

**EKSPRESI mRNA GEN *FORKHEAD BOX PROTEIN E3* (FoxE3)  
PADA PENDERITA KATARAK KONGENITAL**

*mRNA EXPRESSION OF FORKHEAD BOX PROTEIN E3 (FoxE3)  
GENE in CONGENITAL CATARACT PATIENTS*

**MEILIANA LAY**



**DEPARTEMEN ILMU KESEHATAN MATA  
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**EKSPRESI mRNA GEN *FORKHEAD BOX PROTEIN E3* (FOX E3)  
PADA PENDERITA KATARAK KONGENITAL**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Ilmu Kesehatan Mata

Disusun dan diajukan oleh

MEILIANA LAY

C025 172 007

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2022**

**LEMBAR PENGESAHAN TESIS**

**EKSPRESI mRNA GEN *FORKHEAD BOX PROTEIN E3*  
(FoxE3) Pada PENDERITA KATARAK KONGENITAL**

Disusun dan diajukan oleh

**Melliana Lay**

**Nomor Pokok : C025 172 007**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Kesehatan Mata Fakultas  
Kedokteran Universitas Hasanuddin


pada tanggal 8 April 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

**Menyetujui**

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

  
Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.MedEd  
NIP.196612311995031009

  
Dr. dr. Marlyanti N. Akib, Sp.M(K), M.Kes

Ketua Program Studi,

Dekan Fakultas Kedokteran,

  
dr. Muh. Abrar Ismail, Sp.M(K), M.Kes  
NIP.198010182009121002

  
Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK  
NIP. 196805301996032001

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis yang berjudul "Ekspresi mRNA Gen *Forkhead Box Protein E3 (FoxE3)* Pada Penderita Katarak Kongenital" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Prof.dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.MedEd sebagai Pembimbing Utama dan Dr.dr. Marliyanti N. Akib, Sp.M(K), M.Kes sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, April 2022



MEILIANA LAY  
C025 172 007

## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ini dengan baik.

Karya tulis ini dengan judul **“EKSPRESI mRNA GEN *FORKHEAD BOX PROTEIN E3 (FoxE3)* PADA PENDERITA KATARAK KONGENITAL”**, ditulis untuk memenuhi prasyarat akademik dalam rangka penyelesaian studi akhir Program Dokter Spesialis di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Pertama-tama penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tak terhingga serta penghargaan yang tulus kepada kedua orang tua tersayang, Bapak Winardi Laiyadi Lay dan Ibunda Ritha Lay atas segala kasih sayang, nasehat, dan doa yang telah diberikan sehingga penulis bisa mencapai titik ini. Teristimewa karya akhir ini penulis persembahkan kepada suami tercinta, Donny M. Kondar dan anakku tersayang, Vania Eileen, atas segala kesabaran, kasih sayang, dukungan doa dan semangat yang tanpa batas sejak penulis mulai pendidikan hingga menyelesaikan karya akhir ini. Tak lupa pula penulis menghaturkan terima kasih yang tak terhingga kepada Mertua, Bapak Williem dan Ibu Deby Mamahani yang selalu bersabar, mendoakan dan mendukung penulis dalam penyelesaian pendidikan dan karya akhir ini.

Perkenankan pula penulis dengan tulus dan rasa hormat menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor, Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA, selaku Rektor Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti program Pendidikan Dokter Spesialis di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
2. Dekan Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Hasanuddin, Prof.dr.Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed, yang juga selaku Ketua Komisi Penasehat yang tidak pernah lelah ditengah kesibukannya, beliau dengan penuh kesabaran memberikan arahan, perhatian, motivasi, masukan dan dukungan moril yang sangat bermanfaat bagi penyempurnaan penyusunan dan penulisan tesis ini.
3. Dr.dr. Marlyanti N. Akib, Sp.M(K), M.Kes selaku Sekertaris Penasihat, yang senantiasa membimbing, memotivasi dan memberikan masukan dan dukungan moril guna menyempurnakan penyusunan dan penulisan tesis ini.

4. dr. Joko Hendarto, Ph.D, M.Biomed selaku pembimbing statistik, atas waktu dan ilmunya yang telah banyak memberikan masukan serta arahan dalam penyempurnaan penyusunan dan penulisan tesis.
5. Dr.dr. Habibah S. Muhiddin, Sp.M(K), Dosen Bagian Ilmu Kesehatan Mata FK UNHAS, selaku penguji karya akhir ini dan guru yang tidak pernah hentinya mendorong dan memberikan semangat supaya penulis bisa selalu berkembang dalam masa pendidikan spesialis mata.
6. Dr. dr. Batari Todja Umar, Sp.M(K) selaku penguji karya akhir ini dan guru yang selalu meluangkan waktu untuk penulis, memberikan arahan, bimbingan dan bantuan selama masa pendidikan spesialis mata.
7. Ketua Departemen dan Dosen Bagian Ilmu Kesehatan Mata FK UNHAS, dr. Andi Muhammad Ichsan, Ph.D, Sp.M(K), atas segala nasehat dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis sehingga dalam menjalani masa pendidikan spesialis dengan baik.
8. Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Mata FK UNHAS, dr. Muh. Abrar Ismail, Sp.M (K), M.Kes, atas segala kepercayaan dan dukungan serta arahan kepada penulis, juga segala jerih upaya untuk meningkatkan kualitas Pendidikan Dokter Spesialis Mata UNHAS.
9. Pembimbing akademik, Dr.dr. Noro Waspodo, Sp.M, juga selaku dosen dan guru Bagian Ilmu Kesehatan Mata FK UNHAS, atas bimbingan, pengertian, kesabaran dan nasehat serta ajaran beliau sehingga penulis bisa menyelesaikan tugas akhir.
10. Staf laboratorium HUM-RC RSPTN UNHAS, Ibu Handayani Halik, S.Si., M.Kes yang telah membantu dalam penelitian penulis
11. Seluruh Tim pengajar Departemen Ilmu Kesehatan Mata dan guru-guru kami, Prof.Dr.dr.Rukiah Syawal, Sp.M(K), Dr.dr.Halimah Pagarra, Sp.M(K), dr. Junaedi Sirajuddin, Sp.M(K), dr. Hasnah, Sp.M(K), M.Kes, dr. Rahasia Taufik, Sp.M(K), dr.Hamzah, Sp.M(K), dr. Noor Syamsu, Sp.M(K), dr.Suliat P.Amir, Sp.M, M.MedEd, Dr.dr. Purnamanita Syawal, Sp.M, M.Kes, dr.Andi Tenrisanna Devi, Sp.M(K), M.Si, M.Kes, dr. Muliasnaeny, Sp.M, Dr.dr.Yunita, Sp.M(K), M.Kes, dr. Ahmad Ashraf, Sp.M(K), MPH, M.Kes, dr. Soraya, Sp.M, M.Kes, dr. Ratih Natasha, Sp.M, M.Kes, dr.Nursyamsi, Sp.M, M.Kes, dr.Andi Pratiwi, Sp.M, M.Kes, dr. Andi Akhmad Faisal, Sp.M, M.Kes, dr.Andi Suryanita Tadjuddin, Sp.M, dr. Rani Yunita Patong, Sp.M, dr. Idayani Panggalo, Sp.M, dr. Muh.Irfan, Sp.M, MARS, dan

dr. Dyah Ayu Windy,Sp.M atas segala bentuk bimbingan, nasehat, dan setiap kesempatan yang telah diberikan dalam proses Pendidikan. Semoga ilmu yang diajarkan dapat menjadi ilmu yang bermanfaat untuk semuanya.

12. Saudara-saudari, teman seperjuangan Ilmu Kesehatan Mata angkatan Januari 2018, *Magnificent*, dr.Gerhanawati, dr. Arandz Ruttu, dr.Irnawanti Lestari, dr. Muh. Anugrah Fadhil, dr. Widodo Prima Utama, dr. Linda Minar Herawati, dr. Nur Aulia; yang senantiasa memberikan semangat, motivasi, kerjasama, keceriaan, dan kenangan indah selama pendidikan dan dalam penyusunan tesis ini. *Always be Magnificent!*
13. Staf Administrasi Departemen Ilmu Kesehatan Mata FK UNHAS yang selama ini begitu banyak membantu selama proses pendidikan dan penyelesaian penelitian dan karya akhir ini, terkhusus kepada Ibu Endang Sriwahyuningsih, SE, Nurul Puspita, Mutmainnah Burhanuddin, Masita dan Sudirman yang selalu siap sedia membantu.
14. Rekan-rekan staf poliklinik dan kamar operasi RSPTN UNHAS, RSUP Wahidin Sudirohusodo, JEC-Orbita Makassar, serta RS Jejaring, atas segala bantuan selama pendidikan.
15. Bapak/ibu/saudara(i) yang bertindak sebagai *support* maupun responden yang telah meluangkan waktunya untuk membantu dan mengikuti penelitian ini.

Penulis sadar bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan oleh karena itu, besar harapan penulis kepada pembaca atas kontribusinya baik berupa saran dan kritik yang sifatnya membangun demi kesempurnaan tesis ini. Akhirnya semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa melimpahkan rahmat-Nya kepada kita semua dan apa yang disajikan dalam karya tulis ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Makassar, April 2022

Meiliana Lay

## ABSTRAK

**Meiliana Lay.** Ekspresi mRNA Gen *Forkhead Box Protein E3* (FoxE3) Pada Penderita Katarak Kongenital. (dibimbing oleh Budu, Marliyanti N Akib, dan Joko Hendarto)

Penelitian ini dilakukan untuk menilai ekspresi mRNA gen FoxE3 pada penderita katarak kongenital. Penelitian ini menggunakan desain observasional analitik dengan metode *crosssectional*. Sampel penelitian terdiri dari 14 penderita katarak kongenital dan 12 sampel kontrol yang tidak katarak. Sampel darah diambil dan akan dilakukan pemeriksaan ekspresi mRNA gen FoxE3 dengan RT-PCR. Hasil penelitian menunjukkan penurunan ekspresi mRNA gen FoxE3 pada 85.7% sampel kasus dan peningkatan ekspresi pada kontrol (91.7%). Penurunan ekspresi mRNA gen FoxE3 ini paling banyak pada penderita katarak tipe nuklear.

