

## DAFTAR ISI

Penelitian	Judul dan Sinopsis	Halaman
Endang Sawitri	<p><b>Judul:</b> Pola Histopatologik dan Sebaran Umur Kanker Serviks di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD A. W. Syahrane Samarinda</p> <p><b>Sinopsis:</b> Kanker serviks yang terbanyak adalah jenis karsinoma sel squamous dengan tipe paling sering merupakan tipe karsinoma tanpa keratinisasi. Ini berarti prognosis penderita kanker serviks di daerah Kalimantan Timur pada umumnya dan Samarinda pada khususnya bisa dikategorikan buruk karena sebagian besar kasus yang ada merupakan karsinoma invasif. Insidens kanker serviks ini banyak terjadi pada kelompok umur produktif dengan puncaknya paling sering pada kelompok umur 31-45 tahun.</p>	1-7
Maria Nindatu, dkk	<p><b>Judul:</b> Efek Biolarvasida Ekstrak Etanol Biji Hutun Terhadap Mortalitas Larva <i>Anopheles maculatus</i> (Diptera: Anophelidae) In Vitro</p> <p><b>Sinopsis:</b> Ekstrak etanol biji hutun (<i>B. Asiatica</i>) memiliki aktivitas larvasidal terhadap larva nyamuk <i>Anopheles maculatus</i> dengan nilai <math>LC_{50}</math> sebesar 0,061% dan semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji hutun maka semakin tinggi pula mortalitas nyamuk <i>anopheles maculatus</i> stadium larva.</p>	8-15
Rosaniya E. Rehiara	<p><b>Judul:</b> Pengaruh Fotoperiode Pralahir dan Pascalahir Terhadap Jumlah Lapisan Sel Spermatogenik Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.)</p> <p><b>Sinopsis:</b> Jumlah lapisan sel-sel spermatogenik <i>Rattus norvegicus</i> L. umur 35 hari semakin rendah sejalan dengan semakin meningkatnya umur kebuntingan induk. Jumlah lapisan sel-sel spermatogenik tertinggi diperoleh setelah perlakuan fotoperiode panjang pralahir dan pascalahir dengan umur kebuntingan induk hari ke 1.</p>	16-22
Pieter Kakisina	<p><b>Judul:</b> Suatu Kajian Mekanisme Maturasi Oosit</p> <p><b>Sinopsis:</b> Maturasi sitoplasma dan inti oosit selama perkembangan pra-ovulasi dapat dipandang sebagai sesuatu yang terpisah. Penentuan aktivitas MPF digunakan sebagai indikator maturasi sitoplasma oosit dan aktivitasnya dipicu oleh penurunan cAMP. Maturasi inti ditandai dengan pecahnya selubung inti atau vesikula germinalis yang dipicu oleh hormon LH. Protein kinase oosit yang spesifik yaitu c-mos, berperan penting dalam meng-upregulasi aktivitas MPF pada berbagai tahap maturasi oosit akhir (kelanjutan maturasi meiosis, penghambatan replikasi DNA antar meiosis I dan II serta pemeliharaan oosit pada perhentian metafase II hingga dibuahi). Protein kinase Rsk juga tampak berperan penting selama siklus sel meiosis karena berperan serta pada entri meiosis I dan dapat mendownregulasi S-phase antara meiosis I dan II. Kelompok kinase lain yang berperan penting dalam mendorong resumsi meiosis adalah mitogen-activated protein kinases (MAPK) yang memfosforilasi protein sitoskeleton dan lamina nukleus dalam pembelahan sel meiosis.</p>	23-38
Ruslin Hadanu	<p><b>Judul:</b> Senyawa Baru Potensial Antimalaria Turunan 5-bromo-1,10-fenantrolin: Sintesis dan Uji Aktivitas</p> <p><b>Sinopsis:</b> Sintesis senyawa turunan 5-bromo-1,10-fenantrolin dari bahan dasar 1,10-fenantrolin monohidrat melalui 2 tahap reaksi yang menghasilkan 5-bromo-1,10-fenantrolin, 6-bromo-(1)-N-metil-1,10-fenantrolinium sulfat, dan 6-bromo-(1)-N-etil-1,10-fenantrolinium sulfat yang mempunyai rendemen berturut-turut sebesar 74,11%, 94,24% dan 86,36% dan senyawa yang mempunyai aktivitas antiplasmodium paling tinggi pada seri senyawa turunan 5-bromo-1,10-fenantrolin adalah 6-bromo-(1)-N-metil-1,10-fenantrolinium sulfat yang mempunyai nilai <math>IC_{50} = 0,06 \pm 0,04</math> <math>\mu</math>M terhadap strain FCR-3 dan mempunyai nilai <math>IC_{50} = 0,03 \pm 0,01</math> <math>\mu</math>M terhadap strain D10 <i>P. falciparum</i> dan hampir setara dengan aktivitas antimalaria klorokuin.</p>	39-46

nama ini bisa sll g. sebagai : Terutama beberapa

Dorta Simamora dan Loeki Enggar Fitri	<p><b>Judul:</b> Antioksidan Pada Infeksi Malaria</p> <p><b>Sinopsis:</b> Penggunaan antioksidan yang tepat pada infeksi malaria menunjukkan percepatan kesembuhan, adanya perbaikan pada eritrosit, penurunan parasitemia, penurunan aktivitas radikal bebas dan peningkatan aktivitas magrofaq dan fungsi fagositosis. Diketahui bahwa antioksidan eksogen seperti vitamin A, vitamin C vitamin E, NAC dan riboflavin dapat digunakan sebagai <i>adjunctive /supporting</i> terapi pada infeksi malaria yang akut maupun yang kronis.</p>	47-56
Martha Kaihena dan Meske Ferdinandus	<p><b>Judul:</b> Kelimpahan Bakteri Pada Daging Ayam Ras Yang Dijual di Pasar Tradisional Mardika Ambon</p> <p><b>Sinopsis:</b> Kelimpahan bakteri pada daging ayam ras yang dijual di pasar tradisional Mardika Ambon telah terkontaminasi dengan nilai total bakteri yakni <math>4,54 \times 10^5</math> CFU (<i>Colony Forming Unit</i>) per gram dan kelimpahan bakteri pada daging ayam ras yang dijual di pasar tradisional Mardika Ambon telah berada di atas ambang batas maksimum cemaran mikroba yang ditetapkan oleh SNI : 01-6366-2000 yaitu sebesar <math>1 \times 10^4</math> CFU (<i>Colony Forming Unit</i>) per gram.</p>	57-63
Theopilus W. Watuguly, dkk	<p><b>Judul:</b> Model Psikobiologis Tumor Secara Umum: Pembahasan Ditinjau dari Aspek Biologis</p> <p><b>Sinopsis:</b> Heterogenitas biologis yang sangat heterogen pada tumor manusia menunjukkan bahwa tidaklah mungkin untuk membuktikan faktor psikologis yang memiliki peran yang independen dalam perkembangan tumor. Namun, pertumbuhan organisme secara keseluruhan dan bagian konstituennya berada dibawah kontrol hormonal. Respon psikologis, terutama tanggapan emosional, menyebabkan perubahan pada banyak jaringan melalui pelepasan hormon stress limbik-hipotalamik-pituitari. Kanker adalah gangguan pertumbuhan sel yang melibatkan ketidakseimbangan di dalam regulasi jaringan normal. Oleh karena itu, cukup beralasan untuk mengungkapkan bahwa mekanisme psikoneuroendokrin memiliki peranan di dalam perkembangan kanker.</p>	64-82
I Nengah Kundera	<p><b>Judul:</b> Crude Extract of Alkaloid Jackfruit Flowers (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk) Expression towards Outer Membrane Protein (OMP) virulence <i>salmonella typhi</i></p> <p><b>Sinopsis:</b> Alkaloid ekstrak bunga <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk., memiliki efikasi antibakteri terhadap <i>Salmonella Typhi</i>. Konsentrasi optimal daya antibakteri alkaloid berdasarkan MIC/MBC pada konsentrasi &lt; 30%, karena pada konsentrasi ini mampu menghambat atau membunuh sel bakteri <i>Salmonella Typhi</i>. Beberapa ekspresi profil protein OMP yang dimiliki <i>Salmonella Typhi</i> yaitu : protein 34,5 kDa, 376,5 kDa, dan 38.5 kDa. Selain itu masih ada beberapa protein yang dikelompokkan protein mayor dengan BM 19 kDa -144 kDa. Belum ditemukan adanya perubahan ekspresi <i>outer membrane protein</i> (OMP) faktor virulensi bakteri <i>Salmonella Typhi</i> yang terpapar alkaloid, karena sesuai target penelitian ini akan diperoleh hasilnya pada riset tahap ke-2.</p>	83-91
Hamdi Mayulu	<p><b>Judul:</b> Tinjauan Perkembangan Kemajuan Bioteknologi Menurut Aspek Etika, Sosial dan Hukum.</p> <p><b>Sinopsis:</b> Melalui dukungan dan kemajuan bioteknologi, pemanfaatan komponen asal binatang, baik berupa jaringan, sel-sel atau organ tertentu untuk ditransplantasikan ke tubuh manusia yang sampai kini masih diupayakan oleh para ilmuwan, telah memberikan secercah harapan dalam mengatasi keterbatasan organ yang dibutuhkan puluhan ribu penderita. Pendapat mengenai teknologi transgenik sampai saat ini masih terpecah dua, yakni pro dan kontra. Transgenik memang menjanjikan sebagai solusi masalah pangan, pengobatan, dan masih banyak hal lain, mengingat efeknya terhadap lingkungan bisa membahayakan maka semestinya dilakukan secara hati-hati. Kepentingan moral dan hukum dalam mengklasifikasikan penemuan baru terhadap kehidupan manusia ataupun yang bukan manusia haruslah berpegang pada standar kehati-hatian yang tinggi. Walaupun secara tegas bukti status etika moral dapat memproteksi tetapi hal ini tidak dapat diukur atau dibuktikan secara nyata dalam semua kasus.</p>	92-99

*Handwritten notes at the bottom of the page, including a signature and some illegible text.*

# SUATU KAJIAN MEKANISME MATURASI OOSIT

Pieter Kakisina

Jurusan Biologi Fakultas MIPA & Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Pattimura

