

RESPONS METAFISIS TULANG FEMUR DISTALIS TIKUS OVARIEKTOMI YANG MENGKONSUMSI KALSITRIOL

The Response of Metaphysis Distal Femur Ovariectomized Rats Consuming Calcitriol Supplement

Hartiningih¹, Devita Anggraini¹, dan Dhirgo Aji¹

¹Bagian Ilmu Bedah dan Radiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
E-mail: hartiningih56@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengaji respons metafisis tulang femur distalis tikus ovariektomi yang mengonsumsi suplemen kalsitriol selama enam minggu. Lima belas tikus *Wistar* umur delapan minggu, secara acak dibagi tiga kelompok (normal/N, ovariektomi/Ov, dan ovariektomi + kalsitriol/OvD) masing-masing 5 tikus. Tikus kelompok N dan Ov diberi pakan standar, sedangkan tikus kelompok OvD diberi pakan standar + kalsitriol. Pada umur 14 minggu, tikus dimasukkan kandang metabolik individu untuk studi balasan. Pada hari 4-7 studi balasan, setiap hari sisa pakan, urin, dan feses dikoleksi untuk pemeriksaan Ca. Pada akhir penelitian, tikus dieutanasi, tulang femur kanan diambil pemeriksaan histopatologis dengan pengecatan hematoxilin dan eosin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumsi Ca dan retensi Ca pada tikus OvD tidak berbeda signifikan meskipun cenderung meningkat, sedangkan ekskresi Ca dalam feses dan urin meningkat sangat signifikan ($P < 0,01$). Metafisis tulang femur distalis tikus kelompok OvD terlihat zona spikulum tulang trabekula lebih pendek dan berbentuk irregular, dan rongga sumsum tulang didominasi jaringan adiposit. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa suplementasi kalsitriol selama enam minggu pada tikus ovariektomi menyebabkan osteoporosis pada metafisis tulang femur distalis.

Kata kunci: kalsitriol, tulang femur distalis, ovariektomi

ABSTRACT

The objective of the research was to study the response of metaphysis femur ovariectomized rats consuming calcitriol supplement for six weeks. Fifteen female *Wistar* rats, at eight weeks of age were randomly allotted into three groups of five (normal group/N, ovariectomized group/Ov and ovariectomized group + calcitriol supplement/OvD). Group N and Ov rats were fed standard diet, while group OvD rats were fed standard diet+calcitriol supplementation. At 14 weeks of age, they were placed into individual metabolic cages for balance studies. From day 4 to 7 of the balance studies, the remaining food, urine, and feces were collected and recorded every day for Ca analyses. At the end of the study, right femur was taken for histopathological examination using hematoxylin and eosin stain. The research results showed that Ca consumption and Ca retention were not significantly different after calcitriol supplementation, however calcitriol tend to increased Ca consumption and Ca retention. Meanwhile fecal Ca and urinary Ca excretion were significantly higher ($P < 0.01$) in ovariectomized rats consuming calcitriol supplement. Histopathologically, distal femur of the rat in OvD group were shown some abnormalities, such as irregular shape of the trabecular bone specimen in metaphysis and the domination of adipocyte in the bone marrow of metaphysis. Based on the results, it was concluded that calcitriol supplementation might caused osteoporosis in ovariectomized rats.

Key words: calcitriol, femur distalis, ovariectomized

PENDAHULUAN

Tulang selain berfungsi sebagai kerangka penopang sistem muskuloskeletal, pendukung lokomotif dan pelindung organ vital, juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan sebagian besar kalsium (Ca) tubuh, berperan mempertahankan Ca darah dalam kisaran normal melalui keseimbangan antara resorpsi tulang oleh osteoklas dan pembentukan tulang oleh osteoblas selama proses remodeling tulang (Martin, 1993; Manolagas, 2000; Nakamura *et al.*, 2003). Remodeling tulang yang berlebihan memicu kehilangan massa tulang, penipisan tulang trabekula, kerangka pembentukan tulang trabekula primer di bagian metafisis menjadi lebih tipis, penipisan tulang korteks, dan pengeroposan tulang korteks (Bourrin *et al.*, 2000; Seeman, 2003).

Turunnya hormon estrogen pada masa menopause sering dikaitkan dengan peningkatan resorpsi tulang, penurunan densitas tulang, dan risiko tinggi terjadi patah tulang (Rae *et al.*, 1991; Slemenda *et al.*, 1996; Stone *et al.*, 1998).

Penurunan estrogen mengakibatkan penurunan absorpsi Ca usus dan peningkatan ekskresi Ca melalui ginjal (Hoenderop *et al.*, 1999; van Abel *et al.*, 2002; van Abel *et al.*, 2003), balasan Ca negatif, meningkatkan resorpsi Ca tulang dan hilangnya massa tulang individu pascamenopause (Holzherr *et al.*, 2000; van den Hauvel *et al.*, 2000), maupun tikus pascaovariektomi (Watanabe *et al.*, 2001; O'Loughlin dan Morris, 2003). Beberapa peneliti melaporkan bahwa estrogen bekerja langsung pada duodenum untuk memicu absorpsi Ca secara transseluler (Van Abel *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2003), dan bekerja langsung pada ginjal untuk meningkatkan reabsorpsi Ca dalam tubulus ginjal (McKane *et al.*, 1995; Van Abel *et al.*, 2002). Pada tulang, estrogen selain bekerja menurunkan pembentukan osteoklas dan aktivitas osteoklas meresorpsi tulang (Baylink *et al.*, 1993; Manolagas, 2000), meningkatkan pembentukan osteoblas dan fungsi osteoblas untuk membentuk tulang (Chow *et al.*, 1992; Majeska *et al.*, 1994; Qu *et al.*, 1998) juga mengendalikan osteoblas dan adiposit dalam sumsum tulang (Riggs *et al.*, 2002; Cooke dan Naaz,

2004). Estrogen juga bekerja pada tulang secara tidak langsung melalui penghambatan aktivitas hormon paratiroid (Khosla *et al.*, 1997; Notelovitz, 1997), dan aktivasi ginjal untuk mengkonversi vitamin D₂ (25-dihidroksivitamin D₃) menjadi vitamin D₃ (1,25-dihidroksivitamin D₃) (Notelovitz, 1997).

