panjangnya sumbu bola mata, berubah kadarnya

sesuai lokalisasi kekeruhan lensa dan secara statistik lebih tinggi ($p < 0.05$) pada GSBP dibandingkan katarak. Ia juga menemukan bahwa penderita Diabetes Mellitus yang telah mengalami fotokoagulasi panretinal mempunyai kadar TGF- $\beta 2$ cairan akuosa yang tinggi.

Penelitian kadar TGF- $\beta 2$ dalam cairan akuosa berbagai jenis GSTP belum ditemukan peneliti sepanjang penelitiannya.

2.10. Nitrogen Oksida dan glaukoma

Baik produksi NO yang berkurang ataupun yang berlebihan dapat menimbulkan kelainan mata. Telah diketahui bahwa eNOS dan nNOS diaktifkan pada jaringan normal untuk memproduksi NO guna menjamin fungsi fisiologis organ. Produksi NO yang menurun menyebabkan kelainan mata dan dapat dikoreksi dengan cara memberikan NO donor guna menurunkan TIO, meningkatkan aliran darah ke dalam bola mata dan merelaksasi otot siliar. *Inducible* NOS hanya diproduksi dalam keadaan patologis akibat endotoksin, peradangan dan rangsang beberapa sitokin seperti IL-1, IL-6 dan TNF- α . Sekali diproduksi eNOS akan menyebabkan produksi sejumlah besar NO untuk jangka panjang sehingga NO diubah menjadi nitrit, nitrat, peroksinitrit dan radikal bebas. Produksi NO yang berlebihan pada mata dapat berakhir sebagai degenerasi saraf optik, degenerasi retina dan secara klinis nampak sebagai glaukoma, *age-related macular degeneration*, katarak ataupun uveitis.

Perubahan saraf optik yang terjadi pada glaukoma dihubungkan dengan meningkatnya TIO atau gangguan aliran darah ke dalam bola mata khususnya pada retina, *choroid* dan kepala saraf optik. Banyak obat-obatan seperti pilocarpin, timolol, dorzolamid, latanoprost telah digunakan untuk meningkatkan *outflow* atau untuk

melebarkan pembuluh darah sehingga meningkatkan aliran darah, dan ternyata semua fungsi tersebut dapat dikerjakan oleh substrat NOS seperti L-arginine dan analognya (Liu, 1995; Chiou, 1995) atau dengan memakai donor NO seperti *nitroprusside* (Nathanson, 1992).

Trabecular Meshwork berfungsi sebagai klep yang melebar apabila jumlah cairan akuosa di dalamnya meningkat dan mengecil apabila cairan yang akan dikeluarkan sedikit jumlahnya. Dengan cara inilah dapat dicegah timbulnya amplitudo perubahan TIO yang terlalu besar. Sel endotel yang menyelimuti TM telah lama dikenal mempunyai susunan mikrofilamen yang sempurna di dalam sitoplasma. Dari percobaan menggunakan sel endotel TM diketahui bahwa sel ini mirip sel otot polos (Lepple-Weinhues dkk, 1991), sel ini mengalami kontraksi apabila diberi bahan antagonis *cholinergic* tetapi mengalami relaksasi apabila diberi antagonis NO. Selain itu telah dibuktikan pula bahwa saluran keluar cairan akuosa ini dan epitel badan silier adalah tempat produksi NO (Nathanson, 1995). Telah dibuktikan bahwa pada endotel pembuluh darah, NO merupakan alat regulator tekanan darah, sehingga dipikirkan kemungkinan endotel TM berpengaruh pula pada pengaturan TIO.

Penelitian yang dilakukan di Taipei meliputi 87 penderita glaukoma dan 65 penderita katarak. Pada penderita glaukoma didapatkan kadar NO cairan akuosa yang lebih tinggi ($p < 0.05$) dibandingkan katarak, namun dalam kelompok glaukoma kadar tersebut berbeda sesuai jenis glaukoma. Penderita glaukoma juvenilis mempunyai kadar NO paling rendah (8.4 ± 0.9 nM), penderita GSITP akut (64.8 ± 7.6 nM) dan paling tinggi pada glaukoma neovaskular (67.3 ± 8.2 nM). Didalam plasma kadar itu tidak berbeda bermakna ($p = 0.91$) (Chang, 2000). Penelitian ini menunjukkan bahwa tingginya TIO dapat merupakan faktor pembeda.

Dari sebuah penelitian yang membandingkan 11 penderita GSTP Akut terhadap 14 penderita katarak didapatkan kadar NO cairan akuosa yang lebih tinggi secara bermakna ($p < 0.001$) pada penderita GSTP Akut (Chiou, 2001). Kesimpulan yang diambil dari hasil penelitian ini adalah bahwa tingginya produksi NO pada GSTP Akut menggambarkan derajat kerusakan sel ganglion retina karena iNOS terdapat dalam jumlah banyak pada *astrocyt* saraf optik dan retina.

Kadar NO cairan akuosa dan plasma dari 16 penderita GSTP Akut, 29 penderita katarak dan 30 orang normal (sukarelawan) telah diteliti. Ada perbedaan perbandingan kadar untuk plasma dan cairan akuosa. Kadar NO plasma penderita GSTP Akut secara signifikan lebih rendah ($p < 0.01$) dibanding orang normal, tetapi penderita katarak mempunyai kadar NO dalam plasma yang lebih tinggi dibanding normal ($p < 0.01$). Dalam cairan akuosa, kadar NO penderita GSTP Akut tidak berbeda dibanding orang normal ($p > 0.05$), sedangkan pada katarak kadar itu lebih tinggi ($p < 0.01$) dibanding orang normal. Perbandingan NO dalam cairan akuosa terhadap plasma pada orang normal adalah 47.3%, pada penderita katarak 57.9% dan pada glaukoma perbandingan itu = 144%. (Han, 2001). Kesimpulan yang dapat diambil adalah bahwa pada GSTP Akut produksi NO dalam bola mata tinggi sekali.

Studi kadar NO cairan akuosa menggunakan sampel yang lebih bervariasi telah dilakukan Cham-Jung yang mempelajari 28 penderita GSBP, 8 glaukoma sekunder (karena neovaskularisasi) dan 30 penderita katarak. Terdapat perbedaan produksi NO sesuai jenis kelainan. Penderita glaukoma sekunder mempunyai kadar NO paling tinggi dan penderita GSBP paling rendah (Cham-Jung, 2002). Cham-Jung menyatakan bahwa kadar NO dapat merupakan indikator untuk prognosa visus penderita

Pada tikus dengan glaukoma buatan (dengan cara memblokir aliran keluar cairan akuosa memakai sinar laser, TIO telah berhasil dinaikkan 2 – 2.6 kali), ditemukan hilangnya sel ganglion retina sebesar \pm 29.8% dan total produksi NO meningkat 2.4 kali. Kenaikan produksi NO ini bermakna ($p = 0.016$) namun tidak menimbulkan pengganggu cawan optik yang bermakna ($p >0.05$) (Siu, 2002)

Meningkatnya TIO merupakan faktor risiko untuk timbulnya kerusakan saraf optik dan hal ini dipelajari pada GSBP. *Trabecular Meshwork* yang berfungsi sebagai klep untuk aliran cairan akuosa akan mengalami relaksasi apabila diberi NO *agent*. Sehubungan dengan itu diteliti kadar NO dalam cairan akuosa 16 penderita GSBP terhadap 14 penderita katarak. Ternyata kadar NO pada GSBP secara signifikan ($p = 0.001$) amat rendah (Dogonay, 2002). Kesimpulan yang diambil adalah bahwa berkurangnya produksi NO pada penderita GSBP disebabkan berkurangnya sel yang memproduksi NO.

Referensi terakhir yang ditemukan peneliti menggambarkan sebuah penelitian yang di lakukan di Polandia yang membandingkan 14 penderita GSBP dan 12 GSTP. Hasil penelitian menunjukkan kadar NO lebih tinggi secara bermakna ($p = 0.02$) pada penderita GSTP (Kosior, 2004). Hasil ini tidak berbeda dan penelitian-penelitian lain yang telah dilakukan sebelumnya.

2.11 . Apoptosis, Nekrosis dan Glaukoma

Apoptosis dapat merupakan keadaan normal maupun patologis untuk glaukoma, namun nekrosis selalu sebuah keadaan patologis. Apoptosis dalam bidang glaukoma telah banyak diteliti, dan sebagian besar penelitian tersebut berkisar pada retina dan saraf optik. Apoptosis dalam bidang glaukoma pertama kali dipelajari pada lapisan

ganglion retina kera yang dibuat mengalami glaukoma eksperimental. Ditemukan pada kejadian tersebut pengeriputan (*shrinkage*) sel retina namun kemudian sel tersebut hilang tanpa bekas (Quigley, 1980). Quigley mengulangi dan menyempurnakan penelitiannya dan dengan bantuan mikroskop elektron dan *TUNEL-labeling* menemukan tanda-tanda apoptosis pada sel ganglion retina (Quigley, 1998).

Apoptosis yang terjadi pada lokasi primer glaukoma yaitu tempat keluarnya cairan akhosa dari mata belum banyak dipelajari. Sibayan melakukan penelitian menggunakan sel kultur TM sapi yang dicampur dengan beberapa obat anti glaukoma (timolol, pilocarpin, dan epinephrine) dan juga obat penyebab apoptosis (5-fluoracil, Mitomycin C dan dexamethasone). Dengan bantuan *phase-contrast microscopy*, *transmission electron microscopy* dan teknik *in situ apoptosis labeling*, Sibayan menemukan bahwa apoptosis hanya terjadi pada sel yang dicampur dengan 5-fluoracil, mitomycin C dan epinefrine. Sedangkan pada sel kultur TM yang dicampur dengan pilocarpin, timolol dan deskametason timbul granul dan vakuola dalam sitoplasma (Sibayan, 1998).

Beberapa tahun kemudian Gu dapat membuktikan bahwa tergantung pada dosis dan lamanya pemberian, sel kultur TM sapi yang dicampur deksametasone akan menunjukkan tanda apoptosis (Gu, 2002). Perbedaan hasil yang diperolehnya dibandingkan Sibayan mungkin disebabkan karena Gu telah menggunakan alat pemeriksaan yang lebih canggih seperti *DNA ladder* dan *flow-cytometric analysis*.

Selanjutnya apoptosis diperiksa pada manusia dan ditemukan bahwa apoptosis sel TM terjadi melalui jalur Fas/Fas-L. (Agarwal, 1999). Hamard menemukan bahwa sel kultur TM mengalami apoptosis apabila dicampurkan pada benzalkonium 25% (bahan ini sering kali digunakan sebagai pengawet obat mata) dan apoptosis akan menurun

apabila sebelumnya benzalkonium tersebut dicampurkan pada obat yang aktif (Hamard, 2002).

Dampak dari tekanan hidraulik terhadap siklus sel dan apoptosis telah juga dipelajari. Pada sel kultur TM sapi telah diberikan bermacam tekanan hidraulik (20 mmHg sampai dengan 80 mmHg) dalam jangka 24 sampai 48 jam ditemukan bahwa makin tinggi dan makin lama tekanan diberikan makin kurang pula terjadi proliferasi sel dan makin banyak terjadi apoptosis melalui jalur bel-2 (Xue, 2002).

Pada sel kultur TM sapi yang dicampur dengan berbagai kadar TGF- β 2 selama 24 jam ditemukan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi, meningkat pula fagositosis yang terjadi pada sel kultur TM. Untuk sementara diambil kesimpulan bahwa berkurangnya sel TM tersebut mungkin disebabkan aktifitas TGF- β 2 (Cao, 2001).

Cao mengulangi penelitiannya menggunakan sel kultur TM manusia yang menderita OSBP dan juga TM orang tua dan dengan bantuan *transmission electron microscopy*, *TUNEL technique* dan *flow cytometry* ia menemukan tanda-tanda apoptosis (Cao, 2004). Apoptosis pada TM manusia memang telah ditemukan, masih perlu ditentukan jalur terjadinya apoptosis tersebut.

Penelitian yang telah dilakukan pada glaukoma eksperimental (dengan model kera) menunjukkan adanya kerusakan lapisan ganglion retina berupa inti sel yang menjadi piknotik yaitu inti sel yang mengeriput dan selanjutnya menghilang tanpa bekas. (Quigley, 1980). Mengeriputnya inti sel juga ditemukan pada penelitian menggunakan glaukoma eksperimental pada tikus (Buchi ER, 1992 dan Garcia, 1995). Perkembangan pengetahuan selanjutnya memungkinkan untuk memeriksa menggunakan mikroskop elektron dan juga menggunakan studi *TUNEL-labeling*

sehingga dapat ditunjukkan bentuk sel yang sedang mengalami apoptosis (Quigley,1995).

Ada banyak stimulus yang menyebabkan dimulainya proses apoptosis pada retina. Salah satu diantaranya adalah menurunnya atau menghilangnya faktor neurotropik seperti BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Factor*) (Nickells, 1996) Iskemia dapat juga menumbulkan apoptosis melalui pembentukan eksitotoksin (glutamat) (Dreyer,1996). Apoptosis yang terjadi pada TM telah juga dipelajari meski tidak sebanyak penelitian pada saraf optik.

Peneliti tidak dapat menemukan satupun pustaka sehubungan dengan nekrosis pada jaringan TM. Pada umumnya referensi yang ada berhubungan dengan nekrosis pada iris. Nekrosis iris dapat terjadi pasca serangan Glaukoma Akut, bahkan ada beberapa kasus di laporkan dengan hypopion dalam BMD setelah sebuah serangan glaukoma akut.

Nekrosis pada iris pasca serangan glaukoma akut diikuti dengan atrofi iris dan tampak sebagai bercak putih pada permukaan iris.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Sudut BMD yang sempit disertai pupil yang selalu berubah bentuknya dapat menimbulkan perubahan tekanan terus menerus dalam BMD. Cairan akuosa yang mengalir di dalam BMD dan TM merupakan *shear stress*, yaitu stres yang terjadi akibat gesekan aliran cairan di dalamnya.

Perubahan tekanan di dalam bola mata dapat di kelompokkan dalam 2 bagian besar. *Shear stress* perlahan dan ringan menimbulkan perubahan tekanan yang meningkat perlahan dan merangsang produksi TGF- β (Olino, 1995; Cucina, 1998). Perubahan tekanan mendadak merupakan perubahan tekanan hidraulik yang akut dengan amplitudo tinggi dan tidak teratur, dapat mengubah sitoskeleton dan mengaktifkan beberapa *signaling cascades* sehingga terbentuk NO (Matsuo 2000).

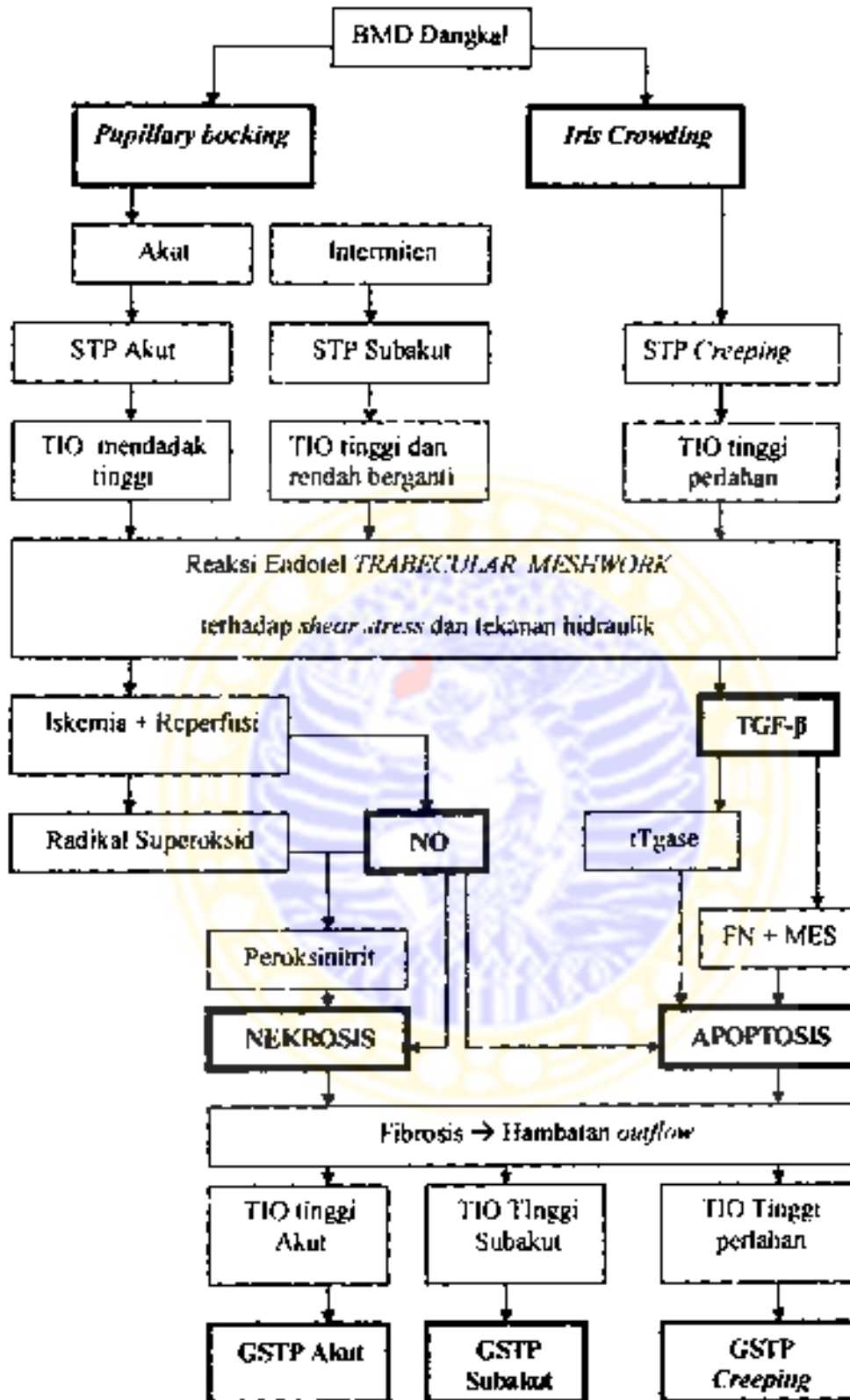
TGF- β 2 merupakan faktor pertumbuhan yang merangsang timbulnya apoptosis dan mempercepat proses penyembuhan luka dengan cara mengakumulasi MES, semuanya dapat berakhir dengan fibrosis (Shah, 1995).

NO dengan kadar rendah menimbulkan apoptosis namun dalam kadar tinggi menimbulkan nekrosis (Melino, 2000) yang juga akan berakhir dengan fibrosis.

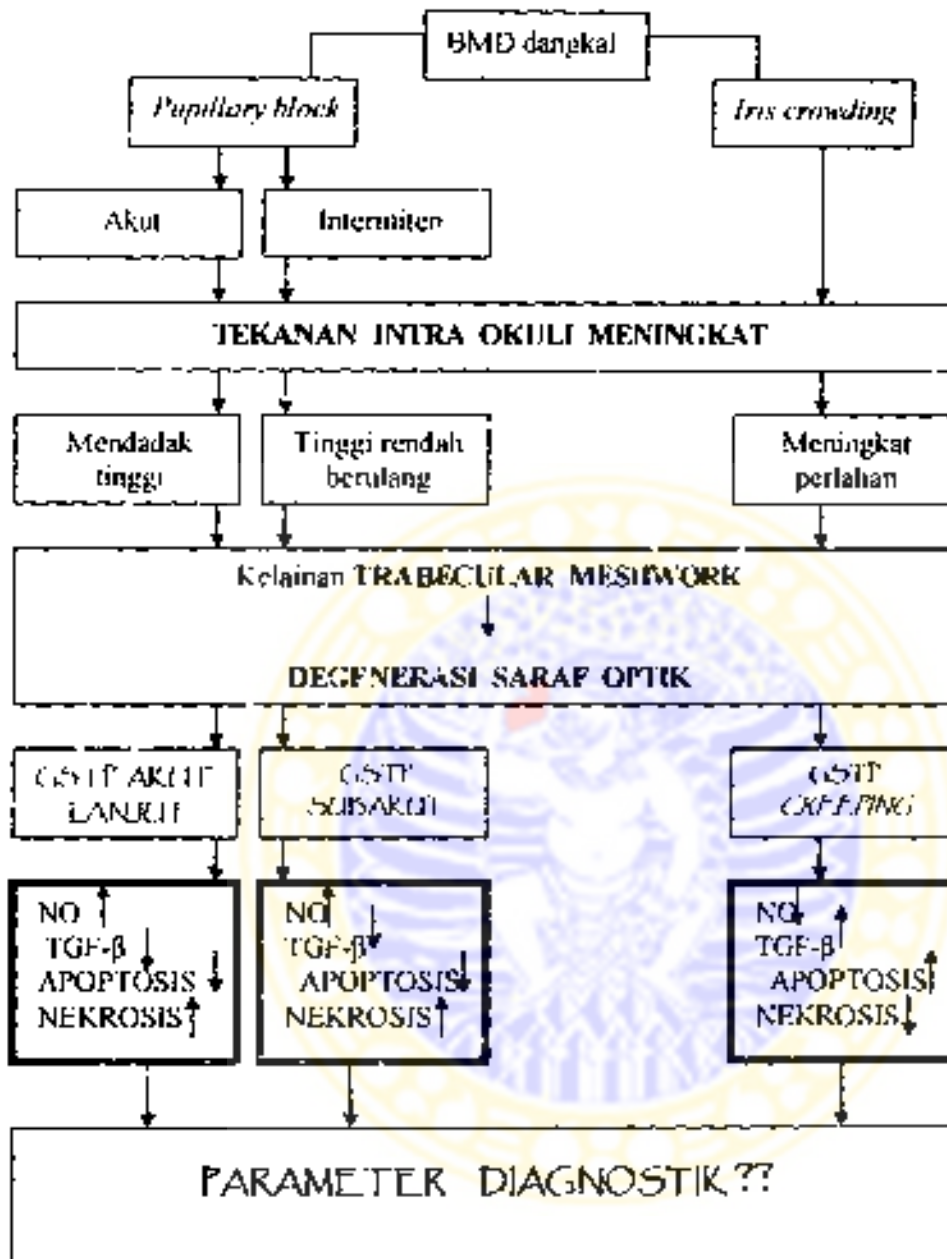
Apoptosis adalah peristiwa kematian sel yang berlangsung pada sel satu persatu, keadaan ini dapat menyebabkan perubahan perlahan pada sudut BMD.

Nekrosis berlangsung serempak pada banyak sel sekalgus, karena itu fibrosis dan perlekatan akibat nekrosis menyebabkan perubahan yang berlangsung lebih cepat.

Perbedaan perubahan bentuk sudut BMD inilah yang menentukan jenis GSTP yang akan terjadi.



