NEUROGLIOSIS PADA SEREBRUM FETUS TIKUS (*Rattus norvegicus*) DARI INDUK HIPOTIROID[1]

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

Koeswinarning Sigit[2]

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 occured 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 H_0 dan hari-hari selanjutnya dinamakan H_1, H_2 dan seterusnya.

Pengamatan fetus dan otak fetus dilakukan pada umur kebuntingan H_{15}, H_{18}, H_{21} dan H_{25}, 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 hematoksilin 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.

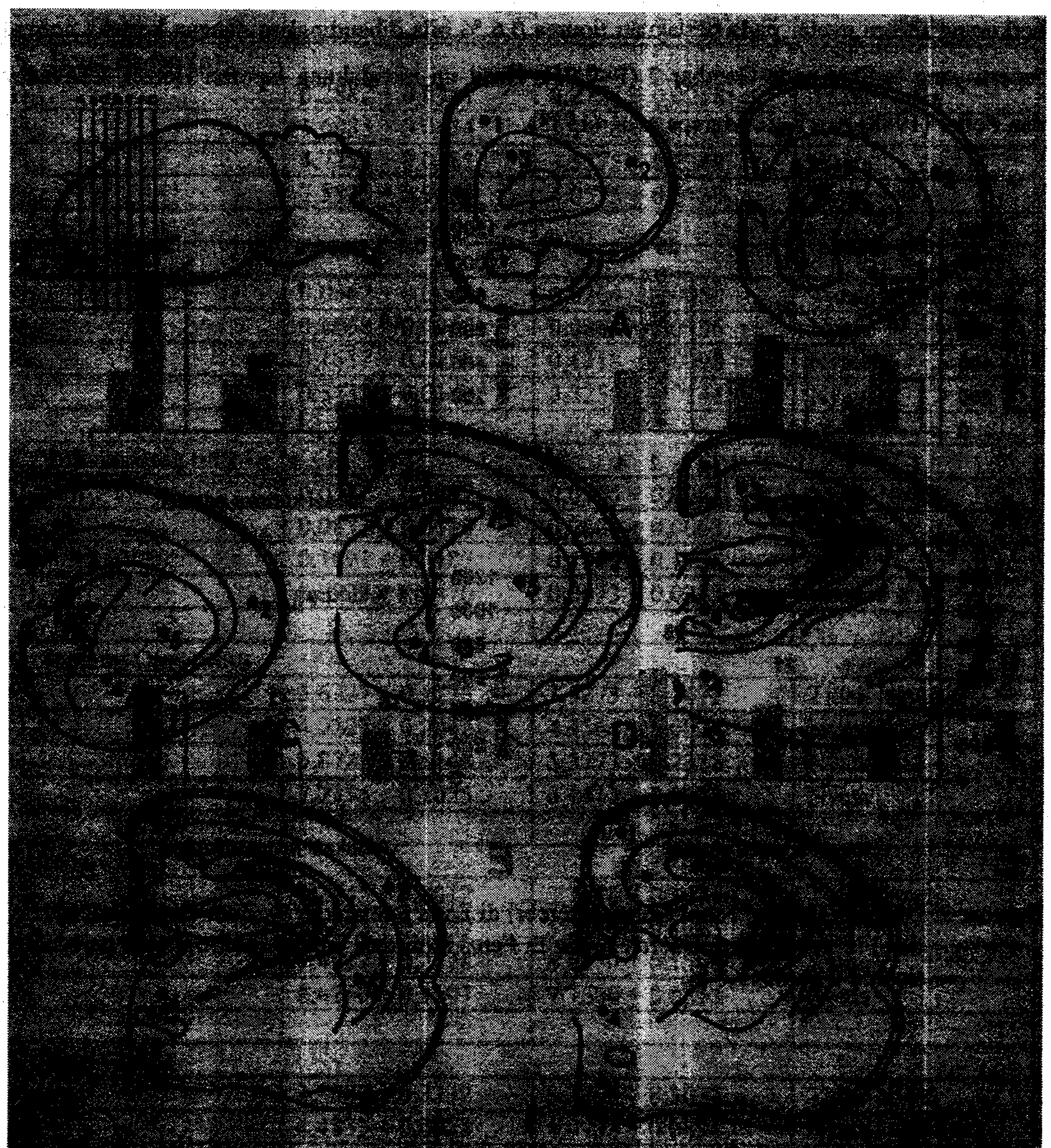
Setiap pengamatan memerlukan lima preparat otak yang diambil secara acak, kemudian dibandingkan antara tikus normal (0 %) dan tikus hipotiroid (0,6 %). Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan uji T (Steel dan Torrie, 1980).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh pada Berat Fetus, Berat Otak dan Ukuran Otak

