

## ANALISIS BERBAGAI MACAM BIOMARKER AIR MATA DALAM DIAGNOSIS PENYAKIT MATA KERING

Muhammad Furqan,<sup>1</sup>Sukma Purnama Sidhi,<sup>1</sup>  
Lulu Chotim Amsari<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera  
Utara

### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Diagnosis penyakit mata kering (*Dry Eye Disease/ (DED)*) terutama pada tahap awal merupakan hal yang penting, tetapi seringkali sulit. Hal ini dikarenakan kurangnya standar emas dan korelasi yang buruk antara perubahan biokimia air mata dan tanda-tanda klinis. Biomarker air mata dinilai dapat digunakan dalam diagnosis dan memantau DED karena bersifat *non invasive*, serta memiliki korelasi yang baik dengan perubahan biokimia air mata dan perkembangan penyakit.

**Tujuan:** Artikel ini akan memaparkan beberapa biomarker air mata yang paling penting untuk DED yaitu marker untuk disfungsi kelenjar lakrimal, inflamasi, stres oksidatif, dan intoleransi lensa kontak, serta korelasinya dengan sub tipe dan keparahan penyakit.

**Metode:** Metode yang digunakan adalah studi pustaka dengan menggunakan jurnal 10 tahun terakhir yang diperoleh dari mesin pencarian seperti *Sciencedirect, PubMed, Google Scholar* dan *ClinicalKey*.

**Pembahasan:** Biomarker untuk disfungsi kelenjar lakrimal ditandai dengan perubahan kadar protein (laktoferin, lisozim, dll), neuromediator (NGF, CGRP, NPY, Serotonin), dan mucin (MUC/ 5AC); sementara respons inflamasi ditandai dengan perubahan ekspresi sitokin, kemokin, MMP-9, dan albumin. Stres oksidatif ditandai dengan perubahan kadar lipid (HNE, MDA). Sementara itu intoleransi lensa kontak dihubungkan dengan perubahan *secretoglobin 1D1,  $\beta$ 2 microglobulin, lacritin, secretoglobin 1 A2, albumin, LPRR4, LCN-1, dan PIP*.

**Kesimpulan:** MMP-9 dan kombinasi Mammaglobin B, lipophilin A, dan B2MG merupakan biomarker dengan sensitivitas dan spesifitas tertinggi dari biomarker lainnya. Beberapa biomarker tersebut dapat digunakan untuk mendiagnosis DED, membedakan antara sindrom Sjögren DED dan sindrom non-Sjögren DED, ADDE dari EDE, serta menentukan tingkat keparahan penyakit.

**Kata Kunci:** Air mata, Biomarker, Penyakit mata kering

### ABSTRACT

**Introduction:** The diagnosis of dry eye disease (DED) especially in the early stages is important, but difficult. This is due to the lack of a gold standard and a poor correlation between the biochemical changes in tears and clinical signs. Tear biomarkers can be used in diagnosing and monitoring DED because they are non-invasive, and have a good correlation with biochemical changes in tears and disease progression.

**Purpose:** This article will describe some of the most important tear biomarkers for DED, namely markers for lacrimal gland dysfunction, inflammation, oxidative stress, and contact lens intolerance, and its correlation with subtypes and disease severity.

**Method:** The method used is literature study using the last 10 years journals obtained from search engines such as *Sciencedirect, PubMed, Google Scholar* and *ClinicalKey*.

**Discussion:** Biomarkers for lacrimal gland dysfunction are characterized by changes in protein levels (lactoferrin, lysozyme, etc.), neuromediators (NGF, CGRP, NPY, Serotonin), and mucin ((MUC)5AC); while the inflammatory response is characterized by changes in the expression of cytokines, chemokines, MMP-9, and albumin. Oxidative stress is characterized by changes in lipid levels (HNE, MDA). Meanwhile contact lens intolerance is associated with changes in 1D1-secretoglobin,  $\beta$ 2-microglobulin, lacritin, secretoglobin 1A2, albumin, LPRR4, LCN-1, and PIP.

**Conclusion:** MMP-9 and a combination of Mammaglobin-B, lipophilin-A, and B2MG are biomarkers with the highest sensitivity and specificity of other biomarkers. Some of these biomarkers can be used to diagnose DED, differentiate between Sjögren DED syndrome and non-Sjögren DED syndrome, ADDE from EDE, and determine the severity of the disease.

**Keywords:** Biomarker, Dry eye disease, Tear

## 1. PENDAHULUAN

Penyakit mata kering (*Dry Eye Disease/ DED*) merupakan penyakit multifaktorial pada permukaan mata yang ditandai dengan hilangnya homeostasis lapisan air mata dan disertai dengan gejala-gejala pada mata. ketidakstabilan dan hiperosmolaritas lapisan air mata, inflamasi dan kerusakan permukaan mata serta kelainan neurosensorik memainkan peran dalam etiologi penyakit ini.<sup>[1]</sup>

Menurut studi epidemiologi secara global oleh DEWS pada tahun 2017, prevalensi penyakit mata kering berkisar antara 5-50%.<sup>[2]</sup> Sedangkan menurut data *National Health and Wellness Survey* tahun 2013, sekitar 16,4 juta penduduk dewasa USA menderita mata kering. Prevalensi ini meningkat seiring bertambahnya usia dan lebih tinggi pada wanita (11,1 juta kasus) dibandingkan dengan pria (5,3 juta kasus).<sup>[3]</sup>

Berdasarkan etiopatologi, penyakit mata kering dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu *Aqueous Deficient Dry Eye* (ADDE) dan *Evaporative Dry Eye* (EDE). Pada ADDE, terjadi penurunan sekresi kelenjar lakrimal yang menghasilkan cairan air mata. Sedangkan pada EDE, terjadi penguapan yang berlebihan dari lapisan air mata yang terpapar sementara kelenjar lakrimal berfungsi normal.<sup>[1]</sup>

