

Long-Term Used of *Benzalkonium Chloride* Preservative Antiglaucoma Eye Drops (Studies on the Expression of Matrix-Metalloproteinase-1 and Tissue Inhibitor Matrix Metalloproteinase-1)

Muhammad Ali Faisal¹, Retno Ekantini², Siti Sundari²

¹Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine Lambung Mangkurat University, Ulin Hospital, Banjarmasin

²Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine Gadjah Mada University, Dr. Sardjito Hospital, Yogyakarta

ABSTRACT

The aim of this study is to compare the mean expression of Matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) and the mean expression of Tissue Inhibitor Matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) from conjunctiva of the long-term preservative antiglaucoma BAC eye drops user with the non-user of preservative antiglaucoma BAC. This cross-sectional study design was held in Dr. Sardjito General Hospital and Dr. Yap Eye Hospital Yogyakarta from November 2009 until August 2010. From the total 32 conjunctival tissue biopsies, 17 samples were derived from the preservative antiglaucoma BAC user group and 15 samples were derived from control conjunctival. The expression of MMP-1 and TIMP-1 in both groups were detected by immunohistochemistry with monoclonal antibody anti-human MMP-1 and anti-human TIMP-1. The mean expression of MMP-1 from the long terms preservative antiglaucoma eye drops BAC user group was $9.22 \pm 8.11\%$ and the expression of TIMP-1 was $2.75 \pm 2.36\%$. In the expression control group, MMP-1 was $1.02 \pm 0.71\%$ and the expression of TIMP-1 was $0.46 \pm 0.22\%$. There was a correlation between the number of antiglaucoma drugs used and TIMP-1 expression ($r = -0.623$) with significancy at 0,008. The expression of MMP-1 and TIMP-1 in the long term preservative antiglaucoma eye drops BAC user group is higher than the expression of the control group with significantly at $p < 0.001$.

Key words: Benzalkonium chloride, MMP-1 expression, TIMP-1 expression, conjunctival epithelium.

Correspondence: Department of Ophthalmology Lambung Mangkurat University, Ulin Hospital Banjarmasin E-mail: alifaisal_92@yahoo.com.

PENDAHULUAN

Benzalkonium chloride (BAC) merupakan bahan pengawet yang banyak digunakan pada berbagai macam sediaan tetes mata dengan konsentrasi bervariasi antara 0,004–0,02%. BAC merupakan bahan pengawet golongan deterjen yang mempunyai efek surfaktan yang dapat mengganggu permeabilitas sel. Studi *in vitro* oleh De Saint *et al.* menunjukkan terjadinya kerusakan sel konjungtiva akibat BAC yang bersifat *dose dependent*.¹

Penderita glaukoma dan sindrom kekeringan air mata (*dry eye*) memerlukan pengobatan dengan tetes mata secara terus-menerus dalam jangka panjang. Mereka merupakan kelompok yang terpapar dengan toksisitas bahan pengawet BAC yang ada dalam obat tetes mata. Semakin sering obat

berpengawet BAC ditetaskan akan semakin besar paparan toksik terhadap sel-sel konjungtiva dan kornea.

Penelitian tentang pengaruh pemberian timolol 0,5% jangka panjang antara yang menggunakan pengawet dan tanpa pengawet terhadap kejadian inflamasi pada permukaan okular menunjukkan terjadinya gangguan stabilitas air mata dan inflamasi pada permukaan mata dengan dibuktikan oleh berkurangnya "*tear breakup time*" dan peningkatan konsentrasi Interleukin-1 β dalam air mata pada kelompok yang menggunakan timolol dengan bahan pengawet BAC.² Penelitian *ex vivo* dan *in vitro* timolol 0,5% dan latanoprost yang mengandung pengawet BAC 0,02% menunjukkan efek proinflamasi dan proapoptotik yang lebih tinggi dibandingkan timolol 0,5% tanpa pengawet, tetapi kurang toksik dibanding pengawet BAC

