

Analisis Kuantitatif Sel Purkinje Cerebellum Mencit (*Mus musculus* L.) setelah Induksi Ochratoxin A Selama Periode Organogenesis

Quantitative Analysis of The Purkinje Cell in Mice Cerebellum After Induction of Ochratoxin A during Organogenesis Period

Arum Setiawan^{1*}, Mammed Sagi², Widya Asmara³, dan Istriyati²

¹Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya, Kampus Indralaya Ogan Ilir, Sumatera Selatan 30662

²Laboratorium Embriologi dan Histologi Hewan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

³Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

E-mail : setiawan_unsri@yahoo.com *Penulis untuk korespondensi

Abstract

This study aims to determine the number of Purkinje cells of mice cerebellum of pups after induction of Ochratoxin A during organogenesis period. Thirty pregnant mice were divided randomly into 5 groups of 6. Ochratoxin A was dissolved in sodium bicarbonate, and administered orally on seventh to fifteenth days of gestation at dosage of 0.5, 1.0, 1.5 mg/kg bw. The remaining animals were used as an untreated control, and placebo were given by Sodium Bicarbonate. Dams were maintained until delivery. At 21 days of age, the offspring were sacrificed and taken his brain. Brains of mice subsequently prepared by paraffin method and stained using Haematoxylin Eosin staining. Data Analysis using one way ANAVA and DMRT for the significance. The results showed that Ochratoxin A given to pregnant mice during the period of organogenesis causes impaired growth of Purkinje cells of mice treated with the more marked decline in the number of Purkinje cells compared with control and placebo.

Key words: Cerebellum, ochratoxin a, purkinje cells

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengetahui jumlah sel Purkinje cerebellum anak mencit umur 21 hari (pascasapuh) setelah induksi Ochratoxin A selama periode organogenesis. Tiga puluh ekor mencit bunting dibagi secara acak menjadi 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing 6 ulangan. Ochratoxin A dilarutkan dalam Sodium Bicarbonat, diberikan secara oral pada saat kebuntingan hari ke 7 sampai hari ke -14. Dosis perlakuan Ochratoxin A adalah 0,5 ; 1,0; 1,5 mg/kg bb dan sebagai kontrol tidak diberi perlakuan, serta kontrol placebo diberi perlakuan pelarut Sodium Bicarbonat. Induk mencit dipelihara sampai melahirkan. Pada umur ke 21 hari (pascasapuh), anak mencit dikorbankan dan diambil bagian otaknya. Otak mencit selanjutnya dipreparasi dengan metode parafin dan pewarnaan menggunakan pewarnaan Haematoksilin Eosin. Data jumlah sel Purkinje dianalisis dengan Anava Satu Arah dan dilanjutkan dengan uji DMRT untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Ochratoxin A yang diberikan pada mencit bunting selama periode organogenesis menyebabkan terhambatnya pertumbuhan jumlah sel Purkinje mencit perlakuan yang ditandai dengan semakin menurunnya jumlah sel Purkinje dibandingkan dengan kontrol dan kontrol placebo.

Kata kunci: Cerebellum, ochratoxin a, sel purkinje

Diterima: 14 Februari 2011, disetujui: 31 Maret 2011

Pendahuluan

Ochratoxin A merupakan mikotoksin utama dari kelompok ochratoxin yang bersifat

toksik. Ochratoxin A (OA) merupakan derivat dihydro-isocoumarin yang diikat peptida dengan phenylalanine dan banyak ditemukan pada gandum, minyak tumbuhan, kopi, anggur

dan daging unggas (Miraglia dan Brera, 2002). Struktur OA yang mirip dengan struktur asam amino phenylalanine (Phe), menyebabkan OA dapat menghambat enzim yang menggunakan Phe seperti Phe-tRNA synthetase. Hal ini menyebabkan terjadinya penghambatan sintesis protein, disamping merangsang peroksidasi lemak (Marti, 2006).