Penyakit mata kering merupakan kondisi umum pada mata yang memiliki dampak tinggi pada fungsi penglihatan dan kualitas hidup seseorang.<sup>[4]</sup> Namun, DED adalah salah satu penyakit yang sering salah didiagnosis karena keterlambatan gejala dan tanda-tanda klinis serta kurangnya satuan kriteria

diagnosis.<sup>[5]</sup> Selain itu, perubahan biokimia pada lapisan air mata biasanya terjadi sebelum tanda-tanda klinis terdeteksi sehingga dapat diketahui bahwa gejala subjektif dan tes diagnosis yang saat ini digunakan memiliki korelasi yang buruk.<sup>[6]</sup> Tes rutin seperti tes *Schirmer*, *Tear Film Break-up Time* (TBUT), dan *vital staining* bersifat invasif, kurang standarisasi, dan hanya spesifik untuk kasus DED yang parah.<sup>[6,7]</sup>

Oleh karena itu, identifikasi tes baru untuk diagnosis dan manajemen DED perlu dilakukan. Salah satu jenis biomarker yang menjanjikan saat ini adalah biomarker air mata yang bersifat *non-invasive* dan mempunyai korelasi yang signifikan antara perubahan biokimia air mata dan perkembangan penyakit. Selain itu, biomarker air mata dapat menilai kasus DED yang ringan dan sedang.<sup>[5]</sup>

Tinjauan pustaka ini akan memaparkan beberapa biomarker air mata yang paling penting pada DED (marker protein untuk disfungsi kelenjar lakrimal, intoleransi lensa kontak, inflamasi dan stress oksidatif) dan hubungannya dengan sub tipe dan keparahan penyakit.

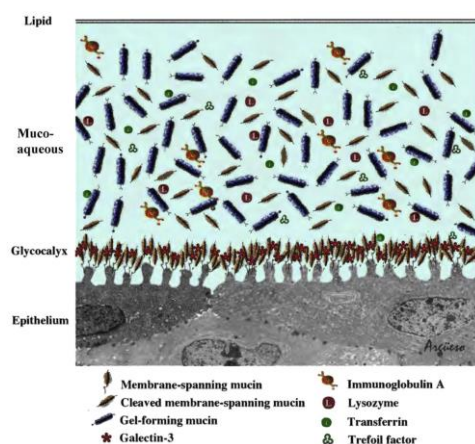
## 2. PEMBAHASAN

### 2.1 Analisis Lapisan Air Mata pada Penyakit Mata Kering

Analisis lapisan air mata menjadi topik hangat dalam bidang diagnosis dan prognosis pada DED karena dua alasan, yaitu pengambilan sampelnya yang *non invasive* dan banyaknya jenis biomolekul pada air mata. Telah terbukti bahwa kadar abnormal pada berbagai biomolekul di dalam lapisan air mata

berhubungan dengan disfungsi permukaan mata.<sup>[8,9]</sup>

Pada umumnya, lapisan air mata tersusun atas 3 lapisan yaitu lapisan lemak, *aqueous*, dan musin. Namun, ada bukti bahwa dalam struktur tiga lapisan film air mata yang disebutkan di atas, lapisan musin memiliki gradien konsentrasi yang menurun dari epitel menuju lapisan *aqueous*. Sehingga dapat dianggap bahwa lapisan *aqueous*, dan musin merupakan lapisan tunggal yang disebut lapisan *muco-aqueous*. Lapisan lemak yang menutupi lapisan *muco-aqueous* terdiri dari campuran protein, lemak, elektrolit, dan molekul metabolit kecil.<sup>[8-10]</sup> Lapisan lemak berasal dari kelenjar meibomian dan kelenjar kelopak mata yang berfungsi untuk mencegah penguapan dari lapisan dibawahnya serta membentuk batasan antara mata dengan lingkungan. Sementara itu, lapisan *aqueous* mengandung protein, elektrolit, antioksidan, dan *growth factor* yang dihasilkan oleh kelenjar lakrimal dan permukaan mata. Fungsi utamanya adalah dalam hal nutrisi dan proteksi epitel, perlindungan permukaan mata serta pemeliharaan stabilitas lapisan air mata. Lapisan musin yang terdiri atas glikoprotein dihasilkan oleh sel goblet dan sedikit kelenjar lakrimal. Lapisan ini sebagian diserap oleh epitel kornea yang merubah sifat hidrofobik menjadi hidrofilik sehingga lapisan *aqueous* menyebar merata di permukaan kornea.<sup>[8,9,11]</sup>



**Gambar 1.** Struktur Lapisan Air Mata

Protein yang terbagi atas *constitutive* (sig A), *regulated* (lysozyme, lactoferrin, lipocalin) dan *serum-derived* (albumin), membentuk lapisan *aqueous*.<sup>[11]</sup> Proporsi protein yang berasal dari plasma dan konjungtiva berhubungan dengan rata-rata aliran air mata dan tingkatan stimulasi permukaan mata.<sup>[12]</sup> Banyak *gelforming* dan *transmembrane mucins* telah diidentifikasi (seperti *soluble* MUC5AC dan *transmembrane* MUC1 dan MUC16) di lapisan *muco-aqueous*, berperan utama dalam proteksi, lubrikasi, hidrasi, dan pembentukan lapisan barrier.<sup>[8]</sup> Penurunan kadar mucin air mata dan perubahan jalur *glycosylation* adalah hal yang umum terjadi pada DED.<sup>[13]</sup>

## 2.2 Metode Pengumpulan Air Mata

Metode pengumpulan air mata yang umum digunakan yaitu: pengumpulan dengan *Schirmer strips*, spons atau corong yang diposisikan di meniskus konjungtiva dan pengumpulan dengan gelas kapiler atau mikropipet.<sup>[8,9]</sup> Walaupun *Schirmer strips* nyaman digunakan oleh pasien namun, memiliki kekurangan dalam penyimpanan protein terutama *serum derived (albumin)* dan protein dengan berat molekul <40KDa (*lysozyme*).<sup>[8,9,11,17]</sup> Karena pengaruh terhadap profil protein, penggunaan gelas kapiler merupakan metode yang diunggulkan untuk analisis protein. Sementara itu, penggunaan *Schirmer strip* hanya direkomendasikan pada analisis sitokin.<sup>[8,16]</sup>

