
**PERKEMBANGAN AKSIS SEL-SEL HORMON ADRENOKORTIKOTROPIK
(ACTH) ADENOHIPOFISA-KORTEKS ADRENAL MONYET EKOR PANJANG
(*Macaca fascicularis*) SELAMA MASA PRE DAN POSTNATAL**

*Development of Adrenocorticotrophic Hormone Cells of Adenohypophysis-Adrenal Cortex
Axis of Long-tailed Monkey (*Macaca fascicularis*) during Pre and Postnatal Period*

**Nurhidayat¹, Ika K. Syarifah¹, Supratikno¹, Sri Wahyuni²,
Chairun Nisa¹, dan Savitri Novelina¹**

¹Bagian Anatomi, Histologi, dan Embriologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

²Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
E-mail: nhdayat@telkom.net

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mempelajari hubungan perkembangan aksis sel-sel ACTH adenohipofisa-korteks adrenal selama periode pre dan postnatal pada monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis*). Penelitian ini menggunakan fetus umur 70, 85, 100, 120, dan 150 hari serta anak umur 10 dan 105 hari. Adenohipofisa diproses secara imunohistokimia dengan menggunakan antiserum *human* ACTH dan kelenjar adrenal diwarnai dengan Hematoksilin-Eosin. Perkembangan sel-sel ACTH dan buluh darah adenohipofisa pada fetus umur 120 hari telah sempurna dan mirip dengan yang ditemukan pada umur yang lebih tua, sehingga diduga dapat mendistribusikan ACTH ke seluruh tubuh secara optimal. Pada periode ini, korteks adrenal mengalami proliferasi dan diferensiasi lebih progresif membentuk zona transisi yang terletak diantara zona definitif dan zona fetus serta vena sentralis di kelenjar adrenal fetus telah berkembang dengan baik. Pada fetus umur 150 hari, struktur korteks adrenal mirip yang ditemukan pada umur fetus yang lebih tua. Sel-sel ACTH dan buluh darah adenohipofisa berkembang lebih awal dibandingkan korteks adrenal, sekresinya diduga akan mempengaruhi perkembangan sel-sel korteks adrenal fetus monyet ekor panjang.

Kata kunci: monyet ekor panjang, adenohipofisa, ACTH, korteks adrenal

ABSTRACT

*The objective of this study is to observe the relationship of development of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) cells of adenohypophysis-adrenal cortex axis during pre and postnatal period of long-tailed monkey (*Macaca fascicularis*). Five fetuses aged 70, 85, 100, 120, and 150 days of gestation and 2 new born aged 10 and 105 days old were used as research materials. The sections of the pituitary gland stained immunohistochemically using human ACTH antiserum and the adrenal glands stained by Hematoxylin-Eosin procedures. At the fetus 120 days old, the ACTH cells and blood vessel of fetal adenohypophysis developed well and its similar that found in older age. This condition suggested distributing the ACTH to whole body optimally. At the same time, the adrenal cortex cells of fetus 120 days old were active in proliferation and differentiation processes to form transition zone that lies between definitive and fetal zones, and central vein also developed in adrenal gland. In fetus aged 150 days, the cortex adrenal structure was similar with found in older fetus. The adenohypophysis ACTH cells developed earlier than adrenal cortex and their secretion suggested influencing the development of adrenal cortex cells of long-tailed monkey.*

Keywords: long-tailed monkey, adenohypophysis, ACTH, adrenal cortex.

PENDAHULUAN

Hormon adrenokortikotropik (ACTH) disintesis oleh kortikotrop di adenohipofisa. Hormon ini mempengaruhi banyak jaringan seperti kulit, lemak, pembuluh darah, hati, dan otot jantung, tetapi yang paling utama adalah pengaruhnya pada korteks adrenal, yaitu menstimulasi biosintesa steroid (Wennhold dan Nelson, 1979). Pada masa fetal, ACTH termasuk hormon adenohipofisa yang disintesis paling awal. Pada manusia, sel-sel penghasil ACTH di adenohipofisa dideteksi pada fetus umur 35 hari (Baker dan Jaffe, 1975), pada babi umur 40 hari (Sasaki *et al.* 1992), dan tikus umur 13-14 hari (Sasaki dan Nishioka, 1998).