Berat fetus dan berat otak (Tabel 1) pada H_{15} baik pada perlakuan tiourea 0 % maupun 0,6 % tidak berbeda nyata. Perbedaan yang nyata baru terlihat pada H_{18}, H_{21}, dan H_{25} ($P<0,05$).

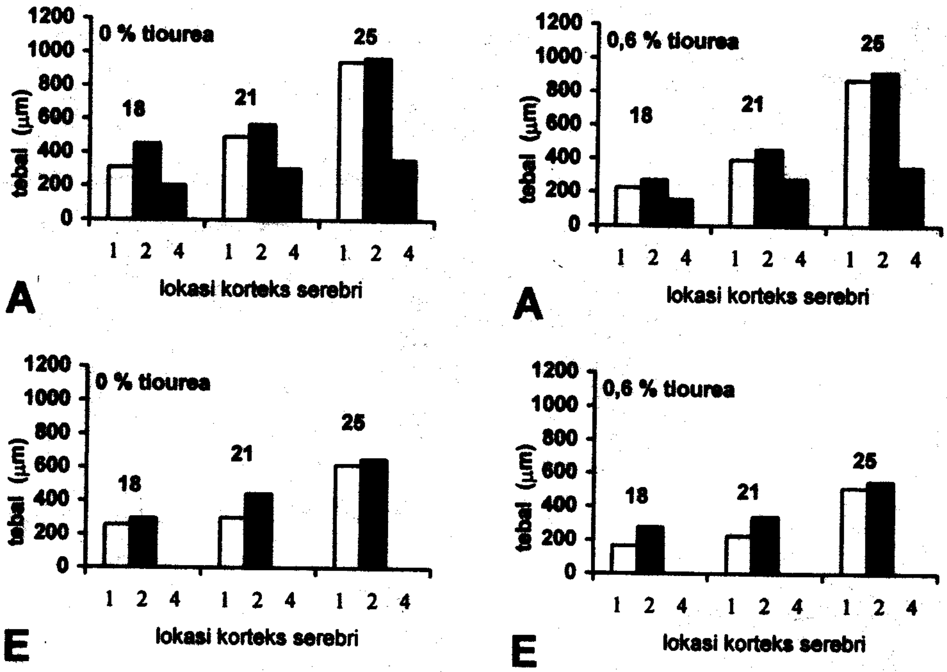
Ukuran otak (Tabel 1) yang meliputi volume, ukuran panjang, lebar dan tebal juga tidak berbeda nyata pada H_{15}. Perbedaan baru terlihat pada H_{18}, H_{21} dan H_{25} ($P<0,05$).



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 H_{15} baik pada perlakuan tiourea 0 % maupun 0,6 %, korteks serebri masih berupa korteks premordial. Pengukuran tebal korteks dilakukan pada H_{18} 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).



