

BERKALA ILMU KEDOKTERAN

(Journal of the Medical Sciences)

ISSN 0126 — 1312 CODEN: BIKEDW

Diterbitkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

Jilid XXV

Mar 1993

Nomor 1

Keterlibatan Sistem Dopaminergik Mesolimbik Dalam Ovulasi pada Tikus (*Rattus norvegicus*)¹

Oleh: Soedjono Aswin

Sublaboratorium Neurobiologi,
Laboratorium Anatomi, Embriologi dan Antropologi
Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta



ABSTRACT

Soedjono Aswin — *The involvement of mesolimbic dopaminergic system in ovulation in rat (Rattus norvegicus)*

Mesolimbic dopaminergic system involvement in the ovulatory process was studied in the immature superovulation rats (*Rattus norvegicus*). Nucleus ventralis tegmenti (NVT, area A-10) was neurochemically lesioned by stereotaxically placed injection of 1 μ g 6-hydroxydopamine (6-OHDA) into the brain. Ovarian weight, frequency and rate of ovulation, the number of corpora lutea found in the ovaries, and histologic features of the ovaries were observed.

The results of the present experimental study indicate that neurochemical lesion of NVT with 6-OHDA produced a significant ($p < 0.01$) decrease in the ovarian weight, as well as the ovulation rate and the number of corpora lutea found in the ovaries, compared to the sham-operated control and normal control groups. The frequency of ovulation, however, was not affected; it means that all groups of immature rats underwent ovulation. It is interesting to note that the ovulation rate of the lesioned group was suppressed (but not prevented) by about 60% as shown by the decrease in the number of corpora lutea

1) Disajikan pada Kongres Nasional VIII Perhimpunan Ahli Anatomi Indonesia (PAAI), Jakarta, 8-10 Juli 1991

found in the ovaries and in the number of ova per ovulation. Histologic features of the ovaries of the lesioned group performed an inhibition of follicular development as evidenced by the characteristic features of the induction of polycystic degeneration, beside the decrease in the number of corpora lutea found in the ovaries.

It is concluded that mesolimbic dopaminergic system specifically plays a significant role in the regulation of ovulatory process in the immature superovulation rats. Based on the present data it is hypothesized, that lesioning mesolimbic dopaminergic system chemically with 6-OHDA resulted in significant decrease in luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) released from hypothalamus, which in turn ensued the decrease in the tonic release of luteinizing hormone (LH), which is known responsible for the development of the ovarian follicles; but it seems that there is a slight suppression in the pulsatile release of LH, which is responsible for the initiation of ovulation.

Key Words: nucleus ventralis tegmenti – mesolimbic dopaminergic system – 6-hydroxydopamine – ovulation – *Rattus norvegicus*

PENGANTAR

Sistem dopaminergik mesolimbik adalah sistem monoaminergik otak yang dibangun oleh neuron-neuron yang menghasilkan neurotransmitter dopamin. Badan-badan neuron ini terletak di nucleus ventralis tegmenti (NVT, disebut juga area A-10), sedangkan akson-aksonya berakhir terutama pada nuclei sasarannya, yaitu nucleus accumbens, nucleus septalis, nucleus preopticus medialis, amygdala dan hippocampus (Ungerstedt, 1971; Mogenson *et al.*, 1980). Nuclei tersebut dikenal ikut berperan penting dalam regulasi proses-proses reproduksi (Moore & Bloom, 1978).

Selama ini sistem dopaminergik mesolimbik ini senantiasa dikaitkan dengan fungsi-fungsi lokomotorik, perilaku kognitif, kejiwaan dan emosional (Mogenson *et al.*, 1980). Walaupun demikian keterlibatan sistem ini dalam fungsi-fungsi reproduksi belum diketahui, meskipun secara tidak langsung telah dibuktikan oleh berbagai percobaan. Sintesis dan *turnover* dopamin di otak dipengaruhi oleh perubahan siklus estrus dan gonadektomi (Greenglass & Tonge, 1972). Kordon & Glowinski (1969) membuktikan bahwa dopamin berperan dalam pelepasan *luteinizing hormone releasing hormone* (LHRH) oleh hypothalamus, seperti terlihat pada hasil-hasil percobaan mereka yang menunjukkan bahwa blokade sintesis dopamin menghambat terjadinya superovulasi pada tikus imatur. Kordon (1969) menemukan bahwa pemberian inhibitor monoamin-oksidase, senyawa yang menurunkan kadar dopamin otak, memblok superovulasi pada tikus imatur. Di samping itu, pada manusia blokade reseptor dopamin dengan pimozid menghambat lonjakan *luteinizing hormone* (LH) pada pertengahan siklus menstruasi, dan infusi dopamin menurunkan kadar LH plasma (Frohman, 1980).

Masih banyak percobaan yang membuktikan keterlibatan sistem dopaminergik sentral dalam regulasi fungsi-fungsi reproduksi. Kordon (1971) membuktikan bahwa penurunan aktivitas reseptor-reseptor dopamin di dalam otak tikus betina prapuberal menyebabkan blokade ovulasi. Sistem ini telah dibuktikan pula peka terhadap hormon gonada yang memediasi fungsi reproduksi, yaitu estrogen (Grant & Stumpf, 1975).

Peran dan pengaruh neurotransmitter dopamin otak dalam regulasi proses reproduksi masih kontroversial, dapat bersifat eksitatorik atau inhibitorik. Pengaruh eksitatorik dopamin dalam proses-proses reproduksi dibuktikan oleh hasil-hasil penelitian berikut ini. Pemberian senyawa yang dapat menurunkan aktivitas reseptor dopamin, misalnya

apomorfina atau 2-Br-ergokaptin, memblokir ovulasi (Kordon *et al.*, 1968). Estrogen dan progesteron dapat mempengaruhi metabolisme dopamin otak yang berakibat penurunan kadar dopamin (Greenglass & Tonge, 1972); estradiol menaikkan *uptake* dopamin otak (Endersby & Wilson, 1973); sintesis dopamin otak meningkat pada waktu estrus (Zivkovic *et al.*, 1973); dan pemberian pimozid, suatu antagonis dopamin, memblokir pelepasan LH (Jackson, 1977). Selain itu, secara elektrofisiologis telah pula dibuktikan sifat eksitatorik sistem dopaminergik mesolimbik ini, yaitu stimulasi listrik pada NVT ternyata meningkatkan aktivitas listrik neuron-neuron nuklei sasarannya antara lain nucleus accumbens, nucleus preopticus medialis, amygdala dan hippocampus (Aswin, 1976; Yim & Mogenson, 1982).

