

Pengaruh Hiperglikemia terhadap Gambaran Histopatologis Pulau Langerhans Mencit

Muhammad Farid¹, Eryati Darwin², Delmi Sulastri³

Abstrak

Diabetes mellitus menjadi ancaman global yang bersifat serius dengan prevalensi yang terus meningkat. Banyaknya teori patogenesis dan perjalanan penyakit yang melibatkan interaksi kompleks banyak faktor menyebabkan pendekatan terapi diabetes masih berpusat pada tindakan preventif dan diagnosis diabetes ditegakkan sepenuhnya dari ada atau tidaknya hiperglikemia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh hiperglikemia terhadap gambaran histopatologis pulau Langerhans mencit. Dua puluh empat (24) mencit Swiss Albino jantan dibagi dalam empat kelompok: satu kelompok kontrol (K) dan tiga kelompok perlakuan (G1, G2, G3). Kelompok perlakuan diinduksi untuk mengalami hiperglikemia melalui pemberian glukosa intraperitoneal dengan dosis berbeda (G1=2g/kgBB, G2=4g/kgBB, G3=6g/kgBB) selama 14 hari. Hasil analisis morfometrik menunjukkan bahwa luas dan diameter pulau Langerhans meningkat pada kelompok G1 ($p < 0.01$) namun menurun pada kelompok G2 ($p < 0.01$) dan G3 ($p < 0.05$). Jumlah sel endokrin pulau Langerhans meningkat pada kelompok G2 ($p < 0.05$) dan G3 ($p < 0.01$). Akan tetapi, tidak ada perbedaan yang bermakna pada jumlah sel endokrin pulau Langerhans pada kelompok K dan G1 ($p > 0.05$). Densitas pulau Langerhans meningkat pada seluruh kelompok perlakuan ($p < 0.05$) melalui mekanisme neogenesis. Kesimpulan penelitian ini adalah hiperglikemia yang diinduksi lewat pemberian glukosa secara intraperitoneal menyebabkan perubahan yang signifikan pada gambaran histopatologis pulau Langerhans mencit.

Kata kunci: hiperglikemia, pulau Langerhans, gambaran histopatologis

Abstract

Diabetes mellitus become a serious health threat which prevalence have been increasing steadily all over the world. With complex interactions of risk factors on the disease, therapeutic approach of diabetes still centered on preventive measures and diagnosis was made entirely from the presence of hyperglycemia. The objective of this study was to determine the effect of hyperglycemia on histopathological features of islet of Langerhans, we examined pancreatic tissues from 24 male Swiss Albino mice: 6 control (K) and 18 glucose-treated mice with 3 different doses (G1=2g/kg, G2=4g/kg, G3=6g/kg) for 14 days to induce hyperglycemia. Morphometric analysis of islet of Langerhans on H&E-stained pancreatic sections showed that the islet area and diameter were increased in group G1 (48607.13 μm^2 and 240713.25 nm, respectively; $p < 0.01$) but decreased in group G2 (5471.42 μm^2 and 81170.83 nm, $p < 0.01$) and G3 (4628.07 μm^2 and 74730.86 nm, $p < 0.05$). The islet cells count was increased in group G2 (210.33 \pm 18.66 cells/islet, $p < 0.05$) and G3 (264.17 \pm 75.52 cells/islet, $p < 0.01$). However, there was no significant difference on islet cells count between group K and group G1 ($p > 0.05$). Islet density was slightly increased in all treated group ($p < 0.05$) through mechanism of neogenesis. The result suggest that hyperglycemia induced by administration of different doses of glucose intraperitoneally for 14 days caused significant changes in histopathological features of mice pancreatic islet.

Keywords: hyperglycemia, islet of Langerhans, histopathologic features

Affiliasi penulis : 1. Pendidikan Dokter FK UNAND (Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang), 2. Bagian Histologi FK UNAND, 3. Bagian Ilmu Gizi FK UNAND

Korespondensi : Muhammad Farid, email: freadfarid@gmail.com
Telp: 08984693740

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan ancaman global yang bersifat serius. Selain peningkatan risiko komplikasi, diabetes juga akan meningkatkan beban individual dan masyarakat, mengurangi produktivitas, serta menurunkan modalitas sosial. Disamping itu, prevalensi diabetes di dunia cenderung mengalami peningkatan dan terdistribusi luas pada negara maju dan berkembang. IDF memproyeksikan akan terjadi peningkatan penderita diabetes mellitus menjadi 552 juta orang pada tahun 2030.¹

Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit yang hingga saat ini belum memiliki pendekatan terapi yang sempurna akibat luasnya variabilitas penyebab diabetes dan banyaknya komplikasi yang terjadi pada penderita diabetes mellitus. Banyaknya teori patogenesis dan belum adanya pemahaman yang tepat terhadap proses perjalanan penyakit diabetes mellitus menyebabkan diabetes mellitus masih dianggap sebagai suatu penyakit metabolik yang bersifat irreversibel dan terapi diabetes mellitus masih berpusat pada tindakan preventif berupa pengontrolan kadar glukosa darah. Diagnosis diabetes mellitus sendiri ditegakkan sepenuhnya atas ada atau tidaknya hiperglikemia (peningkatan kadar glukosa darah puasa melebihi 126 mg/dL atau kadar glukosa darah sewaktu melebihi 200 mg/dL) yang dibuktikan melalui pemeriksaan laboratorium kadar glukosa darah dan gambaran klinis pasien.²

Kadar glukosa darah merupakan determinan utama regulasi fungsi dan massa sel β pulau Langerhans. Peningkatan kadar glukosa darah dalam batas fisiologis akan meningkatkan sekresi insulin dan mekanisme persinyalan lain yang menguntungkan bagi tubuh. Akan tetapi, hiperglikemia yang berlangsung kronis akan mengakibatkan timbulnya glukotoksisitas pada sel-sel β pulau Langerhans. Glukotoksisitas akan menyebabkan disfungsi dan perubahan massa sel β , sehingga terjadi penurunan sekresi insulin.³ Abnormalitas pada mekanisme sekresi insulin yang terjadi akan menyebabkan penurunan intake glukosa ke dalam sel dan peningkatan kadar glukosa darah sehingga muncul

keadaan hiperglikemia.

Perubahan signifikan struktur histologis pulau Langerhans pankreas merupakan salah satu gambaran patologis yang khas dan sering ditemukan pada pasien dan hewan model diabetes mellitus. Pada DM tipe 1, terjadi pseudoatrofi pulau Langerhans akibat destruksi selektif pada sel β sementara sel-sel pulau Langerhans lainnya tetap normal. Selain itu, lesi pulau Langerhans yang tampak ketika dilakukan pemeriksaan jaringan pankreas bersifat heterogen.⁴ Dalam sediaan yang sama, pulau Langerhans yang normal dapat ditemukan bersamaan dengan pulau Langerhans pseudoatrofik tanpa infiltrasi atau dengan infiltrasi makrofag dan limfosit.⁵ Berbeda dengan pada DM tipe 1, informasi yang didapatkan mengenai perubahan histopatologis pulau Langerhans pankreas pada penderita DM tipe 2 sangat sedikit dan tidak terlalu diperhatikan sebagai kriteria diagnostik karena pemeriksaannya bersifat invasif dan biasanya dilakukan postmortem. Perubahan ini diduga terjadi akibat glukotoksisitas akibat hiperglikemia kronis pada sel β pulau Langerhans. Nugent dkk melaporkan bahwa DM tipe 2 tahap akhir ditandai dengan penurunan massa sel β , deposisi intra-islet amyloid (IIA), dan deposisi lemak dalam pulau Langerhans.⁶ Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh hiperglikemia terhadap gambaran histopatologis pulau Langerhans dan perannya dalam patogenesis diabetes mellitus.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk mengetahui pengaruh hiperglikemia terhadap gambaran histopatologis pulau Langerhans. Penelitian akan dilakukan dengan menggunakan hewan coba berupa mencit Swiss Albino.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan selama 4 minggu di Laboratorium Farmakologi dan Fisiologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas dan 3 minggu di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Desain Penelitian

Dua puluh empat (24) ekor mencit Swiss Albino jantan dibagi secara acak dalam 4 kelompok: satu kelompok kontrol (K) dan tiga kelompok perlakuan (G1, G2, G3). Kelompok kontrol tidak mendapat perlakuan apa pun sementara kelompok perlakuan akan diinduksi untuk mengalami hiperglikemia melalui pemberian glukosa secara intraperitoneal sesuai penelitian yang dilakukan oleh Akirav dkk dan ditambah dengan pemberian larutan glukosa 10% secara *ad libitum* sebagai air minum hewan coba.⁷ Hewan coba dianggap menderita hiperglikemia karena didapatkan fase hiperglikemia stabil setelah pemberian larutan glukosa/dextrose 12,5% secara intraperitoneal pada mencit dengan dosis 1 g/kgBB dalam penelitian yang dilakukan oleh Bania dkk.⁸ Pemberian glukosa secara intraperitoneal divariasikan dalam tiga dosis berbeda (G1: 2 gram/kg, G2: 4 gram/kg, G3: 6 gram/kg) untuk mengetahui perbedaan pengaruh hiperglikemia yang ditimbulkan oleh tiap dosis terhadap gambaran histopatologis pulau Langerhans hewan coba. Pemeriksaan histopatologis akan dilakukan melalui analisis morfometrik pada pulau Langerhans yang diamati dalam jaringan pankreas.

