

Efek Asam Hialuronat Terhadap Ekspresi MMP-9 Kultur Sel Trabekular *Meshwork* Pasien Glaukoma Sudut Terbuka Primer

The Effect of Hyaluronic Acid on MMP-9 Expression in Trabecular Meshwork Cell Culture of Patient with Primary Open Angle Glaucoma

Cicik Komariah¹, Ma'sum Effendi², Hidayat Sujuti²

¹Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²Laboratorium Ilmu Kesehatan Mata, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Rumah Sakit Umum dr. Saiful Anwar Malang

e-mail korespondensi: cichkomariah74@gmail.com

Abstrak

Penurunan kadar asam hialuronat pada trabekular meshwork pasien glaukoma sudut terbuka primer diduga mempunyai korelasi dengan peningkatan deposit matriks ekstraselular sehingga menyebabkan peningkatan resistensi *outflow* humor akuos yang pada akhirnya akan meningkatkan tekanan intra okuli. Salah satu famili matriks metaloproteinase (MMP) yang mempunyai kemampuan degradasi tinggi terhadap matriks ekstra selular adalah MMP-9. Ekspresi MMP-9 diduga dapat diaktivasi oleh asam hialuronat melalui ikatannya dengan reseptor utamanya yaitu CD44. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah paparan asam hialuronat dapat meningkatkan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* pasien glaukoma sudut terbuka primer dengan metode imunohistokimia. Setelah dilakukan pemaparan asam hialuronat selama 24 jam pada 4 konsentrasi yang berbeda terhadap kultur sel trabekular *meshwork* yaitu 0 mg/ml sebagai kelompok kontrol dan 1mg/ml, 3mg/ml serta 6 mg/ml sebagai kelompok perlakuan, didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi MMP-9 kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Didapatkan korelasi yang signifikan antara paparan asam hialuronat dengan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork*, dan paparan asam hialuronat dapat mempengaruhi ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork*. Peningkatan ekspresi MMP-9 seiring dengan peningkatan konsentrasi asam hialuronat yang diberikan. Hal ini menunjukkan bahwa asam hialuronat dapat menurunkan resistensi humor akuos *outflow* di trabekular *meshwork* dengan mengaktivasi ekspresi MMP-9 sehingga terjadi peningkatan degradasi matriks ekstra seluler.

Kata kunci : asam hialuronat, glaukoma sudut terbuka primer, MMP-9

Abstract

In primary open angle glaucoma, decrease of hyaluronic acid level is related to extracellular matrix deposition of trabecular meshwork. Extracellular matrix deposition will increase humor aqueous outflow resistance which in turn increase the intraocular pressure. MMP-9 as one of matrix metalloproteinase (MMP) family, has a high potency to degrade the extracellular matrix. The expression of MMP-9 can be activated by hyaluronic acid through its binding with CD44 as hyaluronic main receptor. The aim of this research is to determine the effect of hyaluronic acid on MMP-9 expression in trabecular meshwork cell culture of patient with primary open angle glaucoma by immunocytochemical method. Trabecular meshwork cell culture were exposed to hyaluronic acid at four different concentration (0mg/ml, 1 mg/mL, 3 mg/mL, 6 mg/mL). After 24 hours incubated, we find a significant difference of MMP-9 expression between control group and group with hyaluronic acid. There was significant correlation between hyaluronic acid and MMP-9 expression. Hyaluronic acid exposure will increase MMP-9 expression in trabecular meshwork cell culture. This finding suggest that hyaluronic acid can influence the resistance of humor aqueous outflow in trabecular meshwork by up-regulating MMP-9 expression, and therefore will increase extracellular matrix degradation.

