

PENIMBUNAN ^{99m}Tc -PIROFOSFAT DAN ^{99m}Tc -POLIFOSFAT PADA EMBRIO RESORPSI DAN FETUS TIKUS WISTAR

M. Darussalam, Yana Sumpena
Pusat Penelitian Teknik Nuklir - Badan Tenaga Atom Nasional

ABSTRAK

PENIMBUNAN ^{99m}Tc -PIROFOSFAT DAN ^{99m}Tc -POLIFOSFAT PADA EMBRIO RESORPSI DAN FETUS TIKUS WISTAR. Perbedaan tingkat kandungan suatu senyawa bertanda seperti ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat pada fetus dan embrio resorpsi merefleksikan kegiatan fisiologi dari keduanya. Jadi, ketidaknormalan dalam proses metabolisme ataupun terjadinya kematian pada embrio dalam kandungan sebenarnya dapat ditentukan dengan suatu zat penyidik jaringan yang tepat dan sesuai. Terhadap dua kelompok tikus wistar hamil (masa gestasi hari ke-18 s.d. ke-19) telah diinjeksikan secara intravena masing-masing larutan senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat (keradioaktifan 200-300 μCi untuk per ekor tikus induk, dalam volume larutan 0,25 ml). Pengamatan keradioaktifan jaringan dan organ tikus wistar induk dibatasi pada darah, tulang dan ginjal termasuk juga plasenta, fetus dan embrio resorpsi yang dilakukan dalam interval waktu 2, 4, 16 dan 24 jam pasca perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat penimbunan senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat yang cukup tinggi pada embrio resorpsi bila dibandingkan pada fetus tikus wistar mencerminkan adanya gangguan atau terhentinya proses fisiologis. Sementara itu transpor senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat atau ^{99m}Tc -polifosfat hanya berjalan searah sepihak yaitu dari tikus wistar induk ke embrio resorpsi tanpa lintas balik.

ABSTRACT

THE ACCUMULATION OF ^{99m}Tc -PYROPHOSPHATE AND ^{99m}Tc -POLYPHOSPHATE COMPOUNDS IN THE RESORPED EMBRYO AND FETUS OF WISTAR RATS. The accumulation level difference of labeled ^{99m}Tc -pyrophosphate and ^{99m}Tc -polyphosphate compounds in the resorped embryo and fetus of the Wistar rats might reflected the physiological activity of the both individuals. Thus individual the abnormal metabolic processes as well as the embryonic death may be possibly observed by means of the proper and precise tissue imaging agents. Two groups of pregnant Wistar rats (of the 18th and 19th day of gestation) were intravenously injected with ^{99m}Tc -pyrophosphate and ^{99m}Tc -polyphosphate respectively (approximately 200-300 μCi in 0,25 ml solution per animal). The radioactivity determination in the tissues and organs of the dam e.g. blood, bones and kidneys as well as the placenta, fetus and the resorped embryo was carried out within the time intervals of 2,3,16 and 24 hours post treatment. The results of the experiment have pointed out that the high accumulation level of ^{99m}Tc -pyrophosphate and ^{99m}Tc -polyphosphate which occurred in the resorped embryo reflecting the inhibition of the physiological processes. In the meantime, the ^{99m}Tc -pyrophosphate and ^{99m}Tc -polyphosphate transport has taken place irreversibly from the dam to the resorped embryo.

PENDAHULUAN

Sebagai konsekuensi pada setiap perlakuan suatu unsur atau senyawa kimia tertentu terhadap hewan mamalia ataupun manusia dalam masa hamil, akan terjadi proses pelaluan plasenta senyawa tersebut dari hewan induk ke embrio ataupun fetus. Jika kemungkinan yang sama dapat terjadi pula pada embrio yang telah mati atau yang lebih dikenal dengan "embrio yang diresorpsi" merupakan suatu hal yang sangat menarik.