Diterima 08 Agustus 2009/Disetujui 28 September 2009

## Abstract

*The relationship between oocyte and somatic follicular cell is very important in oocyte maturation. The cytoplasmic and the oocyte nucleus in pre-ovulatory development can be viewed as a separate entities. In maturation of cytoplasmic, the acquirement of RNA reserve and the protein was dominant in oocyte developmental between primordial and pre-ovulation, on the other hand, the nucleus maturation was signed by breaking nucleus shroud or vesicular germinal which caused by the luteunizing hormone (LH). The decrease of cAMP concentration intra cell and some stage of meiotic can be conducted by M-phase promoting factor (MPF). Although p34cdc2 kinase and cycling-B are the main factors, we could find them in mitotic splitting cell and in the oocyte that split as meiotic, although the activity of its regulation MPF is different. A specific kinase oocyte is c-mos, the system c-mos-MPF were related with some important stage at the end of oocyte mature like the continuity of meiosis maturation, the resistance of DNA replication between meiosis I and II and the conservancy oocyte stopped until it is fertilized. Kinase protein Rsk was also played important in this meiosis cycle that is on meiosis entry I and it could do down regulation S-phase between meiosis I and II and gave contribution at the stopping of metaphase II.*

**Key words:** oocyte maturation, MPF

## Abstrak

Hubungan seluler antara oosit dan sel folikular somatik penting untuk maturasi oosit. Maturasi sitoplasmik dan inti oosit selama perkembangan pra-ovulasi dapat dipandang sebagai entitas terpisah. Pada maturasi sitoplasma, perolehan cadangan RNA serta protein mendominasi perkembangan oosit antara tahap perkembangan premordial dan pra-ovulasi, sedangkan maturasi inti ditandai dengan pecahnya selubung inti atau vesikula germinalis yang dipicu oleh puncak hormon luteinisasi (LH). Penurunan konsentrasi cAMP intrasel dan beberapa tahap meiosis selanjutnya dikendalikan oleh M-phase promoting factor (MPF). Meskipun merupakan faktor utama, p34cdc2 kinase dan cyclin-B juga ada pada sel yang membelah secara mitosis dan oosit yang membelah secara meiosis, walaupun regulasi aktivitas MPF berbeda. Sebuah protein kinase oosit yang spesifik yaitu c-mos,

sistem c-mos-MPF berhubungan dengan beberapa tahap penting pada akhir maturasi oosit seperti kelanjutan maturasi meiosis, penghambatan replikasi DNA antara meiosis I dan II serta pemeliharaan oosit pada penghentian metafase II hingga dibuahi. Protein kinase Rsk juga tampak berperan penting selama siklus sel meiosis, yaitu pada entri meiosis I dan dapat pula men-downregulasi S-phase antara meiosis I dan II serta berkontribusi pada penghentian metafase II.

**Kata kunci:** maturasi oosit, MPF

## PENDAHULUAN

Proses maturasi oosit meliputi pematangan nukleus dan sitoplasma oosit. Pada saat oosit yang belum matang mengalami maturasi, nukleus oosit yang telah memasuki profase pada pembelahan meiosis akan bersiap-siap untuk memasuki pembelahan reduksi. Nukleoli dan membran inti selanjutnya mengalami metafase I, sampai terbentuk dua sel anak dengan masing-masing memiliki setengah jumlah kromosom induk (haploid). Anak sel pertama yang mengambil hampir semua sitoplasma disebut oosit sekunder dan anak sel lain yang lebih kecil disebut badan kutub (polar bodi). Pada Pembelahan meiosis kedua, oosit sekunder akan membagi diri menjadi ootid (Hyttel, 1986).

Maturasi oosit telah dimulai dengan proses meiosis pada awal kehidupan fetus, tetapi tertahan dan tetap pada tahap diplotonus hingga oosit mengalami degenerasi selama atresia atau melanjutkan meiosis tak lama sebelum ovulasi. Proses meiosis pada saat maturasi oosit melibatkan aktivasi berbagai alur transduksi sinyal untuk mengaktifkan maturasi-promoting factor (MPF). Hal ini merupakan aktivitas penting yang mengkatalisis pemasukan ke dalam fase M-phase of meiosis I dan meiosis II. Meskipun fungsi MPF dalam mendorong maturasi oosit terjadi di manapun, terdapat perbedaan bergantung spesies yang mengarah pada aktivasi MPF.

Tanda maturasi meiosis pada oosit vertebrata adalah (1) kelanjutan meiosis I yang meliputi germinal vesicle breakdown (GVBD), kondensasi kromosom dan pembentukan spindel, (2) transisi antara germinal vesicle breakdown (GVBD), meliputi penghambatan S-phase dan (3) terhentinya metafase II karena aktivitas cytosstatic factor (CSF). Meiosis II selesai setelah fertilisasi oosit (atau sel telur) matur.

Sebaliknya pada invertebrata, maturasi oosit hanya berlangsung sampai metafase meiosis I kemudian dibuahi (Schmitt and Nebreda, 2002).

Maturasi oosit *in vitro* (IVM) dimaksudkan agar oosit primer dapat berkembang menjadi oosit sekunder yang akan melakukan proses pembelahan meiosis dengan normal dan sempurna sehingga dihasilkan sel telur yang siap dibuahi oleh spermatozoa dan akhirnya mampu berkembang menjadi embrio yang berkualitas baik (Shamsudin dkk, 1993). IVM pada umumnya dilakukan dalam medium kultur TCM 199 dengan suplementasi hormon gonadotrophin dan serum dalam inkubator 5% CO<sub>2</sub>, temperatur 39° C dengan kelembaban maksimum dalam drop 50 ul/ yang dilapisi mineral oil (Tanaka, 2001).

Terdapat banyak bukti yang menunjukkan bahwa status folikel berdampak penting terhadap kompetensi oosit *in vitro* dan *in vivo*, hal ini terbukti dari ko-kultur dengan folikel pada tahap maturasi berbeda dengan daya tahan embrio yang lebih tinggi. Saat ini diketahui bahwa manipulasi nutrisi maternal sebelum kawin (mating) dapat meningkatkan kelangsungan hidup embrio *in vivo* dan kompetensi perkembangan oosit *in vitro*, kemungkinan ini dapat terjadi dengan mengubah sekresi folikel dan lingkungan tempat oosit tumbuh (Hunter, 2000).

Kemampuan fertilisasi dan perkembangan oosit setelah masa tumbuh kembang, merupakan suatu proses yang melibatkan sintesis komponen sitoplasma dan penyusunan kembali serta reduksi kromosom. Kedua proses ini saling berhubungan dan penentuan waktu menjadi penting untuk memastikan bahwa oosit mencapai maturasi nukleus dan sitoplasma secara bersamaan karena kegagalan maturasi oosit dapat langsung membahayakan perkembangan embrio.

Makalah ini mengkaji pengetahuan tentang mekanisme maturasi oosit baik secara in-vivo dan in-vitro maupun mekanisme molekulernya serta menjelaskan sinyal somatik yang mempengaruhi kualitas oosit.

**PEMBAHASAN**  
**Maturasi In Vivo**

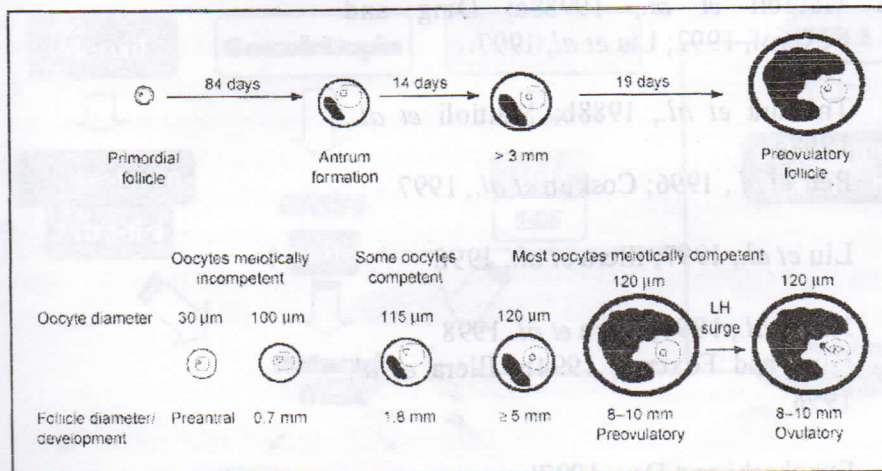
*Tidak benar*

Pertumbuhan oosit pada mamalia terjadi pada dua fase yang berbeda dan khas. Pada fase pertama, pertumbuhan folikel dan oosit bersesuaian dan berkorelasi dalam cara yang positif dan linear. Pada fase kedua, besar oosit tetap konstan meskipun pertumbuhan folikel terus berlanjut (Gambar. 1) dan oosit tidak mencapai kompetensi untuk menyelesaikan pembelahan meiosis pertama hingga hampir mencapai ukuran dewasa maksimum (Moor and Warnes, 1978). Selama fase pertumbuhan, misalnya oosit babi mengalami peningkatan diameter dari sekitar 30–120  $\mu\text{m}$  dan pertumbuhannya hampir lengkap (115  $\mu\text{m}$ ) in 1.8 mm follicles (Motlik and Fulka, 1986). Bukti menunjukkan bahwa interaksi sel somatik - oosit melalui gap junctions penting untuk penyediaan substrat pada metabolisme energi dan juga untuk pertumbuhan oosit.

Selain pemasokan nukleosida, asam amino dan fosfolipida, kompartemen sel somatik juga berfungsi mempertahankan keseimbangan ion dan stabilitas

mRNA pada oosit yang mengalami maturasi. Laju pertumbuhan oosit berkaitan langsung dengan jumlah sel granulosa yang berpasangan (coupled) dengannya (Herlands and Schultz, 1984) karena sel granulosa secara efektif meningkatkan luas permukaan oosit. Rasio luas permukaan terhadap volume oosit meningkat, demikian juga laju masuknya molekul kecil yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan. Di samping, berbagai interaksi yang diperantarai gap junctions ini, perkembangan oosit diregulasi oleh signal parakrin dari sel granulosa meskipun oosit yang denudasi tidak dapat tumbuh, dimungkinkan terjadinya perkembangan bila dilakukan ko-kultur dengan faktor solubel sel granulosa (Cecconi, *et al.*, 1996).