Gambar 6. Kerangka teori



Gambar 7. Kerangka Penelitian

3.2. Hipotesa Penelitian

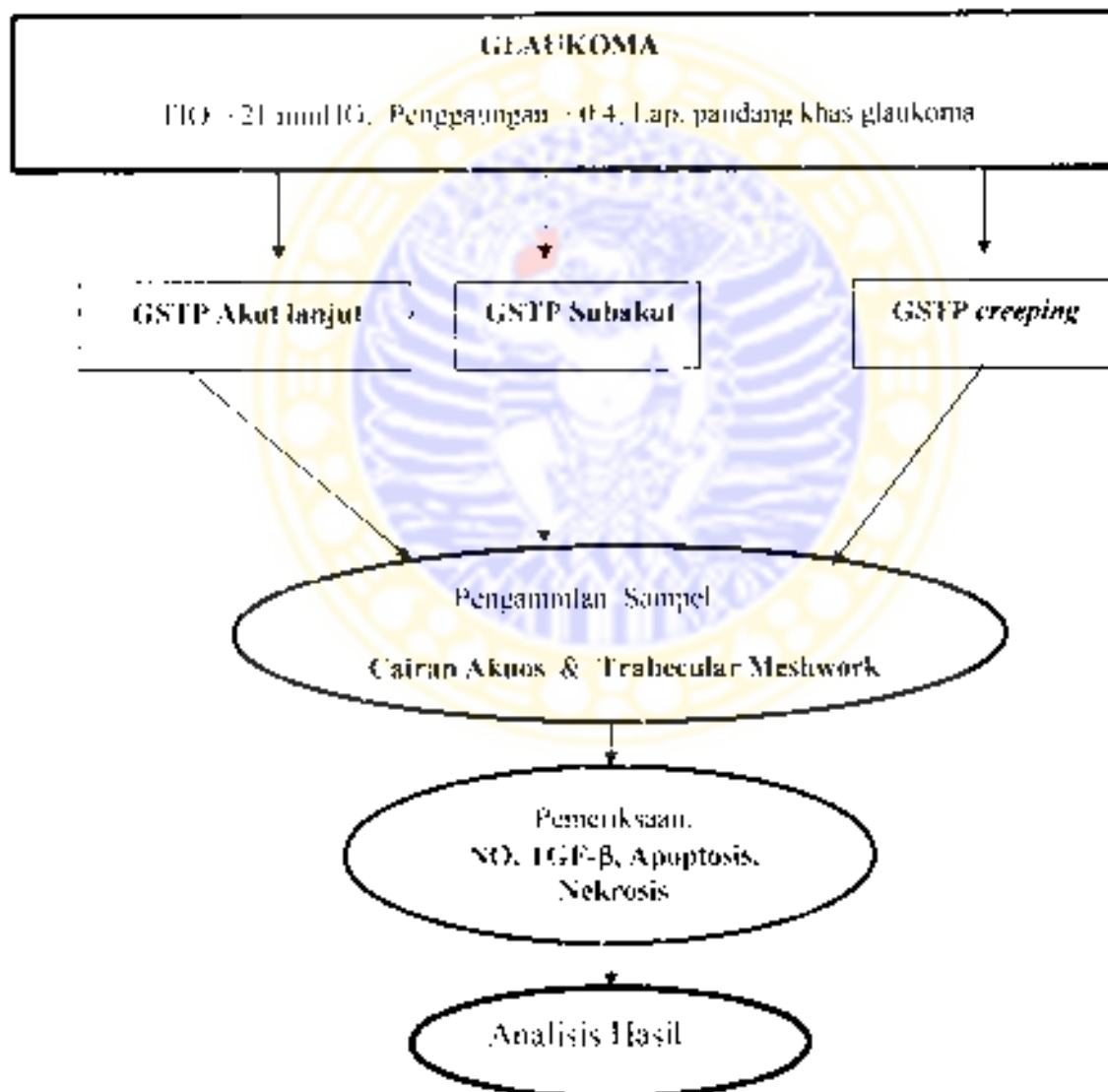
- 3.2.1. *Shear stress* ringan menyebabkan kadar TGF- β 2 cairan akrosa paling tinggi pada penderita GSTP *Creeping*, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut
- 3.2.2. Tekanan hidraulik tinggi dan mendadak menyebabkan kadar NO cairan akrosa paling tinggi pada penderita GSTP Akut Lanjut, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*
- 3.2.3. Indeks apoptosis jaringan TM yang paling tinggi terdapat pada penderita GSTP *Creeping*, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut
- 3.2.4. Indeks nekrosis jaringan TM yang paling tinggi terdapat pada penderita GSTP Akut Lanjut, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*

BAB 4

METODA PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *analytic observational* secara *cross sectional*. Selain perawatung Sub-bagian Glaukoma Poliklinik Mata RSUD Dr. Saiful Anwar, Malang yang memenuhi syarat penelitian diikuti sertakan dalam penelitian ini. Langkah-langkah penelitian disajikan dalam diagram alir seperti tertulis di bawah ini.



Gambar 8 Alur Penelitian

4.2. Tempat dan waktu penelitian

Subyek penelitian diambil dari Poliklinik Sub-bagian Glaukoma Bagian Ilmu Penyakit Mata RSSA Malang. Bahan penelitian diambil di kamar bedah Bagian Ilmu Penyakit Mata RSSA Malang, segera sesudah sampel di tuai, sampel disimpan dalam lemari beku di lab. Biomedik. Sampel diperiksa di bagian Biomedik FKUB Malang Penelitian dilakukan pada bulan Maret 2003 hingga Februari 2004.

4.3. Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah penderita Glaukoma Sudut Tertutup Primer, laki-laki dan perempuan berusia 40 tahun atau lebih yang akan menjalani operasi Trabekulektomi.

4.4. Kriteria Inklusi

Subyek penelitian yang disertakan dalam penelitian ini :

1. memenuhi syarat indikasi bedah dan bersedia menjalani operasi Trabekulektomi
2. bersedia ikut penelitian setelah mendapatkan keterangan lengkap

4.5 Kriteria Eksklusi

1. sedang menderita peradangan segmen anterior
2. mempunyai riwayat operasi mata sebelumnya
3. menderita Diabetes Mellitus
4. sedang menggunakan obat topikal mata yang mempengaruhi TIO
5. apabila selanjutnya sampel pemeriksaan tidak dapat dinilai maka sampel akan dikeluarkan dari penelitian.

4.6. Sampel Penelitian

4.6.1. Besar sampel penelitian

Penelitian ini merupakan *consecutive sampling*, dengan kendala waktu, sehingga jumlah sampel yang terkumpul itulah yang dipakai sebagai bahan penelitian.

4.6.2. Teknik pengambilan sampel

Sampel yang digunakan adalah setiap pengunjung Poliklinik Mata RSUD Dr. Saiful Anwar Malang yang memenuhi kriteria inklusi.

4.7. Identifikasi dan Pengukuran Variabel

4.7.1. Variabel penelitian

Variabel tergantung : Nitric Oxide (NO)

Transforming Growth Factor-beta (TGF- β)

Apoptosis

Nekrosis

Variabel bebas : GSTP Akut Lanjut

GSTP Subakut

GST *creeping*

Variabel kendali : TIO

Sudut BMD

Penggaungan saraf optik (*cup-disc ratio*)

Lapangan pandang

4.7.2. Definisi operasional variabel

Penderita glaukoma yang diikuti sertakan dalam penelitian mempunyai tanda :

- IIO lebih dari 21 mmHg (diukur menggunakan tonometer aplanasi)
- penggaungan cawan optik ≥ 0.3 untuk penderita GSTP Akut Lanjut
- Penggaungan cawan optik ≥ 0.6 untuk penderita GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*
- penurunan lapangan pandang khas glaukoma Apabila lapangan pandang tidak dapat dipercaya maka penggaungan cawan saraf optik di jadikan pegangan.

Penderita Glaukoma Sudut Tertutup Primer (GSTP) adalah mereka yang pada pemeriksaan klinis menunjukkan keadaan tertulis diatas di tambah tanda

- sudut BMD sempit / tertutup (0-1), pada pemerksaan gonioskopi hanya mempertahankan garis Schwalbe saja dan terdapat pada kelengkungan 360° .

Penderita GSTP Akut Lanjut adalah mereka yang :

- pernah mendapatkan serangan akut berupa mata merah dan sakit kepala hebat
- perut terasa mual sampai muntah
- penurunan tajam penglihatan yang mendadak dan hebat
- Pemeriksaan mata menunjukkan:
 - o Hiperemi silier hebat
 - o Edema kornea dan spasme palpebra
 - o Pupil midriasis > 4 mm
 - o Pada permukaan lensa terdapat *glaukomflecken*
 - o Apabila fundus dapat di penksa, penggaungan cawan optik ≥ 0.3

Penderita GSTP Subakut adalah mereka yang :

- Pernah mendapatkan serangan akut mata merah dan sakit namun hilang spontan untuk kemudian muncul lagi
- Tidak pernah mengalami muntah ataupun mual sehubungan dengan rasa sakit pada matanya
- Pemeriksaan mata menunjukkan :
 - Hiperemi silier ringan
 - Tidak ada edema kornea ataupun spasme palpebra
 - Pupil ≥ 4 mm, penggaungan cawan optik ≥ 0.6
 - Pada permukaan lensa tidak terdapat *glaukomflecken*

Penderita GSTP *Creeping* adalah mereka yang :

- Tidak pernah menderita sakit mata ataupun sakit kepala maupun muntah dan mual
- Mata bagian luar tenang
- Pemeriksaan mata menunjukkan:
 - Mata bagian luar yang tenang tanpa hiperemi silier, tanpa edema kornea dan tanpa spasme palpebra
 - Pupil ≤ 3 mm, penggaungan cawan optik ≥ 0.6
 - Pada permukaan lensa tidak terdapat *glaukomflecken*

Nitrogen Oksida adalah zat tak berwarna yang akan diperiksa dari cairan akuos, bahan diperoleh melalui aspirasi memakai jarum 1 cc ke dalam BMD. Karena zat ini mempunyai half life yang amat pendek (6-10 detik) maka NO aktif tidak dapat diperiksa melainkan hanya hasil metabolisemenya yang akan diperiksa yaitu nitrit dan nitrat.

TCF- β 2 adalah faktor pertumbuhan yang akan diukur konsentrasinya dari cairan akuos yang diperoleh setelah aspirasi memakai jarum suntik 1 cc ke dalam BMD. Kadarnya diperiksa dengan teknik Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay (ELISA).

Apoptosis dan Nekrosis merupakan bentuk kematian sel yang akan diperiksa dari jaringan TM yang diambil saat operasi kataraktomi. TM yang diambil dibuang, saat ini dimanfaatkan untuk penelitian.

Apoptosis adalah kematian sel yang sudah diprogram untuk mencapai keadaan homeostasis jaringan. Apoptosis diperiksa melalui metode imunohistokimia dengan menjumlahkan bentuk sel yang terlihat mengalami apoptosis (sel mungkin masih utuh namun mengalami pengkerutan (shrinkage) disertai apoptotic bodies).

Nekrosis adalah kematian sel akibat jejas baik kimia, mekanis ataupun karena hipoksia. Nekrosis juga diperiksa dengan cara imunohistokimia dengan menghitung jumlah sel yang telah mengalami kerusakan membran sel / terjadi lisis pada sel.

4.8. Cara kerja

4.8.1. Pemeriksaan klinis

Penderita poli khusus glaukoma diperiksa

Anamnesis . keluhan utama : mata merah , sakit kepala, mual / muntah
 penurunan tajam penglihatan (sentral dan perifer)

Pemeriksaan mata .

TIO memakai tonometer aplanasi (21 mmHg sbg batas)

Sudut BMD . dengan gonioskop yang di tempel pada kornea. dilihat sudut BMD. Sudut yang tertutup hanya menunjukkan garts Schwalbe saja.

BAB 5

HASIL ANALISIS

5.1 Karakteristik Subyek Penelitian

Pertatalaksanaan glaukoma belum terselenggara dengan baik hingga kini, karena itu kelainan ini masih merupakan penyebab kebutaan utama (no 2 di dunia dan juga di Indonesia). Faktor risiko utama terjadinya glaukoma adalah meningkatnya TIO (tekanan di dalam bola mata) yang menyebabkan degenerasi saraf optik, keadaan ini bersifat reversibel.

Kelainan yang di derita laki-laki maupun perempuan berusia 40 tahun keatas ini dikelompokkan menjadi dua bentuk primer berdasarkan besarnya sudut bilik mata depan. Glaukoma yang timbul pada sudut tertutup dikelompokkan menjadi GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*. Pengelompokan tersebut berdasarkan gejala klinis dan perjalanan penyakit yang dialami penderita. Perbedaan gejala klinis yang terdapat diantara ketiga bentuk GSTP itu hingga kini belum dapat diterangkan dengan tuntas karena patogenesis masing-masing bentuk glaukoma belum dipahami dengan baik dan benar.

Sejak bulan Maret 2003 hingga Februari 2004 terkumpul 35 subyek penelitian. Berdasarkan jenis GSTP maka subyek penelitian dikelompokkan seperti tertera pada tabel dibawah ini.

Tabel 5.1 Proporsi Subyek Penelitian Berdasarkan Jenis GSTP (%)

Jenis GSTP	Frekuensi	Persentase
GSTP Akut Lanjut	18	51,4
GSTP Subakut	7	20
GSTP <i>Creeping</i>	10	28,6
Total	35	100

Besar sampel diperoleh secara *consecutive sampling* karena peneliti mengandaikan sampel dari kunjungan penderita ke RSSA Malang saja. Telah dipikirkan untuk mengambil sampel dari beberapa rumah sakit di luar RSSA Malang, namun maksud tersebut dibatalkan mengingat alat pemeriksaan yang tersedia untuk memeriksa penderita tidak selalu tersedia lengkap seperti tersedianya alat di RSSA Malang. Membawa penderita untuk pemeriksaan dan melaksanakan operasi di Malang, mempunyai banyak risiko, termasuk risiko apabila terjadi sesuatu dalam perjalanan penderita menuju ke RSSA.

Lebih dari separuh (51.4%) jumlah penderita adalah penderita GSTP Akut Lanjut, yang merupakan GSTP akibat *pupillary block*. Blokade ini dapat menghambat *outflow* secara mendadak dan timbul gangguan homeostasis mendadak pula. Tekanan di dalam bola mata yang naik dengan pesat dalam waktu singkat menyebabkan timbulnya edema kornea yang secara subyektif di rasakan sebagai rasa sakit yang hebat. Rasa sakit inilah yang mendorong penderita untuk segera datang ke RS.

GSTP Subakut yang juga timbul karena *pupillary block* di derita oleh 20% penderita. Rasa sakit yang dirasakan penderita GSTP Subakut berbeda dari penderita GSTP Akut, karena pada GSTP Subakut *pupillary block* timbul dalam waktu singkat, dapat menghilang spontan untuk kemudian kambuh lagi. Serangan *intermittent* tanpa rasa sakit di antara 2 serangan, mengakibatkan lebih lambatnya penderita datang ke RS menean pertolongan, sehingga dengan itu jumlah kelompok ini lebih sedikit.

Frekuensi penderita GSTP *Creeping* adalah 28.6%. Ketinuan ini disebabkan *iris encasing* yang menutup bagian tepi sudut yang sempit dan berakhir dengan kenaikan IIO perlahan. Kenaikan IIO yang amat perlahan memungkinkan terjadinya adaptasi,

sehingga seringkali penderita tidak merasa sakit dan keadaan tidak mendorong penderita untuk memeriksakan dirinya ke Rumah Sakit

Tabel 5.2 Usia rata-rata subyek penelitian berdasarkan jenis GSTP (tahun)

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	59.11	8.316
GSTP Subakut	7	58.71	5.765
GSTP <i>Creeping</i>	10	61.30	4.473
Total	35	59.66	6.647

Uji ANOVA *One Way* untuk melihat perbedaan usia pada penderita GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*, tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($F = 0.397$, $p = 0.676$)

Batas usia yang digunakan untuk penelitian ini adalah 40 tahun. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata usia subyek penelitian adalah 60 tahun. Tidak ada perbedaan usia antar berbagai jenis GSTP (nampak pada Tabel maupun Diagram). Keadaan ini menunjukkan bahwa ketiga jenis GSTP bukan sebuah unitan kejadian melainkan ketiga jenis GSTP merupakan bentuk atau jenis glaukoma yang berbeda.

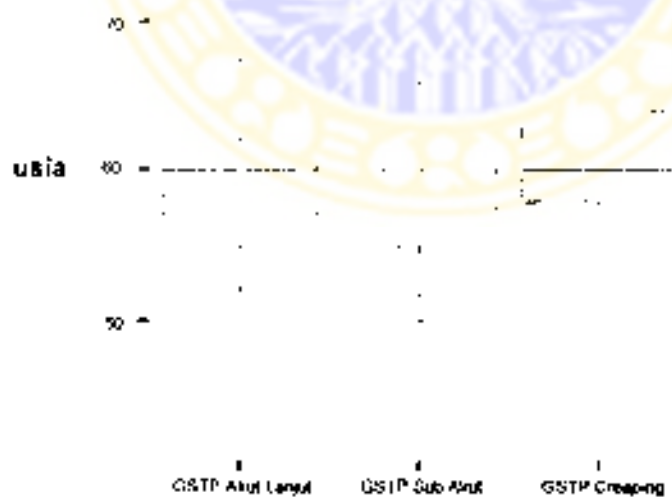


Diagram 1. Usia penderita berbagai jenis GSTP

Diagram 1. lebih jelas menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan usia antar penderita GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*. Penderita GSTP Akut Lanjut yang berusia sekitar 60 tahun itu datang dengan keluhan sakit hebat yang tidak tertahankan. Pada saat penderita berusia 40 tahun mungkin mata masih dalam keadaan normal. Meningkatnya usia disertai penebalan lensa (katarak imatur) akan diikuti penurunan kedalaman BMD, sudut menjadi makin sempit dan timbul serangan glaukoma akut

Penderita GSTP Subakut datang dengan keluhan lebih ringan, mungkin penderita telah mendapatkan serangan ringan sejak berusia 40 tahun, namun dalam usia muda dan kesehatan yang baik penderita tidak merasakannya. Dengan meningkatnya usia dan bertambah lamanya perjalanan penyakit akan terjadi kerusakan saraf optik. Dengan penglihatan yang berkurang pada usia yang makin tua, barulah penderita sadar akan kelainan yang di deritanya, pada saat itu penderita telah berusia 60 tahun.

Penderita GSTP *Creeping* mungkin sudah menderita glaukoma sejak usia 40 tahun namun baru datang pada usia 60 tahun saat penderita telah tergantung pada orang lain untuk tugas dan keperluan kesehariannya. Perjalanan penyakit yang ringan dan menahun memungkinkan adaptasi, sehingga kelainan ringan tidak menyulitkan penderita.

Dan usia kedatangan penderita dan jenis perjalanan penyakit dapat diperkirakan bahwa ketiga jenis GSTP tidak saling berhubungan. Khususnya untuk variabel usia ada hal yang perlu diperhatikan dan penelitian ini. Ketepatan usia yang di nyatakan subyek penelitian perlu dipertanyakan karena sebagian besar subyek penelitian adalah mereka dengan derajat pendidikan rendah yang tidak pernah tahu dengan tepat usia mereka sebenarnya.

Meski jenis GSTP tidak berkaitan dengan usia, namun usia berkaitan erat dengan prevalensi glaukoma. Penelitian yang telah dilakukan di Melbourne menunjukkan bahwa prevalensi glaukoma pada usia 40 - 49 tahun adalah 0.1% dan meningkat menjadi 9.7% pada usia 80– 89 tahun (Klein, 1992; Mitchell, 1996; Wensor, 1998). Apabila besar sampel penelitian ini diperbanyak mungkin akan di peroleh perbedaan usia penderita ketiga kelompok glaukoma tersebut.

Hubungan jenis kelamin dengan jenis glaukoma telah banyak diteliti pakar glaukoma namun hingga kini belum ada kesepakatan hasil penelitian. Di sebuah distrik kecil (Mamre, yang terletak dekat Cape Town), Salmon (1993) menggunakan sampel sebesar 987 orang penderita GSTP dan menemukan prevalensi perempuan 4 kali lebih banyak dibanding laki-laki.

Di sebuah rumah sakit di Singapore, Seah (1997) membuktikan bahwa perempuan lebih banyak menderita GSTP dibanding laki-laki.

Penelitian lebih mendasar berupa pemeriksaan panjang sumbu bola mata telah dilakukan di India dengan sampel 2850 penderita GSTP. Penelitian ini menghasilkan perbedaan bermakna, ternyata perempuan lebih banyak menderita GSTP dibanding laki-laki. Pada perempuan ditemukan sudut BMD yang lebih dangkal dan sumbu bola mata yang lebih pendek dibanding laki-laki (George, 2002).

Di Thailand, ditemukan angka yang berbeda. Bourne (2003) menemukan pada penderita GSTP jumlah perempuan yang tidak berbeda dibanding laki-laki ($p = 0.085$) namun pada penderita GSBP, jumlah penderita perempuan lebih banyak dibanding laki-laki ($p = 0.006$).

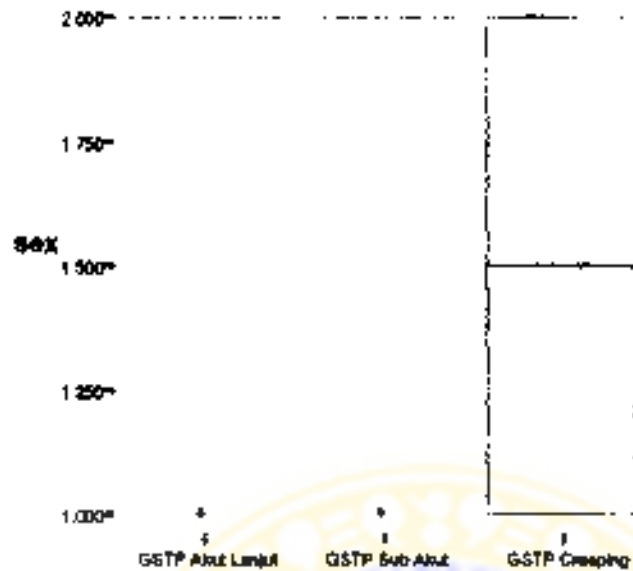


Diagram 2. Jenis kelamin penderita berbagai jenis GSTP

Diagram 2 lebih jelas menunjukkan bahwa pada GSTP *Creeping* jumlah penderita perempuan sama dengan jumlah penderita laki-laki.

Seberapa tepat hubungan jenis kelamin dengan glaukoma belum disepakati para ahli, namun apabila pemeriksaan lebih mendalam dilakukan mungkin akan didapatkan jawaban yang lebih baik. Telah dibuktikan bahwa reseptor untuk estrogen terdapat dalam retina sapi dan tikus (Kobayashi, 1998) dan juga pada manusia (Xu, 1998). Setelah aktivasi reseptor akan terjadi aktivasi eNOS (Chakravarthy, 1995) selanjutnya terjadi peningkatan produksi NO setempat (Harris -Yitzhak, 2000). Kadar NO tinggi menimbulkan vasodilatasi yang akan diikuti penurunan TIO. Sehubungan dengan itu, estrogen mempunyai fungsi neuroproteksi untuk saraf optik. Apabila pada berbagai jenis GSTP dilakukan pemeriksaan kadar estrogen mungkin akan diperoleh hasil yang lebih tepat yang dapat menerangkan mengapa pada GSTP akibat *pupillary block*

didapatkan penderita perempuan lebih banyak, dan mengapa pada GSTP *Creeping* jumlah perempuan sama dengan laki-laki.

Perjalanan penyakit yang berbeda dapat diketahui dari pola kedatangan penderita ke rumah sakit. Kelainan akut (dengan rasa sakit hebat dan penurunan ketajaman penglihatan mendadak) mendorong penderita untuk segera datang mencari pertolongan dalam keadaan dini perjalanan penyakitnya, sementara penderita dengan perjalanan penyakit ringan dan menahun cenderung menunda pengobatannya. Hal ini disebabkan karena kelainan yang timbul perlahan memungkinkan penderita melakukan adaptasi, akibatnya sering kali penderita datang pada stadium akhir penyakit.

Di samping ketidakpedulian penderita pada gejala penyakitnya maka ketiadaan biaya atau ketiadaan keluarga yang mengantar penderita dapat merupakan dua faktor lain yang menyebabkan penderita menunda atau membatalkan kedatangannya ke rumah sakit (faktor ini tidak ditinjau oleh peneliti).

Mengukur waktu kedatangan penderita ke Rumah Sakit tidak dapat dilakukan dengan tepat. Pada umumnya sebuah kejadian akut dapat di ingat penderita dengan baik, sedangkan kejadian yang ringan yang tidak terlalu mengganggu aktivitas penderita sehari-hari tidak dapat diingat penderita dengan baik.

Tabel 5.4. Kedatangan penderita ke Rumah Sakit setelah merasakan keluhan subyektif (bulan)

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	2.17 *	8.316
GSTP Subakut	7	2.86 *	5.765
GSTP <i>Creeping</i>	10	17.70**	4.473

Uji ANOVA One Way untuk melihat perbedaan kedatangan penderita ke rumah sakit antara penderita GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP, *Creeping* menunjukkan perbedaan bermakna ($F = 8.849$; $p = 0.0001$)

Tabel 5.4 menunjukkan perbedaan bermakna kedatangan penderita ke Rumah Sakit antara GSTP yang diakibatkan *pupillary block* (GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut) terhadap GSTP akibat *iris crowding* (GSTP *Creeping*). Penderita GSTP akibat *pupillary block* datang lebih cepat dibandingkan penderita akibat *iris crowding*. Rata-rata penderita GSTP *Creeping* datang lebih dari satu tahun setelah merasakan kelainan pada matanya. Hal ini dengan lebih jelas menunjukkan bahwa kenaikan TIO pada GSTP akibat *pupillary block* berlangsung lebih cepat sehingga lebih cepat menimbulkan rasa sakit dibandingkan kenaikan TIO yang perlahan pada GSTP *Creeping* akibat *iris crowding*.

