

Differences in Levels of Placenta Growth Factor in The Vitreous After Administration of Aflibercept Compared to the Control Group of Proliferative Diabetic Retinopathy

Arnita Novitasari Saubig, Arief Wildan, Afrisal Hari Kurniawan

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Diponegoro University

Dr Kariadi Hospital, Semarang, Central Java

E-mail: nila.bramanto@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: to compare the levels of Placenta Growth Factor in the vitreous on patients with proliferative diabetic retinopathy at Aflibercept administration with control.

Method: This is a prospective experimental study with post-test with control design. Subjects were taken from 24 eyes from 24 patients, who came to dr. Kariadi General Hospital and National Diponegoro Hospital between March until September 2016. Subjects were divided into the patient with Aflibercept administration and control. Study variables in this study are Placenta Growth Factor levels in the vitreous in the patient with diabetic proliferative retinopathy. Measurements of PIGF levels with ELISA methods are conducted at GAKI Laboratory, Medical Faculty, Diponegoro University. This data tested for normality used with Saphiro Wilk, and homogeneity variance with Lavene and test hypothesis used with Mann Whitney.

Results: Sample of this study are 24 patients proliferative diabetic retinopathy, twelve are the control group, and twelve are Aflibercept group. Average levels of PIGF in the control group are 263,97 pg/ml + 354,98 SD, with minimum value 12,19 pg/ml and maximum value 1002,00 pg/ml. Average levels of PIGF in the treatment group are 92,84 pg/ml + 9,54 SD, with minimum value 76,45 pg/ml and maximum value 112,30 pg/ml. Hypothesis test results obtained significance value 0,488.

Conclusion: There was no significant difference between PIGF levels in the control group and the treatment group.

Keywords: Placenta Growth Factor, Aflibercept, Proliferative Diabetic Retinopathy

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia sebagai akibat kelainan sekresi atau kerja insulin atau dikarenakan oleh keduanya yang dapat mengakibatkan kelainan pada mata. Komplikasi vaskular pada DM dapat dibedakan menjadi makroangiopati diabetika dan mikroangiopati diabetika. Mikroangiopati diabetika terjadi apabila mengenai pembuluh darah kecil seperti pada retinopati diabetika, nefropati diabetika dan neuropati diabetika.¹⁻⁴

Retinopati diabetika merupakan penyebab kebutaan paling sering ditemukan pada usia dewasa antara 20 sampai 74 tahun. Prevalensi retinopati diabetika di Indonesia mencapai 27,2% dari populasi penderita diabetes mellitus, sedangkan untuk prevalensi retinopati diabetika di dunia sekitar 150 juta orang. Berdasarkan *The National Diabetes Data Group* kurang lebih 90% kasus retinopati diabetika terjadi setelah 15 tahun menderita.

Retinopati Diabetika merupakan suatu komplikasi dari penyakit Diabetes Mellitus yang telah berlangsung lama dan kontrol yang buruk terhadap penyakit tersebut, yang dapat mengakibatkan berkurangnya tajam penglihatan yang cukup signifikan bahkan dapat mengakibatkan kebutaan yang permanen.

Penatalaksanaan pada retinopati diabetika selain pengaturan diet, pengendalian kadar gula darah, pemberian obat anti diabetika, juga diperlukan terapi antara lain laser fotokoagulasi fokal atau grid pan retinal atau scatter, injeksi steroid intravitreal, pemberian injeksi intravitreal anti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan operasi vitrektomi pars plana.^{3,6,8,11,13}

Placenta Growth Factor (PGF) merupakan suatu *homodimeric glycoprotein* yang merupakan salah satu anggota VEGF. Kadar PIGF diperiksa karena memiliki peran pada terjadinya perubahan proliferasi endotelial sel dan permeabilitas vaskular. Kadar PIGF dalam

cairan vitreus penderita retinopati diabetika meningkat.

Aflibercept atau VEGF Trap adalah *soluble decoy receptor* yang merupakan reseptor perangkap dari VEGF, VEGF-trap mempunyai kemampuan mengikat VEGF dan berkompetisi dengan reseptor natural VEGF reseptor.

Pada penelitian ini akan mengukur perbedaan kadar PIGF cairan vitreus setelah pemberian Aflibercept dibanding dengan kontrol pada penderita retinopati diabetika proliferasif, dimana diharapkan setelah pemberian Aflibercept kadar PIGF dapat mengalami perubahan yang cukup signifikan dibanding dengan kelompok kontrol.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental prospektif *post test with control design*. Cara pemilihan sampel dilakukan dengan metode *consecutive sampling*. Data yang dikumpulkan merupakan pasien retinopati diabetika proliferasif yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi pada instalasi rawat jalan dan rawat inap Rumah Sakit dr. Kariadi Semarang dan Rumah Sakit Nasional Diponegoro Maret 2016 sampai dengan Agustus 2016.