Berbagai faktor eksogen termasuk c-kit, c-kit ligand and stem cell factor dapat meningkatkan pertumbuhan oosit dan ketahanan hidup pada berbagai spesies, (Tanikawa *et al.*, 1998). Selanjutnya, pada mencit (GDF-9) adalah gen yang diekspresikan secara eksklusif dalam oosit dan diperlukan untuk tahap awal folikulogenesis (Dong *et al.*, 1996). Kandidat potensial dalam pertumbuhan folikel dan maturasi oosit adalah berbagai faktor pertumbuhan, termasuk GDF-9 dan anggota famili transforming growth factor b lainnya serta aktivator plasminogen dan anggota famili interleukin.



Gambar 1. Pertumbuhan folikel dan oosit serta kemampuan meiosis. Hari yang disebutkan untuk berbagai tahap perkembangan tersebut, didasarkan pada perkembangan *in vivo* (Morbeck *et al.*, dalam Hunter 2000).

### Maturasi Oosit *In Vitro*

Meskipun oosit yang matur *in vitro* dapat dipenetrasi oleh spermatozoa pada kondisi tepat, laju pembentukan pronukleus lambat dan terjadi insidensi tinggi polispermia. Oleh karena itu, sebagaimana ditentukan kualitas oosit, potensi perkembangan setelah fertilisasi ternyata rendah. Temuan ini menunjukkan bahwa kondisi *in vitro* jauh lebih rendah dibandingkan *in vivo* oleh karena sebab-sebab yang belum sepenuhnya dimengerti. Meskipun arti penting hormon dalam ovarium sudah diketahui, pengaruh folikel terhadap oosit masih belum banyak dipahami. Dalam penelitian awal, oosit matur *in vivo* dalam medium yang hanya berisi albumin serum sapi atau serum, pembentukan pronukleus jantan yang normal tidak terjadi. Pada waktu itu disimpulkan bahwa agar fertilisasi normal dapat terjadi, oosit harus menjalani pecah vesikel germinal *in vivo* (Motlik and Fulka, 1986).

Hubungan seluler antara oosit dan sel folikular somatik penting untuk maturasi oosit (Moor, *et al.*,

1990) dan sel folikel berperan penting dalam regulasi penghentian dan kelanjutan meiosis oosit, disamping juga memberikan nutrien. Penelitian maturasi oosit babi *in vitro* melalui ko-kultur dengan sel maupun cairan folikular (Sirard, *et al.*, 1993) menunjukkan bahwa sel folikular mengeluarkan sejumlah faktor yang berperan penting dalam mendukung maturasi sitoplasma oosit. Meskipun terdapat sel kumulus, penambahan shell folikel pada kultur oosit yang tertutup sel kumulus memberikan kompetensi kondensasi normal (Moor, *et al.*, 1990). Mekanisme pasti bahwa faktor sel folikular dan granulosa mempengaruhi proses maturasi oosit masih harus diteliti lebih lanjut, meskipun hal tersebut kemungkinan berhubungan.

Tabel 1 meringkas berbagai faktor yang diketahui mempengaruhi maturasi nukleus oosit dan/atau sitoplasma *in vitro*. Ringkasan ini didasarkan pada perbaikan yang tampak setelah penambahan berbagai komponen di atas pada sistem IVM. Diperkirakan perbaikan tersebut mencerminkan efek tak

**Tabel 1. Ringkasan berbagai faktor yang diketahui meningkatkan maturasi nukleus atau sitoplasma oosit *in vitro* yang dinilai dengan maturasi ke metafase II, fertilisasi, pembentukan pronukleus jantan, pembelahan atau perkembangan blastosit (Hunter, 2000).**

Faktor	Pustaka
<b>Follicular factor</b>	
Follicular fluid	Niwa 1993; Yoshida <i>et al.</i> , 1992; Funahashi and Day, 1997a.
Follicle shell/granulosa cells	Mattioli <i>et al.</i> , 1998a; Ding and Foxcroft, 1992; Liu <i>et al.</i> , 1997.
<b>Steroid*</b>	
Progesteron, oestradiol	Thibault <i>et al.</i> , 1988b; Mattioli <i>et al.</i> , 1998a
Androgen	Petr <i>et al.</i> , 1996; Coskun <i>et al.</i> , 1997
<b>Gonadotropin</b>	
LH/FSH	Liu <i>et al.</i> , 1997; Illera <i>et al.</i> , 1998
<b>Growth factor</b>	
IGF-1	Xia <i>et al.</i> , 1994; Illera <i>et al.</i> , 1998
EGF	Ding and Foxcroft, 1994b; Illera <i>et al.</i> , 1998
<b>Others</b>	
TIMP-1	Funahashi and Day, 1997b
Glucocorticoid	Yang <i>et al.</i> , 1999
Cysteine/Cyateamine	Yoshida 1993; Grupen <i>et al.</i> , 1995
Hyaluronic acid	Miyoshi <i>et al.</i> , 1999

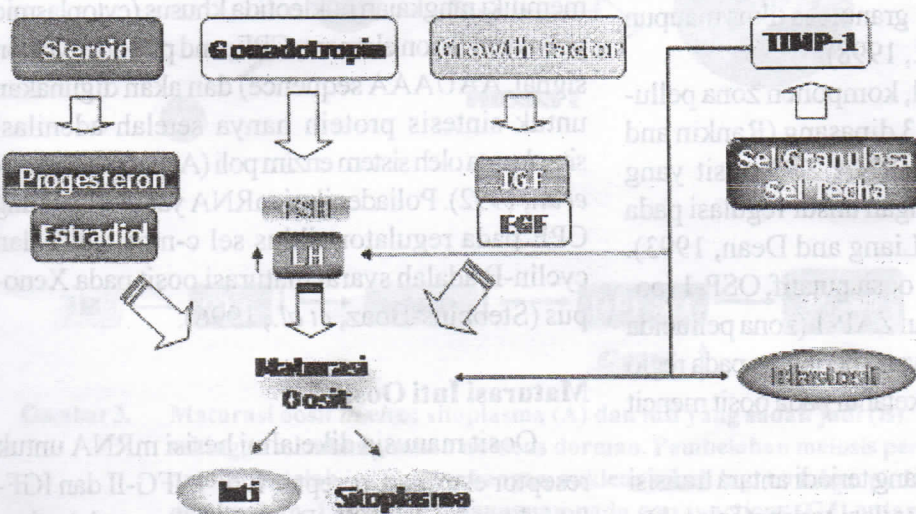
langsung terhadap sel folikel-kumulus, bukan efek langsung terhadap oosit itu sendiri. Meskipun transkrip dan protein dideteksi pada oosit mamalia lainnya untuk reseptor seperti estrogen, aktivin, c-kit dan TNF- $\alpha$ , keberadaannya dalam oosit masih harus dibuktikan. Keberadaan reseptor estrogen menjadi menarik karena estradiol merupakan steroid utama yang dihasilkan oleh folikel pra-ovulasi (Hunter, 2000).

Keberadaan antagonis estrogen murni ICI 162,780 dalam medium maturasi banyak mengurangi jumlah oosit yang mencapai metafase II (Hunter, 2000). Selanjutnya reseptor estrogen merupakan faktor transkripsi beraktifkan ligand karena pada reseptor tersebut terdapat dua bentuk ( $\alpha$  dan  $\beta$ ) yang dapat juga diaktifkan oleh sejumlah faktor non-steroid. Faktor pertumbuhan penting dalam mengendalikan fungsi reseptor estrogen yaitu insulin-like growth factor I (IGF-I) maupun epidermal growth factor (EGF) dapat mengaktifkan fungsi transaktivasi melalui pemrosesan post-translasional reseptor (Ignar-Trowbridge, *et al.*, 1996). Sebagai hasil interaksi antara IGF dan EGF ini, kemungkinan maturasi dan kualitas oosit dipengaruhi oleh faktor pertumbuhan melalui efek terhadap fungsi reseptor estrogen. Gambar 2 memperlihatkan berbagai faktor yang terlibat dalam maturasi oosit baik inti maupun sitoplasma. Kemampuan memanipulasi ketersediaan

*growth factor* dalam cairan folikular *in vivo* melalui nutrisi, memberikan peluang untuk meneliti lebih lanjut peran langsung berbagai *growth factor* terhadap maturasi oosit pada folikel pra-ovulasi.

Di samping steroid dan faktor pertumbuhan, tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) dianggap memberikan kompetensi perkembangan pada oosit babi selama fase maturasi (Funahashi, *et al.*, 1997). TIMP-1 adalah produk sekresi utama sel granulososa dan theca pra-ovulasi babi dan setelah banjir LH pra-ovulasi, terjadi peningkatan TIMP-1 yang mengkode mRNA. Keberadaan TIMP-1 dari kultur IVM oosit babi 20–44 jam meningkatkan kompetensi perkembangan ke tahap blastosit tanpa mempengaruhi berbagai faktor yang berkaitan dengan fertilisasi. Belakangan ini telah diketahui cara TIMP-1 meningkatkan kemampuan oosit babi berkembang ke tahap blastosit dan hal ini jelas memerlukan penelitian lebih lanjut. Temuan ini menegaskan rentang sinyal somatik yang mempengaruhi maturasi oosit dan bahwa aksi yang dikeluarkannya selama maturasi oosit tidak tampak sampai pembentukan blastosit.

Saling mempengaruhi antara sel korona dan oosit primer sangat penting dalam proses maturasi oosit. Kedua jenis sel tersebut saling berhubungan satu sama lain melalui gap junctions yang terdiri atas protein koneksin yang memungkinkan transfer



Gambar 2. Steroid, Growth factor dan TIMP mempengaruhi maturasi oosit (inti maupun sitoplasma) *in vitro*. TIMP yang dihasilkan dari sel granulososa dan theca sel dapat meningkatkan LH, selain itu juga meningkatkan kemampuan oosit untuk berkembang ke tahap blastosit.

metabolit dan substansi regulator di antara keduanya. Pada folikel manusia, hubungan sitoplasma antara oosit dan sel granulosa paling awal akan terlihat setelah folikel masuk fase pertumbuhan dan zona pelusida mulai tampak (Baca and Zamboni, 1967).