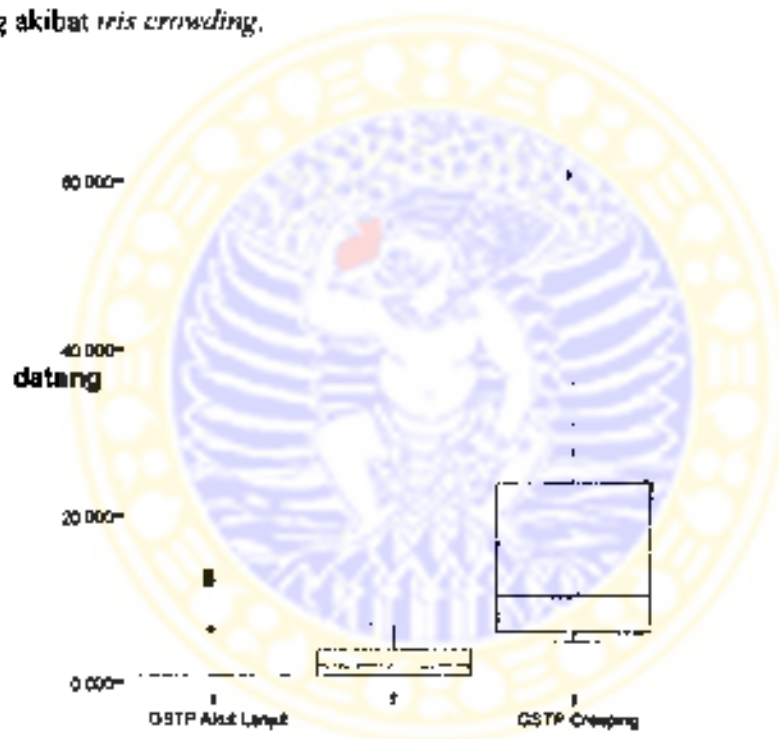


Diagram 3. Kedatangan penderita ke ke Rumah Sakit (bulan)

Diagram 3 lebih jelas menunjukkan bahwa penderita GSTP *Creeping* datang dalam jangka waktu yang lebih lama dan dengan variasi yang cukup besar.

Antara penderita GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut tidak ada perbedaan bermakna kedatangan penderita ke RS, hal ini disebabkan karena penyebab kedua GSTP tersebut adalah sama (*pupillary block*). Apabila rekam medik penderita diteliti maka dari 18 penderita GSTP Akut Lanjut, 12 penderita datang setelah merasakan sakit antara 10 - 17 hari (1/2 bln) sedangkan 6 orang lainnya datang dalam waktu 1-6 bulan. Dari 7 penderita GSTP Subakut 2 orang datang dalam waktu 13 - 17 hari (1/2 bln) dan 5 orang datang setelah 2-7 bulan. Meski tidak ada perbedaan bermakna kedatangan penderita ke RS antara GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut, namun pada GSTP Akut Lanjut 60 % penderita datang dalam waktu ½ bulan sedang 28% penderita GSTP Subakut datang dalam waktu ½ bulan. Sebagian besar penderita GSTP Akut Lanjut datang dalam waktu yang lebih cepat di bandingkan penderita GSTP Subakut.

Kedatangan penderita GSTP akibat *pupillary block* dan penderita GSTP akibat *iris crowding* ke RS berbeda bermakna ($p = 0.0001$). Pada *iris crowding* hambatan outflow terjadi amat perlahan sehingga TIO meningkat perlahan pula. Keadaan ini memungkinkan penderita melakukan adaptasi sehingga tidak merasakan kelainan yang terjadi pada mata penderita. Hal ini menerangkan mengapa penderita GSTP *Creeping* datang ke RS setelah lebih dari 17.70 bulan.

Berkurangnya ketajaman penglihatan merupakan faktor penentu kedatangan penderita ke rumah sakit. Manusia mempunyai 2 buah mata, karena itu penurunan penglihatan pada satu mata tidak selalu memaksa penderita datang berobat karena masih dapat melihat dengan mata kontra-lateral. Keadaan ini menyebabkan keterlambatan penanganan mata pertama. Disamping kurang peduli akan ketajaman penglihatannya maka seorang penderita dapat juga terlambat berobat karena tidak terlalu membutuhkan

ketajaman penglihatan yang baik (petani tidak membutuhkan ketajaman penglihatan sebaik tukang ukir). Kebutuhan sehari-hari yang bersifat rutin seringkali juga dapat terpenuhi dengan baik meski ketajaman penglihatan sudah amat berkurang. Hal ini dimungkinkan karena penderita sudah terbiasa dengan lingkungan hidupnya sehari-hari. Faktor ekonomi dapat pula merupakan faktor yang menentukan kedatangan penderita ke RS, karena ketiadaan biaya dapat menghambat penderita memeriksakan dirinya. Ketajaman penglihatan bukan prioritas utama bagi penderita apabila ia tidak mempunyai biaya

Tabel 5.5. Ketajaman penglihatan mata glaukoma saat penderita datang di RS

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	3.75	5.77
GSTP Subakut	7	2.56	2.33
GSTP <i>Creeping</i>	10	24.46	40.46

Uji ANOVA One Way untuk menunjukkan perbedaan tajam penglihatan mata glaukoma pada GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($f = 2.708$; $p = 0.062$)

Tabel 5.5. menunjukkan bahwa kedua bentuk GSTP akibat *pupillary block* (GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut) mempunyai ketajaman penglihatan yang hampir sama. Nilai absolut ketajaman penglihatan penderita GSTP akibat *iris crowding* (GSTP *Creeping*) lebih baik dibandingkan kedua jenis GSTP lainnya, namun perbedaan itu tidak bermakna ($p = 0.082$). Pada penderita GSTP *Creeping* terdapat SD yang terlalu besar karena adanya nilai ekstrim [*visus* 100%] dalam kelompok tersebut.

Ketajaman penglihatan yang relatif lebih buruk pada penderita GSTP akibat *pupillary block* disebabkan edema kornea yang timbul pada sebuah keadaan mendadak. Edema kornea akan menghambat pembiasan sinar ke dalam bola mata dan mengurangi ketajaman penglihatan.

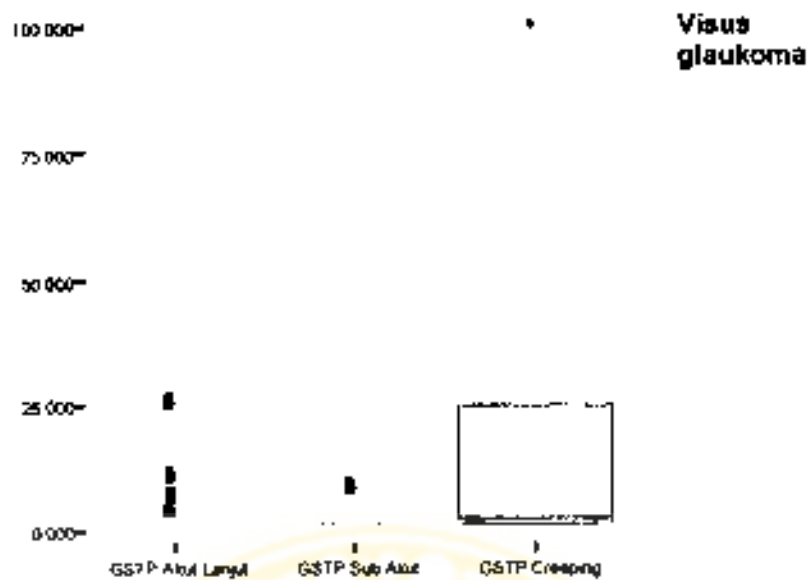


Diagram 4 Ketajaman penglihatan mata glaukoma saat penderita datang di RS

Diagram 4. menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan ketajaman penglihatan antara ketiga jenis GSTP saat mereka datang memeriksakan diri ke rumah sakit. Sebagian besar penderita GSTP Akut Lanjut mempunyai ketajaman penglihatan kurang dari 3/60 (dalam Tabel dikonversi menjadi kurang 5%). Penderita GSTP Subakut mempunyai ketajaman penglihatan yang berkisar antara 4/60 - 5/30 (dalam Tabel dikonversi menjadi 6% -17%). sedangkan penderita GSTP *Creeping* mempunyai ketajaman kurang dari 3/60. Penglihatan penderita GSTP Akut Lanjut sama buruknya dengan penderita GSTP *Creeping*, perbedaan antara keduanya adalah bahwa pada GSTP Akut Lanjut penurunan ketajaman penglihatan terjadi mendadak sedangkan pada GSTP *Creeping* penurunan terjadi perlahan dalam jangka panjang. Penderita GSTP Akut Lanjut akan memperoleh kembali penglihatannya setelah terapi, namun pada penderita GSTP *Creeping* penglihatan yang buruk itu menetap. Keadaan ini menyebabkan prognosis yang berbeda untuk kedua keadaan tersebut.

Diagram 3 menunjukkan bahwa penderita GSTP *Creeping* datang dalam jangka waktu amat panjang setelah ia merasakan kelainan pada matanya. Diagram 4 menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ketajaman penglihatan saat penderita datang di Rumah Sakit. Kesimpulan yang dapat di tarik dari Diagram 3 dan Diagram 4 adalah bahwa kedatangan penderita ke rumah sakit lebih dipengaruhi oleh rasa sakit yang dideritanya dan bukan karena penurunan ketajaman penglihatan.

Terdapat dua nilai ekstrim ketajaman penglihatan mata glaukoma, sehingga dibuat sebuah tabel modifikasi dengan membuang kedua nilai ekstrim tersebut (dua penderita GSTP *Creeping* dengan visus 5/5 dikeluarkan dari penelitian).

Tabel 5.6. Ketajaman penglihatan mata glaukoma saat penderita datang di RS.
(membuang 2 nilai ekstrim)

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	3.75	5.77
GSTP Subakut	7	2.56	2.53
GSTP <i>Creeping</i>	8	5.57	8.18

Uji ANOVA One Way untuk menunjukkan perbedaan ketajam penglihatan mata glaukoma pada GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* menunjukkan perbedaan tidak bermakna ($F = 0.495$, $p = 0.615$)

Tabel 5.6. menunjukkan perbedaan ketajaman penglihatan yang tidak bermakna antara ketiga jenis GSTP dengan nilai absolut ketajaman penglihatan GSTP *Creeping* yang hampir sama dengan kedua jenis GSTP lainnya. Dengan membuang 2 nilai ekstrim pada penderita GSTP *Creeping*, ternyata ketajaman penglihatan mata glaukoma pada berbagai jenis GSTP adalah sama buruknya.

Mata kontralateral merupakan penyelamat keadaan penderita, namun mata kontralateral juga dapat menghambat kedatangan penderita ke RS, dengan alasan masih dapat beraktivitas sehari-hari dengan baik menggunakan mata kontra lateral tersebut. Selama mata kontralateral masih cukup dapat membantu penderita untuk bekerja sehari-hari atau melaksanakan tugas kesehariannya dengan baik, maka sering penderita menunda kedatangannya ke RS. Karena itu pekerjaan penderita penting, namun pada penelitian ini faktor pekerjaan penderita tidak ditelusuri dengan baik.

Tabel 5.7. Ketajaman penglihatan mata kontralateral saat penderita datang di RS

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	39.57**	44.76
GSTP Subakut	7	35.71**	46.68
GSTP <i>Creeping</i>	10	4.11*	7.36

Uji *Anova One Way* untuk membedakan ketajaman penglihatan mata kontralateral pada GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* menunjukkan perbedaan yang bermakna ($F = 0.646, p = 0.004$)

Meskipun tidak bermakna, Tabel 5.7 menunjukkan bahwa ketajaman penglihatan mata kontralateral penderita GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut lebih baik di bandingkan GSTP *Creeping*. Buruknya ketajaman penglihatan mata kontralateral penderita GSTP *Creeping* menunjukkan lamanya penderita telah menderita sakit, jari penderita GSTP *Creeping* datang ketika kedua matanya nyaris buta total.

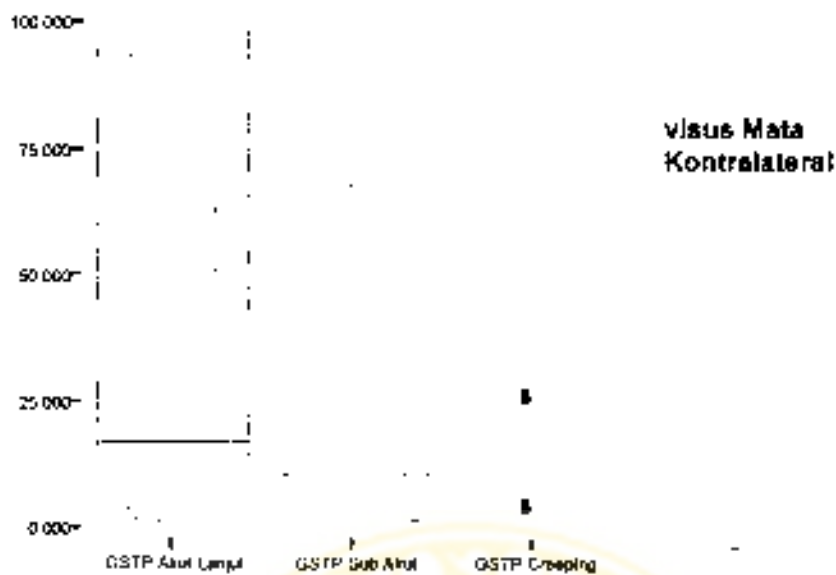


Diagram 5 Ketajaman penglihatan mata kontralateral saat penderita datang di RS

Diagram 5 dengan lebih jelas menunjukkan bahwa ketajaman penglihatan mata kontra lateral GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut jauh lebih baik dibandingkan GSTP *Creeping*. Diagram 5, menunjukkan ketajaman penglihatan yang baik ($> 5/20$) pada mata kontralateral penderita GSTP Akut Lanjut. Ketajaman penglihatan mata kontralateral penderita GSTP Subakut berkisar antara $4/60 - 5/30$, sedangkan pada GSTP *Creeping* semua mata kontralateral mempunyai ketajaman penglihatan buruk ($< 4/60$)

Ketajaman penglihatan mata kontralateral penderita GSTP *Creeping* sangat buruk, hal ini menunjukkan bahwa penderita datang memeriksakan dirinya ketika nyaris kedua matanya buta total. Apabila rekam medik diteliti, di dapatkan 8 orang (dari 10 penderita GSTP *Creeping*) dengan visus 0 pada mata kontralateral. Dari 18 penderita GSTP Akut Lanjut, 4 orang mempunyai visus 0 pada mata kontralateral, dan dari 7 orang penderita GSTP Subakut, 2 orang mempunyai visus 0 pada mata kontra lateralnya.

Dapat disimpulkan bahwa penderita GSTP Akut Lanjut mempunyai visus buruk pada mata glaukoma dan visus baik pada mata kontralateral. Apabila mata yang menderita GSTP Akut Lanjut itu mendapatkan pertolongan yang tepat pada saat tepat, maka penderita akan mempunyai 2 buah mata yang berfungsi baik. Keadaan ini menunjang kesimpulan bahwa yang mendorong penderita GSTP Akut Lanjut datang ke RS adalah rasa sakit yang hebat.

Penderita GSTP Subakut mempunyai ketajaman penglihatan yang relatif baik pada kedua matanya sedangkan penderita GSTP *Creeping* mempunyai ketajaman penglihatan yang amat buruk pada kedua belah matanya. Apabila digabungkan Diagram 4 dan Diagram 5, nampak bahwa penderita GSTP *Creeping* mempunyai 2 mata yang tidak lagi berfungsi dengan baik.

Tekanan Intra Okuli merupakan faktor risiko utama untuk terjadinya degenerasi saraf optik. Masih banyak faktor lain di samping TIO, sehingga TIO bukan merupakan faktor penentu utama dalam mengakkan diagnosis glaukoma, namun TIO penting dalam pengobatan, karena TIO dapat dipakai sebagai patokan menentukan penurunan TIO yang dikehendaki.

Tingginya TIO yang memaksa penderita datang ke RS juga berbeda untuk setiap penderita karena nilai ambang sakit setiap orang (subyek penelitian) berbeda.

Tabel 5.8. Tekanan Intra Okuli saat penderita datang di RS (mm/Hg)

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	47.06	12.03
GSTP Subakut	7	42.00	21.21
GSTP <i>Creeping</i>	10	42.60	11.89

Uji *Anova One-Way* untuk membedakan TIO pada GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($F = 0.540$; $p = 0.982$)

Tabel 5.8. menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna TIO antar ketiga jenis GSTP. Meskipun tidak berbeda bermakna namun ada kecenderungan TIO lebih tinggi pada GSTP Akut Lanjut. Tekanan di dalam bola mata meningkat amat perlahan pada GSTP *Creeping*, namun karena penderita GSTP datang pada stadium amat lanjut, akhirnya TIO menjadi tinggi juga sehingga tidak ada perbedaan TIO dengan kedua jenis GSTP lainnya.

Tekanan dalam bola mata yang di tunjukkan pada tabel menunjukkan rekaman sesaat, sementara perjalanan penyakit bukan seperti keadaan tersebut. TIO meningkat tajam pada GSTP Akut Lanjut dan bertahan lama dalam keadaan tinggi. TIO meningkat tajam pada GSTP Subakut namun spontan menurun sampai normal untuk kemudian dapat meningkat secara spontan pula. Kenaikan TIO pada GSTP Subakut merupakan gambaran gelombang dengan amplitudo tinggi dan rendah. TIO meningkat sangat perlahan pada GSTP *Creeping* tanpa penurunan sama sekali. Kenaikan TIO yang linier ini berlanjut terus sehingga mencapai ketinggian TIO yang sama dengan GSTP Akut Lanjut, namun dicapai dalam waktu yang amat berbeda.

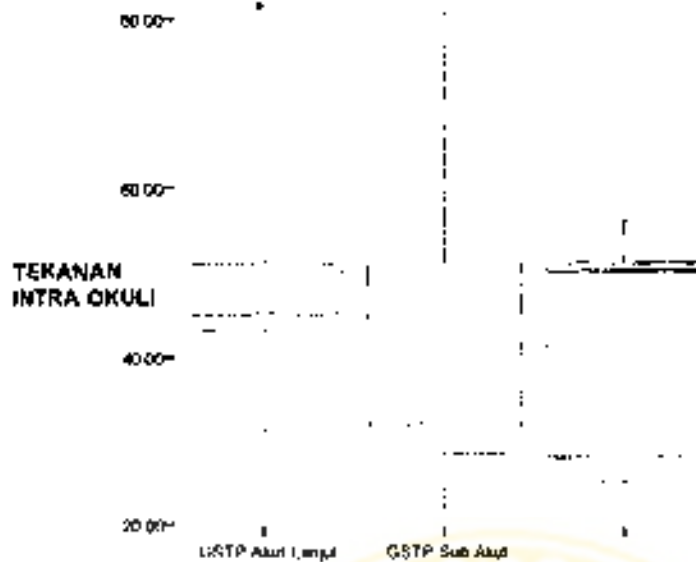


Diagram 6. Tekanan Intra Okuli berbagai jenis GSTP

Diagram 6. dengan lebih jelas menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna TIO ketiga jenis GSTP. Pada diagram ini dengan lebih jelas terlihat variasi amplitudo tinggi TIO pada GSTP Subakut.

Kemungkinan menderita degenerasi saraf optik pada tinggi TIO tertentu, berbeda untuk jenis glaukoma yang berbeda. Manifestasi degenerasi saraf optik dibaca melalui besarnya penggaungan cawan optik yang terjadi.

Tabel 5.9. Penggaungan cawan optik mata glaukoma berbagai jenis GSTP

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	0.48*	1.23
GSTP Subakut	7	0.83**	1.20
GSTP <i>Creeping</i>	10	0.83**	0.13

Uji ANOVA *One-Way* untuk melihat adanya perbedaan rasio penggaungan cawan optik (*cup:dise ratio*) pada GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* menunjukkan perbedaan bermakna ($F = 12.69$, $p < 0.000$).

Tabel 5.9. menunjukkan penggaungan cawan optik yang lebih besar pada GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*, hal ini berarti bahwa degenerasi saraf optik yang terjadi pada penderita GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* berada dalam keadaan lanjut, atau kelainan sudah terjadi lama sebelumnya. Tabel 5.9 menunjukkan penggaungan cawan optik yang lebih besar pada GSTP Subakut, dibandingkan GSTP Akut Lanjut, padahal kedua bentuk GSTP ini bersama disebabkan oleh *pupillary block*. Cawan optik yang lebih besar pada GSTP Subakut menunjang keadaan klinis yang menunjukkan bahwa penderita GSTP Subakut telah mengalami perjalanan penyakit yang panjang tanpa sadar akan kelainan yang sedang dideritanya. TIO normal di antara 2 serangan pada GSTP Subakut dapat menunda kedatangan penderita ke RS karena menghilangnya rasa sakit yang sementara.

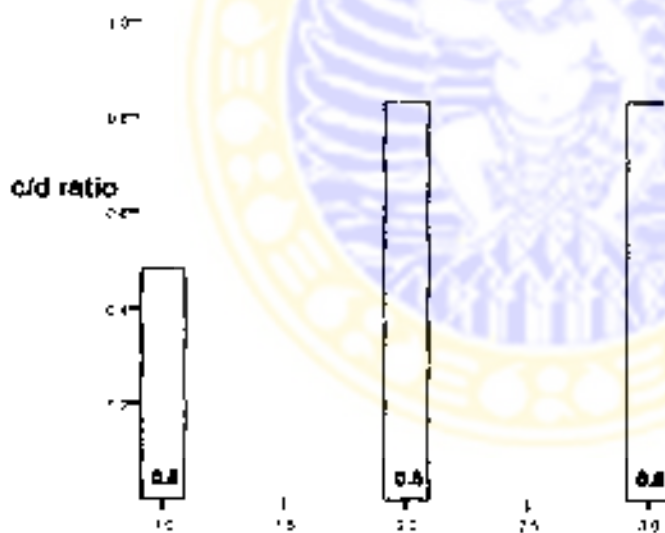


Diagram 7 Penggaungan cawan optik mata glaukoma berbagai jenis GSTP

Diagram 7 dengan lebih jelas menunjukkan penggaungan cawan optik (*excavatio glaucomatosa*) yang lebih besar pada GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*. Penggaungan cawan optik pada GSTP Akut Lanjut masih dalam batas normal.

Tabel 4.10. Penggaungan cawan optik mata kontralateral berbagai jenis GSTP

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	0.37*	0.18
GSTP Subakut	7	0.61*	0.36
GSTP <i>Creeping</i>	10	0.87**	0.21

Uji ANOVA *One-Way* untuk melihat adanya perbedaan penggaungan cawan optik pada mata kontralateral penderita GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* menunjukkan perbedaan bermakna ($f = 11.50, p = 0.003$)

Dengan dua buah mata seringkali seseorang mengandalkan keberadaan mata kontralateral. Mata kontralateral penderita GSTP Akut Lanjut tidak menunjukkan penggaungan patologis, jadi fungsi penglihatan penderita masih baik. Penderita datang ke RS karena sakitnya yang tidak tertahankan (pada mata glaukoma) dan bukan karena penurunan ketajaman penglihatan.

Mata kontralateral penderita GSTP Subakut dan penderita GSTP *Creeping* menunjukkan penggaungan cawan optik yang patologis. Kedua jenis GSTP ini mempunyai perjalanan penyakit ringan dan panjang yang merupakan faktor tertundanya penderita datang ke RS. Ketika penderita mempunyai kebutuhan untuk datang ke RS, saat itu degenerasi saraf optik sudah berada dalam keadaan lanjut.

Tidak ada perbedaan bermakna penggaungan cawan optik mata kontralateral penderita GSTP Akut Lanjut dan penderita GSTP Subakut meskipun ada kecenderungan yang lebih besar pada GSTP Subakut. Perjalanan penyakit menahun dan

rasa sakit yang tidak terlalu hebat pada GSTP Subakut menunda penderita GSTP Subakut mencari pertolongan.

Terdapat perbedaan bermakna penggangguhan cawan optik mata kontralateral GSTP Akut Lanjut dan GSTP *Creeping*. Perjalanan penyakit yang menahun pada GSTP *Creeping* diikuti ketidaksadaran penderita. GSTP *Creeping* akan kelainan yang sedang dideritanya membawanya ke RS saat mata kontra lateral sudah dalam keadaan buruk.

