

Gambaran struktur histologik tulang ekor pada tikus ovarektomi dan nonovarektomi

Dahniar AR

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari struktur mikroskopis tulang ekor pada tikus yang telah di ovarektomi dan non-ovarektomi. Empat belas ekor tikus putih betina galur Sprague Dawley umur 7 Minggu dibagi rata secara acak dalam 2 kelompok, masing-masing 7 ekor. Tikus non-ovarektomi (K1) dan ovarektomi (K2) diberi pakan rasio fosfat/kalsium = 2. Setelah perlakuan berlangsung 12 Minggu, dilakukan pembedahan. Tulang ekor diambil dan disiapkan untuk pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan trikrom. Hasil penelitian menunjukkan osteoporosis terjadi pada tulang ekor tikus ovarektomi (K2). Dapat disimpulkan bahwa pada kondisi kekurangan hormon estrogen (ovarektomi) menyebabkan terjadinya osteoporosis pada tulang ekor. (*JKS 2009; 3:111-116*)

Kata kunci : ovarektomi; osteoporosis; tulang ekor

Abstract. This experiment was conducted to study the microscopic structure of tail bones in ovariectomized and non-ovariectomy rats. Fourteen female Sprague Dawley rats 7 weeks old were randomly divided into 2 groups. The rats in the control group (nonovariectomized). The rats in group II were ovariectomized. Phosphate/calcium diet were fed with ratio of 2 to 1. After 12 weeks the rats were sacrificed. The tail bone were collected and processed for microscopic examination with trichrome staining. The results showed that structurally the osteoporosis occurred in tail bone of group K2. Its could be concluded that estrogen deficiency condition (ovariectomy) caused osteoporosis in tail bones. (*JKS 2009; 3: 111-116*)

Keywords: ovariectomy; osteoporosis; tail bone

Pendahuluan

Osteoporosis atau rapuh tulang adalah penyakit metabolisme tulang dengan karakteristik pengurangan massa tulang dan kemunduran mikroarsitektur tulang. Manifestasi klinis akan tampak sebagai akibat timbulnya fraktur. Fraktur lebih sering timbul secara spontan atau setelah trauma ringan.¹

Osteoporosis banyak terjadi pada wanita pasca menopause, dalam kehidupan wanita secara fisiologis terjadi penurunan fungsi ovarium.

Hal ini mengakibatkan penurunan estrogen yang biasa terjadi di awal masa klimatorium yaitu usia 40 sampai 65 tahun. Pada usia 70 tahun hampir 40% wanita mengalami patah tulang akibat osteoporosis.

Dahniar, AR adalah dosen pada Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala

Dengan hilangnya estrogen karena menopause, wanita akan kehilangan mineral tulang sangat cepat (3%) per tahun selama 5 tahun pertama dan 1% per tahun sesudah itu.²

Pada wanita pasca menopause, kadar estrogen yang mulai menurun akan mengakibatkan gangguan keseimbangan antara sel penghancur tulang (osteoklas) dan sel pembentuk tulang (osteoblas). Selain hormon estrogen, hormon paratiroid, vitamin D dan kalsitonin sangat berpengaruh terhadap wanita yang akan mencapai usia menopause.³

Faktor-faktor resiko penyebab terjadinya fraktur osteoporosis adalah ras, kulit putih atau Asia, Riwayat Keluarga, setelah operasi pengangkatan indung telur (ovorektomi), penurunan fungsi ovarium sebelum menopause, penurunan fungsi ovarium, hiperprolaktinemia, gangguan nafsu makan oleh karena psikogen/ anoreksia nervosa, kebiasaan makan yang merugikan (tinggi kafein, tinggi protein, tinggi natrium, tinggi fosfat dan rendah kalsium).⁴

Tikus putih ovariectomi cukup baik digunakan sebagai hewan model pada penelitian mempelajari osteoporosis.^{5,6} Karena pada tikus ovariectomi hilangnya masa tulang karies dan peningkatan angka pergantian tulang menyerupai ciri-ciri osteoporosis menopause alami manusia, secara anatomi pertumbuhan kartilaginya identik pada wanita dan memberikan data pokok akurat yang digunakan pada skeleton manusia⁵.

