

Respon Tulang, Ginjal dan Kelenjar Paratiroid Tikus Wistar yang Mengonsumsi Pakan Mengandung Fosfor Bervariasi

Responses of Bones, Kidneys and Parathyroid Glands in Wistar Rats Fed Containing Variation of Phosphor Levels

Hartiningsih¹, Sutjipto Nitisuwirjo², Hastari Wuryastuty³

¹Bagian Bedah dan Radiologi, ²Bagian Patologi, ³Bagian Ilmu Penyakit Dalam
 Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
 Email: hartiningsih56@yahoo.com

Abstract

The objective of the research was to study the responses of bones, kidneys and parathyroid glands of calcium homeostasis in the Wistar rats fed containing variation of phosphor levels. Twenty female Wistar rats at 40 days of age were randomly divided into four groups (A, B, C and D) of five each. The group A was fed diet containing Ca:P ratio = 1.5:1 (diet I/control). The ratio of calcium and phosphorus was 1.5:3 (diet II), 1.5:6 (diet III) and 1.5:9 (diet IV) and were given to the rats in groups B, C, and D, respectively. Each of the rats was placed into individual cages. All of rats were fed diet for 12 weeks and water was provided *ad libitum*. At the end of the study, blood was collected from the heart for calcium and phosphor analysis, while parathyroid glands, kidneys and left femurs were collected and routinely stained with hematoxylin and eosin for histopathological examination. In the present study, the diet containing Ca:P = 1.5:6 caused decrease of blood calcium, whereas the diet containing Ca:P = 1.5:9 caused decrease of blood calcium and increase of blood phosphorus. Histopathological examination of the parathyroid glands of the rats in group A showed normal structure. The parathyroid glands of the rats in groups B, C and D showed vacuoles in principle cells of the parathyroid glands. The increase of the vacuoles in the principle cells of the parathyroid glands was higher than that of rats in groups B, C and D, respectively. Histopathological examination of kidneys of rats in group A showed normal structure, whereas kidneys of rats in groups B and C and D showed metastatic calcification of renale tubules. The kidneys of rats in groups C and D showed metastatic calcification of the inner and outer layers of tubule lumen, atrophy and necrosis in the epithelial cells of renal tubules, fibroblasts proliferation in interstitial cells, and infiltration of mesangial cells. The kidneys of rats in group D showed proliferation in the epithelial cells of the glomeruli as well. Histopathological examination of metaphysis of proximal femurs of rats in group A showed normal structure, whereas metaphysis of proximal femurs of the rats in groups B, C and D had osteoclasts infiltration, and fibroblasts were predominantly seen in the bone cortex. The increase of osteoclasts in the bone cortex in rats in groups B, C and D was higher than that of rats in group A. The fibroblasts proliferation in the bone cortex was higher in rats in groups C and D. Based on the results of the present study, it was concluded that the diet containing Ca:P = 1.5:3 caused decrease of blood calcium and nephrocalcinosis. The diet containing Ca:P = 1.5:6 caused decrease of blood calcium, hyperplasia of parathyroid glands, nephrocalcinosis, acute nephrosis, and fibrous osteodystrophy. The diet containing Ca:P = 1.5:9 caused decrease of blood calcium and increased of blood phosphorus, hyperplasia of the parathyroid glands, nephrocalcinosis, chronic glomerulonephritis and fibrous osteodystrophy.

