



SIMPATEKTOMI JANTUNG PADA HEWAN COBA YANG DIINDUKSI 6-HIDROKSIDOPAMIN

Dian Rahadianti

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam AlAzhar Mataram, Jl. Unizar No.20, Turida, Kec. Sandubaya, Kota Mataram, Nusa Tenggara Barat. 83232, Indonesia

**dr.dianrahadianti@gmail.com*

ABSTRAK

Kelainan saraf otonom merupakan gambaran patofisiologi dari beberapa penyakit kardiovaskular. Pentingnya pemahaman terhadap patofisiologi dan pengembangan terapi baru pada penyakit kardiovaskular mendorong perkembangan strategi dalam membuat model hewan coba dengan kondisi yang melibatkan saraf otonom (simpatektomi). Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh simpatektomi jantung pada hewan coba yang diinduksi 6-hidroksidopamin. Metode: Penelitian ini bersifat literature review dengan menggunakan artikel yang menggunakan metode simpatektomi kimiawi 6-hidroksidopamin (6-OHDA). Peranan pada kerja selektif 6-OHDA dalam menimbulkan kerusakan postganglion simpatik dalam menginduksi neurodegenerasi simpatik jantung dapat disarankan dengan mempertimbangkan pemilihan metode/rute administrasi, dosis dan jenis/strain hewan coba yang digunakan. Kesimpulan: Penggunaan 6-OHDA dalam membuat model hewan coba dengan denervasi simpatik dapat disarankan dalam mengevaluasi strategi pemodifikasian penyakit yang bertujuan untuk pengembangan terapi.

Kata kunci: hewan model; penyakit kardiovaskular; simpatektomi; 6-OHDA

COMPARISON OF ONLINE SKILL LAB LEARNING PROCESS WITH REPEAT OFFLINE SKILL LAB LEARNING AT PTMT

ABSTRACT

Autonomic nervous disorders are pathophysiological features of several cardiovascular diseases. An important understanding of the pathophysiology and development of new therapies in cardiovascular disease has prompted the development of strategies for modeling animal models of conditions involving the autonomic nervous system (sympathectomy). This study aimed to examine the effect of cardiac sympathectomy in experimental animals induced by 6-hydroxydopamine. Methods: This study is a literature review using articles that use the 6-hydroxydopamine (6-OHDA) chemical sympathectomy method. The role of selective action of 6-OHDA in causing sympathetic postganglionic damage in inducing cardiac sympathetic neurodegeneration can be suggested by considering the choice of method/administration, dose and type/strain of animals used. Conclusion: The use of 6-OHDA in making animal models with sympathetic denervation can be suggested in the development of disease-modifying strategies aimed at the development of therapy.

Keywords: animal model; cardiovascular; disease sympathectomy; 6-OHDA

PENDAHULUAN

Tahap awal penyakit kardiovaskular seperti hipertensi esensial, infark miokard dan gagal jantung kronis ditunjukkan oleh gambaran patofisiologi yang berperan yaitu adanya kelainan atau gangguan pada sistem saraf otonom (Eshler et al, 2010; Kishi 2012). Pengaturan fungsi kardiovaskular diperankan oleh sistem saraf simpatis melalui regulasi perangsangan simpatis yang berbeda terhadap berbagai organ. Perbedaan ini disebabkan oleh organisasi topografi dari sistem saraf pusat dan sejumlah besar *input* aferen menghasilkan respon yang disesuaikan dengan stimulus. Pengaturan jangka panjang dari aktivitas saraf simpatik adalah area yang

cukup menarik dan melibatkan berbagai mediator yang bekerja dengan cara yang sangat berbeda meliputi barorefleksi arteri, angiotensin II, volume darah dan osmolaritas, dan sejumlah faktor humoral. Peningkatan aktivitas saraf simpatik merupakan gambaran utama dari banyak penyakit kardiovaskular (Malpas 2010).

Pengembangan model dan teknologi hewan coba yang lebih baik yang mencerminkan perkembangan penyakit seperti yang terlihat pada manusia merupakan kebutuhan bagi komunitas riset yang difokuskan secara khusus pada model peningkatan aktivitas saraf simpatik kronis. Model hewan coba dengan kondisi yang melibatkan saraf otonom yang sesuai seperti pada beberapa penyakit jantung bernilai penting dalam memahami patofisiologi dan pengembangan terapi baru. Pemahaman dalam regulasi system saraf simpatik spesifik-organ cenderung memberi target baru pada terapi obat. Prioritas yang tinggi dalam pengembangan hewan coba ini dikaitkan dengan penurunan kualitas hidup, prognosis yang jelek, dan peningkatan mortalitas yang diakibatkan peningkatan aktivitas simpatis dan gangguan pernapasan pada gagal jantung kronis (Triposkiadis et al, 2009; Malpas, 2010). Perkembangan model hewan coba ini merupakan suatu tantangan.

Model hewan coba yang ideal harus menyerupai penyakit pada manusia dan dapat dilakukan ulang oleh peneliti lain. Sejauh ini beberapa hewan seperti tikus, mencit, monyet dan anjing telah digunakan dalam mempelajari atau mengembangkan hewan model untuk penyakit kardiovaskular khususnya pengaruh pada sistem saraf simpatis pada jantung. Masing-masing model ini memiliki kelebihan yang dapat dieksplor dan perlunya dikembangkan suatu model yang tidak memerlukan biaya yang besar, mudah dilakukan, noninvasif dan menyerupai patogenesis suatu penyakit tertentu.