Telah pula dilaporkan efek inhibitoris dopamin terhadap pelepasan LH. Pemberian bromokriptin, suatu antagonis dopamin, menekan sekresi tonik LH (Deaver & Dailey, 1982 dan 1983). Hill *et al.* (1980) melaporkan bahwa pemberian bromokriptin intramuskular pada biri-biri betina yang diovariectomi menekan sekresi tonik LH. Dengan cara yang sama Deaver & Dailey (1983) menemukan bahwa konsentrasi LH plasma menurun sesuai dengan dosis bromokriptin yang diberikan, dan dopamin menghambat sekresi tonik LH, sedangkan saat permulaan sekresi dan pola sekresi lonjakan praovulatoris LH tidak terpengaruh.

Sangat menarik untuk disinggung di sini hasil-hasil penelitian lebih lanjut yang dilaporkan oleh Judd *et al.* (1978) dan Ferrari *et al.* (1981). Para peneliti tersebut menemukan bahwa dopamin menghambat sekresi tonik LH selama fase folikular pada orang perempuan. Senada dengan temuan tersebut Beck & Wuttke (1977) menemukan bahwa pada tikus, mekanisme pengaturan sekresi LH oleh hypothalamus dipengaruhi oleh dopamin, tetapi setelah ovariectomi ternyata mekanisme tersebut tidak peka lagi terhadap pengaruh dopamin eksogen. Pada biri-biri betina dopamin tidak dapat menekan sekresi tonik LH selama kurun waktu lebih dari 34 jam setelah induksi regresi luteal. Pada periode ini konsentrasi progesteron paling rendah, sedangkan konsentrasi estrogen tinggi. Telah pula dilaporkan bahwa dopamin tidak mempengaruhi sekresi LH pada biri-biri betina yang mengalami anestrus (Domanski *et al.*, 1975; Deaver & Dailey, 1982). Tampaknya selama periode dominasi estrogen dopamin tidak berpengaruh terhadap sekresi LH.

Senyawa 6-hidroksidopamin (6-OHDA) dikenal sebagai senyawa neurotoksin, yaitu senyawa yang dapat menekan (depleksi) kandungan dopamin sebagai akibat degenerasi neuron-neuron dopaminergik, baik tepi maupun sentral (Thoenen & Tranzer, 1968; Jonsson, 1981). Injeksi lokal intraserebral pada NVT menyebabkan degenerasi semua neuron katekolamin di dalam sistem dopaminergik mesolimbik (Simon *et al.*, 1976). Depleksi dopamin yang selektif ini merupakan sarana penting yang dapat dipakai untuk menguji fungsi sel-sel dopaminergik dalam proses-proses fisiologis, termasuk reproduksi dan perilaku (Seiden & Dykstra, 1977).

Seperti telah diuraikan di atas, sejauh ini telah diketahui bahwa dopamin sentral terlibat dalam proses ovulasi. Meskipun demikian, perlu diungkapkan lebih lanjut dan lebih spesifik bagaimana jawaban ovarium, jika sistem dopaminergik mesolimbik mengalami degenerasi akibat lesi neurokimiawi 6-OHDA. Untuk itu diracanglah penelitian eksperimental neuroendokrinologis ini dengan tujuan utama mengamati dan menilai ciri-ciri perubahan-perubahan struktural dan fungsional ovarium, dalam kaitannya dengan proses ovulasi secara *bioassay*, sebagai akibat lesi neurokimiawi sistem dopaminergik mesolimbik pada tikus imatur superovulasi.

BAHAN CARA PENELITIAN

Sebagai hewan coba pada penelitian ini dipakai tikus (*Rattus norvegicus*) betina imatur (umur 21 hari) galur Lembaga Makanan Rakyat (LMR) yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) UGM. Tikus dipelihara di dalam kandang kisi kawat berukuran 20 x 40 x 20 cm yang berisi seekor tikus tiap kandangnya, dengan penyinaran alami (12 jam gelap dan 12 jam terang). Pakan (SD 251) dan minum diberikan *ad libitum*.

Dalam percobaan ini dipakai tikus betina imatur yang dibuat superovulasi dengan menerapkan metode Kordon (1969) dengan menyuntikan 30 iu *pregnant Mare's serum* (Folluton, Merck) subkutan, dan 52 jam kemudian disuntikan 5 iu *human chorionic gonadotropin* (Chorulon, Merck) subkutan. Dari 40 ekor tikus dipilih dan dialokasikan secara *random* ke dalam 3 kelompok, yaitu (1) Kelompok Lesi, terdiri atas 20 ekor, (2) Kelompok *sham-operated control* (SOC) terdiri atas 10 ekor, dan (3) Kelompok Kontrol, terdiri atas 10 ekor.

Lesi dilakukan di bawah anestesi ether. Dengan bantuan alat stereotaksik khusus untuk tikus (CV. Stoelting Co. Cat. no. 51200) dan berpedoman pada peta koordinat stereotaksik Albe-Fessard *et al.* (1971) yang dimodifikasi berdasarkan pengalaman percobaan pendahuluan untuk tikus imatur, kepala tikus difiksasi dan dilakukan kraniotomi. Berdasarkan koordinat lokasi nucleus ventralis tegmenti (NVT) yang diperoleh disuntikan 1 µg 6-hidroksidopamin (6-OHDA), yang dilarutkan dalam 0,5 µl pelarutnya (larutan 0,9% NaCl mengandung asam askorbat, dengan pH 4), ke sekitar NVT dengan kecepatan 0,2 µl/menit. Penyuntikan dilakukan dengan menggunakan *microsyringe* Hamilton (1 µl) yang dihubungkan dengan pipa polietilen yang ujungnya dihubungkan dengan kanula *stainless steel* berdiameter 0,2 mm. Prosedur yang sama diterapkan juga pada kelompok SOC, hanya disuntikkan pelarutnya saja (1 µl lar. 0,9% NaCl) tanpa senyawa aktif neurotoksin 6-OHDA. Kelompok Kontrol merupakan kelompok tikus yang tidak diberi perlakuan apa-apa.

