

Original Article

Retinal Neurodegeneration on the Early Type 2 Diabetes Mellitus

Teguh Susilo, Freddy Rares, Hery Poluan

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Samratulangi University
dr. R. D. Kandou Hospital, Manado, North Sulawesi

ABSTRACT

Background: retinal neurodegeneration has been known to happen before any vascular lesion detected in the histological study in diabetic induced rats. This research was aimed to analyse neurodegeneration of the retina anatomically in vivo on the diabetic patient before any lesion could be seen clinically as the manifestation of microvascular disease.

Method: comparative observational research was conducted on two groups, i.e. normal and NDR (no diabetic retinopathy) which fulfil the inclusion and exclusion criteria. The macular thickness of each group measured with Stratus OCT machine. The collected data was analysed statistically.

Result: samples of 42 eyes collected from 21 patients in the normal group and 41 eyes collected from 22 patients in the NDR group. The normal group consisted of 20 (48%) males and 22 (55%) females while NDR group consisted of 17 (41%) males and 24 (59%) females. The age mean was 51.33 years on the normal group and 53.44 years on the NDR group. The sex and the age difference between the two groups had no statistical significance. Statistical analysis on the two groups showed very significant reduction of the macular thickness apply to all macula region except for the foveal minimal and superior outer which only showed significant reduction. The thinning of macula showed a greater extends of reduction on the fovea and inner ring compare to outer ring.

Conclusion: there was thinning of macula as result of retinal neurodegeneration on the early diabetic patient before any microvascular lesion could be seen (no diabetic retinopathy/NDR).

Keywords: neurodegeneration, diabetes mellitus, macular thickness, OCT

Diabetes mellitus adalah suatu masalah global saat ini maupun dimasa mendatang. Tahun 1997 di dunia diperkirakan terdapat 124 juta orang menderita diabetes dan 97%-nya adalah *non-insulin dependent* diabetes mellitus, serta tahun 2010 diperkirakan akan mencapai 221 juta.¹ Asia dan Afrika diperkirakan akan mengalami lonjakan penderita diabetes ini sekitar 2 sampai 3 kali lipat dari gambaran tahun 1997. Di Indonesia data terakhir menunjukkan prevalensi

sekitar 5.6% namun sebagian besar, 4.1%, adalah penderita diabetes yang tidak terdiagnosa.²

Pendapat umum mengatakan bahwa *diabetic retinopathy* adalah suatu *microvascular disease*. Beberapa klasifikasi misalnya *Airlie House*^{3,4}, ETDRS maupun klasifikasi yang ditujukan untuk *screening* seperti *International Classification* yang diajukan oleh *American Academy of Ophthalmology*⁵, NSC (*National Screening Committee*) – UK⁶, SDRGS (*Scottish Diabetic*

Retinopathy Grading Scheme)⁷, *Royal College of Ophthalmologists*⁸ dan lainnya memberikan kriteria berdasarkan perubahan vaskular. Namun akhir-akhir ini telah dikemukakan pendapat bahwa proses neurodegenerasi retina mendahului terjadinya lesi mikrovaskular pada penderita diabetes.

Neuron retina sangat aktif secara metabolik, memerlukan, pada setiap gram dari jaringan, sejumlah besar oksigen untuk produksi *Adenosine Triphosphate (ATP)*. Hal ini menyebabkan neuron retina sangat sensitif terhadap gangguan dari suplai darah. Kekurangan oksigen yang berkepanjangan (lebih dari 90 menit pada studi eksperimental), sel neuron menjadi piknotik, kemudian akan difagositosis dan menghilang.⁹ Pada *diabetic retinopathy* awal, beberapa kelainan fisiologik dapat terjadi, antara lain:

- Terganggunya autoregulasi dari vaskulatur retina
- Gangguan pada *retinal blood flow*
- Rusaknya *blood retina barrier*