Sejalan dengan perkembangan sel-sel ACTH adenohipofisa, kelenjar adrenal embrional juga berkembang sangat cepat (Finding *et al.*, 1997). Perubahan ukuran kelenjar ini terutama pada korteks adrenal (Hadley, 1992) sebagai akibat dari berkembangnya korteks adrenal menjadi zona fetus dan zona definitif. Pada fetus manusia perubahan ini berlangsung pada umur 8-10 minggu (Shifren *et al.*, 1998) sedangkan pada fetus anjing Beagle pada umur 35 hari (Sasaki dan Nishioka, 1998). Perkembangan sel-sel ACTH adenohipofisa dan sekresinya terlihat sangat berhubungan dengan perkembangan dari korteks adrenal. Secara fisiologis keduanya berhubungan erat dan proses pengaturannya pada fetus sangat kompleks oleh sejumlah faktor yang diperantarai oleh ACTH (Messiano dan Jaffe, 1997) di samping faktor yang lain yaitu *insulin-like growth factor II* (IGF-II) (Finding *et al.*, 1997).

Penelitian mengenai aksis perkembangan hipofisa dengan kelenjar adrenal telah dilakukan pada anjing Beagle

(Sasaki dan Nishioka, 1998). Sejauh ini, penelitian yang sama belum dilaporkan pada primata. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai hubungan perkembangan aksis sel-sel ACTH adenohipofisa dengan korteks adrenal fetus Monyet Ekor Panjang (MEP)/*M. fascicularis*.

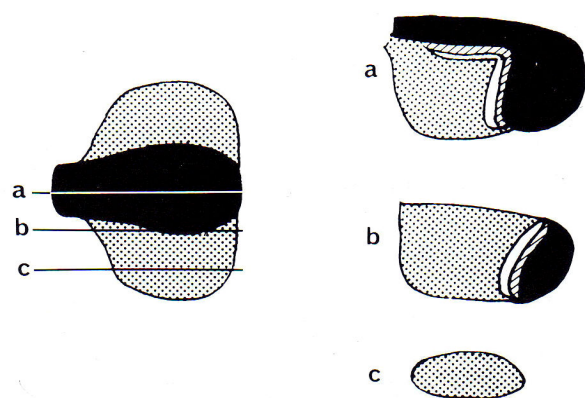
MATERI DAN METODE

Pengambilan spesimen dilakukan di Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) LPPM Institut Pertanian Bogor, pada bulan Agustus 2002-September 2005. Sedangkan proses pembuatan preparat histologis, pewarnaan dan visualisasi hasil pewarnaan dilaksanakan di Laboratorium Riset Anatomi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Penelitian ini menggunakan hipofisa dan adrenal fetus MEP umur 70 hari (F-70), 85 hari (F-85), 100 hari (F-100), 120 hari (F-120), dan 150 hari (F-150), serta anak umur 10 hari (A-10) dan 105 hari (A-105) masing-masing satu ekor yang merupakan sumbangan dari PSSP LPPM Institut Pertanian Bogor. Fetus diperoleh melalui laparotomi medianus dan dibius intraumbilikal dengan menggunakan pentobarbital (6 mg/kg BB), sedangkan pada A-10 dan A-105 dibius dengan pentobarbital (20 mg/kg BB) secara intraperitoneal. Pelaksanaan penelitian dilakukan di bawah pengawasan dan persetujuan Komisi Kesejahteraan Hewan (*Institutional Animal Care and Use Committee/IACUC*) PSSP LPPM IPB nomor 02-0030IR. Dalam keadaan terbius, semua sampel MEP diperfusi secara intrakardial dengan menggunakan larutan para-formaldehid 0,2% dalam PBS pada suhu

37^o C. Setelah proses perfusi selesai, hipofisa dan adrenal diambil dan difiksasi dengan larutan normal buffer formalin 10% dan selanjutnya dimasukkan ke dalam larutan alkohol 70%. Selanjutnya, hipofisa dan kelenjar adrenal diproses parafinisasi dan pembuatan blok parafin dengan prosedur standar (Humason, 1967).

