

NEUROGLIOSIS PADA SEREBRUM FETUS TIKUS (*Rattus norvegicus*) DARI INDUK HIPOTIROID¹

NEUROGLIOSIS IN FOETAL CEREBRUM OF RAT (*Rattus norvegicus*) ORIGINATED FROM HYPOTHYROID MOTHER

Koeswinarning Sigit²

ABSTRAK

Pengamatan atas korteks serebri dan kepadatan populasi jaringan otak telah dilakukan terhadap serebrum fetus tikus (*Rattus norvegicus*) dari induk hipotiroid hasil induksi dengan tiourea 0,6 % dalam air minum. Sampai dengan umur kebuntingan 14 hari tidak diperoleh perubahan. Penipisan korteks serebri dan peningkatan kepadatan populasi jaringan otak secara nyata terjadi pada umur fetus hari ke 18, 21 dan neonatal ($P < 0,05$). Neurogliosis yang terjadi pada serebrum dan lokasinya dipelajari lebih lanjut.

Kata kunci : tiourea 0,6 % (b/v), hipotiroid, neurogliosis fetus

ABSTRACT

A study of the cerebral cortex and the population density of the brain tissues was conducted on foetal cerebrum of hypothyroid pregnant rat (*Rattus norvegicus*) induced by 0.6 % (w/v) thiourea in drinking water. There was no alteration of both cerebral cortex and the population density of brain tissues, up to 14 days of gestation period, a decrease in the thickness of the cerebral cortex and an increase in the population density of brain tissues were found on the day of 18, 21 of gestation period and neonatal, respectively ($P < 0.05$). Foetal neurogliosis occurred in this study and its location was discussed.

Key words : thiourea 0.6 % (w/v), hypothyroid, foetal neurogliosis

¹ Diambil dari Disertasi Doktor penulis di Institut Pertanian Bogor

² Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Jalan Taman Kencana 3, Bogor 16151,

PENDAHULUAN

Penyakit gondok (goiter) adalah penyakit yang ditandai dengan pembesaran kelenjar tiroid. Gondok disebabkan kurang berfungsinya kelenjar tiroid sehingga penyakit ini disebut juga hipotiroidisme. Gondok terjadi akibat kekurangan unsur iodium di dalam makanan/minuman, sehingga penyakit ini disebut pula kekurangan yodium atau sekarang ini pada manusia lebih dikenal sebagai GAKI (Gangguan Akibat Kurang Iodium) (Djokomoeljanto, 1990). Selain kekurangan yodium, hipotiroidisme dapat pula disebabkan oleh senyawa goitrogen. Zat goitrogen dapat ditemukan dalam makanan seperti singkong, jenis kubis dan kacang-kacangan, dan juga diproduksi secara kimiawi sebagai goitrogen buatan.

Di Indonesia, gondok pada manusia bersifat endemik dan merupakan masalah penyakit nutrisi keempat terbesar selain malnutrisi protein, kekurangan vitamin A dan anemia nutrisi. Selain karena kekurangan yodium dan bahan goitrogen, kejadian gondok endemik didukung pula oleh faktor geografi, sosial budaya, ekonomi, pendidikan/pengetahuan dan faktor musim (Muchtadi, 1987). Hetzel dan Mano (1989) menyatakan bahwa masalah kekurangan yodium merupakan masalah kesehatan masyarakat internasional yang besar, sebab saat ini diperkirakan 800 juta orang di dunia berada dalam resiko terserang gondok. Kelainan-kelainan yang muncul disebabkan oleh gondok pada janin adalah abortus, lahir mati atau lemah, kelainan kongenital, kretin neurologi, kretin miksedematosa dan kerusakan psikomotor (Djokomoeljanto, 1990). Pada sistem syaraf, hipotiroidisme akan menyebabkan rusaknya hubungan batang otak dengan korteks, kurangnya percabangan akson dan dendrit, mielinasi terlambat, berkurangnya produksi enzim susunan syaraf pusat, terhambatnya pembentukan zona granular luar serebelum, penurunan bobot otak (Dickson, 1984), kerusakan korteks serebri dan serebelum, kepadatan sel korteks serebri bertambah, pengurangan jumlah sel di serebelum (Hetzel, Chavadey dan Potter, 1988) dan fungsi otak yang tidak normal (Hetzel, dan Mano 1989). Shimada *et al.* (1992) menemukan adanya astrosit gliosis yang diduga terjadi sebagai akibat adanya kerusakan sel-sel neuron dan tempat sel rusak tersebut digantikan oleh astrosit pada jaringan otak anjing-anjing tua.