Suplemen vitamin D₃ selain berfungsi untuk mempertahankan kadar Ca darah agar tetap berada dalam kisaran normal, juga berfungsi dalam proses mineralisasi tulang rangka (Jones *et al.*, 1998). Pemberian suplemen vitamin D₃ meningkatkan vitamin D₃ plasma (Wood *et al.*, 1998; Vieth *et al.*, 2000), menstimulasi media transportasi Ca transeluler, memicu absorpsi Ca usus dan reabsorpsi Ca tubulus ginjal (Hoenderop *et al.*, 2001; van Cromphaut *et al.*, 2001; Song *et al.*, 2003; van Abel *et al.*, 2003; van de Graaf *et al.*, 2004), memicu pembentukan tulang dan meningkatkan densitas tulang dengan menstimulasi sintesis osteokalsin oleh osteoblas dan proses mineralisasi matriks tulang (Jones *et al.*, 1998; Larsen, 2003; Anderson *et al.*, 2006; Hendy *et al.*, 2006;). Namun, konsumsi suplemen vitamin D₃ pada dosis tinggi dapat menyebabkan hiperkalsemia, hiperkalsiuria, dan meningkatkan resorpsi Ca dalam tulang (Yacobus *et al.*, 1992; Selby *et al.*, 1995).

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengaji respons metafisis tulang femur distalis tikus ovariektomi yang mengkonsumsi kalsitriol selama enam minggu terus menerus. Selain diharapkan bermanfaat untuk mencegah demineralisasi Ca tulang pada individu pascaovariektomi (menopause), juga dapat diperoleh informasi tentang pemanfaatan kalsitriol yang aman apabila dikonsumsi dalam waktu yang lama.

MATERI DAN METODE

Lima belas tikus *Wistar* betina umur delapan minggu dan pakan standar yang mempunyai kandungan protein 24%; Ca 0,6%; dan P 0,4% digunakan dalam penelitian ini. Komposisi pakan (g/100 g pakan) yang diberikan terdiri atas 78% tepung jagung, 20% tepung ikan teri, 0,7% molase, 0,3% CaCO₃, dan 1,0% vitamin mineral. Tikus ditempatkan dalam kandang individu dengan suhu ruang berkisar 22-25° C, diberi pakan standar dan air minum akuabidestilata secara *ad libitum*. Tikus dibagi tiga kelompok (normal/N sebagai kontrol, ovariektomi/Ov, dan ovariektomi + suplemen kalsitriol/OvD) masing-masing 5 tikus. Suplemen kalsitriol (1,25-dihidroksivitamin D) diberikan secara

oral sebanyak 8 µg/hari/tikus. Seminggu pasca adaptasi pakan, dilakukan operasi ovariektomi (pengambilan ovarium) sesuai metode yang digambarkan Wanfort dan Flecknell (1992) yaitu dengan membuat sayatan pada linea alba mulai dari umbilikus ke arah kaudal. Sebagai anestesi digunakan campuran ketamin 10% dosis 50 mg/kg berat badan dan *xylazine* 2% dosis 5 mg/kg berat badan yang diinjeksikan intramuskular. Hal yang sama dilakukan pada tikus kontrol meskipun tidak dilakukan pengambilan ovarium (operasi semu). Satu hari pascaoperasi, semua tikus diberi perlakuan selama enam minggu.

Lima minggu pascaoperasi, setiap tikus dimasukkan kandang metabolik individu untuk studi balan selama 1 minggu. Studi balan, untuk mengetahui retensi Ca (konsumsi Ca, ekskresi Ca feses dan urin) dimulai setelah adaptasi hari ke 4 (hari ke 4-8). Selama studi balan, setiap hari sisa pakan dan feses dikumpulkan, ditimbang dan disimpan pada suhu -5° C untuk pemeriksaan Ca. Pada waktu yang sama, urin juga dikumpulkan, diukur, diasamkan (pH 1) dalam larutan HCl 37%, dan disimpan pada suhu -5° C untuk pemeriksaan Ca. Kalsium dan fosfor pakan diperiksa dengan alat *automatic chemistry Beckman Counter synchron Cx9 Pro.*, metode *Arsenazo III*. Pemeriksaan Ca dalam feses dilakukan dengan metode yang sama, setelah pakan dan feses ditentukan kadar airnya, diabukan pada suhu 600° C sesuai dengan metode yang diterangkan oleh Harris (1970). Pemeriksaan Ca urin juga dilakukan dengan metode yang sama setelah urin diuapkan pada suhu 60° C, dilarutkan dalam asam HCl 37% dan diencerkan dalam akuabidestilata sesuai dengan metode Harris (1970). Data Ca yang diperoleh dianalisis dengan uji faktorial. Pada akhir perlakuan, enam minggu pascaovariektomi tikus dieutanasia, tulang femur kanan diambil untuk pemeriksaan histopatologis dengan pengecatan hematoksilin dan eosin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis terhadap konsumsi Ca dan retensi Ca tikus ovariektomi yang diberi suplemen kalsitriol tidak berbeda signifikan dengan tikus ovariektomi tanpa suplemen kalsitriol meskipun cenderung lebih tinggi, sedangkan ekskresi Ca dalam feses dan urin meningkat sangat signifikan ($P < 0,01$) dibandingkan dengan tikus ovariektomi tanpa suplemen kalsitriol (Tabel 1). Kondisi ini diduga disebabkan karena estrogen yang rendah. Hartiningsih *et al.* (2006)