Kata kunci: ekspresi mRNA, gen FoxE3, katarak kongenital



## ABSTRACT

**Meiliana Lay.** *mRNA Expression of Forkhead Box Protein E3 (FoxE3) Gene in Congenital Cataract Patients (supervised by Budu, Marliyanti N Akib, and Joko Hendarto)*

*This study was conducted to assess mRNA expression of FoxE3 gene in congenital cataracts patients. This study used an analytic observational design with a cross-sectional method. Participants consisted of 14 patients with congenital cataracts and 12 control without cataracts. Whole Blood was taken from participants and the mRNA expression of FoxE3 gene was examined using RT-PCR. The results showed that mRNA expression of FoxE3 gene was reduced in 85.7% of the congenital cataract samples and tended to increase in participants without cataract (91.7%). The reduction of FoxE3 gene mRNA expression was found dominantly in patients with nuclear cataracts.*

*Keywords: mRNA expression, FoxE3 gene, congenital cataract*

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian	
1.3.1 Tujuan Umum .....	3
1.3.2 Tujuan Khusus .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Perkembangan dan Embriologi Molekular Lensa.....	5
2.2 Gen yang berkaitan dengan Kataraktogenesis Kongenital.....	22
2.3 Kerangka Teori .....	31
2.4 Kerangka Konsep.....	31
2.5 Hipotesis.....	31
2.6 Alur Penelitian .....	32
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Desain Penelitian .....	33
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	33
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	33
3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	33
3.5 Perkiraan Besar Sampel.....	34
3.6 Sarana Penelitian.....	35
3.7 Definisi Operasional.....	36
3.8 Prosedur Pemeriksaan dan Pengambilan Sampel .....	37
3.9 Prosedur Penelitian .....	37
3.10 Analisis Data .....	40
3.11 Etik Penelitian .....	40
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil .....	41
4.2 Pembahasan.....	45
4.3 Keterbatasan Penelitian.....	52
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan.....	53
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA .....	54
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	60

## DAFTAR TABEL

<b>Nomor</b>		<b>Halaman</b>
1	Karakteristik sampel penelitian dengan katarak kongenital.....	42
2	Hubungan Jenis Katarak terhadap ekspresi mRNA FoxE3 pada penderita katarak kongenital.....	43
3	Hasil pemeriksaan ekspresi mRNA gen FoxE3 pada penderita katarak kongenital dan kelompok kontrol.....	44
4	Karakteristik Ekspresi mRNA gen FoxE3 pada penderita katarak kongenital dan kelompok kontrol.....	44

## DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	Tahap awal perkembangan embrionik.....	6
2	Skematik tahapan perkembangan lensa selama proses embriogenesis pada model tikus.....	8
3	Embriologi pembentuk lensa .....	9
4	Penentuan <i>cell fate</i> pada proses induksi lensa.....	11
5	Ekspresi gen Pax6 dan Six3 selama proses pembentukan awal lensa.....	12
6	Skematik perkembangan lensa vertebrata serta hubungannya dengan proses induksi lensa dan sekuensi aktivasi gen faktor transkripsi.....	14
7	Proses ekspresi gen pada vesikel optic, epitelium lensa prospektif (PLE) dan <i>lens placode</i> .....	16
8	Cryosection mata embrio tikus pada proses invaginasi <i>lens placode</i> .....	17
9	Pembentukan filopodia pada invaginasi <i>lens placode</i> .....	17
10	Grafik Box-Plot ( <i>Box and Whisker plots</i> ) kelompok kasus dan kontrol.....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Persetujuan Etik.....	60
Format Lembar Persetujuan ( <i>Inform Consent</i> ).....	61
Riwayat Hidup Peneliti.....	65

### Tabel

	<b>Halaman</b>
Data Pasien Penelitian.....	62
<i>Output Data Analysis</i> .....	63

## DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Istilah/ Singkatan	Kepanjangan/ Pengertian
ALE	<i>Anterior Lens Epithelium</i>
BMP	<i>Bone Morphogenetic Protein</i> adalah suatu faktor pertumbuhan yang masuk dalam transforming growth factor $\beta$ (TGF- $\beta$ )
ECM	<i>Extracellular Matrix</i>
FGF	<i>Fibroblast growth factor</i> adalah faktor pertumbuhan yang
FoxE3	<i>Forkhead Box Protein E3</i> adalah gen faktor transkripsi terkait diferensiasi lensa
GAPDH	<i>Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase</i> adalah salah satu <i>house keeping gene</i> yang digunakan sebagai standar batas normal suatu ekspresi gen
HUMRC	<i>Hasanuddin University Medical Research Center</i>
ml	mililiter
mRNA	<i>Messenger-Ribonucleic Acid</i>
n	Sampel
PLE	<i>Prospective lens ectoderm</i>
POM	Periocular mesenkim
PITX3	<i>Paired like homodomain 3</i> adalah faktor transkripsi terkait spesifikasi lensa, penting dalam perkembangan lensa dan mata
RA	Retinic Acid
RS	Rumah Sakit
rt-PCR	<i>Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction</i>
SD	Standar Deviasi
VO	Vesikel optic
WHO	<i>World Health Organization</i>

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Katarak dapat didefinisikan berdasarkan onset usia: katarak kongenital atau infantil yang terjadi salah satu tahun pertama kehidupan; katarak juvenil yang timbul dalam dekade pertama kehidupan; katarak presenilis yang terjadi pada usia kurang dari 45 tahun, dan katarak senilis (*age-related cataract*) yang timbul diatas 45 tahun transparan (Shiels and Hejtmancik, 2014).

Prevalensi katarak kongenital adalah 1-6 kasus tiap 10.000 kelahiran di negara berkembang dan 5-15 kasus per 10.000 kelahiran di negara maju. WHO mengestimasi sekitar 14 juta anak mengalami kebutaan diseluruh dunia dimana lebih 50% kebutaan tersebut terjadi akibat katarak bilateral (Yi et al, 2011; Tataru et al, 2020). Pada negara berkembang seperti India, 7-4%-15,3% kebutaan anak terjadi akibat katarak. Katarak pediatrik menyebabkan lebih dari 1 juta anak mengalami kebutaan di Asia. Di seluruh dunia sekitar 20.000-40.000 anak dengan katarak kongenital atau pediatrik lahir setiap tahun dengan derajat dan pola opasifikasi lensa dan etiologi yang bervariasi (Bell et al., 2020).

Katarak kongenital menyebabkan terjadinya kekeruhan lensa pada saat kelahiran. Penyebab terjadinya bervariasi seperti infeksi intrauterin, radiasi saat kehamilan, konsumsi obat-obatan, penyebab metabolik atau genetik. Sejumlah besar kasus katarak kongenital penyebabnya masih belum diketahui. Menurut penelitian 30-50% katarak kongenital terjadi akibat mutasi pada gen yang mengkode protein pada struktur lensa sehingga penting untuk mengidentifikasi faktor etiologi terjadinya katarak (kataraktogenesis) guna mencegah kelainan tersebut (Gmoupta et al, 2014; Tataru et al, 2020).

Secara genetik penyebab terjadinya katarak kongenital sangat bervariasi dan berkaitan dengan mutasi pada gen-gen tertentu seperti *crystallins*, *protein membran transport*, *gap junction*, faktor transkripsi perkembangan lensa dan sitoskeleton. (Churchil and Graw, 2011; Khan et al., 2018; Berry et al., 2020; Tataru et al., 2020).

Katarak kongenital juga dapat terjadi akibat terganggunya proses morfogenesis dan diferensiasi lensa mulai dari tahap embriogenesis yang dapat mempengaruhi proses pembentukan lensa dewasa yang normal saat kelahiran. Beberapa gen faktor transkripsi diketahui penting dalam perkembangan lensa vertebrata, diantaranya yakni Pax6 (*Paired Box6*), MAF, HSF4 (*Heat Shock Transcription Factor 4*), *Paired-like domain Transcription Factor 3* (PITX3), dan *Forkhead box E3* (FoxE3). Gen Pax6 berperan penting sebagai sel progenitor dalam morfogenesis lensa. Gen PITX3 dan FoxE3 memegang peranan penting dalam perkembangan ocular (Vidya et al., 2018). Pada mata normal FoxE3 mengontrol proliferasi epitelium lensa dan penutupan vesikel lensa sedangkan PITX3 mengontrol pemeliharaan sel epitel lensa dan diferensiasi serat lensa. Pada manusia, mutasi pada FoxE3 dan PITX3 menyebabkan berbagai variasi fenotip pada mata seperti katarak kongenital, disgenesis segmen anterior mesenkimal dan mikroftalmia (Vidya et al., 2018; Anand et al., 2018). Namun demikian, penelitian genetik terkait hubungan kedua gen tersebut masih sangat terbatas (Vidya et al., 2018).

FoxE3 (*Forkhead box protein E3*) adalah faktor transkripsi yang dibutuhkan dalam proses morfogenesis dan diferensiasi segmen anterior mata. FoxE3 ditemukan juga terekspresikan pada epitelium lensa dewasa (Semina et al., 2001). Gen yang mengkode faktor transkripsi FoxE3 ini diekspresikan pada epitelium lensa dan berhenti pada saat memasuki fase diferensiasi serat lensa. Semina et al pertama kali melaporkan adanya mutasi varian pada gen ini yang



menyebabkan disgenesis mesenkimal segmen anterior dan katarak kongenital. Ekspresi gen FoxE3 ditemukan lebih dini dengan pola ekspresi yang teretriksi hanya di epitelium anterior lensa yang berkembang dan menetap hingga dewasa (Blixt et al, 2000; Brownell et al, 2000; Semina et al., 2001; Shi et al., 2006).

Oleh karena pentingnya gen faktor transkripsi dalam pembentukan lensa, mulai dari proses embriogenesis hingga lensa matur terbentuk sehingga perlu dilakukan penelitian terkait hubungan gen-gen faktor transkripsi ini dengan terjadinya katarak kongenital. FoxE3 merupakan salah satu gen faktor transkripsi yang penting dalam proses morfogenesis lensa dan ekspresinya dini terdeteksi dan menetap hanya pada epitel lensa tanpa melibatkan organ lain hingga dewasa. Oleh karenanya pada penelitian ini, akan diteliti perubahan ekspresi gen FoxE3 pada penderita katarak kongenital.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas maka dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut : “Bagaimana ekspresi mRNA gen *Forkhead Box Protein E3* (FoxE3) pada penderita katarak kongenital? ”

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui ekspresi mRNA gen FoxE3 pada penderita katarak kongenital.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- a. Menilai ekspresi mRNA gen FoxE3 pada penderita katarak kongenital
- b. Menilai hubungan jenis katarak dengan ekspresi mRNA gen FoxE3 pada penderita katarak kongenital

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Menambah ilmu pengetahuan terkait informasi ilmiah mengenai ekspresi gen faktor transkripsi Forkhead Box Protein E3 (FoxE3) pada penderita katarak kongenital.
2. Referensi untuk melakukan pencegahan bahkan pengembangan terapi gen spesifik untuk penyakit ini di masa yang akan datang
3. Data penelitian dapat digunakan sebagai informasi untuk penelitian selanjutnya

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

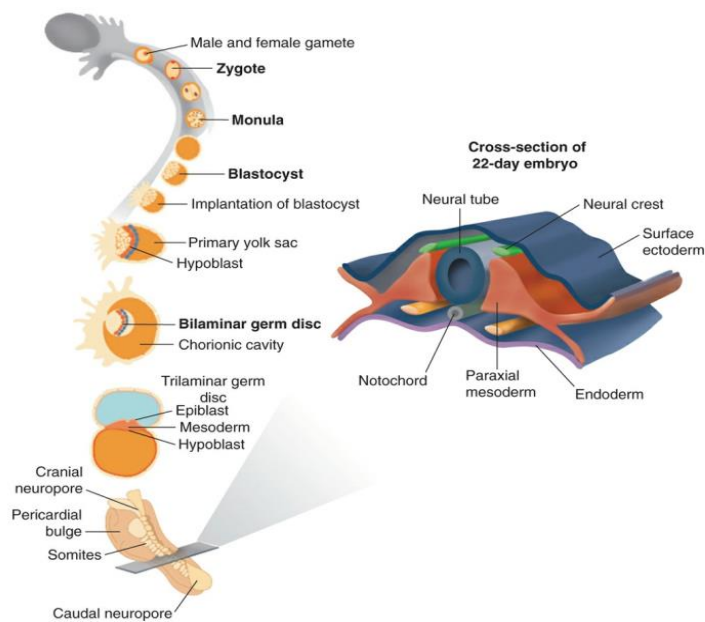
#### 2.1 Perkembangan dan Embriologi Molekular Lensa

Seperti halnya lensa pada kamera, fungsi dasar dari lensa mata adalah mentransmisikan dan memfokuskan cahaya pada retina. Dalam rangka memfasilitasi hal itu, lensa mengandung salah satu protein dengan konsentrasi tertinggi dari jaringan manapun. Struktur lensa telah diteliti lebih dari seabad sejak awal tahun 1833 oleh David Brester hingga pada tahun 1894, Morner pertama kali menunjukkan tingginya konsentrasi protein terlarut yang saat ini dikenal dengan *crystallins*. Selain itu, Spemann mengembangkan konsep tentang interaksi induktif dalam perkembangan lensa pada tahun 1901. Renwick memetakan lokus katarak yang merupakan lokus autosomal pertama yang terlokalisasi dan delta *crystallins* ( $\delta$ -crystallin) pada lensa ayam yang merupakan mRNA pertama yang berhasil diisolasi dan dikloning. Oleh karenanya, lensa memegang peranan penting dalam penelitian penyakit hereditas dan juga merupakan model yang berharga untuk penelitian perkembangan dan biologi molekular (Hejtmancik and Shiels, 2015).