Pengukuran kadar PIGF pada cairan vitreus dengan metode ELISA dilakukan di laboratorium GAKI Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

HASIL

Pengumpulan sampel penelitian dilakukan mulai bulan Maret sampai Agustus 2016. Selama periode penelitian diperoleh 24 sampel yaitu 12 sampel dari kelompok kontrol dan 12 sampel kelompok yang diberi perlakuan dengan Aflibercept.

Tabel 1. menunjukkan distribusi frekuensi jenis kelamin dan umur pada kelompok kontrol dan perlakuan.

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Jenis Kelamin dan Umur berdasarkan Kelompok Kontrol dan Perlakuan

Kategori	Jenis Kelamin		Usia (th)				
	Laki laki	Perempuan	<41	41-50	51-60	>60	
Kontrol	n	4	8	1	2	8	1
	%	16,67	33,33	4,17	8,33	33,33	4,17
Aflibercept	n	5	7	1	4	4	3
	%	20,83	29,17	4,16	16,67	16,67	12,5

Tabel 2. Uji Korelasi kadar HBA1C terhadap PIGF

Kategori	Min	Maks	Median	Rerata	SD	P
HBA1C	5,70	12,70	8,00	8,60	2,06	0,134
Kadar PIGF (pg/ml)	12,19	1002,0	93,50	178,40	260,66	

Pada tabel tersebut menunjukkan distribusi frekuensi jenis kelamin pada kelompok kontrol dan perlakuan, dapat juga dilihat bahwa distribusi frekuensi umur antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan merata.

Tabel 2 menunjukkan data HBA1C sampel, dimana didapatkan angka antara 5,70 sampai 12,70 %. Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan Uji Korelasi Spearman's untuk menilai pengaruh HBA1C terhadap kadar PIGF penderita retinopati diabetika proliferasif. Dari hasil uji diperoleh nilai signifikansi $p = 0,134$, maka dapat disimpulkan bahwa kadar HBA1C tidak berpengaruh terhadap kadar PIGF penderita retinopati diabetika proliferasif.

Tabel 3. menunjukkan data yang diperoleh diuji dengan menggunakan uji *Mann Whitney* untuk menilai pengaruh kadar gula darah terhadap kadar PIGF penderita retinopati diabetika proliferasif kelompok kontrol dan perlakuan. Dari hasil uji kelompok kontrol diperoleh nilai signifikansi $p = 0,166$, maka dapat disimpulkan bahwa kadar gula darah tidak

berpengaruh terhadap kadar PIGF penderita diabetika proliferasif kelompok kontrol, pada kelompok perlakuan dari hasil uji diperoleh nilai signifikansi $p = 0,020$ ($p < 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa kadar gula darah berpengaruh terhadap kadar PIGF penderita diabetika proliferasif kelompok perlakuan.

Kadar PIGF pada kelompok kontrol memiliki rata-rata sebesar $263,97 \text{ pg/ml} \pm 354,98 \text{ SD}$. Kadar PIGF terendah pada kelompok ini adalah $12,19 \text{ pg/ml}$, dan tertinggi adalah $1002,00 \text{ pg/ml}$. Kadar PIGF pada kelompok perlakuan memiliki rata-rata sebesar $92,84 \text{ pg/ml} \pm 9,54 \text{ SD}$. Kadar PIGF terendah pada kelompok ini adalah $76,45 \text{ pg/ml}$, dan tertinggi adalah $112,30 \text{ pg/ml}$.

Data yang diperoleh diuji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk*. Analisis data selanjutnya menggunakan uji *Mann Whitney* untuk membandingkan kadar PIGF antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Hasil uji tersebut diperoleh nilai signifikansi sebesar $0,488$, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat

Tabel 3. Uji Beda Kadar PIGF Kelompok Kontrol dan Perlakuan berdasarkan Kadar Gula Darah

Kategori	Kadar Gula Darah (mg/dl)	Kadar PIGF (pg/dl)					P
		Min	Maks	Median	Rerata	SD	
Kontrol	≥ 150	12,19	297,23	105,31	122,56	102,75	0,166
	≤ 150	65,52	1002,00	997,17	688,23	539,28	
Aflibercept	≥ 150	88,70	112,30	95,90	97,11	7,75	0,02
	< 150	76,45	91,76	84,54	84,32	6,94	

Tabel 4. Kadar PIGF pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok	Kadar PIGF (pg/ml)				P
	Min	Maks	Mean	SD	
Kontrol	12,19	1002,00	263,97	354,98	0,488
Perlakuan	76,45	112,30	92,84	9,54	

perbedaan yang signifikan antara kadar PIGF kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan (Tabel 4).