Studi histologis post-mortem dari delapan mata manusia dengan diabetes teridentifikasi beberapa karakteristik perubahan patologi vaskular dan degenerasi neuron termasuk sel yang membengkak dan 'hyalinized', yang dikelilingi oleh badan *acidophilic* yang diduga terlibat dalam proses degenerasi. Dominasi proses degeneratif ini ditemukan pada *retinal ganglion cell layer* dan diikuti dengan hilangnya *nerve fibres*.¹⁰ Pada studi lain dari 157 mata manusia dengan diabetes dibandingkan dengan 138 mata dari non-diabetes, ditemukan hilangnya *retinal ganglion cells* dan neuron yang lain, dan tampilan dari 'pyknosis dengan hyalinisasi' pada penderita diabetes.¹¹

Pada potongan dalam paraffin dari mata tikus STZ (*streptozotocin*) setelah 30 minggu diabetes diperiksa perubahan ketebalannya, dan jumlah dari badan sel besar pada *retinal ganglion cell layer* dihitung untuk menentukan apakah kehilangan sel kumulatif membuat perbedaan yang signifikan pada jumlah total dari sel yang tersisa pada diabetik dibandingkan dengan retina kontrol.¹² Terdapat reduksi signifikan pada ketebalan dari lapisan-lapisan sel pada *inner retina* dan hilangnya sejumlah badan sel pada *retinal ganglion cell layer*. Jumlah

total dari badan sel pada *retinal ganglion cell layer* menurun sebesar 10% setelah 7.5 bulan menderita diabetes. Hal ini disertai dengan penurunan 22% dari ketebalan *inner plexiform layer*, dan 14% menurunnya ketebalan pada *inner nuclear layer*. Tidak didapatkan perubahan dimensi dari *outer nuclear layer*, menunjukkan bahwa lebih banyak sel yang hilang dari *inner retina* dibandingkan dengan *outer retina*.

Beberapa studi telah dilakukan pada diabetic retinopathy dengan TD-OCT (*time domain optical coherence tomography*) untuk mendeteksi perubahan ketebalan macula, namun didapatkan ketidaksesuaian antara satu dengan yang lain. Penelitian ini ditujukan untuk menganalisa neurodegenerasi retina *in vivo* berupa perubahan ketebalan retina pada penderita diabetes mellitus tipe 2.

Material dan Metode

Penelitian ini adalah observasional komparatif yang dilakukan pada dua kelompok yaitu kelompok normal dan diabetes tetapi belum muncul lesi mikrovaskular (*no diabetic retinopathy/NDR*), dilakukan di Bagian Mata BLU RSUD Prof. Dr. R. D. Kandou Manado selama 6 bulan, mulai Januari 2012 – Juni 2012. Subyek penelitian adalah seluruh penderita yang datang berobat ke Bagian Mata RS. Prof. dr. R. D. Kandou Manado yang menderita diabetes mellitus dan non diabetes melitus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pengambilan data ketebalan macula dengan *Stratus OCT* menggunakan program FMT (*fast macular thickness*).

Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus:

$$n_1 = n_2 = 2$$

Dimana:

$$Z\alpha = 1.645 \text{ untuk } \alpha = 0.05$$

$$Z\beta = -0.842 \text{ untuk power} = 0.80$$

$$S = \text{simpangan baku ketebalan macula yaitu } 17.036.^{13}$$

$$\mu_1 - \mu_2 = \text{selisih rata-rata ketebalan macula yaitu } 10.068.^{13}$$

sehingga diperoleh:

$$n_1 = n_2 = 2 \left[\frac{((1.645 - (-0.842)) 17.036) / 10.068}{0.80} \right]^2 = 35.419$$

Didapatkan besar sampel masing-masing kelompok adalah 36 mata.