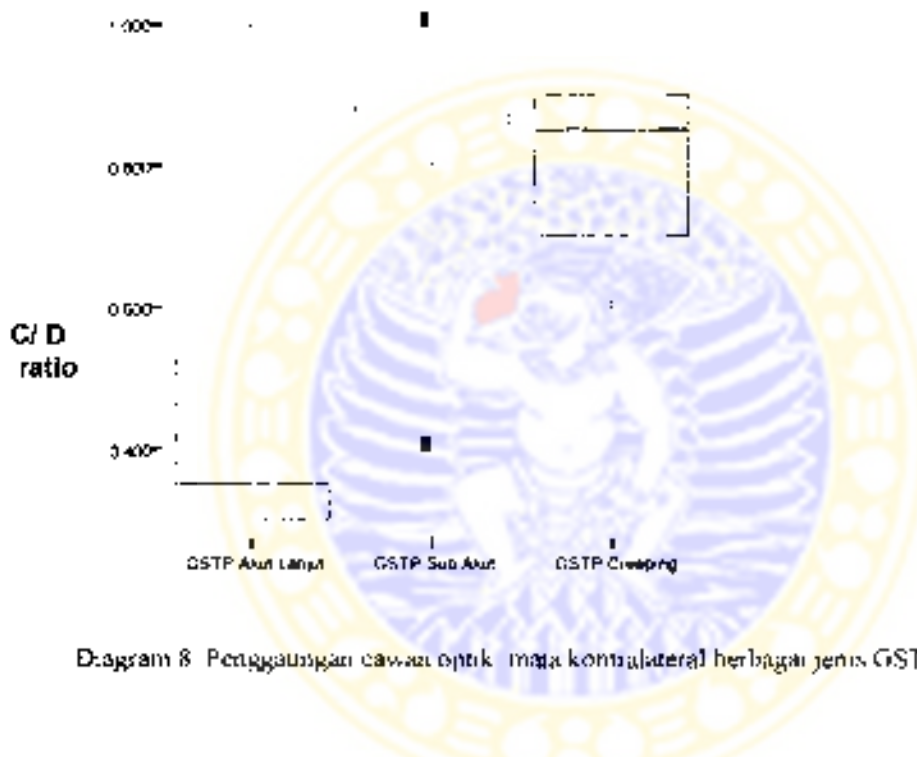


Diagram 8. Penggangguhan cawan optik mata kontralateral berbagai jenis GSTP

Diagram 8 dengan jelas menggambarkan bahwa mata kontralateral penderita GSTP Akut Lanjut masih berfungsi baik (penggangguhan cawan optik yang kecil), sementara fungsi penglihatan penderita GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* buruk karena penggangguhan cawan optik yang besar.

5.2. Variabel TGF- β 2 pada berbagai jenis GSTP

Menggunakan endotel pembuluh darah aorta sapi, Cucina (1997) membuktikan bahwa bahwa TGF- β akan meningkat produksinya apabila endotel dirangsang oleh *shear stress* yang perlahan. Analog dengan keadaan tersebut diasumsikan bahwa TGF- β 2 akan meningkat produksinya apabila terjadi kenaikan TIO perlahan di dalam BMD.

TGF- β adalah faktor pertumbuhan dengan fungsi pengaturan MES. Melalui penelitiannya menggunakan kultur sel TM pada alas yang dapat ditarik (memberikan rangsang *stretch*) Bradley (2001) membuktikan bahwa pada saat *stretch* terjadi kenaikan produksi gelatinase A diikuti kenaikan MMP (*Matrix Metallo Proteinase*) dan pada saat sama terjadi penurunan kadar TIMP-2 (*Tissue Inhibitor Matrix Proteinase*).

Isoform TGF- β tersimpan dalam MES dan isoform ini diaktifkan apabila timbul stres karena meningkatnya TIO. Keadaan ini menyebabkan TGF- β laten berubah menjadi aktif (matur) diikuti perubahan produksi, degradasi dan komposisi MES. Selain itu terjadi pengurangan aktivitas enzim perusak massa ekstra seluler (TIMP-2) yang akhirnya menyebabkan timbunan MES.

Di dalam bola mata terdapat isoform TGF- β 2 lebih banyak. Kenaikan TIO yang terjadi pada bola mata dengan mekanisme penutupan sudut BMD yang berbeda menimbulkan *stretch* yang berbeda bagi ketiga jenis GSTP. Kenaikan TIO yang berbeda merangsang produksi TGF- β 2 yang berbeda pula.

Pada GSTP Akut Lanjut kenaikan TIO terjadi mendadak dan tinggi dan berlangsung terus menerus. Pada GSTP Subakut kenaikan TIO terjadi mendadak, tidak setinggi TIO pada GSTP Akut namun TIO dapat spontan turun untuk kemudian meningkat lagi. Peristiwa ini terjadi berulang. Pada GSTP *Creeping* kenaikan TIO

berlangsung amat perlahan namun terus menerus, sehingga seringkali penderita tidak merasakannya.

Sehubungan dengan itu hipotesa yang diajukan untuk variabel TGF- β 2 dalam hubungannya dengan jenis GSTP adalah sebagai berikut : konsentrasi TGF- β 2 dalam cairan akuos terdapat paling tinggi pada GSTP *Creeping*, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut.

Hasil penelitian di paparkan dalam tabel di bawah ini.

Tabel 5.11. Rerata kadar TGF- β 2 berbagai jenis GSTP (pg/ml)

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	271,59	79,051
GSTP Subakut	7	284,57	56,742
GSTP <i>Creeping</i>	10	268,70	71,565

Uji *ANOVA One-Way* untuk melihat adanya perbedaan kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa penderita GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* ternyata tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($f = 0.109$ dan $p = 0.897$)

Tabel 5.11 menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa berbagai jenis GSTP. Hipotesis yang menyatakan bahwa kadar TGF- β 2 paling tinggi terdapat pada GSTP *Creeping* ternyata tidak terbukti dan hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar TGF- β 2 paling rendah terdapat pada GSTP *Creeping*.

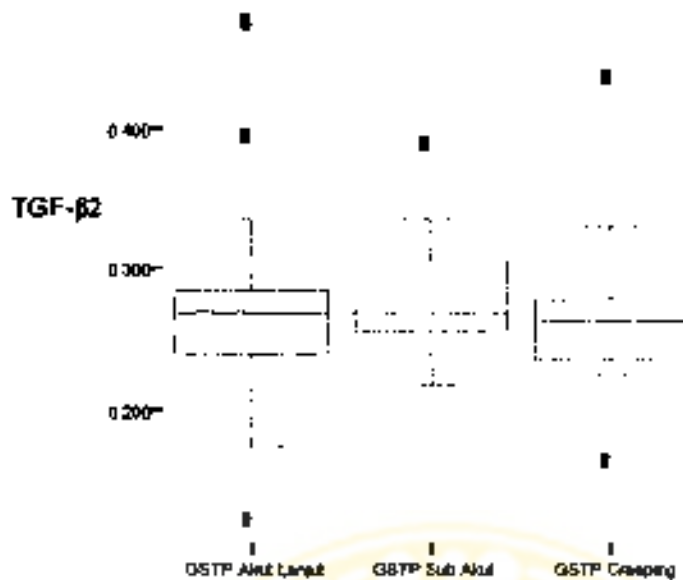


Diagram 9. Kadar TGF- β 2 berbagai jenis GSTP.

Diagram 9. menunjukkan kadar TGF- β 2 yang hampir sama pada GSTP Akut Lanjut GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*. Tidak ada perbedaan bermakna antara GSTP akibat *pupillary block* dan GSTP akibat *iris crowding*, keadaan ini berarti bahwa tidak ada perbedaan reaksi endotel terhadap rangsang atau *stretch* yang terjadi dalam BMD ketiga jenis GSTP tersebut. Meskipun tidak berbeda secara signifikan terdapat kecenderungan kadar TGF- β 2 paling tinggi pada GSTP Subakut, lebih rendah pada GSTP Akut Lanjut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*.

Dalam perjalanan penyakit GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut pernah ada kenaikan TIO mendadak. Pada GSTP Akut Lanjut kenaikan TIO berlangsung terus menerus, sedangkan pada GSTP Subakut, TIO segera turun untuk kemudian meningkat (berlangsung secara *intermittent*) dan ada saat-saat di mana TIO normal. Rangsang yang timbul akibat kenaikan TIO yang terus menerus tidak berbeda dibandingkan rangsang akibat amplitudo besar kenaikan dan penurunan TIO dalam BMD.

Penelitian ini menunjukkan bahwa produksi TGF- β 2 pada stres yang berlangsung perlahan ternyata tidak lebih tinggi dibandingkan produksi TGF- β 2 pada stres yang mendadak dan tinggi, sehingga diambil kesimpulan bahwa pada berbagai jenis GSTP rangsang dalam BMD adalah sama.

Sebagai bahan perbandingan telah dicoba untuk mencari kepustakaan sehubungan dengan konsentrasi TGF- β 2 cairan akuosa pada berbagai jenis GSTP, namun hingga naskah disertasi ini di ketik, belum ada referensi ditemukan.

Sebagian besar penelitian yang dilakukan pakar glaukoma tentang kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa berhubungan dengan GSBP, adalah membandingkan kadar TGF- β 2 cairan akuosa GSBP terhadap GSTP. Pada GSBP terdapat kadar TGF- β 2 lebih tinggi (Tripathi, 1995). TGF- β 2 dalam cairan akuosa penderita GSBP juga terdapat dalam kadar lebih tinggi dibandingkan katarak (Ozcan, 2004)

Hasil penelitian ini tidak sesuai hipotesis, dengan demikian asumsi bahwa stres yang perlahan merangsang produksi TGF- β 2 tidak sesuai untuk keadaan ini. Ada beberapa keterangan yang dapat diberikan untuk menerangkan ketidak-sesuaian hasil penelitian dengan hipotesis.

Pertama, besar sampel yang dipakai dalam penelitian ini terlalu sedikit. Salah satu kendala adalah waktu yang terbatas. Selanjutnya besar sampel yang diperoleh berasal dari sebuah tindakan operasi, sementara tidak selalu tindakan operasi dapat disetujui seorang penderita, walaupun telah diusahakan diagnosa yang tepat. Perlu dipikirkan penelitian lebih lanjut dengan sampel yang lebih besar.

Kedua, adalah dalam hubungannya dengan pemeriksaan sampel. Untuk melakukan pemeriksaan sampel telah dipakai kit pemeriksaan TGF- β 2 dan metode laboratorium sesuai dengan apa yang dilakukan Inaran: untuk membedakan konsentrasi

TGF- β 2 pada GSBP dan GSTP (Inatani, 2001). Tidak tertulis pada naskah Inatani bagaimana seluruh sampel diperiksa apakah sekaligus ataukah satu persatu sesuai tuaian sampel. Pada penelitian ini sampel diperiksa sekaligus pada saat yang sama namun dituai pada saat berbeda sehingga usia setiap sampel pada saat pemeriksaan tidak sama. Untuk memperkecil kesalahan akibat penyimpanan sampel maka segera setelah sampel dituai, sampel dimasukkan dalam tabung Eppendorf, disimpan dalam tabung es dan segera dikirimkan ke laboratorium Biomedik untuk di simpan pada suhu -40°C .

Penelitian ini membuahkan hasil yang tidak sesuai hipotesis. Asumsi peneliti adalah : stres yang di alami endotel BMD identik dengan *shear stress* yang di alami endotel pembuluh darah. Ternyata endotel TM berada dalam vakuola sedangkan endotel pembuluh darah berada dalam saluran atau pipa. Aliran cairan dalam pipa berbeda dengan aliran cairan dalam rongga. Aliran cairan dalam pipa merupakan *laminar flow* sedangkan aliran cairan dalam vakuola merupakan turbulensi, dan pasti bukan sebuah *laminar flow*, sehingga asumsi peneliti kurang tepat.

Penelitian yang pernah dilakukan pada glomerulus tikus dapat menerangkan diskongruensi yang telah terjadi. Pada tikus telah dibuktikan bahwa akumulasi MES terjadi sebagai akibat produksi TGF- β 1 yang meningkat setelah pergantian antara regangan (*stretch*) dan relaksasi yang berlangsung terus menerus. Di samping itu kadar TGF- β 1 tidak meningkat apabila stres yang di berikan pada glomerulus merupakan stres mekanis (Yashuda, 1996).

Analog dengan kejadian pada glomerulus tikus dapat diterangkan mengapa pada GSTP Subakut kadar TGF- β 2 paling tinggi. Pada GSTP Subakut, terdapat amplitudo kenaikan dan penurunan TIO yang bergantian, artinya TIO naik tinggi, turun menjadi normal namun kemudian meningkat tinggi lagi dengan waktu yang tidak menentu.

Kedadaan ini tidak terdapat pada GSTP Akut Lanjut dan GSTP *Creeping*. Pada GSTP Subakut pernah ada regangan dan relaksasi secara bergantian, analog dengan glomerulus tikus maka terdapat kadar TGF- β 2 paling tinggi pada GSTP Subakut.

Apabila data mentah diteliti, terdapat beberapa nilai ekstrim. Untuk itu peneliti menguji ulang data kadar TGF- β 2 ini dengan membuang beberapa nilai ekstrim.

Tabel 5.12. Rerata kadar TGF- β 2 berbagai jenis GSTP (pg/ml) (setelah nilai ekstrim dibuang)

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	16	252,19	51,64
GSTP Subakut	7	284,57	56,74
GSTP <i>creeping</i>	8	262,03	32,90

Uji ANOVA *One-Way* untuk melihat adanya perbedaan kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa penderita GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* ternyata tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($f = 1,069$ dan $p = 0,357$)

Dibandingkan dengan tabel 5.11 sebelum nilai ekstrim dibuang ternyata hasil masih menunjukkan bahwa kadar TGF- β 2 paling tinggi pada GSTP Subakut. Selain itu tabel baru menunjukkan bahwa sesuai hipotesis maka kadar TGF- β 2 pada GSTP *Creeping* lebih tinggi dibandingkan GSTP Akut Lanjut.

Meskipun hasil penelitian tidak berbeda bermakna namun dapat ditarik kesimpulan bahwa produksi TGF- β 2 pada rangsang yang bergantian (*stretch* dan relaksasi) lebih tinggi dibandingkan rangsang yang perlahan meski terus menerus. Produksi TGF- β 2 paling rendah pada stres akibat tekanan hidrolik.

5.3. Variabel NO pada berbagai jenis GSTP

Nitrogen Oksida (NO) adalah radikal bebas berbentuk gas yang tak berwarna, bersifat tidak stabil (waktu paruh hanya 6-10 detik). Sebagai gas maka NO mudah menyelinap melalui membran sel sehingga komunikasi antar sel dapat berlangsung dengan baik. Selain itu setiap molekul NO bersifat mendua, karena menjamin fungsi fisiologis organ normal, namun dalam kadar yang tinggi dapat bersifat toksik (patologis) untuk jaringan tersebut.

Nitrogen Oksida diproduksi oleh sel endotel dengan bantuan eNOS, dalam keadaan aliran basal NO mempertahankan keadaan vasodilatasi pembuluh darah. Perubahan lingkungan (stres yang meningkat dan hipoksia) dapat merangsang sintesis NO sehingga terjadi perubahan tonus pembuluh darah dan perubahan aliran darah di dalamnya (Lincoln, 1997).

Di dalam bola mata NO berfungsi sebagai regulator fisiologis namun dapat juga sebagai mediator patologis, bukan saja dalam pembuluh darah bola mata melainkan juga pada permukaan bola mata, retina dan TM. Telah dibuktikan bahwa NO memodulasi TIO dan aliran darah di dalam bola mata (Wiederholt, 1994; Chuman, 2000).

Menggunakan sel kultur TM manusia, Matsuo (2000) membuktikan bahwa apabila diberikan tekanan hidraulik pada TM maka akan dipicu produksi NO, makin tinggi tekanan hidraulik makin tinggi produksi NO. Pada GSTP Akut Lanjut, TIO meningkat mendadak dan tinggi sekali, jauh lebih tinggi dan cepat dibandingkan GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*. Sehubungan dengan itu maka hipotesis yang diajukan untuk variabel NO adalah bahwa kadar NO dalam cairan akuisa penderita GSTP Akut Lanjut adalah yang paling tinggi, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*.

Tabel 5.13 Rerata Kadar NO berbagai jenis GSTP (microM)

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	63,44**	39,72
GSTP Subakut	7	23,43*	12,59
GSTP <i>Creeping</i>	10	43,30	26,01

Uji *ANOVA One-Way* untuk melihat perbedaan kadar NO dalam cairan akuos BMD penderita GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*, ternyata menunjukkan perbedaan bermakna ($f = 4,083$ dan $p = 0,026$)

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan bermakna kadar NO dalam BMD berbagai jenis GSTP. kesimpulan yang ditarik adalah bahwa produksi NO yang terjadi akibat reaksi sel endotel TM terhadap kenaikan tekanan ditentukan oleh tingginya maupun oleh kecepatan meningkatnya tekanan di dalam BMD. Kenaikan TIO pada GSTP Akut Lanjut terjadi mendadak, tinggi dan berlanjut. Itulah sebabnya kadar NO adalah paling tinggi pada GSTP Akut Lanjut

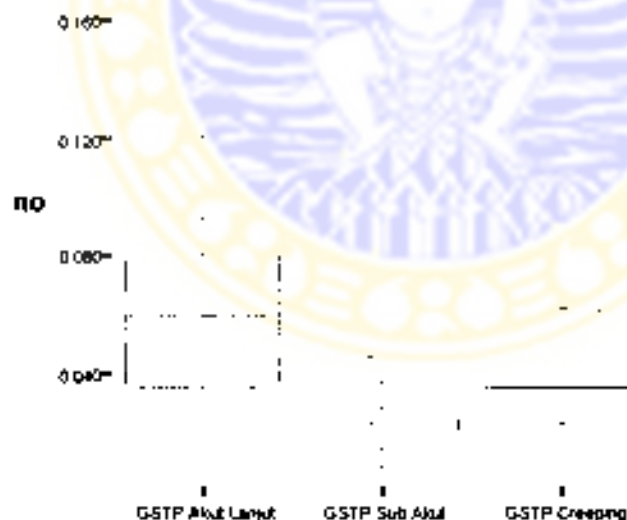


Diagram 10 Kadar NO berbagai jenis GSTP

Diagram 10 dengan lebih jelas menunjukkan perbedaan bermakna kadar NO dalam cairan akuosa penderita GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut ($p = 0,023$).

serentak dua jenis GSTP ini bersama disebabkan oleh *pupillary block*. Perbedaan kedua jenis GSTP ini adalah bahwa GSTP Akut Lanjut terjadi karena blokade yang berlangsung terus menerus, sedangkan blokade pada GSTP Subakut berlangsung intermiten dengan keadaan normal diantara beberapa tekanan yang tinggi. Turunnya TIO diikuti turunnya rangsang produksi NO, dengan demikian dapat dipahami mengapa kadar NO pada GSTP Subakut lebih rendah dibandingkan GSTP Akut Lanjut.

Tekanan rendah ($< 0.1 \text{ dyne/cm}^2$) yang diberikan kurang dari 4 jam tidak memberikan dampak namun bila tekanan tersebut diberikan terus menerus sampai 24 jam ternyata eNOS meningkat (Ziegler, 1997). Dengan menggunakan penemuan Ziegler sebagai dasar pemikiran, dapat diterangkan mengapa pada GSTP Subakut terdapat kadar NO yang lebih rendah di bandingkan GSTP Akut Lanjut.

Kadar NO dalam BMD pada GSTP Akut Lanjut ternyata tidak berbeda bermakna ($p = 0.675$) dibandingkan kadar NO pada GSTP *Creeping*. Keterangan yang dapat diberikan untuk keadaan ini adalah bahwa keberadaan TIO yang terus menerus tinggi itulah yang menjadi faktor utama produksi NO (Rerata TIO pada GSTP Akut Lanjut adalah 47.06 mmHg dan pada GSTP *Creeping* adalah 42.60 mmHg). Pada GSTP Akut Lanjut, TIO meningkat tinggi mendadak dan berlangsung terus menerus. Pada GSTP *Creeping*, TIO meningkat perlahan sampai tinggi dan berada dalam keadaan tinggi terus menerus. Produksi NO telah dipicu tidak saja oleh tingginya TIO, melainkan juga oleh lamanya TIO yang tinggi berada dalam TM dan BMD.

Kadar NO pada GSTP Subakut tidak berbeda bermakna dibandingkan GSTP *Creeping* ($p = 0.647$) namun terdapat kecenderungan kadar yang lebih tinggi pada GSTP *Creeping*. Pada GSTP *Creeping*, TIO meningkat perlahan, makin lama makin tinggi dan bertahan dalam keadaan tinggi. Pada GSTP Subakut terdapat keadaan di

mana TIO bergantian dalam keadaan tinggi dan normal. Dalam keadaan TIO normal, produksi NO tidak dipicu dengan hebat. Keadaan inilah yang menerangkan mengapa kadar NO pada GSTP Subakut lebih rendah dibanding GSTP *Creeping*.

Perbedaan kadar NO yang bermakna terdapat di antara GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut padahal kedua jenis GSTP tersebut bersama disebabkan oleh *pupillary block*. GSTP Akut Lanjut menunjukkan TIO yang meningkat tinggi dan mendadak, sementara pada GSTP Subakut, TIO yang tinggi itu hanya berlangsung beberapa menit sampai jam saja, kemudian turun secara spontan. Ketika TIO sedang turun spontan tidak rangsang sehingga produksi NO tidak setinggi GSTP Akut Lanjut.

5.4. Variabel Apoptosis pada berbagai jenis GSTP

Apoptosis merupakan kematian sel yang telah diprogram secara genetik. Apoptosis dalam bola mata terjadi pada kornea, lensa, TM, retina dan saraf optik. Kebutaan akibat glaukoma merupakan sebuah degenerasi saraf optik dalam bentuk apoptosis sel ganglion retina.

Selain apoptosis sel ganglion retina telah dipelajari pula apoptosis TM sebagai tempat primer kejadian glaukoma. Pada penderita GSBP telah dibuktikan bahwa sel TM banyak berkurang akibat peristiwa apoptosis yang terjadi dalam TM.

Agarwal (1999) membuktikan bahwa apoptosis yang terjadi pada TM dipicu oleh *Vas hgard*. CAO (2004) membuktikan bahwa apoptosis pada TM dipicu oleh TGF- β 2. Sel kultur TM yang diberi *epinephrin* ternyata menunjukkan gejala apoptosis dan peristiwa ini ternyata dipicu produksi NO (Kim, 2003). Dengan demikian apoptosis pada TM dapat dipicu baik oleh TGF- β 2 maupun oleh NO.

GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut merupakan jenis GSTP akibat *pupillary block* yang ditandai oleh keadaan hipoksia, sedangkan GSTP *Creeping* menunjukkan perjalanan penyakit ringan dan menahun tanpa tanda radang. Sehubungan dengan itu diasumsikan bahwa TM pada GSTP *Creeping* lebih banyak ditandai oleh apoptosis, makin ringan gejala makin tinggi indeks apoptosis.

Hipotesis yang diajukan untuk variabel Apoptosis adalah: indeks Apoptosis jaringan TM terdapat paling tinggi pada GSTP *Creeping*, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut. Hipotesis ini ditegakkan sehubungan dengan konsentrasi TGF- β 2 yang diasumsi terdapat paling tinggi dalam TM penderita GSTP *Creeping* kemudian pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut.