##### 1. Embriologi Lensa

Perkembangan lensa adalah proses kunci dalam organogenesis mata dimana defek perkembangan lensa terjadi akibat abnormalitas struktur lensa dalam dan pembentukan katarak. Morfogenesis lensa awalnya terjadi akibat penebalan dari ektoderm permukaan yang akan membentuk *lens placode* yang tersusun atas sel-sel progenitor lensa yang tersusun menyerupai struktur palisade. Invaginasi dari sel-sel ini menyebabkan ditemukannya model 3 dimensi pertama pada lensa, yakni vesikel lensa yang terdiri atas sel-sel prekursor (Cvekl and Ashery-Padan, 2014; Cvekl et al., 2015).

Selama gastrulasi, dimana terjadi perkembangan blastula berlapis tunggal menjadi gastrula berlapis, terbentuk 3 lapisan pada semua embrio hewan: ektoderm (lapisan superfisial), mesoderm (lapisan tengah), dan endoderm (lapisan dalam). Embrio pada vertebrata memiliki suatu populasi sel ektomesenkimal yang berasal dari neuroektoderm pada dorsal dari tuba neural. Sel-sel ini disebut dengan *neural crest cells* yang merupakan sel-sel induk yang bermigrasi sementara yang dapat membentuk jaringan dengan karakteristik ektoderm dan mesoderm. Terdapat beberapa tipe *neural crest cell*, tergantung lokasi dan peranannya. Struktur okular berasal dari area kranial *neural crest cell*. (Cantor B Louis, 2019)

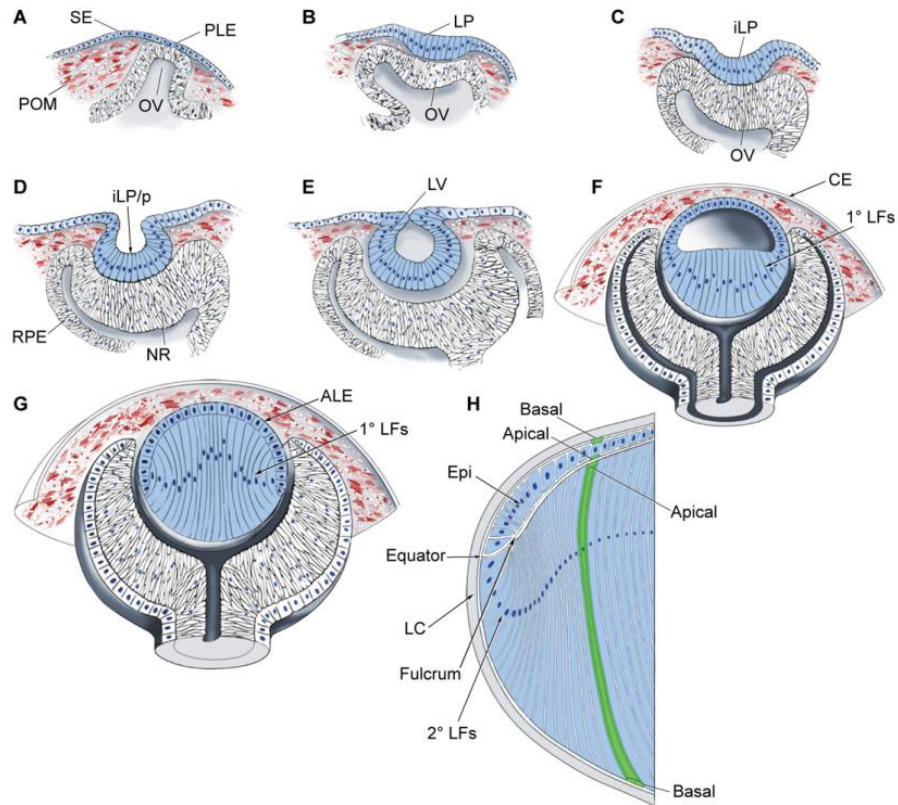


Gambar 1. Tahap awal perkembangan embrionik. Gambar *crosssectional* menunjukkan tuba neural dengan *notochord* di inferior dari *neural crest cell* (hijau) dan mesoderm (merah). Sulkus optik akan berkembang di dalam *neuropore* pada hari ke 22 (Cantor B Louis 2019)

Proses perkembangan lensa yang dimulai dari hari gestasi ke 22 dapat dibagi menjadi dua tahapan: pembentukan vesikel lensa dan fibrogenesis (Hejmancik and Shiels, 2015). Lensa dibentuk oleh ektoderm permukaan yang akan mengalami invaginasi dan inkarserasi membentuk *lens placode* dan vesikel

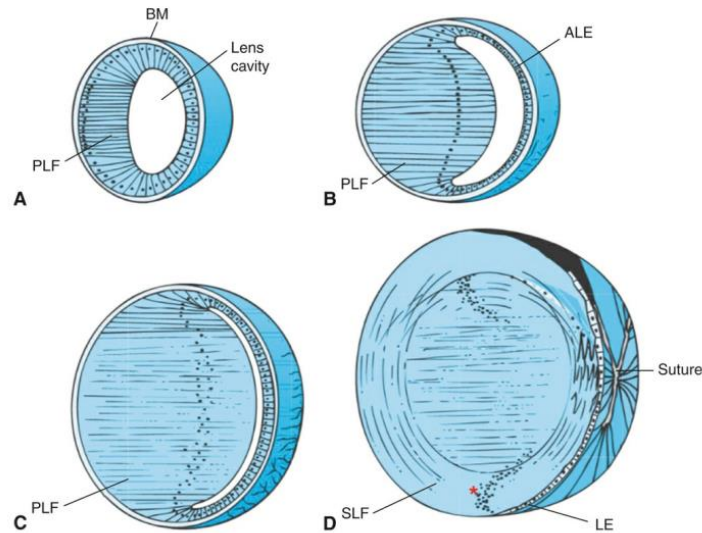
optik pada minggu ke 5 masa gestasi. Pada hari gestasi ke-25, terdapat dua penonjolan lateral yang dibentuk oleh diensefalon yang disebut dengan vesikel optik. Bersamaan dengan pembesaran dan perkembangannya ke lateral, vesikel optik akan semakin mendekati ektoderm permukaan yang tersusun atas selapis sel kuboid. Pada hari ke-27 masa gestasi, sel-sel ektoderm permukaan di atas vesikel optik akan berubah menjadi sel kolumnar dan menebal membentuk *lens placode*. Faktor pertumbuhan pada *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) dibutuhkan pada pembentukan *lens placode*. Pada masa gestasi hari ke 29 akan terjadi indentasi dari *lens placode* yang dikenal dengan istilah *lens pit*, proses ini akan berlanjut menjadi pendalaman dari lipatan lens pit dan invaginasi membentuk vesikel lensa pada hari ke 30 gestasi. Sel-sel yang menghubungkan vesikel lensa ke ektoderm permukaan akan mengalami degenerasi karena apoptosis sehingga memisahkan sel-sel lensa dari ektoderm permukaan hari ke 33 masa gestasi. (Cantor B Louis, 2019).

Setelah vesikel optik terlepas dari ektoderm permukaan, proses diferensiasi lensa akan dimulai. Sel-sel di anterior vesikel lensa akan terus berproliferasi dan lama kelamaan akan berdiferensiasi menjadi sel epitelium lensa di anterior, sedangkan sel di bagian posterior vesikel optik akan menjadi lebih tipis dan memanjang, berdiferensiasi dan membentuk serat lensa primer yang akan membentuk nuklei embrionik (hari ke 35-40 gestasi). Proliferasi dari sel epitelium lensa akan membentuk suatu barisan sel baru yang pada saat terjadi *cell cycle exit*, akan membentuk serat lensa sekunder (bulan ke 2-8), yang akan membentuk lapisan luar dari serat lensa dan berkontribusi dalam pertumbuhan serat lensa sepanjang kehidupan (Cvelk and Ashery-Padan, 2014; Cavaleiro et al., 2017)



Gambar 2. Skematik tahapan perkembangan lensa selama embryogenesis pada model tikus. (A) E9.0, *prospective lens ectoderm*. (B) E9.5, *lens placode*. (C) E10, *invaginasi lens placode*. (D) E10.5, *invaginasi lens placode ke lens pit*. (E) E11, *vesikel lensa*. (F) E12.5, *diferensiasi serat lensa primer*, (G) E13.5-E14.5, *selesainya elongasi dari serat lensa primer menuju pembentukan serat lensa sekunder*. (H) *Pertumbuhan lensa dan diferensiasi serat lensa sekunder pada lensa dewasa*. (Cvekl and Ashery-Padan, 2014)

Serangkaian kompleks penghantaran sinyal dan faktor transkripsi membantu regulasi morfogenesis vesikel lensa (Cvekl 2015). Selama induksi lensa ini, faktor transkripsi (Pax6, Sox2, dan Six3) dikendalikan oleh impuls *Fibroblast Growth Factor* (FGF) dan *Bone morphogenetic protein* (BMP). Selain itu *Wnt/β-catenin* dan pensinyalan *notch* juga terlibat dalam perkembangan embriologi lensa (Lovicu et al 2011; Cvekl and Ashery-Padan, 2014). Defek genetik dan berbagai penyebab patologik dapat terjadi pada tahap yang berbeda pada perkembangan embriologi lensa dan memberikan gambaran fenotip yang bervariasi pada katarak kongenital (Li et al., 2019)



Gambar 3. Pembentukan lensa. A. Vesikel lensa. B. Sel anterior lensa tetap kuboidal sedangkan sel-sel di posterior memanjang. C. sel-sel posterior (serat lensa primer) akan mengisi vesikel lensa, membentuk nucleus embrionik. D. Sel anterior membentuk epitelium lensa. Perhatikan regio *bow* (asterisk merah) yang berlanjut dari sel epitelium membentuk serat lensa sekunder (Cantor B Louis, 2019).