Ochratoksin A telah dilaporkan bersifat toksin untuk beberapa jenis dan menyebabkan nefropati, nekrosis limfoid, enteritis, dan kerusakan hati. Dari beberapa penelitian terdahulu OA menimbulkan berbagai malformasi pada hewan tikus, hamster, dan ayam. Ochratoksin A tidak hanya toksik terhadap ginjal, carcinogen, immunotoksik, toksin hati, dan neurotoksik, tapi juga teratogen (Wangikar et al., 2004a). Baru-baru ini, dilaporkan bahwa mikrosefali diinduksi pada tikus yang mendapat perlakuan pralahir dengan OA. Malformasi ini, termasuk mikrosefali, diinduksi dengan frekuensi yang sama dengan asupan oral OA. Ochratoksin A juga dikenal untuk menimbulkan cacat tabung saraf (*Neural Tube Defects/NTDs*) dalam embrio tikus (Wangikar et al., 2004b; Ohta et al., 2006; Ueta et al., 2009). Sampai saat ini belum ada laporan bahwa OA menginduksi NTDs pada manusia, tetapi OA telah terdeteksi dalam darah dan air susu ibu (Postupolski et al., 2006).

Pada manusia OA juga bisa bersifat karsinogenik. Berat molekul OA yaitu 403,82 dalton menyebabkan toksin ini mampu melewati barrier plasenta dan masuk ke tubuh embrio hewan (Marti, 2006). Ochratoksin A dapat berkontribusi pada *pathogenesis neurodegenerative* (misalnya Alzheimer dan penyakit Parkinson's) proses apoptosis sel-sel neuron terlibat didalamnya (Sava et al., 2006; Zhang et al., 2009).

Ochratoxin A dilaporkan bersifat neurotoksik pada tikus jantan dewasa yang diberi pakan mengandung OA. Neurotoksisitas, ditandai dengan penurunan konsentrasi asam laktat dehidrogenase pada jaringan otak, terutama dalam *mesencephalon ventral*, *hippocampus* dan *cerebellum*. Biokonsentrasi OA di beberapa wilayah otak tidak berkorelasi dengan tingkat toksisitas (Belmadani et al., 1998). Sistem saraf perifer tikus dewasa muda,

OA mengurangi konduktansi saluran ion K⁺ dan dapat mengganggu proliferasi seluler dan pengaturan proses seluler selama myelogenesis (Carratu et al., 1998).

Kultur sel otak tikus, 10–20 nM OA memperlihatkan peningkatan ekspresi gen yang menyebabkan radang otak (mRNA dari *peroxisome proliferator-activated-receptor*, *haem oxygenase-1*, dan menyebabkan sintesis oksida nitrat) dan menurunkan ekspresi dari *glial fibrillary acidic protein*, yang merupakan bagian dari filamen intermedia astrocyt (Zurich et al., 2005). Pada sel-sel otak tengah embrio tikus, dosis 0,5 dan 1 µg OA/mL menyebabkan terjadinya pengurangan jumlah sel hidup, dan menginduksi faktor transkripsi aktivator protein-1 (AP-1) dan *nuclear factor-kappa B* (NF-κB) mengaktifasi *neurite outgrowth* pada konsentrasi tinggi (Hong et al., 2002).

Berdasarkan literatur dapat diketahui bahwa OA mempunyai sifat yang merugikan bagi manusia. Hal ini berarti, makanan dan bahan makanan harus dijaga ke higienisannya supaya tidak terkontaminasi jamur yang memproduksi OA. Informasi mengenai pengaruh OA terhadap perkembangan otak masih sangat kurang, terutama yang berkaitan dengan kontaminasi OA selama periode organogenesis. Pada periode organogenesis diketahui bahwa otak mengalami pertumbuhan dan perkembangan yang luar biasa, dari pembentukan otak sampai terbentuknya susunan saraf pusat. Jadi dapat diasumsikan bahwa apabila periode ini terjadi gangguan terutama dari toksikan akan mempengaruhi proses pembentukan otak yang selanjutnya akan menghambat pembentukan otak secara sempurna. Hal ini mengakibatkan cacat pada otak yang pada akhirnya akan berpengaruh terhadap kecerdasan dan perilaku individu tersebut.