Perubahan, atau degenerasi jalur saraf simpatik telah menjelaskan gambaran peran sistem saraf simpatik dalam kesehatan dan penyakit terutama penyakit kardiovaskular. Sistem saraf simpatis menunjukkan gambaran anatomi dan fisiologi yang memudahkan dalam membuat suatu metode selektif penurunan dan destruksi sistem saraf simpatis. Kerusakan pada neuron simpatis postganglion disebut juga dengan istilah simpatektomi. Terdapat beberapa metode untuk menginduksi lesi perifer seperti melalui operasi pengangkatan simpatis, deplesi NGF, destruksi autoimun dan kimiawi hingga pendekatan menggunakan hewan coba imunotoksin dan transgenic (Picklo 1996). Salah satu metode yang memberikan mekanisme selektif bekerja pada sistem saraf simpatis jantung yaitu simpatektomi dengan 6-hidroksidopamin (6-OHDA), suatu metode klasik yang juga digunakan sebagai model penyakit Parkinson melalui efek kerusakan masif neuron dopaminergik nigrostriatal (Simola et al, 2007). Pada pemberian sistemik ternyata 6-OHDA juga menyebabkan kerusakan selektif neuron postganglionik jantung. Banyaknya metode yang bisa digunakan dalam melihat peranan sistem saraf simpatis pada perkembangan suatu penyakit maupun terapi atau pengelolaan penyakit, maka pada tulisan ini dilakukan suatu gambaran singkat pada beberapa metode dengan lebih menekankan pada metode simpatektomi secara kimiawi yaitu 6-OHDA.

METODE

Penelitian ini menggunakan literature review. Artikel yang digunakan berada pada rentang tahun 1972 hingga tahun 2015 pencarian artikel dilakukan pada database NCBI Dengan menggunakan keyword 6-OHDA dan 'cardiac denervation'. Variabel independent pada penelitian ini yaitu induksi 6-Hidroksidopamin dan variable dependen yaitu simpatektomi jantung.

HASIL

Sistem saraf Autonom

Sistem saraf autonom tersusun dari dua rangkaian neuron yang menghubungkan sistem saraf pusat (SSP) dan sel efektor. Badan sel neuron orde I terdapat dalam SSP. Antara kedua neuron terdapat sinaps yang berada di luar SSP dalam bentuk kluster sel yang disebut ganglion autonom. Neuron yang berjalan dari SSP dan ganglia disebut neuron preganglion sedangkan yang berjalan antar ganglia dan sel efektor merupakan neuron postganglion. Pembagian atau subdivisi sistem saraf autonom didasarkan pada perbedaan anatomik dan fungsional yang membaginya menjadi simpatis dan parasimpatis. Neuron simpatis dan parasimpatis meninggalkan SSP pada level yang berbeda. Serat simpatis dari regio torakal dan lumbal dari medula spinalis (divisi torakolumbar) dan saraf parasimpatis dari batang otak dan regio sakral medula spinalis (kraniosakral) (Tortora, G.J., and Derrickson, B., 2014). Lokasi ganglia dari kedua divisi ini juga berbeda, ganglia simpatis terletak dekat pada medula spinalis dan membentuk 2 rantai ganglia pada kedua sisi medula spinalis yang disebut trunkus simpatis. Ganglia kolateral merupakan ganglia simpatis lainnya yang terdiri dari ganglia seliakus, mesenterikus superior dan mesenterikus inferior pada kavitas abdominal, mendekati organ yang diinervasi. Sebaliknya ganglia parasimpatis terletak di dalam atau sangat dekat dengan organ yang diinervasi (Barrett et al, 2014).

Pola aktivasi sistem simpatis dan parasimpatis cenderung berbeda sebagiannya oleh karena perbedaan anatomi. Asetilkolin merupakan neurotransmitter dari kedua divisi simpatis dan parasimpatis yang dilepaskan antara neuron pre dan postganglion dalam ganglia autonom dan sel postganglion memiliki banyak reseptor nikotinik asetilkolin. Antara neuron postganglion dan sel efektor, asetilkolin juga merupakan neurotransmitter pada divisi parasimpatis. Sebaliknya norepinefrin umumnya merupakan neurotransmitter antara neuron postganglion dan sel efektor. Terdapat satu atau lebih neurotransmitter pada banyak sinaps autonom yang disimpan dan dilepaskan sebagai neurotransmitter utama seperti ATP, dopamin, dan beberapa neuropeptida, yang kesemuanya ini hanya memainkan peranan yang kecil. Selain neurotransmitter autonom klasik tadi, terdapat suatu jaringan yang luas dari neuron postganglionik yang dikenal sebagai nonadrenergik dan nonkolinergik yang menggunakan nitrik oksida dan neurotransmitter lainnya untuk memediasi beberapa bentuk dilatasi pembuluh darah dan mengatur fungsi GI, respirasi, urinari dan reproduksi (Widmaier et al, 2013).