DISKUSI

Placenta Growth Factor (PIGF) merupakan suatu *homodimeric glycoprotein* yang merupakan salah satu anggota VEGF. Kadar PIGF diperiksa karena memiliki peran pada terjadinya perubahan proliferasi endotelial sel dan permeabilitas vaskular. *Placenta Growth Factor* merupakan bagian dari VEGF famili yang kemudian berikatan dengan VEGFR 1 dan memicu terbentuknya neovaskularisasi dan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain jenis kelamin, usia, kehamilan, inflamasi dan keganasan.

Placenta Growth Factor merupakan bagian dari VEGF famili yang kemudian berikatan dengan VEGFR 1 dan memicu terbentuknya neovaskularisasi dan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain jenis kelamin, usia, kehamilan, inflamasi dan keganasan. Kadar PIGF diperiksa karena memiliki peran pada terjadinya perubahan proliferasi endotelial sel dan permeabilitas vaskular. *Placenta Growth Factor* ditemukan meningkat pada beberapa penyakit yang melibatkan proses neoangiogenesis, selain itu PIGF juga dibutuhkan untuk efek angiogenik dari VEGF pada iskemi retina. *Placenta Growth Factor* didapatkan meningkat pada semua sampel cairan vitreus penderita retinopati diabetika proliferasi dengan kadar sekitar 103 pg/ml dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu sekitar 7,0 – 12,0 pg/ml dan dapat ditemukan pada daerah endotel, perivaskular, daerah neovaskularisasi dan fibrovaskular preretinal membran. *Placenta Growth Factor* tidak secara langsung memicu

proliferasi endotelial sel atau permeabilitas vaskular tetapi memicu aktivitas dari VEGF, pada penelitian genetika didapatkan bahwa terdapat hubungan sinergis antara VEGF dan pada proses terjadinya angiogenesis.^{9,14,16,29,30}

Menurut penelitian Mitamura *et al* yang menunjukkan adanya peningkatan kadar PIGF pada retinopati diabetika proliferasi. Penelitian Ando *et al* menunjukkan peningkatan kadar PIGF dalam humor aquous pada penderita retinopati diabetika. Pada penelitian Khaliq *et al* menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kadar PIGF yang terlihat pada pembuluh darah retina dan *fibrovascular preretinal membranes*. Kadar PIGF pada keadaan normal tidak pernah ditemukan pada cairan vitreus normal tetapi ditemukan pada semua cairan vitreus penderita retinopati diabetika proliferasi dengan kadar sekitar 103 pg/ml, hal ini didukung oleh penelitian A Khaliq *et al*.¹⁴⁻¹⁶ Seluruh sampel pada penelitian ini menunjukkan adanya kadar PIGF, sehingga sesuai dengan penelitian tersebut diatas.

Aflibercept atau VEGF Trap adalah *soluble decoy receptor* yang merupakan reseptor yang mampu menangkap VEGF. *Vascular Endothelial Growth Factor* trap mempunyai kemampuan untuk mengikat VEGF dan berkompetisi dengan reseptor VEGF. Aflibercept mempunyai afinitas yang lebih tinggi terhadap VEGF bila dibandingkan dengan Ranibizumab. Aflibercept sebagai anti VEGF mampu mengikat VEGF-A, VEGF-B dan PIGF hal ini disebabkan karena Aflibercept mempunyai kemampuan untuk menghilangkan zat proangiogenik. *Vascular Endothelial Growth Factor-A* mampu mengikat dengan baik VEGFR-1 dan VEGFR-2 dimana PIGF hanya mampu mengikat VEGFR-1.⁸⁻¹⁶ Aflibercept

mempunyai waktu paruh 4,7 hari. Aflibercept merupakan anti VEGF yang sudah digunakan untuk terapi *Age-related Macular Degeneration (wet AMD)*, *Central Retinal Vein Occlusion (CRVO)* dan *Diabetic Macular Edema*. Retinopati diabetika merupakan komplikasi dari diabetes melitus yang disebabkan oleh adanya kebocoran pada *blood retina barrier* sehingga menyebabkan inflamasi dan iskemik. *Vascular Endothelial Growth Factor* trap dapat berperan sistemik atau lokal (intraokular), salah satunya Aflibercept yang merupakan fusi protein yang mempunyai afinitas tinggi pada VEGFR1 dan VEGFR2.