Penelitian yang dilaporkan ini dilakukan untuk mempelajari perkembangan otak fetus akibat hipotiroidisme pada induknya dan mencari informasi tentang lokasi kelainan di jaringan serebrum otak pada tikus laboratorium (*Rattus norvegicus*) dengan menginduksi keadaan hipotiroid induk bunting dengan bahan goitrogen tiourea.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, menggunakan 160 ekor tikus betina dewasa, 30 ekor tikus jantan dan 80 ekor fetus/neonatus. Tikus-tikus diperoleh dari Unit Gizi Departemen Kesehatan RI di Jakarta.

Tikus dipelihara di kandang kawat dalam bak plastik yang bagian dasarnya diberi sekam padi. Hewan percobaan mendapatkan pakan campuran pelet ikan (Comfeed), kacang hijau, jagung ayak, susu skim dan Multivitamin® (PT. Pyridam - Jakarta). Pakan campuran diberikan *ad libitum*.

Untuk menginduksi hipotiroidisme, dipakai tiourea (Merck) dengan konsentrasi 0,6 % (b/v) dalam air minum yang diberikan *ad libitum*. Pemberian tiourea dimulai pada awal kebuntingan, yaitu pada hari ditemukannya spermatozoa pada sediaan ulas vagina, setelah dicampur dengan tikus jantan sehari sebelumnya. Hari dimulai pemberian tiourea dinamakan H₀ dan hari-hari selanjutnya dinamakan H₁, H₂ dan seterusnya.

Pengamatan fetus dan otak fetus dilakukan pada umur kebuntingan H₁₅, H₁₈, H₂₁ dan H₂₅, terhadap a) berat fetus dan ukuran otak (berat, volume, panjang, lebar dan tebal), preparat otak yang diawetkan dalam alkohol 70 %, dan b) jaringan serebrum fetus yang dibuat preparat histologi dengan sayatan seri melintang setebal 8 µm dan diwarnai dengan hematoxilin eosin (HE). Pengamatan jaringan serebrum dilakukan terhadap ukuran tebal korteks, perhitungan kepadatan jaringan otak dan neuroglia di daerah A, B, C, D, E, F, G di lokasi korteks serebri medial (1), dan lateral (2), substansia alba (3), korteks prelimbik (4A), thalamus dan subthalamus (4B, C, D, E, F, G) dan korpus striatum (5). Gambar 1 memperlihatkan bagan lokasi pengamatan tersebut.