Salah satu set neuron postganglionik pada divisi simpatis tanpa perkembangan akson, namun membentuk suatu kelenjar endokrin, yaitu medula adrenal. Sel medula adrenal melepaskan neurotransmitter di bawah aktivasi akson simpatis preganglion. Neurotransmitter ini terdiri dari campuran 80% epinefrin dan 20% norepinefrin ke dalam darah (ditambah sejumlah kecil substansi seperti dopamin, ATP dan neuropeptida) menuju sel efektor yang memiliki reseptor yang sensitif sama seperti reseptor adrenergik yang terletak dekat pada tempat pelepasan neuron simpatis postganglion. Pada kasus lain, reseptor terletak pada tempat yang jauh dari neuron dan aktivasi hanya melalui epinefrin dan norepinefrin yang bersirkulasi. Efek neurotransmitter ini sedikit berbeda oleh karena beberapa sub tipe reseptor adrenergik memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap epinefrin, sedangkan yang lain memiliki afinitas tinggi terhadap norepinefrin (Guyton and Hall, 2012; Widmaier et al, 2013).

Denervasi Simpatis/Simpatektomi

Simpatektomi atau denervasi simpatis merupakan istilah yang mengacu pada hilangnya persarafan neuron eferen yang memproduksi noradrenalin atau neuron simpatis postganglion. Metode simpatektomi terdiri dari metode operasi, simpatotoksin seperti imunotoksin, kimiawi, autoimun dan modifikasi genetik. Setiap metode memiliki kekurangan dan kelebihan masing-

masing. Metode simpatektomi melalui operasi membutuhkan waktu yang lama untuk kembali pulih setelah 6 bulan. Metode ini dilakukan dengan merusak serat atau ganglion yang menginervasi organ atau jaringan tertentu secara selektif. Selain itu, pada hewan coba yang lebih kecil seperti mencit atau tikus, ganglia yang lebih kecil tidak tercakupi dan serat sensorik atau serat parasimpatis dapat mengalami kerusakan. Pembedahan itu sendiri membutuhkan waktu yang lama dan efek kembali pulih juga cukup lama sehingga reinervasi dapat terjadi dari serat yang tidak rusak. Meskipun demikian metode pembedahan ini memiliki kelebihan karena sifat selektif terhadap organ target dan tidak melibatkan simpatektomi sistemik (Picklo, 1997).

Metode simpatektomi lainnya yaitu metode kimiawi memberikan pilihan yang lebih mudah dalam metode pemberiannya yang dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal ataupun langsung ke intraserebral. Metode ini kurang invasif dibandingkan metode operasi. Guanethidin merupakan salah satu jenis metode ini, namun neurotoksika ini membutuhkan waktu yang cukup lama memberikan efek denervasi simpatis permanen yang diinginkan dan rentang spesies dan waktu yang dibutuhkan juga terbatas (Demas and Bartness, 2001). Penghancuran SNS akibat guanethidine dibutuhkan waktu pemberian injeksi yang cukup lama hingga 3 bulan pada tikus dewasa untuk menghasilkan lesi yang lengkap (Nielson, 1977). Metode kimiawi lainnya yaitu neurotoksika 6-OHDA yang dapat memberikan efek relatif selektif pada inervasi jantung dengan pemberian sistemik tanpa mempengaruhi saraf simpatis pusat karena tidak mampu melewati sawar darah otak (Jiang et al 2015; Ghorayeb et al 2005).

Metode simpatektomi imun dan autoimun merupakan metode simpatotoksin lainnya yang bekerja secara umum. Metode simpatektomi ini tidak secara komplit menyebabkan kerusakan saraf karena adanya resistensi beberapa saraf, namun pemberiannya cukup sekali secara subkutan. Metode terbaru yaitu metodologi hewan transgenik telah menghasilkan banyak informasi perkembangan dan fungsional dari hewan coba yang memiliki kekurangan atau ekspresi berlebihan dari protein atau neurotransmitter tertentu. Penghapusan atau 'knock-out' faktor neurotropika, reseptornya, atau enzim yang berkaitan dengan produksi neurotransmitter sangat membantu dalam mengklarifikasi peran protein pada perkembangan sistem saraf. Namun demikian penggunaan metode hewan transgenik membutuhkan biaya yang cukup besar dan kompleks (Picklo, 1997).

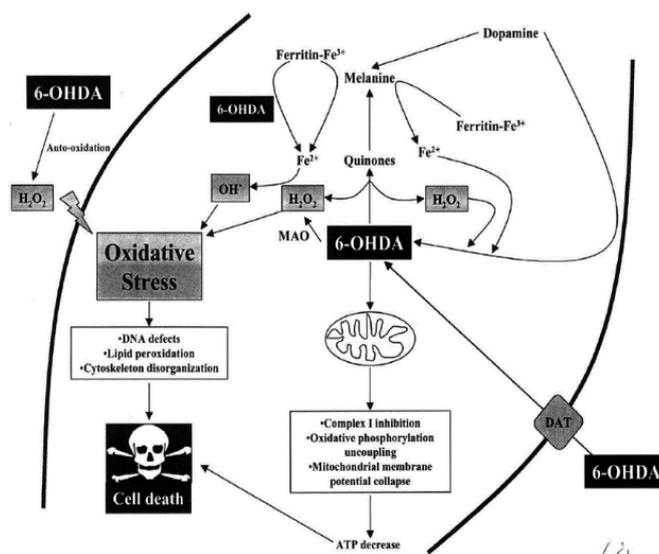
Denervasi Simpatis Kimiawi dengan 6-OHDA