Penelitian ini sangat penting dilakukan untuk memberikan informasi mengenai pengaruh OA selama periode organogenesis terhadap perkembangan otak fetus mencit, terutama terhadap jumlah sel Purkinje cerebellum. Hal-hal yang belum dilakukan pada penelitian terdahulu adalah pemberian OA dosis teratogenik secara oral setiap hari pada masa neurulasi (organogenesis) yaitu umur 7–14 hari kebuntingan untuk melihat

pengaruhnya terhadap jumlah sel Purkinje cerebellum anak mencit umur 21 hari.

Metode Penelitian

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai Nopember 2010, di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada dan Laboratorium Embriologi Histologi Hewan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : hewan uji yaitu 30 ekor mencit (*Mus musculus L.*) betina bunting, umur \pm 2–2,5 bulan, berat 25–30 g. Hewan uji diberi pakan berupa pellet Par G. Ochratoksin A untuk perlakuan dan sodium bikarbonat sebagai pelarutnya. Bahan untuk preparasi cerebellum yaitu : fiksatif Buffer Formalin (4g NaH₂PO₄; 6,5g Na₂HPO₄; Aquadest 900ml; formaldehyde 37% 100ml), alkohol 100% (absolut), alkohol bertingkat (alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%), parafin, xylol, toluol, erlich's hematoxylin, eosin y, gelas benda, gelas penutup, dan entellan.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang untuk pemeliharaan hewan percobaan, jarum berkanul (jarum cekok) ukuran 1 ml untuk pemberian perlakuan, satu set alat bedah (*dissecting set*) untuk membedah hewan perlakuan, satu set alat untuk preparasi cerebellum (*staining jar, rotary microtom, oven, hot plate*), mikroskop dan fotomikrografi sebagai alat dokumentasi.

Perlakuan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan masing-masing 6 ulangan. Sebelum perlakuan, ditentukan dosis perlakuan ochratoksin A. Dari hasil uji pendahuluan didapatkan bahwa dosis teratogenik dalam penelitian ini adalah 0,5 mg/kg bb, 1,0 mg/kg bb dan 1,5 mg/kg bb.

Tiga puluh ekor mencit betina bunting dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit. Dosis perlakuan untuk masing-

masing kelompok adalah kontrol (akuades), kontrol placebo (sodium bicarbonat), perlakuan OA Dosis 0,5mg/kgbb/hari, perlakuan OA Dosis 1,0mg/kgbb/hari, perlakuan OA Dosis 1,5mg/kgbb/hari.

Perlakuan secara oral menggunakan jarum berkanul (jarum cekok) dengan volume 1 ml selama 8 hari berturut-turut secara oral, yaitu mulai hari ke-7 sampai dengan hari ke-14 kebuntingan.

Pengambilan Data

Anak mencit dipelihara sampai umur 21 hari, kemudian dikorbankan menggunakan chloroform untuk diambil otaknya. Otak yang sudah dikeluarkan dari tengkoraknya kemudian difiksasi ke dalam larutan Buffer Formalin selama kurang lebih satu hari. Selanjutnya, otak preparasi menggunakan metode parafin dan pewarnaan *Haematoxylin Eosin* (Suntoro, 1983). Otak setelah difiksasi kemudian dicuci dalam alkohol bertingkat mulai alkohol konsentrasi 30%, 40% , 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96% sampai ke alkohol 100%. Dari alkohol 100% kemudian otak fetus mencit dimasukkan ke dalam Toluol selama satu malam. Proses selanjutnya yaitu Embedding atau melakukan infiltrasi parafin ke dalam otak diproses dalam oven dengan suhu 58–65°C dan pembuatan blok. Specimen (blok parafin yang berisi otak) selanjutnya diiris dengan tebal 5 μ m menggunakan *rotary microtom*, ditempel pada gelas benda dan diwarnai dengan *Haematoxylin Eosin*. Jumlah sel Purkinje dihitung pada tiap penampang sagital cerebellum mencit, dengan ulangan penghitungan 10 kali setiap slide preparat.

