RESEARCH ARTICLE

PENELUSURAN JARAS NYERI DADA PADA KELINCI DENGAN ISKEMIA MIOKARD MENGGUNAKAN DOUBLE-RETROGRADE NEUROTRACING

NEURAL PAIN PATHWAY TRACING OF RABBIT ISCHEMIC HEART BY DOUBLE-RETROGRADE NEUROTRACING

Theodorus Dapamede, Obed Trinurcahyo Kinantyo Paundralingga**, Masruroh Rahayu***, Bambang Soemantri***

*Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia
**Laboratorium Anatomi-Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia
***Laboratorium Neurologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

pISSN : 2407-6724 ● eISSN : 2442-5001 ● http://dx.doi.org/10.21776/ub.mnj.2015.001.01.3 ● MNJ.2015;1(1):12-16
● Received 13 March 2014 ● Reviewed 13 June 2014 ● Accepted 13 August 2014

ABSTRAK

Latar belakang. Iskemia miokard akan menyebabkan angina pektoris atau nyeri dada yang menjalar, yang disebabkan ketidakmampuan otak untuk membedakan impuls aferen viseral dengan impuls aferen somatis karena diduga keduanya memiliki jaras yang sama melalui gangia dorsalis.
Tujuan. Mengetahui ada atau tidak daerah spesifik jantung yang terproyeksi secara neuronal ke ganglia dorsalis spesifik, yang selanjutnya berhubungan dengan dermatomnya.
Metode. Menggunakan *neurotracing* dobel-retrograd dengan *true blue* dan *nuclear yellow* sebagai zat *neurotracer*. Kelinci dibagi menjadi 3 kelompok, dimana kelompok pertama diligasi di arteri coronaria sinistra ramus interventricularis anterior dan kelompok kedua diligasi di arteri coronaria sinistra ramus circumflexa. Kelompok ketiga sebagai kontrol, tanpa ligasi.
Hasil. Terdapat hubungan yang signifikan antara lokasi ligasi dengan proyeksi pada ganglion dorsalis spesifik ($p<0,05$). Kelompok pertama menunjukkan kecenderungan untuk terproyeksi di T2, sedangkan kelompok dua terproyeksi di T1.
Simpulan. Pada jantung kelinci dapat ditentukan area spesifik dari jantung yang terproyeksi secara neuronal ke ganglia dorsalis, setelah dilakukan ligasi.

Kata kunci: Iskemia miokard, *neurotracing*, *referred pain*

ABSTRACT

Background. *Myocardial ischaemia leads to angina pectoris or referred pain, whichhappens because of the inability of the brain to distinguish the visceral afferent inputs from the somatic afferent inputs since they run along a common pathway via the dorsal root ganglia.*
Objective. *To distinguish specific areas of the rabbit heart that are projected to specific dorsal root ganglia, which then associates to its specific dermatomes.*
Methods. *A double-retrograde neurotracing method was used, with True Blue and Nuclear Yellow as the neurotracers. Rabbits were divided into 3 groups, which the first and second groups were ligated at the left anterior descending artery and at the left circumflex artery, respectively.The third group acted as the control group, without ligation.*
Results. *There is significant association between the site of ligation to the projection of the neurotracers at specific dorsal root ganglia ($p<0.05$). The first group showed high tendency to be projected to T2 and the second group showed a high tendency to project to T1.*
Conclusion. *This study shows that the rabbit heart can be specifically projected neuronally to specific dorsal root ganglia, following coronary artery ligation.*

Keywords: *Myocardial ischaemia, neurotracing, referred pain*

Korespondensi: theo.dapamede@gmail.com

PENDAHULUAN

Nyeri dada akut merupakan salah satu keluhan utama seseorang datang ke ruang gawat darurat. Dari seluruh penderita yang datang dengan keluhan nyeri dada, 15-25% memiliki penyakit kardiovaskuler. Penyakit kardiovaskuler menyebabkan 13,6 juta dari penyebab kematian di seluruh dunia, 864.500 jiwa atau 35,3% dari total kematian akibat penyakit kardiovaskular di Amerika Serikat dan 28% dari total kematian di Indonesia pada tahun 2002.[1-3]