Tabel 1. Rata-rata konsumsi Ca, rata-rata Ca feses, Ca urin, dan retensi Ca pada tikus *Wistar* yang mengonsumsi teri tawar tanpa suplemen kalsitriol dan yang diberi suplemen kalsitriol selama enam minggu pascaovariektomi

Kelompok	Ovariektomi + kalsitriol	Ovariektomi	Normal
Konsumsi Ca (g/hari)	11,46±3,42 ^a	9,70±2,93 ^a	7,42±2,42 ^a
Ca feses (mg/hari)	1,57±0,26 ^b	1,48±0,63 ^{bb}	1,48±0,73 ^{bb}
Ca urin (mg/hari)	0,054±0,009 ^c	0,032±0,022 ^{cc}	0,03±0,007 ^{cc}
Retensi Ca (mg/hari)	9,79±3,59 ^d	8,19±2,60 ^d	5,91±1,89 ^d

^{a,b,bb, c, cc,d} Superskrins yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($P > 0,05$)

melaporkan bahwa tikus panhisterektomi yang diberi suplemen 1,25-dihidroksivitamin D₃ selain mempunyai konsentrasi estrogen cenderung lebih rendah meskipun tidak berbeda signifikan dengan tikus tanpa suplemen 1,25-dihidroksivitamin D₃, mengonsumsi Ca lebih tinggi, dan meningkatkan ekskresi Ca dalam feses dan urin.

Peningkatan konsumsi Ca pada tikus ovariektomi yang diberi suplemen kalsitriol secara langsung diduga menjadi penyebab penurunan absorpsi Ca intestinal yang ditandai dengan peningkatan ekskresi Ca dalam feses. Scholz-Ahrens *et al.* (2007) melaporkan bahwa nilai absorpsi Ca intestinal adalah selisih dari jumlah Ca yang dikonsumsi dengan jumlah Ca yang diekskresikan dalam feses. Penelitian yang dilakukan Song *et al.* (2003) menunjukkan bahwa mencit yang mengonsumsi pakan mengandung Ca rendah 0,02% selama 1 minggu meningkatkan absorpsi Ca intestinal sebanyak 2,3 kali (57,2±2,8%) dibanding mencit yang mengonsumsi Ca 0,5% (17,3±2,0%), dan mencit yang mengonsumsi pakan mengandung Ca tinggi 2% menurunkan absorpsi Ca intestinal sebanyak 75% (4,4±0,5%) dibanding mencit yang mengonsumsi Ca 0,5% (17,3±2,0%).

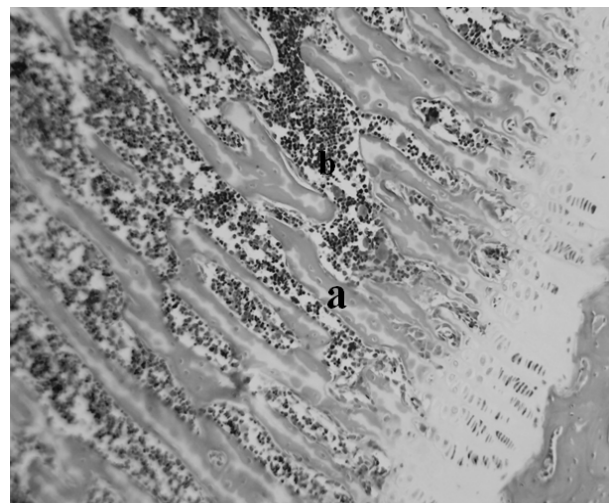
Dalam penelitian ini, peningkatan ekskresi Ca dalam feses pada tikus ovariektomi yang diberi suplemen kalsitriol secara langsung disebabkan karena konsumsi Ca yang tinggi, dan secara tidak langsung diduga terkait dengan estrogen yang rendah. Menurut Chen dan Kalu (1998) estrogen berperan langsung dalam absorpsi Ca usus secara transpot aktif melalui reseptor estrogen yang terdapat pada sel mukosa usus halus. Van Abel *et al.* (2003) juga melaporkan bahwa estrogen beraksi langsung pada duodenum untuk menstimulasi absorpsi Ca secara transseluler atau melalui transpor aktif yang ditandai dengan meningkatnya media absorpsi Ca secara transseluler seperti *transient receptor potential-vanilloid* (TRPV5 dan TRPV6), protein pengangkut Ca kalbindin-D_{9k}, dan pompa Ca plasma membran Ca²⁺-ATPase (PMCA1b).

Peningkatan ekskresi Ca dalam urin pada tikus ovariektomi yang diberi suplemen kalsitriol juga diduga terkait dengan rendahnya estrogen. Menurut McKane *et al.* (1995) dan Van Abel *et al.* (2002) estrogen bekerja langsung pada ginjal untuk meningkatkan reabsorpsi Ca dalam tubulus ginjal. Van Abel *et al.* (2002) melaporkan bahwa suplemen estrogen meningkatkan reabsorpsi Ca ginjal tikus melalui pengaturan ekspresi ECaCl (suatu saluran tempat masuknya Ca pada epitel tubulus ginjal yang terlibat dalam transpor Ca transseluler), kalbindin D_{28K}, dan pompa Ca dalam tubulus ginjal. Penurunan estrogen akan meningkatkan ekskresi Ca melalui ginjal (Hoenderop *et al.*, 1999; Van Abel *et al.*, 2002).