Tabel 5.14 Rerata Apoptosis berbagai jenis GSTP

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	2,17*	1,098
GSTP Subakut	7	4,29**	2,138
GSTP <i>Creeping</i>	10	3,00	1,563

Uji ANOVA *One-Way* untuk melihat perbedaan indek apoptosis jaringan TM penderita GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping*, menunjukkan perbedaan yang bermakna ($F = 5,272$ dan $p = 0,0110$)

Tabel 5.14 menunjukkan perbedaan bermakna indeks apoptosis berbagai jenis GSTP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks Apoptosis paling tinggi pada GSTP Subakut, lebih rendah pada GSTP *Creeping* dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut

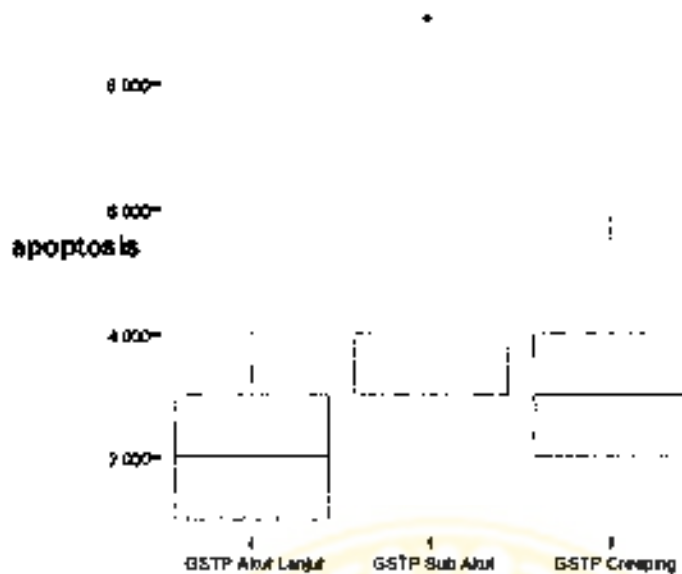


Diagram 11. Indeks apoptosis pada berbagai jenis GSTP.

Diagram 11. lebih jelas menggambarkan hasil yang tertera pada Tabel 13 Pada tabel TGF- β 2 yang telah dimodifikasi ternyata hasil pemeriksaan indeks apoptosis sesuai konsentrasi TGF- β 2. (TGF- β 2 memicu terjadinya proses apoptosis). Tabel 5. 14 (Indeks Apoptosis) menunjukkan urutan yang sesuai dengan Tabel 5.12 (kadar TGF- β 2 setelah nilai ekstrim di buang). Sesuai dengan kerangka konsep penelitian maka TGF- β 2 merangsang timbulnya apoptosis.

Penelitian ini menghasilkan perbedaan bermakna kadar NO ($p=0.026$) dan indeks apoptosis ($p = 0.01$) dengan hubungan. Pada GSTP Subakut terdapat kadar NO yang paling rendah dan indeks apoptosis yang paling tinggi. Bernassola (1999) membuktikan bahwa NO mempengaruhi aktivitas enzimatis *tissue transglutaminase* (tTgase) dengan akibat menghambat timbulnya apoptosis. Hasil penelitian dapat lebih baik diterangkan dengan menggunakan dasar ini.

Kadar NO pada GSTP Akut Lanjut lebih tinggi secara bermakna dibandingkan GSTP Subakut. Indeks apoptosis GSTP Akut Lanjut lebih rendah secara bermakna

dibandingkan GSTP Subakut. Hal ini dapat disebabkan karena semakin tinggi NO maka makin besar dampak hambatannya pada aktivitas enzim *iIlgase*. Makin besar kadar enzim *iIlgase* ditekan makin besar peristiwa apoptosis dapat dihambat. Itulah sebabnya mengapa kadar NO yang tinggi pada GSTP Akut Lanjut menyebabkan indeks apoptosis yang lebih rendah pada GSTP Akut Lanjut

5.5. Variabel Nekrosis pada berbagai jenis GSTP

Nekrosis merupakan bentuk kematian sel diikuti tanda-tanda radang. Apabila apoptosis penting pada keadaan fisiologis maupun patologis, maka nekrosis selalu diakibatkan kerusakan jaringan yang hebat dan akut (patologis), misalnya karena anoksia mendadak, berkurangnya kadar glukose mendadak atau akibat jejas fisiko-kimia. Nekrosis diikuti gejala radang khas. Nekrosis jaringan TM sehubungan dengan glaukoma belum pernah ditemukan peneliti dalam kepustakaan.

Dengan pemikiran bahwa pada GSTP akibat *pupillary block* terdapat pembendungan yang mengakibatkan hipoksia dan selanjutnya dapat diikuti nekrosis, maka diasumsikan bahwa indeks nekrosis akan terdapat paling tinggi pada GSTP Akut Lanjut.

Hipotesis yang diajukan untuk variabel nekrosis adalah bahwa indeks nekrosis adalah paling tinggi pada GSTP Akut Lanjut, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*.

Tabel 5.15 Rerata Indeks Nekrosis berbagai jenis GSTP

Jenis GSTP	N	Mean	SD
GSTP Akut Lanjut	18	3,28	1,565
GSTP Subakut	7	3,57	1,397
GSTP <i>Creeping</i>	10	2,50	1,179

Uji *ANOVA One Way* untuk melihat perbedaan indeks nekrosis GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* ternyata tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($f = 1,390$ dan $p = 0,264$)

Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna indeks nekrosis berbagai jenis GSTP. Pada semua jenis GSTP, kemungkinan hipoksia yang ditimbulkan sudut tertutup berakibat sama, sehingga tidak timbul perbedaan indeks nekrosis. Meskipun tidak bermakna namun hasil penelitian menunjukkan kecenderungan indeks nekrosis paling tinggi pada GSTP Subakut, kemudian GSTP Akut Lanjut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*.

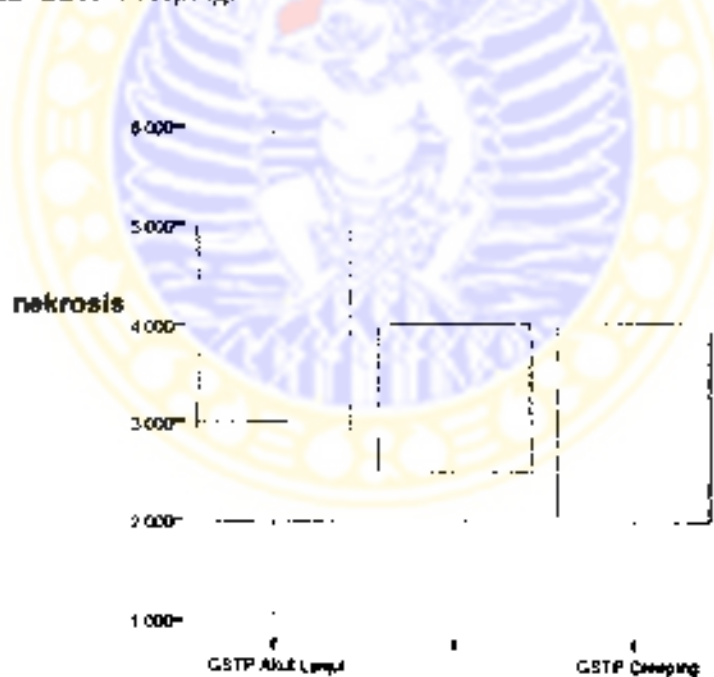


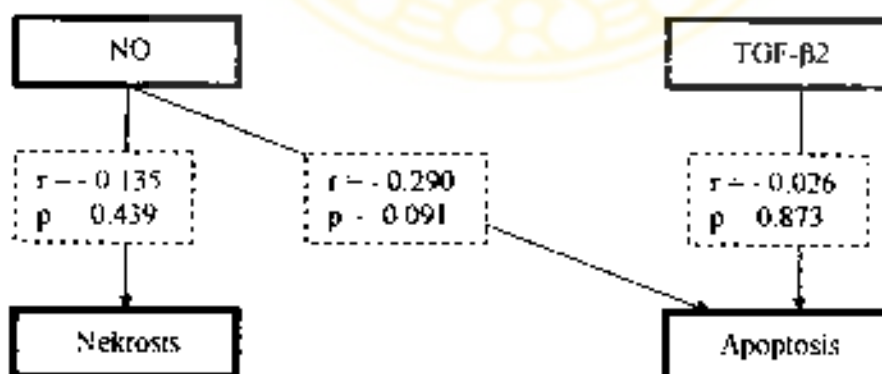
Diagram 12. Indeks nekrosis berbagai jenis GSTP

Diagram 12. lebih jelas menunjukkan bahwa indeks nekrosis pada GSTP Akut Lanjut, GSTP Subakut dan GSTP *Creeping* tidak berbeda bermakna.

Tabel 5.15 menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna indeks nekrosis GSTP Akut Lanjut dibanding GSTP Subakut ($p = 0.89$) meski ada kecenderungan bahwa indeks nekrosis lebih tinggi pada GSTP Subakut di banding GSTP Akut Lanjut. Apabila hipoksia menjadi penyebab utama seharusnya ada kecenderungan indeks nekrosis yang lebih tinggi pada GSTP Akut Lanjut di banding GSTP Subakut.

Antara GSTP Akut Lanjut dan GSTP *Creeping* juga tidak ada perbedaan bermakna ($p = 0.36$), meski ada kecenderungan bahwa indeks nekrosis lebih tinggi pada GSTP Akut Lanjut dibanding GSTP *Creeping*. Apabila hipoksia menjadi penyebab utama maka kecenderungan indeks nekrosis yang lebih tinggi pada GSTP Akut Lanjut memang akan lebih tinggi dibanding GSTP *Creeping* karena pada GSTP *Creeping* relatif tidak pernah ada peristiwa hipoksia, karena tidak pernah ada blokade pada jenis GSTP ini. Keadaan yang sama juga terjadi dengan GSTP Subakut yang mempunyai indeks nekrosis lebih tinggi dibandingkan GSTP *Creeping*.

5.6. Korelasi antar variabel



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Observasi Klinis GSTP *Creeping*.

GSTP *Creeping* merupakan salah satu jenis kelompok glaukoma dengan sudut tertutup. Meskipun tidak berbeda bermakna, namun di bandingkan GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut, terdapat kecenderungan bahwa penderita GSTP *Creeping* :

- merupakan golongan usia paling tua
- di derita jenis kelamin laki-laki sama banyaknya dengan perempuan
- datang berobat paling lama setelah menderita sakit
- mempunyai ketajam penglihatan mata glaukoma yang relatif baik (meskipun ketajaman penglihatan itu $< 2/60$)
- mempunyai ketajaman penglihatan mata kontralateral yang amat buruk ($=0$)
- mempunyai variasi besaran TIO paling lebar
- mempunyai 2 buah mata dengan penggaungan cawan optik paling besar

Kesimpulan yang dapat di tarik adalah bahwa penderita GSTP *Creeping* datang dalam keadaan amat lanjut. Prognosis penderita dalam keadaan lanjut sangat buruk namun menolong penderita dalam stadium dini sulit, sebab saat masih dalam stadium dini sering kali penderita tidak menyadari kelainan yang sedang di deritanya.

Melakukan tindakan operatif dalam stadium lanjut merupakan tindakan yang tidak tepat, karena komplikasi pasca operasi (perlekatan yang lebih banyak dan *inverts*) akan makin menyulitkan penderita. Sehubungan dengan itu terapi medikamentosa (anti TGF- β dan NO agonist) perlu dipertimbangkan untuk penderita GSTP *Creeping*.

6.2. Pembahasan variabel biologi molekuler.

6.2.1. Kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa berbagai jenis GSTP.

Hipotesis yang di tegakkan untuk variabel TGF- β 2 adalah bahwa kadar TGF- β 2 cairan akuosa adalah paling tinggi pada GSTP *Creeping*, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut.

Informasi yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa tidak ada perbedaan bermakna kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa berbagai jenis GSTP, namun ada kecenderungan bahwa kadar itu paling tinggi pada GSTP Subakut lebih rendah pada GSTP Akut Lanjut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*.

Tidak adanya perbedaan bermakna tersebut dapat disebabkan berbagai hal seperti sampel yang terlalu kecil, metode pemeriksaan yang kurang tepat, namun dapat juga karena dasar penegakkan hipotesis (kadar TGF- β 2 meningkat pada stres yang timbul perlahan dan meningkat perlahan) yang tidak tepat.

Pada penelitian menggunakan glomerulus tikus terbukti bahwa kadar TGF- β 1 meningkat apabila diberikan stres berupa regangan dan relaksasi bergantian dan berulang (Yasuda, 1999). Pada keadaan di mana TKO naik dan turun bergantian dengan waktu tidak tentu (seperti yang terjadi pada GSTP Subakut), ternyata juga di dapatkan kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa yang paling tinggi dibanding kedua jenis GSTP lainnya.

Setelah dilakukan uji ulang dengan membuang nilai ekstrim tetap diperoleh perbedaan yang tidak bermakna, kadar TGF- β 2 tetap paling tinggi pada GSTP Subakut namun kecenderungan itu berubah dan kadar TGF- β 2 pada GSTP *Creeping* menjadi lebih tinggi dibanding GSTP Akut Lanjut (sesuai dengan hipotesis)

Penelitian ini menunjukkan kecenderungan bahwa produksi TGF- β 2 dalam cairan akuosa lebih dipengaruhi oleh perubahan tekanan (amplitudo tinggi dan rendah) di dalam bola mata dan bukan karena perubahan yang linier yang terjadi perlahan ataupun karena tingginya TIO. Amplitudo tinggi dan rendah hanya di mungkinkan oleh faktor *pupillary block* yang dengan mudah mengubah keseimbangan TIO secara akut, sementara perlekatan perlahan tidak mungkin menyebabkan pergantian TIO yang cepat. Perlekatan perlahan yang semula di pakai sebagai dasar konsep penelitian ini ternyata tidak tepat sebab pada perlekatan perlahan, TIO meningkat perlahan tanpa gelombang perubahan yang tinggi.

6.2.2. Kadar NO dalam cairan akuosa berbagai jenis GSTP.

Hipotesis yang ditegakkan untuk variabel NO adalah bahwa kadar NO cairan akuosa adalah paling tinggi pada GSTP Akut Lanjut, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*.

Informasi yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa kadar NO dalam cairan akuosa penderita GSTP Akut Lanjut lebih tinggi secara bermakna dibandingkan GSTP Subakut, sementara terhadap GSTP *Creeping* tidak ada perbedaan bermakna. Perbedaan bermakna tersebut terdapat pada GSTP dengan penyebab sama (*Pupillary block*). Keterangan untuk keadaan ini adalah bahwa pada GSTP Akut Lanjut, TIO telah meningkat dengan cepat sekaligus tinggi dalam waktu singkat. Hal ini sesuai dengan penelitian Matsuo (2000) yang menunjukkan bahwa apabila tekanan hidraulik dinaikkan sampai 80 mmHg dalam waktu singkat maka produksi NO paling tinggi. Pada GSTP Subakut ada episode di mana TIO berada dalam keadaan normal dan pada saat itu produksi NO juga normal. Hal inilah yang dapat menerangkan mengapa kadar NO pada GSTP Subakut lebih rendah dibandingkan GSTP Akut Lanjut.

Meskipun tidak bermakna namun terdapat kecenderungan kadar NO pada GSTP *Creeping* lebih rendah dibandingkan GSTP Akut Lanjut dan lebih tinggi di bandingkan GSTP Subakut. TIO pada GSTP *Creeping* tidak pernah mendadak tinggi seperti pada GSTP Akut Lanjut, namun TIO pada GSTP *Creeping* meningkat tinggi perlahan dan tidak pernah berada dalam keadaan normal seperti pada GSTP Subakut, itulah sebabnya mengapa kadar NO pada GSTP *Creeping* lebih tinggi di bandingkan GSTP Subakut.

Kesimpulan yang diperoleh adalah bahwa produksi NO dalam cairan akuosa lebih dipengaruhi oleh perubahan TIO yang mendadak dan tinggi dan selama TIO tinggi maka produksi NO juga tinggi

6.2.3. Indeks Apoptosis jaringan TM berbagai jenis GSTP.

Hipotesis yang di tegakkan untuk indeks apoptois adalah bahwa indeks itu paling tinggi pada GSTP *Creeping*, lebih rendah pada GSTP subakut dan paling rendah pada GSTP Akut Lanjut.

Informasi yang diperoleh dari penelitian ini adalah: indeks apoptosis pada penderita GSTP Subakut lebih tinggi secara bermakna dibandingkan GSTP Akut Lanjut, sementara terhadap GSTP *Creeping* tidak ada perbedaan bermakna

Perubahan kadar TGF- β 2 dan NO yang diproduksi memberikan dampak pada fungsi endotel TM, yang dinyatakan dalam indeks apoptosis dan indeks nekrosis. Besarnya indeks apoptosis dalam TM telah dihubungkan dengan kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa Hasil penelitian ternyata tidak berhubungan, karena kadar TGF- β 2 antar ketiga jenis GSTP ternyata tidak bermakna sementara indeks apoptosis antara GSTP Subakut berbeda bermakna terhadap GSTP Akut Lanjut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara bermakna penderita GSTP Subakut mempunyai kadar NO paling rendah dibandingkan kedua bentuk GSTP lainnya. Nitrogen Oksida dapat menekan kerja tTgase sehingga pada penderita GSTP Subakut di dapatkan indeks apoptosis paling tinggi.

Apoptosis terjadi baik karena pengaruh TGF- β 2 maupun NO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variabel yang berbeda bermakna adalah kadar NO dan indeks apoptosis. Dengan demikian dapat di simpulkan bahwa bahwa pada penderita GSTP indeks apoptosis yang tinggi di sebabkan kurangnya produksi NO.

Meskipun tidak terdapat perbedaan bermakna, namun hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar TGF- β 2 pada GSTP Subakut adalah paling tinggi dan dengan indeks apoptosis paling tinggi pada GSTP Subakut ada kemungkinan bahwa bahwa apoptosis pada GSTP di sebabkan tingginya kadar TGF- β 2.

Kesimpulan yang dapat ditarik adalah bahwa apoptosis yang terjadi pada TM penderita GSTP merupakan dampak dari kurangnya NO dan mungkin juga karena meningkatnya juga kadar TGF- β 2.

6.2.4. Indeks Nekrosis jaringan TM berbagai jenis GSTP.

Hipotesis yang di tegakkan untuk indeks nekrosis adalah bahwa indeks itu paling tinggi pada GSTP Akut Lanjut, lebih rendah pada GSTP Subakut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*.

Informasi yang diperoleh dari penelitian ini adalah: tidak ada perbedaan bermakna indeks nekrosis jaringan TM pada berbagai jenis TM; namun terdapat kecenderungan di mana itu indeks nekrosis paling tinggi pada GSTP Subakut, lebih rendah pada GSTP Akut Lanjut dan paling rendah pada GSTP *Creeping*.

Nekrosis yang terjadi pada GSTP dihubungkan dengan hipoksia yang terjadi akibat penekanan organ dalam BMD. Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna, dengan demikian dapat diambil kesimpulan bahwa hipoksia yang terjadi pada berbagai jenis GSTP tidak berbeda.

Nekrosis dapat terjadi akibat kadar NO yang tinggi. Apabila terdapat kadar NO yang lebih tinggi pada GSTP Akut Lanjut seharusnya indeks nekrosis pada GSTP Akut Lanjut juga tinggi, namun hal ini tidak terbukti, namun sesuai dengan hipotesis maka indeks nekrosis pada GSTP *Creeping* adalah yang paling kecil.

6.3. Pembahasan Umum

Secara umum di peroleh beberapa pengertian sebagai berikut :

- Produksi TGF- β 2 pada glaukoma sudut tertutup merupakan faktor dari perubahan amplitudo tinggi dan rendah yang bergantung dan bukan karena TIO yang meningkat liner secara perlahan.
- Produksi NO pada glaukoma sudut tertutup merupakan faktor dari meningkatnya TIO yang terjadi mendadak dan tinggi sekali. Apabila TIO kembali normal, NO juga kembali normal.
- Apoptosis yang terjadi pada *Trabecular Meshwork* merupakan kematian sel endotel yang di pengaruhi oleh menurunnya kadar NO dan mungkin juga oleh kenaikan kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa.
- Nekrosis yang terjadi pada *Trabecular Meshwork* merupakan parameter biologi molekuler yang tidak bermakna untuk membedakan jenis-jenis GSTP.

- Meskipun dapat di terangkan hubungan antara kenaikan TIC yang mendadak dan tinggi dengan kadar NO dalam cairan akuosa serta indeks apoptosis dalam jaringan TM, namun korelasi hubungan ini amat kecil dan tidak bermakna.
- Dari 4 variabel biologi molekuler (TGF- β 2, NO, Apoptosis dan Nekrosis) yang di periksa, ternyata untuk 3 variabel (TGF- β 2, NO, Apoptosis) kedudukan parameter biologi molekuler GSTP *Creeping* berada di antara parameter biologi molekuler GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut. Dengan demikian GSTP *Creeping* bukan sebuah bentuk GSTP tersendiri.

Aliran cairan akuosa merupakan perangsang tetrafluorida silikon dan gas dalam BMD dan produksi bahan-bahan ini mempengaruhi endotel TM. Apabila homeostasis terganggu akan timbul kerusakan, yang di ukur peneftian ini melalui produksi TGF- β 2 dan NO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa homeostasis terganggu apabila aliran cairan akuosa menyebabkan perubahan mendadak berupa amplitudo tinggi dan rendah TIC yang akan mengganggu keseimbangan kadar TGF- β 2 dan NO dalam BMD).

Perubahan mendadak amplitudo tinggi dan rendah TIC di mungkinkan oleh *pupillary blocking* yang perubahannya tergantung banyak faktor fisiologi dan farmakologi. Pada keadaan *iris crowding* yang lebih bersifat perlekatan perlahan akan terjadi perubahan perlahan pula.

Kesimpulan yang dapat di tarik adalah bahwa pada GSTP, faktor *pupillary blocking* merupakan faktor utama penyebab gangguan homeostasis. Faktor *iris crowding* tidak banyak memegang peranan.

Perbedaan antara GSTP *Creeping* dengan GSTP Akut Lanjut serta GSTP Subakut lebih banyak merupakan perbedaan konfigurasi anatomi yang bukan faktor penentu dalam sebuah sudut seropit dengan dimensi serba kecil

Dengan demikian dapat di terangkan mengapa parameter biologi GSTP *Creeping* tidak berbeda dari parameter biologi molekuler GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut. Sesuai pemikiran Wang yang meneliti GSTP secara fisik, maka pengukuran biologi molekuler menunjang hasil penelitian Wang yang menyatakan bahwa GSTP *Creeping* merupakan bentuk GSTP dengan mekanisme ganda, yaitu baik *pupillary blocking* maupun *iris crowding*.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Dari uraian analisis data hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat dibuat kesimpulan yang berkaitan dengan hipotesis penelitian, sebagai berikut :

- 7.1.1. Kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa terdapat paling tinggi pada GSTP Subakut (bukan pada GSTP *Creeping*) dan tidak berhubungan dengan *Shear stress* melainkan dengan amplitudo kenaikan TIO yang tinggi dan rendah bergantian.
- 7.1.2. Kadar NO cairan akuosa paling tinggi terdapat pada penderita GSTP Akut Lanjut, lebih rendah pada GSTP *Creeping* dan paling rendah pada GSTP Subakut. (kadar paling rendah yang terdapat pada GSTP Subakut di sebabkan karena GSTP Subakut pernah di tandai dengan TIO yang normal)
- 7.1.3. Indeks apoptosis jaringan TM yang paling tinggi tidak terdapat pada penderita GSTP *Creeping*, melainkan pada GSTP Subakut, dan indeks paling lebih rendah terdapat pada GSTP Akut Lanjut.
- 7.1.4. Indeks nekrosis jaringan TM yang paling tinggi terdapat pada penderita GSTP Subakut (bukan pada GSTP Akut Lanjut) dan indeks lebih rendah terdapat pada GSTP *Creeping*.

Secara umum dapat ditarik tiga kesimpulan umum :

1. perubahan mendadak tekanan di dalam bola mata merupakan keadaan yang lebih merugikan dibandingkan perubahan tekanan yang meningkat perlahan.

2. Kesempatan kembalinya tekanan dalam bola mata menjadi normal kembali merupakan peristiwa yang menguntungkan bagi jaringan

3. Peristiwa apoptosis dan nekrosis yang terjadi dalam jaringan tidak dapat semata-mata dihubungkan dengan kadar TGF- β 2 dan NO yang berada dalam jaringan tersebut.

Dengan demikian sebagian hipotesis dapat di terima dan sebagian lagi tidak dapat di terima. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kedudukan GSTP *Creeping* dalam seluruh GSTP adalah di antara GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut, namun juga bukan salah satu di antaranya.