Key words: bone, kidney, parathyroid gland, phosphorous, Wistar rats

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji respons tulang, ginjal, dan kelenjar paratiroid tikus Wistar yang mengkonsumsi pakan mengandung bervariasi fosfor. Duapuluh tikus betina umur 40 hari secara acak dibagi empat kelompok (A, B, C, dan D), masing-masing lima tikus. Tikus ditempatkan dalam kandang individu, tikus kelompok A diberi pakan I yang mengandung imbang $\text{Ca:P}=1,5:1$, sedangkan imbang Ca:P yang diberikan pada kelompok B, C, dan D berturut-turut adalah $1,5:3$ (pakan II), $1,5:6$ (pakan III), dan $1,5:9$ (pakan IV). Tikus diberi perlakuan pakan selama 12 minggu dan air minum *ad libitum*. Pada akhir penelitian, dilakukan pengambilan darah melalui jantung untuk pemeriksaan kalsium dan fosfor. Selanjutnya tikus dietanasi, tulang femur kiri, ginjal dan kelenjar paratiroid difiksasi dalam formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologis. Tikus yang diberi pakan III menurunkan kalsium darah, tikus yang diberi pakan IV menurunkan kalsium darah dan meningkatkan fosfor darah. Dari hasil pemeriksaan histopatologis kelenjar paratiroid tikus kelompok A terlihat mempunyai struktur normal, tikus kelompok B, C dan D terlihat vakuola di dalam sitoplasma sel prinsipal kelenjar paratiroid. Jumlah vakuola tertinggi berturut-turut terlihat pada tikus kelompok D, C dan B. Dari hasil pemeriksaan histopatologis ginjal tikus kelompok A terlihat mempunyai struktur normal, tikus kelompok B, C dan D terlihat abnormalitas seperti ada metastase kalsifikasi dalam tubulus renalis. Pada tikus kelompok C dan D terlihat metastase kalsifikasi di dalam dan di luar lumen tubulus ginjal, atrofi dan nekrosis sel epitel tubulus ginjal, proliferasi fibroblas dalam jaringan interstitiil, dan meningkatnya jaringan mesangial. Pada tikus kelompok D juga terlihat proliferasi fibroblas dalam sel epitel glomerulus. Gambaran histopatologis tulang tikus kelompok A terlihat mempunyai struktur normal, tikus kelompok B, C dan D terlihat abnormalitas seperti ada peningkatan jumlah osteoklas di bagian korteks metafisis tulang femur proksimal. Peningkatan jumlah osteoklas tertinggi berturut-turut terlihat pada tikus kelompok D, C dan B. Pada tikus kelompok C dan D terlihat abnormalitas seperti ada peningkatan jumlah fibroblas di bagian korteks metafisis tulang femur proksimal. Peningkatan jumlah fibroblas tertinggi berturut-turut terlihat pada tikus kelompok D dan C. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa pakan yang mengandung imbang $\text{Ca:P}=1,5:3$ menyebabkan nefrokalsinosis, imbang $\text{Ca:P}=1,5:6$ menyebabkan hiperplasia kelenjar paratiroid, nefrokalsinosis, nefrosis akut, dan osteodistrofia fibrosa. Pakan yang mengandung imbang $\text{Ca:P}=1,5:9$ menyebabkan hiperplasia kelenjar paratiroid, nefrokalsinosis, glomerulonefritis kronis, dan osteodistrofia fibrosa.

Kata kunci : tulang, ginjal, kelenjar paratiroid, fosfor, tikus Wistar

Pendahuluan

Fosfor merupakan penyusun mineral tulang paling banyak setelah kalsium. Defisiensi fosfor dalam waktu lama akan menyebabkan gangguan metabolisme tulang seperti osteomalasia dan rakhitis. Meskipun demikian mengkonsumsi terlalu banyak pakan yang mengandung fosfor selain dapat menyebabkan hiperfosfatemia, hipokalsemia, dan hiperparatiroid sekunder, juga akan meningkatkan resorpsi tulang, hilangnya massa tulang pada berbagai hewan model, dan meningkatkan risiko terjadinya fraktur tulang (Katsumata *et al.*, 2005; Meleti *et al.*, 2000; Calvo dan Park, 1996;

Karkkainen *et al.*, 1996). Konsumsi fosfor sebesar 2,5 kali lebih tinggi dibanding kalsium akan meningkatkan resorpsi tulang (Katsumata *et al.*, 2005). Konsumsi fosfor tinggi juga menurunkan pembentukan tulang dan meningkatkan apoptosis osteoblas (Stanislaus *et al.*, 2000; Meleti *et al.*, 2000; Kroll 2000; Karkainen *et al.*, 1996). Asupan fosfor tinggi secara langsung meningkatkan proliferasi sel kelenjar paratiroid dan meningkatkan sintesis hormon paratiroid pada tikus maupun manusia (Roussanne *et al.*, 2001; Almanden *et al.*, 1998; Slatopolsky *et al.*, 1996), menyebabkan nefrokalsinosis dan endapan kalsium dalam ginjal (Cockel *et al.*, 2004). Meskipun sejumlah penelitian