0,02% saja. Timolol tanpa pengawet tidak menyebabkan toksisitas sel konjungtiva.³

Baudouin *et al.* (2004) juga melaporkan bahwa penggunaan timolol 0,5% jangka panjang akan meningkatkan ekspresi petanda imunoinflamasi (HLA- DR, IL-6, IL-8 dan IL-10) oleh sel epitel konjungtiva penderita glaukoma.⁴ Obat-obat α/β -blocker, α 1-blocker, α 2-blocker dan derivat prostaglandin berpengawet BAC dapat menstimulasi degradasi matriks ekstraseluler pada kultur fibroblast. Perubahan keseimbangan antara enzim *matrix metalloproteinase* (MMP) dan enzim *tissue inhibitors of metalloproteinase* (TIMP) menyebabkan perubahan metabolisme matriks ekstraselular jaringan permukaan okular.⁵ Penggunaan berpengawet BAC jangka panjang menyebabkan metaplasia squamosa epitel konjungtiva.^{6,7} Pengobatan jangka panjang dengan topikal antiglaukoma berpengawet BAC mempunyai efek buruk pada jaringan konjungtiva yang kemungkinan mempengaruhi kesudahan operasi filtrasi.

METODE

Penelitian ini menggunakan rancangan studi potong lintang (*cross sectional*) berbasis rumah sakit. Populasi studi adalah penderita glaukoma pengguna obat antiglaukoma tetes mata berpengawet BAC jangka panjang yang menjalani operasi trabekulektomi ataupun operasi kombinasi trabekulektomi-ekstraksi katarak di RSUP Dr.Sardjito dan RS Mata Dr.Yap Yogyakarta selama kurun waktu Nopember 2009 sampai Agustus 2010 serta memenuhi kriteria eligibilitas. Kriteria inklusi sampel adalah pasien penderita glaukoma yang akan dilakukan operasi untuk pertama kalinya, telah menggunakan timolol 0,5% dengan atau tanpa pilocarpine dan brinzolamide tetes mata berpengawet BAC selama 3 bulan atau lebih, bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*. Kriteria eksklusi sampel adalah penderita dengan peradangan mata dan sekitarnya, riwayat trauma atau operasi mata sebelum operasi serta pengguna latanoprost. Kriteria inklusi kontrol adalah pasien penderita katarak yang akan dilakukan operasi katarak, pasien tidak pernah menggunakan timolol atau obat lain yang mengandung pengawet BAC jangka panjang. Kriteria eksklusi kontrol adalah penderita dengan peradangan mata dan sekitarnya, riwayat trauma atau operasi mata sebelum operasi. Pada saat operasi berlangsung dilakukan biopsi konjungtiva bulbi superior seluas 4×4 mm kedalaman sampai kapsul Tenon dan jarak 3 mm dari limbus. Sampel biopsi konjungtiva dibuat preparat histopatologis dengan metode paraffin dengan pewarnaan antibodi monoklonal *human* anti-MMP-1 dan TIMP-1. Penilaian jumlah sel positif yang berwarna coklat dihitung dalam 100 sel per lapangan pandang. Nilai ekspresi adalah hasil rata-rata penilaian terhadap 5 lapangan pandang.

Perhitungan besar sampel menggunakan kemaknaan sebesar 95% dengan $\alpha = 5\%$ dan kekuatan penelitian

(power) sebesar 80% dan β sebesar 20% sehingga dibutuhkan jumlah sampel minimal untuk masing-masing kelompok sebanyak 12, secara keseluruhan sampel minimal untuk penelitian ini adalah 24 subyek. Pada penelitian ini terdapat 17 sampel pada kelompok pengguna antiglaukoma berpengawet BAC jangka panjang dan 15 sampel pada kelompok kontrol. Total sampel adalah sebanyak 32 subyek. Penelitian ini memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan dari komisi etik penelitian kedokteran dan kesehatan.

