

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Glaukoma merupakan kelompok penyakit neuro-degeneratif progresif, dimana apoptosis sel ganglion retina (SGR) beserta aksornya mengakibatkan kelainan struktur papil saraf optik dan fungsi penglihatan. Sampai saat ini diyakini bahwa peningkatan tekanan intra okular (TIO) sebagai faktor resiko utama. Diperkirakan bahwa 60,5 juta orang seluruh dunia menderita glaukoma pada tahun 2010, dengan angka tersebut diperkirakan akan meningkat menjadi 79,6 juta pada tahun 2020. (Quigley & Broman, 2006; Qu *et al.*, 2010).

Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) glaukoma adalah penyebab utama kedua kebutaan di dunia setelah katarak. Kebutuan akibat penyakit glaukoma bersifat menetap. Glaukoma dapat menyebabkan kebutaan jika tidak diobati dan sekitar 20% dari orang dengan glaukoma yang mendapat terapi yang tepat masih mengalami kehilangan penglihatan. (Glaucoma Research Foundation, 2012). Glaukoma juga menjadi penyebab kebutaan kedua di Indonesia sesudah katarak, tetapi merupakan penyebab utama kebutaan permanen. Di Indonesia kasus kebutaan sekitar 1,5 persen dari total penduduk Indonesia saat ini dimana merupakan angka kebutaan tertinggi di Asia Tenggara dan nomer dua di dunia. Dari kasus kebutaan tersebut didapatkan 0,78 persen disebabkan oleh katarak dan 0,20 persen disebabkan oleh glaukoma. (Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomer 1473, 2005)

TIO telah lama dikaitkan dengan glaukoma dan peningkatan TIO masih diyakini sebagai faktor resiko utama glaukoma. Penatalaksanaan glaukoma saat

ini baik yang melibatkan prosedur medis atau bedah dirancang untuk menurunkan TIO. Penurunan TIO sangat bermanfaat dalam menurunkan progresifitas penyakit glaukoma. Meskipun sudah terjadi penurunan TIO hingga menjadi normal ternyata masih terjadi progresifitas penyempitan lapang pandangan dan kerusakan papil saraf optik. Permasalahan penatalaksanaan glaukoma saat ini adalah tidak mampu memperbaiki kerusakan SGR yang telah terjadi dan tidak dapat menghentikan progresifitas kerusakan SGR. (Whitlock *et al.*, 2005, Much *et al.*, 2008, Hartwick, 2009).

Transplantasi sel punca merupakan salah satu pilihan terapi yang menjanjikan dan intensif diteliti saat ini untuk mengobati glaukoma. Tujuan utama transplantasi sel punca pada terapi glaukoma diharapkan bermanfaat untuk regenerasi disfungsi SGR dan sebagai neuroproteksi di mana sel punca yang ditransplantasikan melindungi SGR endogen. Sel punca mesenkimal sumsum tulang merupakan sumber kandidat untuk transplantasi sel punca. Hal ini melalui pertimbangan bahwa sel punca mesenkimal sumsum tulang mudah dilakukan untuk autologus dan terbebas dari perselisihan etika. Sel punca mesenkimal sumsum tulang yang mempunyai sifat multipotent dan dapat bertransdiferensiasi ke neuron maupun sel glia membuat sel punca mesenkimal sumsum tulang menjadi sumber yang baik untuk transplantasi sel punca pada glaukoma (Dina *et al.*, 2014). Pada penelitian kultur sel punca mesenkimal sumsum tulang terjadi peningkatan yang tajam pada ekspresi gen Brn3b. Hasil ini menunjukkan bahwa sel punca mesenkimal memiliki kecenderungan tinggi untuk berdiferensiasi menjadi *preretinal-like cells* dengan waktu singkat dalam kultur. (Garza & Cuevas, 2012)

Hasil pada hewan model penyakit retina menunjukkan transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang memperlambat hilangnya neuron dan mempertahankan penglihatan pada model degenerasi fotoreseptor, iskemia retina dan glaukoma. Johnson *et al.*, 2010 pada penelitiannya model hewan glaukoma mendapatkan bahwa setelah transplantasi intravitreal, sel punca mesenkimal sumsum tulang bertahan selama 5 minggu terutama di rongga vitreous dan hanya sebagian kecil saja dari sel yang ditransplantasikan bermigrasi ke retina. Transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang intravitreal menghasilkan peningkatan yang signifikan jumlah SGR beserta aksonnya dan penurunan yang signifikan jumlah SGR yang mati beserta aksonnya akibat paparan peningkatan TIO dibandingkan dengan pemberian melalui intravena. Efek parakrin yang ditimbulkan oleh sel punca yang ditransplantasikan lebih berperan dibandingkan dengan efek jumlah sel yang dapat berintegrasi ke dalam retina host. Johnson *et al.*, 2010 melaporkan hanya 1% dari sel punca mesenkimal sumsum tulang yang ditransplantasikan ke intraokuler yang dapat bermigrasi ke retina (Johnson *et al.*, 2010).