mengenai ketidakseimbangan nutrisi yang spesifik terutama kalsium dan fosfor dalam diet sudah banyak dilakukan, tetapi pada kenyataannya perbandingan kalsium dan fosfor dapat ditoleransi oleh spesies tertentu misalnya pada anjing dan kucing (kalsium:fosfor =1:2), kuda (kalsium:fosfor =1:3) (Jubb *et al.*, 1985; Palmer *et al.*, 1993), dan menurut beberapa peneliti, perbandingan kalsium dan fosfor yang ideal adalah 1,2:1 sampai 2:1 (Ullrey and Stowe 1984), 1,4:1 (Banks, 1981), untuk kuda, anjing dan kucing adalah 1:1 (Jubb *et al.*, 1985; Palmer *et al.*, 1993). Oleh karena itu, permasalahan mengenai ketidakseimbangan kalsium dan fosfor dalam pakan dan respon organ yang terlibat dalam sistem homeostasis kalsium ketika diberi diet dengan perbandingan kalsium dan fosfor bervariasi

dipilih sebagai subjek dalam penelitian ini.

Sebagai parameter dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan histopatologis pada kelenjar paratiroid, ginjal dan tulang femur. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang konsumsi pakan yang benar sehingga gangguan kesehatan tulang dan ginjal akibat konsumsi fosfor yang berlebihan atau salah pakan dapat dihindari.

Metode Penelitian

Duapuluh tikus Wistar putih betina, umur 40 hari, dibagi menjadi empat kelompok (A, B, C, dan D), masing-masing lima tikus dan pakan yang mempunyai komposisi (g/100 g pakan) seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi pakan dalam penelitian

Macam bahan yang digunakan	Jumlah bahan (%)			
	I	II	III	IV
Jagung	56,5	54,0	49,0	44,0
Bungkil kacang kedelai	38,5	39,0	40,0	41,0
Molase	3,0	3,0	3,0	3,0
CaCO ₃	0,9	0,9	0,9	0,9
NaH ₂ PO ₄	0,2	2,2	6,2	10,2
Vitamin dan mineral	0,9	0,9	0,9	0,9
Jumlah	100,0	100,0	100,0	100,0

Tikus ditempatkan dalam kandang individu dengan suhu ruang berkisar 22-25°C, diberi pakan sesuai Tabel 1 selama 12 minggu dan air minum secara *ad libitum*, setelah diadaptasikan terhadap lingkungan selama dua minggu. Tikus kelompok A diberi pakan I yang mengandung imbangannya Ca:P=1,5:1 (pakan kontrol), sedangkan imbangannya Ca:P yang diberikan pada tikus kelompok B, C, dan D berturut-turut

adalah 1,5:3 (pakan II), 1,5:6 (pakan III), dan 1,5:9 (pakan IV) selama 12 minggu dan air minum *ad libitum*. Pada akhir penelitian, dilakukan pengambilan darah melalui jantung untuk pemeriksaan kalsium dan fosfor. Selanjutnya tikus dietanasi, tulang femur kiri, ginjal dan kelenjar paratiroid difiksasi dalam formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologis. Pada akhir perlakuan,

tikus dietanasi, kelenjar paratiroid, ginjal dan tulang femur kiri diambil untuk pemeriksaan histopatologis dengan pengecatan hematoxilin dan eosin. Data kalsium dan fosfor darah yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA pola searah yang dilanjutkan dengan uji Duncan's, sedangkan hasil pemeriksaan histopatologis kelenjar paratiroid, ginjal dan tulang femur dianalisis secara diskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Hasil analisis terhadap kalsium darah menunjukkan turunnya kalsium darah pada tikus kelompok D berbeda sangat signifikan dengan tikus kelompok A, B dan C ($P < 0,05$) (Tabel 2). Turunnya kalsium darah pada tikus kelompok C berbeda signifikan dengan tikus kelompok A ($P < 0,05$), tetapi tidak berbeda dengan tikus kelompok B ($P > 0,05$), kalsium dalam darah tikus kelompok B juga tidak berbeda dengan tikus kelompok A ($P > 0,05$) (Tabel 2). Hernandez *et al.* (1996), dan Karkkainen *et al.*