Variabel tergantung adalah ekspresi MMP-1 dan TIMP-1. Variabel bebas adalah umur, jenis kelamin, jumlah obat yang digunakan dan lama pengguna obat antiglaukoma tetes mata berpengawet BAC selama 3 bulan atau lebih.

Analisis komparatif perbedaan rerata ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 dengan menggunakan analisis non-parametrik untuk 2 kelompok tidak berpasangan yaitu uji *Mann Whitney*. Perbandingan rerata ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 terhadap usia, jenis kelamin dan lama penggunaan antiglaukoma topikal berpengawet BAC dilakukan dengan uji *Kruskal Wallis*, perbandingan terhadap jumlah obat yang dipergunakan diuji dengan *Mann Whitney tes* serta menguji korelasi dengan uji korelasi Pearson. Hasil dinyatakan bermakna secara statistik apabila nilai $p < 0,05$. Analisis regresi linier berganda untuk menganalisis bersarna pengaruh variabel bebas terhadap variabel tergantung.

HASIL

Sebanyak 32 subjek penelitian, terdiri dari 17 subjek kelompok pengguna obat antiglaukoma tetes mata berpengawet BAC jangka panjang dan 15 subjek kelompok bukan pengguna tetes mata berpengawet BAC sebagai kontrol. Karakteristik subjek penelitian pada kelompok pengguna antiglaukoma berpengawet BAC jangka panjang berusia rata-rata $51,12 \pm 14,2$ tahun dengan rentang usia antara 33 tahun sampai 75 tahun, sebanyak 64,7% berjenis kelamin perempuan. Lama penggunaan anti glaukoma topikal berpengawet BAC jangka panjang lebih banyak pada penggunaan diatas 12 bulan sebanyak 58,6%. Kelompok kontrol berusia rata-rata $65,8 \pm 8,54$ tahun dengan rentang usia antara 54 tahun sampai 75 tahun dan sebanyak 73,3% berjenis kelamin laki-laki. Pada penelitian ini terdapat perbedaan bermakna secara statistik antara distribusi jenis kelamin kedua kelompok ($p = 0,031$), serta terdapat perbedaan bermakna antara distribusi umur kedua kelompok ($p = 0,030$) seperti tampak pada Tabel 1.

Ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 pada penelitian ini hanya bisa dinilai pada jaringan epitel konjungtiva saja. Ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 di lapisan stroma konjungtiva dan kapsul Tenon tidak bisa dinilai karena pada sebagian besar sampel biopsi jaringan konjungtiva tidak terdapat stroma dan kapsul Tenon yang memadai untuk dilakukan penilaian.

Pada penelitian ini rerata ekspresi MMP-1 pada sel epitel konjungtiva kelompok pengguna antiglaukoma

Tabel 1. Karakteristik Subyek Penelitian Kelompok Pengguna Antiglaukoma Topikal berpengawet BAC Jangka Panjang dan Kelompok Kontrol

Variabel	Pengguna Antiglaukoma Berpengawet (n = 17)	Kontrol (n = 15)	Nilai <i>p</i>
Jenis Kelamin			
Laki-laki (%)	6 (35,3)	11 (73,3)	0,031
Perempuan (%)	11 (64,7)	4 (26,6)	
Umur			
< 50 tahun (%)	7 (46,2)	1 (6,6)	0,030
50 – 59 tahun (%)	5 (29,4)	2 (13,3)	
60 – 69 tahun (%)	3 (17,6)	5 (33,3)	
≥ 70 tahun (%)	2 (11,8)	7 (46,6)	
Rerata	51,12 ± 14,2	65,8 ± 8,54	
Lama Penggunaan Obat			
> 3 – 6 bulan (%)	3 (17,6)	-	0,36
> 6 – 12 bulan (%)	4 (23,5)	-	
> 12 bulan (%)	10 (58,8)	-	