Analisis Data

Data mengenai jumlah sel Purkinje dianalisis dengan Anava Satu Arah dan dilanjutkan dengan uji DMRT untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan pada tingkat kepercayaan 5% dan 1%.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat bahwa Ochratoksin A yang diberikan selama periode organogenesis mempengaruhi jumlah

sel Purkinje cerebellum anak mencit umur 21 hari (pasca sapih) (Tabel 1 dan Gambar 1). Dari penghitungan jumlah sel Purkinje, rata-rata jumlah sel Purkinje untuk kelompok kontrol adalah $387,6 \pm 5,25$ sel, kelompok kontrol placebo adalah $382,6 \pm 4,17$ sel, sedangkan perlakuan 0,5 mg/kg bb adalah $370,4 \pm 4,12$ sel, perlakuan 1,0 mg/kgbb adalah $361,0 \pm 3,16$ sel dan perlakuan 1,5 mg/kg bb adalah $352,1 \pm 3,96$ sel. Dari data di atas dapat dilihat terjadinya penurunan jumlah sel Purkinje cerebellum pada kelompok perlakuan yang semakin kecil seiring semakin tingginya dosis pemberian ochratoksin A yang diberikan jika dibanding dengan kelompok kontrol dan kontrol placebo.

Dari hasil perhitungan ANAVA menunjukkan bahwa antar kelompok, baik kontrol maupun kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$). Setelah uji DMRT, didapatkan hasil bahwa terdapat beda nyata antara kelompok kontrol dan placebo dengan kelompok perlakuan, sedangkan antara kontrol dan placebo tidak ada beda nyata. Pemberian Ochratoksin A terhadap induk bunting pada masa organogenesis dapat menyebabkan penurunan rerata jumlah sel purkinje cerebellum fetus, yang sejalan dengan semakin besarnya dosis OA yang diberikan.

Mekanisme yang dapat menyebabkan penurunan jumlah sel Purkinje adalah kematian sel (apoptosis). Faktor yang memicu terjadinya apoptosis yaitu stress oksidatif, kebutuhan darah di otak yang tidak adekuat, disfungsi mitokondria dan gangguan konsentrasi kalsium dalam sel. Stress oksidatif ini menyebabkan kerusakan komponen selular, seperti membrane, DNA dan protein (Zhang *et al.*, 2009; Jankowski *et al.*, 2009). Ochratoksin A memicu stress oksidatif melalui berbagai macam mekanisme. Jalur metabolisme OA dapat mengakibatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) sehingga menurunkan kadar antioksidan. Paparan OA menyebabkan penurunan kadar glutathion, peningkatan katalase dan superoksida dismutase. Metabolit OA menginduksi pembentukan ROS di mikrosom yang merangsang pembentukan hydrogen peroksida merupakan sebuah kofaktor untuk aktifitas enzimatik dari LOX (lipoxygenase) seperti enzim COX

(cyclooxygenase) enzim dengan aktifitas peroksidase (Hoeller *et al.*, 1997).

Pembentukan kadar ROS yang dipicu oleh OA menyebabkan kerusakan sel dan memicu kematian dengan mempengaruhi fungsi mitokondria (Marti, 2006). Selain sebagai penghasil energi, mitokondria juga menyimpan kalsium dan meregulasi kadar kalsium dalam sel, yang diperlukan untuk proses komunikasi kimia antara neuron. Ketika mitokondria tidak berfungsi, mereka akan mengalami proses yang disebut *Mitochondrial Permeability Transition* (MPT). Selama proses ini, saluran membrane mitokondria akan terbuka, dan melalui saluran tersebut mitokondria melepaskan kalsium dan sitokrom. Keduanya merupakan aktivator caspase, yang berperan dalam proses apoptosis.

