

TESIS

**HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI CASPASE - 3 TERHADAP DENSITAS
GANGLION DAN DENSITAS FOTORESEPTOR PADA LAPISAN
RETINA TIKUS USIA DIABETES 7-12 MINGGU**

***THE RELATIONSHIP BETWEEN CASPASE - 3 EXPRESSION WITH
GANGLION AND PHOTORECEPTOR CELL DENSITIES IN DIABETIC
RATS RETINAL LAYER AGED 7-12 WEEKS***

DISUSUN DAN DIAJUKAN OLEH:

FADILAH REZKI SAID

C 025 192 007



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS TERPADU
BAGIAN ILMU KESEHATAN MATA
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024



**HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI CASPASE - 3 TERHADAP DENSITAS
GANGLION DAN DENSITAS FOTORESEPTOR PADA LAPISAN
RETINA TIKUS USIA DIABETES 7-12 MINGGU**

TESIS

sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis-1 (Sp.1)

Program Studi
Ilmu Kesehatan Mata

Disusun dan diajukan oleh:

FADILAH REZKI SAID

C025 192 007

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP.1)
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN MATA
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2024



LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI CASPASE-3 TERHADAP
DENSITAS GANGLION DAN DENSITAS FOTORESEPTOR
PADA LAPISAN RETINA TIKUS DIABETES
USIA 7-12 MINGGU**

Disusun dan diajukan oleh

Fadilah Rezki Said

Nomor Pokok : C025 192 007

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

pada tanggal 22 Januari 2024

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama,

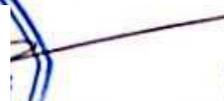
Pembimbing Pendamping,


Dr. dr. Habibah S. Muhiddin, Sp.M(K)
NIP. 19611215 198803 2 001


Prof. dr. Andi Muhammad Ichsan, Ph.D, Sp.M(K)
NIP. 19700212 200801 1 013

Ketua Program Studi,




Muhiddin, Sp.M(K)
803 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran,


Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD, KGH, FINASIM., Sp.GK
NIP. 19680530 199603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis yang berjudul “Hubungan Antara Ekspresi Caspase - 3 Terhadap Densitas Ganglion dan Densitas Fotoreseptor Pada Lapisan Retina Tikus Usia Diabetes 7-12 Minggu” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Dr. dr. Habibah S. Muhiddin, Sp. M(K), sebagai Pembimbing Utama dan Prof. dr. Andi Muhammad Ichsan, Ph.D, Sp M(K), dan dr. Nirwana Fitriani Walenna, Ph.D, 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, 19 Januari 2024



FADILAH REZKI SAID

C025 192 007



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala limpahan berkat-Nya selama ini sehingga karya akhir ini dapat disusun dan diselesaikan dengan baik. Karya akhir ini berjudul **“Hubungan Antara Ekspresi Caspase - 3 Terhadap Densitas Ganglion dan Densitas Fotoreseptor Pada Lapisan Retina Tikus Usia Diabetes 7-12 Minggu”** diajukan dan disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Pertama-tama penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tak terhingga kepada Ibu penulis Ummul Qura dan Bapak penulis M. Said Saile atas segala doa, nasehat, semangat, dan dukungan yang telah diberikan hingga penelitian ini dapat diselesaikan.

Keberhasilan penyusunan karya ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, nasehat dan dorongan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis menyampaikan ungkapan terima kasih kepada Dr. dr. Noor Syamsu, Sp.M(K), MARS, M.Kes, selaku pembimbing akademik selama berjalannya program studi pendidikan dokter spesialis ini dan penghargaan kepada Dr. dr. Habibah S. Muhiddin, Sp.M(K), selaku pembimbing utama penelitian ini yang senantiasa memberikan arahan serta meluangkan waktu untuk membimbing penyelesaian penelitian ini sekaligus sebagai ketua program studi. Ucapan terima kasih juga penulis ungkapkan kepada Prof. dr. Andi Muhammad Ichsan, Ph.D, Sp.M(K), dan dr. Nirwana Fitriani Walenna, Ph.D, selaku pembimbing pendamping yang senantiasa meluangkan waktu di tengah kesibukan untuk memberikan bimbingan dalam penyelesaian penelitian ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas anuddin, dan Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas



Kedokteran Universitas Hasanuddin atas kesediaannya menerima penulis sebagai peserta didik di Program Pendidikan Dokter Spesialis Universitas Hasanuddin.