Penelitian Eppig, *et al.* (1997) menunjukkan bahwa faktor yang berasal dari oosit mengatur ekspresi reseptor luteinizing hormone (LH) pada sel kumulus mencit. Demikian pula, pelepasan bahan kimia oosit dan sel korona membalik efek inhibitor glukosa serta stimulus maturasi Follicle Stimulating Hormone (FSH) terhadap pertumbuhan oosit pada kompleks kumulus oosit tikus (Downs, 1995). Data ini menunjukkan bahwa oosit juga sebagian mengontrol fungsi sel korona.

### Maturasi Sitoplasma

Gambaran morfologis awal pertumbuhan folikel yaitu transisi sel korona di sekeliling dari berbentuk rata ke bentuk kubus serta peningkatan diameter oosit - menandai mulai periode perkembangan preantral (Erickson, 1986). Kandidat potensial yang kemungkinan berperan dalam memicu berbagai langkah perkembangan awal ini adalah: ekspresi protein retinoblastoma, suatu pengendalian diferensiasi sel awal yang berpuncak pada oosit preantral yang memasuki tahap pertumbuhan (Bukovsky *et al.*, 1995). Sebuah reseptor tirosin kinase (c-kit), diekspresikan dalam oosit dengan ligand-nya serta faktor sel induk dalam sel granulosa tikus maupun manusia (Tanikawa, *et al.*, 1998).

Pada tahap pre-antral, komponen zona pellucida, ZP protein 1, 2 dan 3 dipasang (Rankin and Dean, 1996). Ekspresi mRNA ZP3 oosit yang spesifik dihubungkan dengan unsur regulasi pada regio promoter gen ZP (Liang and Dean, 1993). Faktor transkripsi spesifik oosit putatif, OSP-1 (oocyte-specific protein-1) dan ZAP-1 (zona pellucida gene activating protein-1) yang berikatan pada regio promoter gen ZP3 telah diketahui pada oosit mencit (Millar *et al.*, 1993).

Maturasi sitoplasma yang terjadi antara transisi dari oosit primer ke pra-ovulasi terlihat jelas. Diameter oosit meningkat dari ~15 hingga 100  $\mu\text{m}$ , setara dengan peningkatan volume sebanyak 300

kali (Erickson, 1986). Oosit sangat aktif baik secara transkripsional dan translasional. Oosit mencit dewasa masing-masing berisi DNA ~200- dan 50-60 kali lebih banyak daripada rata-rata sel somatik. Disamping itu, kandungan RNA messenger pada oosit cukup tinggi, yaitu ~15-20%, berbeda dari ~2-3% pada sel somatik. Pada oosit mencit, sangat banyak terdapat beberapa spesies mRNA spesifik mRNA untuk laktat dehidrogenase, c-kit, ZP3 dan c-mos, masing-masing berisi hingga 0.3% dari total pool mRNA. Pada waktu dilanjutkannya meiosis, transkripsi aktif berhenti. Namun, translasi pool mRNA terus berlanjut selama tahap akhir meiosis (Wassarman dalam Heinkins and Gibbons, 1998).

RNA yang ditranskripsikan selama periode maturasi sitoplasma sangatlah stabil, dengan rerata  $t_{1/2}$  selama ~28 hari. Transkrip mRNA dengan residu ekor poli-A (poly-A tail) panjang ~150 A adalah untuk penggunaan langsung, sedangkan mRNA dengan ekor poli-A pendek ~90A, merupakan bentuk RNA cadangan yang hanya digunakan setelah perpanjangan ekor poli-A (Bachvarova, 1992). Pada oosit mencit, contoh dari kelompok pertama adalah mRNA yang mengkode protein aktin dan globin, sedangkan yang kedua adalah tissue plasminogen activator (tPA) dan hypoxanthine phosphoribosyltransferase (Paynton and Bachvarova, 1994). Molekul mRNA yang akan dipoliadenilasi memiliki rangkaian nukleotida khusus (cytoplasmic polyadenylation element, CPE; and polyadenylation signal, AAUAAA sequence) dan akan digunakan untuk sintesis protein hanya setelah adenilasi sitoplasma oleh sistem enzim poli(A) polimerasi (Fox *et al.*, 1992). Poliadenilasi mRNA yang bergantung CPE pada regulator siklus sel c-mos, cdk2 dan cyclin-B adalah syarat maturasi oosit pada *Xenopus* (Stebbins-Boaz, *et al.*, 1996).

### Maturasi Inti Oosit

Oosit manusia diketahui berisi mRNA untuk reseptor estrogen, reseptor IGF-I, IGF-II dan IGF-I (Lighten, *et al.*, 1997). Disamping itu, setelah tahap perkembangan preantral, oosit manusia mengekspresikan epidermal growth factor (EGF) dan

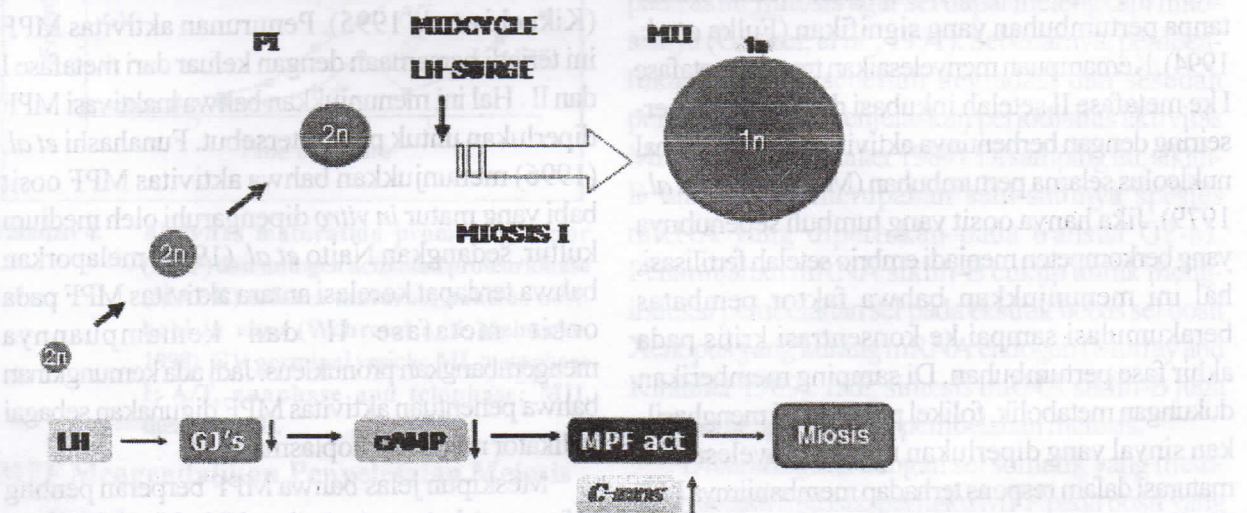


reseptor EGF (Bennett, *et al.*, 1996). Maturasi inti oosit manusia yang imatur mengalami peningkatan bila kompleks oosit-kumulus dikultur beserta EGF atau IFG-I (Go'mez, *et al.*, 1993a). Tidak diketahui apakah berbagai faktor ini meningkatkan maturasi inti melalui efek langsung terhadap oosit atau melalui sel korona yang juga mengekspresikan EGF, reseptor EGF dan reseptor IGF (Maruo, *et al.*, 1993). Namun, kualitas fertilisasi atau embrio yang dihasilkan tidak mengalami peningkatan bila oosit manusia difertilisasi dengan keberadaan EGF (Go'mez, *et al.*, 1993b).

Aktivin dan inhibin yang dihasilkan oleh sel granulosa bekerja pada oosit dan granulosa sebagai faktor pertumbuhan intrafolikular yang penting. Berbagai faktor parakrin ini dapat bekerja terhadap oosit baik secara langsung maupun melalui gap junctions. Transkrip mRNA untuk reseptor aktivin sub tipe I dan II ada dalam oosit manusia (Sidis *et al.*, 1997). Aktivin dan inhibin dapat meningkatkan maturasi dan fertilisasi *in vitro* pada oosit manusia (Alak, *et al.*, 1996). Pada sistem kultur sel granulosa dan oosit menciit imatur, penambahan FSH dan aktivin menginduksi struktur mirip folikel yang

mampu merespons dengan tepat terhadap LH. Disamping itu, kecacauan komunikasi berperantara gap-junction antara oosit dan sel granulosa menghilangkan aktivitas aktivin yang mengorganisir folikel (Li and Mather, 1997).

Sejumlah bukti menunjukkan bahwa cAMP yang dihasilkan oleh sel granulosa dan dipindahkan melalui gap junctions ke dalam oosit untuk mempertahankan meiotic arrest oosit, meskipun maturasi sitoplasma lebih cepat terjadi sebelum ovulasi. Pada *in vitro*, pembelahan meiosis berlanjut bila kadar intrasel cAMP turun. Hal ini merupakan efek yang diperantarai melalui sel korona di sekeliling (Downs, 1995). Selanjutnya Edward, 1965 menyatakan bahwa apabila dilepaskan terlalu dini (prematur) dari lingkungan folikelnya, oosit manusia dengan cepat memulai kembali pembelahan meiosis. Mempertahankan peningkatan kadar cAMP dalam oosit baik melalui penghambatan fosfodiesterase maupun penyatuan siklus nekdeutida ke dalam media kultur dapat menghambat kelanjutan meiosis (To'mell and Hillensjo", 1993). Oleh sebab itu ada pendapat bahwa gangguan komunikasi berperantara gap-junction pada aliran gonadotropin pertengahan siklus



Gambar 3. Maturasi oosit *in vivo*: sitoplasma (A) dan inti yang sudah jadi (B). LH memicu maturasi nukleus, sehingga membangunkan nukleus dorman. Pembelahan meiosis pertama diselesaikan pada waktu ovulasi, setelah itu perkembangan nukleus sekali lagi tertahan pada metafase kedua (MII) hingga pembuahan. LH memicu gangguan pada gap junctions (GJ) antara oosit dan sel korona. Hal ini menyebabkan penurunan kadar intra-oosit cAMP sehingga memicu kelanjutan meiosis melalui aktivasi maturation promoting factor (MPF). Disamping itu, protein kinase c-mos kemungkinan berperan pada aktivasi MPF.

