

The Role of Ascorbic Acid on Endothelial Cell Damage in Phacoemulsification

Nika Bellarinatasari, Wasidhi Gunawan, Tri Wahyu Widayanti, Hartono

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

ABSTRACT

The objective of this study is to compare the corneal endothelial cell loss due to phacoemulsification surgery in ascorbic acid group and placebo group. This was a clinical study with double blinds randomized controlled trial. There were 66 subjects enrolled, divided into 2 groups: ascorbic acid group that was given 2 g orally with divided doses 500 mg four times at night, morning, afternoon and 2 hours before surgery (n = 32) and placebo group (n = 34). Endothelial cell counts was performed before and 7 days after phacoemulsification surgery. Administration of 2g ascorbic acid in divided doses of 500 mg given 4 times before phacoemulsification surgery caused less corneal endothelial cell loss $229,27 \pm 191,58$ cells/mm² ($9.10\% \pm 6.88\%$) compared with the administration of placebo which had endothelial cell loss $364,64 \pm 255,25$ cells/mm² ($14.85\% \pm 10.54\%$). There was statistically significantly different in endothelial cell loss between the two groups ($p < 0.05$), but no clinically significantly different. The baseline characteristic between the both groups was similar. Administration of 2 g ascorbic acid in divided doses of 500 mg given 4 times before phacoemulsification surgery can reduce the corneal endothelial cell loss.

Key words: phacoemulsification, ascorbic acid, endothelial cell loss

Correspondence: Nika Bellarinatasari, c/o: Bagian Mata RS Dr. Sardjito/Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Jalan Kesehatan I, Sekip Utara. Telp.: 0274552850. E-mail: nika_bella@yahoo.com

PENDAHULUAN

Operasi katarak fakoemulsifikasi merupakan teknik operasi dengan memecah nukleus lensa menjadi fragmen-fragmen kecil dengan memanfaatkan energi ultrasonik intensitas tinggi, kemudian diikuti dengan aspirasi fragmen-fragmen lensa. Salah satu komplikasi fakoemulsifikasi yang dapat mengganggu tajam penglihatan antara lain menurunnya jumlah sel endotel kornea akibat energy panas yang dikeluarkan mesin fakoemulsifikasi.¹ Jumlah sel endotel kornea dapat berkurang melalui beberapa cara. Salah satunya adalah timbulnya radikal-radikal bebas akibat gelombang ultrasonik (U/S) selama proses fakoemulsifikasi. Efek gelombang ini pada humor akuos menginduksi timbulnya kavitasi yang secara langsung menyebabkan disintegrasi molekul air (sonolisis air) menyebabkan terbentuknya radikal-radikal hidroksil dan atom hydrogen. Radikal hidroksil merupakan molekul oksigen reaktif yang paling poten.^{2,3,4}

Asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air. Sebagai antioksidan, peranan utama asam askorbat adalah menetralkan radikal bebas yang terbentuk selama proses fakoemulsifikasi. Netralisasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) oleh askorbat menghasilkan turunan radikal bebas askorbil. Pasangan radikal-radikal bebas askorbil secara spontan akan mengurai dengan hilangnya elektron yang tidak mempunyai pasangan (e-) sehingga menghasilkan dehidroaskorbat. Pada beberapa jaringan, radikal bebas askorbil diubah menjadi askorbat oleh reduktase radikal bebas askorbil. Dehidroaskorbat dikonversi menjadi askorbat melalui proses enzimatik yang melibatkan glutathione dan/atau nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) dan satu atau lebih dehydroascorbate (DHAA) reduktase. Di lain pihak, pada pH dan suhu sebagian besar cairan tubuh, terjadi reaksi kelima di mana DHAA mengurai dengan waktu paruh 6 menit dalam proses ireversibel secara biologik ke bentuk asam diketogulonat.⁵

Permasalahan penelitian ini adalah apakah ada perbedaan rerata penurunan jumlah kerusakan sel endotel akibat fakoemulsifikasi pada pemberian asam askorbat oral dibandingkan tanpa pemberian asam askorbat oral.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan asam askorbat oral dalam mengurangi kerusakan sel endotel kornea akibat fakoemulsifikasi.