Hasil analisis terhadap retensi Ca menunjukkan bahwa suplemen kalsitriol tidak berpengaruh terhadap retensi Ca meskipun cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan tikus ovariektomi tanpa suplemen kalsitriol (Tabel 1). Menurut Braun *et al.* (2007) dan

Scholz-Ahrens *et al.* (2007) retensi Ca adalah selisih dari jumlah Ca yang dikonsumsi dengan jumlah Ca yang diekskresikan dalam feses dan urin. Menurut Toromanoff *et al.* (1997) selisih dari jumlah Ca yang dikonsumsi dengan jumlah Ca yang diekskresikan dalam feses dan urin diartikan sebagai balan Ca. Menurut O'Loughlin dan Morris (1994) ada keterkaitan antara balan atau retensi Ca dengan akumulasi mineral dalam tulang, sedangkan menurut Wood (2000) retensi atau balan Ca merefleksikan terjadinya keseimbangan antara proses pembentukan dan resorpsi tulang selama proses remodeling tulang. Retensi Ca yang lebih tinggi menunjukkan lebih tingginya pembentukan tulang dibanding resorpsi tulang, dan sebaliknya.

Gambaran histopatologis bagian fisis dan metafisis tulang femur distalis tikus normal menunjukkan zona osteogenik bagian fisis, dan spikulum tulang trabekula di bagian metafisis berbentuk normal, rongga sumsum tulang didominasi jaringan hematopoietik (Gambar 1). Menurut Jee (1983), Doige (1988) dan Palmer (1993) zona osteogenik bagian fisis dibagi menjadi zona kondrosit istirahat, proliferasi, dan hipertropi yang meliputi maturasi, degenerasi dan kalsifikasi. Dalam kondisi normal, zona kondrosit istirahat ditandai oleh kondrosit berbentuk sferis, tunggal atau berpasangan. Zona kondrosit proliferasi tersifat dengan sel kondrosit berbentuk pipih dan setelah beberapa kali mitosis berubah bentuk menjadi oval. Setelah masuk zona maturasi sel-sel yang tersifat dengan susunan selnya yang berderet memanjang, tinggi sel menjadi 4-5 kali, volume sel juga membesar sampai 10 kali, inti sel piknotik, sitoplasma bervakuola, dan terjadi kalsifikasi matriks. Nilson *et al.* (1999) dan Weise *et al.* (2001) melaporkan bahwa estrogen bekerja pada kondrosit lempeng pertumbuhan atau fisis manusia melalui ER α and ER β . Dilaporkan Palmer (1993) bahwa penurunan estrogen menyebabkan gangguan produksi kolagen.



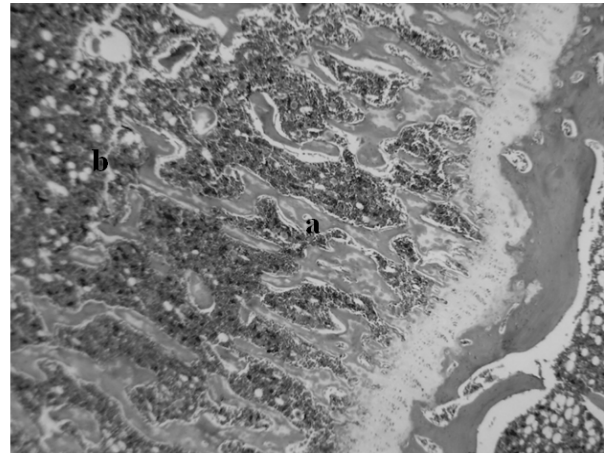
Gambar 1. Histopatologis bagian metafisis tulang femur distalis tikus *Wistar* normal terlihat (a) spikulum tulang trabekula berbentuk normal, (b) rongga sumsum tulang didominasi sel hematopoietik (HE 100X.)

Menurut Jee (1983), Doige (1988), dan Palmer (1993) pada zona degenerasi, sel-sel kondrosit mengalami degenerasi, lakuna matriks yang sudah mengalami kalsifikasi diinvasi sel osteogenik yang selanjutnya berdiferensiasi menjadi osteoblas. Dilaporkan Jee (1983) bahwa setelah bergerak masuk ke dalam zona osteogenik, sel osteoprogenitor preosteoblastik berdiferensiasi menjadi osteoblas. Banks (1981) dan Jee (1983) melaporkan bahwa matriks di antara lakuna kondrosit yang sudah mengalami kalsifikasi, selanjutnya berperan sebagai kerangka pembentukan tulang trabekula spongiosa primer di bagian metafisis setelah bergerak masuk ke dalam zona osteogenik dan sel osteoblastik bergabung di dalamnya. Menurut Palmer (1993) metafisis tersusun dari tulang spongiosa primer (kondrosit dalam fisis yang telah mengalami kalsifikasi), spongiosa sekunder, dan trabekula. Menurut Doige (1988) tulang spongiosa primer merupakan ujung metafisis yang berbatasan dengan fisis, tersusun dari spikulum kartilago yang dilapisi osteoid yang telah mengalami kalsifikasi.