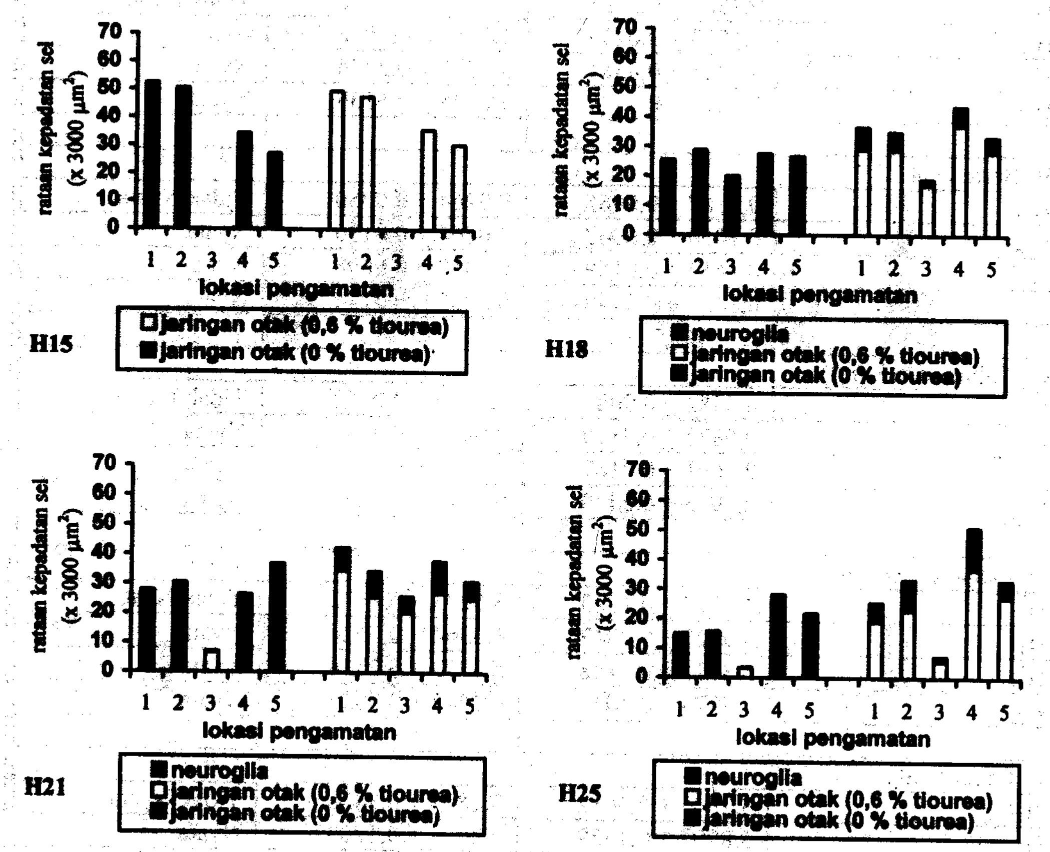
Gambar 2. Diagram Batang Tebal Korteks Serebri di Zona Somatik I (1), Zona Somatik II (2) dan Prelimbik (4) di Daerah A dan E. Fetus tikus dari induk hipotiroid oleh perlakuan tiourea 0 % dan 0,6 %.

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 0 %	Konsentrasi Tiourea 0,6 %	Tingkat Beda
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

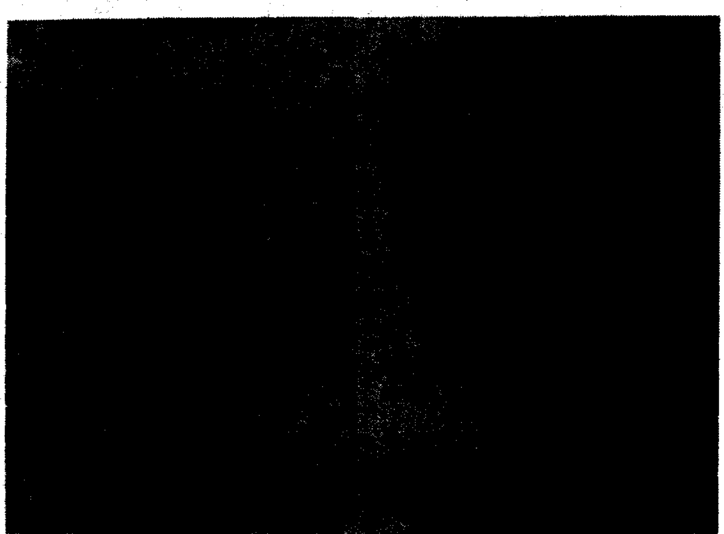
Pengaruh pada Kepadatan Sel Jaringan Otak dan Neuroglia

Perhitungan kepadatan sel jaringan otak pada H_{15} perlakuan tiourea 0,6 % tidak berbeda nyata dibandingkan dengan yang normal. Kepadatan jaringan otak berbeda nyata pada umur H_{18}, H_{21} dan H_{25} 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 H_{21} 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 H_{15} 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.