Pada tingkat selular, terdapat suatu penghantaran impuls ekstraselular yang biasa disebut proses induksi, yang akan menentukan *cell fate* (proses determinasi). Proses induksi ini dibagi menjadi fase spesifikasi dan komitmen. Spesifikasi jaringan ditandai dengan *cell fate* yang stabil pada medium netral. Sel akan memasuki fase komitmen ketika sel tidak mengalami perubahan *cell fate* meskipun terjadi perubahan lingkungan. (Patthey and Gunhaga,2014; Cvelk and Ashery-Padan,2014)

Pada tingkat molekular, indentitas tipe sel ditentukan oleh kombinasi spesifik dari aktivator lokal dan faktor transkripsi yang terkait DNA yang dibantu dengan sejumlah enzim yang mengubah kromatin. Oleh karenanya, penelitian-penelitian tentang faktor transkripsi terkait DNA selama proses pembentukan lensa dan hubungannya dengan penghantaran impuls ekstraselular telah memberikan banyak sudut pandang baru dalam proses formasi lensa. (Cvelk and Ashery-Padan,2014)

Pada kombinasi tingkat selular dan molekular, morfogenesis lensa yang dibagi menjadi empat fase spesifik, yakni (1) pembentukan *lens placode*, (2) invaginasi dari lens placode membentuk vesikel lensa, (3) proses *cell cycle exit*, diferensiasi serat lensa primer dan epitelium lensa, (4) pertumbuhan lensa dan pembentukan serat lensa sekunder, akan dibahas lebih lanjut. Proses spesifik ini diamati dengan menggunakan peralatan molekular terbaru yang digunakan dengan mengamati perkembangan lensa pada model tikus (Lie et al.,2019).

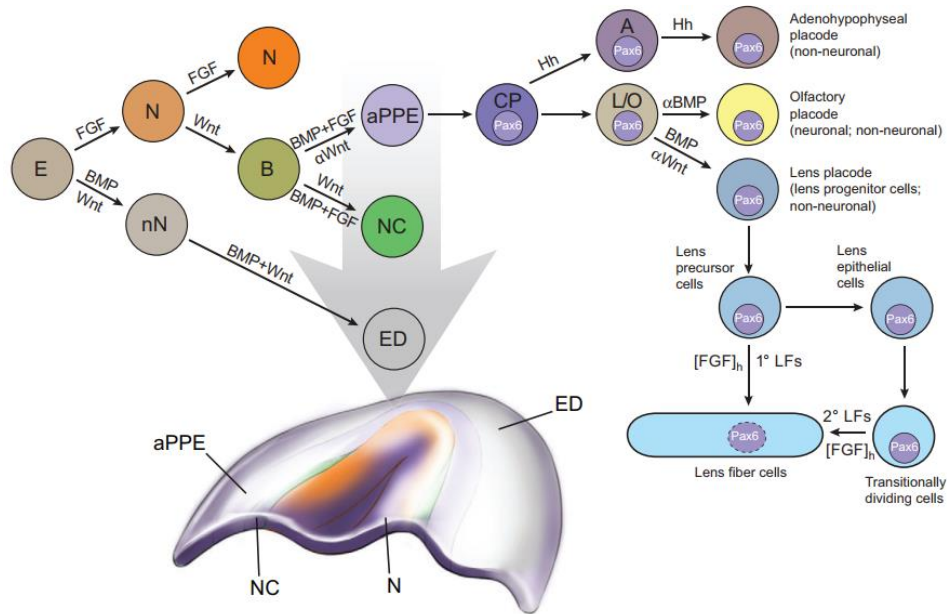
a. Pembentukan *Lens Placode*

Setelah terjadinya pembentukan lempeng neural, ektoderm bagian anterior akan mengalami serangkaian pembelahan dalam proses induksi lensa untuk penentuan *cell fate*. *Anterior ectoderm* dibagi menjadi tiga regio/domain, yakni ektoderm non-neural (epidermis prospektif), lempeng neural, dan regio ketiga yang dikenal dengan istilah '*border*' yang berada diantara lempeng neural & ektoderm non-neural (Cvekl and Ashery-Padan, 2014; Hejtmancik and Shiels., 2015)

Bagian anterior dari *border-ectoderm* akan menjadi *anterior pre-placodal region* (aPPR), sedangkan bagian yang lebih posterior akan membentuk *neural crest cell*. Pembentukan aPPR terjadi melalui penghantaran impuls aktif FGF dan BMP dikombinasikan dengan inhibisi dari sinyal *Wnt/β-catenin*. (Lovicu et al, 2005; Patthey and Gunhaga, 2014; Cvekl and Ashery-Padan, 2014).

Sel-sel pada anterior pre-placodal (aPPR) akan membentuk sel-sel individual placodal progenitor yang ada bermigrasi dan mengikuti spesifikasi *cell fate* masing-masing, akan menyelubungi placoda individual: adenohipofisis, olfaktorius, dan lensa (Cvekl et al, 2015).



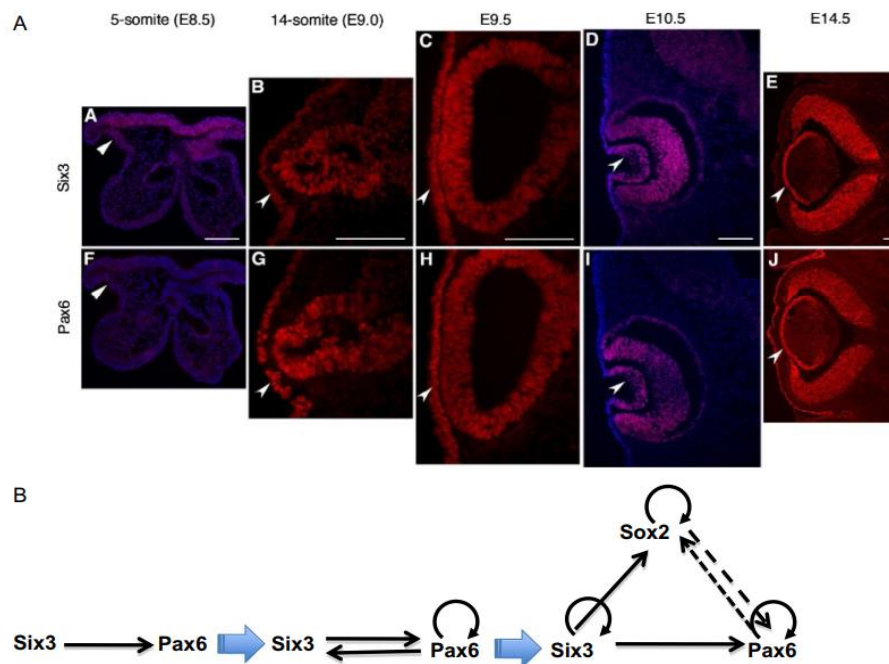


Gambar 4. Penentuan *cell fate* pada proses induksi. Determinasi dan diferensiasi terjadi sebelum dan selama proses induksi dan diferensiasi lensa. Jalur penghantaran impuls yang terlibat (BMP,FGF,Wnt) serta inhibisi dari jalur spesifik ( $\alpha$ BMP and  $\alpha$ Wnt). Proses infuksi melibatkan proses pembelahan *anterior ectoderm* (E) menjadi *neural ectoderm* (N) dan ektoderm non-neural (nN), *border-ectoderm* (B), *anterior pre-placodal ectoderm* (aPPE), *neural crest* (NC) cell, epidermis (ED), PAX6 (*common progenitor*/CP), *progenitor adenohypophyseal* (A) dan *progenitor lens-olfactory* (L/O) (Cvekl and Ashery-Padan, 2014).

Pada tingkat molekular, telah diidentifikasi proses penghantaran sinyal yang memicu pembentukan *lens placode* bersamaan dengan sekelompok faktor transkripsi terkait DNA yang terekspresikan pada aPPR, ektoderm lensa prospektif (PLE/*Prospective Lens Ectoderm*), dan *lens placode*. Penelitian genetika pada tikus menunjukkan peranan penting dari pembentukan *lens placode* terhadap penghantaran sinyal BMP (*Bone Morphogenetic Protein*) dan RA (*Retinoic Acid*) yang berhubungan dengan aktivitas dari dua protein *homeodomain*, yakni Pax6 dan Six3 (Cvekl and Ashery-Padan, 2014; Hejtmancik and Shiels., 2015).

Pax6 disebutkan memiliki peranan penting dalam pembentukan lensa dalam penelitian embrional. Penemuan gen Pax6 diikuti dengan penemuan gen faktor transkripsi lain seperti Six1, Six3, FoxE3, Sox2,L-Maf/c-Maf dan Prox1

yang juga terlibat dalam pembentukan *preplacodal ectoderm* (PPE) serta proses diferensiasi lensa (Ogino et al, 2012).



Gambar 5. Ekspresi Pax6 dan Six3 selama fase awal pembentukan lensa dan mekanisme regulasi Pax6, Six3, dan Sox2. A. Six3 diekspresikan pertama kali pada ektoderm permukaan (E8.5), lalu Pax6 (E8.75). B. Onset dari ekspresi Pax6 pada ektoderm lensa prospektif membutuhkan Six3. Pada E9.0, Pax6 dan Six3 melakukan regulasi silang dan autoregulasi dari Pax6 terjadi. Pada E9.5, ditemukan ekspresi dari Sox2 yang bergantung pada Six3 dan Pax6 pada *lens placode* yang mengalami invaginasi (Liu et al., 2016; Cvekl et al., 2014)

Pada akhir proses gastrulasi, PPE yang mengelilingi *anterior neural plate* akan mengekspresikan gen-gen *preplacodal* diantaranya seperti Dlx3, Dlx5, Dlx6, Hes1, Hes4, Six1, Six4, Eya1, Eya2 serta Otx2. Setelah terekspresinya gen tersebut, maka gen spesifikasi lensa, yakni Pax6 dan Six3 mulai terekspresi di PLE pada stadium *neural plate*. (Ogino et al, 2012).