Blok hipofisa disayat dengan ketebalan 10 µm secara serial dan diletakkan di atas kaca objek yang telah dilapisi dengan 2% silan (3-aminopropyltriethoxysilane/APES) dalam aseton sebagai bahan perekat. Setiap potongan hipofisa kemudian dikelompokkan menjadi tiga bagian berdasarkan penelitian pada babi (Sasaki *et al.*, 1992) (Gambar 1). Pewarnaan Hematoksin-Eosin (H&E) (Humason, 1967) dilakukan pada kelenjar adrenal dan hipofisa, sedangkan pewarnaan imunohistokimia dengan metode Avidin-Biotin Complex (ABC) hanya untuk hipofisa.



Gambar 1. Pembagian daerah pemotongan hipofisa pada babi. Potongan a, b dan c adalah daerah medial, paramedial dan lateral. (Sasaki *et al.*, 1992)

Untuk pewarnaan imunohistokimia dilakukan pretreatment dengan 3% H₂O₂ dalam aquades dan 10% normal goat serum, masing-masing selama 15 menit dan 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya, preparat diinkubasi dengan anti human ACTH rabbit serum (1:750) (Sumbangan

NIDDK, USA) selama 24 jam pada suhu 4^o C, 0,02% anti rabbit IgG goat serum (Vector Laboratories, Inc) selama 30 menit pada suhu 37^o C dan kompleks Avidin-Biotin (Vector Laboratories, Inc) selama 30 menit dalam suhu kamar. Visualisasi hasil pewarnaan imunohistokimia dengan menggunakan larutan 0,03% 3,3-diaminobenzidine (DAB), sedangkan sebagai pewarna latar belakang digunakan hematoksin. Akhirnya dilakukan proses dehidrasi dan clearing jaringan, lalu ditutup dengan kaca penutup dengan bahan perekat entelan. Preparat yang telah diwarnai diamati di bawah mikroskop dan dilakukan pemotretan secara digital. Data yang diperoleh selanjutnya diolah secara deskriptif.