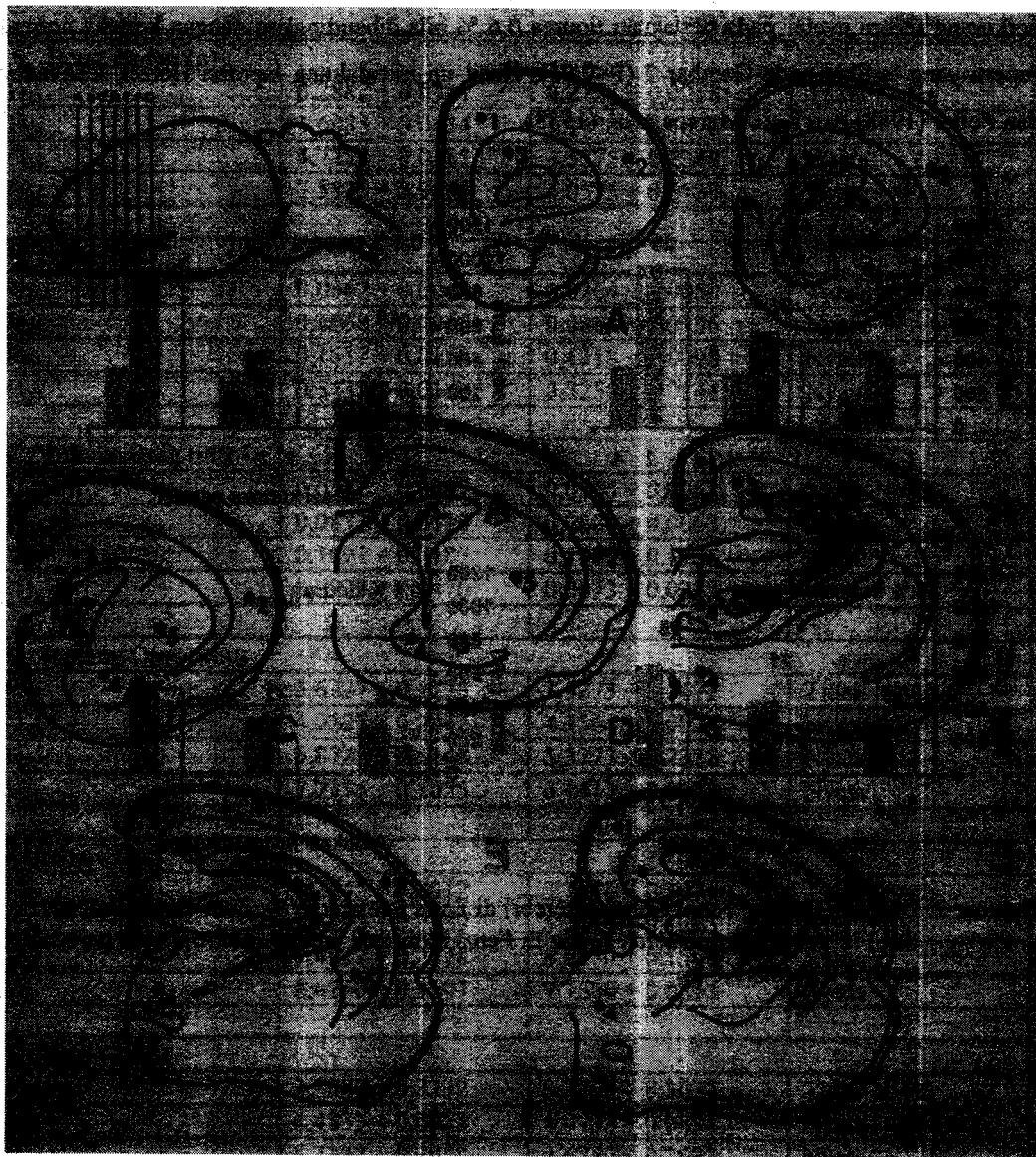
Setiap pengamatan memerlukan lima preparat otak yang diambil secara acak, kemudian dibandingkan antara tikus normal (0 %) dan tikus hipotiroid (0,6 %). Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan uji T (Steel dan Torrie, 1980).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh pada Berat Fetus, Berat Otak dan Ukuran Otak

Berat fetus dan berat otak (Tabel 1) pada H₁₅ baik pada perlakuan tiourea 0 % maupun 0,6 % tidak berbeda nyata. Perbedaan yang nyata baru terlihat pada H₁₈, H₂₁, dan H₂₅ (P<0,05).

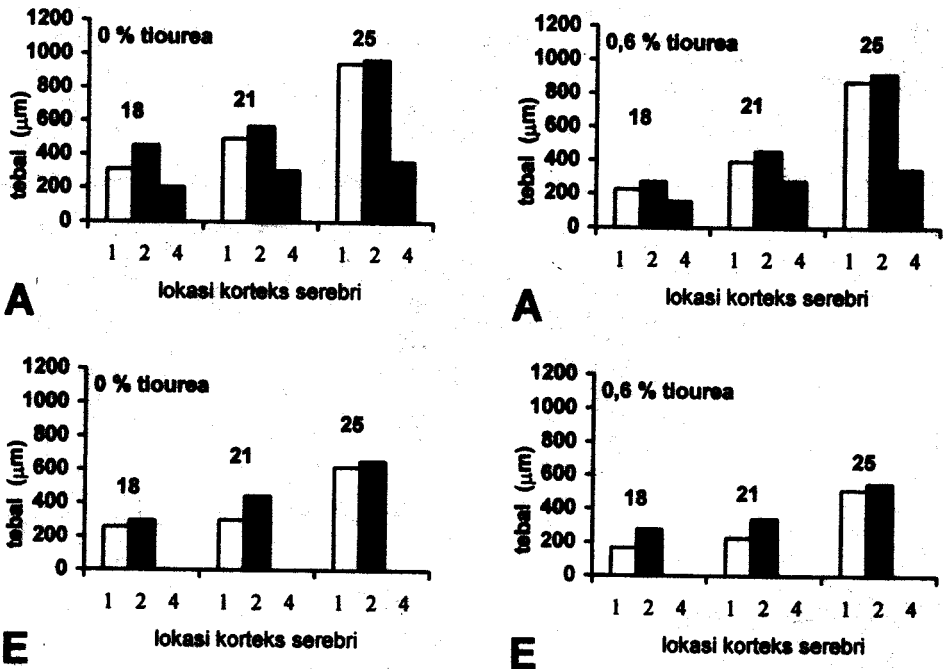
Ukuran otak (Tabel 1) yang meliputi volume, ukuran panjang, lebar dan tebal juga tidak berbeda nyata pada H₁₅. Perbedaan baru terlihat pada H₁₈, H₂₁ dan H₂₅ (P<0,05).