Osteoporosis pertama-tama akan menyerang tulang aksial, baru kemudian tulang-tulang anggota gerak⁷. Hasil penelitian⁸ juga menemukan bahwa osteoporosis pertama menyerang tulang aksial (tulang ekor), kemudian tulang-tulang anggota gerak (tulang paha), berdasarkan uraian di atas, penelitian untuk mengetahui gambaran struktur histologi tulang ekor pada tikus ovariectomi dan non-ovariectomi perlu dilakukan. Diharapkan data gambaran histologi tulang hewan model tikus ovariectomi dapat memberi petunjuk dan rujukan pada kondisi kerapuhan tulang (osteoporosis), khususnya pada wanita pasca menopause.

Metode penelitian

a. Hewan percobaan

Penelitian ini menggunakan 14 ekor tikus putih galur Sprague Dawley betina umur 7 minggu, tikus secara acak dibagi rata dalam 2 kelompok dengan 7 ulangan dan dikandangkan secara individual. Setelah masa adaptasi 2 Minggu, satu kelompok digunakan sebagai kelompok kontrol tanpa ovariectomi dan kelompok perlakuan ovariectomi.

b. Prosedur ovariectomi dan pemeliharaan tikus pasca ovariectomi

Ovariectomi (pengangkatan ovarium) dilakukan dengan anestesi perinhalasi menggunakan ether. Sebelum operasi dimulai daerah operasi di persiapkan dahulu yaitu dengan mencukur bulu di sekitar daerah operasi kemudian diolesi dengan yodium.

Irisan pada dinding abdomen dilakukan lewat kaudal linea mediana yaitu tepat di belakang umbilicus ke arah kaudal. Panjang irisan dibuat secukupnya. Kulit dan jaringan subkutan di insisi dengan pisau bedah. Setelah itu dinding abdomen dibuka melalui linea alba dengan menggunakan gunting dan jari sebagai pemandunya agar tidak menggunting organ visceral. Setelah dinding abdomen dibuka, organ reproduksi dicari kemudian serviks uteri diangkat dengan menggunakan forseps allis kemudian diurut ke depan sehingga sampai pada bifurkasi uteri, kornua uteri kiri dan kanan. Kedua kornua sampai ovarium dikeluarkan dari rongga abdomen, selanjutnya pembuluh darah yang terdapat di sebelah kanan dan kiri serviks uteri di ligasi kemudian ovarium diangkat dengan cara melakukan pemotongan di antara ligasi. Kemudian rongga abdomen diirigasi dengan antibiotik penstrep (campuran penisilin dan streptomisin) untuk mencegah infeksi. Linea alba dipertautkan dengan jahitan sederhana tunggal menggunakan cat gut. Lapisan subkutan di jahit dengan pola jahitan sederhana menerus menggunakan cut gut. Kulit dijahit dengan pola sederhana tunggal menggunakan silikon nilon. Setelah operasi daerah jahitan diolesi dengan salep sulfanilamide.

Selama masa adaptasi dan penyembuhan tikus diberi pakan standar dengan rasio kalsium/fosfat pakan = 2 dan air yang diberikan berasal dari PDAM. Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*.

c. Prosesing mikroteknik tulang ekor

Setelah 12 Minggu pasca ovariectomi diharapkan tikus telah menderita osteoporosis. Kemudian tulang ekor diambil dengan operasi potong ekor menggunakan anestesi lokal. Kemudian di fiksasi dalam formalin 10% dan di didekalsifikasi untuk prosesing mikroteknik. Pembuatan sediaan mikroteknik menggunakan metode parafin dan diiris dengan mikrotom dengan ketebalan 6 μ . Sediaan histologi diwarnai dengan pewarna

trikrom. Pengamatan sediaan mikroskopi dilakukan dengan menggunakan mikroskopik cahaya binokuler.