Penyuntikan 6-OHDA untuk Kelompok Lesi dan pelarutnya untuk Kelompok SOC dilakukan pada hari ke-24 umur tikus antara jam 09.00-11.00, dengan maksud agar 6-OHDA dapat mempengaruhi metabolisme dopamin mesolimbik pada periode kritis pengendalian ovulasi, yang biasanya terjadi pada jam 14.00-16.00, dan ovulasi terjadi pada 12-14 jam setelah penyuntikan Chorulon (Espey *et al.*, 1985).

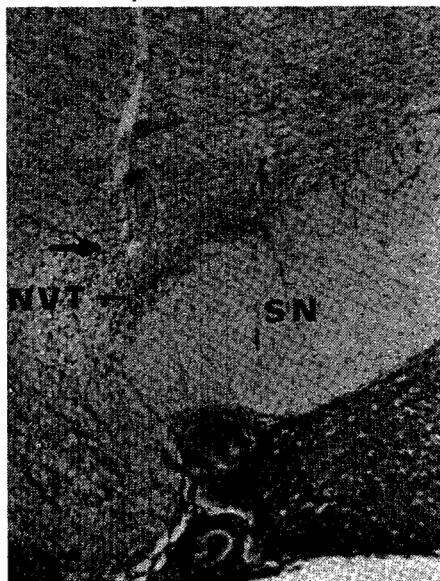
Dua puluh empat jam kemudian hewan coba dikorbankan dengan jalan dekapitasi, selanjutnya ovarium dan oviductusnya diambil, kemudian dinilai secara *bioassay* (kualitatif dan kuantitatif). Berat ovarium (basah) ditimbang dengan timbangan mikro (Delta) dengan ketelitian 0,1 mg, kemudian difiksasi untuk keperluan pemeriksaan histologik dengan pemulasan hematoxilin-eosin (HE) dan penghitungan jumlah corpus luteum. Oviductus diperiksa di bawah mikroskop diseksi untuk menghitung jumlah ovum. Untuk melihat adanya degenerasi neuron-neuron dopaminergik pada NVT dan juga untuk melihat lokasi injeksi dan ujung kanula, otak tikus Kelompok Lesi dan Kelompok SOC diambil dan difiksasi dengan formalin 10%, selanjutnya dibuat sediaan histologis dengan pemulasan Nissl. Hanya tikus yang secara histologis menunjukkan lokasi ujung kanula di dekat NVT saja yang diikutsertakan dalam penelitian ini (GAMBAR 1a dan 1b). Berdasarkan kriteria tersebut, dari 10 ekor tikus pada Kelompok SOC dan 20 ekor pada Kelompok Lesi, berturut-turut hanya 7 ekor dan 15 ekor saja yang dapat disertakan sebagai sampel dalam penelitian ini.

Analisis statistik dipakai untuk menguji kemaknaan perbedaan data antar kelompok yang diperoleh. Kemaknaan perbedaan berat ovarium, jumlah ovum di dalam oviductus dan jumlah corpus luteum di dalam ovarium diuji dengan uji-Z, sedangkan kemaknaan perbedaan berat ovarium diuji dengan uji-t.

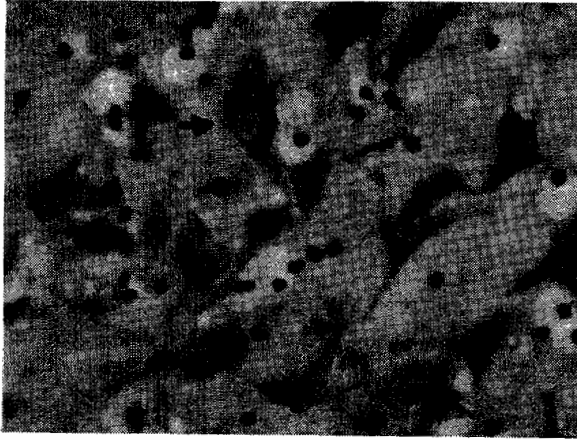
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kajian mengenai pengaruh kimiawi terhadap proses sentral ovulasi banyak dilakukan pada tikus imatur yang sebelumnya dibuat superovulasi, dalam upaya mengungkapkannya sejauh mana derajat inhibisi atau supresi senyawa tersebut terhadap regulasi proses ovulasi (Kordon *et al.*, 1968). Dalam keadaan normal jumlah ovum yang dilepaskan pada waktu ovulasi rata-rata 10 buah, sedangkan dalam keadaan superovulasi yang diinduksi secara eksperimental, ovum yang dibebaskan dapat mencapai lebih dari 20 buah. Dengan metode ini perubahan atau penekanan terhadap ovulasi dapat diamati lebih jelas, bahkan dengan perlakuan dengan dosis yang rendah sekalipun.

Pada penelitian ini terlihat bahwa perlakuan atau prosedur bedah yang dilakukan terhadap Kelompok SOC tidak menimbulkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$), jika dibandingkan dengan Kelompok Kontrol dalam semua parameter yang diamati. Penyuntikan 6-OHDA intraserebral langsung pada NVT (GAMBAR 1a) menyebabkan degenerasi neuron-neuron dopaminergik mesolimbik (GAMBAR 1b) yang mengakibatkan terjadinya perubahan-perubahan struktural dan fungsional ovarium.