Analisis protein air mata menggunakan *agarose gel electrophoresis* diketahui tidak dipengaruhi oleh jenis air mata baik itu air mata pada mata tertutup, basal, dan air mata dengan refleksi.<sup>[14]</sup> Air mata yang telah dikumpulkan akan dianalisa dengan berbagai teknologi yang tersedia sekarang yaitu *agarose gel electrophoresis*, *enzyme-linked immunosorbent assay*, *mass-spectrometry based proteomic analysis*, dan *the innovative multiplex bead analysis*.<sup>[8,14]</sup>

## 2.3 Biomarker Air Mata pada Penyakit Mata Kering

### 2.3.1 Biomarker Protein

Terdapat dua biomarker tradisional yang telah diterima secara umum untuk DED yaitu:

#### a. Laktoferin

Laktoferin yang juga dikenal sebagai laktotransferin, adalah protein pengikat zat besi *non heme* dari keluarga transferrin. Laktoferin merupakan glikoprotein globular dengan massa molekul sekitar 80 kDa yang terdapat di berbagai cairan sekretori, seperti ASI, saliva, air mata, dan sekresi hidung. Laktoferin adalah salah satu komponen kekebalan tubuh sistem tubuh yang memiliki aktivitas antimikroba, antivirus, antiparasit, katalitik, imunomodulator, dan antiinflamasi.<sup>[15]</sup> Laktoferin ditemukan berkorelasi negatif dengan pewarnaan Rose Bengal, hal ini menunjukkan bahwa penurunan laktoferin adalah penanda kerusakan permukaan mata.<sup>[16]</sup> Namun, pada mata kering dengan tipe *evaporative* dengan tidak adanya defek pada sel epitel, laktoferin pada air mata juga ditemukan berkurang.<sup>[17]</sup>

Penggunaan laktoferin dalam air mata telah dianjurkan untuk diagnosis sindrom Sjogren primer (SS), di mana tes ini memiliki spesifisitas 95% dan sensitivitas 72%.<sup>[16]</sup> nilai ini sedikit lebih tinggi daripada hanya menggunakan tes schirmer I untuk deteksi penyakit ini.<sup>[16]</sup> Para peneliti telah menyarankan nilai *cut-off* 1,1 mg / mL untuk diagnosis DED dengan akurasi yang optimal<sup>[5,16]</sup>. Menggunakan nilai *cut-off* tersebut, tes ini dapat mendeteksi DED dengan sensitivitas 79,4% dan spesifisitas 78,3%.<sup>[5,16]</sup>

#### b. Lisozim

Lisozim merupakan protein yang juga dikenal sebagai *muramidase* atau *N-acetylmuramide glycanhydrolase*. Protein ini termasuk enzim golongan glikosida hidrolase yang dapat merusak dinding sel bakteri dengan mengkatalisis hidrolisis ikatan beta-1,4-glikosida antara residu asam N-asetilamatamat dan N-asetil-D glukosamin dalam peptidoglikan.

Lisozim berlimpah dalam sejumlah sekresi, seperti air mata, saliva, ASI, dan mukus.<sup>[18]</sup>

Lisozim mungkin merupakan protein air mata yang paling awal dipelajari dalam hubungannya dengan mata kering, dan kadar lisozim dalam air mata diketahui meningkat sampai usia 40 tahun dan menurun setelahnya.<sup>[16]</sup> Kadar lisozim ditemukan menurun pada pasien glaukoma dengan kondisi mata kering akibat pengobatan kronik.<sup>[5,16]</sup> selain itu, kadar lisozim juga ditemukan menurun pada pasien mata kering idiopatik dan SS.<sup>[16]</sup> Pada penelitian besar dengan subjek sebanyak 262 pasien (78 pasien SS), diketahui nilai *cut-off* lisozim sebesar 0,9 mg/ml dengan nilai spesifisitas 96,9% dan sensitivitas 25% dalam diagnosis DED.<sup>[16]</sup> Meskipun beberapa penelitian menunjukkan bahwa kadar lisozim dalam air mata tidak berbeda antara sindrom Sjögren, sindrom DED dan kontrol. biomarker ini dapat berguna untuk memantau efek samping dari obat penghambat reseptor beta adrenergik seperti Practalol atau untuk mendeteksi mata kering akibat paparan pada pekerjaan tertentu seperti di pertambangan batu bara.<sup>[5,16,19]</sup>

Laktoferin dan lisozim adalah produk utama kelenjar lakrimal. Penurunan kadar kedua protein tersebut dikaitkan dengan disfungsi kelenjar lakrimal, kerusakan permukaan mata, reaksi inflamasi, kapasitas antioksidan yang rendah, dan aktivitas antimikroba yang rendah (terutama lisozim).<sup>[5]</sup> Penurunan kadar kedua protein tersebut pada pasien DED menunjukkan bahwa penentuan kadar laktoferin dan lisozim dapat diusulkan menjadi salah satu tes objektif untuk diagnosis DED.<sup>[20]</sup>

### 2.3.2 Biomarker Protein Lainnya

Para peneliti telah melakukan analisis proteomik air mata untuk menentukan protein yang secara spesifik terkait DED. Sebagai contoh, pendekatan proteomik untuk mendeteksi biomarker DED pada cairan air mata dilakukan oleh Aluru *et al.* melalui elektroforesis 2D dan diferensiasi gel elektroforesis (DIGE). Pada penelitian

tersebut ditemukan *Lacrima Proline-Rich Protein 4* (LPRR4) secara signifikan menurun pada beberapa tipe DED.<sup>[21]</sup> Berdasarkan ekspresi diferensial dan korelasi kadar air mata LPRR4 dengan tingkat keparahan penyakit, protein ini telah diusulkan sebagai biomarker potensial pada DED. Penelitian selanjutnya menemukan beberapa protein yaitu *calgranulin A/1008*,  $\alpha$ -1 *antitrypsin* yang ditemukan meningkat pada air mata pasien DED dan protein LPRR3, LPRR4, *nasopharyngeal carcinoma-associated PRP 4* dan *antitrypsin  $\alpha$ -1* yang ditemukan menurun pada DED. protein ini memiliki sensitivitas dan spesifitas 90% ketika digunakan bersama jaringan saraf buatan.<sup>[20]</sup>