Keterangan: BAC = *Benzalkonium Chloride***Tabel 2.** Perbedaan Rerata Ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 antara Kelompok Pengguna Antiglaukoma Topikal berpengawet BAC Jangka Panjang dan Kelompok Kontrol

Variabel	Pengguna Antiglaukoma Berpengawet BAC (%)	Kontrol %	Nilai <i>p</i>
Ekspresi MMP-1			
Rerata ± SD	9,22 ± 8,11	1,02 ± 0,71	< 0,001
Min-mak	1,40 – 32,80	0,40 – 2,80	
Ekspresi TIMP-1			
Rerata ± SD	2,75 ± 2,36	0,46 ± 0,22	< 0,001
Min-mak	0,40 – 8,00	0 – 0,80	

Keterangan: BAC= *Benzalkonium Chloride*, MMP-1= *Matrixmetalloproteinase-1*TIMP-1= *Tissue Inhibitor Matrixmetalloproteinase-1*.**Tabel 3.** Rerata Ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 pada Kelompok Pengguna Obat Antiglaukoma Topikal berpengawet BAC Jangka Panjang berdasarkan Usia dan Jenis Kelamin.

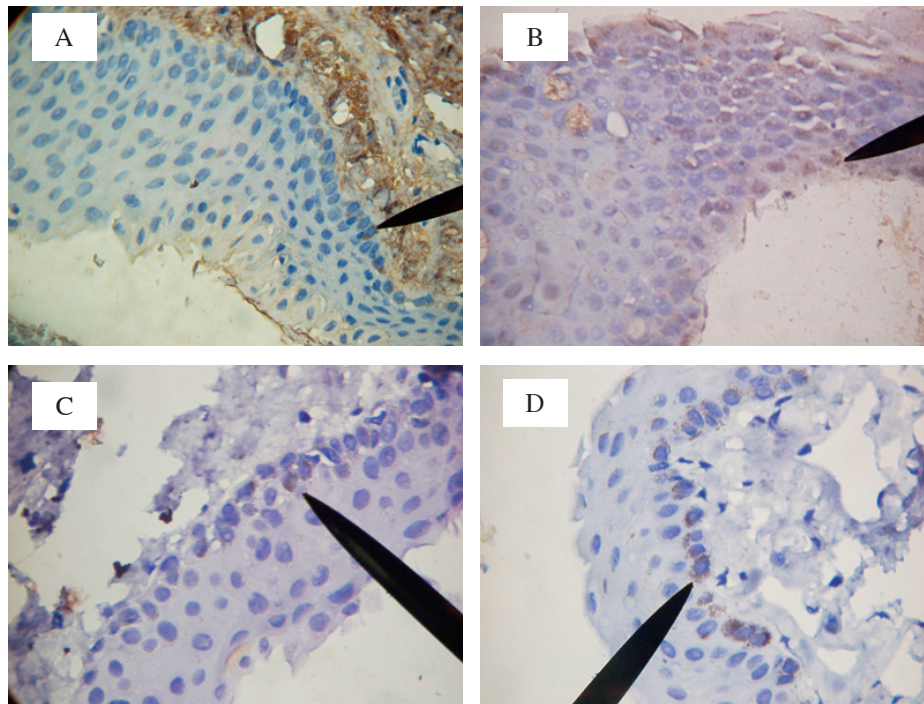
Variabel	Rerata ekspresi MMP-1 (%)	Rerata ekspresi TIMP-1 (%)
Jenis Kelamin		
Laki-laki (%)	7,27 ± 5,40	3,50 ± 2,42
Perempuan (%)	10,29 ± 9,33 (<i>p</i> = 0,615)	2,36 ± 2,33 (<i>p</i> = 0,267)
Usia		
< 50 tahun (%)	11,48 ± 11,00	2,51 ± 1,43
50 – 59 tahun (%)	6,68 ± 3,08	2,20 ± 3,05
60 – 69 tahun (%)	6,46 ± 1,90	1,73 ± 0,61
≥ 70 tahun (%)	11,80 ± 13,29 (<i>p</i> = 0,964)	6,60 ± 1,98 (<i>p</i> = 0,126)