2. dr. Muhammad Abrar Ismail, Sp.M(K), M.Kes selaku Ketua Departemen Program Studi Ilmu Kesehatan Mata, penguji, dan dosen Bagian Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, atas segala bimbingan, dukungan yang besar kepada penulis, masukan, motivasi, pada penyelesaian karya akhir ini.
3. dr. Hasnah Eka, Sp.M(K), selaku Sekertaris Program Studi Ilmu Kesehatan Mata dan dosen Bagian Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas bimbingan dan masukan yang diberikan kepada penulis sejak awal hingga penyelesaian karya ini dengan baik.
4. Dr. dr. Himawan Sanusi, Sp.PD, K-EMD selaku penguji, dan dosen Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas bimbingan, masukan, motivasi, dan kesediaan untuk meluangkan waktu menjadi penguji pada karya akhir ini.
5. Prof. dr. Upik Anderiani Miskad, Ph.D, Sp.M(K), selaku penguji, dan dosen Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas bimbingan, masukan, motivasi, dan kesediaan untuk meluangkan waktu menjadi penguji pada karya akhir ini.
6. Seluruh staf pengajar Departemen Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin: Prof. Dr. dr. Rukiah Syawal, Sp M(K), dr. Rahasiah Taufik, Sp.M(K), dr. Hamzah, Sp.M(K), Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.MedEd, Dr. dr. Halimah Pagarra, Sp.M(K), dr. Junaedi Sirajuddin, Sp.M(K), Dr.dr. Noro Waspodo, Sp.M, dr. Suliati P. Amir, Sp.M, MedEd, Dr. dr. Purnamanita Syawal, Sp.M, M.Kes, Dr. dr. Batari Todja Umar, Sp.M (K), dr. Andi Tenrisanna Devi, Sp.M(K) M.Si, M.Kes, Dr. dr. Noor Syamsu, Sp.M(K), MARS, M.Kes, dr. Hasnah Eka, Sp.M(K), Dr. dr. Yunita, Sp.M(K), M.Kes, dr. Sitti Soraya Taufik, Sp.M, M.Kes, dr. Adelina T. Poli, Sp.M, M.Kes, dr. Ririn Nislawati, Sp.M, M.Kes., Dr. dr. Marlyanti N. Akib, Sp.M(K), M.Kes, MHPE, dr. Ratih Natasha, Sp.M, M.Kes, Dr. dr. Ahmad Ashraf Amalius, MPH, Sp.M(K), dr. Nursyamsi, Sp.M, M.Kes., dr. Andi Pratiwi, Sp.M, M.Kes, dr. Andi Akhmad Faisal, Sp.M, M.Kes, dr. Rani Yunita Patong, Sp.M, dr. Andi Suryanita Tadjuddin, Sp.M, dr. Idayani Panggalo, Sp.M, dr. Muh. Irfan Kamaruddin, Sp.M, MARS, MHPE, dr. Dyah Ayu Windy, Sp.M, dr. Sultan anuddin, Sp.M, dan dr. Syukriyah Sofyan, Sp. M., dengan hormat saya ucapkan



terima kasih yang sebesar-beasnya atas segala bentuk bimbingan, nasehat, dan ilmu yang telah diberikan selama proses pendidikan.

7. Teman seangkatan saya: dr. Aswira Aslam, dr. Ghulam Ahmad Mubaraq, dr. Sarah Eisy Putri, dr. Annisa Ikhsaniah Ariffin, dr. Sartika Stiefany Putri dan dr. Ahdini Zulfiana Abidin, yang telah menyertai perjalanan pendidikan dan saling melengkapi sejak awal pendidikan hingga saat ini.
8. Semua teman sejawat peserta PPDS Bagian Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, yang selalu memberikan dukungan selama ini.
9. Seluruh staf administrasi Departemen Ilmu Kesehatan Mata yang selama ini begitu banyak membantu selama proses pendidikan berjalan serta dalam penyelesaian penelitian dan karya akhir ini, terkhusus kepada Ibu Endang Sri Wahyuningsih, SE dan Nurul Puspita dan Erni yang selalu membantu.
10. Seluruh staf di RSPTN Universitas Hasanuddin, RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan rumah sakit/klinik afiliasi yang telah memberikan kesempatan untuk belajar dan bekerja sama untuk pelayanan pasien.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya juga penulis sampaikan kepada semua pihak yang tidak tercantum dalam prakata ini tetapi telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan karya akhir ini. InsyaAllah hasil penelitian ini akan memberikan manfaat yang banyak kepada institusi dan dapat meningkatkan ilmu pengetahuan khususnya di bagian IK. MATA.

Makassar, 19 Januari 2024

Fadilah Rezki Said



HUBUNGAN ANTARA EKSPRESI CASPASE - 3 TERHADAP DENSITAS GANGLION DAN DENSITAS FOTORESEPTOR PADA LAPISAN RETINA TIKUS USIA DIABETES 7-12 MINGGU

Fadilah Rezki Said, Habibah S. Muhiddin, Andi Muhammad Ichsan, Nirwana
Fitriani Walenna

ABSTRAK

Pendahuluan: Kondisi hiperglikemia pada diabetik retinopati dapat meningkatkan apoptosis sel retina. Caspase-3 dikenal sebagai caspase algojo dalam apoptosis karena perannya dalam mengkoordinasikan penghancuran struktur seluler seperti fragmentasi DNA atau degradasi protein sitoskeletal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan ekspresi caspase-3 terhadap densitas ganglion dan fotoreseptor pada lapisan retina tikus diabetes.

Metode: Penelitian ini merupakan uji eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design* yang dilakukan di *Animal Lab* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin dan Laboratorium Patologi Anatomi RSPTN Universitas Hasanuddin Makassar pada bulan Juni-November 2023. Penelitian ini dilakukan pada 35 subjek tikus wistar (*Rattus Norvegicus*) yang dibagi ke dalam 7 kelompok secara acak dengan jumlah minimal per kelompok mengikuti rumus Federer.