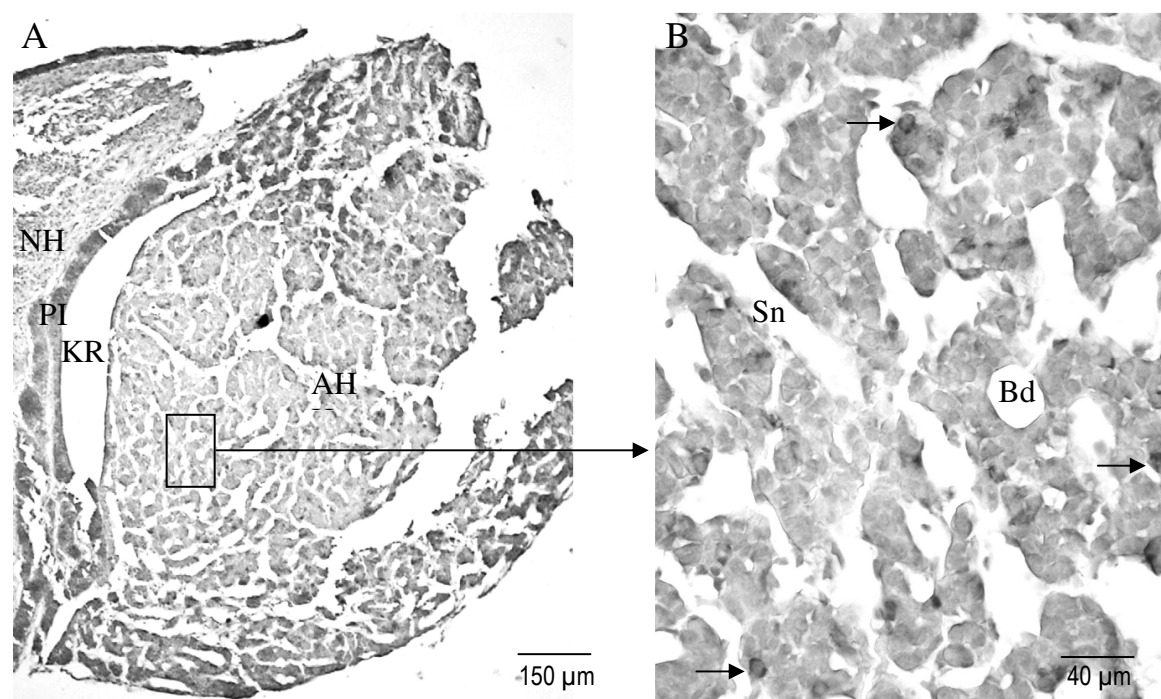
HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkembangan sel-sel ir-ACTH dan buluh darah pada adenohipofisa terjadi lebih awal dibandingkan dengan perkembangan korteks adrenal pada fetus MEP. Sel-sel ir-ACTH adenohipofisa MEP pada F-70 dan F-85 belum mengalami perubahan pola distribusinya dan masih mengalami proliferasi dan diferensiasi. Pada periode ini, sel-sel ACTH berada pada taraf awal proses sintesis ACTH sehingga deposit ACTH di dalam sitoplasma dapat terwarnai secara imunohistokimia. Di antara hormon-hormon adenohipofisa, ACTH adalah hormon yang paling awal disintesis oleh adenohipofisa. Pada fetus manusia sintesis terjadi pada umur 35 hari (Baker dan Jaffe, 1975) fetus tikus pada umur 13-14 hari (Nemeskéri *et al.*, 1988) fetus babi pada umur 40 hari (Sasaki *et al.*, 1992), dan fetus anjing Beagle pada umur 30 hari (Sasaki dan Nishioka, 1998). Hal ini diduga karena ACTH lebih diperlukan

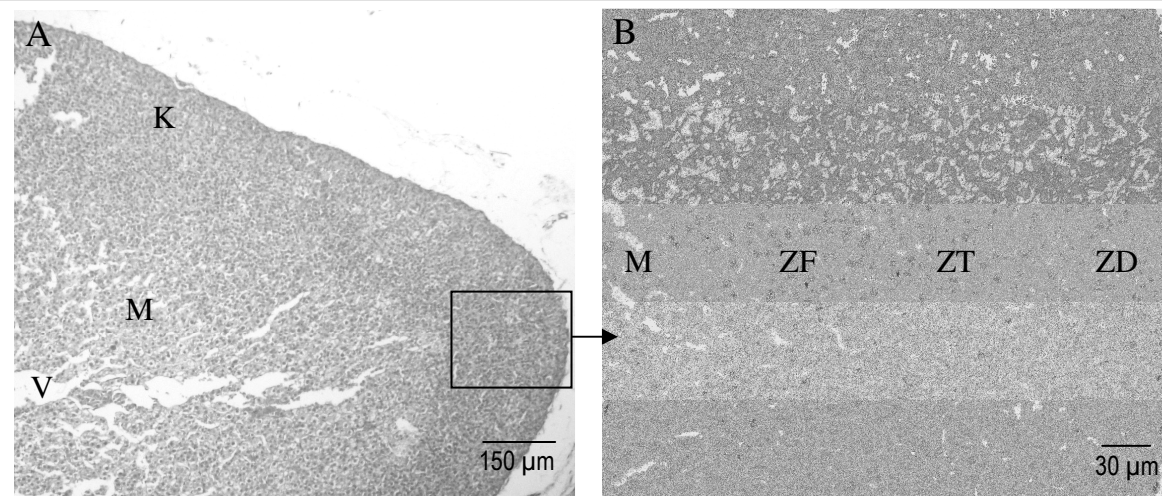
untuk perkembangan dan pematangan organ-organ tubuh fetus lainnya dibandingkan dengan hormon-hormon adenohipofisa lainnya (Mesiano dan Jaffe, 1997; Sasaki dan Nishioka, 1998 dan Liu *et al.*, 2003). Tetapi pada periode ini, ACTH yang telah disintesis belum dapat disekresikan dan berfungsi secara optimal, karena sistem vaskularisasi di adenohipofisa pada umur tersebut belum berkembang. Di sisi lain, pada F-70 dan F-85, korteks adrenal masih terdiri dari zona definitif yang berada pada tahap awal perkembangannya dan zona fetus yang telah berkembang dengan baik, karena pertumbuhan dan perkembangan zona fetus dipengaruhi oleh keberadaan ACTH (Mesiano dan Jaffe, 1997).