Key words : hyaluronic acid, primary open angle glaucoma, MMP-9

Pendahuluan

Glaukoma adalah suatu neuropati optik kronik yang ditandai dengan pencekungan (*cupping*) diskus optikus, penyempitan lapang pandang dan biasanya disebabkan oleh peningkatan tekanan intraokuler (Asbury, 2014). Diperkirakan 74% dari semua jenis glaukoma adalah glaukoma sudut terbuka primer (Tham *et al.*, 2014). Prevalensi ini meningkat dengan bertambahnya usia. Umumnya glaukoma sudut terbuka primer terjadi pada usia antara 40 sampai 70 tahun (Tham *et al.*, 2014).

Acott *et al.* (2008), pada penelitiannya berhasil menunjukkan bahwa terjadi akumulasi *Extracellular Matrix* (ECM) secara terus menerus pada trabekular *meshwork* penderita glaukoma sudut terbuka primer. Akumulasi ECM pada trabekular *meshwork* yang berlebihan akan meningkatkan resistensi humor akuos (Acott *et al.*, 2014), akan tetapi sampai saat ini belum didapatkan penelitian yang menunjukkan komponen ECM mana yang paling mempengaruhi peningkatan resistensi aliran humor akuos (Esther *et al.*, 2015).

Penelitian oleh Kate *et al.* (2013), telah menunjukkan bahwa meskipun pada trabekular *meshwork* pasien glaukoma sudut terbuka primer terjadi peningkatan ECM, namun kadar asam hialuronat (AH) justru menurun, dan diduga terdapat korelasi antara peningkatan ECM dengan penurunan kadar AH pada trabekular *meshwork* pasien glaukoma sudut terbuka primer. Salah satu enzim proteolitik yang mampu mendegradasi ECM adalah *Matrix Metalloproteinase* (MMP) (Sihota *et al.*, 2012).

MMP merupakan *key player* pada regulasi *outflow* humor akuos pada trabekular *meshwork*, yang secara langsung mempengaruhi tekanan intra okuler (TIO) (Oh *et al.*, 2013). Dari semua jenis MMP, jenis gelatinase (MMP-2 dan MMP-9) merupakan jenis yang paling sering diteliti dan mempunyai kemampuan mendegradasi yang sangat tinggi dibandingkan jenis MMP yang lain (Guo *et al.*, 2012). Salah satu MMP yang berperan aktif dalam proses fisiologis trabekular *meshwork* adalah MMP-9 yang memiliki aktivitas degradasi kolagen tinggi (Robertson *et al.*, 2013). Diduga ekspresi MMP-9 pada trabekular *meshwork* dapat dipengaruhi oleh aktivasi ikatan AH dengan reseptor pada permukaan sel yaitu CD44 (Guo *et al.*, 2012).

Suatu penelitian oleh Zhang *et al.* pada tahun 2002, telah menunjukkan bahwa pada sel kanker yang

mengekspresikan CD44, terjadi peningkatan MMP-2 dan MMP-9 setelah dipapar dengan AH dan didapatkan hasil bahwa sekresi MMP-2 dan MMP-9 pada sel-sel kanker dapat dipicu oleh pemberian AH. Penelitian lain oleh Isnard *et al.* (2003), juga menunjukkan peningkatan ekspresi MMP-2 dan MMP-9 pada kultur sel kornea setelah dipapar oleh AH. Selain itu, penelitian oleh Guo *et al.* (2012), juga menunjukkan adanya korelasi antara peningkatan ekspresi MMP-9 dengan pemaparan AH pada kultur sel trabekular *meshwork* dari pasien glaukoma sudut terbuka primer. Diduga mekanisme ekspresi MMP-9 pada penelitian-penelitian tersebut berkorelasi dengan persinyalan melalui jalur *Hyaluronic Acid*-CD44-Ras-MEK1-MAPK.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah paparan AH dapat meningkatkan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* pasien glaukoma sudut terbuka primer.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro* pada kultur sel trabekular *meshwork* penderita glaukoma sudut terbuka primer yang menjalani operasi trabekulektomi yang dipapar dengan AH pada 4 konsentrasi berbeda yaitu 0,1,3 dan 6 mg/ml. Penelitian dilakukan di dua tempat yaitu di Klinik Ar-Rohmah, Jl. Alun-alun Timur no 409 Bangil-Pasuruan, untuk pengambilan sampel dan di Laboratorium Faal divisi Fisiologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang untuk pengkulturan dan perlakuan pada sampel.