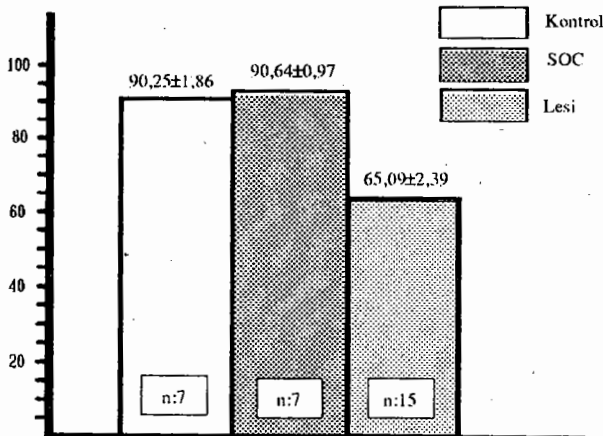


GAMBAR 1a. —Penampang koronal mesencephalon melalui nucleus ventralis tegmenti (NVT), menunjukkan lokasi ujung kanula (anak panah). Pemulasan Nissl. Perbesaran 40 x. SN: substantia nigra.



GAMBAR 1b. – Neuron-neuron NVT yang mengalami degenerasi. Pemulasan Nissl. Perikarya mengalami hipertrofi dan nucleus terdesak ke tepi (anak panah). Perbesaran 100 x.

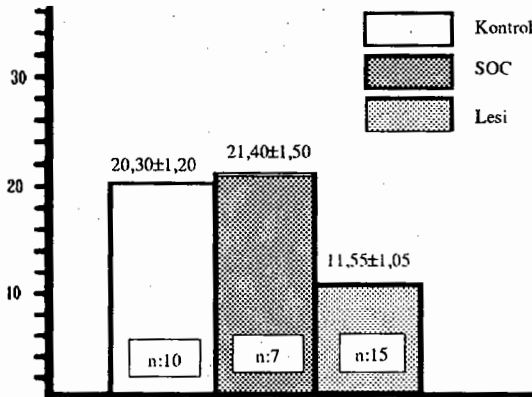
Dengan lesi neurokimiawi ini berat ovarium menurun secara bermakna (masing-masing $p < 0,01$) sebesar kira-kira 32%, dari rata-rata 90,25 mg pada Kelompok Kontrol dan 90,64 mg pada Kelompok SOC menjadi 65,09 mg pada Kelompok Lesi (GAMBAR 2). Walaupun terjadi penekanan berat ovarium, pada percobaan ini ternyata semua kelompok tikus percobaan mengalami ovulasi. Ini berarti bahwa frekuensi ovulasi, yaitu jumlah tikus yang mengalami ovulasi/kelompok, adalah sebesar 100%.



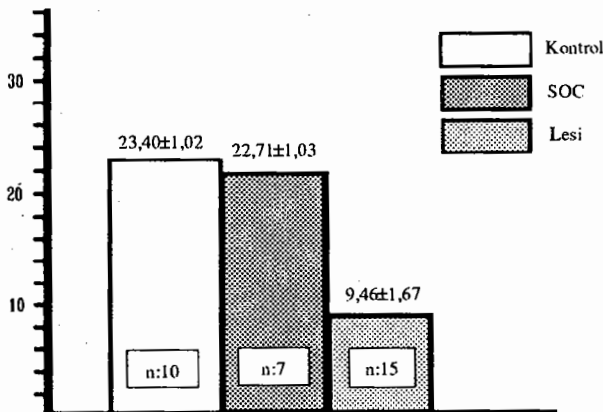
GAMBAR 2. – Pengaruh lesi neurokimiawi 6-OHDA pada NVT terhadap berat ovarium ($\bar{X} \pm SD$).
n: jumlah tikus.

Pada pemeriksaan sediaan basah dan sediaan histologis ovarium terlihat bahwa jumlah corpus luteum/ovarium Kelompok Lesi (rata-rata 11,55) menurun secara bermak-

na ($p < 0,01$), jika dibandingkan dengan Kelompok SOC (rata-rata 21,40) dan Kelompok Kontrol (rata-rata 20,30) (GAMBAR 3). Penurunan jumlah corpus luteum ini disertai penurunan secara bermakna ($p < 0,01$) angka ovulasi yaitu jumlah ovum/tikus, dengan supresi kira-kira 60%, dari rata-rata 23,40 pada Kelompok Kontrol dan 22,71 pada Kelompok SOC menjadi 9,46 pada Kelompok Lesi (GAMBAR 4).



GAMBAR 3. – Pengaruh lesi neurokimiawi 6-OHDA pada NVT terhadap jumlah corpus luteum ($\bar{X} \pm SD$).
n: jumlah tikus.



GAMBAR 4. – Pengaruh lesi neurokimiawi 6-OHDA pada NVT terhadap angka ovulasi ($\bar{X} \pm SD$).
n: jumlah tikus.

Gambaran histologis ovarium Kelompok Kontrol (GAMBAR 5a) dan Kelompok SOC (GAMBAR 5b) menunjukkan jumlah corpus luteum yang banyak, sebagai konsekuensi banyaknya ovum yang dilepaskan pada keadaan superovulasi, di samping adanya beberapa folikel normal dengan berbagai stadia pertumbuhan dan perkembangannya. Berbeda dengan gambaran histologis ovarium pada Kelompok Lesi (GAMBAR 5c), di sini terlihat corpus luteum hanya sedikit dan tampak gambaran

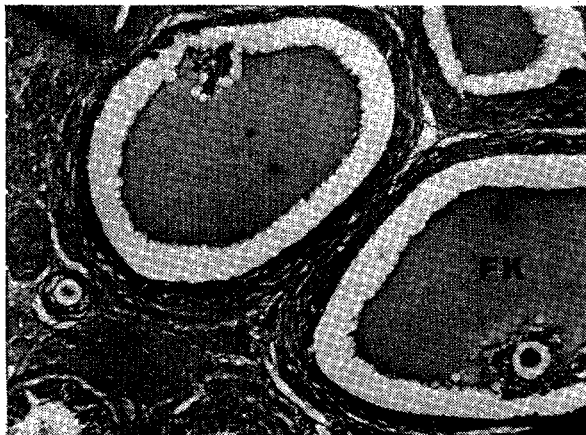
mencolok adanya banyak folikel dengan antrum folliculi yang besar yang menunjukkan adanya folikel-folikel yang mengalami degenerasi vesikuler dengan pembentukan kista yang besar (*polycystic ovary*).