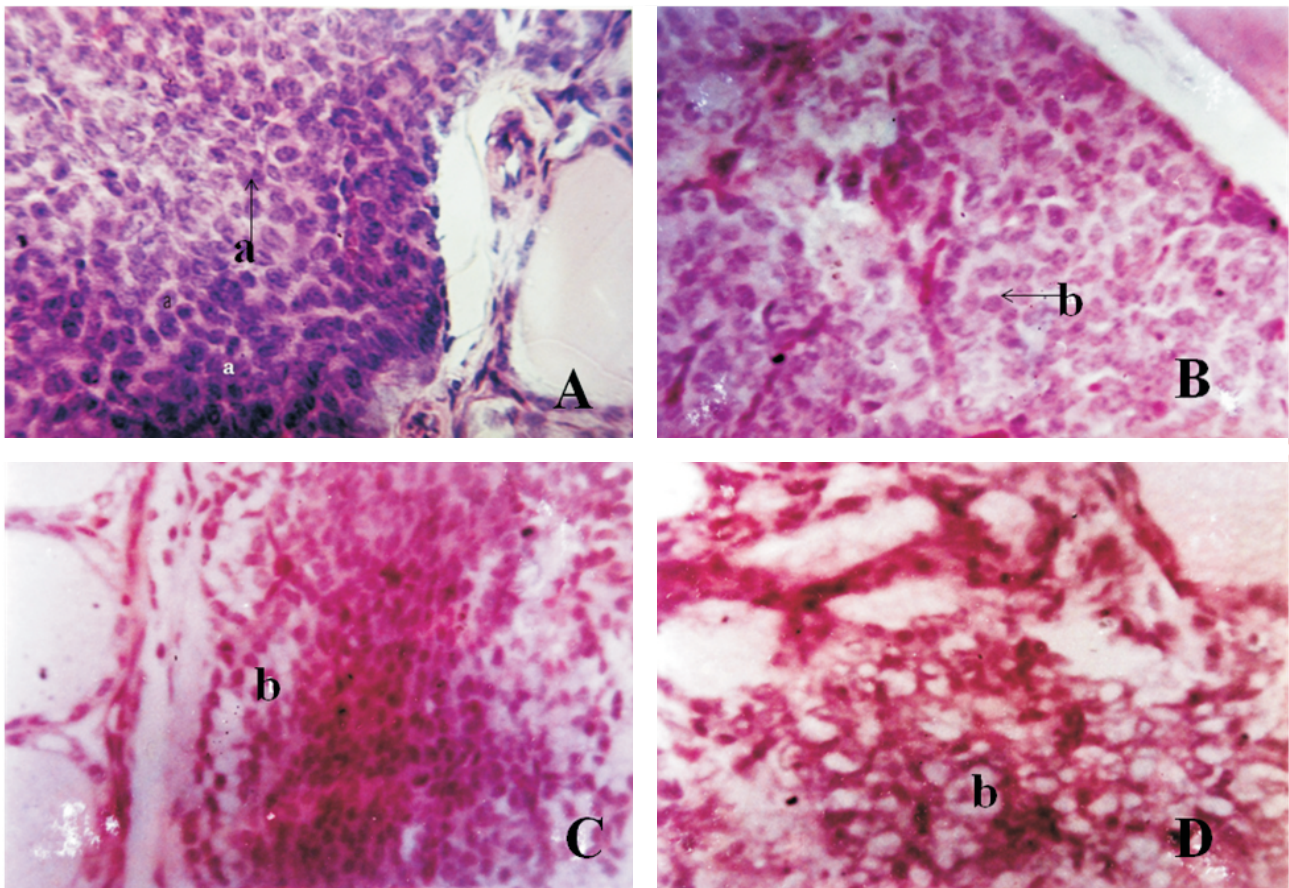
(1996) melaporkan bahwa diet fosfor tinggi meningkatkan fosfor darah, menurunkan kalsium darah, dan meningkatkan hormon paratiroid.