Penyebab paling sering dan paling serius dari nyeri dada akut adalah iskemia miokardium. Iskemia miokardium terjadi ketika suplai oksigen ke otot jantung tidak adekuat dibanding dengan kebutuhan jantung tersebut. Penderita akan mengalami angina pektoris, yaitu nyeri dada yang dapat menjalar hingga ke rahang bawah, bahu bahkan ke lengan kiri.[4]

Akhir abad ke-19, William Harvey berhasil mendemonstrasikan bahwa otot jantung itu sendiri tidak dapat merasakan nyeri. Percobaan pemberian rangsangan sentuhan dan gesekan pada epikardium seorang pasien yang mengalami fraktur tulang rusuk terbuka, tidak menimbulkan nyeri ataupun ketidaknyamanan pada pasien tersebut.[5] Hal tersebut menjadi suatu pertanyaan besar sebab hingga saat ini, mekanisme angina pektoris masih belum diketahui secara sempurna.[4]

Tahun 1970 neuroanatomi mengalami suatu revolusi ketika dikembangkannya teknologi pelacakan berbasis transportasi aksonal yang disebut dengan *neurotracing*. Hal ini memudahkan para peneliti dalam menentukan jalur spesifik suatu saraf tanpa kerusakan yang luas akibat proses pembedahan. *Neurotracing* ini telah diterapkan untuk menentukan jaras-jaras pada sistem saraf pusat, perifer, dan otonom.[6] Meskipun demikian, neurotracing belum sepenuhnya diterapkan pada semua sistem organ contohnya sistem persarafan nyeri dari jantung.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidak daerah spesifik jantung yang terproyeksi secara neuronal ke ganglia dorsalis spesifik, yang selanjutnya berhubungan dengan dermatomnya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain deskriptif eksperimental laboratorium dengan faktor perlakuan tunggal secara in vivo. Metode yang digunakan adalah *double-retrograde neurotracing* untuk mengetahui hubungan persarafan nyeri dari jantung dengan persarafan dermatomal. Kelompok perlakuan dibuat iskemia miokardium pada arteri coronaria sinistra ramus interventrikularis anterior (kelompok 1) dan arteri coronaria sinistra ramus circumflexa (kelompok 2) dengan metode oleh Hu, dkk.[7] Kelompok 3 merupakan kelompok kontrol dan tidak dilakukan ligasi, namun tetap dilakukan injeksi *neurotracer* di lokasi-lokasi yang sama dengan kelompok 1 dan 2.

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci, berbadan sehat, jenis kelamin jantan, berat badan 1000-2000 gram, dan usia 4-6 bulan (dewasa). Zat/tinta *neurotracer* yang digunakan adalah True Blue (TB) dan Nuclear Yellow (NY), yang diinjeksimenggunakan Microliter™ Syringes Hamilton ukuran 10µl.[8]

Dilakukan torakotomi untuk meligasi arteri coronaria dan penyuntikan zat *neurotracer*. Ligasi arteri coronaria menggunakan polypropylene 6-0, dan diamati tanda-tanda iskemik (area dengan perubahan warna dan hipokinesia).*True blue* disuntikkan di area miokard yang iskemik pasca ligasi tersebut. *Nuclear yellow* disuntikkan di kulit kelinci dermatom T1-T4 setelah penjahitan kulit pasca torakotomi. Masing-masing *neurotracer* disuntikkan sebanyak 5µl dengan konsentrasi 5%. Setelah proses pembedahan, kelinci kemudian ditempatkan di tempat yang optimum untuk proses pemulihan.[7-9]

Eutanasia hewan coba dilakukan 3 hari pasca perlakukan guna mengamati ganglion dorsalis untuk ekspresi *neurotracer*. Eutanasia menggunakan overdosis ketamine dan perfusi formaldehida 10% intrakardiaka. Ganglion dorsalis level T1-T4 dieksisi dan dipersiapkan sebagai preparat histologis di dalam ruang intensitas cahaya rendah. Ekspresi TB dan NY di ganglion dorsalis dilihat dengan menggunakan mikroskop fluoroskopi Olympus FSX100 (λ=330-385nm) dengan pembesaran 120x. Dilakukan penghitungan pada seluruh lapangan pandang dan jumlahnya dicatat (Gambar 1).