Karakteristik 6-OHDA

Salah satu analog struktural dopamin yang sangat elektroaktif dan teroksidasi adalah senyawa 6-OHDA. Senyawa ini dapat membentuk berbagai senyawa sitotoksik, termasuk kuinon 6-OHDA dan hidrogen peroksida melalui proses oksidasi (Leak 2008). Senyawa OHDA bersifat selektif pada ujung saraf simpatis. Selektifitas 6-OHDA dengan efek yang relatif selektif pada ujung saraf simpatis dihubungkan dengan akumulasi 6-OHDA di dalam neuron noradrenergik melalui mekanisme uptake-1 transport. Bekerja sebagai false neurotransmitter, 6-OHDA terikat pada kumpulan vesikel granul dan akan dilepaskan jika ada stimulasi saraf. Senyawa toksik produk oksidasi senyawa ini bereaksi secara nonspesifik dengan struktur neuron dan akhirnya menghancurkan neuron. Akson terminal lebih sensitif dibandingkan badan sel dari aktivitas toksik 6-OHDA (Nillson, 2010). Metabolisme 6-OHDA oleh monoamine oxidase (MAO) melalui proses deaminasi menghasilkan produk reaktif ini atau ROS. Enzim monoamine oksidase ini juga memberikan efek protektif. Pembentukan produk reaktif ini juga bisa terjadi melalui mekanisme autooksidasi yang kiranya diinisiasi dan / atau diamplifikasi oleh Fe melalui reaksi Fenton. Masih belum diketahui komponen subseluler yang paling dipengaruhi dan yang terlibat pada pemeliharaan fungsi neuron oleh 6-OHDA, tetapi retikulum endoplasmik, nukleus, mitokondria dan struktur lainnya telah diduga merupakan tempat terjadinya lesi primer.

Fosforilasi oksidatif mengalami *uncoupling*, melalui penghambatan aktivitas kompleks I mitokondria, yang tidak hanya menyebabkan perubahan pada potensial membran tetapi juga defek pada vesikulasi dopamin yang meningkatkan kadar dopamin sitoplasmik, melalui keduanya sel akan mengalami kematian. Produksi ROS dan stress oksidatif mempengaruhi cepatnya proses neurodegeneratif ini terjadi (Nillson 2010, Blum 2001).

Kehilangan kemampuan untuk menjalankan potensial aksi selama degenerasi saraf, berkurangnya simpanan norepinefrin, reaksi neuroglia yang intens seperti mekanisme uptake yang mengalami inkapasitasi, fagositosis membran saraf tampak pada pemberian 6-OHDA. Terjadi perkembangan supersensitivitas presinaptik akibat hilangnya mekanisme aktif uptake amin pada saraf adrenergik. Ujung terminal sistem saraf perifer mengalami regenerasi dengan gambaran aktivitas fungsional kembali normal pada fase awal ketika kadar amin masih rendah dan saat ujung terminal belum regenerasi sempurna (Kortzewa et al 1974).



Gambar 1. Mekanisme toksisitas 6-OHDA (Blum 2001)

Lesi neuronal sentral spesifik dari 6-OHDA hanya didapatkan dengan pemberian intraserebral langsung. Hal ini disebabkan karena 6-OHDA tidak dapat melewati sawar darah otak. Kadar norepinefrin otak dapat sangat berkurang tanpa terjadi kerusakan ultrastruktural pada 6-OHDA dalam dosis sedang. Pada awalnya kadar simpanan dopamin juga meningkat dan habis hanya sebagai konsekuensi kerusakan neuron dopaminergik. Terdapat dua fase berbeda terjadinya degenerasi neuron noradrenergik sentral, yaitu degenerasi primer dan sekunder. Fase primer terjadi pada sekitar 48 jam pertama setelah perlakuan dan terkait dengan aktivitas destruktif langsung 6-OHDA pada neuron. Fase sekunder tampaknya merupakan hasil dari kejadian degeneratif retrograde setelah kerusakan terminal atau aksonal dan terjadi selama periode beberapa minggu. Efek yang kurang spesifik dapat terjadi dengan dosis yang lebih tinggi dengan kerusakan meluas ke neuron yang mengandung non-katekolamin, dan bahkan bisa termasuk sel non-neuronal. Namun, dalam jumlah yang wajar, 6-OHDA akan menghancurkan neuron katekolaminergik dengan tingkat selektivitas yang tinggi. (Leak et al, 2008, Kortzewa et al, 1974)

Pada sistem saraf perifer, terminal noradrenergik ke berbagai tingkat di organ akhir mengalami perubahan yang berbeda setelah pemberian 6-OHDA. Berbagai rute administrasi 6-OHDA, telah menentukan ambang batas untuk destruksi terminal di berbagai organ beberapa spesies. Urutan peningkatan ambang tindakan destruktif 6-OHDA di berbagai organ akhir secara umum

adalah ventrikel jantung> kelenjar ludah> seluruh jantung> iris> nictitating membran> limpa> atrium> pembuluh darah> vas deferens> ganglia simpatik> kelenjar adrenal. Regenerasi terminal di semua organ berlangsung pada tingkat yang stabil (Kortzewa 1974)

Destruktif selektif terminal saraf adrenergik pada hewan coba dewasa dan destruksi seluruh neuron pada hewan coba baru lahir (*newborn*) oleh 6-OHDA telah ditunjukkan oleh beberapa penelitian morfologi, biokimia dan fungsional (Finch et al, 1973). Senyawa 6-OHDA menyebabkan kerusakan saraf neuron simpatik postganglionik yang luas, dan lesi destruktif mencakup keseluruhan neuron pada mencit dan tikus yang baru lahir. Banyak organ akhir yang biasanya diinervasi oleh serat simpatik, menunjukkan pengurangan kandungan norepinefrin karena hilangnya jaringan saraf karena ganglia di regio prevertebral dan paravertebral hancur dan perkembangan selanjutnya terganggu hingga masa dewasa. Oleh karena sawar darah-otak neonatus yang belum berkembang sempurna 6-OHDA memiliki kapasitas melewati BBB menyebabkan neuron noradrenergik sentral rusak, pola lesi kimia ini berbeda dengan yang diamati pada hewan dewasa (Kortzewa et al, 1974).