Menurut Huttenen *et al.* (2007), Roussanne *et al.* (2001), Almanden *et al.* (1998), dan Slatopolsky *et al.* (1996) asupan fosfor tinggi secara langsung meningkatkan proliferasi sel paratiroid dan meningkatkan sintesis hormon paratiroid pada tikus maupun manusia. Dari hasil pemeriksaan histopatologis kelenjar paratiroid tikus kelompok A tidak terlihat perubahan (normal), sel prinsipal terlihat kompak dan tidak bervakuola (Gambar 1). Pada tikus kelompok B mulai terlihat ada vakuola di dalam sitoplasma sel prinsipal (Gambar 1). Kelenjar paratiroid tikus kelompok C terlihat sel prinsipal bervakuola jumlahnya bertambah banyak (Gambar 1). Perubahan paling nyata terlihat pada kelenjar paratiroid tikus kelompok D, sebagian besar sitoplasma sel prinsipal diisi vakuola-vakuola (Gambar 1).

Tabel 2. Rerata kalsium darah (mg/dl) dan fosfor darah (mg/dl) tikus Wistar yang diberi pakan dengan imbangannya Ca:P bervariasi selama 3 bulan

Kelompok tikus/ Imbangannya Ca:P	Kalsium	fosfor
Kelompok A (Ca:P= 1,5:1, pakan I/kontrol)	11,92±0,62 ^a	7,32±0,54 ^{aa}
Kelompok B (Ca:P= 1,5:3, Pakan II)	11,46±1,19 ^a	7,36±1,88 ^{aa}
Kelompok C (Ca:P= 1,5:6, Pakan III)	9,46±0,96 ^b	8,89±1,93 ^{aa}
Kelompok D (Ca:P= 1,5:9, Pakan IV)	8,16±2,16 ^c	43,72±21,20 ^{bb}

Keterangan : Angka dalam satu kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata
 Angka dalam satu kolom yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan beda nyata



Gambar 1. A. Histopatologis kelenjar paratiroid tikus kelompok A terlihat (a) sel prinsipal kompak, tidak ada vakuola (Hematoksilin dan eosin, 400x.).
B. Histopatologis kelenjar paratiroid tikus kelompok B terlihat (b) sel prinsipal bervakuola di dalam sitoplasma (Hematoksilin dan eosin, 400x.).
C. Histopatologis kelenjar paratiroid tikus kelompok C terlihat (b) sel prinsipal bervakuola jumlahnya meningkat (Hematoksilin dan eosin, 400x.).
D. Histopatologis kelenjar paratiroid tikus kelompok D terlihat (b) sebagian besar sel prinsipal bervakuola di dalam sitoplasmanya (Hematoksilin dan eosin, 400x.).