Keterangan: BAC= *Benzalkonium Chloride*,MMP-1= *Matrixmetalloproteinase-1*TIMP-1= *Tissue Inhibitor Matrixmetalloproteinase-1*.

topikal berpengawet BAC jangka panjang adalah sebesar 9,22 ± 8,11% dengan nilai ekspresi terendah 1,40% dan tertinggi 32,80%. Ekspresi MMP-1 pada kelompok kontrol adalah sebesar 1,02 ± 0,71% dengan nilai ekspresi terendah 0,40% dan tertinggi 2,80% seperti tampak pada Tabel 2.

Rerata ekspresi TIMP-1 kelompok pengguna antiglaukoma topikal berpengawet BAC jangka panjang sebesar 2,75 ± 2,36% dengan nilai ekspresi terendah 0,40% dan tertinggi 8,00%. Rerata ekspresi TIMP-1 pada kelompok kontrol sebesar 0,46 ± 0,22% dengan nilai ekspresi terendah 0,0% dan tertinggi 0,80%. Rerata ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 pada kelompok pengguna antiglaukoma berpengawet BAC jangka panjang lebih tinggi dari ekspresi TIMP-1 kelompok kontrol dan bermakna secara statistik dengan nilai *p* < 0,001 (*Mann Whitney*) seperti tampak pada Tabel 2.

Pada gambar 1A tampak ekspresi MMP-1 pada kelompok pengguna antiglaukoma berpengawet BAC jangka panjang tersebar jaringan epitel di stratum superfisial,



Gambar 1. A. Ekspresi MMP-1 pada Sel Epitel Kelompok Pengguna Antiglaukoma
 B. Ekspresi MMP-1 pada Sel Epitel Kelompok Kontrol
 C. Ekspresi TIMP-1 pada Sel Epitel Kelompok Pengguna Antiglaukoma
 D. Ekspresi TIMP-1 pada Sel Epitel Kelompok Kontrol

stratum intermedium dan stratum basale. Ekspresi TIMP-1 pada kelompok ini tampak pada stratum basale epitel (gambar 1C). Ekspresi MMP-1 (gambar 1B) dan TIMP-1 (gambar 1D) pada epitel konjungtiva kelompok kontrol tampak lebih rendah. Pada jaringan epitel, sel-sel lapisan bawah (*stratum basal/ germinativum*) aktif melakukan pembelahan. Ekspresi MMP-1 yang berperan dalam proses pembelahan sel jaringan normal mungkin dapat digambarkan oleh kelompok kontrol.

Tabel 4. Rerata Ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 pada Kelompok Kontrol berdasarkan Usia dan Jenis Kelamin

Variabel	Rerata ekspresi MMP-1 (%)	Rerata ekspresi TIMP-1 (%)
Jenis Kelamin		
Laki-laki (%)	1,09 ± 0,82	0,45 ± 0,22
Perempuan (%)	0,85 ± 0,30 (<i>p</i> = 0,949)	0,50 ± 0,25 (<i>p</i> = 0,786)
Usia		
< 50 tahun (%)	0,60 ± 0,00	0,40 ± 0,00
50 – 59 tahun (%)	0,50 ± 0,14	0,60 ± 0,28
60 – 69 tahun (%)	1,24 ± 0,79	0,60 ± 0,14
≥ 70 tahun (%)	1,08 ± 0,78 (<i>p</i> = 0,151)	0,34 ± 0,22 (<i>p</i> = 0,194)

Keterangan: BAC= Benzalkonium Chloride,

MMP-1= Matrixmetalloproteinase-1

TIMP-1= Tissue Inhibitor Matrixmetalloproteinase-1.

Pada penelitian ini dilakukan uji perbandingan rerata ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 terhadap usia, jenis kelamin, jumlah obat dan lama penggunaan antiglaukoma topikal berpengawet BAC seperti tampak pada Tabel 3.