Neurotoksika 6-OHDA memberikan efek perubahan perilaku kemungkinan akibat pelepasan norepinefrin atau dopamin dari neuron sentral yang mengandung katekolamin. Kerusakan neuron sentral memberikan gambaran yang permanen. Penurunan konsumsi makanan dan air, suhu tubuh, dan dan penggerak tampak segera setelah injeksi 6-OHDA. Pola tidur yang berubah, peningkatan iritabilitas dan agresi, dan aktivitas operant yang berubah merupakan manifestasi permanen. Sejumlah penelitian telah dilakukan untuk menandai perubahan yang diamati pada daerah tertentu di otak dan juga neurohumor spesifik yang terlibat ((Kortzewa et al, 1974; Joers et al, 2012).

Denervasi Simpatis Kardiak dengan 6-OHDA

Kegunaan senyawa 6-OHDA dalam menyelidiki fungsi neuron noradrenergik dan dopaminergik telah banyak membantu dalam mempelajari tentang proses fungsional dasar, seperti mekanisme pengambilan dan penyimpanan, transportasi axoplasmic, dan pengaruh peraturan pusat tentang perkembangan dan fungsi saraf noradrenergik yang sedang berlangsung. Modulator yang mengatur fungsi jantung adalah aktivitas regulator simpatik ke jantung dan pada awal perkembangan telah terbentuk interaksi antara jaringan jantung dan serat simpatik yang menginervasinya. Penggunaan 6-OHDA memberikan gambaran informasi penting dari peranan saraf simpatis terhadap pengaturan perkembangan kardiomyosit. Sejalan dengan temuan Kreipke dan Birren (2015) bahwa selama perkembangan jantung postnatal tikus terjadi inervasi yang signifikan, yaitu suatu periode ketika kardiomyosit mengalami transisi yang cepat dari pertumbuhan proliferasif ke hipertrofi dan induksi 6-OHDA untuk menghilangkan inervasi simpatik jantung di awal perkembangan mengganggu transisi ini.

Selama periode postnatal simpatektomi kimiawi dengan induksi 6-OHDA juga membantu menggambarkan peranan saraf simpatis terhadap ukuran jantung yang lebih kecil pada tikus. Perubahan ukuran jantung pada hewan coba model simpatektomi diduga didasari melalui perubahan pada waktu terjadinya transisi pertumbuhan hiperplastik ke pertumbuhan hipertropik dari kardiomyosit. Dugaan ini didasarkan pada eksperimen *in vitro* yang menunjukkan interaksi simpatis yang menyebabkan penundaan pada marker maturasi kardiomyosit. Penghantaran sinyal simpatis diduga menekan siklus sel yang dikaitkan dengan penarikan siklus sel kardiomyosit dengan ditandai peningkatan ekspresi Meis1. Penghantaran sinyal untuk pengaturan simpatis pada proliferasi kardiomyosit dan hipertrofi melibatkan aktivasi β -adrenergik. Efek sinyal β -adrenergik pada hipertrofi kardiomyosit akan mengalami transisi perkembangan (Kreipke dan Birren 2015).

Zaglia et al (2013) juga menggunakan denervasi simpatis secara kimiawi dengan 6-OHDA dengan dosis 100 mg/kgBB secara intraperitoneal untuk mengetahui efek 6-OHDA pada invasi jantung terhadap regulasi ukuran kardiomyosit pada mencit. Struktur, fungsi dan penghantaran sinyal jantung tanpa ada stimulus patologis lainnya dimonitor selama 24 jam hingga 30 hari setelah denervasi simpatis dengan 6-OHDA. Terjadi reduksi segera pada ukuran kardiomyosit setelah pemberian 6-OHDA dengan konsekuensi minimal pada fungsi kontraktile jantung saat istirahat. Penurunan ukuran kardiomyosit ini diduga melalui mekanisme 6-OHDA dalam mempengaruhi sistem ubiquitin–proteasome melalui induksi enzim spesifik otot, E3 ubiquitin ligases Atrogin-1/ MAFbx dan MuRF1 yang bergantung FOXO yang diikuti oleh aktivasi sistem lisosom autofagi.

Joers et al (2014) memperoleh efek intoksikasi 6-OHDA pada serat simpatis miokard yang tampaknya lebih besar daripada di bundel saraf. Ganglia kardiak akan menjulurkan akson simpatis dan mengikuti arteri utama mengelilingi ventrikel kiri dan terkumpul dalam epikardial besar atau bundel subepikardial sebelum masuk ke miokardium sebagai serat tunggal yang akhirnya berakhir pada kardiomyosit. Neurotoksika 6-OHDA sebagian besar diambil di terminal serabut saraf dan karena bundel saraf di dalam atau dekat epikardium mengandung akson lebih dekat ke ganglia simpatis daripada serat miokard yang merupakan akson distal dan lebih dekat ke terminal membuat mereka lebih rentan terhadap degenerasi 6-OHDA. Perbedaan yang didapatkan ini mungkin terjadi akibat metode kuantifikasi digunakan untuk serat dibandingkan dengan bundel memiliki kepekaan yang lebih besar untuk mendeteksi perubahan invasi simpatis.