METODE

Penelitian dimulai bulan Januari–Desember 2011 di RS Mata Dr. Yap, menggunakan rancangan penelitian *Randomized Clinical Trial Double Blind*. Teknik pengambilan sampel dengan cara *consecutive sampling*, sehingga didapatkan 64 subjek. Alokasi random dengan menggunakan komputer, sehingga terbagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok asam askorbat 2 g dengan dosis terbagi 500 mg diberikan 4 kali sebanyak 32 orang dan kelompok kontrol tanpa pemberian asam askorbat sebanyak 34 orang. Satu hari sebelum operasi dan 7 hari setelah operasi fakoemulsifikasi, subjek dilakukan pemeriksaan jumlah sel endotel kornea sentral dengan mikroskop spekular. Operasi fakoemulsifikasi dilakukan oleh satu operator dengan teknik *phaco chop* dan menggunakan mesin Infinity®. Data penelitian yang didapat kemudian diolah dan dianalisis statistik dengan uji t tidak berpasangan.

HASIL

Pada tabel 1 menggambarkan karakteristik subjek penelitian. Pada subjek penelitian terdapat pria 36 orang (54,5%) dan 30 orang wanita (45,5%), dibagi menjadi dua kelompok yang secara statistik tidak ada perbedaan yang bermakna ($p = 0,621$). Rerata usia subjek penelitian pada kedua kelompok tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik, yaitu kelompok asam askorbat $63,75 \pm 9,57$ tahun dan kelompok kontrol $63,79 \pm 10,93$ tahun ($p = 0,986$). Diabetes mellitus ditemukan 12 subjek (18,2%) pada kedua kelompok. Pada kedua kelompok tersebut tidak ada perbedaan yang bermakna ($p = 0,532$).

Derajat kekerasan nukleus lensa berdasarkan klasifikasi Emery-Little diambil subjek yang mempunyai kekerasan lensa derajat II (71,2%) dan III (28,8%). Pada kedua kelompok tersebut tidak ada perbedaan yang bermakna ($p = 0,283$).

Rerata tekanan bola mata pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna secara statistik, yaitu kelompok kontrol sebesar $14,68 \pm 3,00$ mmHg dan kelompok asam askorbat $15,22 \pm 3,76$ mmHg ($p = 0,522$). Rerata panjang aksial bola mata pada kelompok kontrol $23,71 \pm 1,36$ mm dan kelompok asam askorbat $23,76 \pm 1,48$ mm. Pada kedua kelompok tidak ada perbedaan yang bermakna pada variabel panjang aksial bola mata ($p = 0,892$). Kedalaman

bilik mata depan pada kelompok kontrol $3,04 \pm 0,55$ mm dan kelompok asam askorbat $3,13 \pm 0,51$ mm, tidak ada perbedaan yang bermakna antara keduanya ($p = 0,506$). Rerata diameter pupil sesaat sebelum operasi tidak berbeda bermakna antara kedua kelompok, yaitu kelompok kontrol $8,04 \pm 0,85$ mm dan kelompok asam askorbat $8,36 \pm 0,70$ mm ($p = 0,103$).

Waktu fako pada kelompok kontrol $2,18 \pm 0,90$ menit dan kelompok asam askorbat $2,24 \pm 0,83$ menit, tidak ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok ($p = 0,755$). Rerata lama operasi pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna ($p = 0,119$). Pada kelompok kontrol $21,88 \pm 3,24$ menit dan kelompok asam askorbat $20,44 \pm 4,09$ menit.

Variabel usia, jenis kelamin, riwayat penyakit dahulu, derajat kekerasan nukleus lensa, tekanan bola mata, panjang aksial bola mata, kedalaman bilik mata depan, diameter pupil, lama operasi, dan waktu fako dianggap tidak memengaruhi kerusakan sel endotel selama operasi fakoemulsifikasi pada penelitian ini.