GAMBAR 5a. – Gambaran histologik ovarium tikus imatur superovulasi Kelompok Kontrol. Terlihat banyak corpus luteum (CL) dan berbagai stadia perkembangan folikel (F). Pemulasan HE. Perbesaran 40 x.



GAMBAR 5b. – Gambaran histologik ovarium tikus imatur superovulasi Kelompok SOC. Tidak berbeda dengan kelompok kontrol banyak dijumpai corpus luteum (CL) dan berbagai stadia perkembangan folikel (F). Pemulasan HE. Perbesaran 40 x.



GAMBAR 5c. – Gambaran histologik ovarium tikus imatur superovulasi Kelompok Lesi. Tampak banyak folikel de Graaf yang mengalami degenerasi kistik (FK). Pemulasan HE. Perbesaran 100x.

Lesi neurotoksin 6-OHDA pada NVT pada percobaan ini menyebabkan penurunan atau penekanan fungsi ovulasi pada semua hewan coba. Ini menunjukkan bahwa secara garis besar sistem dopaminergik mesolimbik berperan stimulatoris atau memacu dalam pengaturan proses ovulasi secara sentral. Dengan lesi ini neuron-neuron dopaminergik mesolimbik mengalami degenerasi (Simon *et al.*, 1976) dan mengakibatkan terjadinya supresi, bukan blokade ovulasi. Sebagai akibat degenerasi sistem dopaminergik mesolimbik ini maka masukan-masukan ekstitatorik terhadap semua nuklei sasarannya (Terrasawa & Sawyer, 1969; Smith & Holland, 1975; Aswin, 1976) menjadi berkurang, pada gilirannya akan menekan masukan-masukan yang menuju ke pusat pengaturan ovulasi di hypothalamus. Dengan demikian terjadilah supresi ovulasi, meskipun tidak terjadi blokade ovulasi total. Wujud penekanan regulasi proses ovulasi ini terlihat dalam penelitian ini sebagai penurunan berat ovarium dan jumlah corpus luteum serta jumlah ovum yang dilepaskan pada waktu ovulasi.

Data lain dari hasil penelitian ini yang menarik untuk dibahas lebih lanjut ialah gambaran histologis ovarium Kelompok Lesi yang menunjukkan adanya polikista. LH dilaporkan berperan penting dalam perkembangan folikel dan sekresi estradiol (E2) ovarium pada tikus (Richards & Bogovich, 1982; Peluso *et al.*, 1984). Telah diketahui pula adanya dua pola sekresi LH, yaitu:

- (1) pola tonik, LH disekresikan secara basal sekedar cukup untuk memelihara pertumbuhan dan perkembangan folikel, dan
- (2) pola siklik atau pulsatil (berdenyut), yang mampu memberi isyarat inisiasi terjadinya ovulasi (Gorski, 1968). Pertumbuhan cepat folikel terjadi pada fase diestrus I siklus estrus (Peluso & Downey, 1982), yaitu pada saat LH disekresi dengan pola pulsatil (Fox & Smith, 1985). Menurut Devorshak-Harvey *et al.* (1985) pada diestrus folikel ovarium sangat peka terhadap perubahan amplitudo isyarat pulsatil LH. Selain itu,

pemberian antagonis LHRH menyebabkan penurunan amplitudo pulsus sekresi LH dan menurunnya kadar estrogen (E2) yang berakibat meningkatnya jumlah folikel ovarium yang mengalami degenerasi kistik. Dengan demikian, pola sekresi LH berperan penting secara fisiologis dalam pengaturan pertumbuhan folikel dan terjadinya kista.

Meskipun ovulasi hanya sekedar titik akhir suatu proses neuroendokrinologis yang panjang dan kompleks, 90% lonjakan ovulatoris LH harus ditekan jika ingin mencegah terjadinya ovulasi (Naftolin *et al.*, 1972; Turgeon & Barraclough, 1973). Ini menunjukkan bahwa pencegahan atau blokade ovulasi hanya dapat dilakukan jika terjadi penurunan sekresi LH yang tajam, terutama sekresi LH yang berpola siklis. Pada penelitian ini terjadi banyak folikel ovarium yang mengalami degenerasi kistik pada Kelompok Lesi, tampaknya sebagai akibat ditekannya amplitudo sekresi LH pola siklis atau pulsatil. Penekanan ini tidak sampai meniadakan seluruh sekresi pola pulsatil, karena jika demikian akan terjadi blokade total ovulasi. Hal ini dapat dibuktikan oleh hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa semua tikus percobaan pada Kelompok Lesi masih mengalami ovulasi, hanya terjadi supresi angka ovulasi sekitar 60%. Walaupun demikian, tidak dapat disingkirkan kemungkinan terjadinya penekanan sekresi LH pola tonik. Ternyata pada penelitian ini juga terlihat adanya penghambatan pertumbuhan dan perkembangan folikel-folikel ovarium.

Penurunan berat ovarium setelah dilakukan lesi pada penelitian ini menunjukkan penurunan sekresi estrogen oleh sel-sel granulosa folikel, seperti yang dibuktikan oleh Jonsson *et al.* (1985). Dengan singkat dapat dikatakan bahwa penurunan amplitudo sekresi pulsatil LH menurunkan jumlah reseptor pada ovarium dan dengan demikian folikel ovarium tidak dapat berkembang lebih lanjut sampai masak, akhirnya mengalami degenerasi kistik (Espey *et al.*, 1985). Saidapur & Greenwald (1981) menemukan bahwa penyuntikan sikloheksimid, senyawa yang menghambat sintesis protein, memperpanjang lonjakan estrogen (E2), mengurangi sekresi progesteron (P4), dan mencegah ovulasi, sedangkan hasil percobaan Wang & Greenwald (1985) dengan cara yang sama menunjukkan blokade ovulasi dan terjadinya folikel-folikel kistik.