Pada kelompok pengguna obat antiglaukoma berpengawet BAC jangka panjang dan kelompok kontrol tidak terdapat perbedaan bermakna antara rerata ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 terhadap jenis kelamin maupun terhadap usia seperti tampak pada Tabel 4.

Tabel 5. Rerata Ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 pada Kelompok Pengguna Antiglaukoma Topikal berpengawet BAC Jangka Panjang berdasarkan Jumlah Obat dan Lama Penggunaan Obat

Variabel	Rerata ekspresi MMP-1 (%)	Rerata ekspresi TIMP-1 (%)
Jumlah Obat		
1 macam	7,87 ± 6,50	4,27 ± 2,69
> 1 macam	10,42 ± 9,54 (<i>p</i> = 0,501)	1,42 ± 0,65 (<i>p</i> = 0,023)
Lama Penggunaan Obat		
> 3 – 6 bulan (%)	8,13 ± 2,87	0,66 ± 0,46
> 6 – 12 bulan (%)	12,85 ± 13,34	3,75 ± 2,71
> 12 bulan (%)	8,10 ± 6,93 (<i>p</i> = 0,674)	3,00 ± 2,32 (<i>p</i> = 0,040)

Keterangan: BAC= Benzalkonium Chloride,

MMP-1= Matrixmetalloproteinase-1

TIMP-1= Tissue Inhibitor Matrixmetalloproteinase-1

Pada kelompok pengguna antiglaukoma berpengawet BAC jangka panjang tidak terdapat perbedaan antara rerata ekspresi MMP-1 terhadap jumlah antiglaukoma yang digunakan ($p = 0,501$) maupun terhadap lama penggunaan antiglaukoma tetes mata berpengawet BAC ($p = 0,674$). Terdapat perbedaan bermakna antara rerata ekspresi TIMP-1 terhadap jumlah obat yang dipergunakan ($p = 0,023$) maupun terhadap lama penggunaan antiglaukoma topikal berpengawet jangka panjang ($p = 0,040$) seperti tampak pada Tabel 5.

DISKUSI

Peningkatan ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 kemungkinan terjadi akibat induksi dari sitokin inflamasi dan apoptosis oleh BAC pada jaringan epitel konjungtiva. Konsentrasi BAC dalam antiglaukoma yang dipergunakan oleh pasien dalam penelitian ini adalah 0,01%. Menurut Nuzzi *et al.* BAC konsentrasi 0,01% merusak barier anatomik (membran sel) dan barier fungsional (beda potensial membran) permukaan okular pada penelitian binatang. Dengan pengamatan menggunakan mikroskop elektron tampak sel kehilangan mikrovilli secara total, kerusakan membran dan deskuamasi sel epitel yang diinduksi oleh BAC.⁸ Jean *et al.* juga melaporkan bahwa paparan sel dengan 0,1% dan 0,05% BAC menginduksi lisis sel segera setelah terapi. Seluruh sel yang diterapi dengan 0,1% BAC mati dalam 24 jam dengan tanda khas apoptosis kondensasi kromatin dan fragmentasi DNA, reduksi volume sel, ekspresi marker apoptosis Apo 2.7 dan perubahan DNA apoptotik. BAC menginduksi berhentinya pertumbuhan dan kematian sel pada konsentrasi rendah 0,0001%.⁹

Menurut Manni *et al.* dan Cvenkel *et al.* penggunaan antiglaukoma topikal berpengawet BAC jangka panjang menginduksi inflamasi subklinis pada konjungtiva yang ditandai oleh peningkatan ekspresi *human leukocyte antigen* (HLA-) DR, IL-6, IL-8 dan IL-10 oleh sel epitel.^{2,10}