Variabel Penelitian

Variabel independen dalam penelitian ini adalah pemberian glukosa secara intraperitoneal dengan dosis 2 g/kg, 4 g/kg, dan 6 g/kg pada hewan coba. Variabel dependen penelitian adalah jumlah sel endokrin, luas, diameter dan densitas pulau Langerhans hewan coba.

Prosedur Penelitian

Hewan coba yang digunakan adalah mencit Swiss Albino jantan berusia 2 bulan dengan berat badan 20-50 gram dan dalam kondisi sehat. Hewan coba diadaptasikan selama satu minggu dalam ruangan hewan coba dengan diberi pakan standar dan minuman *ad libitum*. Hewan coba dibagi secara acak dalam 4 kelompok: satu kelompok kontrol (K) dan tiga kelompok perlakuan (G1, G2, G3), dengan 6 ekor hewan coba untuk tiap kelompok. Setelah diadaptasikan, induksi hiperglikemia dilakukan pada kelompok perlakuan melalui injeksi larutan glukosa

20% secara intraperitoneal dengan dosis berbeda (G1: 2 g/kg, G2: 4 g/kg, G3: 6 g/kg) selama 14 hari. Larutan glukosa 10% disediakan pada kandang seluruh hewan coba yang mendapat perlakuan untuk dapat diminum secara *ad libitum*.

Pada hari ke-15, pankreas hewan coba diambil melalui pembedahan. Sebelum dibedah, hewan coba dimatikan dengan menginjeksikan ketamin (100 mg/kg) dan diazepam (5 mg/kg) secara intraperitoneal. Insisi garis tengah abdomen dibuat dan pankreas diidentifikasi. Pankreas diangkat secara utuh dalam satu blok organ bersama dengan hepar, gaster, duodenum, dan lien lalu diawetkan dalam wadah berisi larutan Bouin. Jaringan pankreas diproses dengan metode paraffin embedding, dipulas dengan pewarnaan hematoksilin-eosin, lalu dilakukan pemeriksaan histopatologi.

Pemeriksaan histopatologi dilakukan melalui analisis morfometrik dengan menilai jumlah sel endokrin, luas, diameter, dan densitas pulau Langerhans. Sediaan yang telah dipulas diamati dengan menggunakan mikroskop riset Olympus. Jumlah pulau Langerhans (n) pada tiap preparat dihitung dan dinyatakan dalam satuan n/mm^2 jaringan pankreas. Sel-sel pulau Langerhans diidentifikasi dengan perbesaran, dihitung, lalu dicatat. Jumlah seluruh sel endokrin pulau Langerhans (n) pada pulau Langerhans dihitung dari lima pulau Langerhans yang diamati secara acak dan dinyatakan dalam satuan n/pulau. Diameter dari lima pulau Langerhans yang representatif dari tiap preparat diukur dan dinyatakan dalam satuan nm. Luas rata-rata pulau Langerhans akan dianalisis dari hasil pengukuran menggunakan *DP2-BSW Digital Camera Software* (Olympus Corporation, Jepang) dan dinyatakan dalam satuan μm^2 . Semua perubahan histopatologis yang terjadi pada pulau Langerhans, seperti apoptosis atau nekrosis jaringan, dicatat. Hasil pengamatan didokumentasikan dengan melakukan pemotretan dengan menggunakan kamera digital.

Analisis Statistik

Data akan disajikan dalam bentuk rerata \pm SD. Perbedaan antara rerata jumlah sel endokrin, luas, dan diameter pulau Langerhans akan dianalisis dengan menggunakan uji *one-way analysis of*

variance (ANOVA) sementara perbedaan antara rerata densitas pulau Langerhans akan dianalisis dengan menggunakan uji *independent sampel Kruskal-Wallis*. Uji *post-hoc least significant difference* (LSD) digunakan untuk menentukan perbedaan spesifik rerata masing-masing kelompok jika analisis dengan uji *one-way ANOVA* menunjukkan hasil yang signifikan sedangkan uji *post-hoc Mann-Whitney* akan digunakan untuk menentukan perbedaan spesifik rerata masing-masing kelompok jika analisis dengan uji *independent sampel Kruskal-Wallis* menunjukkan hasil yang signifikan. Nilai $p < 0.05$ menunjukkan hasil yang signifikan secara statistik.