Hasil: Pada penelitian ini tidak ditemukan perbedaan signifikan pada densitas lapisan ganglion ($p=0.23$) dan lapisan fotoreseptor ($p=0.08$) antara kelompok yang mengalami diabetes dan kelompok kontrol. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan ekspresi caspase-3 pada lapisan ganglion retina ($p=0.235$) antara kelompok yang mengalami diabetes dan kelompok kontrol. Terdapat perbedaan signifikan pada ekspresi caspase-3 pada lapisan fotoreseptor retina ($p=0.045$). Tidak ada korelasi antara ekspresi Caspase 3 pada lapisan ganglion ($p=0.744$) dan lapisan fotoreseptor ($p=0.094$). Ada hubungan positif antara durasi diabetes mellitus dan ekspresi caspase-3 hanya pada lapisan fotoreseptor sementara pada lapisan ganglion tidak signifikan.

Kesimpulan: Tidak ada hubungan yang signifikan antara tingkat ekspresi caspase 3 terhadap densitas ganglion maupun densitas fotoreseptor pada tikus diabetik.

Kata Kunci: Retinopati Diabetik, Caspase-3, Apoptosis, Sel Ganglion, Fotoreseptor.



THE RELATIONSHIP BETWEEN CASPASE - 3 EXPRESSION WITH GANGLION AND PHOTORECEPTOR CELL DENSITIES IN DIABETIC RATS RETINAL LAYER AGED 7-12 WEEKS

Fadilah Rezki Said, Habibah S. Muhiddin, Andi Muhammad Ichsan, Nirwana
Fitriani Walenna

ABSTRACT

Introduction: Hyperglycemia conditions in diabetic retinopathy can increase retinal cell apoptosis. Caspase-3 is known as the executioner caspase in apoptosis because it plays a role in coordinating the decay of cellular structures such as DNA fragmentation or cytoskeletal protein degradation. This study aims to determine the relationship between caspase-3 expression and ganglion and photoreceptor density in the retinal layers of diabetic rats.

Method: This research was an experimental study with a post-test-only control group design carried out at the Animal Lab, Faculty of Veterinary Medicine, Hasanuddin University, and the Anatomic Pathology Laboratory, RSPTN, Hasanuddin University, Makassar in June-November 2023. The research involved the use of 35 Wistar rats (*Rattus Norvegicus*). They were divided into seven groups randomly, with each group containing at least the minimum number determined by the Federer formula.

Results: In this study, no significant differences were found in the density of the ganglion layer ($p=0.23$) and photoreceptor layer ($p=0.08$) between the group with diabetes and the control group. There was no significant difference in caspase-3 expression in the retinal ganglion layer ($p=0.235$) between the group suffering from diabetes and the control group. There was a significant difference in caspase-3 expression in the photoreceptor layer of the retina ($p=0.045$). There was no correlation between Caspase-3 expression in the ganglion layer ($p=0.744$) and the photoreceptor layer ($p=0.094$). There was a positive relationship between the duration of diabetes mellitus and caspase-3 expression only in the photoreceptor layer.

Conclusion: There is no significant relationship between the level of caspase-3 expression and ganglion density or photoreceptor density in diabetic rats.

Keywords: Diabetic Retinopathy, Caspase-3, Apoptosis, Ganglion Cells, Photoreceptors.



DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA | iii |
| PRAKATA..... | iv |
| ABSTRAK | vii |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 2 |
| 1.3. Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.4. Manfaat Penelitian..... | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| 2.1. Diabetik Retinopati | 4 |
| 2.2. Stress Oksidatif pada Retinopati Diabetik | 5 |
| 2.3. Proses Apoptosis | 6 |
| 2.4. Caspase-3 sebagai Faktor Apoptosis..... | 8 |
| 2.5 Kerangka Teori..... | 11 |
| 2.6 Kerangka Konsep | 12 |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN | 13 |
| 3.1. Desain Penelitian..... | 13 |
| 3.2. Waktu dan Tempat Penelitian | 13 |
| 3.3. Populasi dan Sampel Penelitian | 13 |
| 3.4. Kriteria Sampel | 13 |
| 5. Definisi Operasional..... | 14 |



| | | |
|-------------------------------------|---|-----------|
| 3.6. | Sarana Penelitian..... | 16 |
| 3.7. | Prosedur Penelitian..... | 16 |
| 3.8. | Izin Penelitian dan Kelayakan Etik..... | 18 |
| 3.9. | Analisis Data..... | 18 |
| 3.10. | Alur Penelitian..... | 19 |
| BAB IV HASIL PENELITIAN..... | | 20 |
| BAB V PEMBAHASAN..... | | 27 |
| BAB VI PENUTUP..... | | 35 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | | 37 |
| LAMPIRAN..... | | 41 |



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan penyakit kronik yang serius dengan dampak besar pada kehidupan dan kesejahteraan individu, keluarga, dan masyarakat di seluruh dunia. Diabetes adalah salah satu dari 10 penyebab kematian teratas pada orang dewasa, dan diperkirakan telah menyebabkan empat juta kematian secara global pada tahun 2017.¹ Tingkat penambahan kasus yang tinggi, ditambah dengan pertumbuhan penduduk dan penuaan, telah menyebabkan sekitar 578 juta penduduk dunia mengalami diabetes pada tahun 2019 dan diproyeksikan meningkat menjadi 629 juta pada tahun 2045. Kadar glukosa darah tinggi kronis dapat menyebabkan komplikasi mikrovaskular yang menyebabkan kerusakan pada kapiler retina dan merupakan komplikasi mikrovaskular yang paling umum dari diabetes melitus (DM). Yang termasuk komplikasi mikrovaskular pada DM meliputi diabetik retinopati dan edema makula diabetik (*Diabetic Macular Edema : DME*).²