Pada saat yang bersamaan ekspresi MMP dapat meningkat akibat ekspresi sitokin tersebut. Menurut Meller *et al.* sitokin inflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α bertanggungjawab terhadap peningkatan ekspresi MMP pada kultur fibroblast.¹¹ Pernyataan ini diperkuat oleh penelitian Leonardi *et al* yang menyatakan bahwa TNF- α meningkatkan ekspresi MMP-1 dan MMP-9, sedangkan IL-4 dan IL-13 menyebabkan penurunan ekspresi MMP-1 dan MMP-9 tetapi meningkatkan ekspresi TIMP-1 oleh fibroblast. IL-4 dan IL-13 meningkatkan produksi kolagen dan merubah equilibrium antara MMP-1 dan TIMP-1 sehingga mengakibatkan terbentuknya *giant papillae* dan *remodeling* jaringan pada penyakit alergi konjungtiva kronis.¹²

Penelitian *ex vivo* dan *invitro* timolol 0,5% dan latanoprost yang mengandung pengawet BAC menunjukkan efek proinflamasi dan proapoptotik yang lebih tinggi dibandingkan timolol 0,5% tanpa pengawet, tetapi kurang toksik dibanding pengawet BAC saja.³ Limb *et al.*

melaporkan bahwa pada keadaan induksi apoptosis, ekspresi MMP-1 terlokalisir bersama agregasi mitokondria dan terakumulasi disekitar nukleus yang terfragmentasi.¹³

Menurut Wong *et al.* dan Chakraborti *et al.*, ekspresi MMP ditemukan pada jaringan normal dengan kadar yang sangat rendah. Ekspresi MMP meningkat atau teraktivasi pada keadaan inflamasi dan remodeling jaringan sebagai respon terhadap sitokin, hormon, faktor pertumbuhan dan onkogen.^{14,15} Menurut Limb *et al.*, MMP-1 tidak hanya berperan di luar sel yang mengekspresikannya (ekstraseluler) saja tetapi juga di dalam sel sendiri itu sendiri (intraseluler). MMP-1 intraseluler berperan pada saat pembelahan sel dan pada proses kematian sel akibat apoptosis. Akumulasi MMP-1 ditemukan selama fase mitosis dari siklus sel.¹³

Wong *et al.*, melaporkan peranan TIMP-1 dalam proses remodeling jaringan.¹⁴ Ekspresi MMP-1 akan menurun pada fibroblast konjungtiva yang diyakini merupakan dasar dari remodeling jaringan sehingga terbentuk giant papillae pada penyakit alergi seperti keratokonjungtivitis vernalis dan keratokonjungtivitis atopik.¹² Menurut Hong *et al.*, penggunaan Timolol 0,5% berpengawet BAC selama 6 bulan atau lebih, yang dapat menyebabkan terjadinya metaplasia squamosa pada epitel konjungtiva.⁶ Metaplasia adalah perubahan jenis sel dari satu sub tipe ke sub tipe lainnya. Proses ini biasanya terjadi sebagai respons terhadap cedera atau iritasi kontinyu pada peradangan jaringan yang kronik.¹⁶ Perubahan jaringan epitel berupa metaplasia squamosa ini sudah terdeteksi setelah penggunaan BAC selama 3 bulan.⁶ Berdasarkan penelitian ini, kemungkinan meningkatnya ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 pada kelompok pengguna antiglaukoma topikal berpengawet BAC jangka panjang, berperan dalam patogenesis terjadinya metaplasia squamosa epitel konjungtiva.

Dari penelitian ini disarankan penelitian lanjutan untuk mengukur ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 pada jaringan epitel, stroma dan kapsul Tenon konjungtiva secara kuantitatif dengan *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), Flowcytometry atau *polimerase chain reaction* (PCR), selain itu juga untuk mengetahui hubungan ekspresi MMP-1 dan TIMP-1 dengan kejadian metaplasia squamosa epitel konjungtiva.