Penggunaan 6-OHDA memberikan suatu cara yang khusus dalam pengembangan model hewan coba dengan kondisi simpatektomi reversibel pada tikus dewasa dan simpatektomi permanen pada tikus ‘newborn’. Setelah pengobatan tikus dewasa dengan 6-OHDA, regenerasi terminal saraf adrenergik di pembuluh darah jauh lebih cepat daripada di organ lain dengan invasi adrenergik dan pemulihan fungsional yang hampir lengkap terjadi dalam beberapa hari setelah suntikan 6-OHDA (Finch 1973). Pada pencitraan dengan *positron emission topography* (PET) pada monyet rhesus menunjukkan beberapa restorasi invasi simpatis dengan pengukuran pemulihan aksonal setelah 3 bulan. Regenerasi akson juga bisa menyebabkan hiperinvasi miokardium, yang telah dikaitkan dengan aritmia ventrikel pada penerima transplantasi jantung, namun tidak ditemukan pada studi oleh Joers (2014). Regenerasi cepat ini menyebabkan metode ini tidak sesuai untuk mempelajari efek kronis simpatektomi misalnya studi tentang peran sistem saraf simpatis dalam pengembangan atau pemeliharaan hipertensi (Finch 1973, Joers et al, 2014).

Disregulasi sistem saraf autonom jantung dan lesi miokardial akibat simpatektomi kimiawi dengan pemberian 6-OHDA ditunjukkan dengan penurunan variabilitas denyut jantung dan hasil abnormal pada EKG dan ekokardiografi serta pemeriksaan histopatologik menunjukkan adanya lesi miokardial dan peningkatan deposisi kolagen disertai infiltrasi sel inflamasi pada jaringan jantung pada tikus (Jiang et al, 2015). Hasil ini berbeda dengan temuan oleh Zaglia (2013) yang menginduksi degenerasi neuron otonom perifer dengan 6-OHDA secara intraperitoneal tanpa mempengaruhi neuron adrenergik pusat, dengan hanya sedikit konsekuensi atau pengaruh pada tekanan darah istirahat dan hemodinamik jantung. Setelah injeksi 6-OHDA 24 jam pertama terminal saraf simpatis jantung 90% mengalami kerusakan dan setelah 8 dan 30 hari menyebabkan denervasi lengkap dan persisten. Remodeling atrofik pada denervasi jantung tidak bergantung pada penurunan tekanan hemodinamik, bahkan bila tingkat remodeling atrofik maksimal dalam model ini (misalnya 30 hari) dari hasil penilaian fungsi jantung dengan ekokardiografi. Hasil ini diperoleh karena jantung tikus yang diberi

perlakuan 6-OH-DOPA memiliki kontraktilitas yang tidak berubah. Strain sirkumferensial dan radial juga tidak berubah dari hasil pencitraan pelacak speckle (*speckle tracking imaging*). Hal ini diperkuat oleh gambaran histopatologi bahwa terjadi penurunan yang signifikan dalam irisan melintang area kardiomyosit ventrikel, yang sudah terbukti 8 hari saat denervasi dan maksimal pada hari ke 30. Denervasi miokard juga menunjukkan gambaran histologi normal, tanpa tanda infiltrasi, nekrosis kardiomyosit, atau fibrosis interstisial (deposisi kolagen), yang mempertahankan sarkoma normal (Zaglia 2013).

Setelah simpatektomi yang diinduksi 6-OHDA, Jiang et al (2015) menemukan terjadi peningkatan pada waktu pengisian jantung oleh karena penurunan denyut jantung akibat peningkatan volume akhir diastolik (EDV) dan volume sekuncup (SV). Peningkatan SV ini diduga akibat penurunan afterload akibat penurunan resistensi pembuluh darah perifer. Adanya disfungsi kontraktilitas miokard setelah pemberian 6-OHDA intraperitoneal ditemukan oleh Jiang et al (2015) dilihat dari peningkatan volume akhir sistolik (ESV) dan berkurangnya nilai fraksi ejeksi (EF). Perbedaan gambaran fungsi jantung pada pemeriksaan ekokardiografi yang didapatkan Jiang dan Zaglia kemungkinan disebabkan oleh adanya perbedaan dalam metode pemberian 6-OHDA dan jenis/spesies hewan coba yang digunakan. Zaglia melakukan induksi 6-OHDA pada hari ke-0, 2 dan hari ke-7 dan 3 hari berturut turut pada penelitian oleh Jiang. Telah dijelaskan sebelumnya bahwa pada studi *time-course*, berbagai rute administrasi 6-OHDA, telah menentukan ambang batas untuk destruksi terminal di berbagai organ beberapa spesies (Kortzewa 1974). Meskipun keduanya menggunakan rute yang sama yaitu sistemik melalui intraperitoneal.

Penurunan ambilan jantung dari radioligand simpatis dan katekolamin yang bersirkulasi didapatkan dari temuan *in vivo* pada lima monyet rhesus dewasa setelah menerima 6-OHDA secara intravena dengan dosis 50 mg/kg (Joers, 2014). Analisis dari kuantifikasi pewarnaan imunoreaktivitas didapatkan bundel saraf jantung simpatis dan kepadatan area serat menunjukkan penurunan yang signifikan pada tyrosine hydroxylase-ir (TH; suatu marker katekolaminergik) global pada hewan 6-OHDA. Hasil ini memiliki korelasi dengan kuantifikasi protein gene protein 9,5 (PGP9.5, penanda pan-neuronal) serat jantung positif menunjukkan defisit yang signifikan pada monyet 6-OHDA (Joers et al, 2014).