Keadaan patologis dengan ovarium polikistik juga dijumpai pada manusia, dikenal sebagai *polycystic ovarian disease* (POD) atau sindroma Stein-Leventhal, yang menyebabkan terjadinya anovulasi kronik. Menurut Carr & Wilson (1991) mekanisme yang melatarbelakangi sindroma tersebut adalah menurunnya sekresi *follicle stimulating hormone* (FSH) menyebabkan menurunnya kadar FSH plasma dan akhirnya berakibat berkurangnya jumlah folikel ovarium yang masak atau folikel de Graaf. Karena pemasakan folikel ditekan, maka kadar estrogen siklik (estradiol) yang diproduksi oleh ovarium juga berkurang, sehingga akhirnya terjadilah keadaan yang disebut anovulasi kronik pada pasien tersebut. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa defek utama pada POD disebabkan oleh salah satu isyarat ke hypothalamus dan adenohipofisis tidak adekuat. Anovulasi kronik yang terjadi sebenarnya bukan akibat abnormalitas intrinsik pada ovarium itu sendiri, tetapi sebagai akibat defisiensi FSH (Carr & Wilson, 1991).

Steroid gonada, dalam hal ini estrogen ovarium, mempengaruhi konsentrasi dan *turnover* katekolamin pada sistem saraf pusat mamalia; pada tikus pada saat proestrus di sore hari, saat kadar estrogen tinggi, *turnover* dopamin menurun (Yen, 1980). Inisiasi lonjakan akut LH pada pertengahan siklus estrus berkaitan erat dengan tercapainya kadar estrogen kritis (kira-kira 300 µg/ml selama 72 jam) pada satuan hypothalamus-hypofisis. Dalam hal ini, estrogen bukan merupakan penginduksi (*inducer*) tetapi meru-

pakam pemicu (*trigger*) sebenarnya dalam mekanisme ini, termasuk urutan tahap-tahap biokimiawi yang kompleks yang melibatkan katekolamin, katekolestrogen, prostaglandin, beta-endorfin dan neuron-neuron penghasil *gonadotropin releasing hormone* (GnRH). Selanjutnya, pola pulsatil pelepasan gonadotropin (LH) berkaitan secara kausal dengan pola sekresi GnRH (Yen, 1980).

Sifat pengaruh dopamin, apakah stimulatoris atau inhibitoris, sangat tergantung pada latar belakang kadar estrogen pada saat itu. Jika kadar estrogen tinggi, maka pengaruh dopamin terhadap neuron-neuron penghasil GnRH di hypothalamus bersifat stimulatoris, sebagai akibat pengaruh umpan balik estrogen terhadap neuron-neuron dopaminergik. Sehubungan dengan itu, menarik untuk disinggung di sini hipotesis yang diajukan oleh Yen (1980), yang mengatakan adanya hormon katekolestrogen di dalam sistem saraf pusat yang bertindak selaku penghubung antara katekolamin (termasuk dopamin) dan aktivitas sel-sel penghasil GnRH. Katekolestrogen yang dihasilkan oleh ovarium ini mempunyai dua sisi pengikat, yaitu sisi katekol dan sisi estrogen yang memberikan potensi interaksi dengan sistem yang dimediasi oleh katekolamin di satu pihak dan sistem yang dimediasi oleh estrogen di lain pihak, kedua-duanya di dalam sistem saraf pusat. Katekolestrogen tampaknya berinteraksi dengan reseptor-reseptor estrogen dan mempengaruhi aktivitas neuron-neuron katekolaminergik di otak. Senyawa tersebut dilaporkan mampu menghambat katekol-O-transferase, enzim yang terlibat dalam inaktivasi dopamin. Dengan demikian, jelaslah bahwa katekolestrogen mempunyai potensi mempengaruhi sintesis dan metabolisme katekolamin di dalam otak.

Berdasarkan uraian di atas, berikut ini disajikan penjelasan secara garis besar mengenai kemungkinan mekanisme-mekanisme yang terjadi setelah dilakukan lesi neurokimiawi sistem dopaminergik mesolimbik. Jika dikaitkan dengan hipotesis katekolestrogen yang diajukan oleh Yen (1980) hasil-hasil penelitian ini dapat diterangkan sebagai berikut. Penurunan berat ovarium sebagian disebabkan oleh hambatan pertumbuhan folikel dan sebagian lagi disebabkan oleh berkurangnya jumlah corpus luteum. Kesemuanya ini berakibat menurunnya kadar katekolestrogen yang diproduksi oleh ovarium (dalam hal ini oleh sel-sel corpus luteum), dengan konsekuensi menurunnya umpan balik katekolestrogen terhadap hypothalamus, baik melalui jalur beberapa nuklei di dalam otak yang peka terhadap estrogen maupun via sistem dopaminergik yang memberikan masukan kepada neuron-neuron penghasil GnRH. Diduga sekresi GnRH oleh hypothalamus juga berkurang yang selanjutnya akan menyebabkan menurunnya sekresi gonadotropin (LH dan FSH) oleh adenohypophysis. Menurunnya kadar LH dan FSH akan menyebabkan berkurangnya jumlah reseptor-reseptor estrogen di dalam ovarium (Espey *et al.*, 1985). Corpus luteum baru terbentuk jika kadar LH dan FSH mencapai rasio kritis tertentu (Guillemin, 1980). Dengan jalan demikian diduga terjadi juga penekanan sekresi LH terutama pola siklik di samping pola tonik, yaitu dengan menurunnya amplitudo pola pulsatil, sehingga terjadilah supresi parsial ovulasi, bukan supresi total atau blokade ovulasi yang dapat berakibat anovulasi. Dengan demikian, jumlah ovum yang dilepaskan dari ovarium pada saat ovulasi juga berkurang.