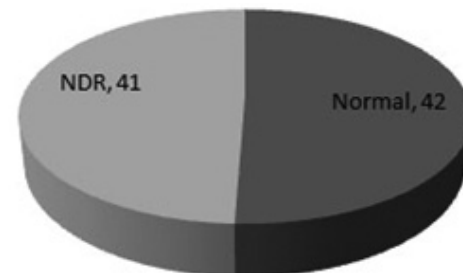
Kriteria inklusi untuk kedua kelompok sebagai berikut: berusia antara 40 - 60 tahun, bersedia ikut dalam penelitian dan kooperatif, menandatangani *informed consent*, tekanan darah sistemik <140/90 mmHg, tekanan intraokular <22 mmHg dan akuisisi OCT dengan kualitas bagus yaitu signal strength dari OCT ≥ 6 , *well centred* macula untuk *macular thickness protocol*, signal homogenous untuk gambar keseluruhan, dan tidak ada bagian gambar yang hilang. Untuk kelompok non diabetes (kontrol) harus memenuhi syarat yaitu tidak menderita diabetes mellitus, *impaired glucose tolerance* (IGT), dan *impaired fasting glucose* (IFG) yang dibuktikan dengan FPG (*fasting plasma glucose*) < 108 mg/dL, OGTT (*oral glucose tolerance test*) < 140 mg/dL, dan HbA1c < 6.5%. Untuk kelompok NDR harus memenuhi syarat sebagai berikut: menderita T2DM (*type 2 diabetes mellitus*) yang dibuktikan dengan FPG ≥ 126 mg/dL, OGTT ≥ 200 mg/dL, dan HbA1c $\geq 7\%$, dan belum muncul lesi mikrovaskular pada pemeriksaan fundus. Kriteria eksklusi berlaku untuk kedua kelompok, penderita tidak akan disertakan dalam penelitian bila didapatkan: *Best corrected visual acuity* (BCVA) $\leq 6/9$, koreksi kacamata dengan komponen sferis lebih dari +/- 6D dan atau silinder lebih dari +/- 3, operasi mata sebelumnya, optic anomaly, dan riwayat penyakit retina atau *optic nerve*.

Data yang terkumpul diolah secara statistik dengan komputer menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions (SPSS) for Windows Version 20.0*. Analisis data adalah analisis deskriptif untuk karakteristik penderita dan uji t untuk mengetahui perbedaan ketebalan macula antara kelompok normal dan NDR. Uji kemaknaan yang digunakan $\alpha = 0,05$, bila hasil uji $p > 0,05$ maka kedua kelompok tidak berbeda bermakna, sedangkan bila $p < 0,05$ kedua kelompok dikatakan berbeda bermakna.

HASIL

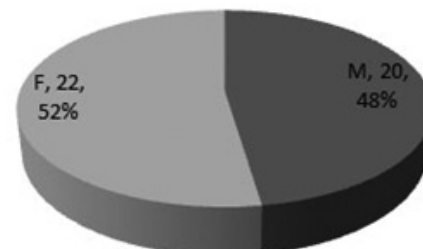
Pada penelitian ini didapatkan sampel sebanyak 42 mata dari 21 penderita pada kelompok normal dan 41 mata dari 22 penderita pada kelompok NDR (Gambar 1). Pada kelompok normal diperiksa kedua mata dari masing-masing penderita yang memenuhi

kriteria, sedangkan pada kelompok NDR terdapat 3 penderita yang hanya diambil sampel pada satu mata; 2 penderita diambil data hanya pada satu mata karena didapatkan *signal strength* 5 dan 1 penderita dengan *mild NPDR (Non-Proliferative Diabetic Retinopathy)* pada satu mata.

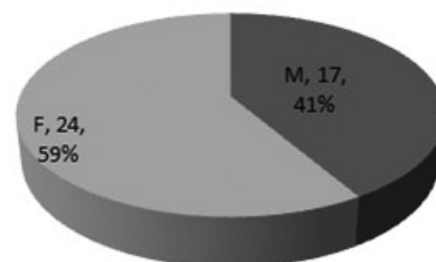


Gambar 1. Jumlah sampel kelompok normal dan NDR

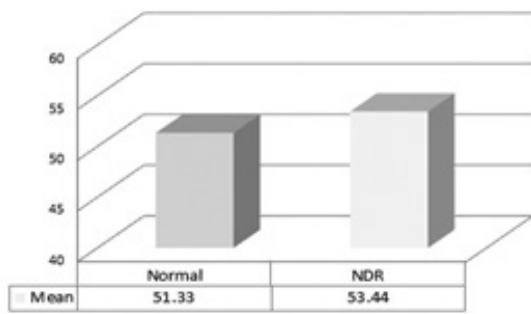
Pada kelompok normal didapatkan sampel terdiri dari 20 (48%) laki-laki dan 22 (52%) wanita (Gambar 2) sedangkan pada kelompok NDR didapatkan 17 (41%) laki-laki dan 24 (59%) wanita (Gambar 3). Didapatkan rata-rata umur pada kelompok normal adalah 51.33 tahun dan pada kelompok NDR adalah 53.44 tahun (Gambar 4).