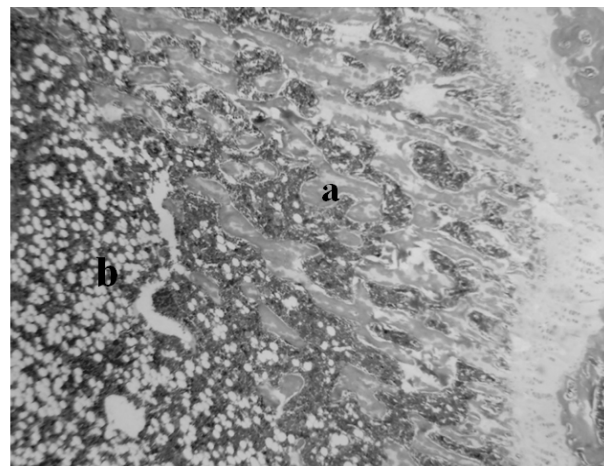
Selain bekerja pada kondrosit, menurut Eriksen *et al.* (1988), Ernest *et al.* (1988), dan Komm *et al.* (1988) estrogen bekerja pada prekursor osteoblas manusia dan sumsum tulang tikus melalui reseptor estrogen fungsional ($ER\alpha$ dan $ER\beta$) untuk mensintesis kolagen tulang. Rodriguez *et al.* (1999) melaporkan bahwa penurunan konsentrasi estrogen mengganggu proliferasi dan aktivitas estrogenik dalam sumsum tulang pada hewan model dan manusia. Menurut Holtrop (1990) osteoblas bertanggung jawab memproduksi dan mensekresikan protein matriks organik tulang atau osteoid, yang tersusun dari protein kolagen tipe I, dan protein nonkolagen yang selanjutnya terjadi mineralisasi untuk menjadi matriks tulang dewasa. Dilaporkan Raiz dan Johannessons (1984) bahwa penurunan estrogen menyebabkan osteoblas tidak mampu mendeposit jaringan osteoid. Menurut Kusec *et al.* (1998) dan Nilsson *et al.* (1998) estrogen bekerja langsung pada pertumbuhan tulang longitudinal dan pembentukan tulang melalui $ER\alpha$ dan $ER\beta$ yang terdapat pada permukaan tulang trabekula. Rosen dan Bouxsein (2006), dan Syed *et al.* (2008) melaporkan bahwa defisiensi estrogen menyebabkan hilangnya atau tidak adanya struktur trabekula. Sebagian spikulum tulang trabekula primer yang lebih pendek dan berbentuk ireguler diduga terkait dengan rendahnya konsentrasi estrogen tikus ovariektomi yang diberi suplemen kalsitriol dibandingkan dengan tikus ovariektomi tanpa suplemen kalsitriol.

Gambaran histopatologis bagian metafisis tulang femur distalis tikus ovariektomi tanpa suplemen kalsitriol terlihat sebagian kerangka tulang trabekula tidak terbentuk sehingga rongga sumsum tulang menjadi lebih luas dan sebagian diisi jaringan adiposit, tulang trabekula primer sebagian lebih pendek dan berbentuk ireguler (Gambar 2). Gambaran histopatologis bagian metafisis tulang femur distalis tikus ovariektomi yang diberi suplemen kalsitriol terlihat sebagian kerangka tulang trabekula tidak terbentuk sehingga

rongga sumsum tulang menjadi lebih luas dan didominasi jaringan adiposit, tulang trabekula primer sebagian lebih pendek dan berbentuk ireguler (Gambar 3).



Gambar 2. Histopatologis bagian metafisis tulang femur distalis tikus *Wistar* ovariektomi yang diberi pakan teri tawar tanpa suplemen kalsitriol terlihat (a) spikulum tulang trabekula berbentuk ireguler, lebih pendek, (b) sebagian rongga sumsum tulang diisi jaringan adiposit (HE 100X.)



Gambar 3. Histopatologis bagian metafisis tulang femur distalis tikus *Wistar* ovariektomi yang diberi pakan teri tawar dan suplemen kalsitriol terlihat (a) spikulum tulang trabekula berbentuk ireguler dan lebih pendek, (b) sebagian rongga sumsum tulang didominasi jaringan adiposit (HE 100X.)

Rongga sumsum tulang yang lebih luas dan didominasi oleh jaringan adiposit diduga terkait dengan rendahnya konsentrasi estrogen tikus ovariektomi yang diberi suplemen kalsitriol dibandingkan dengan tikus ovariektomi tanpa suplemen kalsitriol. Penelitian pada hewan model dan manusia menunjukkan bahwa penurunan konsentrasi estrogen mengganggu proliferasi dan aktivitas estrogenik dalam sumsum tulang (Rodriguez *et al.*, 1999), meningkatkan resorpsi tulang yang melebihi pembentukan tulang (Khosla *et al.*, 2002; Manolagas *et al.*, 2000; Riggs *et al.*, 2002), menyebabkan peningkatan luas area resorpsi di bagian tulang trabekula dan konektivitas trabekula menjadi hilang (Parfitt *et al.*, 1983; Eriksen *et al.*, 1999). Menurut