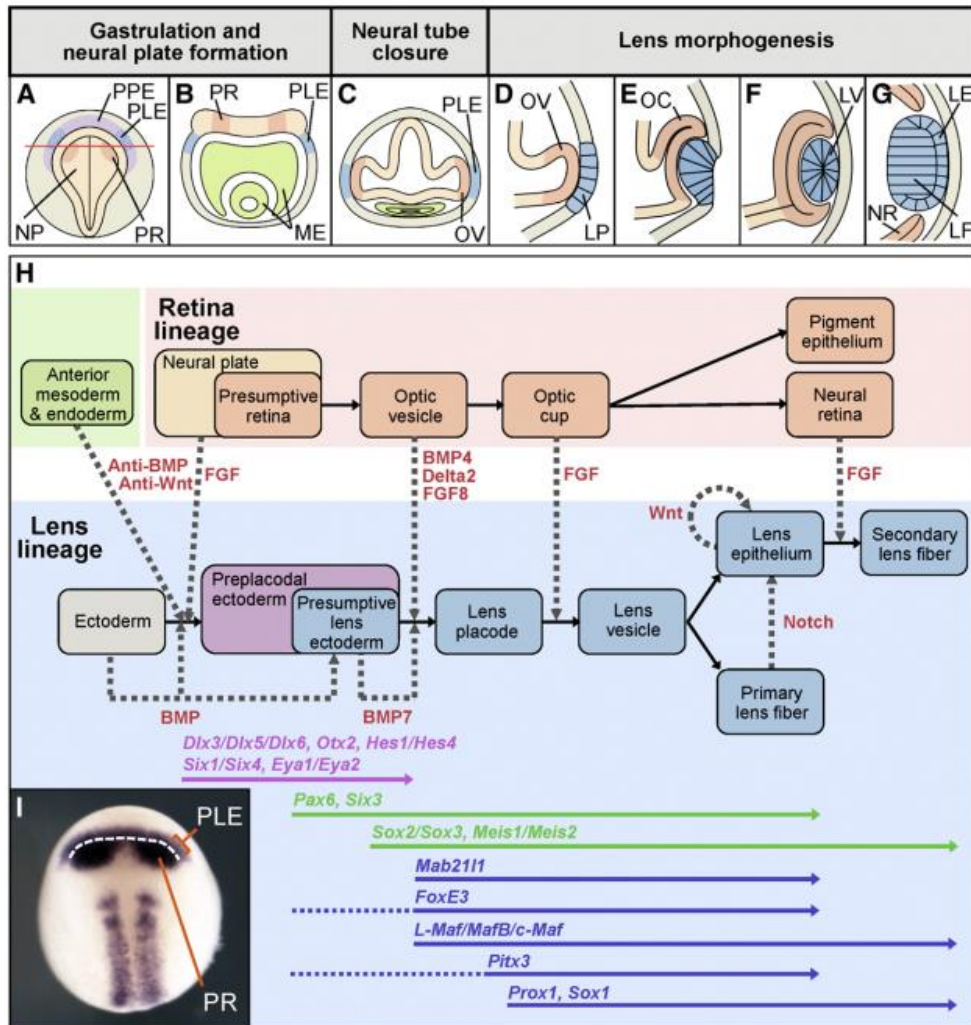
Setelah *neural plate* tertutup. Area prospektif retina menonjol dan akan membentuk vesikel optik. Sox2, Sox3, Meis1 dan Meis2 yang juga terlibat dalam proses spesifikasi lensa akan teraktivasi di PLE saat terjadi kontak dengan vesikel optik. Setelah kontak tersebut, PLE akan mulai berelongasi dan membentuk *lens placode* yang berhubungan dengan aktivasi gen diferensiasi

lensa, yakni Mab2111, FoxE3, PITX3, L-Maf, MafB, c-Maf, Sox1 dan Prox1. Gen-gen *preplacodal* akan terhenti ekspresinya di PLE pada saat telah terbentuk *lens placode*. Sel-sel yang membentuk dinding posterior lensa berelongasi dan membentuk serat lensa primer. Proses *cell cycle arrest* dan peningkatan ekspresi *crystallins* (protein spesifik struktur lensa) juga terjadi dalam proses diferensiasi lensa nantinya. Di antara gen-gen yang terekspresi pada lensa placode, Sox1, Sox2, Sox3, L-Maf, dan c-Maf yang akan tetap terekspresi pada sel-sel serat lensa. Sebaliknya, pada sel-sel epitelial lensa lebih cenderung mempertahankan ekspresi Hes1, Pax6, Six3, Mab2111, FoxE3, PITX3, dan MafB. Pertumbuhan vesikel lensa terjadi karena lapisan konsentrik sel serat lensa sekunder yang terus-menerus terbentuk mengelilingi lapisan serat lensa yang lebih tua (Graw, 2004; Graw, 2009; Ogino et al, 2012).

Selain itu, transisi dari ektoderm lensa prospektif (PLE/*prospective lens ectoderm*) menjadi *lens placode* juga melibatkan proses interaksi sel dan jaringan termasuk mesenkim periokular (POM) dan vesikel optik (VO) dibawahnya. *Lens Placode* dibentuk hanya pada regio tertentu yang berada diatas dari vesikel optik. Hal ini dapat terjadi karena adanya inhibisi aktif *lens fate* oleh POM yang mengelilingi VO melalui ekspresi ligand TGF $\beta$  yang akan menginduksi aktivitas Smad3 dan *Wnt/ $\beta$ -catenin* serta menginhibisi ekspresi dari Pax6 pada ektoderm non-lensa. (Grocott et al.,2012; Ogino et al,2012)

Pentingnya proses inhibisi untuk lokalisasi lensa pada tikus didukung pula dengan penelitian aktivitas  $\beta$ -*catenin* pada PLE dan aktivasi dari sinyal *Wnt/ $\beta$ -catenin* untuk menginhibisi pembentukan lensa; sedangkan kurangnya  $\beta$ -*catenin* akan menginduksi terjadinya pembentukan lensa ektopik di ektoderm periokular. Vesikel optik memegang dua peranan dalam pembentukan *lens placode*, yakni sebagai barrier fisik untuk mencegah sinyal inhibisi dari POM untuk mencapai

PLE (peran permisif) dan dapat menghantarkan sinyal ke PLE (peran instruktif) (Cvekl et al.,2014).



Gambar 6. Gambaran skematik perkembangan lensa vertebrata dimana menjelaskan hubungan interaksi proses induksi lensa dan sekuensial aktivasi dari faktor transkripsi. Gambar bagian atas mewakili perkembangan lensa retina dan jaringan sekitarnya. A-B. Gastrulasi dan pembentukan *neural plate*. C. penutupan *neural plate*. D-F Lensa morfogenesis. Jalur signaling utama diwakili dengan titik-titik abu-abu. Pada bagian bawah tampak profil ekspresi gen yang diteliti pada *Xenopus*, zebrafish, ayam, dan embrio tikus. Warna ungu: gen preplacodal; hijau: gen spesifikasi lensa; biru: gen diferensiasi lensa. (Ogino et al,2012)

Komponen penting lain dalam proses induksi lensa adalah BMP dan sinyal RA. BMP4 normalnya diekspresikan dalam jumlah besar pada vesikel optik dan lebih kurang pada ektoderm permukaan dan POM. Kurangnya kadar BMP4 akan menyebabkan blokade dari proses pembentukan lensa meskipun ekspresi

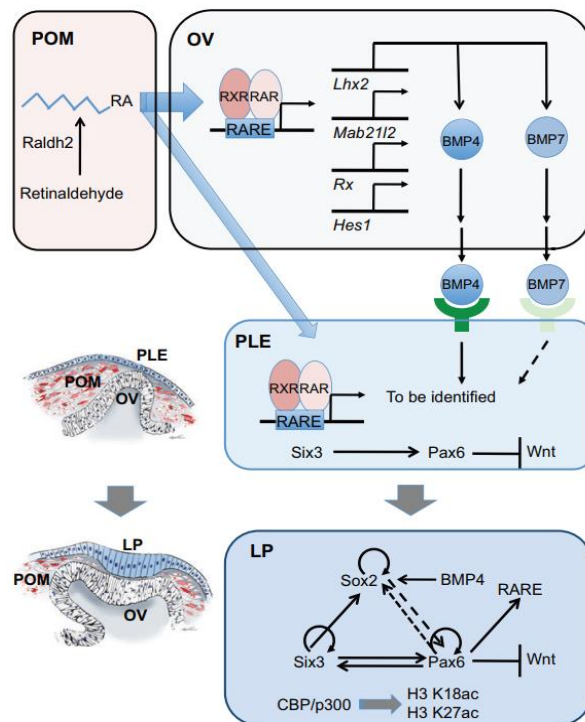
Pax6 dan Six3 pada PLE tidak berkurang. Ekspresi dari BMP4 dikontrol oleh *LIM domain* dan faktor *homeodomain Lhx2* yang hanya diekspresikan pada vesikel optik, dan tidak pada PLE (Cvekl and Ahery-Padan, 2014; Hejtmancik and Shiels., 2015).

Komponen lain dalam sistem induksi pembentukan lensa adalah sinyal *Retinoid Acid (RA signaling)*. RA dibentuk oleh berbagai enzim pada beberapa tempat yang berbeda pada masa perkembangan mata tikus. Pada awal morfogenesis, RA dibentuk oleh enzim *Raldh2/Aldh1a2* dalam mesenkim periokular temporalis yang berhubungan dengan vesikel optik. Akibatnya, sinyal RA ditemukan aktif pada vesikel optik pada E8.5 tetapi tidak pada ektoderm permukaan. Pada ektoderm permukaan, sinyal RA aktif pada E8.75 dan akan terus aktif selama pembentukan *lens placode* dan invaginasi. Pada embrio tikus dengan *Raldh2<sup>-/-</sup>, Raldh1<sup>-/-</sup>*, ektoderm lensa prospektif dan optik cup gagal mengalami invaginasi untuk membentuk vesikel lensa dan optic cup. Hal ini membuktikan diperlukannya sinyal RA parakrin untuk terjadinya invaginasi resiprokal dari *lens pit/optic cup* (Cvekl and Ahery-Padan, 2014; Hejtmancik and Shiels., 2015).

#### b. Invaginasi *Lens Placode* membentuk Vesikel Lensa

Invaginasi resiprokal antara *lens placode* dengan vesikel optik dibawahnya akan membentuk vesikel lensa dan *optic cup*. Transisi morfologikal ini melibatkan beberapa proses yakni proliferasi sel dalam *lens placode*, pepadatan sel (*crowding cell*), perubahan beberapa struktur sel dan re-organisasi sitoskeletal. Proses ini melibatkan beberapa komponen selular termasuk sitoskeletal, perubahan bentuk sel dari silindris ke bentuk kerucut dengan proses konstiksi apical, pembentukan filopodia yang berasal dari sel-sel lensa yang mengalami invaginasi dan bersentuhan dengan lamina basalis dari

neuroepitelium vesikel optik serta matriks ekstraselular (ECM) yang terletak di antara ektoderm lensa dan vesikel optic (Cvekl and Ahery-Padan, 2014; Hejtmancik and Shiels., 2015).



Gambar 7. Proses Ekspresi Gen pada Vesikel Optik (OV), epitelium lensa prospektif (PLE), dan *lens placode* (Cvekl and Shery-Padan, 2014)

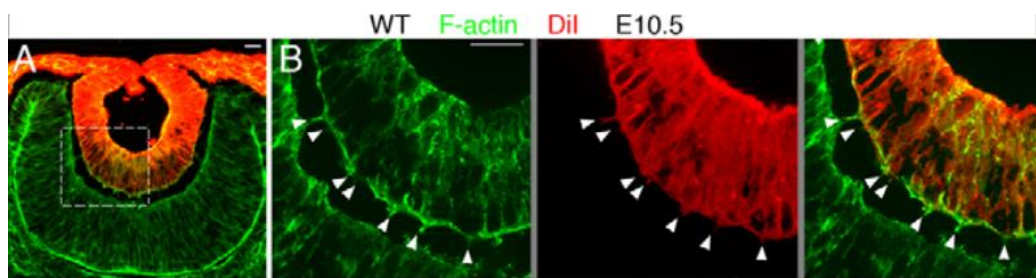
Pada proses proliferasi sel dalam *lens placode* menyebabkan ukuran sel-selnya membesar dan adanya adhesi (sel N- dan E-cadherin) menyebabkan rapatnya sel (*crowding cell*) yang akan diikuti oleh invaginasi *lens placode*. Proliferasi sel lensa progenitor diregulasi oleh neurofibromatosis 1 (Nf1) yang mengkode *small Ras GTPase-protein*. Pada embrio mutant dengan *Nf1<sup>-/-</sup>*, ukuran *lens placode* berkurang dan invaginasi lensa pit tidak dapat membentuk vesikel lensa (Cvekl and Ahery-Padan, 2014).