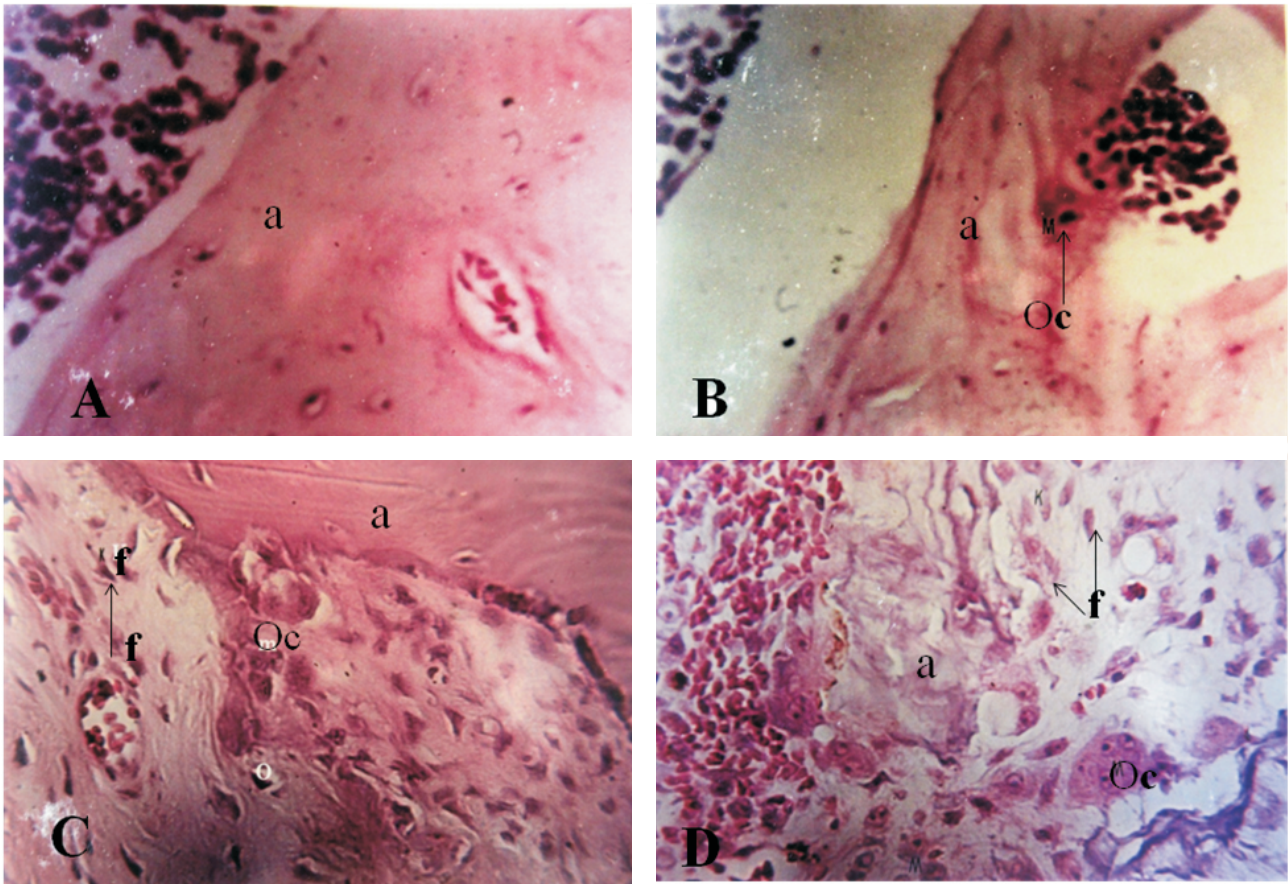
Menurut Capen (1993) dalam keadaan fisiologis, sel prinsipal normal berada dalam keadaan tidak aktif atau berbentuk sel prinsipal terang. Banks (1981) melaporkan bahwa sel prinsipal terang berbentuk kuboid atau poliglional, mengandung banyak granul glikogen dan lipid, inti besar tercat terang, sedangkan sel prinsipal yang aktif mensekresikan hormon paratiroid adalah sel prinsipal gelap ditandai sedikitnya jumlah granul glikogen dan lipid, inti sel

lebih kecil dibandingkan sel prinsipal terang. Menurut Capen (1993) dan Banks (1981), rendahnya kalsium dalam darah akan merangsang kelenjar paratiroid untuk memproduksi dan mensekresikan hormon paratiroid, sel prinsipal mengalami hipertrofi dan akhirnya hiperplasia, sitoplasma bertambah luas, rongga perivaskuler menyempit, mengandung sedikit lipid, terlihat kurang eosinofilik dan bervakuola. Fitzpatrick dan Bilezikian (1999)

dan Buckwalter *et al.* (1996) melaporkan bahwa untuk mengendalikan homeostasis Ca, hormon paratiroid bekerja langsung pada tulang dengan memacu resorpsi tulang dan meningkatkan pembebasan Ca dari tulang. Huttunen *et al.* (2007), Katsumata *et al.* (2005) juga melaporkan bahwa diet fosfor tinggi menyebabkan hiperparatiroid sekunder dan meningkatkan remodeling tulang. Huttunen *et al.* (2007) juga melaporkan bahwa tikus jantan yang diberi pakan mengandung kalsium dan fosfor dengan rasio 1:3 selama delapan minggu meningkatkan hormon paratiroid dalam serum, meningkatkan remodeling tulang, dan meningkatkan jumlah osteoklas. Menurut Seeman (2003) dan Bourrin *et al.* (2000) remodeling tulang yang berlebihan memicu hilangnya tulang, penipisan tulang korteks, dan pengeroposan tulang korteks.