Sampel pada penelitian ini menggunakan sel trabekular *meshwork* dari seorang pasien glaukoma sudut terbuka primer yang berusia 62 tahun yang menjalani operasi trabekulektomi di Klinik Ar-Rohmah Bangil-Pasuruan dengan diagnosis glaukoma sudut terbuka primer. Diagnosis ditegakkan setelah dilakukan anamnesis, pemeriksaan segmen anterior, pengukuran tekanan intraokuli, segmen posterior, pemeriksaan gonioskopi dan pemeriksaan perimetri. *Ethical approval* diperoleh dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan pasien yang dijadikan sampel telah menandatangani *informed consent*. Operasi trabekulektomi dilakukan oleh satu orang, seorang dokter spesialis mata.

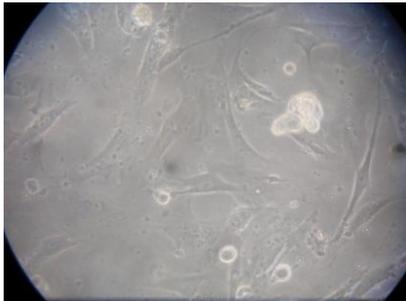
Selanjutnya kultur sel ditempatkan dalam *well plate* dan dibagi menjadi 4 *section*, tiap *section* akan dipapar dengan AH dalam 4 konsentrasi yaitu 0, 1, 3

dan 6 mg/ml. Pada penelitian terdapat 4 kelompok penelitian, sehingga dibutuhkan jumlah replikasi pada masing-masing kelompok sebanyak 6. Dengan demikian jumlah sampel penelitian yang dibutuhkan pada penelitian sebanyak 24 *well*.

Asam hialuronat yang digunakan dalam penelitian ini adalah OligoHA™ (SIGMA) dengan berat molekul 776,65 Da. Ekspresi *MMP-9* diukur secara imunohistokimia dan diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Sel akan positif mengekspresikan *MMP-9* jika terlihat warna coklat pada sitoplasma, pengamatan dilakukan pada 5 daerah lapang pandang oleh 1 orang observer.

Hasil Penelitian

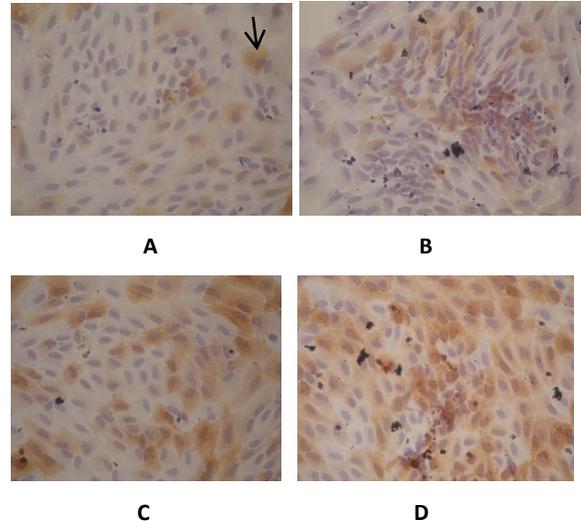
Pada kultur sel trabekular *meshwork* sebelum dilakukan perlakuan didapatkan gambaran sel fibroblas yang berbentuk *spindel shaped*, dengan inti sel yang oval dengan nukleoli dan sitoplasma bagian tepinya menunjukkan suatu "*cell process*" seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kultur sel trabekular *meshwork* sebelum dilakukan perlakuan. Dengan pembesaran 200x, tampak nukleus yang oval dengan nukleoli, tanda panah menunjukkan *cell process*.