Tahapan selanjutnya pada proses invaginasi *lens placode* melibatkan sejumlah perubahan selular, termasuk perubahan matriks ekstraselular (*extracellular matrix/ECM*) dan sitoskeletal. Akumulasi ECM antara PLE dan vesikel optik akan mencegah sel-sel lensa prospektif menyebar dan proses ini

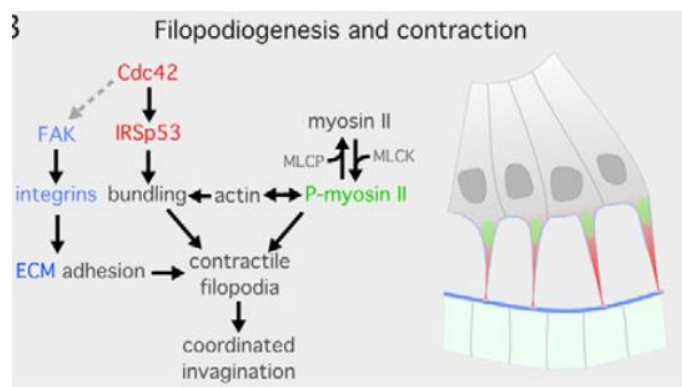


tergantung pada ekspresi ektodermal dari Pax6 yang secara langsung atau tidak langsung meregulasi ekspresi dari sejumlah protein ECM, termasuk fibronectin 1(Fn1), versican (Vcan/Cspg2) dan kolagen (Col13a1). Pada penelitian yang menemukan depleksi Fn1 pada ektoderm, terjadi blokade invaginasi *lens placode* (Huang et al 2010).

Penelitian terakhir yang menggunakan marker untuk proses pada interepitelial, termasuk F-actin, tubulin, dan keratin-18, mengidentifikasi struktur filopodia yang merupakan protrusi selular yang tersusun atas F-actin yang berasal dari lens pit dan bersentuhan dengan lamina basal neuroepitelium. Filopodia ini berperan sebagai rantai fisik yang mengatur proses invaginasi resiprokal dengan mengontrol kurvatur lens pit melalui aktivitas kontraktile aktin-miosin. Struktur ini terbentuk pada E9.5 dan hilang pada E11.5 ketika proses invaginasi selesai (Chauhan et al.,2009)



Gambar 8. Cryosection dari mata E10.5 embrio tikus. Posisi filopodia ditandai dengan panah putih (Chauhan et al.,2009)



Gambar 9. Pembentukan filopodia membutuhkan Cdc42 dan IRSp53 (merah). P-myosin II yang terfosforilasi(hijau) pada dasar filopodia merupakan komponen kompleks kontraktile aktin-miosin yang lebih besar dan meregulasi jarak interepitelial sesuai dengan Panjang filopodia. Dan dibutuhkan adanya adhesi integrin terkait FAK untuk menyokong filopodia ke ECM (biru). (Chauhan et al.,2009)

Proses invaginasi juga melibatkan elongasi dari sel-sel placodal kolumnar yang secara alami terjadi bersamaan dengan perubahan dari sel silindris menjadi sel konus akibat konstiksi apical. Jalur molekular yang mengontrol konstiksi apical dan kontribusinya dalam membentuk lens pit diteliti dalam suatu serial penelitian yang menganalisis mutasi kondisional dalam gen yang terlibat dalam remodelling actin serta perubahan pada bentuk dan lokalisasi dari kompleks protein sitoskeletal selama pembentukan lens pit. Penelitian ini menunjukkan adanya protein sitoskeletal Shroom3 dan famili *small Rho GTPase* yakni RhoA dan Rac1 yang meregulasi konstiksi apical dan elongasi dari sel placodal selama proses invaginasi. Aktivasi dari RhoA melalui pertukaran nukleotida guanine dan factor Trio akan mengaktifkan Shroom3. Penelitian terakhir menunjukkan adanya interaksi dari Shroom3 dan protein *adheren-junctional* p120-catenin yang memfasilitasi control bentuk sel dalam lens placode yang berinvaginasi (Lang et al.,2014). Meskipun perannya cukup penting, namun hilangnya komponen ini, tidak mencegah terjadinya inisiasi invaginasi *lens placode*.

Apoptosis juga berperan dalam proses ini dimana bertahannya sel placodal lensa yang berinvaginasi tergantung terhadap fungsi Six3 (Liu et al.,2006) dan protein regulator Mab2111 (Yamada et al.,2003).

Struktur transisional yakni lens pit yang akan terbentuk diikuti dengan vesikel lensa yang terbentuk setelah terpisah dari ektoderm permukaan. Dalam 48 jam dari perkembangan embrionik, selapis epitelium kolumnar akan berubah menjadi struktur 3 dimensi, yakni vesikel lensa. Pada tingkat molekular, invaginasi *lens placode* akan mengekspresikan Pax6, Six3 dan Sox2 terus menerus, sedangkan ekspresi dari c-MAF, FoxE3 dan Pitx3 dan Prox1 akan terinisiasi ketika *lens placode* telah membesar dan berubah bentuk (Hejtmancik and Shiels., 2015).



c. *Cell Cycle Exit*, Diferensiasi Sel primer Serat Lensa, dan Diferensiasi Epitelium Lensa

Vesikel lensa adalah bentuk 3 dimensi (3D) yang pertama dari struktur lensa. Posisinya harus tepat didalam bola mata sehingga sesuai dengan pembentukan aksis visual. Vesikel lensa berada di dalam optic cup dan di posterior dari bakal segmen anterior. Dalam posisi ini, beberapa bagian berbeda dari vesikel lensa akan berhubungan dengan kombinasi faktor pertumbuhan yang berbeda yang berada didalam kompartemen sel anterior dan posterior. (Cvekl et al, 2015)

Vesikel lensa merupakan struktur berpolar. Polarisasi ini terjadi karena rangsangan faktor pertumbuhan termasuk FGFs dan BMPs, yang dihasilkan oleh neuroepitelium dari optic cup serta prospektif dari iris dan badan siliaris, dan akan meregulasi pola dari diferensiasi selama perkembangan lensa. (Cvekl and Ashery-Padan, 2014). Sel-sel vesikel lensa anterior akan berdiferensiasi menjadi epitelium lensa yang tersusun atas sel kuboid yang memiliki regio dengan berbagai indeks proliferasi bervariasi: indeks sangat rendah, sedang, dan tinggi/meningkat (Kallifatidis et al.,2011). Sel-sel yang membentuk bagian posterior dari vesikel lensa akan keluar dari siklus sel dan mengalami diferensiasi akhir. Sel-sel epitelium yang berada diekuatorial lensa akan berdiferensiasi menjadi sel-sel baru membentuk serat lensa dan akan menambah ukuran lensa sepanjang kehidupan. (Cvekl et al., 2015; Cvekl and Ashery-Padan, 2014)

Oleh karena adanya *cell cycle exit* dan diferensiasi terminal dari serat lensa sehingga transparansi lensa dan refraksinya dapat dipertahankan. Pada tingkat selular, model saat ini dari *cell cycle exit* pada vesikel lensa menunjukkan bahwa sinyal ekstraselular (BMPs dan FGFs) menyebabkan aktivasi dari ekspresi dan modifikasi posttranslasi dari sekelompok faktor transkripsi yang

terkait DNA di bagian posterior dari vesikel lensa. Penelitian terbaru juga menunjukkan adanya peranan sinyal *Notch* dalam mengatur *cell cycle exit*. Fungsi keseluruhan dari faktor-faktor ini menyebabkan kontrol spasiotemporal dari ekspresi protein yang menghambat progresi dari siklus sel, yakni *cyclin kinase inhibitors*. Beberapa penelitian besar telah mengidentifikasi peran utama regulasi untuk protein regulator siklus sel yang resmi yakni pRb, E2Fs, p53, Cdk2, Cdk4, Cdkn1b/p27<sup>Kip1</sup> dan Cdkn1c/p57<sup>Kip2</sup>. Tampak perbedaan ekspresi E2Fs, *pocket protein* dan protein lainnya pada serat/korteks lensa dan epitelium lensa untuk memastikan kontrol ketat dari keseimbangan proliferasi dan diferensiasi lensa (Hejtmancik and Shiels., 2015).

Diferensiasi sel serat lensa dengan tujuan untuk meminimalisir penghamburan cahaya dan menjaga transparansi lensa, ditandai dengan beberapa proses: (1) akumulasi protein *crystallins* pada serat lensa, (2) elongasi selular disertai remodeling dari sitoskeletal termasuk pembentukan filamen intermediate spesifik untuk lensa, (3) serat lensa yang matur akan mendegradasikan organel untuk mempertahankan kejernihan lensa membentuk *organelle free zone* (OFZ), (4) serat lensa membentuk jalur transport dan komunikasi antarsel untuk mendapatkan dan mendistribusikan air, ion dan nutrisi antara sel epitelium lensa dengan bagian sel serat lensa yang kurang aktif secara metabolik, sedangkan serat lensa sentral (nucleus) akan mengalami diferensiasi terminal dimana terjadi pembentukan prosesus yang saling berikatan antara serat lensa hexagonal dan syncytium (Cvekl and Ashery-Padan, 2014).

Defek selular dan morfologikal berkaitan dengan gangguan regulasi dari pembentukan serat lensa primer termasuk proliferasi / terbatasnya diferensiasi pada sel-sel ini dan bukan pada diferensiasi terminal/akhir. Yang dapat disertai dengan apoptosis pada kompartemen sel serat lensa presumtif, terganggunya polaritas lensa (pergeseran anterior atau posterior dari ekuator lensa) dan

kurangnya sel epitelium karena diferensiasi prematur dari semua sel menjadi serat lensa abnormal (Hejtmancik and Shiels., 2015).

Keseimbangan sinyal BMPs dan FGFs penting supaya terjadi proses *cell cycle exit* yang sesuai. Aktivitas BMPs akan mencetuskan *cell cycle exit* yang tergantung FGF, sedangkan sinyal FGF saja tidak cukup untuk mencetuskan terjadinya *cell cycle exit*. Selain itu, gangguan pada sinyal Notch akan menyebabkan kelainan diferensiasi sel serat lensa primer ditandai dengan abnormalitas pada zona transisional lensa yang bergeser lebih ke anterior, namun hubungan jelas antara sinyal Notch dengan aktivitas BMP dan FGF masih perlu untuk diteliti lebih lanjut (Hejtmancik and Shiels., 2015).

Bagian anterior dari vesikel lensa berdiferensiasi menjadi epitelium lensa yang merupakan sel epitel selapis yang berada di atas lapisan serat lensa yang berelongsasi. Integritas epitelium lensa dimediasi oleh E- dan N-cadherins dan  $\beta$  (Cdh1, Cdh2, dan Ctnnb1). Kurangnya faktor transkripsi AP-2 $\alpha$  mengikuti pembentukan vesikel lensa akan membentuk lapisan multilayer epitelium lensa yang abnormal (Kerr et al.,2014).