HASIL

Pemeriksaan histopatologis jaringan pankreas hewan coba dilakukan setelah pemberian glukosa intraperitoneal sesuai dosis perlakuan pada hewan coba selama 14 hari. Analisis akan dilakukan pada data morfometrik berupa (1) jumlah sel endokrin rata-rata, (2) luas rata-rata pulau Langerhans, (3) densitas pulau Langerhans (jumlah rata-rata pulau Langerhans per mm²), dan (4) diameter rata-rata pulau Langerhans yang didapatkan dari pemeriksaan histopatologis jaringan pankreas.

Jumlah Sel Endokrin Pulau Langerhans

Kelompok Kontrol (K) memiliki pulau Langerhans dengan jumlah sel endokrin paling sedikit (tabel 1). Sel endokrin pulau Langerhans ditemukan lebih banyak pada kelompok perlakuan (G1, G2, dan G3) dan sel endokrin pulau Langerhans meningkat secara bertahap sesuai dengan peningkatan dosis perlakuan, terutama pada kelompok G2 dan kelompok G3. Akan tetapi, jumlah sel endokrin pulau Langerhans pada kelompok G1 tidak jauh berbeda dengan jumlah sel endokrin pulau Langerhans pada kelompok K dan peningkatan jumlah sel endokrin pulau Langerhans hanya terjadi pada kelompok G2 dan G3 (lihat tabel 1).

Tabel 1. Rerata Jumlah Sel Endokrin Pulau Langerhans pada Masing-Masing Kelompok

	Kelompok (n=6)	Rerata ± SD	p
Perlakuan	K	157,67 ± 22,83 ^a	0,001
	G1	156,17 ± 28,87 ^a	
	G2	210,33 ± 18,66 ^b	
	G3	264,17 ± 75,52 ^c	

Notasi berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p \leq 0,05$) dengan uji *post-hoc LSD*.

Keterangan:

- n : jumlah hewan coba tiap kelompok
- K : kontrol
- G1 : glukosa 1 (2 gram/kgBB)
- G2 : glukosa 2 (4 gram/kgBB)
- G3 : glukosa 3 (6 gram/kgBB)

Luas Pulau Langerhans

Dari pengukuran luas pulau Langerhans, ditemukan kelompok K memiliki pulau Langerhans terkecil. Luas pulau Langerhans meningkat secara bermakna pada seluruh kelompok perlakuan (G1, G2, dan G3) dan pulau Langerhans terbesar didapatkan pada kelompok G1. Akan tetapi, luas pulau Langerhans menurun pada kelompok G2 dan kelompok G3 jika dibandingkan dengan kelompok G1. Selain itu, luas pulau Langerhans pada kelompok G2 tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok G3 (lihat tabel 2).

Tabel 2. Rerata Luas Pulau Langerhans pada Masing-Masing Kelompok

	Kelompok (n=6)	Rerata geometris (µm ²)	p
Perlakuan	K	3168,11 ^a	0,000
	G1	48607,13 ^b	
	G2	5471,42 ^c	
	G3	4628,07 ^c	

Notasi berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p \leq 0,05$) dengan uji *post-hoc LSD*.

Keterangan:

- n : jumlah hewan coba tiap kelompok
- K : kontrol
- G1 : glukosa 1 (2 gram/kgBB)

G2 : glukosa 2 (4 gram/kgBB)
G3 : glukosa 3 (6 gram/kgBB)

Diameter Pulau Langerhans

Diameter pulau Langerhans terkecil didapatkan pada kelompok K dan diameter pulau Langerhans terbesar didapatkan pada kelompok G1. Diameter pulau Langerhans jauh menurun pada kelompok G2 jika dibandingkan dengan kelompok G1 dan diameter pulau Langerhans kembali menurun pada kelompok G3 (lihat tabel 3).

Tabel 3. Rerata Diameter Pulau Langerhans pada Masing-Masing Kelompok

	Kelompok (n=6)	Rerata geometris (nm)	p
Perlakuan	K	62445,33 ^a	0,000
	G1	240713,25 ^b	
	G2	81170,83 ^c	
	G3	74730,86 ^c	

Notasi berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p \leq 0,05$) dengan uji *post-hoc* LSD.