Gambar 1. Bagan otak fetus/neonatus (kiri atas) dan bagan sayatan melintangnya di daerah A, B, C, D, E, F, G dan lokasi 1, 2, 3, 4, 5.

Pengaruh pada Tebal Korteks Serebri

Pada H₁₅ baik pada perlakuan tiourea 0 % maupun 0,6 %, korteks serebri masih berupa korteks premordial. Pengukuran tebal korteks dilakukan pada H₁₈ dan seterusnya. Ketebalan korteks serebri baik di daerah somatik I, daerah somatik II maupun korteks prelimbik telah berkurang secara nyata pada perlakuan tiourea 0,6 % bila dibandingkan dengan korteks normal seperti yang terlihat pada Gambar 2 (P<0,05). Hasil ini mendukung laporan Hetzel, Chavadey dan Potter (1988) dan Ruiz-Marcos *et al.* (1988).



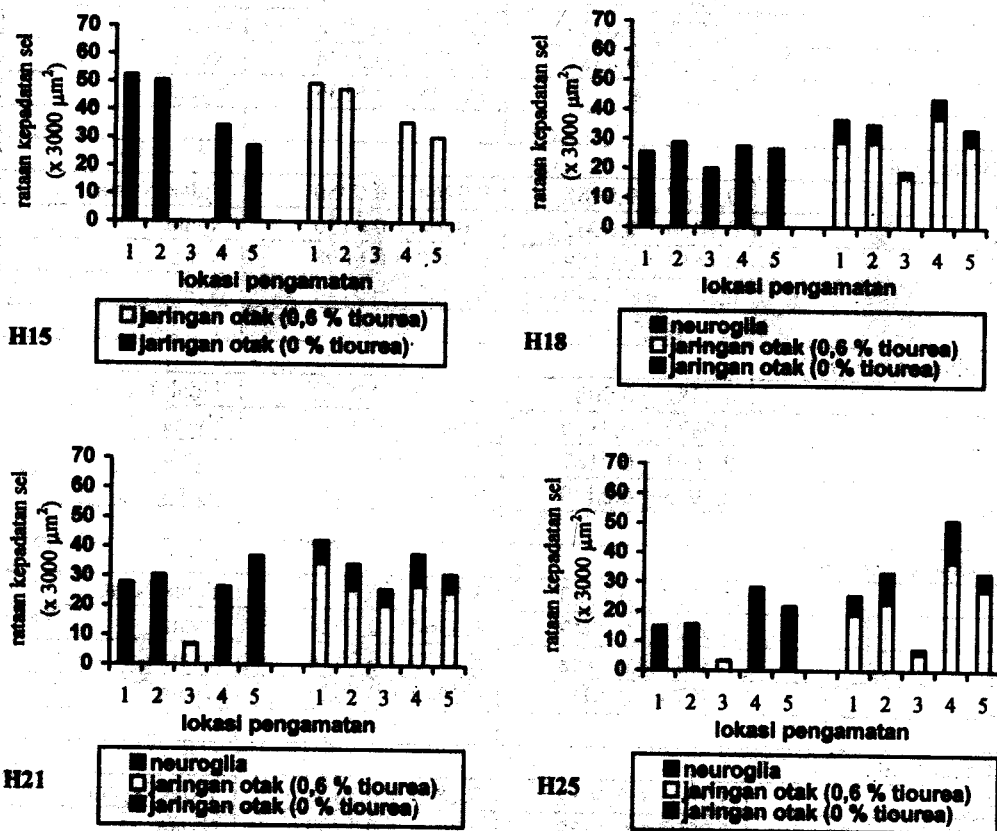
Gambar 2. Diagram Batang Tebal Korteks Serebri di Zona Somatik I (1), Zona Somatik II (2) dan Prelimbik (4) di Daerah A dan E. Fetus tikus dari induk hipotiroid oleh perlakuan tiourea 0 % dan 0,6 %.