Analisis statistik dilakukan menggunakan Minitab 16 Statistical Software. Tingkat kemaknaan yang

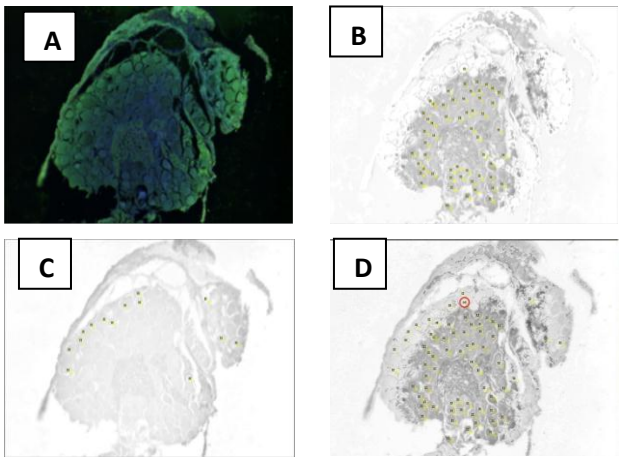
dipilih p<0,05. Hubungan antara antara lokasi ligasi dengan dengan proyeksi di ganglion dorsalis dianalisis dengan uji Chi-square.
Penelitian ini telah dinyatakan laik etik oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

HASIL PENELITIAN

Hasil perhitungan sel-sel yang mengekspresi TB dapat dilihat pada Tabel 1. Jumlah sel ganglion yang mengekspresi TB pada kelompok 1, terbanyak terdapat pada ganglion spinalis T2. Pada kelompok 2 penyebaran proyeksi TB ke masing-masing ganglia dorsalis cukup merata dengan masing-masing level secara berurutan adalah 43, 46, 34, dan 53 (Tabel 1).

Jika dilihat per ganglion, maka pada T1, kelompok 2 memiliki jumlah terbanyak yakni 43 sel. Pada T2 terbanyak adalah kelompok 1 sebanyak 127 sel, pada T3 terbanyak adalah kelompok 2 sebanyak 34 sel, dan pada T4 ekspresi TB terbanyak adalah kelompok 3 sebanyak 85 sel. Hubungan antara ekspresi TB dengan kelompok penelitian menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang signifikan (p<0,05) antara ekspresi TB masing-masing kelompok.

Sel ganglion yang mengeskpresikan NY pada kelompok 1, 2, dan 3 sesuai dengan ganglion dorsalis T1-T4 dapat dilihat pada Tabel 2. Pada kelompok 1, jumlah sel yang mengekspresi NY terbanyak terdapat pada T1 dan T2. Pada kelompok 2 dan kelompok 3, ganglion dorsalis T2 merupakan ganglion yang mengekspresi NY terbanyak.



Gambar 1. Hasil pengamatan *neurotracer* di ganglion dorsalis

Keterangan:
Gambar A : Gambar preparat dari Mikroskop Fluoresen Olympus FSX100
Gambar B : Hasil pengolahan Gambar A yang mengekspresi True Blue
Gambar C : Hasil pengolahan Gambar A yang mengekspresi Nuclear Yellow
Gambar D : Hasil superimpose Gambar B dan C untuk menghitung sel yang meng-ekspresi True Blue dan Nuclear Yellow (lingkaran merah)

Tabel 1. Jumlah sel yang mengekspresikan True Blue

Kelompok	Segmen Ganglion Dorsalis			
	T1	T2	T3	T4
1	4	127	12	56
2	43	46	34	53
3	0	0	24	85

Keterangan:

1 : Kelompok Perlakuan 1 (Ligasi LAD);
2 : Kelompok Perlakuan 2 (Ligasi LCX);
3 : Kelompok Kontrol

Tabel 2. Jumlah sel yang mengekspresikan Nuclear Yellow

Kelompok	Segmen Ganglion Dorsalis			
	T1	T2	T3	T4
1	24	24	16	14
2	11	41	34	26
3	17	32	11	16

Keterangan:

1 : Kelompok Perlakuan 1 (Ligasi LAD);
2 : Kelompok Perlakuan 2 (Ligasi LCX);
3 : Kelompok Kontrol

Pada Tabel 3 dapat dilihat jumlah sel yang mengekspresi kedua tinta fluoresens. Sel-sel ganglion yang mengekspresi TB dan NY hanya terdapat pada kelompok 1 ganglion T2 dan T4; pada kelompok 2 ganglion T2, T3 dan T4; sedangkan pada kelompok 3 hanya terdapat pada ganglion T4. Jumlah sel terbanyak yang mengekspresi kedua tinta fluoresens tersebut adalah di kelompok 2 ganglion spinalis T4 dengan jumlah 21 sel.