(*mid-cycle gonadotrophin surge*) mengakibatkan keberlanjutan pembelahan meiosis. Hal ini sangat mungkin diperantarai melalui penurunan kadar cAMP intrasel (Racowsky *et al.*, 1989). Gambar 3 menunjukkan maturasi sitosol dan inti dalam hubungan dengan aliran (*surge*) LH pada siklus tengah (*mid-cycle*) dan kemungkinan mekanisme molekuler yang memicu berlanjutnya meiosis.

Dapat dispekulasikan bahwa kinase cAMP-dependen mempertahankan nuclear prophase I arrest melalui fosforilasi protein regulator yang bertanggung jawab atas dimulainya maturasi inti. Pada oosit *Xenopus* kadar tinggi protein kinase A yang cAMP-dependen diketahui menyebabkan fosforilasi subunit p34cdc2 MPF, sehingga menghambat aktivasi MPF (Rime *et al.*, 1992).

### Maturasi Meiosis

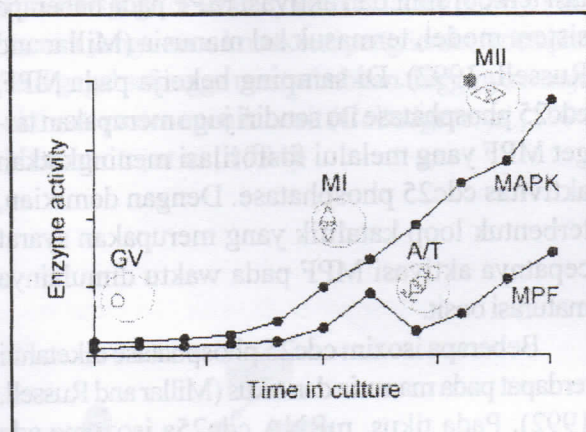
Oosit imatur dapat menjadi sel telur yang dapat dibuahi melalui proses yang disebut maturasi meiosis. Oosit yang memiliki kompetensi meiosis menjadi tertahan pada fase pertumbuhan 2 (G2), padahal kompetensi meiosis didefinisikan sebagai kemampuan melangkahi checkpoint G2 dan meiosis lengkap. Oosit inkompeten yang denudasi dapat memiliki nukleus yang kompeten sebagian selama kultur tanpa pertumbuhan yang signifikan (Fulka *et al.*, 1994). Kemampuan menyelesaikan transisi metafase I ke metafase II setelah inkubasi dalam kultur berseiring dengan berhentinya aktivitas transkripsional nukleolus selama pertumbuhan (McGaughey, *et al.*, 1979). Jika hanya oosit yang tumbuh sepenuhnya yang berkompeten menjadi embrio setelah fertilisasi, hal ini menunjukkan bahwa faktor pembatas berakumulasi sampai ke konsentrasi kritis pada akhir fase pertumbuhan. Di samping memberikan dukungan metabolik, folikel pra-ovulasi menghasilkan sinyal yang diperlukan untuk menyelesaikan maturasi dalam respons terhadap membanjirnya LH. Banjir (*surge*) LH menyebabkan eliminasi satu atau lebih substansi inhibitor, misalnya oocyte maturation inhibitor (OMI) dan eliminasi berbagai substansi inhibitor ini menyebabkan aktivasi siklin, fosfatase dan kinase yang diperlukan untuk pencapaian maturasi nukleus.

Berbeda dari oosit menciit, pada oosit babi diperlukan transkripsi dan translasi aktif untuk kondensasi kromatin dan terurainya vesikel germinal. Ketika meiosis berlanjut kembali disertai dengan diregulasi oleh peningkatan substansial aktivitas kinase sitosol oosit. Komponen penting pada aktivitas ini adalah cyclin B-p34cdc2 yang disebut juga maturation promoting factor (MPF). MPF adalah protein kinase serin-treonin yang terlibat dalam regulasi siklus sel. Aktivasi MPF ini memicu serangkaian reaksi yang pada akhirnya menyebabkan pecahnya membran nukleus, kondensasi kromosom dan pembentukan spindle. Berbagai peristiwa ini penting untuk mendukung keberhasilan fertilisasi dan perkembangan embrio dini. Christmann *et al.* (1994) menunjukkan bahwa kekurangan pada molekul siklus sel ini membatasi kompetensi meiosis dan secara khusus kadar p34cdc2 tersebut bersifat membatasi pada oosit kecil dan folikel prantral. Kekurangan molekul pada oosit yang sedang tumbuh terletak pada aktivasi MPF kinase, bukan pada kadar absolut p34cdc2 (Hirao *et al.*, 1995).

Pada regulasi siklus sel, aktifitas MPF tetap tinggi pada tahap metafase II saat meiosis II berhenti. Setelah fertilisasi atau aktivitas partenogenetik, aktivitas tersebut menurun dan meiosis II selesai (Kikuchi *et al.*, 1995). Penurunan aktivitas MPF ini terjadi bersamaan dengan keluar dari metafase I dan II. Hal ini menunjukkan bahwa inaktivasi MPF diperlukan untuk proses tersebut. Funahashi *et al.* (1996) menunjukkan bahwa aktivitas MPF oosit babi yang matur *in vitro* dipengaruhi oleh medium kultur, sedangkan Naito *et al.* (1992) melaporkan bahwa terdapat korelasi antara aktivitas MPF pada oosit metafase II dan kemampuannya mengembangkan pronukleus. Jadi ada kemungkinan bahwa penentuan aktivitas MPF digunakan sebagai indikator maturasi sitoplasma oosit.

Meskipun jelas bahwa MPF berperan penting dalam mendorong resumsi meiosis, kinase lain juga diaktifkan sebelum atau bersamaan dengan MPF selama reinisiasi meiosis. Salah satu kelompok kinase ini adalah mitogen-activated protein kinases (MAPK) yang memfosforilasi protein sitoskeleton dan lamina nukleus. Keduanya berperan penting

dalam pembelahan sel meiosis (Wehrend and Meinecke, 1998). Aktivasi dua isoform MAPK (ERK1 dan ERK2) dengan berat molekul berbeda dijumpai selama maturasi oosit babi (Inoue *et al.*, 1995) dan aktivasi ini memerlukan sintesis protein aktif (Meinecke, *et al.*, 1997). Disamping itu, anggota keluarga MAPK diketahui diaktifkan sebelum atau bersamaan dengan MPF pada oosit babi (Naito and Toyoda, 1991). Nilai MAPK lambat laun naik ke tahap metafase II dan aktivitas MAPK tetap tinggi bahkan ketika aktivitas MPF menunjukkan penurunan sepintas selama anafase dan telofase. Berbeda dari aktivitas MPF, aktivitas MAPK tetap tinggi pada ekstrusi polar body. Gambar 4 menunjukkan aktivitas MPF dan MAPK dalam hubungan dengan maturasi oosit nukleus. Walaupun saat ini diketahui bahwa MAPK dan MPF terlibat dalam regulasi proses maturasi, relevansi fisiologisnya secara pasti pada maturasi oosit masih belum jelas.



**Gambar 4.** Aktivitas maturation promoting factor (MPF) dan mitogen activated protein kinase (MAPK) selama maturasi nukleus oosit babi *in vitro* (Wehrend and Meinecke, 1998). GV, germinal vesicle; MI, metaphase I; A/T, anaphase and telophase; MII, metaphase II.

### MPF Mengendalikan Penyelesaian Meiosis

Keberlanjutan (*resumption*) pembelahan meiosis dari profase pembelahan meiosis awal (PI), ketika oosit primer tertahan sejak pada perkembangan fetus awal, maka peristiwa ini merupakan suatu peristiwa yang unik dalam biologi. Mekanisme molekuler yang mengendalikan meiosis dan regulasi siklus sel secara umum, mulai dipahami tahun 1971 dengan

karakterisasi M-phase promoting factor (MPF, juga disebut maturation promoting factor) Masui and Markert, 1971 (Heikinheimo and Gibbons, 1998). MPF pada mulanya dianggap sebagai aktivitas yang berlangsung pada oosit katak dewasa yang dapat dengan cepat menginduksi maturasi inti bila diinjeksikan dalam jumlah kecil sekalipun ke dalam oosit imatur.

Karakterisasi akhir MPF menunjukkan bahwa MPF aktif pada dasarnya terdiri atas subunit siklin B regulator dan catalytic p34cdc2 serine/threonine kinase (Pines and Hunter, 1989). Di samping membuka era baru dalam pemahaman biologi oosit, MPF merupakan yang pertama dari kompleks cyclin-cyclin dependent kinase (cdk) yang dikarakterisasi. Dimer cyclin-cdk, regulasi dan kontrol regulasinya tampil sebagai mediator penting pada berbagai tahap siklus sel. Siklin pertama kali ditemui pada embrio invertebrata laut. Kadar protein siklin berfluktuasi dalam pola siklus menurut fase siklus pembelahan sel (Evans, *et al.*, 1983).

Sesuai dengan ekspresi siklik siklin, aktivitas periodik merupakan gambaran khas MPF. Pada sel somatik, tiap pembelahan sel memerlukan MPF yang baru menyatu, sedangkan degradasi MPF diperlukan pada akhir mitosis agar sel dapat melengkapi mitosisnya (Glotzer, *et al.*, 1991). Sebenarnya, pembentukan siklin-B sebelum degradasi dan sesudah pembelahan sel menjelaskan periodisitas aktivitas MPF (Pines and Hunter 1989). Di samping itu, siklin-B tampaknya merupakan satu-satunya spesies mRNA yang diperlukan pada transisi G2-M. Penambahan mRNA siklin-B cukup untuk menginduksi pembelahan sel pada ekstrak bebas sel oosit *Xenopus* yang kurang mRNA endogen (Murray and Kirshner 1989). Jadi, sintesis mRNA siklin-B juga terlihat mengendalikan pembelahan meiosis.