Pada tabel 2 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara dua kelompok pada jumlah sel endotel sebelum dilakukan operasi ($p = 0,392$), dengan rerata jumlah sel endotel pada kelompok asam askorbat $2418,81 \pm 340,57$ sel/mm² dan pada kelompok kontrol $2490,10 \pm 330,54$ sel/mm².

Pada tujuh hari setelah operasi fakoemulsifikasi, jumlah sel endotel diperiksa kembali dan hasilnya tidak ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok ($p = 0,457$), dengan rerata jumlah sel endotel pada kelompok asam askorbat $2189,54 \pm 293,41$ sel/mm² dan kelompok kontrol $2125,46 \pm 396,55$ sel/mm².

Rerata penurunan jumlah sel endotel sebesar $364,64 \pm 255,25$ sel/mm² pada kelompok kontrol dan $229,27 \pm 191,58$ sel/mm² pada kelompok asam askorbat, dengan uji t tidak berpasangan menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok ($p = 0,017$).

Penurunan jumlah sel endotel sebesar $364,64 \pm 255,25$ sel/mm² pada kelompok kontrol dan $229,27 \pm 191,58$ sel/mm² pada kelompok asam askorbat, dengan selisih jumlah sebesar $135,37 \pm 63,67$ sel/mm² memberi perbedaan yang tidak bermakna secara klinis. Jumlah sel endotel kornea yang dianggap kritis adalah 500–700 sel/mm², sehingga bila terjadi kehilangan sel endotel kornea sampai menjadi kurang dari 500 sel/mm² maka akan terjadi edema kornea yang permanen atau keratopati bulosa.¹

Pada tabel 3 diketahui terjadi persentase penurunan jumlah sel endotel dari sebelum operasi fakoemulsifikasi sebesar $14,85 \pm 10,54\%$ pada kelompok kontrol dan $9,10 \pm 6,88\%$ pada kelompok asam askorbat. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa energi U/S pada fakoemulsifikasi dapat menyebabkan kerusakan sel endotel dengan ditandai penurunan jumlah sel endotel kornea sentral.

Tabel 1. Variabel-Variabel Subjek Penelitian

Variabel	Kelompok kontrol n (%)	Kelompok asam askorbat n (%)	Nilai p
Jenis kelamin			0,621
• Pria	20 (58,8%)	16 (50%)	
• Wanita	14 (41,2%)	16 (50%)	
Usia (tahun)	63,79 ± 10,93	63,75 ± 9,57	0,986
Riwayat penyakit dahulu			0,532
• Tidak ada	29 (85,3%)	25 (78,1%)	
• DM	5 (14,7%)	7 (21,9%)	
Derajat kekerasan nukleus lensa			0,283
• II	22 (64,7%)	25 (78,1%)	
• III	12 (35,3%)	7 (21,9%)	
Tekanan bola mata (mmHg)	14,68 ± 3,00	15,22 ± 3,76	0,522
Panjang aksial (mm)	23,71 ± 1,36	23,76 ± 1,48	0,892
Kedalaman bilik mata depan (mm)	3,04 ± 0,55	3,13 ± 0,51	0,506
Diameter pupil (mm)	8,04 ± 0,85	8,36 ± 0,70	0,103
Waktu fako (menit)	2,18 ± 0,90	2,24 ± 0,83	0,755
Lama operasi (menit)	21,88 ± 3,24	20,44 ± 4,09	0,119

Tabel 2. Perbandingan Jumlah Sel Endotel antara Dua Kelompok

Variabel	Kelompok kontrol n ± SD	Kelompok asam askorbat n ± SD	Nilai p
Jumlah sel endotel sebelum operasi (sel/mm ²)	2490,10 ± 330,54	2418,81 ± 340,57	0,392
Jumlah sel endotel sesudah operasi (sel/mm ²)	2125,46 ± 396,55	2189,54 ± 293,41	0,457
Selisih jumlah sel endotel (sel/mm ²)	364,64 ± 255,25	229,27 ± 191,58	0,017