Karena bertolak dari sini, maka dengan bantuan suatu senyawa penyidik jaringan yang sesuai akan dapat ditentukan apakah suatu embrio dalam kandungan itu masih hidup atau telah mati, Seperti diketahui sebelumnya (1, 2), beberapa senyawa fosfat bertanda ^{99m}Tc telah menunjukkan adanya proses pelaluan plasenta pada hewan percobaan.

Tingkat pertumbuhan embrio suatu hewan mamalia merupakan faktor yang menentukan kecepatan proses pelaluan plasenta dan

kuantitas bahan nutrisi atau unsur-unsur yang penting yang dibutuhkan. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya (3), bahwa beberapa senyawa ^{99m}Tc -fosfat anorganik telah menunjukkan adanya korelasi linier yang positif antara kandungan keradioaktifan intra-fetal dan berat tubuh fetus Wistar.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui sejauh mana tingkat senyawa ^{99m}Tc -fosfat anorganik (^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat) pada embrio resorpsi dan fetus tikus Wistar hamil menyusul proses pelaluan plasenta.

BAHAN DAN TATA KERJA

Bahan

Hewan Percobaan

Sebagai hewan percobaan digunakan tikus Wistar hamil (masa gestasi ke-18 s.d. ke-19). Makanan dan minuman tikus percobaan diberikan secara ad libitum. Untuk percobaan dengan senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat masing-masing digunakan 24 ekor tikus.

Senyawa Bertanda Teknesium-99m

Senyawa bertanda radioaktif yang digunakan adalah ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat. Keradioaktifan kedua senyawa bertanda Teknesium-99m (Tc-99m) sebesar 200-300 μCi (dalam volume larutan injeksi 0,25 ml) untuk per ekor tikus Wistar induk.

Tata Kerja

Dua kelompok tikus Wistar hamil masing-masing terbagi lagi ke dalam 4 sub kelompok dengan masing-masing 6 ekor tikus induk. Jumlah fetus yang diamati terbatas pada 8 - 10 ekor sedangkan jumlah resorpsi berkisar 5 ekor untuk setiap sub kelompok.

Terhadap kedua kelompok tikus Wistar hamil masing-masing diinjeksikan senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat secara intravena pada ekor.

Pengamatan keradioaktifan jaringan dilakukan dalam interval waktu 2, 4, 16 dan 24 jam pasca injeksi.

Jaringan yang diamati terbatas pada darah, tulang dan ginjal dari tikus induk, disusul kemudian oleh plasenta, fetus dan embrio resorpsi.

Keradioaktifan jaringan atau organ dinyatakan dalam konsentrasi keradioaktifan (= % keradioaktifan yang diaplikasikan per gram jaringan) atau dalam retensi (keradioaktifan per berat total organ atau jaringan).

Pada pencacahan setiap cuplikan (sample) jaringan telah diperhitungkan faktor koreksi dari cacahan latar belakang (back ground) dan diperbandingkan dengan hasil cacahan senyawa ^{99m}Tc -fosfat (^{99m}Tc -pirofosfat, ^{99m}Tc -polifosfat) yang diinjeksikan kepada tikus Wistar induk.

Seluruh perhitungan dilakukan sesuai dengan rumus :

$$N_t = N_o \cdot e^{-\lambda t}$$

N_t = keradioaktifan pada waktu t , N_o = keradioaktifan awal, λ = harga konstanta peluruhan

dan
$$\lambda = \frac{0,693}{t_{1/2}}$$

$t_{1/2}$ = umur paruh fisika Teknesium- ^{99m}Tc , Setiap harga cacah keradioaktifan jaringan atau organ dinyatakan ke dalam persen (%) dari harga cacahan larutan senyawa ^{99m}Tc -fosfat yang diaplikasikan.

HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN

Hasil-hasil pengamatan kandungan keradioaktifan jaringan tikus Wistar berikut fetus dan embrio dapat disaksikan pada Tabel-1, Tabel-2, Gambar-1 dan Gambar-2.