Pada gambaran mikroskopis dari kultur sel trabekular *meshwork*, ekspresi *MMP-9* ditunjukkan dengan warna coklat pada sitoplasma, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa paparan AH dapat meningkatkan ekspresi *MMP-9*. Pada paparan AH konsentrasi 6 mg/ml, diperoleh ekspresi *MMP-9* kultur sel trabekular *meshwork* paling tinggi (74,88%). Hasil tersebut ditunjukkan pada Tabel 1.



Gambar 2. Kultur sel trabekular *meshwork* pada (A) kelompok kontrol tanpa pemberian AH, (B) kelompok perlakuan dengan paparan AH 1mg/ml, (C) kelompok dengan paparan AH 3 mg/ml, (D) kelompok dengan paparan AH 6 mg/ml. Diamati dengan mikroskop pembesaran 400x. Warna kecoklatan (tanda panah) pada sitoplasma menunjukkan ekspresi *MMP-9*.

Berdasarkan pengujian normalitas data dengan menggunakan Uji Kolmogorov-Smirnov, data ekspresi *MMP-9* kultur sel trabekular *meshwork* mempunyai nilai $p = 0,240$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data variabel tersebut menyebar mengikuti sebaran normal. Kemudian dari uji homogenitas dengan menggunakan uji Levene diperoleh hasil bahwa ekspresi *MMP-9* kultur sel trabekular *meshwork* mempunyai nilai $p = 0,234$, maka dapat disimpulkan bahwa ragam data ekspresi *MMP-9* kultur sel trabekular *meshwork* adalah homogen.

Tabel 1. Data Ekspresi *MMP-9* (%)

Asam hialuronat (konsentrasi)	Rata-rata ± Standar Deviasi
Kontrol	31,87±12,65
Konsentrasi 1mg/ml	57,92±14,96
Konsentrasi 3mg/ml	66,74±11,23
Konsentrasi 6 mg/ml	74,88±6,81

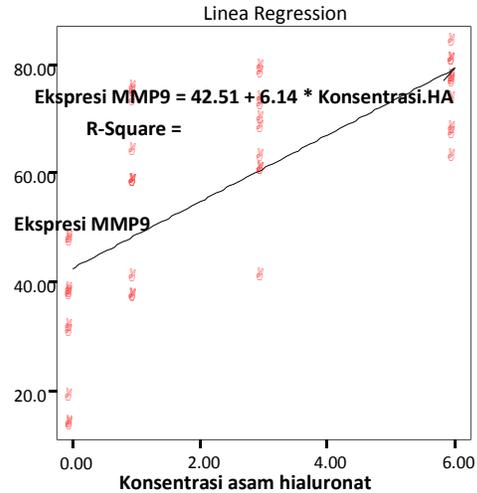
Untuk mengetahui adanya perbedaan ekspresi *MMP-9* pada kelompok perlakuan yang diamati dilakukan pengujian dengan *one way ANOVA*, dan diperoleh hasil $p = 0,000$ yang berarti bahwa

terdapat perbedaan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* pada setiap kelompok perlakuan. Untuk mengetahui kelompok dengan paparan AH pada konsentrasi berapa yang berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol, dilakukan uji Tukey terhadap ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* antara setiap kelompok. Dari uji tersebut diperoleh hasil bahwa antara data ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* pada kelompok kontrol tanpa AH berbeda signifikan dengan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* pada semua kelompok dengan paparan AH baik pada konsentrasi AH 1 mg/mL, 3 mg/mL, maupun 6 mg/mL. Perbandingan ekspresi MMP-9 pada kelompok kontrol berbeda signifikan dengan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* pada semua kelompok paparan AH dengan nilai $p = 0,000$.

Untuk mengetahui adanya hubungan paparan AH terhadap ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* digunakan uji korelasi. Berdasarkan hasil uji korelasi dapat diketahui bahwa paparan AH dengan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* ($r = 0,716$, $p = 0,000$) mempunyai hubungan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan arah korelasi yang positif. Artinya semakin tinggi konsentrasi paparan AH cenderung akan semakin meningkatkan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* bila dibandingkan dengan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* dengan paparan AH pada konsentrasi yang lebih rendah, demikian juga sebaliknya.