Ochratoksin A mempengaruhi aktivitas faktor pertumbuhan yang meregulasi proliferasi dan kelangsungan hidup sel. Sejumlah faktor pertumbuhan dibutuhkan untuk pembelahan sel yang normal, termasuk dua faktor yang disebut *Insulin Like Growth Factors* (IGF) I dan II. Keduanya berfungsi mengikat molekul protein yang disebut reseptor IGF-I pada permukaan sel (Purves *et al.*, 2001). Ochratoksin A memberikan pengaruh melalui aktifitas reseptor IGF-I, meskipun IGF-I masih berikatan dengan reseptornya tetapi fungsi reseptor memberikan signal dihambat, dan pembelahan sel tidak terjadi. Hal ini menunjukkan bahwa OA dapat mencegah produksi sel sistem saraf pusat yang normal dengan mempengaruhi faktor pertumbuhan (Zhang *et al.*, 2009).

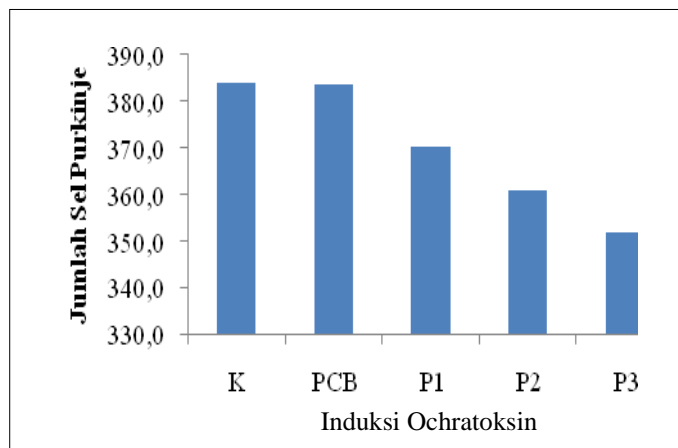
Sel Purkinje cerebellum dalam keadaan normal berbentuk monolayer di bawah EGL (*External Granular Layer*), dan dendrit tumbuh bercabang di lapisan molekul (*Molecular layer/ML*). Sel granular terletak di korteks berkembang secara mitosis dan mensintesis Reelin, kemudian bermigrasi ke bagian dalam melalui ML dan lapisan sel Purkinje (PCL) untuk membentuk lapisan granular internal (*Internal Granular Layer/IGL*) (Gambar 2 dan Gambar 3). Reelin adalah protein yang disekresikan oleh sel granular eksternal selama migrasi awal dan berfungsi sebagai molekul adhesi matriks yang membantu penentuan posisi dan pengaturan pola sel saraf (Goffinet, 1995; Darmanto, 2004).

Analisis Kuantitatif Sel Purkinje Cerebellum Mencit (Mus musculus L.)

Tabel 1. Rerata jumlah sel Purkinje cerebellum anak mencit umur 21 hari (pascasapuh) setelah induksi Ochratoksin A selama periode organogenesis.

Induksi Ochratoksin (mg/kg bb)	Rerata Jumlah Sel Purkinje
Kontrol	387,6 ± 5,25a
Placebo	382,6 ± 4,17a
0,5 mg/kg	370,4 ± 4,12b
1,0 mg/kg	361,0 ± 3,16c
1,5 mg/kg	352,1 ± 3,96d

Keterangan: huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata.