Sejalan dengan hasil yang ditemukan Zaglia, tidak ditemukan perubahan signifikan 3 bulan setelah pemberian neurotoksin pada evaluasi semi kuantitatif antigen leukosit manusia (marker inflamasi) dan nitrotyrosin-ir (penanda stres oksidatif). Peningkatan marker inflamasi pada jantung setelah pemberian 6-OHDA belum pernah dilaporkan sebelumnya. Hasil yang berlawanan ditemukan pada penelitian oleh Jiang (2015) yang mengamati adanya infiltrasi sel inflamasi ke dalam jaringan jantung tikus setelah pemberian 6-OHDA pada hari ke-10. Peningkatan kadar sitokin pro-inflamasi (IL-1 β , IL-6, dan TNF- α) pada jaringan miokard tikus yang telah mengalami simpatektomi mungkin menjadi salah satu mekanisme potensial yang menjelaskan cedera miokard setelah simpatektomi kimia yang diinduksi oleh 6-OHDA pada studi ini. Perubahan minimal pada ekspresi nitrotyrosin dan HLA-DR setelah pemberian 6-OHDA sistemik oleh Joers yang berlawanan dengan peningkatan kadar sitokin inflamasi ini kemungkinan disebabkan oleh saat dilakukannya evaluasi postmortem yang berbeda dan pada spesies yang berbeda pula.

Simpatektomi yang mengenai seluruh tubuh melalui injeksi 6-OHDA intraperitoneal, akan merusak semua saraf simpatis yang meliputi saraf simpatis renalis (Jiang et al, 2015). Perubahan hemodinamik pada penelitiannya menurut Jiang et al tidaklah disebabkan oleh denervasi saraf simpatis berdasarkan dari penelitian yang dilakukan DiBona dan Sawin (2004)

bahwa pengaruh denervasi renal tidak signifikan mengubah atau mengurangi sedikitpun tekanan arteri dan hemodinamik renal pada tikus normal. Akan tetapi efek kardiovaskular akut dari suntikan berulang 6-OHDA dipelajari pada anjing yang tidak dianestesi terdiri dari efek simpatomimetik yang intens ditandai dengan peningkatan tekanan darah dan refleks bradikardia yang berbalik terjadi penurunan detak jantung, tekanan darah dan resistensi perifer total yang signifikan, namun curah jantung tetap tidak berubah setelah 3 hari pemberian dosis total 50 mg/kg 6-OHDA (Gauthier 1972).

Neurotoksin 6-OHDA mempengaruhi sumber katekolaminergik perifer yaitu seperti medulla adrenal, yang memfasilitasi onset disautonomik kardiak. Hal ini diindikasikan berdasarkan temuan kadar serum epinefrin, norepinefrin, dan DOPAC (metabolit dihydroxyphenylacetic acid) yang menurun signifikan. Efek toksik yang mirip seperti penurunan pada *uptake/ambilan* MHED, suatu agen pencitraan dengan PET dan kadar katekolamin jantung diduga memiliki korelasi positif dengan efek toksik pada sel katekolaminergik perifer. Penurunan kadar katekolamin pada monyet rhesus sejalan dengan penurunan ekspresi marker katekolaminergik TH-ir dan AADC-ir) sel kromafin medula (Joers, et al, 2012). Hasil yang serupa dari PGP9.5 (enzim saraf yang terlibat dalam memproses protein ubiquitin) di medula adrenal pada monyet rhesus 6-OHDA menunjukkan bahwa sel kromafin mengalami gangguan fungsi tetapi intak. (Joers et al, 2014). Neurotoksik 6-OHDA dapat dikonfirmasi bahwa pada primata non-manusia menginduksi neurodegenerasi simpatik jantung dan hilangnya enzim katekolaminergik di medula adrenal (Joers et al, 2012).

SIMPULAN

Penggunaan 6-OHDA dalam membuat model hewan coba dengan denervasi simpatik dapat disarankan dalam mengevaluasi strategi pemodifikasian penyakit yang bertujuan untuk pengembangan terapi. Peranan pada kerja selektif 6-OHDA dalam menimbulkan kerusakan postganglion simpatik dalam menginduksi neurodegenerasi simpatik jantung masih terdapat temuan-temuan yang berbeda. Kompleksnya berbagai faktor patologis yang berkontribusi pada kelainan jantung pada manusia menjadikannya tidak cukup sebagai model hewan coba melalui simpatektomi kardiak yang diinduksi 6-OHDA.