Retinopati diabetik menjadi penyebab utama kehilangan penglihatan dan kebutaan pada populasi usia kerja (20-74 tahun). Pada tahun 2010, diperkirakan 285 juta mengalami diabetes di seluruh dunia dengan lebih dari sepertiga penderita diabetes memiliki tanda dan gejala diabetik retinopati. Pada tahun 2015, diperkirakan sekitar 2,6 juta orang mengalami gangguan penglihatan akibat diabetik retinopati dan meningkat menjadi sekitar 3,2 juta pada tahun 2020.²

Stres oksidatif dan inflamasi dianggap memainkan peran kunci dalam patogenesis retinopati diabetik. Paparan hiperglikemia kronis, yang mengakibatkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) membuat retina lebih rentan terhadap stres oksidatif. Gangguan homeostasis redoks berkontribusi pada kematian neuron di retina, diikuti oleh kerusakan sawar retina dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah.⁸ Proses tersebut diikuti oleh proses apoptosis sel kapiler retina yang dimulai pada awal



diabetes dan kemungkinan berkontribusi pada obliterasi kapiler yang merupakan faktor penting dari retinopati diabetik.

Sel kapiler retina bukan satu-satunya sel retina yang mengalami kematian apoptosis pada diabetes. Frekuensi sel nonvaskular yang lebih besar dari normal, tampaknya sel Muller (glial) dan sel ganglion, juga telah dilaporkan menjadi terminal deoxynucleotidyl transferase- mediated dUTP nick end labeling (TUNEL)-positif pada retina manusia dan hewan dengan diabetes. Tingkat apoptosis sel vaskular dan nonvaskular retina pada diabetes secara statistik lebih besar dari normal dan konsisten dengan perkembangan diabetik retinopati.⁴

Selama apoptosis, prekursor caspase (zymogens) diaktifkan oleh pembelahan internal pada residu aspartat yang dilestarikan untuk membentuk heterodimer atau tetramer dari subunit p20 dan p10 aktif. Caspase yang diaktifkan dapat memproses caspase sendiri dan caspase lainnya, sehingga terjadi mekanisme kaskade transduksi sinyal.³

Caspase adalah enzim proteolitik yang terlibat erat dalam fase induksi dan eksekusi apoptosis dan perannya dalam perkembangan diabetik retinopati. Beberapa caspase (termasuk caspases-1, -2, -6, -8, dan -9) biasanya sudah aktif pada awal 2 bulan pertama diabetes. Pola aktivitas caspase juga berubah dengan meningkatnya durasi penyakit, menunjukkan kaskade caspase yang berkembang perlahan. Aktivitas caspase, seperti cas-6 dan -3 menjadi meningkat setelah durasi diabetes yang lebih lama, dan induksi aktivitas cas-3 dikaitkan dengan durasi diabetes dimana sel-sel kapiler mulai menunjukkan proses apoptosis. Retina pada penderita diabetes tipe 2 juga menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam aktivitas cas-1, -3, -4, dan -6.³ Sehingga pada penelitian ini kami meneliti hubungan antara ekspresi caspase 3 pada retina tikus diabetik.

1.2. Rumusan Masalah



Berdasarkan uraian yang dipaparkan pada latar belakang masalah, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Apakah ada perbedaan densitas ganglion dan fotoreseptor retina pada tikus diabetes usia 7-12 minggu?
2. Apakah terjadi peningkatan ekspresi dari caspase 3 pada retina tikus diabetes usia 7-12 minggu?
3. Apakah terdapat korelasi antara ekspresi dari caspase 3 terhadap densitas sel ganglion dan fotoreseptor pada tikus diabetes usia 7-12 minggu?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui hubungan ekspresi Caspase-3 terhadap densitas ganglion dan densitas fotoreseptor pada lapisan retina tikus diabetes.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Mengukur densitas ganglion dan densitas fotoreseptor pada retina tikus diabetes usia 7-12 minggu dan kontrol.
- b. Mengukur ekspresi Caspase-3 pada ganglion dan fotoreseptor pada retina tikus diabetes usia 7-12 minggu dan kontrol.
- c. Menganalisis korelasi lama DM dan ekspresi Caspase-3.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Diharapkan penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi ilmiah mengenai ekspresi caspase-3 terhadap densitas fotoreseptor pada lapisan retina tikus diabetes.
- . Diharapkan penelitian dapat menunjukkan hubungan dari ekspresi caspase-3 terhadap densitas sel ganglion dan fotoreseptor.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetik Retinopati