Keterangan:

n : jumlah hewan coba tiap kelompok
K : kontrol
G1 : glukosa 1 (2 gram/kgBB)
G2 : glukosa 2 (4 gram/kgBB)
G3 : glukosa 3 (6 gram/kgBB)

Dari tabel 3, dapat dilihat bahwa diameter pulau Langerhans pada seluruh kelompok perlakuan (G1, G2, dan G3) mengalami perubahan yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (K). Diameter pulau Langerhans didapatkan meningkat pada kelompok G1 namun menurun pada kelompok G2 dan G3. Akan tetapi, tidak ditemukan adanya perbedaan yang signifikan antara diameter pulau Langerhans kelompok G2 dengan diameter pulau Langerhans kelompok G3.

Densitas Pulau Langerhans

Densitas pulau Langerhans pada seluruh kelompok perlakuan (G1, G2, dan G3) mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan kelompok K. Akan tetapi, densitas pulau Langerhans pada kelompok G1 dan G2 tidak jauh berbeda. Hal yang sama juga terjadi pada kelompok G2 dan G3, dimana didapatkan perbedaan densitas pulau Langerhans yang tidak signifikan (lihat tabel 4).

Tabel 4. Rerata Densitas Pulau Langerhans pada Masing-Masing Kelompok

	Kelompok (n=6)	Rerata ± SD (pulau/mm ²)	p
Perlakuan	K	1 ± 1 ^a	0,001
	G1	2 ± 2 ^b	
	G2	2 ± 0,63 ^{b,c}	
	G3	3 ± 0,52 ^c	

Notasi berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p \leq 0,05$) dengan uji *post-hoc* Mann-Whitney.

Keterangan:

n : jumlah hewan coba tiap kelompok
K : kontrol
G1 : glukosa 1 (2 gram/kgBB)
G2 : glukosa 2 (4 gram/kgBB)
G3 : glukosa 3 (6 gram/kgBB)

PEMBAHASAN

Gambaran Histopatologis Pulau Langerhans Mencit Normal

Secara histologis, pulau Langerhans mencit memiliki diameter kira-kira dua kali lebih besar ($116 \pm 80 \mu\text{m}$) daripada diameter pulau Langerhans manusia ($50 \pm 29 \mu\text{m}$).⁹ Rerata diameter pulau Langerhans yang didapatkan pada mencit normal (kelompok K) adalah $62,44 \mu\text{m}$. Hal ini menunjukkan diameter pulau Langerhans pada mencit yang tidak diinduksi hiperglikemia lebih kecil daripada rerata diameter pulau Langerhans mencit secara keseluruhan. Akan tetapi, diameter pulau Langerhans pada mencit normal terdistribusi luas dengan ukuran yang sangat bervariasi. Pulau Langerhans dapat memiliki diameter $<40 \mu\text{m}$ dengan sel endokrin yang sangat sedikit hingga berdiameter $>400 \mu\text{m}$ dengan sel endokrin >10.000 sel/pulau.¹⁰ Pulau Langerhans yang sangat besar dapat ditemukan dalam kondisi fisiologis pada mencit obese dan mencit hamil. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa diameter pulau Langerhans pada mencit yang tidak diinduksi hiperglikemia berada pada rentang normal.

Selain diameter, pulau Langerhans memiliki distribusi yang bervariasi antara tiap spesies. Pada mencit, banyak lobulus pankreas ditemukan tidak memiliki pulau Langerhans. Hal tersebut dapat terjadi karena pulau Langerhans pada pankreas mencit dapat terletak pada lokasi interlobular, periduktal, atau intralobular.⁹

Gambaran Histopatologis Pulau Langerhans Mencit yang Diinduksi Hiperglikemia

Glukosa merupakan regulator fisiologis utama massa dan fungsi pulau Langerhans, terutama pada populasi sel α dan sel β yang berperan langsung dalam pengaturan metabolisme glukosa. Glukosa dipertahankan dalam rentang fisiologis yang sangat sempit (80 mg/dL – 89 mg/dL) melalui perubahan massa sel β pulau Langerhans.¹¹ Adanya peningkatan pada kadar glukosa darah (hiperglikemia) dapat menyebabkan perubahan histopatologis pada pulau Langerhans dalam jaringan pankreas melalui efek glukotoksitasnya secara langsung pada sel β yang menyusun sebagian besar massa sel endokrin pulau Langerhans.