Dibandingkan dengan sel somatik yang membelah secara mitosis, perilaku MPF pada oosit yang membelah secara meiosis berbeda. Maturasi oosit ditandai dengan dua puncak aktivitas MPF tinggi. Pertama terjadi pada waktu kelanjutan pembelahan meiosis dan kedua, terjadi selama penghentian meiosis pada tahap MII (Furuno, *et al.*, 1994). Selama selang waktu antara kedua puncak ini, aktivitas

MPF dipertahankan pada tingkat yang cukup tinggi. Aktivitas MPF berkelanjutan antara meiosis I dan II, ini kemungkinan sangat penting dalam menghambat replikasi DNA sehingga memungkinkan pembelahan sel reduktif.

Berbeda dari oosit *Xenopus* imatur yang mengandung kadar tinggi 'pre-MPF' inaktif yang akan diaktifkan (Christmann, *et al.*, 1994), beberapa komponen MPF, yaitu p34cdc2 kinase dan cyclin-B, disintesis selama beberapa jam pertama maturasi *in-vitro* pada oosit sapi (Wu, *et al.*, 1997). Pada oosit kera marmoset, kompetensi untuk melanjutkan pembelahan meiosis sangat berhubungan pada tahap folikuler (Gilchrist, *et al.*, 1995). Demikian pula, pada manusia kemampuan oosit untuk melanjutkan maturasi inti *in vitro* meningkat menurut diameter folikel antral (Tsuji, *et al.*, 1985). Namun, akumulasi kinetik komponen MPF dan regulatornya selama maturasi oosit manusia belum diketahui. Ketika dilakukan analisis kandungan siklin-B1 dan mRNA c-mos, tidak didapat perbedaan antara PI inti imatur dan oosit MII dewasa yang diambil setelah stimulasi ovarium (Heikinheimo and Gibbons, 1998).

### Aktivasi MPF

MPF dianggap terlibat pada beberapa tahap penting pembelahan sel, misalnya: pemisahan inti, kondensasi kromosom, penyusunan kembali sitoskeleton dan penghentian aktivitas transkripsi (Moreno and Nurse, 1990). Histone H1 adalah substrat klasik aktivitas MPF. Oleh sebab itu MPF sering juga disebut histone kinase (Langan *et al.*, 1989). Histone H1 berperan penting dalam pengepakan DNA ke dalam nukleosom, unit struktural penting yang terdiri atas serabut kromatin. Fosforilasi histone H1 diyakini berperan dalam kondensasi kromosom selama pembelahan sel. Lamina inti juga diketahui difosforilasi oleh p34cdc2 kinase (Peter, *et al.*, 1990). Fosforilasi pp60c-src kinase bertanggungjawab atas penyusunan kembali sitoskeleton waktu pembelahan sel (Shenoy, *et al.*, 1989).

Setelah penggabungan cyclin-B-p34cdc2 kinase complex, MPF yang dihasilkan dipertahankan pada tahap inaktif melalui fosforilasi residu asam amino spesifik dari p34cdc2 kinase (Gu, *et al.*,

1992). Dua fosforilasi inhibitor yang penting dihasilkan melalui kerja protein kinase khusus yaitu wee1 dan mik kinase (McGowan dan Russell, 1993).

Pada oosit *Xenopus*, terdapat stok kompleks Cdc2-cyclin B inaktif (pre-MPF) yang akan diaktifkan oleh defosforilasi Cdc2 pada Tyr-15, Thr-14 (kemungkinan juga Thr-161)(Gambar 5). Fosfatase yang bertanggung jawab atas defosforilasi ini kemungkinan adalah Cdc25 yang dapat diregulasi baik oleh fosforilasi maupun lokalisasi subseluler. Plx1 adalah kemungkinan aktivator Cdc25, namun tidak jelas cara alur signaling ini pertama kali distimulasi. Pada oosit imatur ikan dan amfibi lain, kecuali *Xenopus*, hanya ada Cdc2 monomer tetapi tidak terdapat pre-MPF, sehingga siklin B perlu disintesis dari mRNA maternal untuk GVBD (Schmitt and Nebreda, 2002).

cdc25-phosphatase mengendalikan defosforilasi terkoordinir dan aktivasi MPF pada beberapa sistem model, termasuk sel manusia (Millar and Russell, 1992). Di samping bekerja pada MPF, cdc25 phosphatase itu sendiri juga merupakan target MPF yang melalui fosforilasi meningkatkan aktivitas cdc25 phosphatase. Dengan demikian, terbentuk loop katalitik yang merupakan syarat cepatnya aktivasi MPF pada waktu dimulainya maturasi oosit.

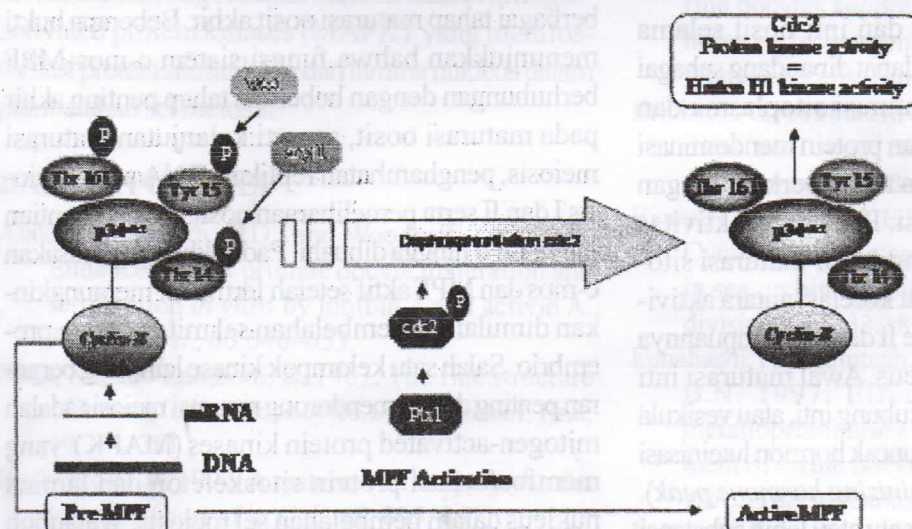
Beberapa isozim cdc25 phosphatase diketahui terdapat pada manusia dan tikus (Millar and Russell, 1992). Pada tikus, mRNA cdc25a isozyme ada dalam oosit, sedangkan mRNA cdc25b adalah isoform utama pada pre-embrio tikus (Wickramasinghe, *et al.*, 1995). Namun bentuk cdc25 yang dominan pada oosit dan pre-embrio manusia masih harus dikarakterisasikan.

Protein kinase yang kemungkinan mengupregulasi aktivitas MPF pada oosit mulai dari re-inisiasi meiosis hingga fertilisasi adalah pasangan seluler onkogen virus mos (c-mos) (Sagata *et al.*, 1989). C-mos kinase diperkirakan mendorong aktivitas MPF melalui beberapa mekanisme. Namun masih sedikit yang diketahui tentang regulasi transkripsi c-mos dan mekanisme di belakang ekspresinya yang spesifik pada sel-induk.

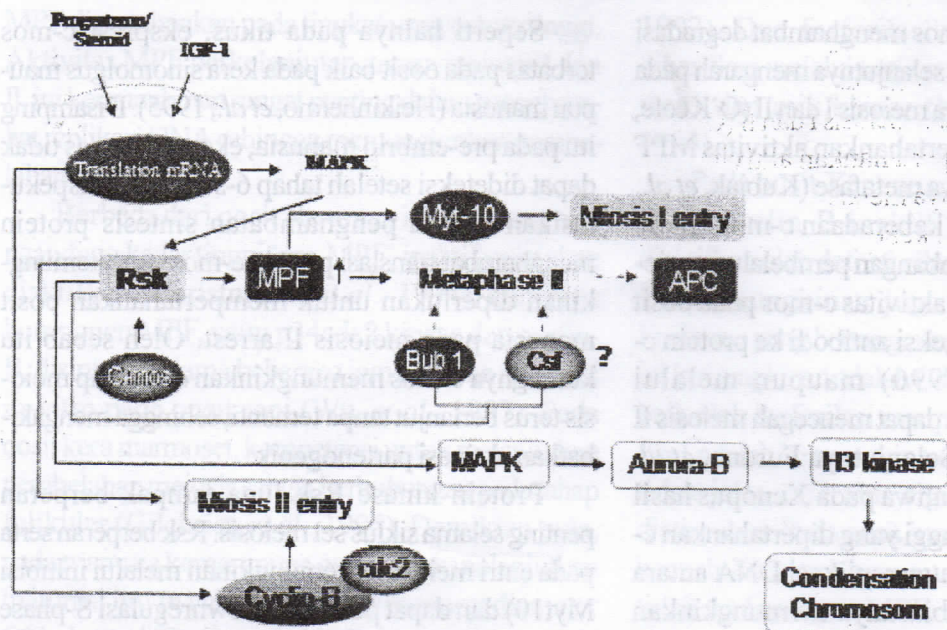
Pada oosit tikus, c-mos menghambat degradasi proteolitik cyclin-B yang selanjutnya mengarah pada akumulasi cyclin-B antara meiosis I dan II (O'Keefe, *et al.*, 1991) dan mempertahankan aktivitas MPF tinggi selama berhentinya metafase (Kubiak, *et al.*, 1993). Oleh karena itu, keberadaan c-mos kinase diperlukan untuk perkembangan pembelahan meiosis yang benar. Bloking aktivitas c-mos pada oosit mencit, baik melalui injeksi antibodi ke protein c-mos (Zhao, *et al.* 1990) maupun melalui oligonukleotida antisens dapat mencegah meiosis II (Paules, *et al.*, 1989). Selanjutnya Furuno, *et al.* (1994) menunjukkan bahwa pada *Xenopus* hasil bersih aktivitas MPF tinggi yang dipertahankan c-mos adalah penghambatan replikasi DNA antara meiosis I dan II yang biasanya memungkinkan pembelahan sel reduktif dan menghambat aktivasi partenogenik oosit. Oleh karena kemampuannya mempertahankan oosit pada penghentian metaphase II, c-mos juga disebut cytostatic factor (CSF). Pada mencit yang c-mos knockout, penghentian metaphase II gagal sehingga menyebabkan tingginya derajat aktivasi partenogenik oosit (Colledge, *et al.*, 1994; Hashimoto, *et al.*, 1994).