Pada adenohipofisa, pola distribusi sel-sel ir-ACTH mulai mengalami perubahan pada F-100 dengan densitas sel-sel ir-ACTH tetap dominan pada potongan lateral, dan ditemukan merata pada potongan paramedial. Pada potongan

medial, sel-sel ir-ACTH mulai dapat diamati dengan densitas sedang. Distribusi sel-sel ir-ACTH pada F-120 (Gambar 2) telah mengalami perubahan yang nyata dibandingkan pada umur sebelumnya, sel-sel ir-ACTH ditemukan tersebar lebih merata, baik pada potongan lateral, paramedial maupun medial. Perkembangan sel-sel ACTH dan buluh darah pada adenohipofisa relatif berjalan bersamaan. Selain itu, pada F-120 buluh darah juga telah berkembang lebih baik dibandingkan pada F-100 dan menyebar di sebagian besar adenohipofisa. Pada umur ini ditemukan buluh darah dan buluh kapiler yang disuplai dari vena porta hipofisa (Gambar 2). Perkembangan buluh darah ini memberikan dampak pada perkembangan korteks adrenal, dengan tersedianya suplai ACTH yang semakin optimal di peredaran darah untuk mempengaruhi perkembangan korteks adrenal fetus MEP. Korteks adrenal fetus mengalami proliferasi dan diferensiasi



Gambar 2. Distribusi sel-sel ir-ACTH adenohipofisa fetus monyet ekor panjang umur 120 hari pada potongan medial (A), dan tanda panah menunjukkan sel-sel ir-ACTH (B); Bd: buluh darah, Sn: sinusoid, AH: adenohipofisa, KR: kantong Rathke, NHL: neurohipofisa, PI: pars intermedia



Gambar 3. Gambaran mikroskopis kelenjar adrenal (A) dan korteks adrenal (B) fetus monyet ekor panjang umur 150 hari; K: korteks adrenal, M: medulla adrenal, V: vena sentralis, ZD: zona definitif, ZF: zona fetus, ZT: zona transisi

pada sel-sel zona definitif sehingga terbentuk zona transisi serta berkembangnya vena sentralis. Pada fetus manusia, pertumbuhan dan perkembangan sel-sel korteks adrenal dan buluh-buluh darahnya dipengaruhi oleh ACTH (Shifren *et al.*, 1998).

Pola distribusi sel-sel ir-ACTH dan buluh darah pada F-120 adenohipofisa (Gambar 2) juga ditemukan pada F-150 dan pola distribusi ini tetap stabil dan mirip dengan yang ditemukan pada umur yang lebih tua. Sebagai akibatnya, pada F-120 zona definitif dan zona transisi dari korteks adrenal juga mengalami proliferasi dan diferensiasi yang lebih progresif. Sel-sel kedua zona tersebut masing-masing menyerupai sel-sel pada zona glomerulosa dan fasikulata pada korteks adrenal hewan dewasa. Pada korteks adrenal F-150 (Gambar 3), buluh-buluh darah dan zonasi juga telah berkembang dengan sempurna sehingga zona fetus mengalami perubahan dan diduga menjadi zona retikularis setelah kelahiran (Ratcliffe *et al.*, 2003), meskipun ACTH tetap disekresi oleh adenohipofisa. Sel-sel zona transisi merupakan cikal bakal zona fasikulata yang akan mensekresikan kortisol secara optimal setelah densitas sel-