Riggs *et al.* (2002), Cooke dan Naaz (2004) estrogen juga berperan penting dalam mengendalikan osteoblas dan adiposit. Dilaporkan Justesen *et al.* (2001) dan Verma *et al.* (2002) bahwa tingginya konversi sel stroma menjadi adiposit dibanding menjadi osteoblas menurunkan pembentukan tulang. Menurut Weisberg *et al.* (2003) adiposit dalam sumsum tulang tidak hanya menekan osteoblastogenesis tetapi juga meningkatkan resorpsi tulang. Beberapa peneliti melaporkan bahwa defisiensi estrogen tidak hanya menyebabkan hilang atau ketiadaan struktur trabekula (Rosen and Bouxsein, 2006; Syed *et al.*, 2008), tetapi juga meningkatkan akumulasi adiposit, jumlah dan ukuran adiposit dalam sumsum tulang pada perempuan pascamenopause penderita osteoporosis maupun pada mencit ovariektomi (Benayahu *et al.*, 2000; Syed *et al.*, 2008). Beberapa peneliti lain juga melaporkan bahwa sel stroma dalam sumsum tulang perempuan pascamenopause penderita osteoporosis lebih cenderung mengalami diferensiasi menjadi adiposit dari pada osteoblas (Rodriguez *et al.*, 2000; Sekiya *et al.*, 2004). Dilaporkan Aubin dan Liu (1996), Pittenger *et al.* (1999) dan Muruganandan *et al.* (2009) bahwa osteoblas dan adiposit berasal dari prekursor sel stem mesenkimal sehingga perubahan atau pergeseran laju diferensiasi, daya hidup atau eliminasi dari salah satu garis keturunan osteoblas atau adiposit akan memicu perubahan rasio antara osteoblas dengan adiposit.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian suplemen kalsitriol pada tikus *Wistar* ovariektomi yang mengonsumsi teri tawar selama 1,5 bulan menyebabkan osteoporosis metafisis tulang femur distalis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DP2M Dikti Kemdikbud RI atas bantuan dana penelitian ini dalam bentuk Hibah Fundamental Tahun Anggaran 2011.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, G.L., R.T. Chlebowski, and J.E. Rossouw. 2006. Prior hormone therapy and breast cancer risk in the women's health initiative randomized trial of estrogen plus progestin. *Maturitas* 55:103-115.
- Aubin, J.E., and L. Liu. 1996. The osteoblast lineage. In *Principles of Bone Biology*. Bilezikian, J. L. Raisz, and G. Rodan (Eds.). Academic Press, San Diego, CA.
- Banks, W.J. 1981. *Applied Veterinary Histology*. Williams & Wilkins, Baltimore/London.
- Baylink, D.J., R.D. Finkelman, and S. Mohan. 1993. Growth factors to stimulate bone formation. *J. Bone Miner. Res.* 8:565-72.
- Benayahu, D., I. Shur, and S. Ben-Eliyahu. 2000. Hormonal changes affect the bone and bone marrow cells in a rat model. *J. Cell Biochem.* 79:407-415.
- Bourrin, S., A. Toromanoss, P. Ammann, J.P. Bonjour, and R. Rizzoli. 2000. Dietary protein deficiency induces osteoporosis in aged male rats. *J. Bone Miner. Res.* 15:1555-1563.
- Braun, M., C. Palacios, K. Wigertz, L.A. Jackman, R.J. Bryant, L.D. McCabe, B.R. Martin, G.P. McCabe, M. Peacock, and C.M. Weafer. 2007. Racial differences in skeletal calcium retention in adolescent girls with varied controlled calcium intakes. *Am. J. Clin. Nutr.* 85:1657-1663.
- Chen, C. and D.N. Kalu. 1998. Modulation of intestinal estrogen receptor by ovariectomy, estrogen and growth hormone. *JPET.* 286:328-333.
- Chow, J., J.H. Tobias, K.W. Colston, and T.J. Chambers. 1992. Estrogen maintains trabecular bone volume in rats not only by suppression of bone resorption but also by stimulation of bone formation. *J. Clin. Invest.* 89:74-78.
- Cooke, P.S. and A. Naaz. 2004. Role of estrogens in adipocyte development and function. *Exp. Biol. Med.* 229:1127-1135.
- Doige, C. 1988. Skeletal system, In *Special Veterinary Pathology*. Thompson (ed.). BC. Decker Inc., Toronto.
- Ernest, M., C.H. Schmid, and E.R. Froesch. 1988. Enhanced osteoblast proliferation and collagen gene expression by estradiol. *Proc. Natl. Acad. USA.* 85:2307-2310.
- Eriksen, E.F., D.S. Colvard, N.J. Berg. 1988. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science.* 241:84-86.
- Eriksen, E.F., B. Langdahl, A. Vesterby, J. Rungby, and M. Kassem. 1999. Hormone replacement therapy prevents osteoclastic hyperactivity: a histomorphometric study in early postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res.* 14:1217-1221.
- Harris, L.E. 1970. *Nutrition Research Techniques for Domestic and Wild Animals*. Utah State University, Logan, Utah.
- Hartningsih, I. Widiyono, dan D. Anggraeni. 2006. Peranan Ikan Teri Tawar dan 1,25-dihidroksivitamin D3 dalam Kesehatan Tulang dan Ginjal: Studi Penanggulangan Osteoporosis. *Laporan Penelitian*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Hendy, G.N., K.A. Hruska, S. Mathew, and D. Goltzman. 2006. New insights into mineral and skeletal regulation by active forms of vitamin D. *Kidney Int.* 69:218-223.
- Holtrop, M.E. 1990. Light and Electron Microscopic Structure Of Bone-Forming Cells. In *The Osteoblast and Osteocyte*. Hall, B.K., and T. Caldwell (Eds.). Telford Press Inc. New York.
- Hoenderop, J.G., A.W. Van der Kemp, A. Hartog, S.F. Van de Graaf, C.H. Van Os, P.H. Willems, and R.J. Bindels. 1999. Molecular identification of the apical Ca²⁺ channel in 1,25-dihydroxyvitamin D₃-responsive epithelia. *J. Biol. Chem.* 274: 8375-8378.
- Hoenderop, J.G., D. Muller, A.W. Van Der Kemp, A. Hartog, M. Suzuki, K. Ishibashi, M. Imai, F. Sweep, P.H. Willems, C.H. Van Os, and R.J. Bindels. 2001. Kalsitriol controls the epithelial calcium channel in kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 12:1342-1349.
- Holzherr, M.L., R.W. Retallack, D.H. Gutteridge, R.I. Price, D.I. Faulkner, S.G. Wilson, R.K. Will, G.O. Steward, B.G. Stuckey, R.L. Prince, R.A. Criddle, G.N. Kent, C.I. Bhagat, S.S. Dhaliwal, and K. Jamrozik. 2000. Calcium absorption in postmenopausal osteoporosis: benefit of HRT plus kalsitriol, but not HRT alone, in both malabsorbers and normal absorbers. *Osteoporos Int.* 11:43-51.
- Jee, W.S. 1983. The skeletal tissues. In *Histology Cell and Tissue Biology*. Weiss, L. (Ed.). 5th ed. Elsevier Biomedical, New York.
- Jones, G., Strugnell, S.A. and DeLuca, H.F. 1998. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev.* 78:1193-1231.
- Justesen, J., K. Stenderus, E.N. Ebbesen, L. Mosekilde, T. Steinche, and M. Kassem. 2001. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology* 2(3):165-171.
- Khosla, S., E.J. Atkinson, L.J. III Melton, and B.L. Riggs. 1997. Effects of age and estrogen status on parathyroid hormone levels and biochemical markers of bone turnover in women: A population-based study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82:1552-1527.
- Khosla, S., L.J. Melton, and B.L. Riggs. 2002. Estrogen and the male skeleton. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87:1443-1450.
- Komm, B.S., C.M. Terpening, and D.J. Benz. 1988. Estrogen binding, receptor mRNA, and biologic response in osteoblast-like osteosarcoma cells. *Science* 241:1085-1092.
- Kusec, V., A.S. Virdi, R. Prince, and J.T. Triffitt. 1998. Localization of estrogen receptor-alpha in human and rabbit skeletal tissues. *JCEM.* 83:2421-2428.