Seperti halnya pada tikus, ekspresi c-mos terbatas pada oosit baik pada kera *sinomolgus* maupun manusia (Heikinheimo, *et al.*, 1995). Disamping itu pada pre-embrio manusia, ekspresi c-mos tidak dapat dideteksi setelah tahap 6-sel. Dapat dispekulasikan bahwa penghambatan sintesis protein menghambat translasi protein c-mos yang kemungkinan diperlukan untuk mempertahankan oosit manusia pada meiosis II arrest. Oleh sebab itu kurangnya c-mos memungkinkan dua tahap meiosis terus berlanjut tanpa terhenti, sehingga mengakibatkan aktivasi partenogenik.

Protein kinase Rsk juga tampak berperan penting selama siklus sel meiosis. Rsk berperan serta pada entri meiosis I (kemungkinan melalui inhibisi Myt10) dan dapat pula men-downregulasi S-phase antara meiosis I dan II, diperkirakan melalui reaktivasi MPF (Gambar 6). Di samping itu, Rsk berkontribusi pada penghentian metaphase II, melalui aktivasi Bub1 atau alur CSF dan menghambat anaphase-promoting complex (APC/C) yang masih belum diketahui. Alur MAPK/Rsk juga diperlukan untuk aktivasi histone H3 kinase, kemungkinan melalui aurora B, selama maturasi oosit (Schmit and Nebreda, 2002).



Gambar 5. Penggabungan, aktivasi dan destruksi maturation promoting factor (MPF). Pola MPF periodik dapat dihubungkan dengan subunit siklin B, akan disintesis oleh mRNA sebelum pembelahan sel dan didegradasi pada transisi telofase-anafase agar sel keluar dari mitosis/meiosis. Aktivasi MPF dimulai dengan saling mempengaruhi antara wee-1 dan nim-1. Fosforilasi dari cdc25 bertanggung jawab untuk dephosphorilasi cdc2.



Gambar 6. Rsk dapat mengaktivasi metaphase II, miosis I dan II maupun menghambat metaphase II.

## RINGKASAN

Hubungan seluler antara oosit dan sel folikular somatik penting untuk maturasi oosit karena sel folikel berperan penting dalam regulasi penghentian dan kelanjutan meiosis oosit, disamping memberikan nutrisi. Hal ini disebabkan karena interaksi sel somatik - oosit melalui gap junctions penting untuk penyediaan substrat pada metabolisme energi dan juga untuk pertumbuhan oosit.

Maturasi sitoplasmik dan inti oosit selama perkembangan pra-ovulasi dapat dipandang sebagai sesuatu yang terpisah. Maturasi sitoplasma dan perolehan cadangan RNA dan protein mendominasi perkembangan oosit antara tahap perkembangan premordial dan pra-ovulasi. Penentuan aktivitas MPF digunakan sebagai indikator maturasi sitoplasma oosit karena terdapat korelasi antara aktivitas MPF pada oosit metafase II dan kemampuannya mengembangkan pronukleus. Awal maturasi inti ditandai dengan pecahnya selubung inti, atau vesikula germinalis, dan dipicu oleh puncak hormon luteinisasi siklus tengah (*midcycle luteinizing hormone peak*). LH menyebabkan eliminasi satu atau lebih substansi inhibitor, misalnya oocyte maturation inhibitor (OMI), eliminasi berbagai substansi inhibitor ini menyebabkan aktivasi siklin, fosfatase dan kinase yang diperlukan untuk pencapaian maturasi nukleus.

Penurunan konsentrasi cAMP intrasel dan beberapa tahap meiosis selanjutnya dikendalikan oleh M-phase promoting factor (MPF). Meskipun merupakan faktor utama, p34cdc2 kinase dan cyclin type-B juga ada pada sel yang membelah mitosis dan oosit yang membelah secara meiosis walaupun regulasi aktivitas MPF berbeda. Sebuah protein kinase oosit yang spesifik yaitu c-mos, berperan penting dalam mengupregulasi aktivitas MPF pada berbagai tahap maturasi oosit akhir. Beberapa bukti menunjukkan bahwa fungsi sistem c-mos-MPF berhubungan dengan beberapa tahap penting akhir pada maturasi oosit, seperti kelanjutan maturasi meiosis, penghambatan replikasi DNA antar meiosis I dan II serta pemeliharaan oosit pada perhentian metafase II hingga dibuahi. Pada akhirnya perusakan c-mos dan MPF aktif setelah fertilisasi memungkinkan dimulainya pembelahan sel mitosis pada pre-embrio. Salah satu kelompok kinase lain yang berperan penting dalam mendorong resumsi meiosis adalah mitogen-activated protein kinases (MAPK) yang memfosforilasi protein sitoskeleton dan lamina nukleus dalam pembelahan sel meiosis. Walaupun saat ini diketahui bahwa MAPK dan MPF terlibat dalam regulasi proses maturasi, namun relevansi fisiologisnya secara pasti pada maturasi oosit masih belum jelas. Protein kinase Rsk juga tampak

berperan penting selama siklus sel meiosis pada entri meiosis I dan dapat pula men-downregulasi S-phase antara meiosis I dan II serta berkontribusi pada penghentian metafase II.

## KESIMPULAN

Maturasi sitoplasma dan inti oosit selama perkembangan pra-ovulasi dapat dipandang sebagai sesuatu yang terpisah.

Penentuan aktivitas MPF digunakan sebagai indikator maturasi sitoplasma oosit dan aktivitasnya dipicu oleh penurunan cAMP.

Maturasi inti ditandai dengan pecahnya selubung inti atau vesikula germinalis yang dipicu oleh hormon LH.

Protein kinase oosit yang spesifik yaitu c-mos, berperan penting dalam meng-upregulasi aktivitas MPF pada berbagai tahap maturasi oosit akhir (kelanjutan maturasi meiosis, penghambatan replikasi DNA antar meiosis I dan II serta pemeliharaan oosit pada perhentian metafase II hingga dibuahi).

Protein kinase Rsk juga tampak berperan penting selama siklus sel meiosis karena berperan serta pada entri meiosis I dan dapat men-downregulasi S-phase antara meiosis I dan II.

Kelompok kinase lain yang berperan penting dalam mendorong resumsi meiosis adalah mitogen-activated protein kinases (MAPK) yang memfosforilasi protein sitoskeleton dan lamina nukleus dalam pembelahan sel meiosis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alak, B.M., Smith, G.D., and Woodruff, T.K. 1996. Enhancement of primate oocyte maturation and fertilization *in vitro* by inhibin A and activin A. *Fertil. Steril.*, 66:646–653.
- Baca, M., and Zamboni, L. 1967. The fine structure of human follicular oocytes. *J. Ultrastruct. Res.*, 19:354–381.
- Bachvarova, R. 1992. A maternal tail of poly(A): the long and short of it. *Cell*, 69, 895–897.
- Bennett, R.A., Osathanondh, R., and Yeh, J. 1996. Immunohistochemical localization of transforming growth factor- $\alpha$ , epidermal growth factor (EGF) and EGF receptor in the human fetal ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81:3073–3076.
- Bukovsky, A., Caudle, M.R., and Keenan, J.A. 1995. Quantitative evaluation of the cell cycle-related retinoblastoma protein and localization of Thy-1 differentiation protein and macrophages during follicular development and atresia, and in human corpora lutea. *Biol. Reprod.* 52:776–792.
- Cecconi, S., Rossi, G., De Felici, M., and Colonna, R. 1996. Mammalian oocyte growth *in vitro* is stimulated by soluble factor(s) produced by preantral granulosa cells and by Sertoli cells. *Molecular Reproduction and Development* 44:540–546.
- Christmann, L., Jung, T., and Moor, R. 1994. MPF components and meiotic competence in growing pig oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, 38:85–90.
- Dong, J., Albertini, D.F., Nishimori, K., Kumar, T.R., Lu, N., and Matzuk, M.M. 1996. Growth differentiation factor 9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 383:531–535.
- Downs, S. 1995. The influence of glucose, cumulus cells, and metabolic coupling on ATP levels and meiotic control in the isolated mouse oocyte. *Dev. Biol.*, 167:502–512.
- Edwards, R. 1965. Maturation *in vitro* of mouse, sheep, cow, pig, rhesus monkey and human ovarian oocytes. *Nature*, 208:349–351.
- Eppig, J., and Wigglesworth, K., Pendola. 1997. Murine oocytes suppress expression of luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acid by granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 56:976–984.
- Erickson, G.F. 1986. An analysis of follicle development and ovum maturation. *Semin. Reprod. Endocrinol.*, 4:233–254.
- Evans, T., Rosenthal, E.T., and Youngblom, J. 1983. Cyclin: a protein specified by maternal mRNA in sea urchin eggs that is destroyed at cleavage division. *Cell*, 33:389–396.
- Funahashi, H., McIntush, E.W., Smith, M.F., and Day, B.N. 1997. Effect of tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP-1) on early development of swine oocytes matured and fertilized *in vitro*. *Theriogenology* 47:277.
- Fulka, J., Jung, T., and Moor, R. 1992. The fall of biological maturation promoting factor (MPF) and histone H1 kinase activity during anaphase and telophase in mouse oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, 32:378–382.