selnya semakin bertambah pada F-150. Adapun sel-sel pada zona definitif merupakan cikal bakal zona glomerulosa dewasa yang akan mensekresikan aldosteron pada masa akhir kebuntingan pada fetus primata (Mesiano dan Jaffe, 1997) dan fetus manusia (Ratcliffe *et al.*, 2003; Sirianni *et al.*, 2005). Setelah lahir maka korteks adrenal tersusun oleh zona glomerulosa, zona fasikulata dan zona retikularis.

KESIMPULAN

Perkembangan aksis sel-sel ACTH - kelenjar adrenal selama periode pre dan postnatal pada MEP memiliki korelasi yang positif. Berdasarkan hasil penelitian ini, tampak jelas bahwa perkembangan sel-sel ACTH dan buluh darah adenohipofisa berkembang lebih awal untuk mensintesis dan mensekresikan ACTH yang diperlukan dalam perkembangan korteks adrenal.

DAFTAR PUSTAKA

- Baker, B.L. and R.B. Jaffe. 1975. The Genesis of cells types in the

- adenohypophysis of the human fetus as observed with immunocytochemistry. **Am. J. Anat.** 143:132-162.
- Finding, J.W., D.C. Aron, and J.B. Tyrrell. 1997. Glucocorticoid and Adrenal Androgens: In **Basic and Clinical Endocrinology**. Eds: Greenspan FS and Strewler GJ. Appleton & Lange, Connecticut.
- Hadley, M.E. 1992. **Endocrinology**. Prentice-Hall International, New Jersey.
- Humason, G.L. 1967. **Animal Tissue Technique**. 2nd Ed. San Francisco: WH Freeman.
- Liu Ning-Ai, H. Huang, Z. Yang, W. Herzog, M. Hammerschmidt, S. Lin, and S. Melmed. 2003. Pituitary corticotroph ontogeny and regulation in transgenic zebrafish. **Mol. Endocrinol.** 17(5):959-966.
- Mesiano, S. and R.B. Jaffe. 1997. Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex. **Endoc. Rev.** 18(3):378-403.
- Nemeskéri, Á., G. Sétáló, and B. Halász. 1988. Ontogenesis of three parts of the fetal rat adenohypophysis: A detailed immunohistochemical analysis. **Neuroendocrinology**. 48:1161-1172.
- Ratcliffe, J., M. Nakanishi, and R.B. Jaffe. 2003. Identification of definitive and fetal zone markers in the human fetal adrenal gland reveals putative developmental genes. **J. Clin. Endocrinol. Met.** 88(7):3272-3277.
- Sasaki, F., Y. Ichikawa, and S. Yamauchi. 1992. Immunohistological analysis in the distribution of cells in the fetal porcine adenohypophysis. **Anat. Rec.** 233:135-141.
- Sasaki, F. and S. Nishioka. 1998. Fetal development of the pituitary gland in the beagle. **Anat. Rec.** 251:143-151.
- Shifren, J.L, S. Mesiano, R. Taylor, N. Ferrara, and R.B. Jaffe. 1998., Corticotropin regulates vascular endothelial growth factor expression in human fetal adrenal cortical cells. **J. Clin. Endocrinol. Met.** 83(4):1342-1347.
- Sirianni, R., K.S. Rehman, B.R. Carr, C.R. Parker, and W.F. Rainey. 2005. Corticotropin-releasing hormone directly stimulates cortisol and the cortisol biosynthetic pathway in human fetal adrenal cells. **J. Clin. Endocrinol. Met.** 90(1):279-285.
- Wennhold, A.R. and D.H. Nelson. 1979. Pituitary Adrenocorticotrophin. In: **Endocrinology**. Edited by De Groot L.J. Vol. 1. Grune & Stratton, New York.