Data dari Tabel 1, 2, dan 3 dapat direpresentasikan dalam bentuk diagram venn (Gambar 2), sehingga

dapat dianalisis persentase sel yang mengekspresikan TB secara independen, NY secara independen, serta TB dan NY secara bersamaan. Terdapat 10,13% sel ganglion yang mengekspresikan TB dan NY secara bersamaan.

Tabel 3. Jumlah sel yang mengekspresikan True Blue dan Nuclear Yellow

Kelompok	Segmen Ganglion Dorsalis			
	T1	T2	T3	T4
1	0	13	0	1
2	0	16	13	21
3	0	0	0	5

Keterangan:

1 : Kelompok Perlakuan 1 (Ligasi LAD);
2 : Kelompok Perlakuan 2 (Ligasi LCX);
3 : Kelompok Kontrol

DISKUSI

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa area tertentu jantung diproyeksikan secara neuronal ke area dermatomal tertentu. Area yang dimaksud adalah area jantung yang mendapat suplai dari ramus interventricularis anterior arteri coronaria sinistra (Left Anterior Descending-LAD) dan ramus circumflexa arteri coronaria sinistra (Left Circumflex Coronary Artery-LCX). Subyek penelitian dibagi menjadi tiga kelompok, yakni kelompok 1 untuk kelinci yang diligasi pada LAD dan diinjeksi TB pada daerah yang dinyatakan iskemia akibat ligasi tersebut; kelompok 2 untuk kelinci yang diligasi pada LCX dan diinjeksi TB pada daerah yang dinyatakan iskemia akibat ligasi tersebut; dan kelompok 3 sebagai kelompok kontrol. Penelitian ini menunjukkan bahwa area tertentu jantung memiliki proyeksi ke dermatomal tertentu dengan ekspresi TB yang berbeda secara bermakna ($p<0,05$).

Hopkins dan Armour menyatakan bahwa tidak terdapat susunan topografikal yang spesifik antara distribusi saraf aferen dari jantung dengan ganglion tertentu.[10] Penelitian mereka dilakukan pada jantung dan saraf cardiopulmonal kanina. Akan tetapi penelitian oleh Guic, dkk, menunjukkan bahwa pada tikus, saraf aferen dari jantung cenderung terdistribusi ke ganglion spinalis T2.[11] Hasil yang sama diperoleh oleh Kuo, dkk, yakni terdapat spesifikasi terhadap saraf aferen jantung kucing di ganglion T3.[12] Variasi yang dibuktikan di atas menunjukkan suatu relativitas yang tergantung pada pendekatan *neurotracing* dari jantung atau perbedaan spesies yang digunakan sebagai hewan coba.[11]

Penelitian ini menambah variasi dari kemungkinan spesifikasi area jantung yang sudah ada saat ini. Penelitian ini membuktikan bahwa pada kelinci terdapat area yang spesifik dari jantung yang terdisitribusi secara neuronal ke ganglion spinalis tertentu. Pada kelinci didapatkan bahwa area jantung yang disuplai oleh LAD cenderung terdistribusi ke T2, sedangkan area jantung yang disuplai oleh LCX cenderung terdistribusi ke T1.