Sebagai suatu zat penyidik tulang, sebagian besar senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat masih tetap terakumulasi pada jaringan kritik tulang tikus Wistar hamil dengan kandungan maksimal masing-masing mencapai 1,6454% dan 1,9529 % pada 4 jam pasca perlakuan (Tabel 1, Gambar 1).

Sementara keradioaktifan maksimal ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat pada ginjal tikus Wistar induk masing-masing mencapai harga 0,8942% dan 2,3590% pada 4 dan 16 jam pasca perlakuan.

Kandungan ^{99m}Tc -polifosfat yang melebihi ^{99m}Tc -pirofosfat baik pada jaringan tulang maupun pada ginjal sesuai dengan gambaran pencucian darah (blood clearance) yang besar dari ^{99m}Tc -polifosfat. Hasil ini sejalan dengan laporan Dewanyee dkk. (1972) yang menyatakan, bahwa semakin besar harga berat molekul suatu senyawa kompleks ^{99m}Tc -polifosfat (B-M < 3000) semakin cepat dikeluarkan dari tubuh oleh ginjal.

Adanya proses pelaluan plasenta dari kedua senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat, tercermin pada gambaran keradioaktifan fetus tikus Wistar selama pengamatan berlangsung.

Tabel 1. Konsentrasi keradioaktifan jaringan dan organ tikus wistar hamil (% keradioaktifan yang diberikan/gram jaringan)

Jaringan	2 jpp		4 jpp		16 jpp		24 jpp	
	Tc-pif	Tc-pof	Tc-pif	Tc-pof	Tc-pif	Tc-pof	Tc-pif	Tc-pof
Darah	0,1080 ± 0,0063	0,3255 ± 0,0195	0,1035 ± 0,0042	0,1713 ± 0,0094	0,0342 ± 0,0016	0,0933 ± 0,0078	0,0291 ± 0,0011	0,0636 ± 0,0067
Tulang	0,4804 ± 0,0279	1,3797 ± 0,0879	1,6450 ± 0,0643	1,9529 ± 0,0323	0,1989 ± 0,0205	1,4097 ± 0,0529	0,2836 ± 0,0493	1,7107 ± 0,0481
Ginjal	0,7680 ± 0,0342	1,6486 ± 0,1451	0,8942 ± 0,0372	2,1087 ± 0,1354	0,6016 ± 0,0141	2,3590 ± 0,1425	0,6747 ± 0,0302	1,9563 ± 0,1406

Keterangan:

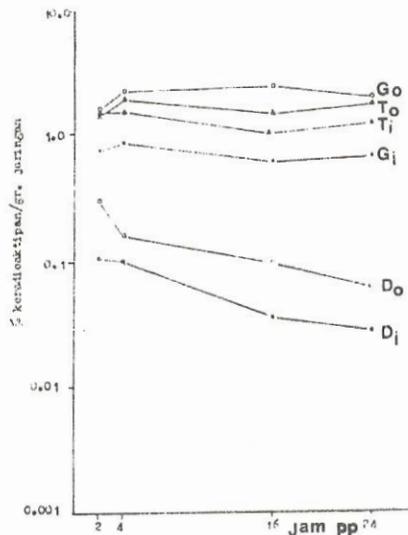
Jpp = jam pasca perlakuan, Tc-pif = 99mTc-Pirofosfat, Tc-pof = 99mTc-polifosfat

Tabel 1. Konsentrasi keradioaktifan jaringan dan organ tikus wistar hamil (% keradioaktifan yang diberikan/gram jaringan)