Dari hasil pemeriksaan histopatologis tulang tikus kelompok A tidak terlihat osteoblas dan osteoklas pada tulang korteks di bagian metafisis (Gambar 2) memberi gambaran tulang berada dalam fase istirahat. Pada tikus kelompok B mulai terlihat osteoklas dan osteoblas pada tulang korteks di bagian metafisis (Gambar 2), memberi gambaran tulang berada dalam proses remodeling normal. Pada tikus kelompok C terlihat peningkatan osteoklas dibandingkan osteoblas pada tulang korteks di bagian metafisis, sebagian rongga sumsum tulang diisi jaringan fibroblas (Gambar 2), memberi gambaran meningkatnya resorpsi tulang pada proses remodeling tulang. Palmer (1993) dan Jee (1983) melaporkan bahwa dalam fase istirahat, permukaan tulang bebas dari osteoblas dan osteoklas, sedangkan pada proses remodeling tulang normal ditandai oleh terjadinya

keseimbangan aktivitas resorpsi dan pembentukan tulang. Dilaporkan Buur (2002) dan Parfitt (2002) bahwa siklus remodeling tulang dimulai dari fase aktivasi yang melibatkan interaksi antara sel prekursor osteoblas dengan osteoklas yang memicu diferensiasi, migrasi dan fusi osteoklas multinuklear, kemudian diikuti fase resorpsi, osteoklas melekat pada permukaan tulang yang sudah termineralisasi dan menginisiasi resorpsi tulang (Teitelbaum, 2006). Menurut Buur (2002), Parfitt (2002), dan Teitelbaum (2000 dalam siklus remodeling tulang, setelah terjadi fase resorpsi dan setelah osteoklas melepaskan diri dari permukaan tulang yang sudah diresorpsi dan bergerak ke tempat resorpsi baru, di bagian tulang yang sudah diresorpsi dan ditinggalkan osteoklas ditempati oleh osteoblas untuk pembentukan tulang baru. Palmer (1993) dan Jee (1983) melaporkan bahwa dalam fase resorpsi tulang tersifat dengan adanya lakuna Howship's yang berisi osteoklas atau ada osteoklas di dekat lakuna Howship's. Pada tikus yang diberi pakan IV terlihat dominasi osteoklas dan fibroblas pada tulang korteks di bagian metafisis, rongga sumsum tulang didominasi jaringan fibroblas (Gambar 2), memberi gambaran terjadi osteodistrofia fibrosa. Katsumata *et al.* (2005) dan Huttunen *et al.* (2007) melaporkan bahwa diet fosfor tinggi secara signifikan meningkatkan jumlah osteoklas paralel dengan semakin tingginya fosfor dalam pakan, dan meningkatkan remodeling tulang. Dilaporkan oleh Toyoda *et al.* (2004) bahwa diet fosfor tinggi menyebabkan hiperparatiroid sekunder, meningkatkan aktivitas osteoklas untuk meresorpsi tulang, dan menyebabkan proliferasi jaringan fibroblas di antara spikulum tulang trabekula. Lotinun *et al.* (2005) melaporkan bahwa



Gambar 2. A. Histopatologis tulang tikus kelompok A, Tulang korteks (a) terlihat kompak, padat (Hematoksilin dan eosin, 400x.).
B. Histopatologis tulang tikus kelompok B, Tulang korteks (a) di bagian metafisis femur proksimal terlihat ada osteoklas (Oc) (Hematoksilin dan eosin, 400x.).
C. Histopatologis tulang tikus kelompok C. Tulang korteks (a) di bagian metafisis femur proksimal terlihat osteoklas (Oc) lebih banyak dibanding osteoblas (o) Sebagian sel tulang digantikan jaringan fibroblas (f) (Hematoksilin dan eosin, 400x.).
D. Histopatologis tulang tikus kelompok D. Tulang korteks (a) di bagian metafisis femur proksimal didominasi osteoklas (Oc), sebagian besar sel tulang digantikan jaringan fibroblas (f) (Hematoksilin dan eosin, 400x.).