Hiperglikemia dapat menyebabkan terjadinya hiperplasia dan hipertrofi sel endokrin pulau Langerhans, terutama pada populasi sel β yang menyusun sebagian besar pulau Langerhans, serta neogenesis pulau Langerhans dari sel-sel baru.¹² Hal tersebut dibuktikan dengan terjadinya peningkatan pada jumlah sel endokrin dan densitas pulau Langerhans pada mencit yang diinduksi hiperglikemia. Diameter dan luas pulau Langerhans mengalami peningkatan pada kelompok G1 namun cenderung mengalami penurunan pada kelompok G2 dan G3. Peningkatan diameter dan luas pulau Langerhans yang ditemukan pada kelompok G1 dapat dikaitkan dengan adanya mekanisme kompensasi sel β pulau Langerhans terhadap peningkatan kadar glukosa darah dalam batas fisiologis yang menyebabkan sel mengalami hipertrofi.^{11,12} Akan tetapi, sel akan mengalami apoptosis jika kadar glukosa darah telah melewati ambang batas kritis tertentu sehingga dapat terjadi penurunan diameter dan luas pulau Langerhans.¹³ Hideaki dkk menemukan bahwa apoptosis dapat terjadi karena terjadi stress oksidatif, peningkatan kadar kalsium intraseluler dan *ER stress* akibat peningkatan beban produksi insulin oleh sel β pulau Langerhans sebagai stimulus terhadap hiperglikemia.¹⁴ Disamping itu, penelitian sebelumnya dapat membuktikan bahwa kadar glukosa darah yang tinggi akan meningkatkan aktivitas fosforilasi oksidatif dan glikasi protein intraseluler serta memicu disfungsi mitokondria yang akan mengakibatkan terbentuknya

reactive oxygen species (ROS) secara berlebihan sehingga terjadi stress oksidatif pada sel β .^{15,16}

Perbedaan Gambaran Histopatologis Pulau Langerhans Mencit yang Tidak Diinduksi Hiperglikemia dengan Mencit yang Diinduksi Hiperglikemia

Hasil analisis data penelitian menunjukkan bahwa pemberian glukosa secara intraperitoneal dengan dosis yang diprediksi dapat menyebabkan hiperglikemia pada hewan coba dapat menyebabkan perubahan yang bermakna ($p < 0,05$) pada jumlah sel endokrin, luas, diameter, dan densitas pulau Langerhans seluruh kelompok. Hasil ini sesuai dengan hasil beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa hiperglikemia dapat memicu terjadinya peningkatan produksi insulin melalui hipertrofi dan hiperplasia pulau Langerhans.¹⁷

Perbedaan Gambaran Histopatologis Pulau Langerhans Mencit yang Diinduksi Hiperglikemia dengan Berbagai Dosis

Analisis statistik menggunakan uji *one-way ANOVA* dan uji *post-hoc LSD* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok hewan coba pada rerata jumlah sel endokrin pulau Langerhans ($p < 0,05$). Perbedaan yang bermakna ditemukan antara kelompok K dengan kelompok G2 dan G3. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian glukosa secara intraperitoneal dengan dosis 4 g/kgBB dan 6 g/kgBB mampu meningkatkan jumlah sel endokrin yang ada dalam pulau Langerhans. Dosis perlakuan tersebut sesuai dengan dosis perlakuan pada penelitian sebelumnya dimana didapatkan peningkatan vaskularisasi pulau Langerhans dan peningkatan proliferasi sel β dengan pemberian glukosa secara intraperitoneal sebanyak 4 g/kgBB.⁷ Akan tetapi, jumlah sel endokrin pulau Langerhans pada kelompok K dan kelompok G1 tidak jauh berbeda. Hasil tersebut menunjukkan bahwa paling tidak dibutuhkan dosis minimal pemberian glukosa secara intraperitoneal sebesar 4 g/kgBB untuk dapat meningkatkan jumlah sel endokrin pulau Langerhans secara optimal.