KESIMPULAN

Rerata ekspresi MMP-1 pada kelompok pengguna antiglaukoma tetes mata berpengawet BAC jangka panjang lebih tinggi dibandingkan rerata ekspresi MMP-1 pada kelompok kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Noecker RJ, Herrygers LA. Effect of Preservatives in Chronic Ocular Therapy. *Clinical and Refractive Optometry* 2004; 15: 43–8.
2. Manni G, Centofanti M, Oddone F. Interleukin-1 β Tear Concentration in Glaucomatous and Ocular Hypertensive Patients Treated With Preservative-Free Nonselective Beta-Blockers. *Am J Ophthalmol* 2004; 139: 72–7.

3. Pisella PJ, Debbasch C, Hamard P, Garcher CC, Rat P, Brignole F, *et al.* Conjunctival Proinflammatory and Proapoptotic Effects of Latanoprost and Preserved and Unpreserved Timolol: An Ex Vivo and In Vitro Study. *Invest Ophthalmology* 2004; 45: 1369–78.
4. Baudouin C, Hamard P, Liang H. Conjunctival epithelial cell expression of interleukins and inflammatory markers in glaucoma patients treated over the long term. *Am J ophthalmol* 2004; 12: 2186–92.
5. Ito, T., Ohguro, H., Mamiya, K., Ohgura, I., Nakazawa, M. Effect of Antiglaucoma Drops on MMP and TIMP Balance in Conjunctival and Subconjunctiva Tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47: 823–30.
6. Hong S, Lee CS, Seo KY, Seong GJ, Hong YJ. Effect of Topical Antiglaucoma Application on Conjunctival Impression Cytology Specimens. *Am J Ophthalmol* 2006; 142: 185–6.
7. Turacli E, Budak K, Kaur A, Mizrak B, Ekinci C. The Effects of Long-term Topical Glaucoma Medication on Conjunctival Impression Cytology. *International Ophthalmology* 1997; 21: 27–33.
8. Nuzzi R, Finazzo C, Cerruti A. Adverse Effects of Topical Antiglaucomatous Medications on the Conjunctiva and the Lacrimal (*Brit. Engl*) Response. *International Ophthalmology* 1998; 22: 31–5.
9. Jean MD, Brignole F, Bringuier AF, Bauchet A, Feldmann G, Baudouin C. Effect of Benzalkonium Chloride on Growth and Survival of Chang Conjunctival Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 619–30.
10. Cvankel B, Kopitar AN, Ihan A. Inflammatory Molecules in Aqueous Humour and on Ocular and Glaucoma Surgery Outcome. Clinical Study. Hindawi Publishing Corporation 2010. Mediator of Inflammation, Article ID 939602, doi: 10.1155/2010/939602;page 7
11. Meller D, Li DQ, Tseng SCG. Regulation of Collagenase, Stromelysin, and Gelatinase B in Human Conjunctival and Conjunctivochalasis Fibroblast by Interleukin-1 β and Tumor Necrosis Factor- α . *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 2922–29.
12. Leonardi A, Cortivo R, Fregona I, Plebani M, Secchi A.G, Abatangelo G. Effect of Th2 Cytokines on Expression of Collagen, MMP-1, and TIMP-1 in Conjunctival Fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 183–9.
13. Limb GA, Matter K, Murphy G, Cambrey AD, Bishop PN, Marris GE, Khaw PT. Matrix Metalloproteinase-1 Associated with Intracellular Organelles and Confers Resistance to Laminin A/C Degradation during Apoptosis. *Am J Pathol* 2005; 166: 1555–63.
14. Wong TT, Sethi C, Daniels JT, *et al.* Matrix Metalloproteinases in Disease and Repair Processes in the Anterior Segment. *Survey of Ophthalmology* 2002; 47: 239–55.
15. Chakraborti S, Mandal M, Das S, Mandal A, Chakraborti T. Regulation of matrix metalloproteinases: An overview. *Mol Cell Biochem* 2003; 253: 269–85.
16. Corwin EJ. Handbook of Patophysiology. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia; 1996.