Prevalensi global DM diperkirakan akan meningkat secara dramatis dalam beberapa dekade mendatang, dari diperkirakan 382 juta pada tahun 2013 menjadi 592 juta pada tahun 2035. DM tipe 2 khususnya telah mencapai tingkat epidemi, sedangkan DM tipe 1 juga meningkat insidennya. Pasien dengan diabetes menderita banyak komplikasi yang membatasi kehidupan dan mengancam jiwa, termasuk stroke terkait makrovaskular, penyakit jantung iskemik, dan penyakit arteri perifer dan/atau retinopati terkait mikrovaskular, neuropati, dan nefropati. Retinopati diabetik (RD) adalah komplikasi mikrovaskular yang paling umum dari diabetes. Meskipun beberapa laporan menunjukkan bahwa kejadian gangguan penglihatan dari RD telah menurun dalam beberapa tahun terakhir di Amerika Serikat sebagian besar karena perbaikan dalam kontrol sistemik dan merupakan masalah yang berkembang secara global. RD saat ini mempengaruhi hampir 100 juta orang di seluruh dunia dan akan menjadi beban kesehatan yang terus meningkat, dengan perkiraan antara tahun 1990 dan 2010 menunjukkan bahwa gangguan penglihatan dan kebutaan terkait RD meningkat masing-masing sebesar 64% dan 27%.^{1,5}

Hiperglikemia merupakan faktor penting dalam etiologi RD dan memulai peran penting dalam penebalan membran basal, perisit *drop out* dan non-perfusi kapiler retina. Baru-baru ini, fokus telah diarahkan ke dasar molekuler dari proses penyakit pada diabetik retinopati. RD merupakan penyebab utama kebutaan di negara maju, ditandai dengan hiperglikemia, penebalan membran basal, hilangnya perisit, mikroaneurisma, IRMA (*intraretinal microvascular abnormalities*) dan neovaskularisasi pre-retinal yang pada akhirnya dapat menyebabkan kebutaan melalui perdarahan dan traksi retina. Sejak pertama kali dijelaskan pada tahun 1971 ada banyak debatan tentang faktor pencetus RD dengan kurangnya kontrol glukosa



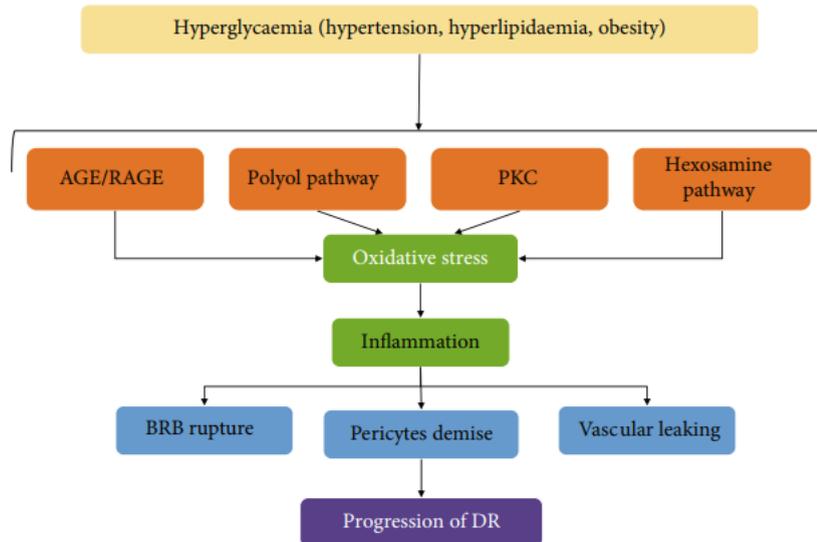
dan pengawasan.¹ Saat kadar gula darah tinggi maka akan menyebabkan kerusakan pembuluh darah di retina. Pembuluh darah ini bisa membengkak dan bocor atau bisa menutup, sehingga menghentikan darah agar tidak bisa mengalir dalam pembuluh darah retina. Pada saat itu pula, pembuluh darah baru yang abnormal juga dapat tumbuh pada retina. Semua perubahan ini dapat menyebabkan kejadian RD.⁶ Perubahan dasar disfungsi tersebut terutama terjadi pada endotel pembuluh darah, sel otot polos pembuluh darah maupun pada sel mesangial ginjal, semuanya menyebabkan perubahan pada pertumbuhan sel, yang kemudian pada gilirannya akan menyebabkan terjadinya komplikasi vaskular diabetes.⁷

2.2. Stress Oksidatif pada Retinopati Diabetik

Sekitar 90% pasien diabetes mengalami komplikasi retinopati diabetik dalam waktu 25 tahun setelah diagnosis. Pada sel retina dalam kondisi stres oksidatif, ROS yang berlebihan secara langsung bekerja pada protein dan DNA atau secara tidak langsung bertindak sebagai pembawa sinyal kedua yang mempengaruhi patogenesis retinopati diabetik (Gambar 2.1). Sebagai sumber utama ROS intraseluler, mitokondria berlimpah di fotoreseptor, yang merupakan kontributor O₂ utama dalam retinopati diabetik. Penelitian telah menunjukkan bahwa disfungsi mitokondria pada gilirannya memengaruhi produksi ROS dalam sel retina, aktivitas sel saraf optik, dan fungsi fotoreseptor. Akumulasi ROS menyebabkan kerusakan lebih lanjut. Selain itu, disfungsi mitokondria dapat mengurangi produksi energi mitokondria, yang menyebabkan degenerasi saraf optik. Selain itu, akumulasi produk sampingan yang disebabkan oleh kelainan metabolisme yang disebabkan oleh hiperglikemia, misalnya aktivasi protein kinase C, heksosamin, fluks poliol, dan *advanced glycation end products* (AGE), menginduksi stres oksidatif melalui pembentukan ROS / RNS, yang mengarah pada kematian neuron retina. Radikal bebas yang berasal dari oksigen, seperti spesies hidroperoksil, terbukti menyebabkan peroksidasi lipid, berkontribusi terhadap produksi ROS untuk memfasilitasi terjadinya penuaan pada sel epitel pigmen



retina, yang mengarah pada perkembangan retinopati diabetik. Oleh karena itu, stres oksidatif memainkan peran penting dalam perkembangan retinopati diabetik.⁸