Paparan sel β pulau Langerhans terhadap

hiperglikemia yang berulang-ulang atau dalam waktu yang lama akan menyebabkan kehilangan progresif fenotip sel β , terutama efek reduksinya pada ekspresi gen-gen yang memproduksi insulin dan faktor-faktor transkripsi utama pada tahap perkembangan dan diferensiasi sel β serta efek langsungnya dalam meningkatkan ekspresi faktor-faktor yang terlibat dalam hipertrofi sel β . Dalam penelitian yang dilakukan Laybutt dkk, kadar c-Myc, suatu faktor transkripsi poten yang terlibat dalam pengaturan pertumbuhan dan apoptosis sel β , akan meningkat jika dipaparkan dengan keadaan hiperglikemia dan sel akan mengalami hipertrofi.¹⁸ Akan tetapi, modulasi negatif akan terjadi jika dicapai ambang batas kritis kadar glukosa darah tertentu sehingga sel tidak lagi mengalami hipertrofi dan rentan terhadap apoptosis.¹³

Hasil analisis statistik menggunakan uji *one-way ANOVA* dan uji *post-hoc LSD* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok hewan coba pada rerata luas pulau Langerhans ($p < 0,05$) dan rerata diameter pulau Langerhans ($p < 0,05$). Penurunan ukuran pulau Langerhans terjadi pada kelompok G2 dan G3, baik luas maupun diameter, dan peningkatan ukuran pulau Langerhans hanya terjadi pada kelompok G1. Pertambahan ukuran tersebut dapat dikaitkan dengan adanya hipertrofi sel pada pulau Langerhans.

Densitas pulau Langerhans pada jaringan pankreas hewan coba secara relatif mengalami peningkatan. Hal ini ditunjukkan dari hasil analisis data menggunakan uji *independent sample Kruskal-Wallis* terhadap rerata densitas pulau Langerhans, dengan nilai $p = 0,001$, yang sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Butler dkk dimana didapatkan neogenesis pulau Langerhans pada subjek penelitian yang obese dengan DM tipe 2.¹⁹

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya pada tikus non diabetik menunjukkan bahwa massa pulau Langerhans akan meningkat setelah terjadinya hiperglikemia.²⁰ Peningkatan ini terjadi akibat banyaknya aktivasi mekanisme neogenesis pulau Langerhans dari sel-sel endokrin baru dibandingkan dengan proliferasi sel-sel β pada pulau Langerhans yang telah ada. Sel-sel endokrin baru yang berada di epitel duktus pankreas dan sel-sel yang terbentuk dari

penonjolan (budding) epitelium duktus pankreas akan membentuk massa pulau Langerhans baru. Selain itu, sel-sel yang ada pada beberapa pulau yang baru terbentuk seringkali ditemukan tidak terpusat seluruhnya oleh pewarnaan khusus hormon pankreas sehingga dapat disimpulkan terjadi hiperplasia sel endokrin.²⁰

Peningkatan ukuran pulau Langerhans pada kelompok G1 dan peningkatan densitas pulau Langerhans pada seluruh kelompok perlakuan (G1, G2, dan G3) dapat dikaitkan dengan perjalanan alami penyakit diabetes mellitus yang telah dijelaskan oleh Weir dan Bonner-Weir.¹¹ Ketika sel β berada dalam tahap kompensasi akibat adanya peningkatan kadar glukosa darah dalam batas fisiologis, sel akan meningkatkan upayanya untuk memproduksi insulin lebih banyak. Faktor-faktor transkripsi yang dibutuhkan untuk regulasi sekresi insulin (PPAR- α , PPAR- γ , c-Myc) akan meningkat dan kemudian hipertrofi sel akan terjadi. Jika sel β telah memasuki tahap adaptasi, akan terjadi adaptasi jaringan pankreas endokrin terhadap kebutuhan insulin yang semakin meningkat. Pulau-pulau Langerhans yang baru akan terbentuk melalui mekanisme neogenesis pulau (islet neogenesis). Akan tetapi, sel-sel β yang ada pada pulau-pulau Langerhans yang telah terbentuk sebelumnya dapat mengalami apoptosis akibat hilangnya respon sekresi insulin akut distimulasi glukosa (*acute GSIS*) dan adanya efek glukotoksitas. Selain itu, ruang-ruang kosong dan vakuolisasi didapatkan pada gambaran histopatologis pulau Langerhans yang diamati pada kelompok G2 dan G3.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh hiperglikemia terhadap gambaran histopatologis pulau Langerhans mencit, didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan gambaran histopatologis pulau Langerhans antara mencit yang tidak diinduksi hiperglikemia dengan mencit yang diinduksi hiperglikemia.
2. Terdapat perbedaan jumlah sel endokrin, luas, diameter, dan densitas pulau Langerhans antara mencit yang tidak diinduksi hiperglikemia dengan

mencit yang diinduksi hiperglikemia.

3. Terdapat perbedaan gambaran histopatologis pulau Langerhans mencit yang diinduksi hiperglikemia dengan berbagai dosis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dr. Henny Mulyani, M.Biomed, Sp.PA atas bantuan teknis dan kontribusinya dalam pemeriksaan histopatologis sediaan pankreas.