Jaringan	2 jpp		4 jpp		16 jpp		24 jpp	
	Tc-pif	Tc-pof	Tc-pif	Tc-pof	Tc-pif	Tc-pof	Tc-pif	Tc-pof
Darah	0,1080 ± 0,0063	0,3255 ± 0,0195	0,1035 ± 0,0042	0,1713 ± 0,0094	0,0342 ± 0,0016	0,0933 ± 0,0078	0,0291 ± 0,0011	0,0636 ± 0,0067
Plasenta	0,0847 ± 0,0033	1,1271 ± 0,0059	0,0727 ± 0,0015	0,1055 ± 0,0041	0,0411 ± 0,0043	1,0897 ± 0,0057	0,0068 ± 0,0029	0,0689 ± 0,0043
Fetus	0,0067 ± 0,0001	0,0081 ± 0,0002	0,0069 ± 0,001	0,0058 ± 0,0001	0,0025 ± 0,0003	0,0045 ± 0,0001	0,0025 ± 0,0001	1,0028 ± 0,0001
Embrio	0,1856 ± 0,0125	0,1354 ± 0,0431	0,1247 ± 0,0236	0,1624 ± 0,0318	0,0812 ± 0,0099	0,1704 ± 0,0367	0,9040 ± 1,1488	0,1397 ± 0,0189

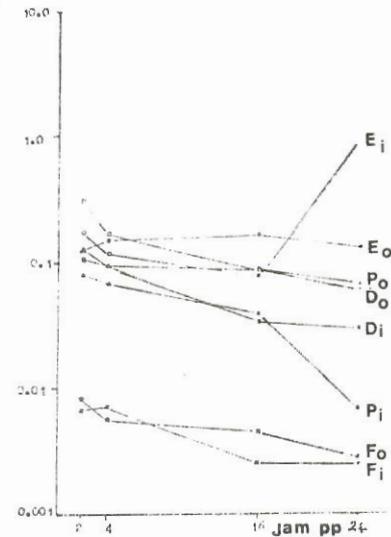
Keterangan:

Jpp = jam pasca perlakuan, Tc-pif = 99mTc-Pirofosfat, Tc-pof = 99mTc-polifosfat



Keterangan: i = Tc-pirofosfat; G = ginjal; T = tulang; D = darah; o = Tc-polifosfat.

Gambar 1. Kandungan keradioaktifan jaringan dan organ tikus wistar hamil.



Keterangan: i = Tc-pirofosfat; o = Tc-polifosfat, E = embryo resorpsi; P = plasenta; F = fetus; D = darah; jam pp = pasca perlakuan.

Gambar 2. Kandungan keradioaktifan jaringan dan organ tikus wistar hamil.

Sekalipun tingkat kandungan ^{99m}Tc -polifosfat pada darah, plasenta dan fetus tikus wistar melebihi apa yang terlihat pada ^{99m}Tc -pirofosfat dalam jaringan yang sama, ternyata tingkat keradioaktifan kedua senyawa bertanda tersebut semakin mengecil menurut urutan darah, plasenta, fetus.

Menurut Mahon dkk.(1973), senyawa ^{99m}Tc -fosfat dengan berat molekul yang lebih besar dengan rantai yang lebih panjang agak susah melalui barrier plasenta. Dan bila sampai terjadi pelaluan plasenta, maka kecepatan arus balik (turn over) senyawa ^{99m}Tc -fosfat dengan rantai panjang dalam fetus ke induk tidaklah sebesar pada ^{99m}Tc -fosfat dengan rantai pendek.

Adanya persamaan gambaran keradioaktifan pada plasenta dan darah hewan induk, menunjukkan adanya fungsi plasenta sebagai jaringan endothelia yang memang lebih kurang 18,0% dari komposisinya terdiri dari darah (Salhnic dkk. 1956). Pengertian tentang embrio resorpsi sebenarnya adalah embrio yang telah mati dan menyatu dengan plasentanya.

Berbeda dengan fetus yang masih hidup, pada embrio resorpsi tidak terdapat arus balik (turn over) senyawa kimia dari embrio ke hewan induk. Jadi, jalannya transportasi bahan atau senyawa kimia terjadi hanya searah yaitu darah induk \rightarrow embrio resorpsi.

Perbedaan kegiatan fisiologi antara fetus yang masih hidup dan embrio resorpsi fetus yang terjadi, telah menyebabkan tingkat kandungan kedua ^{99m}Tc -fosfat pada embrio resorpsi yang jauh melampaui apa yang disaksikan pada fetus, plasenta bahkan darah sekalipun (Tabel 2, Gambar 2).