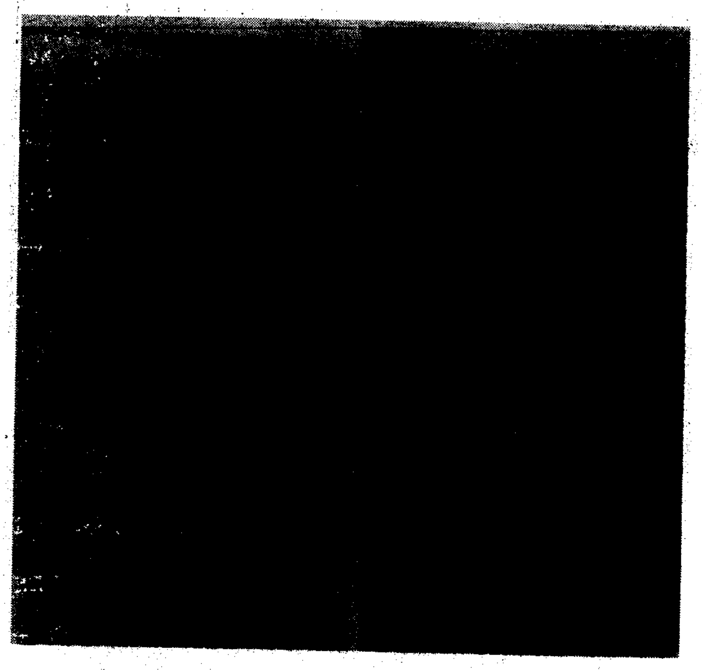
Gambar 5. Bagan Sebaran Neuroglia dengan Kepadatan Tinggi (digambarkan dengan kepadatan titik-titik) pada Sayatan Melintang di Daerah A, B, C, D, E, F, G pada Otak Fetus H_{21} yang Memperoleh Tiourea 0,6 %

Lokasi Neurogliosis

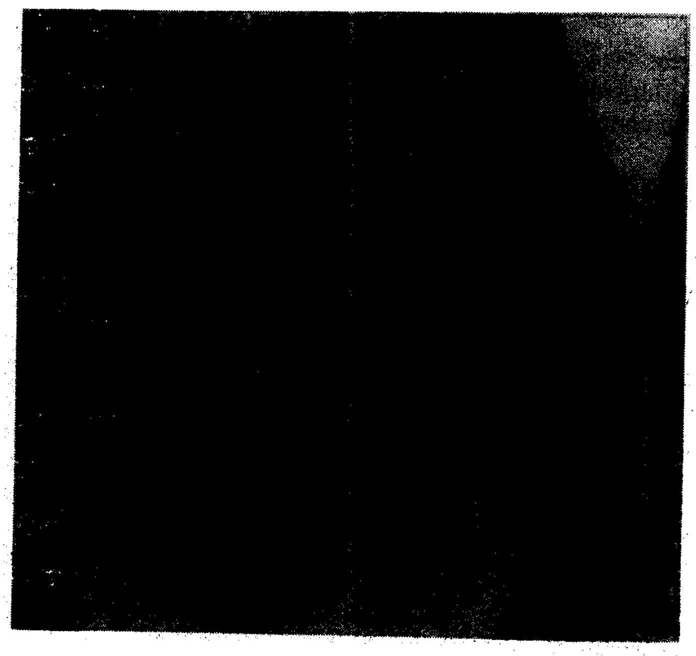
Neurogliosis pada hipotiroidisme ini menyebar hampir di seluruh bagian otak dengan jumlah kepadatan yang berbeda. Lokasi neurogliosis tinggi terdapat di lapis germinalis V dan VI sepanjang korteks serebri prefrontal, frontal dan prelimbik, kompleks amigdala, korpus striatum, nukleus paraventrikularis, 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 forniks, 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 Physology 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. Institue of Southeast Asian Studies,Singapore.

Munoz, A., P.A. Rodriquez, A. Perez-Castillo, B. Ferreiro, 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 Suppresion of Neurofilament Antigen Expression in the Hypothyroid Rat Celebral 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 Effecs 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.