- Larsen, P.R. 2003. **Williams Textbook of Endocrinology**. 10th ed. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Majeska, R.J., J.T. Ryaby, and T.A. Einhorn. 1994. Direct modulation of osteoblastic activity with estrogen. **J. Bone Joint Surg. Am.** 76A:713-721.
- Manolagas, S.C. 2000. Birth and death of bone cells: Basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. **Endocr. Rev.** 21:115-137.
- Martin, T.J. 1993. Hormones in the coupling of bone resorption and formation. **Osteoporosis Int.** 3(1):121-125.
- McKane, W.R., S. Khosla, M.F. Burritt, P.C. Kao, D.M. Wilson, S.J. Ory, and B.L. Riggs. 1995. Mechanism of renal calcium conservation with estrogen replacement therapy in women in early postmenopause: A clinical research center study. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 80:3458-3464.
- Muruganandan, S., A.A. Roman, and C.J. Sinal. 2009. Adipocyte differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells: Cross talk with the osteoblastogenic program. **J. Cell. Molecul. Life Sciences** 66(2):236-253.
- Nakamura, M., N. Udagawa, S. Matsuura, M. Mogi, H. Nakamura, H. Horiuchi, N. Saito, B.Y. Hiraoka, Y. Kobayashi, K. Takaoka, H. Ozawa, H. Miyazawa, and N. Takahashi. 2003. Osteoprotegerin regulates bone formation through a coupling mechanism with bone resorption. **Endocrinology** 144:5441-5449.
- Nilsson, S.K., M.S. Dooner, and H.U. Weier. 1999. Cells capable of bone production engraft from whole bone marrow transplants in nonablated mice. **J. Exp. Med.** 189:729-734.
- Notelovitz, M. 1997. Estrogen therapy and osteoporosis: Principles & practice. **Am. J. Med. Sci.** 313:320.
- O'Loughlin, P.D. and H.A. Morris. 1994. Oophorectomy in young rats impairs calcium balance by increasing intestinal calcium secretion. **J. Nutr.** 124:726-731.
- O'Loughlin, P.D., and H.A. Morris. 2003. Oophorectomy acutely increases calcium excretion in adult rats. **J. Nutr.** 133:2277-2280.
- Palmer, N. 1993. Bones and Joints. In **Pathology of Domestic Animals**. Jubb, K.V.F., P.C. Kennedy, and N. Palmer. (Eds). Academic Press, Inc, Harcourt Brace Jovanovich Publishers, San Diego.
- Parfitt, A.M. 1983. **The Physiological and Clinical Significance of Bone Histomorphometry: Techniques and Interpretation**. CRC Press, Boca Raton, Finlandia.
- Parfitt, A.M. 2002. Targeted and nontargeted bone remodeling: Relationship to basic multicellular unit origination and progression. **Bone** 30:5-7.
- Pittenger, M.F., A.M. Mackay, S.C. Beck, R.K. Jaiswal, R. Douglas, J.D. Mosca, M.A. Moorman, D.W. Simonetti, S. Craig, and D.R. Marshak. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cell. **Science** 284:143-147.
- Prince, R.L. 1994. Counterpoint: Estrogen effects on calcitropic hormones and calcium homeostasis. **Endocr. Rev.** 15:301-309.
- Qu, Q., M. Perala-Heape, A. Kapanen, J. Dahllund, J. Salo, H.K. Vaananen, and P. Harkonen. 1998. Estrogen enhances differentiation of osteoblasts in mouse bone marrow culture. **Bone** 22:201-209.
- Rae, M.H., P.A. Mole, and C.R. Paterson. 1991. Endogenous factors affecting bone mineral content in post-menopausal women. **Maturitas**. 13:319-324.
- Raiz, L.G. and A. Johannessons. 1984. Pathogenesis, Prevention and therapy of osteoporosis, **Journal of Medicine** 15:267-278.
- Riggs, B.L., S. Khosla, and L.J. Melton. 2002. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. **Endocr. Rev.** 23:279-302.
- Rodriguez, J.P., S. Garat, H. Gajardo, A.M. Pino, and G.Seitz. 1999. Abnormal osteogenesis in osteoporotic patients is reflected by altered mesenchymal stem cells dynamics. **J. Cell Biochem.** 75:414-423.
- Rodriguez, J.P., L. Montecinos, S. Rios, P. Reyes, and J. Martinez. 2000. Mesenchymal stem cells from osteoporotic patients produce a type I collagen-deficient extracellular matrix favoring adipogenic differentiation. **Cell Biochem.** 79(4):557-565.
- Rosen, C.J. and M.L. Boussein. 2006. Mechanisms of disease: Is osteoporosis he obesity of bone? **Nature clinical Practice Rheumatology** 2:35-43.
- Scholz-Ahrens, K.E., G. Delin, B. Stampa, A. Helfenstein, H.J. Hahne, Y. Acil, W. Timm, R. Barkmann, J. Hassenpflug, J. Schrezenmeir, and C.C. Gluer. 2007. Glucocorticosteroid-induced osteoporosis in adult primiparous gottingen miniature pigs: Effects on bone mineral and mineral metabolism. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** 293:385-395.
- Seeman, E., 2003. Bone quality. **Osteoporos. Int.** 14:3-7.
- Sekiya, L., B.L. Larson, J.T. Vuoristo, J.G. Cui, and D.J. Proskop. 2004. Adipogenic differentiation of human adult stem cells from bone marrow stroma (MSCs). **J. Bone Miner. Res.** 19(2):256-264.
- Selby, P.L., M. Davies, J.S. Marks, and E.B. Mawer. 1995. Vitamin D intoxication causes hypercalcemia by increased bone resorption which responds topamidronate. **Clin. Endocrinol.** 43:531-536.
- Slemenda, C., C. Longcope, M. Peacock, S. Hui, and C.C. Johnston. 1996. Sex steroids, bone mass, and bone loss. A prospective study of pre-, peri-, and postmenopausal women. **J. Clin. Invest.** 97:14-21.
- Song, Y., S. Kato, and J.C. Fleet. 2003. Vitamin D receptor (VDR) knockout mice reveal VDR-independent regulation of intestinal calcium absorption and ECAC2 and calbindin D_{9k} mRNA. **J. Nutr.** 133:374-380.
- Song, Y. and J.C. Fleet. 2007. Intestinal resistance to 1,25 Dihydroxyvitamin D in mice heterozygous for the vitamin D receptor knockout allele. **Endocrinology** 148(3):1396-1402.
- Stone, K., D.C. Bauer, D.M. Black, P. Sklarin, K.E. Ensrud, and S.R. Cumming. 1998. Hormonal predictors of bone loss in elderly women: A prospective study. The study of osteoporotic fractures research group. **J. Bone Miner. Res.** 13:1167-1174.
- Syed, F.A., M.J. Oursler, T.E. Hefferan, J.M. Peterson, B.L. Riggs, and S. Khosla. 2008. Effects of estrogen therapy on bone marrow adipocytes in postmenopausal osteoporotic women. **Osteoporos. Int.** 19(9):1323-1330.
- Toromanoff, A., P. Ammann, L. Mosekilde, J.S. Thomsen, and J. Rioud. 1997. Parathyroid hormone increases bone formation and improve mineral balance in vitamin D-deficient female rats. **Endocrinology** 138:2449-2457.
- Van Abel, M., J.G.J. Hoenderop, O. Dardenne, R. St Arnaud, C.H. Van Os, H.J.P.T.M. Van Leeuwen, and R.J.M. Bindels. 2002. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃-independent stimulatory effect of estrogen on the expression of ECAC1 in the kidney. **J. Am. Nephrol.** 13:2102-2109.
- Van Abel M, J.G. Hoenderop, A.W. Van Der Kemp, J.P. Van Leeuwen, and R.J. Bindels. 2003. Regulation of the epithelial Ca²⁺ channels in small intestine as studied by quantitative mRNA detection. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.** 285:978-985.
- Van Cromphaut, S.J., M. Dewerchin, J.G. Hoenderop, I. Stockmans, E. Van Herck, S. Kato, R.J. Bindels, D. Collen, P Carmeliet, Bouillon, R., Carmeliet, G. 2001. Duodenal calcium absorption in vitamin D receptor-knockout mice: functional and molecular aspects. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 98:13324-13329.
- Van de Graaft, S.F., I. Boullart, J.G. Hoenderop, and R.J. Bindels. 2004. Regulation of the epithelial Ca²⁺ channels TRPV5 and TRPV6 by 1 α ,25 dihydroxy vitamin D₃ and dietary Ca²⁺. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.** 89-90:303-308.
- Van den Heuvel, E.G., M.H. Schoterman, and T. Muijs. 2000. Transgalactooligo-saccharides stimulate calcium absorption in postmenopausal women. **J. Nutr.** 130:2938-2942.
- Verma, S., J.H. Rajaratnam, J. Denton, J.A. Hoyland, and R.J. Byers. 2002. Adipocytic proportion of bone marrow is inversely related to bone formation in osteoporosis. **J. Clin. Pathol.** 55:693-698.
- Vieth, R., S. Milojevic, and V. Peltekova. 2000. Improved cholecalciferol nutrition in rats is noncalcemic, suppresses parathyroid hormone and increases responsiveness to 1,25 dihydroxycholecalciferol. **J. Nutr.** 130:578-584.
- Wanfort, H.B. and P.A. Flecknell. 1992. **Specific Surgical Operations**. Academic Press. New York.
- Watanabe, O., H. Hara, Y. Ayoma, and T. Kasai. 2001. Improving effect of feeding with a phosphorylated guar gum hydrlsate on calcium absorption impaired by ovariectomy in rats. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 65:613-618.