Metodologi penelitian yang berbeda dari beberapa studi, seperti jumlah dan waktu pemberian dosis yang digunakan, waktu evaluasi serta penggunaan evaluasi parameter kemungkinan mempengaruhi hasil dari investigasi. Meskipun demikian efek neurotoksika 6-OHDA yang selektif dan mempengaruhi saraf simpatis perifer yaitu simpatis kardiak tanpa mempengaruhi saraf simpatis sentral serta berperan penting dalam merusakkan ujung terminal saraf, berbeda dengan simpatektomi metode operasi sehingga menghasilkan kerusakan yang mirip dengan kerusakan simpatis yang disebabkan oleh degradasi struktur sinaptik pada manusia. Dengan demikian, penggunaan neurotoksika 6-OHDA dapat dipertimbangkan sebagai alat simpatektomi jantung untuk penelitian dalam mempelajari dan mengembangkan peranan saraf simpatis pada jantung. Masih adanya perbedaan dalam pengaruh 6-OHDA pada pembuluh darah perifer dan pengaruhnya pada hemodinamik maka diperlukan studi lanjutan untuk mendapatkan metode yang lebih baik untuk denervasi simpatis jantung langsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Barrett, K.E., Barman, S.M., Boitano, S., Brooks, H., 2012. Ganong's Review of Medical Physiology. 24th Ed. McGraw-Hill Medical, New York
- Blum, D., Torch, S., Lambeng, N., Nissou, M- F., Benabid, A- L., Sadoul, R., Verna, J- M., 2001. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and

- MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 65: 135–172.
- Demas G.E., Bartness, T.J., 2001. Novel method for localized, functional sympathetic nervous system denervation of peripheral tissue using guanethidine. *J Neurosc Methods* 112: 21–28
- DiBona, G.F., Sawin, L.L., 2004. Effect of renal denervation on dynamic autoregulation of renal blood flow. *Am J Physiol Renal Physiol* 286(6): F1209–18.
- Esler M, Lambert E, Schlaich M, 2016. Point: chronic activation of the sympathetic nervous system is the dominant contributor to systemic hypertension. *J Appl Physiol* 109:1996–1998.
- Finch, L., Haeusler, G., Thoenen, H., 1973. A comparison of the effects of chemical sympathectomy by 6-hydroxydopamine in newborn and adult rats. *Br J Pharmac* 47: 249–260.
- Gauthier, P., Nadeau, R., De Champlain, J., 1972. Acute and chronic cardiovascular effects of 6-hydroxydopamine in dogs. *Circ Res* 31: 207–217.
- Ghorayeb, I., Stefanova, N., Fernagut, P-O., Wenning, G. K., Francoistison, 2005. Double-Lesion Animal Models of Multiple System Atrophy in Animal Models of Movement Disorders. Academic Press: Elsevier.
- Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 12th ed. Saunders, Philadelphia
- Jiang, Y.-H., Jiang, P., Yang, J.-L., Ma, D.-F., Lin, H.-Q., Su, W., et al, 2015. Cardiac Dysregulation and Myocardial Injury in a 6-Hydroxydopamine-Induced Rat Model of Sympathetic Denervation. *PLoS ONE* 10(7): e0133971.
- Joers, V., Dilley, K., Rahman, S., Jones, C., Shultz1, J., Simmons, H., Emborg, M.E., 2014. Cardiac Sympathetic Denervation in 6-OHDA-Treated Nonhuman Primates. *PLoS One* 9(8): e104850.
- Joers, V., Seneczko, K., Goecks., N.C., Kamp, T.J., Hacker, T.A., et al, 2012. Nonuniform cardiac denervation observed by ¹¹C-meta-hydroxyephedrine PET in 6-OHDA-treated monkeys. *PLoS One* 7: e35371.
- Kishi T. Heart failure as an autonomic nervous system dysfunction. *J Cardiol* 2012; 59:117–22.
- Kostrzewa, R.M., Jacobowitz, D.M., 1974. Pharmacological actions of 6-hydroxydopamine. *Pharmacol Rev* 26: 199–288.
- Kreipke, R.E dan S. J. Birren, 2015. The Journal of Physiology Innervating sympathetic neurons regulate heart size and the timing of cardiomyocyte cell cycle withdrawal. *J Physiol* 593 (23): 5057–5073
- Leak, R.H, Zigmond, M.J., 2008. Endogenous Defenses that Protect Dopamine Neurons: Studies with 6-ohda Models of Parkinson's Disease. In: Parkinson's disease: molecular and therapeutic insights from model systems. Boston: Elsevier/Academic Press.

- Malpas, S.C., 2010. Sympathetic Nervous System Overactivity and Its Role in the Development of Cardiovascular Disease. *Physiol Rev* 90: 513–557
- Nielsen G.D., 1977. Guanethidine induced sympathectomy in the adult rat. II. Functional effects following chronic administration. *Acta Pharmacol Toxicol*: 41(3):209-217.
- Nilsson, A.C., 2010. 6-OH Dopamine Rat Model in Encyclopedia of Movement Disorders. Academic Press, 3-53
- Picklo, M.J., 1997. Methods of sympathetic degeneration and alteration. *J Auton Nerv Syst* 62: 111–125
- Simola, N., Morelli, M., Carta, A.R., 2007. The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Neurotox Res* 11(3-4):151-167.
- Tortora, G.J., and Derrickson, B., 2014. Principles of Anatomy & Physiology. 14th Ed. Wiley, Hooboken.
- Tripodiadis, F., Karayannis, G., Giamouzis, G., Skoularigis, J, Louridas, J., Butler, J., 2009. The Sympathetic Nervous System in Heart Failure Physiology, Pathophysiology, and Clinical Implications. *J Am Coll Cardiol* 54 (19): 1747-1762.
- Widmaier, E., Raff, H., Strang, K., 2013. Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function. McGraw-Hill, Boston.
- Zaglia, T., Milan, G., Franzoso, M., Bertaglia, E., Pianca, N., Piasentini, E., et al, 2013. Cardiac sympathetic neurons provide trophic signal to the heart via b2-adrenoceptor-dependent regulation of proteolysis. *Cardiovasc Res* 97: 240–250.