Pada bidang keilmuan kedokteran klinis, studi ini dapat dikaitkan dengan kecenderungan pasien untuk merasakan *referred pain* di area-area tertentu pada tubuh mereka. Sargowo dan Supriadi menunjukkan bahwa pasien yang datang ke Rumah Sakit Saiful Anwar dengan keluhan nyeri menyebar di lengan kiri ada sebanyak 27,2%, yang menyebar ke bahu sebanyak 16%, punggung sebanyak 15,2% dan dada serta leher sebanyak 11,2%. Dari 27,2% pasien yang mengeluh nyeri pada lengan kiri, ternyata 55,88% mengalami infark miokard (MI) di jantung bagian anteroseptal, 11,76% MI di bagian anterior dan 5,88% MI di bagian anterolateral.[13] Hal ini mendukung hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa ligasi pada arteri coronaria sinistra, baik LAD maupun LCX, akan terproyeksi ke dermatom level T1 dan T2, yakni daerah lengan kiri. Pola distribusi TB dan NY menunjukkan suatu hal yang menarik, yakni terdapat sel ganglion sebanyak 10,13% yang mengekspresi kedua tinta tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat suatu percabangan kolateral pada prosesus aferen sel ganglion tersebut. Cabang kolateral ini membuktikan bahwa ada hubungan langsung antara organ visceral (jantung) dan organ somatik (kulit) pada level neuronal ordo satu. Teori selama ini adalah bahwa *referred pain* diduga terjadi karena otak tidak dapat membedakan lokasi suatu nyeri karena saraf aferen dari nyeri tersebut melalui suatu *common pathway* dengan saraf aferen yang lainnya.[14] Namun penelitian ini menduga bahwa referred pain bukan hanya berasal dari ketidakmampuan otak untuk mendiferensiasi dua jalur yang berbeda, namun juga bisa karena adanya hubungan langsung antara saraf aferen

viseral dengan saraf aferen somatic di neuron ordo satu.

SIMPULAN

Pada jantung kelinci dapat ditentukan area spesifik dari jantung yang terproyeksi secara neuronal ke ganglia dorsalis, setelah dilakukan ligasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. Contribution of Various Disease Categories to Global Mortality. Geneva: WHO, 2004.
2. AHA. Cardiovascular Disease in the United States. Dallas: American Heart Association, 2008.
3. WHO. The Impact of Chronic Disease in Indonesia. Geneva: WHO, 2002.
4. Sabatine MS and Cannon CP. Approach to Patient with Chest Pain. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012, p. 1076-7.
5. White JC. Cardiac pain: anatomic pathways and physiologic mechanisms. *Circulation*. 1957; 16: 644-55.
6. Oztas E. Neuronal Tracing. *Neuroanatomy*. 2003; 2: 2-5.
7. Hu N, Straub CM, Garzarelli AA, Sabey KH, Yockman JW and Bull DA. Ligation of the left circumflex coronary artery with subsequent MRI and histopathology in rabbits. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS. 2010; 49: 838-44.
8. Xiong G, Ling L, Nakamura R and Sugiura Y. Retrograde tracing and electrophysiological findings of collateral sprouting after end-to-side neurorrhaphy. Hand surgery : an international journal devoted to hand and upper limb surgery and related research : journal of the Asia-Pacific Federation of Societies for Surgery of the Hand. 2003; 8: 145-50.
9. Richardson RJ, Grkovic I, Allen AM and Anderson CR. Separate neurochemical classes of sympathetic postganglionic neurons project to the left ventricle of the rat heart. Cell and tissue research. 2006; 324: 9-16.
10. Hopkins DA and Armour JA. Ganglionic distribution of afferent neurons innervating the canine heart and cardiopulmonary nerves. Journal of the autonomic nervous system. 1989; 26: 213-22.
11. Guic MM, Kosta V, Aljinovic J, Sapunar D and Grkovic I. Characterization of spinal afferent neurons projecting to different chambers of the rat heart. Neuroscience letters. 2010; 469: 314-8.
12. Kuo DC, Oravitz JJ and DeGroat WC. Tracing of afferent and efferent pathways in the left inferior cardiac nerve of the cat using retrograde and transganglionic transport of horseradish peroxidase. Brain research. 1984; 321: 111-8.
13. Sargowo D and Supriadi P. *The Variation of Chest Pain and Masuk Angin Syndrome on Acute Myocardial Infarction in Saiful Anwar Hospital, Sub Urban Area Malang-Indonesia*. Malang: Saiful Anwar Hospital, 1980.
14. Snell RS. *Clinical Anatomy by Regions*. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008.