Zhou *et al* berhasil mengidentifikasi 6 protein yang mengalami peningkatan pada pasien DED dengan menggunakan metode proteomik kuantitatif iTRAQ, ditambah dengan 2D nano-LC-nano-ESI-MS / MS. Protein itu terdiri dari  $\alpha$ -*enolase*,  $\alpha$ -1 *asam glikoprotein 1*, *S100 A8/calgranulin A*, *S100 A9 / calgranulin B*, *S100 A4* dan *S100 A11 (calgizzarin)*, serta 4 protein yang menurun yaitu *Prolactin-Inducible Protein (PIP)*, *lipocalin-1 (LCN-1)*, laktoferin dan lisozim. Dengan menggunakan 4 biomarker protein yaitu  $\alpha$ -*enolase*, PIP, LCN-1 dan *S100 A9/ calgranulin B*, kelompok ini memperoleh akurasi diagnosis untuk DED sebesar 96% (sensitivitas 91% dan spesifitas 90%).<sup>[22]</sup>

Selanjutnya Tong *et al* menemukan bahwa *S100 A8 / calgranulin A* dan *S100 A9 / calgranulin B* berkorelasi dengan keparahan penyakit.<sup>[23]</sup> Pada tahun 2013, Boehm *et al.* menganalisis pola protein air mata pasien DED dengan memasukkan berbagai fenotipe klinis, seperti *aqueous-deficient dry eye*, (DRYaq), *lipid-deficient dry eye (DRYlip)* dan kombinasi keduanya (DRYaqlip), untuk menguji pengaruhnya terhadap komposisi protein film air mata. Dengan menggunakan *surface-enhanced laser desorption /ionisation-time-of-flight (SELDI-TOF) / matrix-assisted laser desorption/ ionisation-time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry (MS)-based strategy* untuk mendeteksi

kandidat biomarker, diikuti oleh studi penemuan (studi 1) dan studi validasi (studi 2), hasil mereka menunjukkan bahwa LPRR4 dalam air mata berkurang pada pasien DRYaq dan DRYaqlip, dibandingkan dengan subyek sehat. Selain itu, prekursor *mammaglobin B*, *lipophilin A*, *S100A8 / calgranulin* dan *beta-2 microglobulin (B2M)* meningkat pada subkelompok ini. Dengan menggunakan set enam protein biomarker ini, mereka memperoleh sensitivitas dan spesifitas hampir 100% untuk pasien DRYaq dan DRYaqlip (nilai AUC = 1).<sup>[24]</sup>

Soria *et al*, menemukan beberapa marker yaitu *S100A6*, *annexin A1*, *annexin A11*, *cystatin S (CST4)* dan protein aktivasi *fosfolipase A2 (PLAA)*, dengan area di bawah kurva ROC  $\geq 97,7\%$  (sensitivitas  $\geq 94,3\%$ ; spesifitas  $\geq 97,6\%$ ) untuk DED dibandingkan kontrol. Marker ini dapat membedakan DED, MGD, dan kontrol dengan akurasi sebesar 73,2% antara semua kelompok.<sup>[25]</sup> Versura *et al*, juga telah mengusulkan panel marker protein lain untuk diagnosis DED yaitu dengan mengukur transferin, LCN-1 dan protein total. Panel ini memiliki sensitivitas 96% dan spesifitas 98%.<sup>[26]</sup>

Jenis protein lain juga telah diukur dalam air mata pasien DED. Misalnya, kadar protein mucin (MUC) 5AC telah terbukti berkurang secara signifikan pada air mata pasien dengan SS. Guo *et al.* mengukur *malat dehidrogenase (MDH) 2* pada air mata pasien DED ringan. Mereka menemukan bahwa aktivitas MDH2 dalam kelompok DED meningkat secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kelompok ini juga ditemukan berkorelasi negatif secara signifikan dari MDH2 air mata dengan parameter klinis, seperti produksi air mata dan nilai kualitas air mata, dan berkorelasi positif dengan gejala nyeri.<sup>[27]</sup> Baru-baru ini, sebuah protein baru dari film air mata milik keluarga protein surfaktan, *palate lung nasal clone (PLUNC)*, telah ditemukan meningkat dalam air mata pasien DED.<sup>[28]</sup>

Neuromediator, seperti zat P, *calcitonin genrelated peptide (CGRP)*, *neuropeptide Y (NPY)*, *vasointestinal*

*peptide* (VIP) dan *neural growth factor* (NGF), juga telah ditentukan dalam air mata pasien DED dan berkorelasi dengan temuan klinis.<sup>[29]</sup> Secara khusus, kadar NGF dalam air mata ditemukan meningkat secara signifikan pada pasien DED, sedangkan CGRP dan NPY menurun secara signifikan, dibandingkan dengan subjek sehat. Kadar NGF berkorelasi langsung dengan keparahan DED sedangkan CGRP dan NPY berbanding terbalik dengan keparahan DED.<sup>[29]</sup> Kemudian dalam penelitian terbaru oleh Chhadva *et al.* konsentrasi serotonin dalam air mata telah berkorelasi dengan aspek pada DED dan telah ditemukan secara signifikan lebih tinggi pada pasien DED yang menunjukkan gejala DED dengan *aqueous tear deficiency*, dibandingkan dengan pasien yang memiliki gejala DED tetapi produksi air mata normal.<sup>[30]</sup>

### 2.3.3 Biomarker Inflamasi

Identifikasi biomarker untuk memantau reaksi inflamasi permukaan mata tidak hanya meningkatkan diagnosis DED, klasifikasi keparahan penyakit dan hasil terapi, tetapi juga memberikan arahan penting untuk mengembangkan perawatan antiinflamasi yang efektif untuk pasien dengan DED.<sup>[31]</sup>