Gambar 2. Distribusi jenis kelamin kelompok normal



Gambar 3. Distribusi jenis kelamin kelompok NDR



Gambar 4. Rata-rata umur kelompok normal dan NDR

Pada uji statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada karakteristik jenis kelamin (Tabel I) dan umur (Tabel II) antara kelompok normal dan NDR ($p > 0.05$).

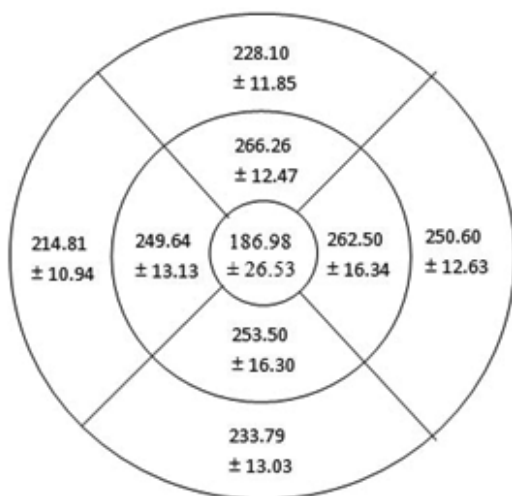
Tabel 1. Hasil pengujian perbedaan jenis kelamin kedua kelompok

Kelompok	Laki-laki	Perempuan	Jumlah	Uji Chi-Square
Normal	20	22	42	0.318 ($p = 0.573$)
NDR	17	24	41	

Tabel 2. Hasil pengujian perbedaan umur kedua kelompok

Kelompok	Rata-rata (tahun)	SD (tahun)	Uji t
Normal	51.33	5.13	-1.933 ($p = 0.057$)
NDR	53.44	4.79	

Pada pemeriksaan *Stratus* OCT diperoleh hasil ketebalan pada sembilan area dari program FMT dan volume total macula antara kelompok normal dan NDR (Gambar 5 dan 6), dimana rata-rata, SD pada kedua kelompok dan nilai uji t terhadap perbedaan dari masing-masing kelompok beserta nilai p dapat terlihat pada tabel III.