Penelitian pada *Diabetic Macular Edema (VIVID-DME dan VISTA-DME)* dengan pemberian Aflibercept menunjukkan bahwa injeksi Aflibercept intravitreal dapat ditoleransi secara baik dan juga menunjukkan adanya perbaikan penglihatan dan anatomi dibandingkan kelompok laser fotokoagulasi. Aflibercept pada tingkat sel memiliki kemampuan yang dapat menembus seluruh lapisan retina sehingga dapat menangkap PIGF yang diinduksi oleh vaskuler pada perubahan retina pada tahap awal retinopati diabetika.⁸⁻¹⁶ Aflibercept sendiri pada saat ini berperan sebagai terapi terbaru sebagai antiangiogenik di bidang oftalmologi dan dikatakan memiliki peran dalam perbaikan pada segi anatomi dan fungsional terhadap beberapa penyakit yang mengalami proses angiogenesis, dimana PIGF terlibat dalam proses angiogenesis.¹⁷

Pada penelitian diperoleh perbedaan kadar PIGF yang tidak signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, hal ini dapat disebabkan oleh PIGF yang secara progresif meningkat pada penderita retinopati diabetika pada fase awal dimana semua sampel pada penelitian ini adalah penderita retinopati diabetika proliferasif. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Kowalczyk yang menyatakan bahwa PIGF meningkat secara progresif pada bulan pertama sampai bulan ke dua belas penderita retinopati diabetika, ketika

hanya mikroaneurisma saja yang tampak.³³ Telah disebutkan diatas bahwa Aflibercept pada tingkat sel memiliki kemampuan yang dapat menembus seluruh lapisan retina sehingga dapat menangkap PIGF yang diinduksi oleh vaskuler pada perubahan retina pada tahap awal retinopati diabetika. Terdapat juga penelitian baru oleh Zehetner *et al* pada tahun 2015 bahwa terdapat mekanisme sistemik *counterregulatory* yang menyatakan terjadi peningkatan PIGF pada plasma setelah satu minggu pasca pemberian injeksi intravitreal.²¹ Mekanisme sistemik tersebut disebabkan oleh karena adanya aksi kompensasi pada PIGF dimana terjadi peningkatan kadar PIGF ketika terjadi penurunan kadar VEGF yang cukup signifikan. Menurut Patricia *et al* pada pasien kanker kolorektal dengan pemberian Aflibercept, bahwa PIGF dapat mengalami resistensi terhadap obat antiangiogenik dengan meningkatkan sinyal angiogenik ketika terjadi blokade pada VEGF.³⁹ Hal serupa juga dikatakan oleh Sennino B *et al* pada pasien kanker dengan pemberian Aflibercept, menyatakan dengan adanya blokade terhadap VEGF akan terjadi aksi kompensasi dari berbagai *growth factors* seperti Angiopoietin, *Fibroblast Growth Factor*, PIGF, dan *Platelet Growth Factor*.⁴⁰ Berdasarkan hal tersebut di atas penggunaan Aflibercept pada kadar PIGF penderita retinopati diabetika proliferasif tidak signifikan mengalami penurunan dan bahkan dapat meningkatkan kadar PIGF. Hal tersebut sesuai dengan hasil yang didapatkan pada penelitian ini. Penelitian ini merupakan penelitian yang belum didapatkan nilai pembandingnya dikarenakan belum terdapat penelitian sebelumnya yang memeriksa mengenai kadar PIGF pada cairan vitreus penderita retinopati diabetika proliferasif yang diberi perlakuan dengan menggunakan injeksi Aflibercept.

Keterbatasan pada penelitian ini terutama didapatkan pada jumlah sampel yang kecil, referensi penelitian sebelumnya yang jarang, disebabkan belum adanya penelitian mengenai kadar PIGF pada

cairan vitreus yang diberi perlakuan, sehingga diharapkan penelitian selanjutnya membandingkan kadar PIGF pada cairan vitreus dan kadar PIGF pada plasma darah pada penderita retinopati diabetika non proliferasif dan proliferasif.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini didapatkan kadar PIGF pada kelompok retinopati diabetika proliferasif kelompok kontrol memiliki rata-rata sebesar $263,97 \text{ pg/ml} \pm 354,98 \text{ SD}$. Kadar PIGF pada kelompok retinopati diabetika proliferasif kelompok perlakuan memiliki rata-rata sebesar $92,84 \text{ pg/ml} \pm 9,54 \text{ SD}$.