Tabel 1. Rataan Berat Badan dan Otak, Volume, Ukuran Panjang, Lebar dan Tebal Otak pada Fetus/Neonatal dari Induk Tikus yang Hipotiroid oleh Perlakuan Tiourea 0 % dan 0,6 %.

Umur	Konsentrasi Tiourea		Tingkat Beda
	0 %	0,6 %	
A. Berat Badan (g)			
H ₁₅	0,2882 ± 0,0381	0,2725 ± 0,0218	Tidak Nyata
H ₁₈	1,6083 ± 0,0434	1,1458 ± 0,1076	Nyata
H ₂₁	4,7225 ± 0,0381	3,5575 ± 0,2344	Nyata
H ₂₅	7,5875 ± 0,3089	4,0575 ± 0,6139	Nyata
B. Berat Otak			
H ₁₅	0,0367 ± 0,0065	0,0264 ± 0,0050	Tidak Nyata
H ₁₈	0,1050 ± 0,0067	0,0864 ± 0,0136	Nyata
H ₂₁	0,1617 ± 0,0159	0,1318 ± 0,0098	Nyata
H ₂₅	0,3433 ± 0,0149	0,2255 ± 0,0144	Nyata
C. Volume Otak (ml)			
H ₁₅	0,0382 ± 0,0087	0,0365 ± 0,0052	Tidak Nyata
H ₁₈	0,0873 ± 0,0110	0,0800 ± 0,0063	Nyata
H ₂₁	0,1691 ± 0,0187	0,1309 ± 0,1136	Nyata
H ₂₅	0,2973 ± 0,0470	0,2073 ± 0,0233	Nyata
D. Panjang Otak (mm)			
H ₁₅	3,6227 ± 0,1723	3,5273 ± 0,1472	Tidak Nyata
H ₁₈	4,9227 ± 0,2042	4,3364 ± 0,0924	Nyata
H ₂₁	5,8727 ± 0,1148	5,3773 ± 0,2338	Nyata
H ₂₅	7,2375 ± 0,1025	6,1417 ± 0,0821	Nyata
E. Lebar Otak			
H ₁₅	3,2545 ± 0,3012	3,1814 ± 0,3436	Tidak Nyata
H ₁₈	5,8292 ± 0,1559	5,2417 ± 0,1203	Nyata
H ₂₁	7,4917 ± 0,2778	6,6250 ± 0,1500	Nyata
H ₂₅	8,4250 ± 0,1197	7,7500 ± 0,0853	Nyata
F. Tebal Otak			
H ₁₅	3,3000 ± 0,3232	3,2867 ± 0,3077	Tidak Nyata
H ₁₈	4,4833 ± 0,0718	4,0792 ± 0,0891	Nyata
H ₂₁	5,1333 ± 0,1958	4,6750 ± 0,2693	Nyata
H ₂₅	5,6792 ± 0,0782	5,1500 ± 0,2495	Nyata

Pengaruh pada Kepadatan Sel Jaringan Otak dan Neuroglia

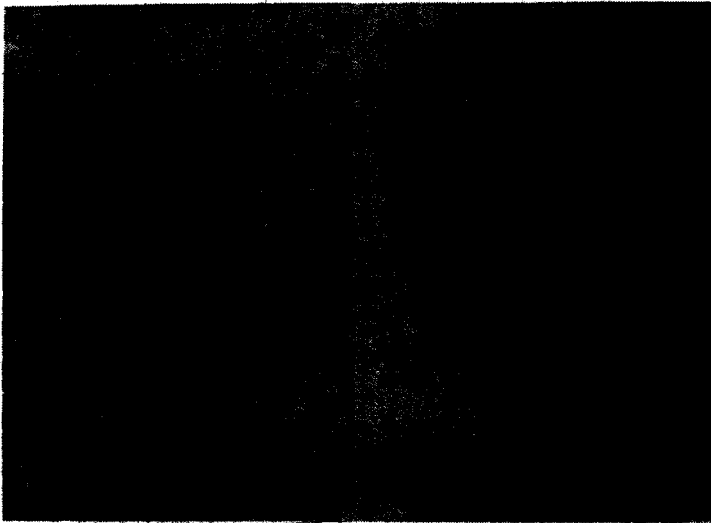
Perhitungan kepadatan sel jaringan otak pada H₁₅ perlakuan tiourea 0,6 % tidak berbeda nyata dibandingkan dengan yang normal. Kepadatan jaringan otak berbeda nyata pada umur H₁₈, H₂₁ dan H₂₅ seperti yang terlihat pada Gambar 3 (P<0,05).