Gambar 5. Gambaran ketebalan retina pada kelompok normal

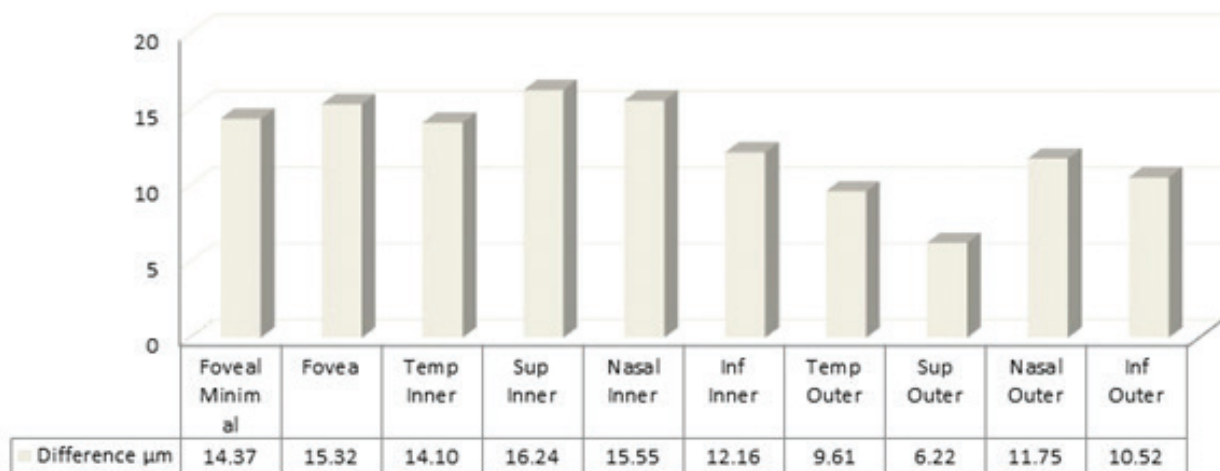


Gambar 6. Gambaran ketebalan retina pada kelompok NDR

DISKUSI

Ketebalan macula sangat dipengaruhi oleh usia dan jenis kelamin dari subjek penelitian yang diperiksa.¹³ Data dari kedua kelompok penelitian ini menunjukkan perbedaan jumlah jenis kelamin, namun uji statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok ini ($p = 0.573$) (Tabel I). Perbedaan rata-rata umur pada kedua kelompok, pada uji statistik tidak ada perbedaan yang bermakna diantara kedua kelompok tersebut ($p = 0.057$) (Tabel II). Dengan demikian kelompok normal dapat dipakai sebagai pembandingan ketebalan macula dari kelompok NDR. Pada penelitian ini data diperoleh dari populasi normal disamping data referensi normal yang telah disediakan oleh mesin dikarenakan ketebalan macula juga dipengaruhi oleh suku/ras dimana penelitian dilakukan.¹³

Lama pasien menderita T2DM sulit untuk dipastikan, namun hampir semua pasien yang diambil pada penelitian ini adalah pasien baru didiagnosa diabetes mellitus pertama kalinya di poli penyakit dalam BLU RSU Prof. R. D. Kandou, Manado. Kelemahan dari penelitian ini adalah tidak dilakukannya FFA (*fundus fluorescein angiography*) dikarenakan keterbatasan fasilitas pada saat dilakukan penelitian ini.



Gambar 7. Perbedaan ketebalan macula pada kelompok normal dan NDR

Tabel 3. Ketebalan macula dan hasil pengujian perbedaan pada kedua kelompok

Parameter	Normal		NDR		Uji t (<i>p value</i>)
	rata-rata (µm)	SD (µm)	rata-rata (µm)	SD (µm)	
Foveal Minimal	159.76	31.62	145.39	29.98	2.124 (p = 0.019)
Fovea	186.98	26.53	171.66	25.41	2.685 (p = 0.004)
Temporal Inner	249.64	13.13	235.54	15.51	4.475 (p = 0.000)
Superior Inner	266.26	12.47	250.02	16.02	5.160 (p = 0.000)
Nasal Inner	262.50	16.34	262.95	16.85	4.269 (p = 0.000)
Inferior Inner	253.50	16.30	241.34	17.01	3.325 (p = 0.001)
Temporal Outer	214.81	10.94	205.20	11.82	3.848 (p = 0.000)
Superior Outer	228.10	11.85	221.88	12.06	2.369 (p = 0.010)
Nasal Outer	250.60	12.63	238.85	15.74	3.753 (p = 0.000)
Inferior Outer	233.79	13.03	223.27	15.40	3.361 (p = 0.001)
Total Macula Volume *	6.698*	0.302*	6.392*	0.360*	4.192 (p = 0.000)

* : satuan dalam mm³

Pada gambar 7 dapat dilihat perbedaan ketebalan dari masing-masing regio kelompok normal dibandingkan dengan kelompok NDR. Penurunan ketebalan didaerah *fovea* dan *inner ring* yang lebih dibandingkan dengan daerah *outer ring* ini mempunyai korespondensi dari daerah macula yang diperiksa. *Fovea* mempunyai 6-8 lapis sel ganglion¹⁴ yang berkorespondensi dengan *fovea region* dari hasil pembacaan mesin stratus OCT. Daerah *inner ring* mempunyai korespondensi dengan *perifovea* dan *parafovea*. *Perifovea* secara histologis mempunyai lapisan *retinal ganglion cell*, *inner nuclear layer*, dan *Henle* yang paling tebal.¹⁴ Daerah *outer ring* mempunyai korespondensi

dengan macula, daerah retina yang mempunyai lebih dari 1 lapisan *retinal ganglion cell*. Pola penurunan ketebalan ini sesuai dengan harapan didapatkannya penurunan yang lebih dramatis didaerah *fovea* dan *inner ring* dibandingkan dengan *outer ring* akibat hiperglikemia yang menghasilkan neurodegenerasi yang terutama mengenai neuron dan *glial cell*. Didapatkan penurunan *nasal outer* yang lebih dibandingkan *regio outer* yang lain dapat dijelaskan adanya *papillomacular bundle* pada daerah tersebut yang mana diharapkan akan lebih menipis bila terjadi apoptosis dari neuron.