Berdasarkan hasil pengujian dengan analisis regresi linier, didapatkan hasil untuk setiap peningkatan konsentrasi AH sebesar 1 mg/mL, ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* akan mengalami peningkatan hingga 6,138%. Selanjutnya, berdasarkan hasil uji regresi ditunjukkan bahwa paparan AH dapat mempengaruhi ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* hingga 51,2%. Sehingga semakin tinggi konsentrasi AH yang diberikan, maka pengaruhnya terhadap ekspresi MMP-9 akan semakin meningkat.

Gambar 3 merupakan grafik linieritas yang memperlihatkan pengaruh dari paparan AH dalam meningkatkan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork*. Grafik tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi paparan konsentrasi AH cenderung akan semakin meningkatkan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork*.



Gambar 3. Grafik linieritas antara paparan asam hialuronat dengan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork*

Pembahasan

Pada penelitian ini AH yang digunakan adalah jenis AH dengan berat molekul rendah yaitu 776,65 Dalton. AH dengan berat molekul yang rendah mempunyai kemampuan penetrasi ke jaringan yang lebih besar sehingga memiliki aktivitas biologis yang lebih tinggi dalam jaringan tubuh yang dapat memicu berbagai respons seluler (Aaron *et al.*, 2014), dan dikatakan bahwa pada berat molekul antara 800-5000 Dalton, AH dapat menginduksi ekspresi MMP-9 pada sel fibroblas tikus (Bucci *et al.*, 2004). Gugus asetil AH akan mengalami oksidasi lengkap setelah 24 jam dan selanjutnya AH akan mulai bekerja dalam jaringan, oleh karena itu paparan AH pada penelitian ini dilakukan selama 24 jam (Frasher *et al.*, 1997). Pemilihan konsentrasi AH pada penelitian ini didasarkan pada penelitian oleh Guo *et al.* (2012), yang menggunakan AH untuk melihat ekspresi MMP-2 dan MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* pada pasien glaukoma sudut terbuka primer usia ≤ 45 tahun.

Sebagai bagian dari MMP, MMP-2 dan MMP-9, yang merupakan tipe gelatinase, mempunyai kemampuan degradasi terhadap ECM yang tinggi. Pada penelitian ini peneliti hanya meneliti ekspresi MMP-9. Hal ini disebabkan oleh keterbatasan fasilitas dan sumberdaya, disamping itu juga pada penelitian oleh Guo *et al.* (2012), berdasarkan analisis gelatin zimografi pada ekspresi MMP-2 dan MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* yang dipapar dengan AH,

didapatkan bahwa ekspresi MMP-9 yang terjadi lebih besar bila dibandingkan dengan ekspresi MMP-2.

Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa MMP-9 merupakan *key player* pada regulasi *outflow* humor akuos pada trabekular *meshwork*, yang secara langsung mempengaruhi TIO. Pada sel trabekular *meshwork* manusia yang dikultur, pengaturan ECM endogen oleh MMP-9 dibutuhkan dalam menjaga keseimbangan resistensi *outflow* humor akuos di trabekular *meshwork* (Robertson *et al.*, 2013).

Berkaitan dengan ekspresi MMP-9 yang pada penelitian ini dilihat setelah 24 jam, suatu penelitian yang melihat ekspresi MMP-2, MMP-9, enzim heparanase dan *fibroblast activation protein* pada kultur kornea model inflamasi, mendapatkan bahwa ekspresi MMP-9 dapat dilihat setelah 24 jam setelah perlakuan (Shi *et al.*, 2010). Penelitian lain yang melihat efek latanopros terhadap ekspresi MMP dan *Tissue Inhibitor of Metalloproteinase (TIMP)*, suatu inhibitor alami dari bentuk aktif MMP, pada sel kultur trabekular *meshwork*, menunjukkan bahwa ekspresi MMP dan TIMP dapat dilihat setelah paparan latanopros selama 24 jam (Bukhard *et al.*, 2006).