DAFTAR PUSTAKA

1. International Diabetes Federation. The global burden. [Artikel online]. 2011 (diunduh 21 Oktober 2012). Tersedia dari: URL: [HYPERLINK http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/the-global-burden](http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/the-global-burden).
2. Umpierrez GE, Isaacs SD, Bazargan N, You X, Thaler LM, Kitabchi AE. Hyperglycemia: an independent marker of in-hospital mortality in patients with undiagnosed diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(3):978-82.
3. Chang-Chen KJ, Mullur R, Bernal-Mizrachi E. β -cell failure as a complication of diabetes. *Rev Endocr Metab Disord.* 2008; (9): 329-43.
4. Jameson JL, De Groot LJ, editor. *Endocrinology - Adult and Pediatric*. Edisi ke-6. Philadelphia: Saunders Elsevier Inc; 2010.
5. Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, editor. *Williams Textbook of Endocrinology*. Edisi ke-12. Philadelphia: Saunders Elsevier Inc; 2011.
6. Nugent DA, Smith DM, Jones HB. A review of islet of Langerhans degeneration in rodent models of type 2 diabetes. *Toxicol Pathol.* 2008; (36): 529-51.
7. Akirav EM, Baquero MT, Opare-Addo LW, *et al.* Glucose and Inflammation control islet vascular density and β -cell function in NOD mice: control of islet vasculature and vascular endothelial growth factor by glucose. *Diabetes.* 2011;(60): 876-83.
8. Bania TC, Perez C, Carey PM, Almond GL, Ingram C. The effect of hyperglycemia on cocaine neurotoxicity and death in mice. *Acad Emerg Med.* 2000; 7(9):974-79.
9. Dintzis SM, Liggitt D. Pancreas. Dalam: Treuting PM, Dintzis SM, editor (penyunting). *Comparative Anatomy and Histology - A Mouse and Human Atlas*. Philadelphia: Elsevier Inc; 2012. hlm. 203-309.
10. Bonner-Weir S. Islet of langerhans: morphology and postnatal growth. Dalam: Kahn CR, Weir GC, King GL, Moses AC, *et al*, editor (penyunting). *Joslin's Diabetes Mellitus*, 14th Edition. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins; 2007.
11. Weir GC, Bonner-Weir S. Five stages of evolving β -cell dysfunction during progression to diabetes. *diabetes.* 2004; 53(3): S16-S20.
12. Del Prato S, Wishner WJ, Gromada J, Schluchter BJ. β -cell mass plasticity in type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity, and Metabolism.* 2004;(6): 319-31.
13. Grill V, Björklund A. Overstimulation and β -cell function. *Diabetes.* 2001; 50(1): S112-S24.
14. Hideaki K, Matsuo KT, Nakani Y, Kawamori D, Miyatsuka T, Matsuhisa M, *et al.* Oxidative stress, ER stress, and JNK pathway in type 2 diabetes. *J Mol Med.* 2005; (83): 429-39.
15. Feillet-Coudray C, Sutra T, Fouret G, Ramos J, Wrutniak-Cabello C, Cabello G, *et al.* Oxidative stress in rats fed a high-fat high-sucrose diet and preventive effect of polyphenols: Involvement of mitochondrial and NAD(P)H oxidase systems. *Free Radic Biol Med.* 2009; 46(5): 624-32.
16. Latha M, Pari L. Effect of an aqueous extract of *Scoparia dulcis* in blood glucose, plasma insulin, and some polyol pathway enzymes in experimental rat diabetes. *Braz J Med Biol.* 2004; 37(4):577-86.
17. Bernard-Kargar C, Ktorza A. Endocrine pancreas plasticity under physiological and pathological conditions. *Diabetes.* 2001; 50(1): S30-S5.
18. Laybutt R, Weir G, Kaneto H, Lebeth J, Palmiter RD, Sharma A, *et al.* Overexpression of c-Myc in β -cells of transgenic mice causes proliferation and apoptosis, downregulation of insulin gene expression, and diabetes. *Diabetes.* 2002;(51): 1793-804.
19. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. β -Cell deficit and increased

-
- β -cell apoptosis in humans with type diabetes. Diabetes. 2003;(52): 102-10.
20. Bernard C, Berthault MF, Saulnier C, Ktorza A. Neogenesis vs. apoptosis as main components of pancreatic β -cell mass changes in glucose-infused normal and mildly diabetes adult rats. Faseb J. 1999; (13):1195-205.