Dalam 1-2 dekade terakhir, uji *multiple bead assays* telah memfasilitasi identifikasi berbagai sitokin, kemokin dan reseptor kemokin sebagai biomarker air mata pada DED. Peningkatan kadar IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-21, *interferon* (IFN)  $\gamma$ , *tumor necrosis factor* (TNF)  $\alpha$ , CXCL9, CXCL10, CXCL11, IL-1Ra, CCL5 / RANTES, dan *fractalkine* / CX3CL1 adalah temuan umum pada DED.<sup>[16,20]</sup> Peningkatan level ini terutama disebabkan oleh peningkatan regulasi gen inflamasi pada epitel konjungtiva.<sup>[20]</sup> Level sitokin / kemokin tampaknya berkorelasi dengan tipe DED dan tingkat keparahannya. Dengan demikian, IL-17, IL-22, IL-6, IL-10, IL-4, IFN- $\gamma$ , dan TNF- $\alpha$  meningkat pada sindrom Sjögren DED dibandingkan dengan sindrom non-Sjögren DED.<sup>[16]</sup> Level TNF- $\alpha$ , IL-6, dan

IL-1 $\beta$  yang lebih tinggi telah ditemukan di ADDE dan DED campuran daripada di subtype EDE.<sup>[24]</sup>

Eksresi MMP-9, protease yang terlibat dalam induksi kerusakan permukaan mata dan sinyal inflamasi juga ditemukan meningkat secara signifikan dalam air mata pasien dengan DED.<sup>[7,16]</sup> Namun, peningkatan aktivitas MMP-9 tidak spesifik untuk DED, dilaporkan juga dalam *acanthamoeba* / keratitis herpes dan *rosacea* okular.<sup>[7]</sup> Dengan demikian, Eksresi MMP-9 dalam air mata pasien dengan DED tampaknya mewakili kerusakan jaringan okular spesifik atau remodeling, dan tidak dapat digunakan sebagai alat diagnostik untuk DED.<sup>[7]</sup> Level MMP-9 telah terbukti berkorelasi dengan tingkat keparahan penyakit, dan oleh karena itu dapat digunakan sebagai alat pemantauan. Ini dibuktikan dengan pengembangan tes diagnostik rujukan cepat untuk MMP-9 pada air mata (InflammaDry®, Quidel, San Diego, CA, USA), yang telah tersedia secara komersial, mampu mendeteksi kadar MMP-9 > 40 ng / mL dengan sensitivitas dan spesifisitas yang ditunjukkan masing-masing 85% dan 94%.<sup>[8]</sup>

### 2.3.4 Biomarker Stres Oksidatif

Faktor lingkungan (polutan, radiasi ultraviolet dan ozon), terapi kronis dengan obat tetes mata yang diawetkan pada glaukoma, reaksi inflamasi dan penurunan protein antioksidan (laktoferin dan lisozim) merupakan kontributor utama terhadap stres oksidatif pada permukaan mata.<sup>[32]</sup> Level tinggi dari marker peroksidasi lipid akhir *4-hydroxy-2-nonenal* dan *malondialdehyde* telah dilaporkan dalam lapisan air mata pasien dengan DED sebagai indikator untuk kerusakan oksidatif, berkorelasi dengan baik dengan parameter permukaan mata (TBUT, tes *Schirmer*, sensitivitas kornea).<sup>[33]</sup> Selain itu, laktoferin, protein S100A, superoksida dismutase, peroksidase, katalase dan enzim oksidatif mitokondria dianggap sebagai marker pertahanan antioksidan yang paling penting dalam DED. Meskipun

biomarker ini dapat digunakan untuk diagnosis DED, sensitivitas untuk membedakan antara ADDE dan EDE rendah.<sup>[34]</sup>

### 2.3.5 Biomarker untuk Intoleransi Kontak

Mata kering terkait lensa kontak dan intoleransi lensa kontak adalah komplikasi yang paling umum di antara pemakai lensa kontak.<sup>[11,12]</sup> Sebagai hasil dari tindakan gabungan dari lensa dan faktor lingkungan (aliran udara tinggi atau kelembaban rendah), lensa kontak memiliki kemungkinan besar untuk mengubah struktur dan stabilitas film air mata, yang mengarah ke DED oleh banyak mekanisme potensial (penguapan air mata yang meningkat dan hiperosmolaritas, dehidrasi lensa, peradangan atau pengembunan terkait dengan kurangnya biokompatibilitas permukaan lensa).<sup>[35]</sup> Selanjutnya, DED yang dihasilkan atau yang sudah ada sebelumnya dapat menyebabkan intoleransi lensa kontak.

Walaupun kestabilan lapisan air mata, volume air mata, dan gejala lainnya diakui sebagai variabel terbaik untuk intoleransi lensa kontak, beberapa biomarker air mata telah terbukti membedakan antara mereka yang toleran dan mereka yang tidak toleran terhadap lensa kontak (kadar lipokalin air mata yang tinggi dan aktivasi fosfolipase A2).<sup>[16,36]</sup> Biomarker air mata juga dapat digunakan sebagai alat potensial untuk diagnosis lensa mata kering terkait lensa kontak, seperti penurunan kadar *secretoglobin 1D1* (sedikit berkurang pada *soft contact lenses* dan berkurang secara signifikan pada *rigid gas permeable lenses*),  $\beta 2$  *microglobulin*, *prolin rich protein 4* dan *lacritin*, serta peningkatan kadar protein S100A8 dalam *soft contact lenses*, *secretoglobin 1 A2*, albumin, *nerve growth factor*, dan protein yang diinduksi prolactin.<sup>[6,16,20,35,36,37]</sup> Selain itu, telah dibuktikan tidak ada korelasi antara sitokin dan ketidaknyamanan terkait lensa kontak.<sup>[38]</sup>

### 2.3.6 Biomarker Lainnya

*Lacritin*, faktor pertumbuhan spesifik yang saat dioleskan mendorong keluarnya air mata basal, kurang terdeteksi pada pasien dengan DED.<sup>[39]</sup> Peningkatan level aquaporin 5 (protein integral yang terletak di kelenjar lakrimal dan epitel kornea) telah dilaporkan pada pasien dengan sindrom Sjögren DED.<sup>[5]</sup> Ini adalah hasil pelepasan aquaporin 5 ke dalam air mata ketika sel asinar kelenjar lakrimal dirusak oleh infiltrasi limfositik. Perubahan neuromediator air mata juga telah dilaporkan dalam DED.<sup>[29]</sup> Peningkatan kadar *nerve growth factor*, *transforming growth factor* dan *vascular endothelial growth factor*, serta penurunan kadar peptida terkait gen kalsitonin, neuropeptide Y, dan EGF, semuanya telah disarankan sebagai biomarker potensial dalam DED.<sup>[16,29]</sup>