Gambar 3. Diagram Balok Gabungan Kepadatan Sel Jaringan Otak dan Neuroglia di Lokasi 1, 2, 3, 4, 5 di Daerah E Fetus Tikus dari Induk Hipotiroid oleh Perlakuan Tiourea 0 % dan 0,6 %

Dari pemeriksaan histologi, ditemukan adanya bentuk-bentuk sel berinti gelap, bulat dan lebih kecil dari inti badan sel neuron pada otak fetus/neonatus dari induk dengan tiourea 0,6 % (Gambar 4). Sel-sel dengan inti demikian adalah neuroglia, nama umum untuk sel otak yang bukan neuron. Neuroglia ini juga terdapat pada otak normal tetapi konsentrasi kepadatannya kecil

seperti yang terlihat pada Gambar 3. Penyebaran neuroglia pada otak fetus H₂₁ yang memperoleh perlakuan tiourea 0,6 % tersaji pada Gambar 5.



Gambar 4. Gambaran Histologi Jaringan Serebrum Fetus Normal (A) dan Jaringan Serebrum Fetus Hipotiroid (B). Perhatikan adanya inti-inti gelap (g) dari neuroglia dan bandingkan dengan inti sel neuron normal (n)

Dari Gambar 3 tersebut diperoleh gambaran bahwa kepadatan sel-sel otak pada H₁₅ sangat tinggi dan bertambahnya umur menyebabkan kepadatan sel akan makin menurun. Kepadatan sel pada perlakuan 0,6 % tiourea bukan disebabkan oleh jumlah badan sel neuron yang lebih banyak dibandingkan 0 %, tetapi disebabkan oleh proliferasi neuroglia yang sangat besar jumlahnya. Proliferasi neuroglia ini dinamakan neurogliosis dan pada otak fetus/neonatus yang diakibatkan oleh hipotiroidisme induk belum pernah dilaporkan.



Gambar 5. Bagan Sebaran Neuroglia dengan Kepadatan Tinggi (digambarkan dengan kepadatan titik-titik) pada Sayatan Melintang di Daerah A, B, C, D, E, F, G pada Otak Fetus H_{21} yang Memperoleh Tiourea 0,6 %

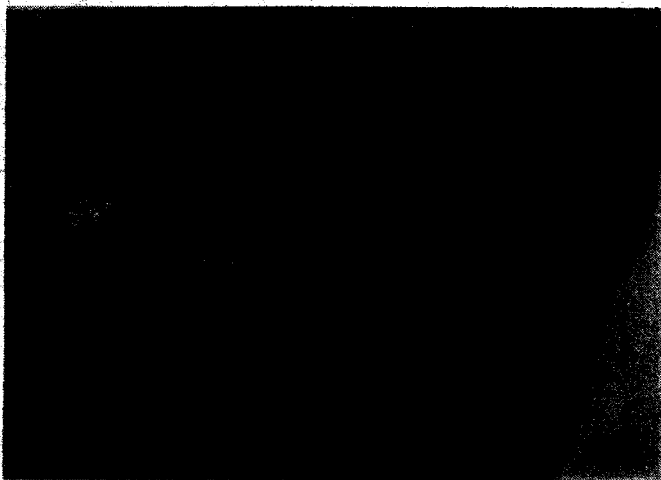
Lokasi Neurogliosis

Neurogliosis pada hipotiroidisme ini menyebar hampir di seluruh bagian otak dengan jumlah kepadatan yang berbeda. Lokasi neurogliosis tinggi terdapat di lapis germinalis V dan VI sepanjang korteks serebri prefrontal, frontal dan prelimbik, kompleks amigdala, korpus striatum, nukleus paraventrrikularis, korpus forniks, sulkus rinalis, thalamus dan subthalamus (Gambar 6, 7,