Dapat ditambahkan pula, bahwa gejala proses pengapuran pada embrio resorpsi dapat

meningkatkan afinitas senyawa ^{99m}Tc -fosfat terhadap jaringan itu.

Analog dengan penyidikan yang dilakukan terhadap kondisi dan fungsi organ dengan bantuan suatu radiofarmaka yang sesuai, maka ketidaknormalan ataupun kematian embrio dalam kandungan dapat diketahui secara dini, suatu informasi yang dapat membantu kedokteran khususnya bagi para ahli kandungan (Kriegel, 1975).

KESIMPULAN

Dari hasil-hasil penelitian di sini, dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Tingkat penimbunan kedua senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc - polifosfat yang cukup tinggi pada embrio resorpsi bila dibandingkan dengan fetus mencerminkan tidak terdapatnya proses "lintas balik" (turn over) kedua zat tersebut dari embrio resorpsi ke tubuh tikus Wistar Induk akibat kematian embrio.
2. Gambaran tingkat keradioaktifan kedua senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat yang semakin menurun menurut urutan seperti : darah tikus Induk \rightarrow plasenta \rightarrow fetus, tidak ditemukan pada urutan darah tikus induk \rightarrow plasenta + embrio resorpsi.
3. Ternyata senyawa ^{99m}Tc -fosfat anorganik seperti ^{99m}Tc - pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat secara potensial dapat digunakan sebagai zat penyidik embrio yang telah mati atau embrio resorpsi.
4. Dengan menggunakan suatu senyawa radiofarmaka yang cocok dan memiliki afinitas tinggi terhadap embrio resorpsi dapat dipelajari gangguan fisiologis, metabolisme ataupun kematian embrio yang terjadi dalam masa kehamilan.

DAFTAR PUSTAKA

1. DARUSSALAM, M. Biodistribusi perbandingan senyawa ^{99m}Tc - pirofosfat, ^{99m}Tc -polifosfat dan ^{99m}Tc -perteknetat pada tikus wistar albino dalam masa hamil dan menyusui, Disertasi, ITB, Bandung (1983).
2. DARUSSALAM, M. Tingkat radiokontaminasi ^{99m}Tc pada fetus dan neonat tikus wistar, masing-masing melalui plasenta dan kelenjar mammae, Proceedings Pertem. dan Present, Ilmiah Penel.Dasar IPTEK Nuklir, PPNY-BATAN, Yogyakarta
3. DARUSSALAM, M. Hubungan antara kandungan senyawa Teknesium-99m intrafetal dan tingkat pertumbuhan fetus tikus wistar, Proc. Sem. Nas. Biol. Dasar I, Puslitbang Biologi, LIPI, Bogor (1990) 156-162.
4. DEWANYEE, M.K., J.W. FLETCHER AND M.A. DAVIS, Chemical properties and biologic distribution of Technetium-tin-polyphosphates, J. Nucl. Med., 13 (1972) 427.

5. KRIEGEL, H. (1975), Komunikasi pribadi.
6. MAHON, D. F., G. SUBRAMANIAN AND J. G., McAFFEE, Experimental comparison of radioactive agents for studies of the placenta, *J. Nucl. Med.*, 14 (1973) 651-659.
7. SALHANICK, H. A., L. M. NEAL, J. P. MAHONEY, Blood content of human placenta, *J. Clin. Endocrinol, Metab.*, 16 (1956) 1120-1122.

DISKUSI

H. Imas Komala :

1. Sejauh mana bahaya senyawa ^{99m}Tc -fosfat terhadap fetus dan embrio ?
2. Apakah cara ini lebih baik dari pada cara yang telah biasa dilakukan di bidang kedokteran untuk tujuan yang sama ?