Penelitian ini tidak menghasilkan sebuah *cut off* parameter biologi molekuler untuk GSTP *Creeping*, namun hasil penelitian mendukung pemikiran Wang yang menyatakan bahwa GSTP *Creeping* di sebabkan sebuah mekanisme ganda (*pupillary block* dan *iris crowding*)

Hal baru yang di temukan dari penelitian ini adalah kerusakan jaringan yang timbul pada TM penderita glaukoma berbeda dari kerusakan saraf optik pada glaukoma. Kerusakan saraf optik di sebabkan karena perubahan yang perlahan (kenaikan IIO yang perlahan), sementara kerusakan TM timbul karena perubahan mendadak (amplitudo kenaikan IIO yang besar)

7.2. Saran

7.2.1. Saran untuk penatalaksanaan glaukoma.

1. Menurunkan tekanan di dalam bola mata dengan segera merupakan upaya yang terbaik bagi penderita glaukoma.
2. Hingga kini tindakan operatif untuk GSTP masih merupakan masalah karena komplikasi pasca bedah yang di timbulkannya cukup besar.

Selubungan dengan itu dipikirkan terapi medikamentosa. Antagonis NO (sebagai terapi medikamentosa yang kini sedang dikembangkan) dinyatakan baik untuk menurunkan TIO pada binatang coba (dengan *experimental glaucoma*); namun perlu dipertimbangkan dengan lebih baik pada manusia dengan glaukoma primer karena penelitian ini menunjukkan bahwa apoptosis timbul apabila kadar NO menjadi rendah.

Penelitian ini menunjang penggunaan CAT12 sebagai anti TGF- β 2 untuk terapi glaukoma.

7.2.2. Saran untuk penelitian selanjutnya.

7.2.2.1. GSTP *Creeping* berbeda dari GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut secara anatomi, GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut sama secara anatomi dan hanya berbeda dalam derajat kekuatan blokade pupil. Hasil penelitian menunjukkan bahwa parameter biologi molekuler GSTP *Creeping* berada di antara GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut. Perlu di teliti lebih lanjut untuk menerangkan bagaimana hal ini dapat terjadi.

7.2.2.2. Kadar NO menunjukkan perbedaan bermakna antara GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut, tetapi tidak dengan GSTP *Creeping*. Untuk itu perlu di teliti dari mana NO

itu berasal. Perlu diteliti apakah iNOS atau eNOS yang berperan. Apabila ternyata bahwa pada ketiga bentuk GSTP tidak menunjukkan perbedaan iNOS atau eNOS maka hal ini akan menguatkan pemikiran GSTP *Creeping* sebagai sebuah *multimechanism*.

7.2.2.3. GSTP Akut Lanjut secara klinis amat berbeda dari GSTP *Creeping*, namun secara biologi molekuler parameter cairan akuosa kedua jenis glaukoma itu tidak berbeda bermakna. Perlu di periksa perbandingan kadar NO dalam plasma pada saat yang sama dengan kadar NO dalam cairan akuos. Pada keadaan akut perbedaan antara kadar NO plasma dan dalam cairan akuos berbeda bermakna.

7.2.2.4. GSTP Akut Lanjut secara klinis amat berbeda dari GSTP *Creeping*, namun secara biologi molekuler parameter cairan akuosa kedua jenis glaukoma itu tidak berbeda bermakna. Perlu di periksa keadaan MES pada TM penderita GSTP *Creeping* dan GSTP Akut Lanjut / GSTP Subakut, karena MES pada kelainan dengan perjalanan penyakit menahun berbeda dengan MES kelainan dengan perjalanan penyakit akut.

7.2.2.5. GSTP *Creeping* adalah bagian dari GSTP, namun penderita GSTP Akut Lanjut dan GSTP Subakut di dominasi jenis kelamin perempuan, sementara pada GSTP *Creeping* jumlah penderita laki-laki sama dengan perempuan. Dipikirkan sebuah penelitian yang memeriksa kadar estrogen penderita GSTP

7.2.2.6. GSTP *Creeping* seringkali di diagnosis pada stadium yang amat lanjut. Pemeriksaan mutasi gen yang terjadi pada GSTP *Creeping* mungkin sudah waktunya di lakukan (sementara ini mutasi gen penyebab GSBP sudah di ketahui, juga pada GSTP Akut, namun belum ada penelitian pada GSTP Subakut dan pada GSTP *Creeping*).

DAFTAR PUSTAKA.

- Acott TS, Westcott M, Passo MS, Van Buskirk EM. (1985). Trabecular meshwork glycosaminoglycans in human and cynomolgus monkey eye. *IOVS* 26: 1320-9
- Agarwal R, Talati M, Lambert W, Clark AF, Agarwal N, Wordinger RJ. (1999) Fas-activated apoptosis and apoptosis mediators in human trabecular meshwork cells. *Exp Eye Res* May 68(5) : 583-90
- Alexander JP, Samples JR, Van Buskirk EM, Acott TS. (1991). Expression of matrix metallo-proteinases and inhibitor by human trabecular meshwork. *IOVS* 32 : 172-80
- Ang J.P, Aung T, Chua WH, Yip LW, Chew PT (2004). Visual field loss from primary angle-closure glaucoma: a comparative study of symptomatic and asymptomatic disease. *Ophthalmology*, 111(9) : 1636-40
- Aung T, Ang J.P, Chan SP, Chew PT (2001) Acute primary angle -closure : long term intraocular pressure outcome in Asian eyes. *Am J Ophthalmol* Jan 131(1) : 7-12
- Awolusi MA, Sessa WC, Sumpio BF (1995). Cyclic strain upregulates Nitric Oxide Synthase in cultured bovine aortic endothelial cells. *J Clin Invest* 96 : 1449-54.
- Barak MH, Weinreb RN, Ryder MI (1988) : Quantitative assessment of cynomolgus monkey trabecular cells phagocytosis and adsorption. *Curr Eye Res* May 7 (5) : 445-8
- Bequet F, Courtois Y, Goureau O (1997). Nitric Oxide in the eye : multifaceted roles and diverse outcomes. *Surv Ophthalmol* 42 : 71-82
- Behar-Cohen FF, Goureau O, D'Hermies F (1996). Decreased intraocular pressure induced by Nitric Oxide donor is correlated to nitrite production in the rabbit eye. *IOVS* 37: 1711-15
- BenEzra D, Sachs U. (1974). Growth factors in aqueous humor in normal and inflamed eyes of rabbits. *invest Ophthalmol* 13 : 968
- Bernassola F, Rossi A, Melmo G (1999). Regulation of transglutaminases by Nitric Oxide. *Ann N Y Acad Sci* 887 : 83-91
- Bonomi J. : Classification of angle closure glaucoma <http://www.glaucomaworld.net> No 23. November 2001
- Bourne RRA, Sukdom P, Foster PJ, Tantisevi V, Japankul S, Lee PS, Johnson GJ, Rojanapongpun P (2003). Prevalence of glaucoma in Thailand : a population based survey in Rom Klao District, Thailand. *Br J Ophthalmol* 87: 1069-74

- Buller C, Johnson DH, Tschumper RC (1990). Human trabecular meshwork phagocytosis. Observations in an organ culture system IOVS 31 (10) 2156-63
- Bradley JMB, Kelley MJ, Zhu XH, Anderssohn AM, Alexander JP, Acott TS (2001). Effects of mechanical stretching on Trabecular Matrix Metalloproteinases. IOVS 42 (7) : 1505-15
- Bradley JMB, Kelley JM, Rose A, Acott TS (2003). Signalling pathways used in Trabecular Matrix Metalloproteinase, response to mechanical stretch. IOVS 44(2) : 5174- 81
- Bredt DS, Snyder SH (1994). Nitric Oxide, a physiologic messenger molecule. Annu Rev Biochem 63: 175-95
- Buchi ER. (1992). Cell death in rat retina after pressure-induced ischaemia-reperfusion insult : an electron microscopic study . I. Ganglion cell layer and inner nuclear layer. Exp Eye Res 55 : 605-13
- Cao Y, Wei H, Da B, Huang Y. (2001) Effect of Transforming Growth Factor-beta2 on phagocytosis in cultured bovine trabecular meshwork. J Tongji Med Univ 21 (4) : 318-20
- Cao Y, Wei H, Pfaff M, Da B, Li Z. (2004). Apoptosis of human trabecular meshwork cells induced by Transforming Growth Factor-beta2 in vitro. J Huanzhing Univ Sci Technolog 24(1) : 87-9
- Chakarvarthy B, Stitt AW, McNally J (1995). Nitric Oxide Synthase activity and expression in retinal capillary endothelial cells and pericytes. Curr Eye Res 14 :285-94
- Chang H, Elner G, Yue YJ, Cornicelli A, Kawa JE, Elmer VM (1991) Expression of modified low-density lipoprotein receptors by trabecular meshwork cells. Curr Eye Res 10(12) : 1101-12.
- Chang CJ, Chiang CH, Chow JC, Lu DW (2000). Aqueous humor Nitric Oxide levels differ in patients with different types of glaucoma. J Ocul Pharmacol Ther 16(5) 399-406
- Chauhan BC, Drance SM (1990). The influence of intra ocular pressure and visual field damage in patients with normal-tension and high-tension glaucoma. IOVS 31 : 2367-72
- Chiu GCY, Liu SXL, Li BHP, Vaarna RS, Chiang CH. (1995) Ocular hypotensive effect of arginine compounds and their actions on ocular blood flow. J Ocul Pharmacol Ther 11 : 1-10.

- Chiou SH, Chang CJ, Hsu WM, Kao CL, Liu JH, Chen WL, Tsai DC, Wu CC (2001). Elevated Nitric Oxide level in aqueous humor of patients with Acute Angle-closure Glaucoma. *Ophthalmologica* 215 (2) : 113-6
- Chuman H, Chuman T, Nobuhisa N (2000). The effect of L-arginine on intra-ocular pressure in the human eye. *Curr Eye Res* 20 : 511-6
- Congdon NG, Qi Y, Quigley H (1997) Biometry and Primary Angle-closure Glaucoma among Chinese, white and black populations. *Ophthalmology*, 104 : 1489-95.
- Congdon NG, Fodter PJ, Wamsley S, Gutmark J, Nolan W, Seah SK, Johnson GJ, Broman AT (2002). Biometric gonioscopy and the effects of age, race and sex on the anterior chamber angle. *Br J Ophthalmol* 86 : 18-22.
- Connor TB Jr, Roberts AB, Sporn MB, Danielpour D, Dart LI, Michels RG (1989). Correlation of fibrosis and Transforming Growth Factor β type2 levels in the eye. *J Clin Invest* 83:1661-6
- Corson MA, James NL, Latta SE, Nere, RM, (1996). Phosphorylation of endothelial Nitric Oxide Synthase in response to fluid Shear Stres. (1996). *Circ Res* 79 : 094-91.
- Cousins SW, McCabe MM, Danielpour D, Streilein JW (1991) Identification of Transforming Growth Factor- β as an immunosuppressive factor in aqueous humor. *IVOS* 32:2201-11
- Damoulis P, Hauschka P (1997). Nitric Oxide acts in conjunction with proinflammatory cytokines to promote self death in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 12 : 412:22
- Darzynkiewicz Z, Bruno S, DelBino G, Gorczyca W, Hotz MA (1996). Features of apoptotic cells measured by flow cytometry . *Cytometry* 13 : 795-808
- Davangar M, Ringvold A, Bilka S (1991) The probability of having glaucoma at different IOP levels. *Acta Ophthalmol* 69 : 565-8.
- Dernouchamps JP. (1982). The proteins of the aqueous humor. *Doc Ophthalmol* 53 : 193
- De Vos AF, van Haren MA, Verhagen C, Hoekma R, Kijlstra A, (1994). Kinetics of intraocular tumor necrosis factor and interleukin-6 in endotoxin-induced uveitis in the rat. *IVOS* 35 : 1100-6
- Doganay S, Evreklioglu C, Turkoz Y, Er H (2002). Decreased Nitric Oxide production in Primary Open-angle Glaucoma. *Eur J Ophthalmol* 12 (1) : 44-8

- Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA (1996). Elevated glutamate levels in the vitreous body of human and monkeys with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 114 : 299-305
- Foster PJ, Baasanhu J, Alsbirk PH. (1997). Glaucoma in Mongolia. A population-based survey in Hovsgol Province, Northern. Anterior chamber depths in Mongolians : variation with age, sex and method of measurement. *Am J Ophthalmol* 124:53-60
- Foster PJ (2002) ; The epidemiology of primary angle-closure and associated glaucomatous optic neuropathy. *Semin Ophthalmol Jun* 17(2) : 50-8
- Garcia-Valenzuela E, Shareef S, Walsh J, Sharma SC (1995) Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. *Exp Eye Res* 61:33- 44.
- Gazzard G, Foster PJ, Devereux JG, Oen F, Chew P, Khaw PT, Seah S (2003). Intraocular pressure and visual field loss in primary angle closure and primary open angle glaucomas. *Br J Ophthalmol* 87 : 720-5
- George R, Paul PG, Baskaran M, Ramesh Ve, Raju P, Arvind H, McCarty C, Vijaya L. (2002). Ocular biometry in occudable angles and angle closure glaucoma a population based survey. *Br J Ophthalmol* 87: 399-402
- Geyer O, Podos SM, Mittag T (1997). Nitric Oxide Synthase activity in the tissues of bovine eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 235 : 786 -93
- Gonzalez P, Epstein DI, Borras T (2000). Genes upregulated in the human trabecular meshwork in response to elevated intraocular pressure. *IOVS* 41 : 352-61
- Granstein RD, Staszewski R, Knisely TL, Zeira E, Nazareno , Latina M, Albert DM (1990). Aqueous humor contains Transforming Growth Factor-beta and a small inhibitor of thymocytic proliferation. *J Immunol* 144: 3021-7
- Grierson L, Lee WR (1973) : Erythrocyte phagocytosis in the human trabecular meshwork. *Br J Ophthalmol* 57(6) : 400-15
- Grierson I, Lee WR (1975). Acid mucopolysaccharides in the aqueous outflow apparatus. *Exp Eye res* 21 : 417-31
- Grierson I, Lee WR (1975). The fine structure of the trabecular meshwork at graded levels of intra ocular pressure. (2) Pressure outside the physiological range (0 and 50 mmHg). *Exp Eye Res* 20 : 523-30
- Grierson I, Chisholm ZA (1978) : Clearance of debris from the iris through the drainage angle of the rabbit's eye. *Br J Ophthalmol* 62(10) 694-704

- Grierson I, Day J, Unger WG, Ahmed A (1986). Phagocytosis of latex microspheres by bovine meshwork cells in culture. *Exp Eye Res* 49(1) : 113-27
- Gu Y, Zeng S, Qiu P, Peng D, Yan G (2002). Apoptosis of bovine trabecular meshwork cells induced by dexamethasone. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* May 38(5) 302-4
- Hamard P, Debbasch C, Blondin C, Brignole F, Loison-Dayma K, Warnet JM, Baudouin C (2002). Human trabecular cells and apoptosis: in vitro evaluation of the effect of betaxolol with or without preservative. *J Fr Ophthalmol* Oct 25 (8) : 777-84
- Han Y, Zhang B, Guo X, Zhang Z (2001) A clinical investigation on the relationship between Nitric Oxide and elevation of intraocular pressure in glaucoma. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 37(4) : 281-3
- Harrison DG, Sayegh H, Ohara Y, Inoue N, Venema RC (1996) Regulation of expression of the endothelial cell Nitric Oxide Synthase. *23* : 251-5
- Harris-Yitzhak M, Harris A, Ben Rafael Z (2000). Estrogen-replacement therapy: effects on retrobulbar hemodynamics. *Am J Ophthalmol* 129 : 623-8
- Helbig H, Kinredge KL, Coca-Prados M, Davis J, Palestine AG (1991). Mammalian ciliary body epithelial cells in culture produce Transforming Growth Factor- β . *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 229 : 84-7
- Hiratsuka Y, Ono K, Kanai A (2001). The present state of blindness in the world. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 105(6) : 369-73
- Hu Z, Zhao ZL, Dong FT (1989). An epidemiologic investigation of glaucoma in Beijing and Shun-yi County (in Chinese). *Zhongguo Yanke Zazhi* 25. 115-18
- Inatani M, Tanihara H, Katsuta H, Honjo M, Kido N, Honda Y (2001). Transforming Growth Factor- β 2 in aqueous humor of glaucomatous eyes. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 339: 109-13
- Ing D, Zang J, Dzau V, Webster K, Bishopric N (1999) Modulation of cytokine-induced cardiac myocyte apoptosis by Nitric Oxide, bax and bel-x. *Circ Res* 84:21-33
- Jampel HD, Roche N, Stark WJ, Roberts AB (1990). Transforming Growth Factor- β in human aqueous humor. *Curr Eye Res* 9 : 963- 9
- Johnson DH, Richardson JM, Epstein DL (1989). Trabecular meshwork recovery after phagocytic challenge. *Curr Eye Res* 8 (11) : 1121-30
- Johnson DL, McAllister TN, Frangos JA (1996). Fluid flow stimulates rapid and continuous release of Nitric Oxide in osteoblast. *Am J physiol* 271 : E 205-8

- Johnstone MA, Grant WM (1973). Pressure-dependent changes in structures of the aqueous outflow system of human and monkey eyes. *Am J Ophthalmol* 75 : 365-83
- Kitazawa Y (1990). Epidemiology of PACG. *Asian Pacific J Ophthalmol* 2:78-81
- Klein BE, Klein R, Sponsel WE, Franke T, Cantor LB, Martone J, Menage MJ (1992). Prevalence of glaucoma. The Beaver Dam eye Study. *Ophthalmology* Oct 99 (10): 1499-504.
- Knisely TL, Bleicher PA, Vibbard CA, Granstein RD (1991). Production of latent Transforming Growth Factor-beta and other inhibitory factors by cultured murine iris and ciliary body cells. *Curr Eye Res* Aug 10(8): 761-71
- Kokawa N, Sotozono C, Nishida K, Kinoshita S (1996). High total TGF- β levels in normal human tears. *Curr Eye res* 15: 341-3
- Kosior-Jarecka E, Gerkowicz M, Latańska M, Kozioł-Montewka M. (2004). Nitric Oxide level in aqueous humor in patients with glaucoma. *Klin Oczna* 106(1) : 158-9
- Lachkar Y (2003). Angle closure chronic glaucoma. *Fr Ophthalmol* 2 : S49-52
- Leibowitz HM, Kreuger DE, Maunder IR. (1980). The Framingham Eye Study. Monograph. *Surv Ophthalmol*, 24 (suppl) 335-610
- Lepple-Wienhues A, Stahl F, Wiederholt M. (1991). Differential smooth muscle-like contractile properties of trabecular meshwork and ciliary muscle. *Exp Eye Res* 53 : 33-8
- Lincoln J, Hoyle CHV, Burnstock G (1997). Nitric Oxide in health and disease. Cambridge University Press, 1997
- Liu SXJ, Chioa GCY, Varma RS (1995). Improvement of retinal function after ischemia with L-arginin compounds and their actions on ocular blood flow. *J Ocul Pharmacol Ther* 11: 263-8.
- Lockshin RS (1990) : Programmed Cell Death - New thoughts and relevance to aging. *J Gerontol* Sep 45(5) : B 135-40
- Lowe RE (1964) Primary Creeping Angle-Closure Glaucoma. *Brit J Ophthalmol* 48, 544-50
- Lowe RE (1968) Time amplitude sonography for ocular biometry. *AM J Ophthalmol* 1968, 66 : 9113-18
- Lowe RE (1969). Causes of shallow anterior chamber in Primary Angle-closure Glaucoma. *Am J Ophthalmol* 67:87-95

- Loewe RF (1988) : Clinical types of Primary Angle-closure Glaucoma. Aust N Z J Ophthalmol Aug 16(3) : 245-50
- Lutjen-Drecoll E, Futa R, Rohen JW (1981). Ultrastructural studies on tangential sections of the trabecular meshwork in normal and glaucomatous eyes IOVS 21: 563-73
- Lutjen-Drecoll E, Shimizu T, Rohrbach M, Rohen JW (1986). Quantitative analysis of "plaque material" in the inner and outer wall of Schlemm's Canal in normal and glaucomatous eyes. 42(5) : 443-55
- Lutjen-Drecoll E (1999). Functional morphology of the trabecular meshwork in primate eyes. Prog Ret Eye Res 18: 91 -119
- Macpea O, Bill A. (1989). The pressures in the episcleral vein, Schlemm's Canal and the trabecular meshwork in monkeys: Effect of changes in intraocular pressure. Exp Eye Res 49 : 645- 63
- Marchini G, Pagliarusco A, Toscano A, Tosi R, Brunelli C, Bonomi L (1998). Ultrasound Biomicroscopic and conventional ultrasonographic study of ocular dimensions in Primary Angle-closure Glaucoma. Ophthalmology 105 (11) :2091-8
- Matsuo T. (2000) Basal Nitric Oxide production is enhanced by hydraulic pressure in cultured human trabecular cells. Br J Ophthalmol 84 : 631-35
- Melino G, Catani MV, Corazzari M, Guerrieri P, Bemassola F (2000). Nitric Oxide can inhibit apoptosis or switch it into necrosis. Cell Mol Life Sci 57(4) : 612-22
- Michael GR, Katarina MM, Matinf, Jon F, Mathew BC, Michael PV, David AW. (2000). Mechanism of cell death governed by balance between nitrosative and oxidative stress. Ann NY Acad Sci 899 : 209-11.
- Mills JC, Stone NL, Pittman RN (1999) : Extranuclear apoptosis : The role of the Cytoplasm in the Execution Phase. J Cell Biol Aug 23 (146) 4 , 703-8
- Mitchell P, Smith W, Attebo K, Healey PR. (1996). Prevalence of Open-angle Glaucoma in Australia. The Blue Mountain Eye Study. Ophthalmology, Oct, 103 (10) : 1661-9
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA (1991) : Nitric Oxide - physiology, pathophysiology and pharmacology. Pharmacol Rev June 43(2) : 109-42
- Nathan CF, Hibbs JB JR. (1991). Role of Nitric Oxide and synthesis in macrophage microbial activity. Curr Opin Immunol 3 : 65-70

- Nathan CF, Xie QW (1994). Regulation of biosynthesis of Nitric Oxide. *J Biol Chem* 269:13725-8
- Nathanson JA (1992). Nitrovasodilators as a new class of ocular hypotensive agents. *J Pharmacol Exp Ther* 260 : 956-65
- Nathanson JA, (1993). Nitric Oxide and nitrovasodilators in the eye : implications for ocular physiology and glaucoma. *J Glaucoma* 2 :206-10
- Nathanson JA, McKee M (1995). Identification of an extensive system of nitric-oxide producing cells in the ciliary muscles and outflow pathway of the human eye *IOVS* 36: 1765-73
- Nickells RW (1996) Retinal ganglion cell death in glaucoma : the how, the why and the maybe. *J Glaucoma* 5 : 345-56
- Nishida K, Kinoshita S, Yokoi N, Kaneda M, Hashimoto K, Yamamoto S (1994) Immunohistochemical localization of Transforming Growth Factor- β 1, β 2, β 3 latency-associated peptide in human cornea. *IOVS* 35: 3289-94
- Noris M, Morigi M, Donadelli R, Aiello S, Foppolo M (1995). Nitric Oxide synthesis by cultured endothelial cells is modulated by flow conditions. *76* : 536-43
- Oh YG, Minelli S, Spaeth GL, Steinemann WC (1994) The Anterior Chamber angle in different racial groups, a gonioscopic study. *Eye* 8, 104-108
- Ozcan AA, Ozdemir N, Canataroglu A (2004) The aqueous levels of TGF- β 2 in patients with glaucoma. *Int Ophthalmol* 25 (1) : 19-22
- Pederson JF, Gaasterland DE, MacLellan HM. (1977). Uveoscleral outflow in the Rhesus monkey : Importance of uveal absorption. *Invest Ophthalmol* 16 :1008
- Peress NS, Perillo F(1994). TGF- β 2 and TGF- β 3, immunoreactivity within the ciliary epithelium. *IOVS* 35 : 453-7
- Phelps C (1994). Glaucoma :General Concepts. In Duane's Clinical Ophthalmology J.B. Lippincot Co. Philadelphia, Vol 3 Chap 42, page 2
- Polansky JR, Wood IS, Maglio MT, Alvarado JA (1984) Trabecular meshwork culture in glaucoma research : evaluation of biological activity and structural properties of human trabecular cells in vitro. *Ophthalmology* Jun. 11(6) : 580-95
- Potau JM, Canals M, Costa J, Merindano MB, Ruano D (2000). Morphological alterations of trabecular meshwork in Primary Open-angle Glaucoma *Arch Soc esp Oftalmol* 75(3) : 159-64