Sebuah studi cross-sectional yang diterbitkan pada tahun 2015 oleh Chhadva *et al.* melaporkan tingkat serotonin air mata yang tinggi pada pasien dengan gejala DED dan ADDE, dibandingkan dengan mereka yang memiliki gejala DED, tetapi produksi air mata normal dan mereka yang tidak memiliki gejala DED.<sup>[30]</sup>

## 3 SIMPULAN

Pada studi ini, biomarker air mata yang penting dalam diagnosis DED telah diidentifikasi seperti biomarker akibat disfungsi kelenjar lakrimal yang ditandai dengan perubahan kadar protein (laktoferin, lisozim, dll), neuromediator (NGF, CGRP, NPY, Serotonin), dan mucin ((MUC)5AC). Sementara biomarker akibat adanya reaksi inflamasi ditandai dengan perubahan ekspresi sitokin, kemokin, MMP-9, dan albumin. Stres oksidatif ditandai dengan perubahan kadar lipid (HNE, MDA). Dan intoleransi lensa kontak ditandai dengan perubahan kadar *secretoglobin 1D1*,  $\beta 2$  *microglobulin*, *lacritin*, *secretoglobin 1 A2*, albumin, LPRR4, LCN-1, dan PIP.

Beberapa biomarker tersebut dapat digunakan dalam diagnosis DED, namun tidak semua memiliki nilai *cut-off*, sensitivitas dan spesifitas. Biomarker tunggal yang memiliki semua hal tersebut adalah laktoferin, lisozim,

transferrin, LCN-1, albumin dan MMP-9. Tes MMP-9 dapat digunakan dalam diagnosis DED dengan nilai sensitivitas dan spesifitas yang paling tinggi diantara biomarker tunggal lainnya yaitu sebesar 85% dan 94% dengan nilai *cut-off* sebesar >40 ng/ml. Sementara itu, biomarker gabungan yang terdiri dari Mammaglobin B, lipophilin A, dan B2MG memiliki nilai sensitivitas dan spesifitas tertinggi yaitu mencapai hampir 100%.

Untuk diagnosis yang akurat, kadar biomarker ini perlu dipertimbangkan bersama dengan riwayat klinis dan pemeriksaan mata lainnya. Selain itu, kurangnya standarisasi, kompleksitas prosedur analitis, dan jumlah kecil air mata yang dapat dikumpulkan dapat membatasi penggunaan biomarker ini dalam praktik klinis.

#### 4 SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai nilai *cut-off* biomarker, standarisasi pengumpulan dan penyimpanan air mata, serta studi tentang biomarker lainnya pada lapisan air mata.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada kedua orang tua penulis dan teman-teman SCORE PEMA FK USU yang telah memberikan dukungan selama penyusunan manuskrip tinjauan pustaka ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Craig JP, Nelson JD, Azar DT, Belmonte C, Bron AJ, Chauhan SK, *et al.* "TFOS DEWS II Report Executive Summary". *Ocul Surf.* 2017;15(4):802–12.
- Stapleton F, Alves M, Bunya VY, Jalbert I, Lekhanont K, Malet F, *et al.* "TFOS DEWS II Epidemiology Report". *Ocul Surf.* 2017;15(3):334–65.
- Farrand KF, Fridman M, Stillman IÖ, Schaumberg DA. "Prevalence of Diagnosed Dry Eye Disease in the United States Among Adults Aged 18 Years and Older". *Am J Ophthalmol.* 2017;182:90–8.
- Gayton JL. "Etiology, prevalence, and treatment of dry eye disease". *Clin Ophthalmol.* 2009;3(1):405–12.
- Chiva A. "Tear Biomarkers in Dry Eye Disease". *Eur Ophthalmic Rev.* 2019;13(1):21.
- Chiva A. "Dry Eye and Clinical Disease of Tear Film – Diagnosis and Management". *Eur Ophthalmic Rev.* 2014;08(01):8.
- Bron AJ, Tomlinson A, Foulks GN, Pepose JS, Baudouin C, Geerling G, *et al.* "Rethinking dry eye disease: A perspective on clinical implications". *Ocul Surf.* 2014;12(3):231.
- Willcox MDP, Argueso P, Georgiev GA, *et al.* "TFOS DEWS II tearfilm report". *Ocul Surf.* 2017;15:366–403.
- Versura P, Campos EC. "Update on human tear proteome". *European Ophthalmic Review.* 2013;7:36–41.
- Craig JP, Nelson JD, Azar DT, *et al.* "TFOS DEWS II report executive summary". *Ocul Surf.* 2017;15:802–12.
- Nichols JJ, Wilcox MD, Bron AJ, *et al.* "The TFOS international workshop on contact lens discomfort: executive summary". *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54:TFOS7–13.
- Alipour F, Khareshi S, Soleimanzadeh M, *et al.* "Contact lens-related complications: a review". *J Ophthalmic Vis Res.* 2017;12:193–204.
- Stephens DN, McNamara NA. "Altered mucin and glycoprotein expression in dry eye disease". *Ophthalmol Vis Sci.* 2015;92:931–8.
- Chiva A. "Dry eye and clinical disease of tear film, diagnosis and management". *European Ophthalmic Review.* 2014;8:8–12.
- González-Chávez SA, Arévalo-Gallegos S, Rascón-Cruz Q. "Lactoferrin: structure, function