- Weisberg, S.P., D. McCann, M. Desai, M. Rosenbaum, R.L. Leibel, and A.W. Ferrante Jr. 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **J. Clin. Invest.** 112(12):1785-1808.
- Wood, R.J., J.C. Fleets, K. Cashman, M.E. Bruns, and H.F. Deluca. 1998. Intestinal calcium absorption in the aged rats: Evidence of intestinal resistance to 1,25(OH)₂ vitamin D. **Endocrinology** 39(9):3843-3848.
- Wood, R.J. 2000. Searching for determinants of intestinal calcium absorption. **Am. J. Clin. Nutr.** 72:675-676
- Weise, M., S. De-Levi, K.M. Barnes, R.I. Gafni, V. Abad, and J. Baron. 2001. Effects of estrogen on growth plate senescence and epiphyseal fusion. **PNAS** 98:6871-6876.
- Xu, H., J.K. Uno, M. Inouye, L. Xu, J.B. Dress, J.F. Collin, and F.K. Ghishan. 2003. Regulation of intestinal NaPi-IIb cotransporter gene expression by estrogen. **Am. Physiol. Gastrointest.** 285:1317-1324.
- Yacobus, C.H., M.F. Holick, and Q. Shao. 1992. Hypervitaminosis associated with drinking milk. **N. Engl. J. Med.** 326:1173-1177.