Kapsul lensa merupakan struktur aselular yang dibentuk oleh protein ECM seperti kolagen tipe IV, laminin, nidogen, dan perlecan, yang merupakan lingkungan penting dimana memegang banyak peranan dalam penghantaran sinyal ekstraselular dan diferensiasi lensa. Penelitian telah mengungkapkan bahwa kapsul lensa mengandung FGF2 yang diproduksi oleh matriks metalloproteinase 2 untuk memfasilitasi viabilitas dari sel epitelium lensa (Wu et al.,2014).

#### d. Pertumbuhan Lensa dan Pembentukan sekunder Sel Serat Lensa

Pertumbuhan lensa merupakan konsekuensi karena adanya proliferasi dari epitelium. Pembelahan sel di epitelium mempengaruhi susunan dan posisi

lensa pada ekuator. Sel-sel yang melewati ekuator akan keluar dari siklus sel dan berdiferensiasi membentuk serat lensa sekunder. Oleh karenanya pertumbuhan lensa berkaitan dengan tiga proses: (1) diferensiasi akhir/terminal dari serat lensa primer untuk membentuk struktur awal lensa, (2) proliferasi dalam epitelium lensa akan menghasilkan sel yang nantinya membentuk serat lensa sekunder, (3) diferensiasi akhir dari sel serat lensa sekunder akan menambah lapisan baru ke lapisan sel lensa (Hejtmancik and Shiels., 2015).

Model umum untuk menggambarkan diferensiasi serat lensa sekunder berdasarkan kerja dari jalur FGF, BMP, dan Wnt. Jalur tambahan lain termasuk *insulin like growth factor receptor 1* (IGF1R)/Nfkb1, *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K), MAPK dan jalur kematian sel mitokondria, juga memegang peranan penting dalam pembentukan sel serat lensa sekunder. Selain FGF, dibutuhkan pula BMP untuk mengendalikan diferensiasi sekunder serat lensa. BMP4 dan BMP7 diekspresikan secara endogen oleh sel lensa. FGF2 eksternal akan menginduksi ekspresi endogen dari BMP2 dan BMP4 (Lang, 2004; Cvekl and Ashery -Padan, 2014)

Pengaturan ulang aktin sitokeletal dari serat stress membentuk serat kortikal serta remodeling dari sitoskeletal membrane spektrin, merupakan tanda khas awal dari stadium diferensiasi serat lensa. Remodeling dari sitoskeletal membutuhkan suatu *caspase* tergantung pada proteolisis dari  $\alpha$ - dan  $\beta$ -spektrin. Diperlukan penelitian lanjutan untuk memastikan hubungan mekanisme proteolitik dengan enzim lainnya (Cvekl and Ashery -Padan, 2014)

## **2.2 Gen yang berkaitan dengan Kataraktogenesis Kongenital**

Perkembangan embriogenik lensa merupakan tahap penting selama proses organogenesis mata dimana *optic cup* dan vesikel lensa akan terbentuk

melalui proses invaginasi yang resiprokal dari *lens placode* dan vesikel optik, serta perkembangan abnormal dari lensa akan berakibat berbagai kelainan struktur lensa dan kataraktogenesis (Cvekl and Ashery-Padan, 2014; Cvekl et al., 2015).

Katarak kongenital secara genetika sangat heterogen. Mutasi yang berbeda pada gen yang sama dapat menyebabkan pola katarak yang sama, di sisi lain, berbagai jenis morfologi katarak yang berbeda dalam beberapa keluarga ternyata memiliki mutasi pada satu gen tunggal yang dapat menyebabkan gambaran pola fenotip yang berbeda (Santana and Waiswol, 2011).

Hingga saat ini, mutasi genetik merupakan penyebab utama dari katarak kongenital dimana kemajuan teknologi sekuensing telah menambah pengetahuan tentang mutasi katarak kongenital. Data dalam Cat-Map dan iSyTE (*Integrated System Tool for Eye gene discovery*) merupakan alat yang efektif untuk mencari informasi genetika molekular dan mekanisme dari katarak herediter. Saat ini terdapat variasi sekuensing pada 115 gen yang telah diidentifikasi dalam katarak kongenital sindromik dan non sindromik (terisolasi). (Berry et al.,2020).

Terdapat 38 gen yang bertanggung jawab terhadap terjadinya katarak kongenital nonsindromik dan dibagi menjadi lima kelompok berdasarkan protein yang mengkodennya: (1) *crystallins*, (2) protein membrane, (3) protein sitoskeletal, (4) faktor transkripsi dan produk genetik yang memiliki peran khusus pada lensa (Berry et al.,2020).

Sekitar setengah dari mutasi terjadi pada gen *crystallins* dan seperempat kasus pada gen membran protein, seperti koneksin dan MIPs (*Major intrinsic Proteins*), selebihnya terjadi mutasi pada faktor transkripsi dan pertumbuhan serta komponen sitoskeletal, yakni HSF4 (*Heat Shock Transcription Factor-4*), Pitx3 (Wu et al., 2019), v-maf musculoaponeurotic *fibrosarcoma oncogene*

*homolog* (MAF) (Si et al.,2019), *chromatin modifying protein* (CHMP4B), *lens intrinsic membrane protein 2* (LIM2) dan *forkhead box protein E3* (FoxE3) (Vidya et al.,2018). Mutasi atau kerusakan gen tersebut akan berujung pada gangguan ekspresi gen terkait atau *downstream gene* nya.

Berdasarkan lokasi mutasi gen-nya yang berujung terbentuknya katarak, maka gen-gen tersebut dikelompokkan sebagai berikut.

### **Mutasi gen perkembangan lensa awal**

Secara umum defek katarak kongenital berhubungan dengan mutasi pada gen yang mengkode berbagai protein crystallin, protein sitoskeletal, atau protein *gap junction* (Shiels et al.,2010). Sebagai tambahan, mutasi pada beberapa molekul regulator termasuk gen yang mengkode faktor transkripsi berkaitan dengan defek pada lensa dan segmen anterior mata. (Semina 2001, Shiels and Hejmancik, 2017; Anand et al., 2018).

Faktor transkripsi yang berperan penting dalam perkembangan lensa adalah Pax6, FoxE3, HSF4, MAF, dan PITX3 di antara semua jenis faktor transkripsi lainnya. Perubahan dari perkembangan awal okular, khususnya morfogenesis dari jaringan segmen anterior yakni lensa dan kornea akan menyebabkan katarak kongenital, afakia, disgenesis mesenkiman segmen anterior, koloboma, mikroftalmia, dan mikrokornea. (Anand et al.,2018)

1. Gen Pax6 dan PITX3
  - a. Gen Pax6 (Paired Box6)

Gen *paired box* (Pax), Pax6 adalah salah satu pemegang kunci / regulator utama dalam proses perkembangan lensa vertebrata. Pada perkembangan lensa tikus ekspresi Pax6 pertama kali ditemukan pada hari E8.75 di ektoderm lensa prospektif. Onset dari ekspresi Pax6 pada ektoderm lensa prospektif membutuhkan *Hox* gene Six3 yang sudah diekspresikan

pada hari E8.5 di ektoderm permukaan. Six3 secara langsung mengaktivasi Pax6 pada PLE. Pada hari E9.0, Pax6 dan Six3 melakukan regulasi silang dimana Pax6 dapat mengaktivasi Six3 sehingga dihasilkan PDGFR $\alpha$  (*Platelet derived Growth Factor Receptor  $\alpha$* ) yang penting dalam mencetuskan terjadinya proliferasi sel. Autoregulasi dari Pax6 terjadi pada E9.5. Selain itu ditemukan ekspresi dari Sox2 yang bergantung pada Six3 dan Pax6 pada *lens placode* yang mengalami invaginasi (Liu et al.,2006; Liu et al., 2016; Cvekl and Ashery-Padan,2014)

Penelitian yang dilakukan Liu et al tahun 2006 dimana pada hewan coba tikus dengan mutasi delesi Six3 didapatkan penurunan ekspresi Pax6 dan tidak ditemukannya ekspresi Sox2. Pada penelitian ini disimpulkan bahwa Six3 merupakan faktor transkripsi yang dapat berperan sebagai repressor ataupun activator bergantung pada tipe sel dan protein pasangannya. Six3 terbukti mempengaruhi ekspresi dari Sox2 dan Pax6 serta adanya potensi kemungkinan regulasi langsung Pax6 terhadap Six3 dan Sox2 yang masih harus diteliti lebih lanjut. (Carmona et al, 2008; Liu et al.,2006).

Pax6 juga memegang peranan penting dalam regulasi protein crystallins lensa. Mutasi heterozigot pada Pax6 menyebabkan terjadinya aniridia yang berkaitan dengan kekeruhan lensa dan mutasi *missense* memberikan kelainan yang lebih ringan diantaranya hipoplasia foveal, peter's anomaly dan katarak nonsindromik (Berry et al.,2020).

#### b. Gen PITX3 (*Paired like homeodomain 3*)

PITX3 adalah kelompok famili REIG/PITX yang merupakan faktor transkripsi homeobox yang berperan dalam ikatan DNA dan aktivasi DNA yang terlibat dalam perkembangan lensa termasuk didalamnya MIP/AQP0 dan FoxE3. PITX3 terekspresi kuat pada awal perkembangan vesikel lensa dari

perkembangan tikus (E11) yang kemudian akan terekspresi pada seluruh lensa terutama di epitelium lensa anterior dan regio ekuator (Semina et al, 1998; Graw, 2004).

Mutasi pada PITX3 bisa dalam bentuk dominan ataupun resesif baik dengan keterlibatan dari segmen anterior atau pun tidak. Hingga saat ini ada sekitar 26 varian pada PITX3 yang telah teridentifikasi dan terutama menyebabkan katarak Polaris posterior dan disgenesis segmen anterior termasuk mikrokornea, mikroftalmia, opasitas kornea, adesi iris, nystagmus, dan glaucoma. (Li et al.,2019; Berry et al.,2020). Pada tikus mutan FoxE3 ekspresi PITX3 dan Prox1 tetap ditemukan menandakan kedua gen tersebut tidak bergantung terhadap FoxE3. (Ahmad et al,2013) Selain di lensa, ekspresinya juga ditemukan di substansia nigra pada otak sehingga tidak mengejutkan apabila ditemukan tikus afakia disertai dengan kehilangan neuron selektif dan gangguan sistem *dopamine mesencephalic* (Graw, 2004).

## 2. Gen Maf, Sox, Fox, dan Eya

Beberapa gen faktor transkripsi lain yang penting dalam perkembangan mata dan lensa diantaranya Maf, Sox1, Sox2, FoxE3, khususnya maf dan Sox1 berperan sebagai faktor transkripsi pada promotor gen yang mengkode  $\gamma$ -crystallin (Cryg).