Beberapa masalah yang dihadapi pada saat dilakukan transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang pada glaukoma adalah lingkungan iskemia yang diakibatkan oleh naiknya TIO dan barrier dari retina itu sendiri. Untuk itu perlu usaha mengoptimalkan sel punca mesenkimal sumsum tulang yang ditransplantasikan agar dapat meningkatkan kelangsungan hidup sel, migrasi, kemampuan homing dan mempromosikan diri berdiferensiasi menjadi sel neuron serta integrasi yang sesuai dengan jaringan inangnya. (Aggarwal *et al.*, 2010).

Salah satu strategi yang dapat dilakukan untuk meningkatkan keberhasilan sel punca yang ditransplantasikan di lingkungan iskemik adalah memanipulasi sel donor *in vitro* (prakondisi sel donor). (Wang, 2009). Teknik prakondisi hipoksia merupakan salah satu strategi untuk meningkatkan kelangsungan hidup dari sel punca yang ditransplantasikan dan perlindungan terhadap sel punca endogen dan sel neural dewasa dengan cara mempengaruhi lingkungan mikronya. Theus, 2008 mendapatkan bahwa prakondisi hipoksia ini merupakan cara sederhana namun efektif untuk mengoptimalkan terapi transplantasi sel punca.

Prakondisi hipoksia sel punca merupakan salah satu cara memanipulasi sel donor dengan cara mengkondisikan hipoksia secara *in vitro* sebelum sel punca tersebut ditransplantasikan. Kadar O₂ pada prakondisi hipoksia terutama didasarkan pada kadar O₂ di retina. Kadar O₂ di retina dapat disamakan dengan kadar O₂ di otak. Pada otak tikus saat keadaan normal tekanan oksigen parsial jauh lebih rendah dari oksigen sekitar, dan berkisar antara 0,55% di mesencephalon dan 8% pada permukaan otak (Erecinska & Silver, 2001). Dikatakan juga bahwa keadaan *niche* fisiologi sel punca mesenkimal pada sumsum tulang adalah 2-7% O₂, sehingga keadaan prakondisi hipoksia ini mendekati keadaan fisiologi sel punca mesenkimal itu sendiri. (Rosova *et al.*, 2008). Hal lain yang menunjang adalah dikatakan bahwa hipoksia dengan konsentrasi oksigen kurang dari 2% memiliki peran yang penting pada sel punca. Pada periode yang singkat (kurang dari 48 jam), hipoksia dapat merangsang proliferasi, migrasi dan diferensiasi pada berbagai macam sel punca termasuk mesenkimal. (Son *et al.*, 2013).

Beberapa penelitian telah dilakukan dengan memprakondisikan hipoksia terhadap sel punca yang akan ditransplantasikan. Ditransplantasikannya prakondisi hipoksia sel punca pada penderita stroke iskemik memperlihatkan diferensiasi neuronal yang luas di otak iskemik, pemulihan dipercepat dan meningkatnya fungsi sensorimotor bila dibandingkan dengan transplantasi sel punca neural normoksia. (Theus, 2008; Wei *et al.*, 2012). Penelitian juga dilakukan pada infark myocard yang ditransplantasikan sel punca mesenkimal sumsum tulang 0,5% O₂ prakondisi hipoksia. Kematian sel punca mesenkimal sumsum tulang dan aktivasi caspase-3 secara signifikan menurun dibandingkan dengan sel punca mesenkimal sumsum tulang normoksia baik *in vitro* dan *in vivo*. Transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang prakondisi hipoksia dibandingkan sel punca mesenkimal sumsum tulang normoksia setelah miokard infark mengakibatkan peningkatan angiogenesis, serta meningkatkan morfologi dan manfaat fungsional dari terapi sel punca. (Hu *et al.*, 2008)

Peran *heat-shock protein* terhadap keadaan hipoksia sudah banyak diteliti baik pada *sel punca* yang ditransplantasikan maupun keadaan hipoksia dari sel dewasa terutama pada sel jantung dan otak. Hipoksia pada sel punca mesenkimal melalui signaling Netrin-1 (Ntn-1) dapat meningkatkan kadar Hsp 27 untuk mempertahankan diri dari proses apoptosis. (Son *et al.*, 2013).

Salah satu *growth factor* yang dihasilkan oleh sel punca pada keadaan hipoksia adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF). VEGF merupakan faktor neurotropik dan vaskulotropik yang berfungsi meningkatkan signal neurotropik dan meningkatkan neurogenesis sel dewasa serta menstimulasi

angiogenesis untuk revaskularisasi kembali dari aliran darah setelah kerusakan iskemik (Ferrara, 2004 ; Wang *et al.*, 2007).