Gambar 2.1. Peran stress oksidatif terhadap perkembangan retinopati diabetik
 PKC: *protein kinase C*; AGEs: *advanced glycation endproducts*; BRB: *blood-retinal barrier*; DR: *diabetic retinopathy*.⁸

2.3. Proses Apoptosis

Apoptosis secara umum diketahui merupakan suatu proses kematian sel yang terprogram. Meskipun studi-studi yang telah dilakukan masih belum memahami proses dari apoptosis tersebut secara menyeluruh, namun studi-studi tersebut sedikit demi sedikit menjawab pertanyaan terhadap berbagai penyakit yang masih memiliki prevalensi tinggi secara global degeneratif, kanker, dan termasuk DM.^{9,10}

Sekelompok protease intraseluler yang disebut caspase bertanggung jawab atas pembongkaran sel yang disengaja menjadi badan-badan apoptosis selama apoptosis. Caspase sebagai pro-enzim tidak aktif yang diaktifkan oleh pembelahan proteolitik terdiri dari caspase 8, 9 dan 3 terletak di persimpangan jalur apoptosis. Caspase-8 memulai pembongkaran sebagai respons adaptif ligan penginduksi apoptosis ekstraseluler dan diaktifkan dalam



kompleks yang terkait dengan domain kematian sitoplasma dari banyak reseptor permukaan sel untuk ligan. Caspase-9 mengaktifkan pembongkaran sebagai respons terhadap agen atau gangguan yang memicu pelepasan sitokrom-c dari mitokondria dan diaktifkan ketika kompleks dengan faktor pengaktif protease apoptosis 1 (APAF-1) dan sitokrom ekstrasitokondria-c. Caspase-3 tampaknya memperkuat sinyal inisiasi caspase-8 dan caspase-9 menjadi kompleks penuh untuk pembongkaran.¹¹ Caspase-8 dan caspase-9 mengaktifkan caspase-3 dengan pembelahan proteolitik dan caspase-3 kemudian memotong protein seluler vital atau caspase lainnya.⁴

Caspase merupakan keluarga protease sistein, diketahui terlibat secara kritis dalam dua aktivitas, aktivasi sitokin proinflamasi, inisiasi dan eksekusi apoptosis. Sampai saat ini, 14 anggota famili ini telah diidentifikasi dan dibagi menjadi tiga subfamili tergantung pada urutan homologinya: 1) famili caspases-1, atau mantan enzim pengubah interleukin-1; 2) keluarga cas-2, atau ICH-1; dan 3) keluarga cas-3, atau CPP32. Caspase seperti cas-2, cas-6, cas-7, cas-8, cas-9, cas-10, dan, khususnya, cas-3 paling sering diidentifikasi dengan apoptosis. Cas-1 dan anggota subfamilinya telah terlibat baik dalam apoptosis maupun dalam proses inflamasi. Caspase yang terlibat dalam apoptosis dapat dibagi lebih lanjut menjadi inisiator dan algojo. Urutan yang tepat dari algojo dan tempat caspases lain di jalur apoptosis masih kontroversial, tetapi cas-3, -6, dan -7 umumnya dianggap sebagai algojo. Selama apoptosis, prekursor caspase (zymogens) menjadi diaktifkan oleh pembelahan internal pada residu aspartat yang dilestarikan untuk membentuk heterodimer atau tetramer dari subunit p20 dan p10 aktif. Beberapa protein diketahui dipecah oleh caspase selama apoptosis: lamin A, lamin B, poli (ADP-ribosyl) polimerase, dan topoisomerase I.³

Proses kerja pada sel-sel dari tikus caspase 3 dan dari caspase 9 menunjukkan bahwa jalur caspase yang digunakan untuk pembongkaran adalah spesifik dengan tipe sel. Sel punca embrionik (ESC), fibroblas embrionik (EF), timosit, dan splenosit dari caspase 3 dan dari caspase 9 tikus menjadi sasaran sel yang dapat menginduksi apoptosis dalam sel dari tikus