KESIMPULAN

Telah dilakukan kajian eksperimental terhadap tikus (*Rattus norvegicus*) imatur yang terlebih dahulu dibuat superovulasi. Setelah dilakukan lesi neurokimiawi dengan menyuntikkan 6-hidroksidopamin intraserebral pada nucleus ventralis tegmenti, yang

merupakan agregat badan-badan sel sistem dopaminergik mesolimbik, diamati perubahan-perubahan struktural dan fungsional ovarium. Hasil-hasil penelitian ini menunjukkan:

1. Terjadi perubahan atau gangguan struktur dan fungsi ovarium dalam kaitannya dengan proses ovulasi, seperti terbukti dengan menurunnya berat ovarium dan jumlah corpus luteum, supresi ovulasi parsial dan terbentuknya folikel-folikel kistik (ovarium polikistik).
2. Sistem dopaminergik mesolimbik secara sentral berperan stimulatoris terhadap unsur-unsur pokok dalam mata rantai sentral ovulasi.

SARAN

Mengingat lesi neurokimiawi dengan 6-OHDA terhadap sistem dopaminergik mesolimbik terbukti mengganggu struktur dan fungsi ovarium, yang diduga sebagai akibat menurunnya kadar LH dan FSH, maka perlu diteliti lebih lanjut secara kuantitatif kadar LH dan juga FSH plasma dengan menggunakan teknik *radioimmunoassay* (RIA). Di samping itu, karena pengaturan hormonal fungsi-fungsi reproduktif tidak hanya ditentukan oleh kadar LH dan FSH plasma saja, tetapi juga oleh pengikatan LH dan FSH oleh reseptor-reseptor spesifiknya pada permukaan sel-sel ovarium, maka perlu diteliti lebih lanjut apakah lesi neurokimiawi sistem dopaminergik mesolimbik ini juga akan mempengaruhi jumlah reseptor LH dan FSH di dalam ovarium dengan menerapkan teknik *radioreceptorassay* (RRA).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta atas kesempatan yang diberikan untuk melakukan penelitian ini dengan menyediakan dana DPP berdasarkan kontrak nomer: UGM/7471/M/09/01 tanggal 1 Oktober 1988. Penulis juga berterima kasih kepada Kepala Laboratorium Anatomi, Embriologi dan Antropologi Fakultas Kedokteran UGM yang telah berkenan dan memberikan ijin menggunakan fasilitas penelitian yang tersedia.

KEPUSTAKAAN

- Albe-Fessard, D., Stutinsky, F., & Libouban, S. 1971 *Atlas Stereotaxique du Diencephale du Rat Blanc*. C.N.R.S., Paris.
- Aswin, S. 1976 *Electrophysiological Studies of Medial Preoptic (MPO) and Nucleus Accumbens (ACB) Units*. PhD Thesis. Faculty of Graduate Studies Mahidol University. Bangkok, Thailand.
- Beck, W., & Wutke, W. 1977 Desensitization of the dopaminergic inhibition of pituitary luteinizing hormone release by prolactin in ovariectomized rats. *J. Endocrinol.* 74:67-74.
- Carr, B. R., & Wilson, J. D. 1991 Disorders of the ovary and female reproductive tract, dalam J. D. Wilson, E. Braunwald, K. J. Isselbacher, R. G. Petersdorf, J. B. Martin, S. A. Fauci, & R. K. Root (eds.): *Harrison's Principles of Internal Medicine*, pp. 1776-95. McGraw-Hill Inc., New York.
- Deaver, D. R., & Dailey, R. A. 1982 Effects of dopamine and serotonin on plasma concentration of luteinizing hormone and prolactin in ovariectomized and unestrus ewes. *Biol. Reprod.* 27:624-32.
- _____ 1983 Effects of dopamine and serotonin on concentrations of LH and estradiol-17B in plasma of cycling ewes. *Biol. Reprod.* 28:870-77.