- Quigley HA, Addicks EM (1980) Chronic experimental glaucoma in primates. II Effect of extended intraocular pressure elevation on optic nerve head and axonal transport. *IOVS* 19: 137-52
- Quigley HA. (1996). Number of people with glaucoma worldwide. *Br J Ophthalmol* ; 80: 389-93
- Quigley HA, Nickells RW, Kerrigan LA, Pease ME, Thibault DJ, Zack DJ (1995). Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after axotomy occurs by apoptosis. *IOVS* 36: 774-86
- Raviola G, Butler J. (1984) Unidirectional transport mechanism of horse radish peroxidase in the vessels of the iris. *Invest Ophthalmol* 25 : 827-30
- Ritch R, Shields B, Krupin T. (1996). *The Glaucomas*. 2nd ed. Vol 2. St Louis: Mosby Page 801-19
- Rohen JW, Schachtshabel OO, Matthiessen PF. (1975) : In vitro studies on the trabecular meshwork of the primate eye. *Albert Von Graefe Arch Klin Exp Ophthalmol* 193(2) : 95-107
- Rohen JW. (1968). The phagocytic activity of the trabecular meshwork endothelium. an electron microscopic study of the vervet. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 175: 143-9
- Rohen JW, Witmer R. (1972) Electron microscopic studies on the trabecular meshwork in glaucoma simplex. *Albert von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 183 : 251-66
- Rohen JW, Futa R, Lutjen-Drecoll E (1981). The fine structure of the cribriform meshwork in normal and glaucomatous eyes as seen in tangential sections. *IOVS* 21: 574-85
- Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM (1986). Flow-induced release of endothelium relaxing factor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 250 : H1145-H1149
- Salmon JF, Mermoud A, Ivey A, Swanevelder SA, Hoffman M. (1993) The prevalence of Primary Angle-closure Glaucoma and Open-angle Glaucoma in Mamre, Western Cape, South Africa. *Arch. Ophthalmol* 111(9) : 1263-9
- Salmon JF (1999). Predisposing factors for Chronic Angle-closure Glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 18 (1) : 121-32
- Savill J, Fadok V, Henson P, Haslett C (1993) . Phagocyte regulation of cells undergoing Apoptosis. *Immunol Today* Mar 14(3) : 131-6

- Saw SM, Gazzard G, Friedman D, Foster PJ, Devereux JG, Wong ML, Seah S. (2003) Awareness of glaucoma, and health beliefs of patients suffering primary acute angle closure. *Br J Ophthalmol* 87: 446-9
- Schneemann A, Leusink-Muis A, Van den berg T, Hoyng PFJ, Kamphuis W (2003). Elevation of Nitric Oxide production in human trabecular meshwork by increased pressure. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 241 : 321-6
- Schuman JS, Erickson K, Nathanson JA (1994). Nitrovasodilator effects on intraocular pressure and outflow facility in monkeys. *Exp Eye Res* 58 : 99-105
- Seah SK, Foster PJ, Chew PT, Jap A, Oen F, Fam HB, Lim AS. (1997) Incidence of Acute Primary Angle-closure Glaucoma in Singapore. An island-wide survey. *Arch Ophthalmol* 115(11) : 1436-40
- Shah M, Foreman DM, Ferguson MW (1995). Neutralisation of TGF-beta 1 and TGF-beta2 or exogenous addition of TGF-beta 3 to cutaneous rat wounds reduce scarring. *J Cell Sci* 108 (pt3) : 985-1002
- Sibayan SA, Latina MA, Sherwood ME, Flotte TJ, White K. (1998). Apoptosis and morphologic changes in drug-treated trabecular meshwork cells in vitro. *Exp Eye Res* May 66(5) : 521-9
- Sihota R, Agarwal HC. (1998). Profile of the subtypes of angle closure glaucoma in a tertiary hospital in North India. (*Indian J Ophthalmol* 46 (1) : 25-9.
- Sihota R, Lakshmanaiah NC, Walia KB, Sharma S, Paitoor J, Agarwal HC (2001) The trabecular meshwork in acute and chronic angle closure glaucoma. *Indian J Ophthalmol* 49(4) : 255-9
- Sirlan F, Wiadnyana I.G.P. (1996). Survey on Eye Morbidity and Blindness in Indonesia. *Ophthalmologica Indonesiana XVI*(3) : 143-4
- Siu AW, Leung MC, To CH, Siu FK, Ji JZ, So KF (2002). Total retinal Nitric Oxide production is increased in intraocular pressure-elevated rats. *Exp Eye Res* 75(4) : 401-6
- Stichtenoht D, Frolich J.(1998). Nitric Oxide and inflammatory joint diseases *Br J Rheumatol* 37:246-57
- Tanihara H, Yoshida M, Matsumoto M, Yoshinura H (1993). Identification of Transforming Growth Factor- β expressed in cultured human retinal pigment epithelial cells. *IOVS* 34 : 413-9.
- Tanihara H, Inatani M, Honda Y (1997). Growth factors and their receptors in the retina and pigment epithelium. *Prog Ret Eye Res* 16: 271-301

- Teus MA, Castejon MA, Calvo Ma (1998). Intraocular pressure as a risk factor for visual field loss in pseudoxfoliation and in Primary Open-angle Glaucoma. *Ophthalmology* 105 : 2225-9
- Thornberry NA (1998): Caspases: the mediators of apoptosis. *Chem Biol May* 5 (5) : R97-103
- Tornequest R. (1953) Shallow anterior chamber in acute glaucoma *Acta Ophthalmol* 71-74
- Tomlinson A, Leighton DA. (1973). Ocular dimensions in the hereditary of angle-closure glaucoma. *Br J Ophthalmol* 57:475-80
- Tripathi RC, Tripathi BJ (1982). Functional anatomy of the anterior chamber angle In: *Jacobiec FA (ed). Ocular Anatomy, Embryology and Teratology.* Philadelphia, *Harber& Row*, p 276
- Tripathi RC, Borisuth NSC, Tripathi BJ. (1991). Growth factors in the aqueous humor and their therapeutic implications in glaucoma and anterior segment disorders of the human eye. *Drug Dev Res* 22 : 5.
- Tripathi RC, Chan WF, Li J, Tripathi BJ (1994). Trabecular cells express the TGF- β 2 gene and secrete the cytokine. *Exp Eye Res* 58 : 523-8
- Tripathi RC, Li J, Chan WF, Tripathi BJ (1994). Aqueous humor in glaucomatous eyes contains an increased level of TGF- β 2. *Exp Eye Res* 59 : 723-7
- Vogel R, Crick RP, Newsom RB (1990). Association between intra ocular pressure and loss of visual field in chronic simple glaucoma. *Br J Optjalmol* 74 : 3- 6
- Veeramachaneni N, Harken A, Cairns C. (1999). Clinical implications of hemoglobin as a Nitric Oxide carrier. *Arch Surg* 134 : 434-7
- Wang RF, Podlos SM (1995). Effect of the topical application of nitroglycerin on IOP in normal and glaucomatous monkeys. *Exp Eye Res* 60 : 337-9
- Wang N, Wu H, Fan Z. (2002) Primary Angle Closure glaucoma in Chinese and Western populations. *Chin Med J* 115 (11) 1706-1711
- Welge-Lusen U, Lutjen-Drecoll E (2000). Induction of Tissue Transglutaminase in the Trabecular Meshwork by TGF- β 1 and TGF- β 2. *IOVS* 41: 2229-38
- Wensor MD, McCarty CA, Stanislavsky YL, Livingston PM, Taylor HR. (1998). The prevalence of glaucoma in the Melbourne Visual Impairment Project. *Ophthalmology* Apr 105 (4) : 733-9

- Wiederholt M, Sturm A, Lepple-Weinhues A, (1994). Relaxation of the trabecular meshwork and ciliary muscle by release of Nitric Oxide, 35: 1515-20
- Wilson SE, Lloyd SA (1991) Epidermal Growth Factor and its receptor, Basic Fibroblast Growth Factor, Transforming Growth Factor beta1 and interleukin-1 alpha messenger RNA production in human corneal endothelial cells, IOVS 32 : 2747-50, 1991
- Wilson SE, He YG, Lloyd SA (1992). EGF, EGF receptor, basic FGF, TGF beta 1 and IL-1 alpha mRNA in human corneal epithelial cells and stromal fibroblasts. IOVS 33: 1756-60, 1992
- Wordinger RJ, Clark AF, Agarwal R, Lambert W, McNatt L, Wilson SE, Qu Z, Fung BK (1998). Cultured human trabecular meshwork cells express functional growth factor receptors. IVOS 39(9) : 1575-89
- Xue W, Du S, Li Y, Sun J (2002) - Effects of Nitric Oxide on proliferation and apoptosis of cultured bovine trabecular meshwork cells.
- Xu H, Gouras GK, Greenfield JP (1998). Estrogen reduces neuronal generation of Alzheimer beta-amyloid peptides. Nat Med 4 :447-51
- Yamamoto N, Itonaga K, Marunouchi T, Majima K (2004). Concentration of Transforming Growth Factor-beta2 in aqueous humor. Ophthalmic Res 37 (1) 20-33
- Yoshida M, Yoshimura N, Hangai N, Tanigara H, Honda Y. (1994) Interleukin-1 α and interleukin-1 β and the tumor necrosis factor gene expression in endotoxin-induced uveitis. IOVS 35 :1107-13.
- Yue BY. (1996) The extracellular matrix and its modulation in the trabecular meshwork. Surv Ophthalmol 40(5) : 79-90
- Zhao JL, Hu Z. 1982 The clinical examination of anterior chamber depths in eyes with Primary Angle-closure Glaucoma. Yanke Xue Bao; 6: 1-5
- Zhou L, Fukuchi T, Kawa JE, Higginbotham EJ, Yue BY (1995) Loss of cell matrix cohesiveness after phagocytosis by TM cells. IOVS 36 (5) : 787-95
- Ziegler T, Bouzourene K, Harrison VJ, Brunner HR, Hayoz D. (1998). Influence of oscillatory and unidirectional flow environments on the expression of endothelin and nitric oxide synthase in cultured endothelial cells Arterioscler Thromb Vasc Biol 18 : 686-92.

**PANITIA ETIK PENELITIAN KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr.SAIFUL ANWAR, MALANG**

FORMULIR ETIK PENELITIAN KEDOKTERAN

1. Peneliti Utama

Adelein Nannerl Witrya Hoetarjo - Pakasi, dr., Sp.M
Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

Multisenter Ya Tidak

2. Judul Penelitian:

Peran *Transforming Growth Factor- β* dan Nitrogen Oksida terhadap timbulnya Apoptosis dan Nekrosis jaringan Trabecular Meshwork penderita Glaukoma Sudut Tertutup Primer
Observasi klinis dan penelitian biomolekuler untuk menjelaskan patogenesis Glaukoma Sudut Tertutup *Creeping*

3. Subyek :

Pasien Non-pasien Hewan

Jumlah Subyek : 18 penderita Glaukoma Sudut Tertutup Primer Akut Lanjut
7 penderita Glaukoma Sudut Tertutup Primer Subakut
10 penderita Glaukoma Sudut Terbuka Primer *Creeping*

4. Perkiraan waktu penelitian yang dapat di selesaikan untuk setiap subyek.

Subyek adalah penderita yang menjalani operasi Trabekulektomi sebagai bagian dari pengobatannya. Pada saat operasi, cairan akuosa dan jaringan *trabecular meshwork* yang lazim dibuang; kini di tampung dan digunakan sebagai bahan penelitian.

Waktu penelitian sangat tergantung pada jumlah penderita glaukoma yang hadir di bagian Mata RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, dan juga tergantung pada jumlah penderita yang mau menjalani operasi

5. Ringkasan usulan penelitian yang mencakup obyektif / tujuan penelitian, manfaat / relevansi dari hasil penelitian dan alasan / motivasi untuk melakukan penelitian (di tulis dalam bahasa yang mudah di pahami orang yang bukan dr)

Patogenesis GSTP *creeping* belum jelas, sehingga penatalaksanaannya juga belum tepat. Penelitian biologi molekuler dapat menguraikan patogenesis dengan lebih baik sehingga terapi kausal dapat diberikan pada penderita.
Tujuan Penelitian: Meneliti kadar NO dan kadar TGF- β 2 dalam cairan akuosa serta indeks Apoptosis dan Nekrosis jaringan *Trabecular Meshwork*.

6. Masalah Etik

Pada penelitian ini masalah etik adalah masalah dalam penatalaksanaan glaukoma (dan bukan masalah etik dalam penelitian).

Setiap penderita glaukoma yang akan menjalani operasi akan mendapat keterangan tentang berbagai hal sehubungan operasi dan segala komplikasinya. Selanjutnya penderita akan mendapat keterangan bahwa keikutsertaannya dalam penelitian ini pasip. Bahan operasi yang diambil dari mata penderita lazim dibuang, namun kini akan dimanfaatkan untuk penelitian. Dengan demikian meskipun pasip namun penderita masih akan berguna bagi orang lain kelak.

7. Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah percobaan pada hewan sudah dilakukan? Bila belum, sebutkan alasan untuk memulai penelitian langsung pada manusia.

Penelitian ini tidak menggunakan percobaan pada hewan.
Penelitian ini menggunakan bahan operasi yang diperoleh pada setiap operasi glaukoma. Penelitian ini bukan sebuah perlakuan.

8. Prosedur Eksperimen.

Tidak ada eksperimen didalam penelitian ini.

9. Bahaya potensial yang langsung atau tidak langsung, segera atau kemudian dan cara-cara untuk mencegah atau mengatasi kejadian (termasuk rasa nyeri dan keluhan lain).

Tidak ada bahaya ataupun nyeri dalam penelitian ini.

10. Pengalaman terdahulu (sendiri atau orang lain) dari tindakan yang hendak diterapkan. Pengalaman dokter peneliti dalam pengambilan sample biologis dalam penelitian ini.

Tindakan yang diterapkan merupakan tindakan rutin dalam setiap operasi glaukoma. Operasi ini telah dilakukan peneliti selama 25 tahun menjadi dokter spesialis mata.

11. Bila peneliti ini menggunakan orang sakit dan dapat memberi manfaat untuk subyek yang bersangkutan, uraikan manfaat itu.

Penelitian ini menggunakan orang sakit dengan operasi sebagai salah satu tindakan dalam pengobatannya.

Tindakan operasi itulah yang memberi manfaat pada penderita, dan bahan penelitian lazim di buang dan tidak berguna bagi penderita.

12. Bagaimana cara memitib pasien / sukarelawan sehat ?

Penelitian ini tidak menggunakan sukarelawan sehat.

13. Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, jelaskan hubungan peneliti dengan subyek yang di teliti.

Dokter-pasien Guru-murid Majikan-anak buah Lainnya

14. Bila penelitian ini menggunakan orang sakit , jelaskan diagnosis dan nama dokter yang bertanggung jawab merawatnya. Bila menggunakan orang sehat, jelaskan cara pemeriksaan kesehatannya.

Diagnosis penderita adalah :

- Glaukoma Sudut Tertutup Primer Akut Lanjut
- Glaukoma Sudut Tertutup Primer Subakut
- Glaukoma Sudut Tertutup Primer *Creeping*

Dokter yang bertanggung jawab:

- dr. Nannerl Hoetarjo-Pakasi, Sp.M
- dr. Hariyah Mahdi, Sp.M
- dr. Maksun Effendi, Sp.M

15. Jelaskan cara penastatan selama penelitian, termasuk efek samping dan komplikasi bila ada.

Pada setiap tindakan operasi ada catatan laporan operasi, dimana tercatat semua prosedur operasi dan kesulitan yang timbul saat operasi.

Pasca operasi di catat semua keadaan mata dan tekanan intra okuli.

16. Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, jelaskan bagaimana cara memberitahu dan mengajak subyek (lampirkan contoh surat persetujuan subyek).

Bila pemberitahuan dan kesediaan subyek bersifat lisan, atau bila karena sesuatu hal subyek tidak dapat atau tidak perlu di mistakan persetujuan, berilah alasan yang kuat untuk itu.

Penelitian ini menggunakan subyek manusia.

Pemberitahuan dan ajakan subyek adalah pemberitahuan yang menchrangkan pentingnya operasi sebagai salah satu tindakan untuk mencegah penderita dari kebutaan.

Apabila penderita mau menjalani operasi maka ia mendapat keterangan tentang prosedur operasi dengan segala risiko dan komplikasinya. Apabila penderita tidak mau menjalani operasi maka operasi juga tidak akan dilakukan dan penderita hanya mendapatkan terapi medikamentosa saja.

Pemberitahuan adalah secara lisan, apabila penderita sudah mengerti dan setuju maka ia menyatakan persetujuannya secara tertulis.

17. Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah subyek dapat ganti rugi bila ada gejala efek samping? Berapa banyak?

Apabila ada komplikasi operasi, penderita akan mendapatkan perawatan sesuai prosedur guna menanggulangi akibat dari komplikasi itu, namun ia tidak mendapat ganti rugi dalam bentuk uang.

18. Bila penelitian ini menggunakan subyek manusia, apakah subyek di asuransikan?

Ya

Tidak

Malang, 1 Nopember 2003

Peneliti Utama :

Dr. A. Nannerl W. Hoetarjo – Pakasi



Dr. Retnantadi, SpM

Telah Diperiksa dan Disetujui pada tanggal 3 Nopember 2003



Komittee Etik Penelitian Kedokteran

Prof. Dr. Mujohadi Ali, MS, SpFK.

Lampiran 2. Contoh *Informed Consent*.

FORMULIR PERSETUJUAN OPERASI

Setelah mendapatkan keterangan lengkap tentang :

- operasi mata yang akan saya jalani
- komplikasi yang mungkin terjadi beserta usaha dokter guna memperkecil komplikasi dan akibat-akibatnya
- perawatan pasca bedah
- kelainan lebih lanjut apabila saya tidak mau menjalani operasi,

maka bersama ini saya nyatakan bahwa saya bersedia menjalani operasi mata sebagai dari pengobatan untuk kelainan mata yang sedang derita.

Apabila terjadi hal-hal yang tidak sesuai dalam tindakan operasi ini, saya tahu bahwa itu merupakan bagian dari risiko yang memang harus saya derita.

Yang akan menjalani operasi

Keluarga penderita
(hubungan keluarga)

.....

Dokter yang melakukan operasi

.....

Lampiran 3 Contoh Persetujuan Ikut Penelitian

FORMULIR PERSETUJUAN IKUT PENELITIAN

Dengan ini, saya .

Nama :

Umur : tahun

Jenis Kelamin : laki-laki / perempuan

Pekerjaan :

Alamat :

Setelah memperoleh keterangan yang lengkap dan jelas serta menyadari sepenuhnya risiko penelitian yang berjudul : "Peran Transforming Growth Factor-beta dan Nitric Oxide terhadap timbulnya Apoptosis dan Nekrosis jaringan Trabecular Meshwork penderita Glaukoma Sudut Tertutup Primer", menyatakan dengan sukarela ikut-serta dalam penelitian tersebut.

Apabila sewaktu-waktu saya merasa dirugikan dalam bentuk apapun maka saya berhak membatalkan persetujuan ini, tanpa suatu sanksi .

Malang, .

Yang menyetujui
Peserta Penelitian

Mengetahui
Yang memberi keterangan

dr. Nannerl Hoetarjo-Pakasi, Sp.M

Saksi.

FORMULIR PERSETUJUAN IKUT PENELITIAN

Dengan ini, saya .

Nama :

Umur :tahun

Jenis Kelamin : laki-laki / perempuan

Pekerjaan :

Alamat :

Setelah memperoleh keterangan yang lengkap dan jelas serta menyadari sepenuhnya risiko penelitian yang berjudul - "Peran *Transforming Growth Factor-beta* dan Nitrogen Oksida terhadap timbulnya Apoptosis dan Nekrosis jaringan Trabecular Meshwork penderita Glaukoma Sudut Tertutup Primer", menyatakan dengan sukarela ikut-serta dalam penelitian tersebut

Apabila sewaktu-waktu saya merasa di rugikan dalam bentuk apapun maka saya berhak membatalkan persetujuan ini, tanpa suatu sanksi .

Malang,

Yang menyetujui
Peserta Penelitian

Mengetahui
Yang memberi keterangan

.....

dr. Nannerl Hoetarjo-Pakasi, Sp.M.

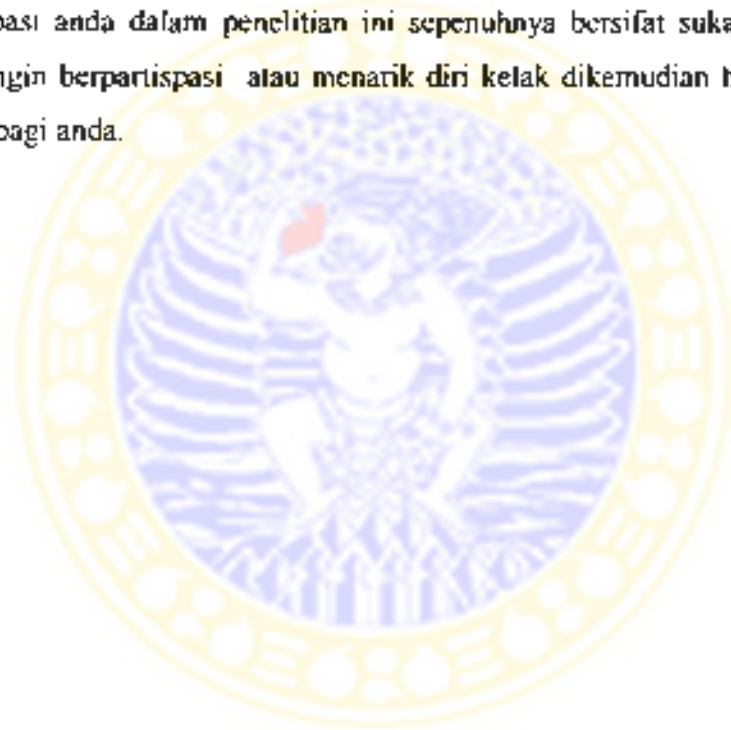
Saksi.

.....

Persetujuan Sukarela untuk berpartisipasi sebagai Subyek penelitian

1. Saya dokter yang berstatus mahasiswa Program Pascasarjana Universitas Airlangga meminta dengan hormat kesediaan anda untuk berpartisipasi secara sukarela dalam penelitian berjudul : “Peran *Transforming Growth Factor-Beta* dan Nitrogen Oksida terhadap timbulnya Apoptosis dan Nekrosis jaringan Trabecular Meshwork penderita Glaukoma Sudut Tertutup Primer”.
2. Hingga kini para ahli glaukoma masih berbeda pendapat tentang mekanisme terjadinya beberapa bentuk GSTP *Creeping* dan juga klasifikasinya. Kelainan ini mempunyai perjalanan penyakit menahun dan progresif, sehingga seringkali penderita tidak sadar akan penyakit yang sedang dideritanya. Pada umumnya penderita datang pada stadium akhir penyakit pada saat fungsi penglihatan tidak lagi dapat diperbaiki. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan adanya perbedaan parameter biologi molekuler beberapa bentuk GSTP, yang dapat merupakan sebuah langkah awal dalam usaha menentukan mekanisme terjadinya GSTP *Creeping* dengan baik dan tepat. Sekaligus hasil penelitian dapat menjadi dasar pengobatan GSTP *Creeping*, sehingga besar harapan bahwa kebutaan akibat kelainan ini dapat ditekan jumlahnya.
3. Penata-laksanaan untuk kelainan mata (GSTP) yang sedang anda derita adalah tindakan operasi yang dikenal sebagai Trabekulektomi. Spesimen untuk penelitian adalah cairan bilik mata depan dan sebagian jaringan Trabecular Meshwork. Keikut-sertaan anda di dalam penelitian ini adalah digunakannya cairan akuos dan jaringan Trabecular Meshwork anda yang lazim dibuang pada sebuah operasi Trabekulektomi. Untuk kepentingan penelitian ini kedua bahan tersebut tidak dibuang melainkan dimanfaatkan dan diperiksa di dalam laboratorium. Keikut-sertaan anda di dalam penelitian ini sama sekali tidak mengubah pengobatan atau penatalaksanaan kelainan yang sedang anda derita

4. Anda mempunyai pilihan untuk tidak ikut berpartisipasi di dalam penelitian ini. Pilihan ini tidak ada sanksinya. Apabila anda memilih untuk tidak ikut dalam penelitian ini maka cairan bilik mata depan dan jaringan Trabecular Meshwork yang telah diaspirasi dan dipotong, akan di buang.
5. Apabila anda ikut di dalam penelitian ini, nama dan jati diri anda akan di rahasiakan. Hasil penelitian ini ditunjukkan pada pertemuan ilmiah atau dalam publikasi ilmiah, namun hubugannya dengan anda tidak akan disebut.
6. Kalau ada pertanyaan tentang penelitian ini, anda dapat menghubungi saya :
Dr. A. Nannerl W. Hoetarjo-Pakasi, Sp.M., mahasiswa Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
7. Partisipasi anda dalam penelitian ini sepenuhnya bersifat sukarela. Apabila anda tidak ingin berpartisipasi atau menarik diri kelak dikemudian hari, tidak akan ada sanksi bagi anda.