- Furuno, N., Nishizawa, M., and Okazaki, K. 1994. Suppression of DNA replication via Mos function during meiotic division in *Xenopus* oocytes. *EMBO J.*, 13:2399–2410.
- Fox, C.A., Sheets, M.D., and Wahle, E. 1992. Polyadenylation of maternal mRNA during oocyte maturation: poly(A) addition *in vitro* requires a regulated RNA binding activity and a poly(A) polymerase. *EMBO J.*, 11:502–5032.
- Go'mez, E., de los Santos, M., Ruiz, A. *et al.* 1993. Effects of epidermal growth factor in the final stages of nuclear and cytoplasmic oocyte maturation in humans. *Hum. Reprod.*, 8:691–694.
- Gu, Y., Rosenblatt, J., and Morgan, D. 1992. Cell cycle regulation of CDK2 activity by phosphorylation of Thr160 and Tyr15. *EMBO J.*, 11:3995–4005.
- Gilchrist, R.B., Nayudu, P.L., and Nowshari, M. 1995. Meiotic competence of marmoset monkey oocytes is related to follicle size and oocyte-somatic cell associations. *Biol. Reprod.*, 52:1234–1243.
- Glotzer, M., Murray, A., and Kirschner, M. 1991. Cyclin is degraded by the ubiquitin pathway. *Nature*, 349:132–138.
- Hashimoto, N., Watanabe, N., Furuta, Y. *et al.* 1994. Parthenogenetic activation of oocytes in c-mos deficient mouse. *Nature*, 370:68–71.
- Herlands, R.L., and Schultz, R.M. 1984. Regulation of mouse oocyte growth: probable nutritional role for intercellular communication between follicle cells and oocytes in oocyte growth *Journal of Experimental Zoology* 229:317–325.
- Heikinheimo, O., and Gibbons, W. 1998. The Molecular Mechanisms of Oocyte Maturation and Early Embryonic Development are Unveiling New Insights Into Reproduction Medicine *Molecular Human Reproduction* vol 4, no 8 pp.745–756.
- Hirao Y., Nagai, T., Kubo, M., Miyano, T., and Kato, S. 1994. *In vitro* growth and maturation of pig oocytes *Journal of Reproduction and Fertility* 100:333–339.
- Hunter, M.G. 2000. Oocyte Maturation and Ovum Quality in Pig *Journal Reproduction and Fertility* 5:122–130.
- Ignar-Trowbridge, D.M., Pimentel, M., Parker, M.G., McLachlan, J.A., and Korach, K.S. 1996. Peptide growth factor cross-talk with the estrogen receptor requires the A/B domain and occurs independently of protein kinase C or oestradiol *Endocrinology* 137:1735–1744.
- Inoue, M., Naito, K., Aoki, F., Toyoda, Y., and Sato, E. 1995. Activation of mitogen-activated protein kinase during meiotic maturation in porcine oocytes *Zygote* 3:265–271.
- Kikuchi, K., Naito, K., Daen, F.P., Izaike, Y., and Toyoda, Y. 1995. Histone H1 kinase activity during *in vitro* fertilization of pig follicular oocytes matured *in vitro*. *Theriogenology* 43:523–532.
- Kubiak, J., and Weber, M., de Pennart. 1993. The metaphase II arrest in mouse oocytes is controlled through microtubule-dependent destruction of cyclin B in the presence of CSF. *EMBO J.*, 12:3773–3778.
- Langan, T.A., and Gautier, J., Lohka, M., *et al.* 1989. Mammalian growth-associated H1 histone kinase: a homolog of cdc21/CDC28 protein kinases controlling mitotic entry in yeast and frog cells. *Mol. Cell. Biol.*, 9:3860–3868.
- Li, R., and Mather, J. 1997. Lindane, an inhibitor of gap junction formation, abolishes oocyte directed follicle organizing activity *in vitro*. *Endocrinology*, 138:4477–4480.
- Liang, L.F., and Dean, J. 1993. Conservation of mammalian secondary sperm receptor genes enables the promoter of the human gene to function in mouse oocytes. *Dev. Biol.*, 156:399–408.
- Lighten, A., Hardy, K., Winston, R. *et al.* 1997. IGF2 in parenterally imprinted in human preimplantation embryos. *Nature Genet.*, 15:122–123.
- Maruo, T., Ladines-Llave, C.A., Samoto, T., *et al.* 1993. Expression of epidermal growth factor and its receptor in the human ovary during follicular growth and regression. *Endocrinology*, 132:924–931.
- McGowan, C., and Russell, P. 1993. Human Wee1 kinase inhibits cell division by phosphorylating p34cdc2 exclusively on Tyr17. *EMBO J.*, 12:75–85.
- Meinecke B, Wehrend, A., and Meinecke-Tillmann S (1997). Effects of hnRNA and protein synthesis inhibition on chromosome condensation and H1- and MAP-kinase activities during *in vitro* maturation of porcine oocytes *Reproduction in Domestic Animals* 32:20.
- Moor, R.M., and Warnes, G.M. 1978. Regulation of oocyte maturation in mammals. In *Control of*



- Ovulation* pp 159–176 Eds DB Crichton, *et al.* Butterworths, London.
- Motlik, J., and Fulka, J. 1986. Factors affecting meiotic competence in pig oocytes *Theriogenology* 25:87–96.
- Moor, R.M., Mattioli, M., Ding, J., and Nagai, T. 1990. Maturation of pig oocytes *in vivo* and *in vitro*. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 40:197–210.
- Morto, B., and Bernstein, A. 1993. Dynamic changes in ovarian *c-kit* and *Steel* expression during the estrous reproductive cycle. *Dev. Dynamics*, 197:69–79.
- Moreno, S., and Nurse, P. 1990. Substrates for p34cdc2: *in vivo* veritas? *Cell*, 61:549–551.
- Millar, J., and Russell, P. 1992. The cdc25 M-phase inducer: an unconventional protein phosphatase. *Cell*, 68:407–410.
- Millar, S.E., Lader, E.S., and Dean, J. 1993. ZAP-1 DNA binding activity is first detected at the onset on zona pellucida gene expression in embryonic mouse oocytes. *Dev. Biol.*, 158:410–413.
- Murray, A., and Kirshner, M. 1989. Cyclin synthesis drives the early embryonic cell cycle. *Nature*, 339:275–280.
- Naito, K., Daen, F.P., and Toyoda, Y. 1992. Comparison of histone H1 kinase activity during meiotic maturation between two types of porcine oocytes matured in different media *in vitro*. *Biology of Reproduction* 47:43–47.
- Naito K and Toyoda Y (1991). Fluctuation of histone H1 kinase activity during meiotic maturation in pig oocytes *Journal of Reproduction and Fertility* 93:467–473.
- O'Keefe, S., and Wolfes, H., Kiessling, A., *et al.* 1989. Microinjection of antisense *c-mos* oligonucleotides prevents meiosis II in the maturing mouse egg. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:7038–7042.
- Paules, R., and Buccione, R., Moshel, R. *et al.* 1989. Mouse *mos* proto-oncogene product is present and functions during oogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:5395–5399.
- Paynton, B.V., and Bachvarova, R. 1994. Polyadenylation and deadenylation of maternal mRNAs during oocyte growth and maturation in the mouse. *Mol. Reprod. Dev.*, 37, 172–180.
- Peter, M., and Nakagawa, J., Dore'e, M., *et al.* 1990. *In vitro* disassembly of the nuclear lamina and M phase-specific phosphorylation of lamins by cdc2 kinase. *Cell*, 61:591–602.
- Pines, J., and Hunter, T. 1989. Isolation of human cyclin cDNA: evidence for cyclin mRNA and protein regulation in the cell cycle and for interaction with p34cdc2. *Cell*, 58: 833–846.
- Rankin, T., and Dean, J. 1996. The molecular genetics of the zona pellucida: mouse mutations and infertility. *Mol. Hum. Reprod.*, 2:889–894.
- Racowsky, C., and Baldwin, K., Larabell, C., *et al.* 1989. Down-regulation of membrane granulosal cell gap junctions in correlated with irreversible commitment to resume meiosis in golden Syrian hamster oocytes. *Eur. J. Cell Biol.*, 49:244–251.
- Rime, H., Haccard, O., and Ozon, R. 1992. Activation of p34cdc2 kinase by cyclin is negatively regulated by cyclic amp-dependent protein kinase in *Xenopus* oocytes. *Dev. Biol.*, 151:105–110.
- Sagata, N., and Watanabe, N., Vande Woude, G., *et al.* 1989. The *c-mos* protooncogene product is a cytosolic factor responsible for meiotic arrest in vertebrate eggs. *Nature*, 342:512–528.
- Schmitt, A., and Nebreda, A.R. 2002. Signaling Pathways in Oocyte Meiotic Maturation. *Journal Cell Science* 115:2457–2459.
- Shenoy, S., Choi, J.-K., Bagrodia, S., *et al.* 1989. Purified maturation promoting factor phosphorylates pp60c-src at the sites phosphorylated during fibroblast mitosis. *Cell*, 57:763–774.
- Sidis, Y., and Fujiwara, T., Leykin, L., *et al.* 1997. Characterization of inhibin, activin, follistatin and activin receptor subtypes in human oocytes. Abstract P2-333. 79th Annual Meeting of the Endocrine Society, Minneapolis, Minnesota.
- Sirard, M.A., Dubuc, A., Bolamba, D., Zheng, Y., and Coenen, K. 1993. Follicle–oocyte–sperm interactions *in vivo* and *in vitro* in pigs *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 48:3–16.
- Stebbins-Boaz, B., Hake, L.E., and Richter, J.D. 1996. CPEB controls the cytoplasmic polyadenylation of cyclin, Cdk2 and *c-mos* mRNAs and is necessary for oocyte maturation in *Xenopus*. *EMBO J.*, 15:2582–2592.
- Tanikawa, M., Haraha, T., Mitsunari, M., Onohara, Y., Iwabe, T., and Terakawa, N. 1998. Expression of *c-kit* messenger ribonucleic acid in human

- oocyte and presence of soluble c-kit in follicular fluid *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83:1239-1242.
- Toimell, J., and Hillensjo, T. 1993. Effect of cyclic AMP on the isolated oocyte-cumulus complex. *Hum. Reprod.*, 8:737-739.
- Tsuiji, K., Sowa, M. and Nakano, R. 1985. Relationship between human oocyte maturation and different follicular size. *Biol. Reprod.*, 32:413-417.
- Wassarman, P., and Kinloch, R. 1992. Gene expression during oogenesis in mice. *Mutat. Res.*, 296, 3-15.
- Wehrend A and Meinecke B (1998). The meiotic cell cycle in oocytes of domestic animals *Reproduction in Domestic Animals* 33:289-297.
- Wickramasinghe, D., Becker, S., Ernst, M. et al. 1995. Two CDC25 homologues are differentially expressed during mouse development. *Development*, 121:2047-2056.
- Wu, T.C., Wang, L., and Wan, Y.J. 1993. Detection of estrogen receptor messenger ribonucleic acid in human oocytes and cumulus-oocyte complexes using reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Fertil. Steril.*, 59:54-59.
- Zhao, X., Batten, B., Singh, B., et al. 1990. Requirement of the c-mos protein kinase for murine meiotic maturation. *Oncogene*, 5:1727-1730.