Penelitian ini mendukung pendapat bahwa didapatkan abnormalitas neuronal yang

terjadi mendahului abnormalitas vaskular yang diajukan oleh Oshitari et al.¹⁵ Ditunjukkan pula pada awal DM dimana perjalanan penyakit masih pada tahap NDR macula mengalami penipisan. Sejauh ini belum didapatkan adanya anjuran untuk melakukan intervensi pengobatan ditujukan ke mata penderita pada tahapan ini. Banyak dokter mata yang beranggapan bahwa akibat DM pada mata adalah masalah ‘*microvascular only*’. Sistem klasifikasi *diabetic retinopathy* yang dipakai luas saat ini juga berdasarkan lesi mikrovaskular yang terlihat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan analisa hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat penurunan ketebalan macula sebagai akibat neurodegenerasi pada penderita diabetes awal sebelum muncul lesi mikrovaskular (*no diabetic retinopathy*/NDR).

REFERENSI

1. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabet Med* 1997; 14(Suppl 5): S1–S5.
2. Pramono LA, Setiati S, Soewondo P, Subekti I, Adisasmita A, Kodim N, Sutrisna B. Prevalence and predictors of undiagnosed diabetes mellitus in Indonesia. *Acta Med Indones* 2010 Oct; 42(4): 216–23.
3. The Diabetic Retinopathy Study Research Group. Diabetic retinopathy study. Report Number 6. Design, methods, and baseline results. Report Number 7. A modification of the Airlie House classification of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981; 21(1 Pt 2): 1–226.
4. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs – an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. *Ophthalmology* 1991; 98(5 Suppl): 786–806.
5. Wilkinson CP, Ferris FL 3rd, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 2003; 110(9): 1677–82.
6. Harding S, Greenwood R, Aldington S, Gibson J, Owens D, Taylor R et al. Grading and disease management in national screening for diabetic retinopathy in England and Wales. *Diabet Med* 2003; 20(12): 965–71.
7. Leese, G. P., A. D. Morris, and J. Olson. 2003. A national retinal screening programme for diabetes in Scotland. *Diabet Med* 20:962.
8. Royal College of Ophthalmologists. 1997. Guidelines for the management of diabetic retinopathy. London.
9. Shetlar DJ, Barrios PC, Dubovy S, Rosa RH, Syed N, Wilson MW, Pelton RW, Pe’er J. Retina and retinal pigment epithelium. In: *Basic & Clinical Science Course: Ophthalmic Pathology and Intraocular Tumors*. San Francisco, CA: American Academy of Ophthalmology; 2008:149–160.
10. Wolter JR. Diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1961; 51: 1123–39.
11. Bloodworth JMB. Diabetic retinopathy. *Diabetes* 1962; 2:1–22.
12. Barber, A.J., Lieth, E., Khin, S.A., Antonetti, D.A., Buchanan, A.G., and Gardner, T.W. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *J Clin Invest* 1998 Aug 15;102(4):783–91.
13. Susilo T, Rares F, Dyana W. The retinal macular thickness normative data using optical coherence tomography in young adult minahasan. Presented as poster paper on *35th Scientific Meeting of Indonesian Ophthalmologists Association/Singapore Society of Ophthalmologists*. Semarang. July 23rd - 26th, 2010.
14. Regillo C, Holekamp N, Johnson MW, Kaiser PK, Schubert HD, Spaide R, Griggs PB, Erfurth UMS. Basic anatomy. In: *Basic & Clinical Science Course: Retina and Vitreous*. San Francisco, CA: American Academy of Ophthalmology; 2008:7–17.
15. Oshitari T, Hanawa K, Usami EA. Changes of macular and RNFL thickness measured by Stratus OCT in patients with early stage diabetes. *Eye* 2009; 23: 884–889.