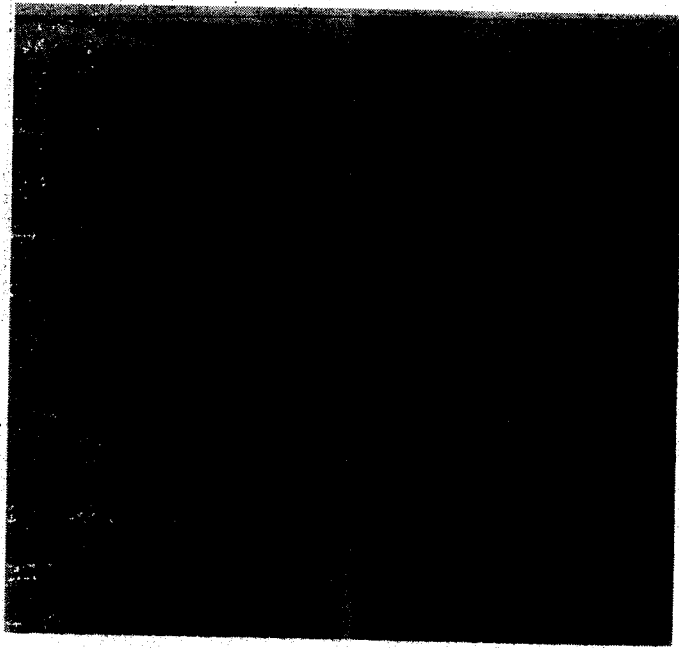
8 dan 9). Lokasi neurogliosis ini cenderung berada di dekat trakti yang besar dan berkelopak myelin seperti substansia alba, korpus kalosum, kapsula interna, nervus paraventrikularis dan trakti aferens dan eferens besar ke/dari thalamus.



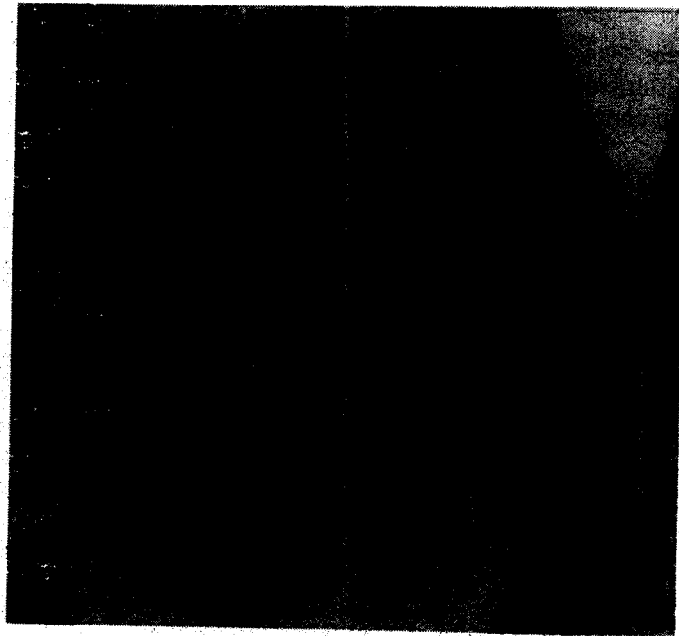
Gambar 6. Nukleus Paraventrikularis di Serebrum Normal (A) dan Neurogliosis di Nukleus Paraventricularis dari Serebrum yang Hipotiroid (B). v = ventrikel otak ke III, n = neuron normal



Gambar 7. Neurogliosis di Korpus Striatum (ks) dan di Sulkus Rinalis (sr), ke = kapsula eksterna



Gambar 8. Neurogliosis di Korteks Serebri Lapis Germinalis V dan VI (A) dan di Substansia Alba (B, sa)



Gambar 9. Neurogliosis di Korpus Fornika (A, kf), Thalamus (B, t) dan Subthalamus (B, st), kk = korpus kalosum)

Pengamatan dengan pewarnaan HE tidak dapat dipakai untuk mendiagnosa jenis neuroglia yang berproliferasi ini. Glaister (1986) menyatakan bahwa oligodendrosit yang bertugas membentuk kelopak myelin pada akson terminal mempunyai inti bulat, gelap dan lebih kecil dari inti neuron. Ciri-ciri ini mirip dengan neuroglia yang ditemukan dalam penelitian ini.

Hasil penelitian Plioplys, Gravel dan Hawkes (1986) mengungkapkan bahwa hipotiroidisme menyebabkan adanya penurunan reaksi kebal terhadap ekspresi antibodi neurofilamen di korteks serebri, korpus kalosum dan kopsula interna. Lokasi penemuan ini sebagian sesuai dengan lokasi neurogliosis pada penelitian ini. Sementara itu, Munoz *et al.* (1991) menemukan bahwa mRNA untuk sintesis protein myelin yang diperlihatkan oleh oligodendrosit sangat berkurang pada tikus hipotiroid.