- Devorshak-Harvey, L., Peluso, J. J., Bona-Gallo, A., & Gallo, R. V. 1985 Effects of alternations in pulsatile luteinizing release on ovarian follicular atresia and steroid secretion on diestrus 1 in the rat estrus cycle. *Biol. Reprod.* 32:103-115.
- Domanski, E., Prezeko, F., Skubiszewki, B., & Wolinska, E. 1975 The effect and site of action of indolamines on the hypothalamic centers in the control of LH release and ovulation in sheep. *Neuroendocrinol.* 17:265-73.
- Endersby, C. A., & Wilson, C. 1973 The effect of ovarian steroids on the uptake of ^3H -noradrenaline, ^3H -dopamin and ^3H -hydroxytryptamine by hypothalamic tissue *in vitro*. *Brit. J. Pharmacol.* 47:647P.
- Espey, L., Shimada, H., & Mori, T. 1985 Effect of various agents on ovarian plasmogen activator activity during ovulation in Pregnant Mare's Serum gonadotropin-primed immature rats. *Biol. Reprod.* 32:1087-1094.
- Ferrari, C., Rampini, P., Malinverni, A., Scardvelli, C., Benco, B., Caldera, R., Barbieri, C., Testori, G., & Crosignani, P. G. 1981 Inhibition of luteinizing hormone release by dopamin infusion in healthy women and in various pathophysiological conditions. *Acta Endocrinol.* 97:436-40.
- Fox, S. R., & Smith, M. S. 1985 Changes in the pulsatile pattern of luteinizing hormone secretion during the rat estrous cycle. *Endocrinol.* 116:1485-92.
- Frohman, L. A. 1980 Neurotransmitters as regulators of endocrine function, *dalam* D. T. Krieger, & J. C. Hughes (eds.): *Neuroendocrinology*, pp. 44-57. Sinauer Assoc. Inc. Publ., Sunderland, Mass.
- Gorski, R. A. 1968 The neural control of ovulation, *dalam* N. S. Assali (ed): *Biology of Gestation. The Maternal Organism*, pp. 1-66. Academic Press, New York.
- Grant, L. D., & Stumpf, W. C. 1975 Hormone uptake sites in relation to CNS biogenic amine systems, *dalam* W. C. Stumpf, & L. D. Grant (eds): *Anatomical Neuroendocrinology*, pp. 445-63. Int. Conf. Neurobiol. CNS-hormone Interactions. S. Karger, Basel.
- Greenglass, P. M., & Tonge, S. R. 1972 Effects of estrogen and progesterone on brain monoamines: Interactions with psychotropic drugs. *J. Pharm. Pharmacol.* 24(Suppl.):149P.
- Guillemin, R. 1980 Hypothalamic hormones. Releasing and inhibiting factors, *dalam* D. T. Krieger, & J. C. Hughes (eds): *Neuroendocrinology*, pp. 44-57. Sinauer Assoc. Inc. Publ., Sunderland, Mass.
- Hill, T. G., Alliston, C. W., & Malven, P. V. 1980 Plasma luteinizing hormone and prolactin in normothenmic and hypothermic ovariectomized ewes. *Life Sci.* 26:1893-8.
- Jackson, G. L. 1977 Effect of adrenergic blocking drugs on secretion of luteinizing hormone in the ovariectomized ewe. *Biol. Reprod.* 15: 543-8.
- Jaussan, V., Lemarchand-Beraud, T., & Gomes, F. 1985 Modifications of the gonadal function in the adult rat after fetal exposure to spironolactone. *Biol. Reprod.* 32:1051-1061.
- Jonsson, G. 1981 Lesion methods in neurobiology, *dalam* Ch., Heym, & W. G. Forssmann (eds.): *Technique in Neuroanatomical Research*, pp. 71-99. Springer-Verlag, Berlin.
- Judd, S. J., Rakoff, J. S., & Yen, S. S. C. 1978 Inhibition of gonado-tropin and prolactin release by dopamine: Effect of endogenous estradiol levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47:494-8.
- Kordon, C. 1969 Effects of selective experimental changes in regional hypothalamic monoamine levels on superovulation in the immature rat. *Neuroendocrinol.* 4:129-38.
- _____ 1971 Blockade of ovulation in the immature rat by local dopamine release inhibitor in the arcuate region of the hypothalamus. *Neuroendocrinol.* 7:202.
- _____ & Glowinski, J. 1969 Selective inhibition of superovulation by blockade of dopamin synthesis during the critical period in the immature rat. *Endocrinol.* 85:924.
- _____, Javoy, F., Vasant, C., & Glowinski, J. 1968 Blockade of superovulation in the immature rat by increased brain serotonin. *Eur. J. Pharmacol.* 4:169.

- Mogenson, G. J., Wu, M., & Jones, D. L. 1980 Locomotor activity elicited by injections of picrotoxin into the ventral tegmentum area is attenuated by injections of GABA into globus pallidus. *Brain Res.* 195:230-35.
- Moore, R. Y., & Bloom, F. E. 1978 Central catecholamine neuron systems: Anatomy and physiology of the dopamine system. *Am. Rev. Neurosci.* 1:129-60.
- Naftolin, F., Brown-Grant, K., & Cooker, C. S. 1972 Plasma and pituitary luteinizing hormone and peripheral plasma estradiol concentrations in the normal oestrous cycle of the rat after experimental manipulation of the cycle. *J. Endocrinol.* 53:17-30
- Peluso, J., & Downey, M. C. 1982 Pattern of follicular development during the estrous cycle of aged rats. *Cell Tissue Res.* 225:229-34.
- _____, _____, & Greenberg, M. L. 1984 Role of LH pulse amplitude in controlling rat ovarian oestradiol-17B secretion *in vitro*. *J. Reprod. Fertil.* 71:107-112.
- Richards, J. S., & Bogovick, K. 1982 Effects of human chorionic gonadotropin and progesterone on follicular development in the immature rat. *Endocrinol.* 111: 1429-38.
- Saidapur, S. K., & Greenwald, G. S. 1981 The role of protein synthesis in regulation of oestradiol-17P in the proestrous hamster. *J. Reprod. Fertil.* 62:379-84.
- Seiden, L. S., & Dykstra, L. A. 1977 Dopamine, norepinephrine and behavior, *dalam: Psychopharmacology. A. Biochemical and Behavioral Approach*, pp. 117-71. Van Nostrand Reinhold Co., New York.
- Simon, H., Le Moal, M., Galey, D., & Cardo, B. 1976 Silver impregnation of dopaminergic systems after radiofrequency and 6-OHDA lesions of the rat ventral tegmentum. *Brain Res.* 115:215-31.
- Smith, M. O., & Holland, R. C. 1975 Effects of lesions of the nucleus accumbens on lactation and postpartum behavior. *Physiol. Psychol.* 3:331-6.
- Terasawa, E., & Sawyer, C. H. 1969 Electrical and electrochemical stimulation of the hypothalamoadenohypophysial system with stainless steel electrodes. *Endocrinol.* 84:918-25.
- Thoenen, H., & Tranzer, J. P. 1968 Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-hydroxydopamine. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 261:271-88.
- Turgeon, J., & Barraclough, C. A. 1973 Temporal pattern of LH release following graded preoptic electrochemical stimulation in proestrous rats. *Endocrinol.* 92:755-61.
- Ungerstedt, U. 1971 Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol. Scand.* (Suppl.) 367:1-48.
- Wang, S. C., & Greenwald, G. S. 1985 Effect of cycloheximide injected at proestrus on ovarian protein synthesis, peptide and steroid hormone levels, and ovulation in the hamster. *Biol. Reprod.* 33:201-211.
- Yen, S. S. C. 1980 Neuroendocrine regulation of the menstrual cycle, *dalam* D. T. Krieger & J. C. Hughes (eds.): *Neuroendocrinology*, pp. 259-272. Sinauer Assoc. Inc. Publ., Sunderland, Mass.
- Yim, C. Y., & Mogenson, C. J. 1982 Responses of nucleus accumbens neurons to amygdala stimulation and its modification by dopamine. *Brain Res.* 239:401-415.
- Zivkovic, B., Guidotti, A., & Costa, E. 1973 Increase in brain tryptophan hydroxylase activity elicited by reserpine. *Brain Res.* 57:522.