Sel mikroglia merupakan *resident* makrofag pada retina dan papil saraf optik. Sel glial, khususnya mikroglia, berperan penting dalam respon imun lokal dan *imunosurveilans*. Johnson *et al.*, 2010 mengidentifikasi barier utama untuk integrasi sel punca yang ditransplantasikan secara intravitreal dengan membandingkan antara selular dan komponen *extracellular matrix* (ECM) dari *inner limiting membrane* (ILM). Hasil yang didapat bahwa yang mendominasi blok integrasi retina untuk transplantasi sel punca intravitreal adalah reaktivitas sel glial, dibandingkan dengan barier fisik yang ada di ILM tersebut. Penurunan sementara reaktivitas glial bisa secara signifikan meningkatkan integrasi sel punca ke retina secara *in vivo*. (Opal & DePalo, 2000 ; Shields *et al.*, 2011).

Berdasar masalah tersebut di atas dan dengan adanya prevalensi kebutaan akibat glaukoma yang tinggi dan bersifat menetap, maka glaukoma merupakan masalah global yang perlu mendapat perhatian. Metode pengobatan yang tepat perlu dikembangkan dengan harapan target memperbaiki SGR yang rusak dan menghentikan progresifitas kerusakan SGR akibat glaukoma dapat segera tercapai. Transplantasi sel punca merupakan salah satu pilihan terapi yang perlu secara intensif diteliti untuk mengobati glaukoma yang bermanfaat untuk regeneratif disfungsi sel ganglion retina dan neuroproteksi. Diperlukan strategi untuk meningkatkan keberhasilan sel punca yang ditransplantasikan di lingkungan iskemia akibat glaukoma. Teknik prakondisi hipoksia merupakan cara sederhana namun telah terbukti efektif untuk mengoptimalkan terapi transplantasi sel punca pada stroke iskemia dan myocard infark. Dengan demikian

transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang prakondisi hipoksia di lingkungan iskemia akibat peningkatan TIO diharapkan juga mampu meningkatkan kelangsungan hidup sel punca mesenkimal sumsum tulang dan meningkatkan efek neuroproteksi sel ganglion retina dan sel punca endogen, sehingga dapat terjadi peningkatan proses regenerasi dan penurunan kerusakan sel ganglion retina.

1.2 Rumusan Masalah

Secara umum pertanyaan penelitian ini adalah :

Bagaimana proses penurunan apoptosis dan peningkatan jumlah SG pasca penurunan TIO pada model hewan glaukoma akut setelah dilakukan transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang prakondisi hipoksia sehubungan dengan peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan VEGF-A165b, VEGFR-2, Hsp 27, dan TGF- β 1 pada lapisan sel ganglion retina?

Secara rinci pertanyaan penelitian yang diajukan adalah :

1. Apakah terdapat peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan HIF-1 α , Hsp 27, VEGF-A165b dan VEGF-A pada sel punca mesenkimal sumsum tulang prakondisi hipoksia?
2. Apakah terdapat peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan VEGF-A165b, VEGFR-2, Hsp 27, dan TGF- β 1 pada lapisan sel ganglion retina pasca penurunan tekanan intra okuler pada model hewan glaukoma akut setelah dilakukan transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang prakondisi hipoksia?
3. Apakah terdapat penurunan jumlah apoptosis sel ganglion retina dan peningkatan jumlah sel ganglion retina pasca penurunan tekanan intra

okuler pada model hewan glaukoma akut setelah dilakukan transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang prakondisi hipoksia?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan umum

Mengungkap proses penurunan jumlah apoptosis sel ganglion retina dan peningkatan jumlah sel ganglion retina pasca penurunan tekanan intra okuler pada model hewan glaukoma akut setelah dilakukan transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang prakondisi hipoksia.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Menganalisis peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan HIF-1 α , Hsp 27, VEGF-A165b dan VEGF-A pada sel punca mesenkimal sumsum tulang prakondisi hipoksia.
2. Menganalisis peningkatan jumlah sel yang mengekspresikan VEGF-A165b, VEGFR-2, Hsp 27, dan TGF- β 1 pada retina pasca penurunan tekanan intra okuler pada model hewan glaukoma akut setelah dilakukan transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang prakondisi hipoksia.
3. Menganalisis penurunan jumlah apoptosis sel ganglion retina dan peningkatan jumlah sel ganglion retina pasca penurunan tekanan intra okuler pada model hewan glaukoma akut setelah dilakukan transplantasi sel punca mesenkimal sumsum tulang prakondisi hipoksia.