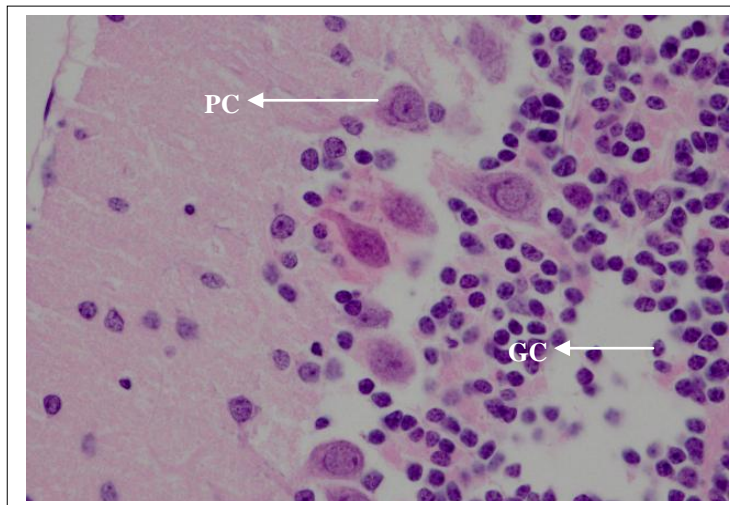
Gambar 1. Rata-rata jumlah Sel Purkinje Cerebellum Anak Mencit umur 21 hari setelah induksi Ochratoksin A selama periode organogenesis.

Keterangan : K = Kelompok Kontrol
 PCB = Kelompok Placebo
 P1 = Kelompok Perlakuan 0,5 mg/kg bb
 PII = Kelompok Perlakuan 1,0 mg/kg bb
 PIII = Kelompok Perlakuan 1,5 mg/kg bb



Gambar 2. Penampang sagital cerebellum fetus mencit umur 21 hari. Perbesaran 40x

Keterangan : ML = Molecular layer
 PCL = Purkinje Cell Layer
 GCL = Grannule Cell Layer



Gambar 3. Penampang sagital cerebellum fetus mencit umur 21 hari. Perbesaran 400x.
Keterangan : PC = Purkinje cell
GC = Granule cell

Simpulan dan Saran

Simpulan

Ochratoxin A menyebabkan penurunan jumlah sel Purkinje cerebellum anak mencit umur 21 hari, mempengaruhi koordinasi neuromuscular dan neurosensoris mencit.

Saran

Untuk mengetahui penyebab terjadinya kelainan foliasi dan ketidakteraturan susunan sel Purkinje cerebellum anak mencit umur 21 hari perlu dilakukan penelitian mengenai profil protein otak mencit, untuk mengetahui ekspresi protein Reelin yang berperan dalam proses perkembangan cerebellum.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada DP2M Dikti Depdiknas dan LPPM UGM atas bantuan dan kerjasamanya sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dan dipublikasikan.

Daftar Pustaka

Belmadani, A., Tramu, G., Betbeder, A.M. dan Creppy, E.E. 1998. Subchronic Effects of Ochratoxin A on Young Adult Rat Brain and Partial

Prevention by Aspartame, a Sweetener. *Hum. Exp. Toxicol.*, 17, 380–386.

Brown, M.H., Szezech, G.M. dan Purmalis, B.P. 1976. Teratogenic and Toxic Effects of Ochratoxin A in Rats. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 37: 331–338.

Carratu, M., Belmadani, A., Cuomo, V. dan Creppy, E.E. 1998. Potassium Channel Modulation by The Pseudopeptide Ochratoxin A in Rat Nerve Fibers. *Neurosci.*, 153: 312–317.

Darmanto, W. 2004. Tingkat kelainan sel Purkinje heterotropik hubungannya dengan perbedaan sensitivitas antara lobus anterior dan posterior dari cerebellum tikus terhadap radiasi sinar-X, *Berkala. Penel. Hayati*, 9: 93–98.

Goffinet, A.M. 1995. A real gene for reeler. *Nature*, 374: 675–676.

Hoehler, D., Marquardt, R.R., McIntosh, A.R. dan Hatch, G.M. 1997. Induction of free radicals in hepatocytes, mitochondria and microsome of rats by Ochratoxin A and its analogues. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1357: 225–233.

Hong, J.T., Lee, H.K., Park, K.S., Jung, K.M., Lee, R.D., Jung, H.K., Park, K.L., Yang, K.J. dan Chung, C.Y. 2002. Inhibitory Effect of Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma Agonist on Ochratoxin A-induced Cytotoxicity and Activation of Transcription Actors in Cultured Rat Embryonic Midbrain Cells. *J. Toxicol. Environ. Health.*, A 65(5–6): 407–418.