- and applications". *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33(4):301.
16. D'Souza S, Tong L. "Practical issues concerning tear protein assays in dry eye". *Eye Vis*. 2014;1(1):1–12.
  17. Versura P, Nanni P, Bavelloni A, Blalock WL, Piazzini M, Roda A, *et al.* "Tear proteomics in evaporative dry eye disease". *Eye Vis*. 2010;24(8):1396–402.
  18. Callewaert L, Michiels CW. "Lysozymes in the animal kingdom". *J Biosci*. 2010;35(1):127–60.
  19. Sun Z, Hong J, Liu Z, Jin X, Gu C. "Coal dust contiguity-induced changes in the concentration of TNF- and NF- B p65 on the ocular surface". *Ocul Immunol Inflamm*. 2009;17(2):76–82.
  20. Hagan S, Martin E, Enríquez-de-Salamanca A. "Tear fluid biomarkers in ocular and systemic disease: Potential use for predictive, preventive and personalised medicine". *EPMA J* 2016;7(1):1–20.
  21. Aluru SV, Agarwal S, Srinivasan B, Iyer GK, Rajappa SM, Tatu U, *et al.* "Lacrimal Proline Rich 4 (LPRR4) Protein in the Tear Fluid Is a Potential Biomarker of Dry Eye Syndrome". *PLoS One*. 2012;7(12):1–9.
  22. Zhou L, Beuerman RW, Chan CM, Zhao SZ, Li XR, Yang H, Tong L, Liu S, Stern ME, Tan D. "Identification of tear fluid biomarkers in dry eye syndrome using iTRAQ quantitative proteomics". *J Proteome Res*. 2009;8:4889–905.
  23. Tong L, Zhou L, Beuerman RW, Zhao SZ, Li XR. "Association of tear proteins with Meibomian gland disease and dry eye symptoms". *Br J Ophthalmol*. 2011;95:848–52.
  24. Boehm N, Funke S, Wiegand M, Wehrwein N, Pfeiffer N, Grus FH. "Alterations in the tear proteome of dry eye patients—a matter of the clinical phenotype". *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54:2385–92.
  25. Soria J, Durán JA, Etxebarria J, Merayo J, González N, Reigada R, García I, Acera A, Suárez T. "Tear proteome and protein network analyses reveal a novel pentamer panel for tear film characterization in dry eye and meibomian gland dysfunction". *J Proteomics*. 2013;78:94–112.
  26. Versura P, Bavelloni A, Grillini M, Fresina M, Campos EC. "Diagnostic performance of a tear protein panel in early dry eye". *Mol Vis*. 2013;19:1247–57.
  27. Guo Q, Huang H, Pi Y, Zhang H. "Evaluation of tear malate dehydrogenase 2 in mild dry eye disease". *Eye Sci*. 2014;29(4):204–8.
  28. Schicht M, Rausch F, Beron M, Jacobi C, Garreis F, Hartjen N, Beileke S, Kruse F, Bräuer L, Paulsen F. "Palate lung nasal clone (PLUNC), a novel protein of the tear film: three-dimensional structure, immune activation, and involvement in dry eye disease (DED)". *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015; 56(12):7312–23.
  29. Lambiase A, Micera A, Sacchetti M, Cortes M, Mantelli F, Bonini S. "Alterations of tear neuromediators in dry eye disease". *Arch Ophthalmol*. 2011;129:981–6.
  30. Chhadva P, Lee T, Sarantopoulos CD, Hackam AS, McClellan AL, Felix ER, Levitt RC, Galor A. "Human tear serotonin levels correlate with symptoms and signs of dry eye. *Ophthalmology*". 2015;122(8):1675–80.
  31. Wei Y, Asbell PA. "The core mechanism of dry eye disease (DED) is inflammation". *Eye Contact Lens*. 2014;40:248–56.
  32. Seens S, Tong L. "Dry eye disease and oxidative stress".

- Acta Ophthalmol.* 2018;96:e412–20.
33. Choi W, Lian C, Ying L, *et al.* “Expression of lipid peroxidation markers in tear film and ocular surface of patients with non-Sjogren syndrome: potential biomarkers for dry eye disease”. *Curr Eye Res.* 2016;41:1143–9.
  34. Labbe A, Brignole-Baudouin F, Baudouin C. “Ocular surface investigation in dry eye”. *J Fr Ophthalmol.* 2007;30:76–97.
  35. Chiva A. “Electrophoresis of tear proteins as a new diagnostic tool for two high risk groups for dry eye: computer users and contact lens wearers”. *J Med Life.* 2011;4:228–33.
  36. Kramann N, Boehm N, Lorenz K, *et al.* “Effects of contact lenses on the protein composition in tear film: a ProteinChip study”. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2011;249:233–43.
  37. Glasson MJ, Stapleton F, Keay L, *et al.* “Differences in clinical parameters and tear film of tolerant and intolerant contact lens wearers”. *Invest Opt Vis Sci.* 2003;44:5116–24.
  38. Wilcox MD. “Is there a role for inflammation in contact lens discomfort?”. *Eye Contact Lens.* 2017;43:5–16.
  39. Still KM, Soyars CL, Velez F, *et al.* “Development of quantitative sandwich ELISAs for lacritin and the lacritin-c splice variant in human tears”. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53:4233.
  40. Massingale ML, Li X, Vallabhajosyula M, Chen D, Wei Y, Asbell PA. “Analysis of inflammatory cytokines in the tears of dry eye patients”. *Cornea.* 2009; 28(9):1023–7.
  41. Yoon KC, Park CS, You IC, Choi HJ, Lee KH, Im SK, Park HY, Pflugfelder SC. “Expression of CXCL9, -10, -11, and CXCR3 in the tear film and ocular surface of patients with dry eye syndrome”. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(2):643–50.
  42. Sambursky R, Davitt WF, Latkany R, Tauber S, Starr C, Friedberg M, *et al.* “Sensitivity and specificity of a point-of-care matrix metalloproteinase 9 immunoassay for diagnosing inflammation related to dry eye”. *Arch Ophthalmol.* 2013;131(1):24–8.