Pada kultur sel trabekular *meshwork* yang telah dipapar dengan AH dilakukan pemeriksaan imunohistokimia untuk melihat ekspresi MMP-9. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian AH dapat meningkatkan ekspresi MMP-9. Hasil ini sesuai dengan beberapa penelitian lain yang juga menunjukkan bahwa AH dapat menginduksi MMP-9, diantaranya adalah penelitian yang dilakukan oleh Zhang *et al.* (2002), yang telah menunjukkan bahwa ekspresi MMP-2 dan MMP-9 sel kanker dapat meningkat setelah dipapar dengan AH, diduga hal ini disebabkan oleh induksi ikatan AH dengan reseptor permukaannya yaitu CD44 terhadap ekspresi MMP-9. Kemudian penelitian oleh Fiber *et al.*, 2004, yang menunjukkan bahwa terjadi ekspresi MMP-9 sel Langerhans setelah dipapar dengan AH, meskipun mekanisme yang tepat pada penelitian tersebut belum dipastikan. Selain itu Isnard *et al.* (2003), melakukan penelitian yang menunjukkan bahwa pemberian AH dapat meningkatkan ekspresi MMP-9 kultur sel kornea. Penelitian yang dilakukan oleh Guo *et al.* (2012), juga menunjukkan adanya korelasi antara peningkatan ekspresi MMP-9 dengan paparan AH pada kultur sel trabekular *meshwork* pasien glaukoma sudut terbuka primer. Induksi

ekspresi MMP-9 oleh AH diduga terjadi melalui jalur *Hyaluronic acid-CD44-Ras-MEK1-MAPK*.

Dari hasil analisis data didapatkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* pada setiap konsentrasi AH yang diberikan, dan terdapat peningkatan ekspresi yang signifikan antara kelompok kontrol tanpa paparan AH bila dibandingkan dengan kelompok dengan paparan AH. Dari hasil ekspresi MMP-9 yang didapatkan dapat dilihat bahwa pada penelitian ini peningkatan ekspresi MMP-9 yang terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi paparan AH yang diberikan. Semakin tinggi paparan AH, pengaruhnya terhadap peningkatan ekspresi MMP-9 juga semakin meningkat. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil dari penelitian Guo *et al.* (2012), yang juga memperlihatkan bahwa peningkatan ekspresi MMP-9 pada kultur sel trabekular *meshwork* karena pemaparan AH bersifat *dose dependent*.

Keterbatasan pada penelitian ini adalah tidak adanya pembandingan dari kultur sel trabekular *meshwork* pasien normal yang tidak mengalami glaukoma sudut terbuka primer sebagai pembandingan nilai ekspresi MMP-9 yang normal melalui metode imunohistokimia. Keterbatasan berikutnya adalah bahwa usia pasien yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini adalah 62 tahun sedangkan konsentrasi AH yang digunakan mengacu pada dosis yang digunakan pada penelitian oleh Guo *et al.* (2012), yang menggunakan sampel dengan usia yang lebih muda (≤ 45 tahun), dan seperti yang telah diketahui bahwa terdapat penurunan kadar AH dan akumulasi ECM yang meningkat pada usia yang lebih tua, maka diperlukan kadar MMP, termasuk MMP-9, yang lebih tinggi untuk mendegradasi ECM pada pasien yang lebih tua sehingga logikanya penelitian ini memerlukan pemaparan AH dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Menurut teori dan beberapa penelitian menunjukkan bahwa kadar AH pada trabekular *meshwork* pada usia tua lebih rendah, selain itu pada usia tua juga terjadi peningkatan akumulasi ECM (Acott *et al.*, 2008). Namun karena keterbatasan sumberdaya maka pemberian AH pada konsentrasi yang lebih tinggi tidak dilakukan dalam penelitian ini.