Janskowski, J., Miething, A., Schilling, K. dan Bander, S.L. 2009. Physiological Purkinje cell death is spatiotemporally organized in the developing mouse cerebellum. *Cerebellum*, 8: 277–290.

Analisis Kuantitatif Sel Purkinje Cerebellum Mencit (Mus musculus L.)

- Marti, N.B. 2006. *Ochratoxin A and ochratoxigenic moduls in grapes, must and wine, ecophysiological study*, tesis doctoral Universitat de Lleida Spain. Available from URL: http://www.tesisenxarxa.net/TESISUdL/AVAILABLE/TDX0406107172700/Tbmn10de18pdf_21/7/2007.
- Marasas, W.F.O. dan Nelson, P.E. 1987. *Mycotoxincology 'Introduction to The Mycology, Plant Pathology, Chemistry, Toxicology, and Pathology of Naturally Occurring Mycotoxicoses in Animals and Man'*, The Pennsylvania State University Press, University Park and London, USA. Available from URL http://www.dehs.umn.edu/iaq_fib_fg_ref.htm 30/9/2007.
- Miraglia, M. dan Brela, C. 2002. *Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states*, directorate general health and consumer product Rome, Italy. Available from URL: http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf 8/12/2007.
- Ohta, K., Maekawa, M., Katagiri, R., Ueta, E. dan Naruse, I. 2006. Genetic susceptibility in the neural tube defects induced by ochratoxin A in the genetic arhinencephaly mouse, Pdn/Pdn. *Congen. Anom. Kyoto.*, 46: 144–148.
- Postupolski, J., Karlowski, K. dan Kubik, P. 2006. Ochratoxin A in maternal and foetal blood and in materal milk. *Rocz Pantstw Zakl Hig.*, 57: 23–30.
- Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Katz, L.C., Lamantia, A.S., McNAmara, J.O. dan William, S.M. 2001. *Neuroscience* 2nd ed, Sinauer Associates Inc, Massachusetts, pp. 409–26.
- Sava, V., Reunova, O., Velasquez, A. dan Sanchez-Ramos, J. 2006. Can low level exposure to ochratoxin A cause parkinsonism. *J. Neurol. Sci.*, 249: 68–75.
- Suntoro, S.H. 1983. *Metode Pewarnaan* (histology dan Histokimia), Bharata Karya Aksara, Jakarta p. 387.
- Ueta, E., Kodama, M., Sumino, Y., Kurome, M., Ohta, K., Katagiri, R. dan Naruse, I. 2009. Gender-dependent differences in the incidence of ochratoxim A-induced neural tube defects in Pdn/Pdn mouse, *Cong. Anom.* Manuscript ID: CGA-08-2009-043.R2.
- Wangikar, P.B., Dwivedi, P. dan Sinha, N. 2004a. Effects in rats simultaneous prenatal exposure to Ochratoxin A and Aflatoxin B1. I. Maternal toxicity and fetal malformations. *Birth Defects Res.* 71: 343–351.
- Wangikar, P.B., Dwivedi, P. dan Sinha, N. 2004b. Effects in rats simultaneous prenatal exposure to Ochratoxin A and Aflatoxin B1. II. Histopathological features of teratological anomalies induced in fetus. *Birth Defects Res.*, 71: 352–358.
- Zhang, X., Boesch-Saadatmandi, Z., Lou, Y., Wolfram, S., Huebbe, P. dan Rimbach, G. 2009. Ochratoxin A induces apoptosis in neuronal cells. *Genes. Nutr.*, 4: 41–48.
- Zurich, M.G., Lengacher, S., Braissant, O., Monnet-Tschudi, F., Pellerin, L. dan Honegger, P. 2005. Unusual astrocyte reactivity caused by the food mycotoxin ochratoxin A in aggregating rat brain cell cultures. *Neurosci.* 134 (3): 771–782.