Dari hasil penemuan beberapa peneliti terdahulu dan melihat ciri-ciri neuroglia yang berproliferasi ini, maka jenis neuroglia ini belum dapat diidentifikasi melalui penelitian ini.

KESIMPULAN

Pertumbuhan dan perkembangan otak fetus dari induk yang hipotiroid secara morfologis tidak berbeda nyata dibandingkan dengan otak fetus normal sampai pada umur 15 hari. Perbedaan nyata terdapat pada umur lebih tua yaitu pada hari ke 18, 21 dan 25. Hipotiroidisme akan menyebabkan menipisnya ketebalan korteks serebri dan bertambahnya kepadatan populasi jaringan otak yang meliputi badan sel neuron dan neuroglia, neurogliosis di lapis germinalis V dan VI sepanjang korteks serebri prefrontal, frontal dan prelimbik, kompleks amigdala, korpus striatum, nukleus paraventrikularis, korpus fornix, sulkus rinalis, thalamus dan subthalamus. Lokasi neuroglia berdekatan dengan trakti penyalur rangsang utama. Jenis neuroglia dalam penelitian belum dapat diidentifikasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada TMPD Departemen Pendidikan dan Kebudayaan RI dan Lembaga Penelitian Institut Pertanian Bogor yang telah mendanai penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Prof. Dr. Kusmat Tanudimadja (Alm.), Prof. Dr. Djokowoerjo Sastradipradja, Prof. Dr. Soenarjo Sastrohadinoto, Prof. Dr. Yuhara Sukra dan Prof. Dr. Harimurti Martoyo.

DAFTAR PUSTAKA

- Dickson, M.W. 1984. Endocrine Glands. *In: Duke's Physiology of Domestic Animals*. M. J. Swenson (Ed.). Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, Ithaca. P..
- Djokomoelyanto, R. 1990. Masalah GAKI dan Penanggulangannya dengan Pendekatan Mutakhir. *Prosiding : Simposium Pangan dan Gizi serta Kongres V Perhimpunan Peminat Pangan dan Gizi Indonesia (Pergizi-Pangan Indonesia)*, Padang, Sumatera Barat.
- Glaister, J. R. 1986. *Principles of Toxicological Pathology*. Taylor and Francis, London.
- Hetzel, B.S., J. Chavadey, and B. J. Potter. 1988. The Brain in Iodine Deficiency. *Neuropath. Appl. Neurobiol.*, 14(2) : 91-104.
- Hetzel, B. S. and M. Mano. 1989. A Review of experimental Studies of Iodine Deficiency during Foetal Development. *J. Nutr.*, 119(2): 145-151.
- Krettek, J. E. and J. L. Price. 1977. The Cortical Projections of Mediodorsal Nucleus and Adjacent Thalamic Nuclei in the Rat. *J. Comp. Neur.*, 171: 157-192.
- Muchtadi, D. 1987. The Control of Endemic Goiter in Indonesia. Field Report Series. Institute of Southeast Asian Studies, Singapore.
- Munoz, A., P.A. Rodriguez, A. Perez-Castillo, B. Ferreira, J. G. Sutcliffe and J. Bernal. 1991. Effects of Neonatal Hypothyroidism on Rat Brain Gene Expression. *Mol. Endocrinol.*, 5 (2): 273-280.
- Plioplys, A. V., C. Gravel and R. Hawkes. 1986. Selective Suppression of Neurofilament Antigen Expression in the Hypothyroid Rat Cerebral Cortex. *J. Neurol. Sci.*, 75(1): 53-68.
- Ruiz Marcos, A., A.P. Cartagena, G. A. Garcia, R. F. delEscobar and M. G. deEscobar. 1988. Rapid Effects of Adult-onset Hypothyroidism on Dendritic Spines of Pyramidal Cells of the Rat Cerebral Cortex. *Exp. Brain. Res.*, 73 (3) : 583-588.

Shimada, A., M. Kuwamura, T. Awaruka, T. Umemura and C. Itakura. 1992. An Immunohistochemical and Ultrastructural Study on Age-Related astrocyte Gliosis in the Central Nervous System of the Dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, 54(1) : 29-36.

Steel, R. G. and J. H. Torrie. 1980. Principles and Procedure of Statistics. Mc Graw Hill Book Co. Inc., New York.