Tabel 3. Persentase Rerata Penurunan Jumlah Sel Endotel Kornea

Penurunan Jumlah Sel Endotel (%)	Kelompok kontrol (%)	Kelompok asam askorbat (%)	Nilai p
Rerata ± SD	14,85 ± 10,54	9,10 ± 6,88	0,011

PEMBAHASAN

George *et al.*, membandingkan penurunan jumlah sel endotel kornea setelah operasi katarak *extracapsular cataract extraction* (ECCE), *small incision cataract surgery* (SICS), dan fakoemulsifikasi, di mana pada operasi ECCE 4,72%, SICS 4,21%, dan fakoemulsifikasi 5,41%.⁶

Pirazolli *et al.*, melaporkan adanya sel endotel yang hilang sebesar 4,72% pada teknik *phaco chop* dan 13,8% pada teknik *divide & conquer*. Pada penelitian ini operasi fakoemulsifikasinya menggunakan teknik *phaco chop* dengan persentase rerata kehilangan sel endotel sebesar 12,06 ± 9,34%.⁷

Mekanisme kerusakan sel endotel kornea antara lain dengan terbentuknya radikal bebas akibat energi U/S fakoemulsifikasi. Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Geffen *et al.*, mempelajari risiko relatif apoptosis yang diinduksi radikal bebas pada sel endotel kornea yang dikultur. Bahkan terbukti bahwa jumlah sel-sel apoptotik tampak menurun secara signifikan setelah fakoemulsifikasi dengan penambahan antioksidan asam askorbat.⁸

Pada penelitian ini pemberian asam askorbat oral dapat menurunkan kerusakan sel endotel kornea, yang ditandai dengan penurunan rerata jumlah kerusakan sel endotel kornea sentral, dibandingkan dengan kelompok kontrol (%). Hasil uji t tidak berpasangan pada kerusakan jumlah

sel endotel antara 2 kelompok ini berbeda bermakna secara statistika ($p = 0,011$), tetapi perbedaan ini tidak bermakna secara klinis. Hasil ini berbeda dengan penelitian Munoz.⁹

Pada penelitian Munoz *et al.*, yang meneliti mengenai pemberian asam askorbat oral 2 gram untuk melindungi sel endotel kornea manusia dari fakoemulsifikasi, hasilnya pada kelompok asam askorbat tidak ada penurunan sel endotel yang bermakna (7,49%) dari sebelum operasi 2008,75 sel/mm² menjadi 1858,25 sel/mm² setelah operasi 3 bulan ($p > 0,05$). Pada kelompok kontrol ada penurunan sel endotel yang bermakna (22,76%) dari sebelum operasi 2103 sel/mm² menjadi 1624,4 sel/mm² setelah 3 bulan operasi ($p < 0,05$).⁹

Dosis pemberian asam askorbat penelitian ini berbeda dengan penelitian Munoz. Penelitian ini menggunakan asam askorbat 2 g dengan dosis terbagi 500 mg diberikan 4 kali, yang diberikan sehari sebelum operasi hingga 2 jam sebelum operasi dilaksanakan. Pada penelitian Hickey *et al.*, menjelaskan bahwa pemberian asam askorbat oral dosis tunggal dapat mencapai kadar plasma yang sama dengan asam askorbat oral dosis terbagi dan dapat dipertahankan dalam waktu yang lebih lama. Hal ini akibat mekanisme absorpsi di usus dan ginjal mencapai titik jenuh, sehingga lebih baik mengkonsumsi asam askorbat dalam dosis kecil dan terbagi dalam sehari daripada pemberian dalam satu kali dosis besar sekaligus.¹⁰

Asam askorbat mempunyai efek toksik ringan, dan efek sampingnya berhubungan dengan dosis. Diare atau keluhan perut kembung dapat terjadi bila minum beberapa gram sekaligus, meskipun tidak ada indikasi pemakaian dengan dosis tersebut. Efek samping umumnya tidak serius dan dapat membaik dengan mengurangi asupan asam askorbat. Selain itu, tidak ada data yang konsisten pada efek kesehatan yang serius vitamin C pada manusia.¹⁰ Pada penelitian ini, terdapat 5 subjek yang mengeluh nyeri perut setelah pemberian asam askorbat. Lima subjek tersebut mempunyai riwayat sakit gastritis sebelumnya, sehingga pemberian asam askorbat memicu gejala tersebut. Setelah diberikan obat antasida, keluhan tersebut berkurang.