Selama ini penelitian tentang target terapi pada glaukoma sudut terbuka primer yang berfokus pada intervensi terhadap trabekular *meshwork* belum terlalu banyak dilakukan, sehingga penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu dasar

penelitian bagi pengembangan terapi pada glaukoma sudut terbuka primer.

Kesimpulan

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa paparan asam hialuronat dapat meningkatkan ekspresi MMP-9 kultur sel trabekular *meshwork* pasien glaukoma sudut terbuka primer dan peningkatan ekspresi MMP-9 yang terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi pemaparan asam hialuronat.

Daftar Pustaka

- Aaron CP, Carol AM. 2014. Hyaluronan, a crucial regulator of inflammation. *Frontiers Immunology*. 5: 101.
- Acott TS, Kelley MJ. 2008. Extracellular matrix in the trabecular meshwork. *Exp Eye Res*. 86: 543–561.
- Acott TS, Kelley MJ, Keller KE, Vranka JA, Abu-Hassan DW, *et al.* 2014. Intraocular pressure homeostasis: maintaining balance in a high-pressure environment. *J Ocul Pharmacol Ther*. 30: 94–101.
- Asbury V. 2013. Glaukoma: Oftalmologi Umum. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Bucci LR, Turpin AA. 2004. Will The Real Hyaluronan Please Stand Up? *Journal Of Applied Nutrition*. 54(1): 10-34.
- Esther LA, Tze' YT, Rajaraman E, Alex H, Anthony LC. 2015. TIMP 1, TIMP 2, and TIMP 4 are increased in aqueous humor from primary open angle glaucoma patients. *J Molecular Vision*. 21: 1162-1172.
- Fieber C, Baumann P, Vallon R, Termeer C, Simon J, Hofmann M, *et al.* 2004. Hyaluronan-oligosaccharide-induced transcription of metalloproteases. *J Cell Sci*. 117(2): 359-367.
- Frasher J. 1997. Hyaluronan, its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of Internal Medicine*. 242(1): 27-33.
- Guo MS, Wu YY, Liang ZB. 2012. Hyaluronic acid increases MMP-2 and MMP-9 expressions in cultured trabecular meshwork cells from patients with primary open-angle glaucoma. *Molecular vision*. 18: 1175-1181.
- Ilyas S. 2014. Glaukoma. Ilmu Penyakit Mata. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Isnard N, Robert L, Renard G. 2003. Effect of sulfated GAGs on the expression and activation of MMP-2 and MMP-9 in corneal and dermal explant cultures. *Cell Biol Int*. 27(9): 779-784
- Kate E, Acott S. 2013. The Juxtacanalicular Region of Ocular Trabecular Meshwork: A Tissue with a Unique Extracellular Matrix and Specialized Function. *J Ocular Biol*.1(1): 10-17.
- Oh DJ, Kang MH, Ooi YH, Choi KR, Rhee DJ. 2013. Overexpression of SPARC in human trabecular meshwork increases intraocular pressure and alters extracellular matrix. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 54: 3309-3319.
- Robertson JV, West-Mays AS. 2013. Altered expression of transforming growth factor beta 1 and matrix metalloproteinase-9 results in elevated intraocular pressure in mice. *Mol Vis*. 19: 684–695.
- Sihota R, Goyal A, Kaur J, Gupta V, Na T. 2012. Scanning electron microscopy of the trabecular meshwork: Understanding the pathogenesis of primary angle closure glaucoma. *Indian J Ophthalmol*. 60(3): 183–188.
- Shi W, Liu J, Li M, Gao H, Wang T. 2010. Expression of MMP, HPSE, and FAP in stroma promoted corneal neovascularization induced by different etiological factors. *Current Eye Research*. 35(11): 967-977.
- Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, *et al.* 2014. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: A systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*.
- Zhang Y, Thant A, Machida K. 2002. Hyaluronan-CD44s signaling regulates matrix metalloproteinase-2 secretion in a human lung carcinoma cell line QG90. *Cancer Res*. 62: 3692-3695.