M. Darussalam :

1. Berdasarkan pada sifat fisiko-kimia radionuklida Teknesium-99m yang termasuk amat ideal dan tingkat pelaluan plasenta dan penimbunan senyawa Tc-fosfat an organik yang relatif kecil pada fetus dapat dipastikan bahwa senyawa tersebut tidak membahayakan fetus atau embrio
2. Senyawa bertanda penyidik embrio resorpsi yang sesuai dan tepat dapat mengungkapkan gangguan atau hambatan pada proses metabolisme embrio yang mati secara cepat dan akurat. Tidak mustahil bahwa metoda ini memang dapat lebih baik dari cara konvensional untuk tujuan yang serupa.

Sukijati Djajusman :

1. Apakah terjadinya embrio yang diresorpsi pada kehamilan tikus Wistar, karena kondisi yang sengaja dibuat atau terjadi secara alamiah.
2. Berapakah besar dosis ^{99m}Tc -fosfat yang diaplikasikan kepada tikus Wistar induk atau mungkin karena terlalu tinggi sehingga mematikan embrio ?
3. Secara logika selama plasenta masih terdapat pada hewan induk, terjadi aliran zat dari induk ke fetus, tetapi setelah fetus mati, maka hubungan fetus ke induk terhenti. Apakah setelah fetus/embrio mati masih terdapat absorpsi secara fisiologi atau terjadi endapan karena adanya protein fetus ?

M. Darussalam :

1. Dalam penelitian ini embrio resorpsi memang terjadi secara alami tanpa diberi perlakuan sebelumnya.
2. Besar keradioaktifan ^{99m}Tc -fosfat yang diaplikasikan sekitar 200-300 uCi untuk per ekor tikus Wistar induk hamil tidak sampai membahayakan embrio atau fetus sesuai dengan tingkat penimbunan senyawa tersebut yang relatif kecil pada keduanya.
3. Pendapat Anda memang benar demikian. Ternyata pada embrio yang telah mati atau diresorpsi terjadi penimbunan senyawa ^{99m}Tc fosfat yang jauh lebih besar daripada fetus yang hidup. Jadi hanya terjadi aliran zat yang sepihak yaitu dari induk ke embrio resorpsi tanpa ada "turn over" (lintas balik). Setiap embrio yang telah mati dalam uterus, cenderung terjadi proses pengapuran (calcification), dan tampaknya hal ini yang mendorong senyawa ^{99m}Tc -fosfat terakumulasi pada jaringan atau embrio resorpsi.

Gunandjar :

1. Dalam penelitian ini digunakan ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat, tetapi dalam kesimpulan hanya disimpulkan ^{99m}Tc -fosfat saja. Mohon dijelaskan perbedaan perilaku ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat. Karena kedua senyawa ini mempunyai sifat kimia yang berbeda.
2. Apa keunggulan dan kekurangan penggunaan ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat.

M. Darussalam :

1. Kedua senyawa fosfat anorganik bertanda Teknesium-99m (^{99m}Tc), ^{99m}Tc -pirofosfat, ^{99m}Tc -polifosfat, memang berbeda sifat kimianya. Dari sisi lain kedua senyawa bertanda tersebut berbeda antara lain dalam biodistribusi, toksisitas dan sebagainya. Tekanan dari penelitian ini

adalah untuk mendapatkan informasi apakah kedua senyawa ^{99m}Tc -pirofosfat dan ^{99m}Tc -polifosfat itu memiliki afinitas yang sama terhadap embrio resorpsi. Ternyata memang demikian halnya. Kalau dalam kesimpulan hanya mengemukakan senyawa ^{99m}Tc -fosfat saja, dimasukkan untuk keduanya.

2. Sebenarnya kedua senyawa Tc-pirofosfat dan Tc-polifosfat merupakan zat penyidik tulang dalam bidang kedokteran nuklir. Kedua senyawa tersebut dapat memberikan gambar tatanan tulang dengan baik, disamping memang ^{99m}Tc -Polifosfat 1.4 x lebih toksik dari pada ^{99m}Tc -pirofosfat dan pencucian darah (blood removal) yang lebih kecil.