Pada evaluasi tujuh hari setelah operasi, subjek dianamnesis mengenai adanya keluhan nyeri pinggang dan gangguan kencing terkait pemberian asam askorbat. Semua subjek menyatakan tidak ada keluhan nyeri pinggang maupun gangguan kencing terkait batu ginjal atau hiperoksaluria.

Keterbatasan penelitian ini adalah evaluasi kerusakan sel endotel kornea yang pendek dan tidak dilakukan pemeriksaan laboratorium terkait efek samping hiperoksaluria akibat pemberian asam askorbat dosis tinggi pada subjek. Saran

untuk perbaikan penelitian selanjutnya agar dilakukan evaluasi kerusakan sel endotel kornea yang lebih panjang (3 bulan) dan dilakukan pemeriksaan laboratorium untuk mendeteksi hiperoksaluria.

KESIMPULAN

Pemberian asam askorbat 2 g dengan dosis terbagi 500 mg diberikan 4 kali pada operasi fakoemulsifikasi menimbulkan rerata penurunan jumlah sel endotel kornea sebesar $229,27 \pm 191,58$ sel/mm², dan pada kelompok plasebo sebesar $364,64 \pm 255,25$ sel/mm². Persentase penurunan jumlah sel endotel kornea sebesar $9,10\% \pm 6,88\%$ pada kelompok asam askorbat dan $14,85\% \pm 10,54\%$ pada kelompok plasebo. Terdapat perbedaan yang bermakna pada rerata penurunan jumlah sel endotel dan persentase penurunan jumlah sel endotel kornea antara kedua kelompok tersebut meskipun hasil ini tidak memberi perbedaan secara klinis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Istiantoro S, Johan AH. *Transisi Menuju Fakoemulsifikasi*. Granit. Jakarta, 2004, hal 5, 178.
2. Gardner JM, Aust SD. Quantification of hydroxyl radical produced during phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg*. 2009; 35: 2149–2153.
3. Takahashi, H. Free radical development in phacoemulsification cataract surgery. *J Nippon Med Sch*. 2005; 72: 4–12.
4. Nemet AY, Assia EI, Meyerstein D, Meyerstein N, Gedanken A, Topaz M. Protective effect of free-radical scavengers on corneal endothelial damage in phacoemulsification. *J Cataract Refract Surg*. 2007; 33: 310–315.
5. Rose RC, Richer ST, Bode AM. Ocular oxidants and antioxidant protection. *Society for Experimental Biology and Medicine*. 1999; 217: 397–408.
6. George R, Rupauliha P, Sripriya AV, Rajesh PS, Vahan PV, Praveen S. Comparison of Endothelial Cell Loss and Surgically Induced Astigmatism following Conventional Extracapsular Cataract Surgery, Manual Small-Incision Surgery and Phacoemulsification. *Ophthalmic Epidemiology*. 2005; 12: 293–297.
7. Pirazzoli G, D'Eliseo D, Ziosi M, Acciarri R. Effects of phacoemulsification time on the corneal endothelium using phacofracture and phaco chop techniques. *J Cataract Refract Surg*. 1996; 22(7): 967–9.
8. Geffen N, Topaz M, Kredy-Farhan L, Barequet IS, Farzam N, Assia EI, Savion N. Phacoemulsification-induced injury in corneal endothelial cells mediated by apoptosis: in vitro model. *J Cataract Refract Surg*. 2008; 34: 2146–2152.
9. Munoz NP, Paredes EM, Graue E, Mondragon EC. Vitamin C has a protective effect against corneal endothelial cell loss produced by phacoemulsification in humans. *AAO Congress*, Chicago. 2010.
10. Hickey S, Roberts HJ, Miller NJ. Pharmacokinetics of oral vitamin C. *J. Nutr and Environmental Med*. 2008; 17(3): 169–177.