Pada penelitian ini juga didapatkan perbedaan yang tidak signifikan antara kadar PIGF antara kelompok retinopati diabetika proliferasif kelompok kontrol dengan kelompok retinopati diabetika proliferasif kelompok perlakuan dengan nilai signifikansi $p=0,488$.

REFERENSI

1. Tjokropawiro A. Makro dan Makroangiopati Diabetika. Dalam : Ilmu Penyakit Dalam. Edisi kedua. Vol 1. Balai Penerbit FKUI. Jakarta. 1987 : 394.
2. American Diabetes Assosiation. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2010; 33: S62-S69.
3. Subardjo, Hartono. Retina dan Vitreus. Dalam: Ilmu Kesehatan Mata. Bagian Ilmu Kesehatan Mata Universitas Gadjah Mada. 2012: 96-99.
4. Soebardi, Suharko. Retinopati Diabetika : Perspektif Endokrinologi. Dalam : Retina dari Pedriatik hingga Geriatri. Jakarta: Jakarta Eye Center. 2011: 137-152.
5. Darmono, Suhartono T, Pemayun T.G.D. Diabetes Melitus ditinjau dari berbagai Aspek Penyakit Dalam. Balai Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang. 2007: 15-70.
6. Zenoni S, Comi N, Fontana P. Individualised Treatment of Proliferative Diabetic Retinopathy: Optimal Surgical Timing Improves Long-term Outcome. EPMA Journal. 2010; 1: 78-81.
7. Vaughn DG, Asbury T. Oftalmologi Umum. Edisi 14. Jakarta : Widya Medika. 2000: 211.
8. Bandello F, Lattanzio R. Pathophysiology and treatment of diabetic retinopathy. Acta Diabetol. Italia : Springer Verlag. 2012.
9. Campochiaro PA. Ocular neovascularization. J Mol Med. Heidelberg : Springer Verlag. 2013.
10. Gupta N, Mansoor S, Sharma A. Diabetic retinopathy and VEGF. The Open Ophthalmology Journal. 2013(7): 4-10.
11. Liesegang TJ, Grand MG, Deutsch TA. Diabetic Retinopathy. In Retinal and Vitreous. Section 12. Chapter V. Basic and Clinical Science Course. San Fransisco : Amarecan Academy of Ophthalmology. 2010-2011: 109-132.
12. Kanski JJ, Bowling B. Clinical Ophthalmology A Systematic Approach. 7th ed. Elsevier Saunders. 2011: 534-51.
13. Kollias AN, Ulbig MW. Diabetic Retinopathy Early Diagnosis and Effective Treatment. Deutsches Arzteblatt International. 2010; 107(5): 75-84.
14. Mitamura Y, Tashimo A, Nakamura Y. Vitreous Levels of Placenta Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor in Patients With Proliferative Diabetic Retinopathy. Diabetes Care. 2002 (25) : 12.
15. Khaliq A, Foreman D, Ahmed A. Increased expression of placenta growth factor in proliferative diabetic retinopathy. Pubmed. 1998; 78(1) : 109-16.
16. Jousseaume AM, Gardner TW. Retinal Vascular Disease. Springer Verlag Heidelberg. 2007.
17. Tombran T. Ocular Angiogenesis Disease Mechanism and Therapeutics. Humana Press Totowa, New Jersey. 2006.
18. Mitamura Y, Tashimo A, Nakamura Y. Vitreous Levels of Placenta Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor in Patients With Proliferative Diabetic Retinopathy. Diabetes Care. 2002 (25) : 12.
19. Zehetner C, Bechrakis N. Systemic Counterregulatory Response of Placental Growth Factor Levels to Intravitreal Aflibercept Therapy. IOVS 2015.
20. Kowalczyk L, Touchard E. Placental Growth Factor Contributes to Micro-Vascular Abnormalization and Blood-Retinal Barrier Breakdown in Diabetic Retinopathy. PlosOne. 2011.
21. Wei Weng S, Lun Huang. Intravitreal aflibercept for rubeosis iridis secondary to proliferative diabetic retinopathy. Eye Science. Dec 2015. Vol. 30.
22. Patricia, Moore. Aflibercept in the treatment of patients with metastatic colorectal cancer: latest findings and interpretations. Therapeutic Advances in Gastroenterology. SAGE journals. 2013; 459-473.
23. Sennino B, McDonald. Controlling escape from angiogenesis inhibitors. Nature reviews cancer. Volume 12. October 2012; 699-709.