d. Pengamatan histologik tulang dan analisis data

Pengamatan histologik tulang ekor difokuskan pada bagian fisis, ketebalan lapisan sub-kartilago articularis dengan keberadaan khondrosit di dalamnya, kepadatan tulang trabekula dan sumsum tulang dan susunan osteoid. Keseluruhan hasil pengamatan sediaan mikroskopik dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

Hasil dan pembahasan

Setelah 12 Minggu perlakuan berlangsung terlihat perbedaan pada tulang ekor antara kelompok kontrol (K1) dan K. Pada Kelompok K1 menunjukkan histologis tulang ekor, lapisan fisis tampak tebal dan jelas dengan khondrosit yang banyak tersebar di dalamnya. Trabekula tampak padat, sumsum tulang terisi oleh eritrosit (Gambar 1).

Pada Kelompok K2 menunjukkan adanya kerusakan yang jelas dibandingkan dengan kelompok kontrol. Terlihat gambaran osteoporosis yang ditandai lapisan fisis tampak tipis, khondrosit terlihat sedikit. Tulang trabekula berkurang kepadatannya. Sumsum tulang tampak melebar (Gambar 2). Osteoporosis yang terjadi akibat meningkatnya penyerapan tulang ter lihat dengan menurunnya jumlah trabekula, sementara yang terjadi akibat menurunnya pembentukan

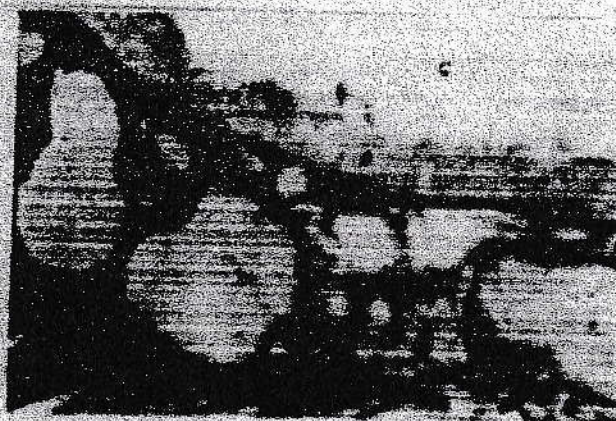
tulang, jumlah trabekula tetap normal tetapi trabekula yang terbentuk lebih tipis, pada osteoporosis yang terjadi akibat dominannya proses penyerapan tulang tidak semua trabekula diserap⁹. Aktivitas remodeling berlangsung melalui sel-sel osteogenik dan osteoklas yang terdapat di periosteum, endosteum osteonal, korteks dan trabekula, Periosteum bersifat balans positif, deposisi tulang oleh osteoblas lebih tinggi dibanding pembongkaran oleh osteoklas. Endosteum osteonal bersifat balans, aktivitas osteoblas dan osteoklas seimbang, sedangkan endosteum korteks dan trabekula bersifat balans negatif, yang berarti osteoklasia mendominasi aktivitas remodeling⁹. Seperti halnya terjadi pada penelitian ini penyerapan tulang didominasi di tulang trabekula, sehingga trabekula tampak semakin tipis.

Osteoporosis terutama terjadi pada tulang atau bagian tulang yang sebagian besar tersusun dari jaringan kanselus, seperti korpus vertebralis, tulang pipih pada tengkorak, scapula, dan trabekula metafisis tulang panjang. Ditulang itu terjadi penyerapan trabekula maka spikulum trabekula menjadi lebih tipsi dan jumlahnya berkurang. Pada bahagian metafisis belum dewasa, spongiosa primer juga akan diserap sempurna sehingga tidak ada kerangka yang tersisa untuk memproduksi spongiosa skunder⁹.

Faktor penting yang menentukan angka hilang tulang (osteoporosis) pada wanita dan hewan penelitian adalah defisiensi estrogen. Pada tikus ovariectomi menyebabkan penurunan kandungan kalsium kira-kira 20% dan terjadinya osteoporosis dibandingkan tikus kontrol operasi sham^{5,10}.