### a. Gen MAF

MAF adalah bagian dari *basic leucine zipper* (bZIP), merupakan oncogene yang diekspresikan pada awal perkembangan lensa. Pada ayam dan xenopus disebutkan L-Maf terlibat dalam regulasi ekspresi *crystallin* lensa. L-Maf pertama kali terekspresi pada *lens placode* dan menetap ekspresinya di sel-sel lensa. Selain itu komponen penting lain adalah c-Maf dimana delesi pada tikus



akan menyebabkan terhentinya proses elongasi sel serat lensa pada tahapan pembentukan vesikel lensa. Mutasi pada MAF tidak hanya dapat menyebabkan katarak dan kelainan ocular, tetapi juga sindrom Ayme-Gripp. Mutasi missense menyebabkan insulinomatosi dan diabetes mellitus disertai katarak dan glaucoma (Berry et al.,2020).

b. *Forkhead Box Protein E3* (FoxE3)

FoxE3 adalah faktor transkripsi yang dibutuhkan dalam proses morfogenesis dan diferensiasi segmen anterior mata. Ekspresi FoxE3 pada perkembangan lensa di hewan vertebrata dievaluasi melalui penelitian dengan ikan (zebrafish, *Danio rerio*), katak (*Xenopus*) dan mamalia (tikus, manusia). Ekspresi FoxE3 pada perkembangan lensa tikus diinisiasi pada pembentukan awal *lens placode* dan pada stadium lanjut akan terbatas pada epitelium anterior lensa (AEL) saja (Anand et al.,2018). FoxE3 ditemukan juga terekspresikan pada epitelium lensa dewasa (Semina et al.,2001). FoxE3 juga terekspresikan pada *procencephalon/forebrain*, *midbrain*, dan arkus faringial pada perkembangan tikus (Carmona et al, 2008; Anand et al.,2018).

Anand et al mengungkapkan bahwa dibutuhkan FoxE3 untuk mencetuskan proliferasi sel pada AEL (pada mutan akan didapatkan ukuran lensa mengecil) serta mencegah diferensiasi prematur serat-serat lensa. Hilangnya FoxE3 akan menyebabkan hilangnya sel AEL progresif, kelainan diferensiasi serat lensa dan induksi apoptosis sehingga menyebabkan adanya ruangan abnormal pada bagian posterior lensa. FoxE3 juga secara negatif meregulasi inhibitor cyclin dependent kinase (CdkN1c, p57<sup>KIP2</sup>) serta faktor transkripsi Prox1 yang dibutuhkan untuk diferensiasi normal serat lensa (Anand et al.,2018).

Semina et al pertama kali melaporkan adanya mutasi varian pada gen ini yang menyebabkan disgenesis mesenkimal segmen anterior dan katarak kongenital. Lebih dari 20 variasi homozigot dan heterozigot yang telah dilaporkan dengan kelainan perkembangan mata berat termasuk katarak, adesi kornealentikular dan mikroftalmia (Semina et al, 2001; Blixt et al, 2000; Brownell et al, 2000; Anand et al.,2018).

Pada tikus dengan mutasi Pax6 menunjukkan tidak adanya ekspresi FoxE3 sehingga menunjukkan secara genetic FoxE3 berada dibawah (*downstream*) Pax6 (Brownell et al, 2000; Bremond-Gignac et al, 2010). Penelitian oleh Blixt et al (2000) menunjukkan mutase pada tikus dengan kelainan pada FoxE3 akan menyebabkan perubahan ekspresi beberapa gen yang diregulasi oleh FoxE3 diantaranya ekspresi alpha crystallin yang seharusnya tinggi pada ekuator akan menurun hamper sama dengan ekspresinya di epitel anterior lensa. Selain itu ekspresi E-chaderin yang harusnya rata pada epitel lensa, tidak terekspresi di posterior sehingga mengganggu ekspresi alpha crystallin sehingga batas-batas sel epitel terdiferensiasi dan yang tidak terdiferensiasi bergeser menjadi lebih anterior. Selain itu ekspresi Pdgfra menghilang dan hanya ditemukan di epitel paling anterior sehingga menurunkan sinyal faktor pertumbuhan dan menyebabkan apoptosis epitelium lensa (BLixt et al, 2000).

#### c. Faktor transkripsi Sox dan Eya

Faktor transkripsi *Sox-family* merupakan kelompok HMG (*high mobility group*). Sox1, Sox2 dan Sox3 termasuk subgrup B dan terekspresi di system saraf pusat dan placoda sensoris. Sox2 terekspresi pada *lens placode* pada awal perkembangan lensa pada saat ectoderm kontak dengan optic cup dan mengalami invaginasi membentuk vesikel lensa. Invaginasi ini bersamaan dengan mulainya Sox1 terekspresi pada *lens placode* tikus. Delesi Sox1 pada

tikus menyebabkan mikroftalmia dan katarak. Sel serat lensa pada tikus mutan akan mengalami kegagalan elongasi dan menyebabkan tidak terbentuknya Cryg. Sebaliknya, pada manusia dengan mutasi gen Sox2 akan menyebabkan anoftalmia tanpa adanya katarak (Graw, 2004, 2009).

### 3. Gen faktor transkripsi lainnya

Beberapa gen yang turun terekpresi pada awal perkembangan lensa adalah Shh (*Sonic hedgehog*), Rx, Lhx, Bmp4, Bmp7. Namun demikian mutase pada tikus dengan kelainan gen tersebut menunjukkan gambaran fenotip anoftalmus (hilangnya seluruh struktur ocular) atau mikroftalmia tanpa disertai katarak (Graw, 2004).

### **Mutasi yang mempengaruhi membran lensa (*Membrane-associated proteins /MAP*)**

MAP pada lensa secara primer termasuk connexin, *major intrinsic protein* (MIP)/Aquaporin0, *Ephrin type A receptor 2* (EPHA2), dan *endogenous membrane protein 20* (MP20)/LIM. Protein ini menjaga tekanan osmotik yang sesuai standar dan keseimbangan ionik didalam lensa serta memegang peranan penting dalam transmisi sinyal intraselular. (Li et al.,2019)

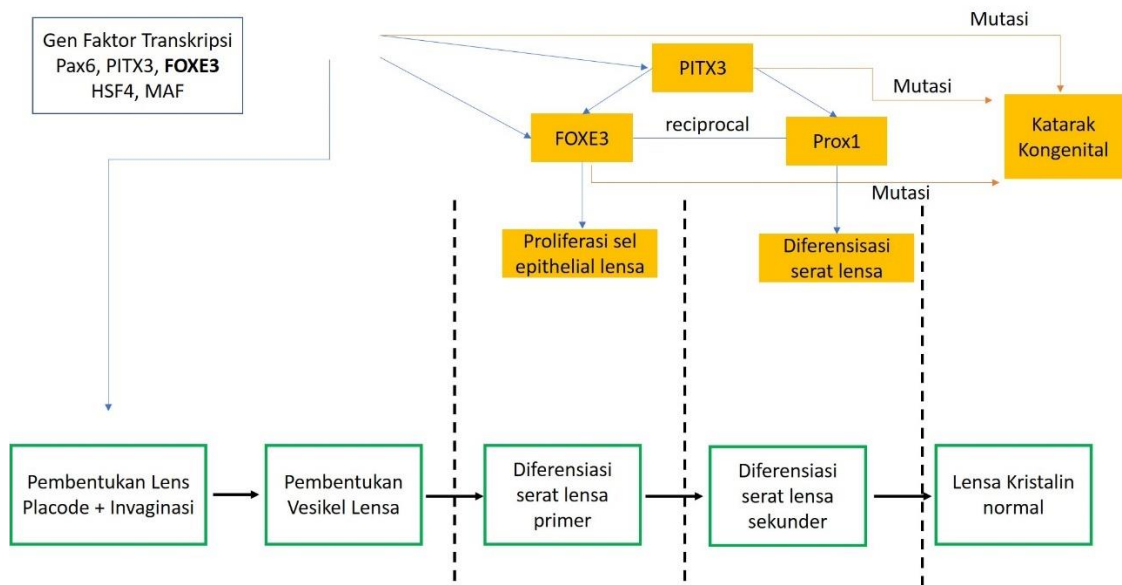
### **Mutasi yang mempengaruhi protein struktural lensa**

Protein *crystallins* lensa telah menjadi suatu contoh sistem yang menunjukkan proses induksi dan morfogenesis yang kompleks, termasuk didalamnya proses spesifikasi sel dan diferensiasi sel. *Crystallins* merupakan protein utama pembentuk lensa mata manusia yang mengandung sekitar 90% protein lensa terlarut (*soluble protein*). Protein ini sangat penting untuk komponen optik lensa dan fungsinya dalam menjaga transparansi serta fungsi refraktif dari lensa (Khan et al., 2018; Berry et al.,2020).

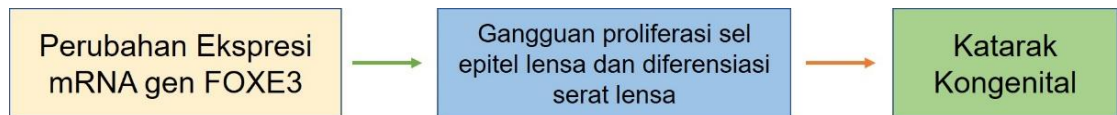
Berdasarkan karakteristiknya, terdapat dua familial dari protein *crystallins* yakni  $\alpha$ -*crystallins* dengan aktivitas menyerupai protein chaperon, dan  $\beta\gamma$ -*crystallins* yang memiliki struktur yang mirip. Mutasi pada gen *crystallin* dapat mempengaruhi stabilitas, solubilitas dan oligomerisasi dari protein ini, mengganggu penyusunan protein *crystallin* dan akan berujung pada opasifikasi lensa (Khan et al.,2018).

Selain itu, protein sitoskeletal dan sel molekul adhesi (*cell adhesion molecules/CAMs*) juga mendukung dalam morfogenesis sel serat lensa. Sistem sitoskeletal lensa termasuk mikrotubula, mikrofilamen, dan filamen intermediate, yang akan memberikan struktur spesifik pada sel serat lensa (Cheng et al., 2017; Li et al.,2019). Mikrotubula tersusun sepanjang aksis panjang dari serat lensa, terbukti membantu transpor vesicular dan elongasi sel. Filamen intermediate merupakan komponen paling elastis dari sitoskeleton lensa, berfungsi sebagai tumpuan dalam meregulasi motilitas dan migrasi sel serta menjadi menyokong dalam struktur serat lensa. Pada lensa diekpresikan dua *beaded filament*, yakni suatu tipe filamen intermediate, BFSP1 (filensin) dan BFSP2(phakinin). Kedua struktur ini mempertahankan morfologi serat sel lensa, struktur lensa, dan kandungan optik lensa. Terdapat pula hubungan filamen ini dengan crystallin dan vimentin. Filamen ini juga berperan dalam mengoptimalkan aktivitas molekul chaperon dan protein lain melalui kombinasinya dengan *beaded filament* sehingga berpotensi dalam menjaga transparansi lensa (Li et al.,2019).

### 2.3 Kerangka Teori



### 2.4 Kerangka Konsep



Keterangan:

Variabel bebas

Variabel antara

Variabel tergantung

→ Hubungan variabel bebas dan tergantung

→ Hubungan variabel antara dan tergantung

### 2.5 Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka diajukan hipotesis pada penelitian ini, yaitu adanya penurunan ekspresi mRNA *Forkhead Box Protein E3* (FoxE3) pada penderita katarak kongenital.

## 2.6 Alur Penelitian