Lampiran 4. Pemeriksaan kadar TGF- β 2

Disediakan 3 macam larutan sebagai berikut

A. Wash buffer (konsentrasi 10 x)

Untuk 50 ml konsentrasi ditambahkan 450 ml dH₂O

B. Assay Buffer (10 x)

Untuk 10 ml ditambahkan 90 ml dH₂O

C. Standard.

1. Stock (1000 pg/ml)
2. Diambil 1 ml dari no 1 ditambahkan 1 ml Assay buffer \rightarrow [500 pg/ml]
3. Diambil 1 ml dari no 2. ditambahkan 1 ml Assay buffer \rightarrow [250 pg/ml]
4. Diambil 1 ml dari no 3. ditambahkan 1 ml Assay buffer \rightarrow [125 pg/ml]
5. Diambil 1 ml dari no 4. ditambahkan 1 ml Assay buffer \rightarrow [62.5 pg/ml]
6. Diambil 1 ml dari no 5. ditambahkan 1 ml Assay buffer \rightarrow [31.3 pg/ml]
7. Diambil 1 ml dari no 6. ditambahkan 1 ml Assay buffer \rightarrow [15.6 pg/ml]
8. Diambil 1 ml dari no 7. ditambahkan 1 ml Assay buffer \rightarrow [7.8 pg/ml]

Untuk standar total TGF- β 2 :

Masing2 standar (no 2 - no 8) diambil 100 μ l tambahkan HCl 1N sebanyak 10 μ l

Inkubasi 15 menit dalam suhu kamar

Ditambahkan 10 μ l NaOH 1N

Untuk sampel penderita total TGF- β 2 :

10 μ l sample + 90 μ l Assay buffer

Ditambahkan 10 μ l HCl 1N, inkubasi selama 15 menit dalam suhu kamar

Ditambahkan 10 μ l NaOH 1N.

Prosedur kerja:

1. Dimasukkan 100 μ l Assay Buffer
100 μ l Standard
100 μ l Sampel
2. Inkubasi semalam dalam suhu 2^o – 8^o C
3. Dicuci 3 x dengan *wash buffer*
4. Ditambahkan 100 μ l Biofin Conjugate monoklonal TGF- β dalam masing2 sumur
5. Inkubasi 2 jam pada suhu 18^o C - 25^o C
6. Dicuci lagi 3 x dengan wash buffer
7. Ditambahkan 100 μ l Strepavidin HRP dalam masing2 sumur
8. Inkubasi 20 menit pada suhu 18^o C - 25^o C selanjutnya cuci 3 x dengan wash buffer
9. Ditambahkan 100 μ l Tetra Methyl Benzidine, termasuk Blank
10. Inkubasi 10 menit pada suhu 18^o C - 25^o C sambil di *shaker* perlahan
11. Ditambahkan 100 μ l stop solution, termasuk blank dan segera di baca pada λ 450nm, tidak lebih dari 1 jam

Lampiran 6. Pemeriksaan Apoptosis dan Nekrosis

Mempersiapkan sampel untuk pemeriksaan

Pembuatan blok paraffin

1. Jaringan dicuci dengan PBS
2. Difiksasi menggunakan formalin 10%
3. Dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (35%, 50%, 70%, 80%, 96% dan absolut) masing-masing 60 menit
4. *Clearing* menggunakan xilol 2 kali masing-masing selama 60 menit
5. Infiltrasi menggunakan paraffin lunak selama 60 menit pada suhu 48^o C
6. Blok dalam paraffin keras pada cetakan dan diamkan selama 24 jam
7. Setelah ditempeikan pada *holder* lalu dilakukan pemotongan setebal 4-6µm dengan *rotary microtome*
8. *Mounting* pada obyek gelatin 5%.

Proses deparafinisasi

1. Slide direndam dalam xilol 2 x masing-masing selama 5 menit
2. Rehidrasi menggunakan alkohol berseri (absolut, 96%, 80%, 70%, 50% dan 30%)
3. Dibilas dalam dH₂O selama 5 menit

Proses pewarnaan.

i. Pewarnaan untuk pemeriksaan nekrosis

Proses pewarnaan Hematoxilen –Eosin

1. Slide dicuci dengan PBS pH 7.4 selama 5 menit
2. Diwarnai dengan hematoxilen selama 10 menit
3. Direndam dalam *tap water* selama 10 menit
4. Dibilas dengan dH₂O
5. Dehidrasi dengan alkohol berseri 30% dan 50% masing2 selama 5 menit
6. Diwarnai dengan Eosin selama 3 menit

7. Dibilas dengan alkohol 30%
8. Dicuci dengan dH₂O selama 5 menit dan kering-anginkan
9. *Mounting* dengan Entelan (untuk mengurangi pembiasan sinar) dan ditutup dengan *cover glass*

2. Pewarnaan untuk pemeriksaan apoptosis

Proses Immunohistokimia terhadap caspase-3 dan TGF β menggunakan Apoptag Kit dari Invitrogen

1. Slide preparat dicuci dengan PBS dengan pH 7.4
2. Aplikasikan 3% H₂O₂ pH 7.4 selama 10 menit
3. Dicuci dengan PBS pH 7.4 selama 5 menit 3 kali
4. *Blocking* menggunakan serum 5% FBS selama 60 menit
5. Inkubasi dengan antibodi primer (caspase-3 dan TGF β) semalam pada 4^o C
6. Dicuci dengan PBS pH 7.4 selama 5 menit 3 kali
7. Ditetesi dengan antibodi sekunder berlabel *biotin* dan inkubasi selama 1 jam
8. Dicuci dengan PBS pH 7.4 selama 5 menit 3 kali
9. Ditetesi dgn *Strept-Avidin horse radis peroxidase (SA-HRP)* selama 40 menit
10. Dicuci dengan PBS pH 7.4 selama 5 menit 3 kali
11. Aplikasikan cromogen untuk HRP, yaitu *Diamono Benzidine (DAB)*
12. Dibilas dengan dH₂O
13. Dicuci dengan PBS pH 7.4 selama 5 menit 3 kali
14. Counterstaining dengan Mayer hemotoxilin selam 10 menit
15. Dicuci dengan tap water
16. Dikering-anginkan dan *mounting* menggunakan Entelan serta *cover glass*

Lampiran 7. Data mentah Konsentrasi TGF-β2

TGFβ λ 440
Active
 Calibration Curve

Blank Well: 0.005
 Std. Dev.: 0.008

Conc=1, Rep=1

#	Conc.	OD
1	500.0	0.000
2	250.0	0.005
3	125.0	0.021
4	62.5	0.011
5	31.3	0.000
6	15.6	0.000
7	0.0	0.000

Conc=100, Rep=1

#	Conc.	OD	Notes
1	150.0	0.024	NH 1
2	100.0	0.018	1
3	75.0	0.030	1
4	50.0	0.020	NH 2
5	25.0	0.000	NH 5
6	12.5	0.020	6
7	6.25	0.002	7
8	3.125	0.000	8
9	1.5625	0.000	NH 9
10	0.78125	0.000	
11	0.390625	0.000	
12	0.1953125	0.000	
13	0.09765625	0.000	
14	0.048828125	0.000	
15	0.0244140625	0.000	
16	0.01220703125	0.000	
17	0.006103515625	0.000	
18	0.0030517578125	0.000	
19	0.00152587890625	0.000	
20	0.000762939453125	0.000	
21	0.0003814697265625	0.000	
22	0.00019073486328125	0.000	
23	0.000095367431640625	0.000	
24	0.0000476837158203125	0.000	
25	0.00002384185791015625	0.000	
26	0.000011920928955078125	0.000	
27	0.0000059604644775390625	0.000	
28	0.00000298023223876953125	0.000	
29	0.000001490116119384765625	0.000	
30	0.0000007450580596923828125	0.000	
31	0.00000037252902984619140625	0.000	
32	0.000000186264514923095703125	0.000	
33	0.0000000931322574615478515625	0.000	
34	0.00000004656612873077392578125	0.000	
35	0.000000023283064365386962890625	0.000	
36	0.0000000116415321826934814453125	0.000	
37	0.00000000582076609134674072265625	0.000	
38	0.000000002910383045673370361328125	0.000	
39	0.0000000014551915228366851806640625	0.000	
40	0.00000000072759576141834259033203125	0.000	

Conc. Report
 Sample Identification
 Conc=10
TGFβ Active λ 405
 Calibration Curve

Blank Well: 0.000
 Std. Dev.: 0.000

Conc=25, Rep=1

#	Conc.	OD
1	500.0	0.000
2	250.0	0.000
3	125.0	0.000
4	62.5	0.000
5	31.3	0.000
6	15.6	0.000
7	0.0	0.000

Conc=100, Rep=1

#	Conc.	OD	Notes
1	150.0	0.000	NH 1
2	100.0	0.000	2
3	75.0	0.000	3
4	50.0	0.000	NH 4
5	25.0	0.000	NH 5
6	12.5	0.000	6
7	6.25	0.000	7
8	3.125	0.000	8
9	1.5625	0.000	NH 9
10	0.78125	0.000	NH 10
11	0.390625	0.000	
12	0.1953125	0.000	
13	0.09765625	0.000	
14	0.048828125	0.000	
15	0.0244140625	0.000	
16	0.01220703125	0.000	
17	0.006103515625	0.000	
18	0.0030517578125	0.000	
19	0.00152587890625	0.000	
20	0.000762939453125	0.000	
21	0.0003814697265625	0.000	
22	0.00019073486328125	0.000	
23	0.000095367431640625	0.000	
24	0.0000476837158203125	0.000	
25	0.00002384185791015625	0.000	
26	0.000011920928955078125	0.000	
27	0.0000059604644775390625	0.000	
28	0.00000298023223876953125	0.000	
29	0.000001490116119384765625	0.000	
30	0.0000007450580596923828125	0.000	
31	0.00000037252902984619140625	0.000	
32	0.000000186264514923095703125	0.000	
33	0.0000000931322574615478515625	0.000	
34	0.00000004656612873077392578125	0.000	
35	0.000000023283064365386962890625	0.000	
36	0.0000000116415321826934814453125	0.000	
37	0.00000000582076609134674072265625	0.000	
38	0.000000002910383045673370361328125	0.000	
39	0.0000000014551915228366851806640625	0.000	
40	0.00000000072759576141834259033203125	0.000	

150

Unit: mm
 Sample Wavelength
 Mode #1 λ 595nm

Lampiran 8. Data Mentah Konsentrasi NO

Signal Name 0.076
 Mode Item 0.004

Time: 00:12

#	Count	Rate
1	100.0	0.152
2	930.0	0.150
3	325.0	0.078
4	810.0	0.032
5	605.0	0.020
6	401.0	0.013
7	390.0	0.007

Count per 40 - Step=2

#	Count	Rate
1	902.7	0.016
2	601.0	0.013
3	605.0	0.020
4	603.4	0.018
5	608.7	0.029
6	605.0	0.020
7	602.7	0.016
8	601.6	0.014
9	637.1	0.017
10	601.0	0.017
11	610.7	0.039
12	612.0	0.040
13	608.3	0.028
14	612.9	0.041
15	605.4	0.021
16	600.0	0.012
17	618.5	0.026
18	608.7	0.017
19	610.7	0.031
20	618.3	0.059
21	601.0	0.012
22	601.0	0.012
23	601.0	0.014
24	601.0	0.013
25	600.7	0.010
26	603.3	0.020
27	600.0	0.007
28	605.0	0.020
29	610.0	0.031
30	600.0	0.012
31	600.0	0.011
32	601.0	0.017
33	600.0	0.016
34	600.7	0.010
35	601.0	0.017
36	601.0	0.017
37	600.7	0.017
38	600.0	0.014
39	600.0	0.014
40	600.0	0.010

	1	2	3
A	0.002	0.033	0.015
B	-0.003	0.030	0.015
C	0.243	0.020	0.010
D	0.260	0.019	0.016
E	0.147	0.009	0.022
F	0.153	0.016	0.021
G	0.076	0.005	0.018
H	0.080	0.008	0.017

	4	5	6
A	0.027	0.114	0.024
B	0.030	0.112	0.021
C	0.020	0.010	0.043
D	0.019	0.015	0.030
E	0.014	0.028	0.021
F	0.017	0.029	0.021
G	0.011	0.043	0.012
H	0.015	0.037	0.012

	7	8	9
A	0.001	0.015	0.012
B	0.000	0.021	0.007
C	0.012	0.014	0.020
D	0.011	0.011	0.020
E	0.004	0.014	0.007
F	0.002	0.013	0.008
G	0.059	0.014	0.020
H	0.057	0.012	0.020

	10	11	12
A	0.024	0.000	0.006
B	0.052	0.005	0.003
C	0.011	0.010	0.001
D	0.015	0.010	0.001
E	0.012	0.021	0.013
F	0.010	0.012	0.011
G	0.012	0.014	0.000
H	0.011	0.008	0.003

Lampiran 10. ANOVA – TGF- β_2

Descriptives

TGF Beta								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
GSTP AKUT LANJUT	18	,27266	7,6717E-02	1,81E-02	,23391	,31021	,118	,471
GSTP IU	7	,28457	5,6742E-02	2,14E-02	,23209	,33705	,217	,385
GSTP CREEPING	10	,26670	7,1566E-02	2,26E-02	,21751	,31589	,120	,431
Total	35	,27360	6,9896E-02	1,18E-02	,24955	,29765	,118	,471

Test of Homogeneity of Variances

TGF Beta			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,047	2	32	,954

ANOVA

TGF Beta					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,128E-03	2	5,628E-04	,109	,897
Within Groups	,165	32	5,171E-03		
Total	,167	34			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: TGF Beta

Tukey HSD

(I) Kondisi	(J) Kondisi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
GSTP AKUT LANJUT	GSTP IU	-1,252E-02	3,20E-02	,919	9,12207E-02	6,6195E-02
	GSTP CREEPING	3,355E-03	2,64E-02	,992	6,63380E-02	7,3049E-02
GSTP IU	GSTP AKUT LANJUT	1,2516E-02	3,20E-02	,919	6,61949E-02	9,1227E-02
	GSTP CREEPING	1,5671E-02	3,54E-02	,096	7,12099E-02	,10295
GSTP CREEPING	GSTP AKUT LANJUT	-3,358E-03	2,84E-02	,952	7,30411E-02	6,6338E-02
	GSTP IU	-1,507E-02	3,54E-02	,836	,10295	7,1210E-02

Lampiran 11. ANOVA- NO

Descriptives

NO	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
GSTP AKUT LANJUT	16	8,34E-02	3,9721E-02	9,39E-03	4,3691E-02	8,3197E-02	,021	,178
GSTP IU	7	2,34E-02	1,2694E-02	4,76E-03	1,1781E-02	3,5076E-02	,000	,046
GSTP CREEPING	10	4,33E-02	2,6017E-02	8,29E-03	2,4666E-02	6,1942E-02	,017	,098
Total	33	4,97E-02	3,5358E-02	5,98E-03	3,7540E-02	6,1932E-02	,009	,178

Test of Homogeneity of Variances

NO	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	2,109	2	32	,138

ANOVA

NO	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8,641E-03	2	4,321E-03	4,083	,026
Within Groups	3,387E-02	32	1,058E-03		
Total	4,251E-02	34			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: NO

Tukey HSD

(I) Kondisi	(J) Kondisi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
GSTP AKUT LANJUT	GSTP IU	4,0016E-02*	1,45E-02	,025	4,4064E-03	7,5625E-02
	GSTP CREEPING	2,0144E-02	1,28E-02	,273	-1,1385E-02	5,1574E-02
GSTP IU	GSTP AKUT LANJUT	-4,002E-02*	1,45E-02	,025	-7,5625E-02	4,4064E-03
	GSTP CREEPING	-1,987E-02	1,60E-02	,439	-5,8267E-02	1,9125E-02
GSTP CREEPING	GSTP AKUT LANJUT	-2,0144E-02	1,28E-02	,273	-5,1574E-02	1,1385E-02
	GSTP IU	1,9871E-02	1,60E-02	,439	-1,9125E-02	5,8267E-02

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 12. ANOVA – Apoptosis

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
GSTP AKUT LANJUT	18	2,17	1,10	,26	1,62	2,71	1	4
GSTP IU	7	4,29	2,14	,81	2,31	6,26	3	9
GSTP CREEPING	10	3,00	1,56	,49	1,88	4,17	1	6
Total	35	2,83	1,53	,28	2,26	3,40	1	9

Test of Homogeneity of Variances

Apoptosis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,725	2	32	,492

ANOVA

Apoptosis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23,043	2	11,521	5,272	,010
Within Groups	69,929	32	2,185		
Total	92,971	34			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Apoptosis

Tukey HSD

I) Kondisi	(J) Kondisi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
GSTP AKUT LANJUT	GSTP IU	-2,12 ^a	,60	,008	-3,78	-.50
	GSTP CREEPING	-.83	,55	,328	-2,27	,60
GSTP IU	GSTP AKUT LANJUT	2,12 ^a	,66	,008	-.50	3,74
	GSTP CREEPING	1,29	,73	,198	-.50	3,03
GSTP CREEPING	GSTP AKUT LANJUT	,83	,56	,338	-.60	2,27
	GSTP IU	-1,25	,73	,198	-3,28	-.50

^a The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 13. ANOVA – Nekrosis

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
GSTP AKUT LANJUT	18	3,28	1,56	,37	2,90	4,06	1	6
GSTP IU	7	3,57	1,40	,53	2,28	4,86	2	6
GSTP CREEPING	10	2,50	1,18	,37	1,66	3,34	1	4
Total	35	3,11	1,45	,25	2,62	3,61	1	6

Test of Homogeneity of Variances

Nekrosis				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
,899	2	32	,417	

ANOVA

Nekrosis					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5,717	2	2,859	1,390	,264
Within Groups	65,825	32	2,057		
Total	71,543	34			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Nekrosis

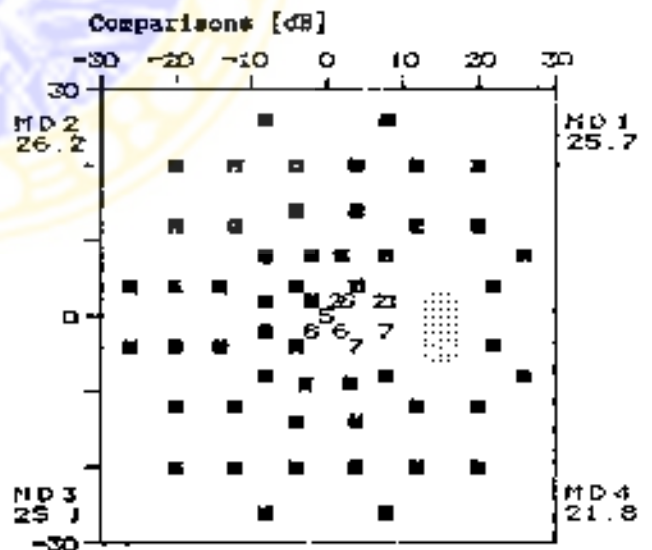
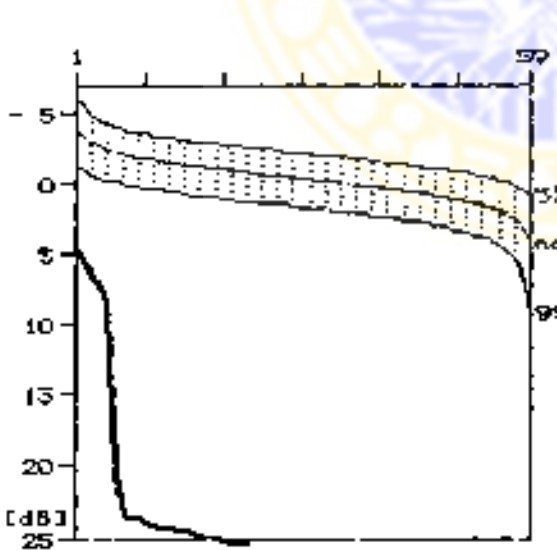
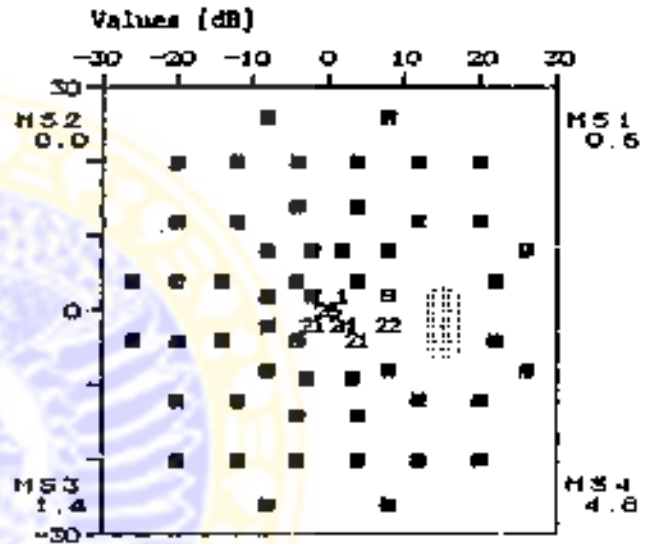
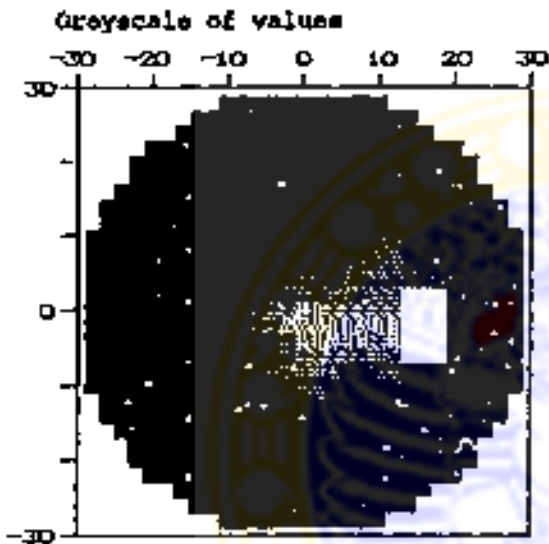
Tukey HSD

I: Kondisi	J: Kondisi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
GSTP AKUT LANJUT	GSTP IU	-,28	,64	,890	1,06	1,28
	GSTP CREEPING	,78	,57	,366	-,61	2,17
GSTP IU	GSTP AKUT LANJUT	,28	,64	,890	-1,28	1,86
	GSTP CREEPING	1,07	,71	,287	-,67	2,81
GSTP CREEPING	GSTP AKUT LANJUT	-,78	,57	,366	-2,17	6'
	GSTP IU	-1,07	,71	,257	-2,91	6'

Lampiran 14. Lapangan Pandang penderita Glaukoma

Interzeag OCTOPUS 1-2-3 V 9.16
Combination

Name: . . . <i>Samunah</i>	Eye / Pupil: Right (OD)/
First name:	Date / Time: 3-26-2003 / 7:47am
ID #	Test duration: 9: 4
Birthdate: 11-13-1934	Program / Code: G1X / 0
Age: 68	# of Stages / Phases: 4 / 1
Sex:	Strategy: Normal
Refr. S/C/A: / /	Target: 3
Acuity:	Questions / Repetitions: 196 / 1
ICP:	Catch trials: pos 0/10, neg 5/10
MDD correction [dB]:	Diagnostic code:



	Normal	Phase 1	Phase 2	Mean
Number of test locations		59	0	0
Mean Sensitivity MS [dB]		2.1		
Mean Defect MD [dB]	-2.2	24.4		
Loss Variance LV [dB] ²	0.6	33.0		
Corrected Loss Variance CLV [dB] ²	0.4			
Short Term Fluctuation SF [dB]	0.2			
Reliability Factor RP [%]				25.0

Lampiran 15. Rekam gambar apoptosis jaringan Trabecular Meshwork