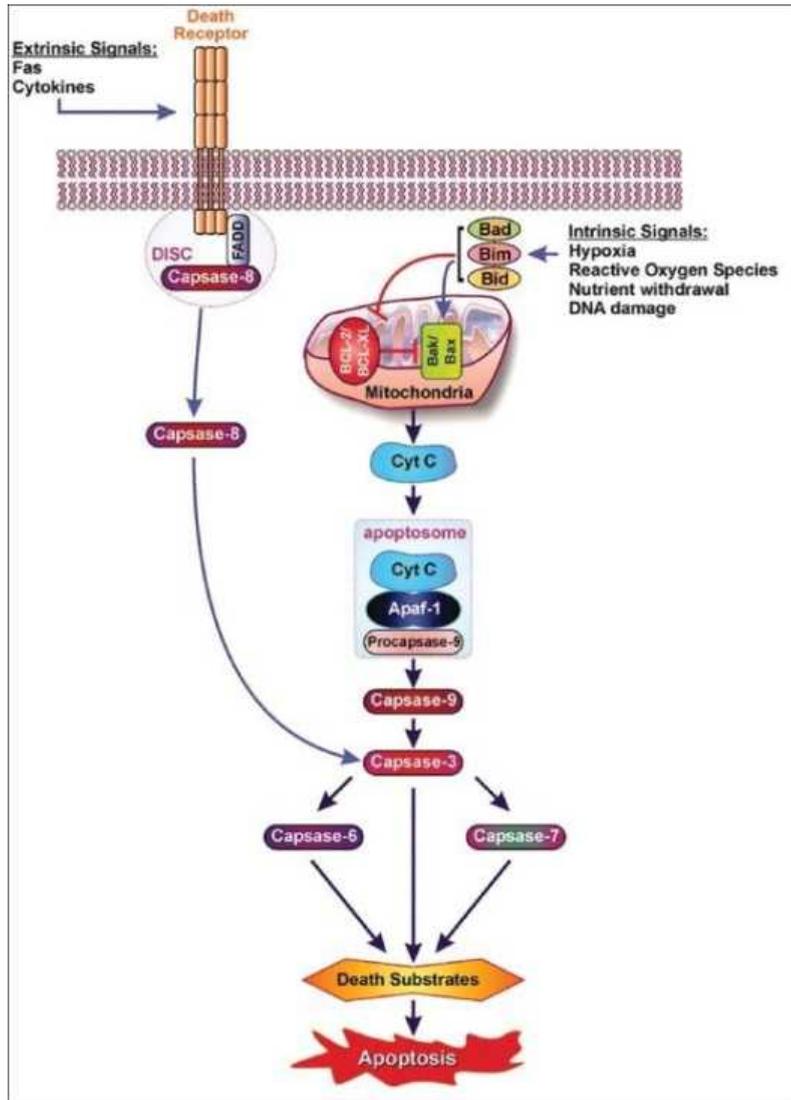


homozigot atau heterozigot untuk alel tipe liar. Sedangkan ESC, EF, dan timosit dari mencit caspase 9 resisten terhadap etoposida, splenosit sensitif. Caspase 9 ESC dan fibroblast embrionik resisten terhadap penyinaran UV. Sel-sel pada tikus dengan caspase 3 menunjukkan spesifisitas tipe sel yang memiliki sensitivitas terhadap radiasi UV dan gamma.¹²

2.4. Caspase-3 sebagai Faktor Apoptosis

Caspase-3 adalah titik konvergen dari jalur apoptosis dan penghambat peptida yang terbukti mencegah apoptosis dan meningkatkan fungsinya. Caspase adalah protease spesifik asam aspartat yang mengandung sistein yang ada sebagai zimogen dalam sitoplasma terlarut, retikulum endoplasma (ER), ruang intermembran mitokondria, dan matriks nuklir. Apoptosis yang diinduksi oleh ligasi reseptor permukaan sel seperti reseptor Fas (CD 95) atau *tumor necrosis factor* (TNF), “reseptor kematian” mewakili jalur yang dikendalikan oleh caspases. Pengikatan ligan pada reseptor menyebabkan perakitan serangkaian protein dari *death-inducing signaling complex* (DISC), yang kemudian mengaktifkan caspase apikal, procaspase-8. Peristiwa yang dihasilkan mengejar dalam kaskade bahwa caspase-8 menginduksi aktivasi caspase-3. Salah satu protein ini adalah *caspase-dependent endonuclease* (*caspase-activated Dnase* [CAD]), yang dibebaskan dari inhibitorynya (ICAD) oleh caspase-3 dan selanjutnya memotong DNA menjadi fragmen oligonukleosom (180-bp).¹³





Gambar 2.2. Jalur ekstrinsik dan intrinsik yang berkontribusi dalam apoptosis.¹³

Enzim caspase-3 adalah anggota keluarga endoprotease yang mengatur peradangan dan jaringan pensinyalan apoptosis. Caspase-3 dikenal sebagai caspase algojo dalam apoptosis karena perannya dalam mengkoordinasikan penghancuran struktur seluler seperti fragmentasi DNA atau degradasi protein sitoskeletal. Aktivitas caspase-3 diatur secara ketat dan diproduksi sebagai zimogen dalam bentuk pro yang tidak aktif. Antibodi caspase-3 fungsi sebagai biomarker yang sangat baik untuk memantau induksi