**Tabel 1.** Rangkuman Biomarker Cairan Air Mata dalam Diagnosis Penyakit Mata Kering

Tipe molekul	Biomarker air mata	Metode	Jumlah subjek	Nilai cut-off	Sensitivitas	Spesifitas	Sensitivitas gabungan	Spesifitas gabungan	p-value	Ref.
Protein	Lactoferrin	Electrophoresis	250	1,1 mg/ml	79,4%	78,3%	NA	NA	<0,01	[16]
		SDS-PAGE	262	1,1 mg/ml	28,6%	90,6%			<0,0001	[20]
	Lysozyme	SDS-PAGE	262	0,9 mg/ml	25,0%	96,9%	NA	NA	<0,0001	[20]
	LPRR3, LPRR4, nasopharyngeal carcinoma-associated PRP 4, $\alpha$ -1 antitrypsin, calgranulin A	SELDI-TOF-MS Protein chip arrays	159	NA	NA	NA	90%	90%	<0,01	[5,20]
	$\alpha$ -enolase, PIP, LCN-1, calgranulin B	iTRAQ, ditambah dengan 2D nano-LC-nano-ESI-MS / MS	56	1,2 (DE:C) 0,8 (DE:C), NA, NA	77%, 71,7%, NA, NA	88,5%, 87,1%, NA, NA	91%	90%	<0,01	[22,23]
	Mammaglobin B, lipophilin A, B2MG	SELDI-TOF-MS/MALDI-TOF-MS	169	NA	NA	NA	~100%	~100%	< 3.0E-05	[24]
	S100A6, annexin A1, annexin A11, CST4, PLAA	2D Gel Electrophoresis	144	NA	93,8%, 92%, 84%, 90,2%, 94,2%	84,8%, 85,6%, 61,6%, 27,2%, 88%	94,3%	97,6%	NA	[25]
	Transferrin	protein 230 kit	160	$\leq 0,3$ mg / ml	70,8%	96,7%	98%	96%	NA	[26]
	LCN-1			$\leq 1,1$ mg / ml	65,5%	94,9%				
	MMP-9	InflammaDry	206	> 40 ng/ml	85%	94%	NA	NA	< 0,001	[42]
	MDH 2	Electrophoresis	15	NA	NA	NA	NA	NA	<0.01	[27]
	PLUNC	ELISA	39	NA	NA	NA	NA	NA	<0.005	[28]
	Albumin	protein 230 kit	205	> 10% vs TP	42,5%	90,9%	NA	NA	<0.0001	[26]
neuromediator	NGF	ELISA	19	NA	NA	NA	NA	NA	0,02	[29]
	CGRP								0,001	
	NPY								0,01	
	Serotonin								0,01	
Mucins	(MUC)5AC	ELISA	28	NA	NA	NA	NA	NA	0,02	[20]
Lipid	HNE, MDA	ELISA	77	NA	NA	NA	NA	NA	<0,01	[33]

Cytokines	IL-6, IL-2, IL-5, IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-10, IL-8	Immunologica l Assay	14	NA	NA	NA	NA	NA	0.001	[40]
	IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-4						NA	NA	0.01	[40]
Chemokines	CXCL-9, CXCL-10, CXCL-11, CXCR-3	ELISA	33	NA	NA	NA	NA	NA	0.01	[41]

**Tabel 2.** Potensi Biomarker pada Penyakit Mata Kering dan Kemampuannya untuk Membedakan antara Penyakit Mata Kering Sindrom Sjögren / Sindrom Non-Sjögren dan Subtipe Penyakit.

Tipe molekul	Biomarker air mata	Perubahan pada DED	perbedaan antara SS dan non SS DED	Perbedaan antara subtipe DED	Intoleransi Lensa Kontak	Ref.
Disfungsi kelenjar lakrimal						
Protein	Lactoferrin	↓	↓ pada SS-DED	↓ pada ADDE, MGD		[16, 20]
	Lysozyme	↓	↓ pada SS-DED	↓ pada ADDE		[20]
	LPRR3	↓	tidak	tidak		[5,20]
	LPRR4, lacritin	↓	↓ pada SS-DED	↓ pada ADDE, MGD	↓	
	nasopharyngeal carcinoma-associated PRP 4	↓	tidak	tidak		
	$\alpha$ -1 antitrypsin	↑	tidak	tidak		
	calgranulin A	↑	↑ pada SS-DED	↑ pada ADDE, MGD		
	$\alpha$ -enolase	↑	tidak	↑ pada ADDE, MGD		[22, 23]
	PIP	↓	↓ pada SS-DED	↓ pada ADDE	↑	
	LCN-1	↑/↓	↓ pada SS-DED	↑/↓ pada ADDE, menurun pada MGD	↑	
	calgranulin B	↑	↑ pada SS-DED	↑ pada ADDE, MGD		[24]
	Mammaglobin B, lipophilin A, B2M	↑	tidak	↑/↓ pada ADDE	↓	
	S100A6	↑	↑ pada SS-DED	↑ pada ADDE		[25]
	annexin A1	↑	↑ pada SS-DED	↑ pada ADDE		
	annexin A11	↑	↑ pada SS-DED	↑ pada ADDE		
	CST4	↓	↓ pada SS-DED	↓ pada ADDE, MGD		
	PLAA	↑	tidak	↑ pada ADDE		
	Transferrin	↓	↑ pada SS-DED	↑/↓ pada ADDE, meningkat pada MGD		[26]
	Secretoglobin family 1D member 1	↑/↓	tidak	↑/↓ pada ADDE	↓	[5,38]
	Secretoglobin family 2A member 2	↓	tidak	↓ pada ADDE	↑	
MDH 2	↑	tidak	tidak		[27]	
PLUNC	↑	tidak	tidak		[28]	
Neuromedia tor	NGF	↑	tidak	↑ pada ADDE		[29]
	CGRP	↓	↓ pada non SS-DED	↓ pada ADDE		
	NPY	↓	↓ pada SS-DED	↑ pada EDE		[30]
	Serotonin	↑	tidak	↓ pada ADDE		

Mucins	(MUC)5AC	↓	↑/↓ pada SS-DED	↓ pada ADDE		[20]
Stres oksidatif						
Lipid	HNE,MDA	↑	tidak	tidak		[33]
Inflamasi						
Cytokines		↑	IL-4, 6, 10, 17, 22, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$ , 2, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 15, 16, 17, 22, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$		[40]
		↓		IL-4, 12, 17A, IFN- $\gamma$		
Chemokines		↑	CCL-3, 4, 5, 9, 10, 11	CCL-2, 3, 4, 5, 11, 15, CXCL-1, 5, 8, 11		[41]
MMP-9		↑	↑ pada SS-DED	↑ pada ADDE		[42]
Albumin		↑	tidak	↑ pada ADDE	↑	[26]