Gambar 1. Fotomikrograf tulang ekor tikus kelompok K1 (non-ovarektomi). Struktur normal. a = lapisan tipis terhal dengan kondrosit di dalamnya. b = tulang trabekula padat. c = sumbu tulang terisi eritrosit. (Pewarnaan Trikróm, 200x)



Gambar 2. Fotomikrograf tulang ekor tikus kelompok K2 (ovarektomi). Terlihat perubahan osteoporosis. a = lapisan tipis tampak tipis. Abundansi terlihat sedikit. b = tulang trabekula kurang padat. c = sumbu tulang tampak melonggar. (Pewarnaan Trikróm, 200x)

Pada tikus yang mengalami ovarektomi akan terjadi penurunan fungsi ovarium. Pembentukan estrogen oleh ovarium akan menurun^{3,2,5}. Kadar Ekstrogen yang menurun akan mengakibatkan gangguan keseimbangan antara sel penghancur tulang (osteoklas) dan sel pembentuk tulang(osteoblas)^{11,3}. Keadaan ini akan menyebabkan terjadinya kehilangan massa tulang dan meningkatkan penyerapan

tulang yang pada akhirnya dapat mengakibatkan osteoporosis.

Kesimpulan dan saran

Pada kondisi kekurangan hormon estrogen akibat ovarektomi menyebabkan terjadinya kerapuhan tulang (osteoporosis) pada tulang ekor.

Disarankan adanya penelitian lanjutan dengan memeriksa struktur mikroskopik tulang yang sering mengalami osteoporosis seperti tulang paha dengan waktu pengamatan yang lebih lama.

Daftar pustaka

1. Marcus, R (1996) *The Nature Of Osteoporosis* in *Osteoporosis* Edited by R. Marcus, D. Feldman and J. Kelsey. Academic Press London.
2. Dawson – Hughes, B (1996), Calcium and Vitamin D Nutritional needs of elderly women, *J Nurt.* 126 ; 165S-111167S
3. Mizuno, K., Suzuki, A., Ino y., Asada, Y., Kikkawa, F. And Tomoda, Y. (1995) Postmenopausal bone loss in Japanes women. *Int. J. Ginecol. Obstet.* 50;33-39.
4. Felson, DT., Zhang, Y. Hannan, MT. Kannel, WB and Kiel, WP. (1995), Alcohol intake and bone mineral density in elderly men and women. *Am. J. Epidemiol.* 142(5) ; 485-492.
5. Kimmel D.B. (1996) *Animal Models for in Vivo Experimentation in Osteoporosis*. R. Marcus D, Feldman and J. Kelsey (Ed) Academic Press London.
6. Eklou – Kalonji E., Zerath., E., Colin., C. Lacroix, C., Holy, X., Denis., I.,& Pointtilart (1999) Calcium – Regulating hormones, Bone mineral content, breaking load and trabecular remodeling are altred in growing pigs fed calcium-deficient diet. *J. Nutr.* 129 ; 188-93.
7. Krane, S.M. (1974) *Metabolic Bone Disease ; Principle of Internal Medicine*. 7th ed. Winstrobe, MM., G.W., Adams, R.D., Braunwald, E., Isslbacher, KJ., Petersdorf, RG.. (Ed) JMC Press Inc. Quezon City, Filipina.
8. Sumiyati - Sunaryo (1998) Penanggulangan osteoporosis imbas panhisterovarektomi dan diet rasio kalsium/fosfat tinggi dengan rebon pada tikus. Laporan penelitian Universitas Gadjah Mada ; 13-22.
9. Jubb, K.V.F, PC. Kennedy, and N. Palmer. 1991. *Pathology of Domestic Animal*. Vol 1.3rd Ed. Academic Press, Inc. San Diego ; 2-41.
10. Chan, ELP & Swaminthan, R. (1998) Calcium metabolism and bone calcium content in normal and oophorectomized rats consuming various levels of saline for 12 months. *J Nutr* 128 ; 633-39.
11. Contran, R. S., Kumar, V.,& Robbins, S.L (1989) *Robbins Pathologic Basis of Diseases*. 3rd Ed. WB. Saunders Company, Philadelphia. 1324-26.