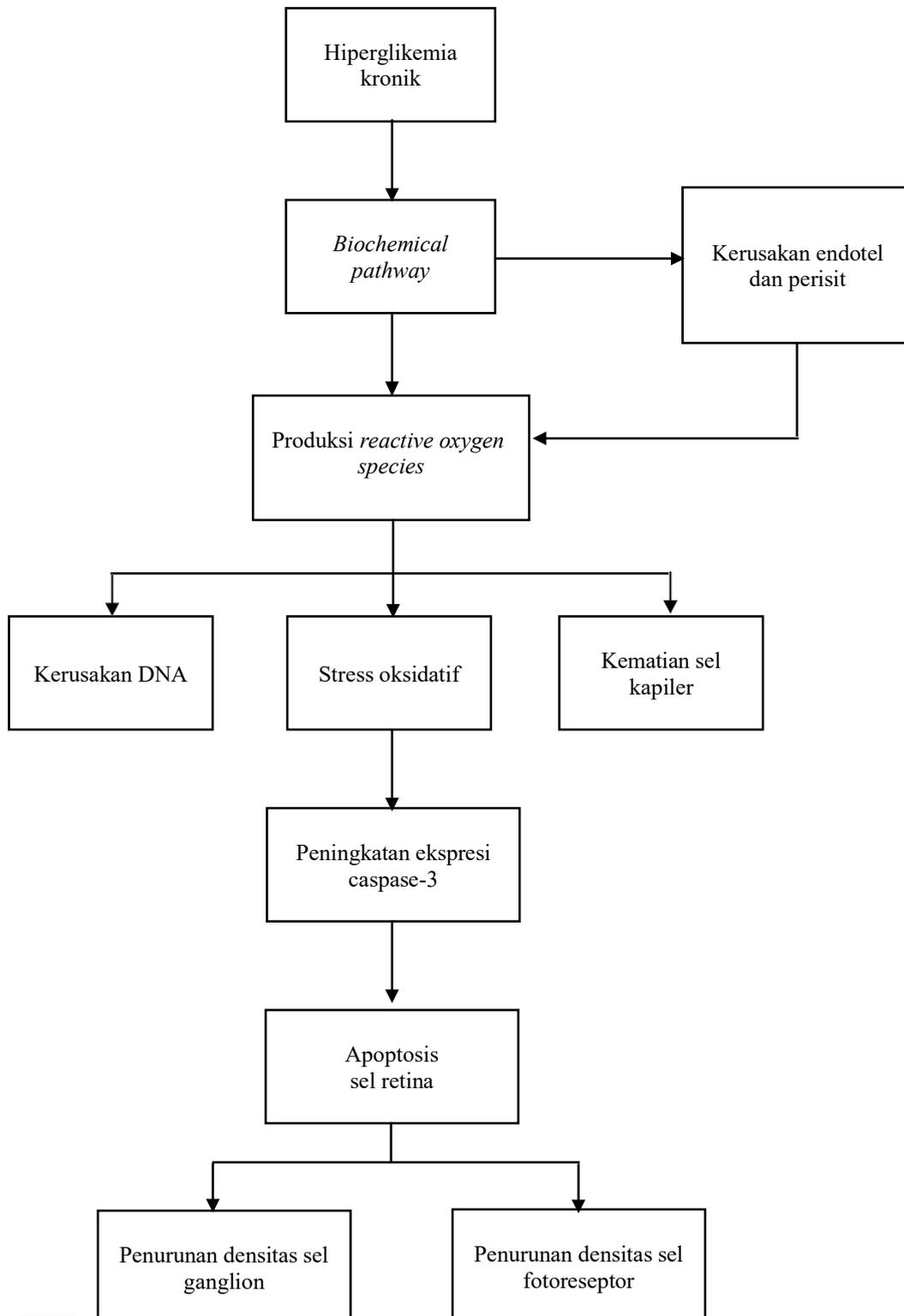


apoptosis dengan mendeteksi kadar pro caspase-3 dan bentuk aktifnya. Pembelahan dan aktivasi pro caspase-3 dikatalisis oleh caspase-8, caspase-9, dan granzyme B untuk menghasilkan heterodimer aktif dari subunit caspase-3. Lin dkk. menggunakan antibodi caspase-3 untuk memantau induksi apoptosis dan pembelahan caspase-3 dan aktivasi melalui *western blotting*.¹⁴ Pada proses RD dengan peningkatan glukosa dapat meningkatkan apoptosis sel retina, yang menunjukkan bahwa neurodegenerasi terjadi pada retina diabetes. Namun, dalam model *in vitro* ini, apoptosis tidak tergantung pada aktivasi caspase-3.¹⁵

Apoptosis pada retina menilai efek antioksidan pada aktivasi. Aktivasi caspase-3 ditentukan di retina tikus diabetes aloksan (durasi 2-14 bulan) dan di sel kapiler retina yang diisolasi (sel endotel dan perisit) dengan mengukur pembelahan substrat fluoresen spesifik caspase-3, dan pembelahan caspase-3 holoenzim dan poli (ADP ribosyl) polimerase. Pengaruh antioksidan pada aktivasi caspase-3 ditentukan dengan memberi makan kelompok diet tikus diabetes yang dilengkapi dengan campuran antioksidan yang komprehensif. Caspase-3 diaktifkan di retina tikus pada 14 bulan diabetes ($P < 0,05$ vs normal), tetapi tidak pada 2 bulan diabetes, dan pemberian antioksidan untuk seluruh durasi menghambat aktivasi ini. Dalam selkapiler retina terisolasi yang diinkubasi dalam media glukosa 25 mM, aktivitas caspase-3 meningkat 50% dibandingkan dengan sel-sel yang diinkubasi dalam glukosa 5 mM ($P < 0,02$), dan antioksidan atau inhibitor caspase-3 menghambat peningkatan tersebut. Peningkatan stres oksidatif pada diabetes terlibat dalam aktivasi caspase-3 retina dan apoptosis sel endotel dan perisit. Antioksidan mungkin menghambat perkembangan diabetik retinopati dengan menghambat apoptosis mikrovaskular.¹⁶



2.5 Kerangka Teori



2.6 Kerangka Konsep