peningkatan hormon paratiroid secara kronis memicu proliferasi fibroblas khusus, suatu fibroblas yang setelah migrasi ke permukaan tulang, morfologinya tetap fibroblas tetapi aktivitasnya menyerupai osteoblas, keberadaannya ditandai dengan ditemukannya marker osteoblas seperti osteokalsin, osteonektin, alkalin fosfatase dan

kolagenase. Dilaporkan juga bahwa keberadaan sel fibroblas khusus menunjukkan bahwa prekursor osteoblas tidak dapat berdiferensiasi menjadi osteoblas dewasa. Menurut Lotinun *et al.* (2005) dan Lawrey *et al.* (2008) peningkatan hormon paratiroid secara kronis memicu sel fibroblas khusus mensintesis matriks ekstraseluler dalam jumlah

besar dan memicu terbentuknya fibroblas peritrabekula. Dilaporkan Pun dan Ho (1989) dan Lotinun *et al.* (2003) hormon paratiroid mempengaruhi jumlah populasi fibroblas melalui reseptor paratiroid pada tulang yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi platelet yang berasal dari faktor pertumbuhan *platelet-derivate growth factor* (PDGF). Menurut Lawrey *et al.* (2008) hormon paratiroid menginduksi fibrosis dalam sumsum tulang melalui media PDGF maupun melalui reseptor hormon paratiroid pada *osteoblast lineage cell* dan reseptor hormon paratiroid pada *mast cell* dalam sumsum tulang. Gali *et al.* (2005) dan Pejler *et al.* (2007) melaporkan bahwa *mast cell* menghasilkan dan membebaskan produk yang terlibat dalam perkembangan fibroblas. Menurut Palmer (1991) osteodistrofia fibrosa ditandai oleh proliferasi jaringan fibroblas di bagian tulang yang diresorpsi oleh osteoklas akibat sekresi hormon paratiroid yang berlebihan secara terus menerus.

Hasil pemeriksaan histopatologis ginjal tikus kelompok A tidak terlihat perubahan, sel prinsipal terlihat kompak dan tidak bervakuola (Gambar 3). Pada tikus kelompok B mulai terlihat ada metastase kalsifikasi di dalam lumen tubulus ginjal, sel epitel tubulus menjadi berbentuk pipih dan ada kongesti (Gambar 3). Menurut Dick *et al.* (2005), Mihai dan Fardon (2000), Fitzpatrick dan Bilezikian (1999), dan Buckwalter *et al.* (1996) untuk mempertahankan konsentrasi Ca darah dalam kisaran normal, ketika konsentrasi Ca sedikit menurun di bawah normal, dalam hitungan detik, hormon paratiroid selain bekerja pada sel osteoblas, juga bekerja pada sel tubulus konvolutus proksimalis ginjal untuk meningkatkan reabsorpsi Ca dan menurunkan absorpsi fosfat. Beberapa

peneliti melaporkan bahwa hormon paratiroid yang disekresikan oleh kelenjar paratiroid, berfungsi mengendalikan homeostasis Ca melalui aksi langsung pada tulang dan ginjal, dengan cara meningkatkan pembebasan Ca dari tulang dan mereabsorpsi Ca melalui ginjal (Fitzpatrick and Bilezikian, 1999; Buckwalter *et al.*, 1996). Beberapa peneliti melaporkan bahwa dari jumlah Ca dan P anorganik yang difiltrasi glomerulus, 98-99% Ca dan 80-90% P anorganik dari jumlah yang difiltrasi, 60% Ca direabsorpsi di tubulus proksimalis dan sisanya direabsorpsi di bagian asenden lengkung Henle dan tubulus distalis, sebagian besar P anorganik juga direabsorpsi di tubulus proksimalis dan hanya sebagian kecil P anorganik yang direabsorpsi di tubulus distalis. Confer and Panchiera (1988) melaporkan bahwa bagian ginjal yang paling peka terhadap mineralisasi adalah membran basalis dan epitel tubulus ginjal, dan kapsul Bowmani. Matsuzaki *et al.* (2007) melaporkan bahwa diet fosfor tinggi menstimulasi ekspresi osteopontin dalam tubulus ginjal. Dilaporkan juga bahwa osteopontin adalah komponen matriks yang berperan dalam pembentukan endapan hidroksiapatit yang terutama tersusun dari kalsium dan fosfat. Beberapa peneliti juga melaporkan bahwa tikus yang diberi diet fosfor tinggi menyebabkan nefrokalsinosis (Matsuzaki *et al.*, 2007; Matsuzaki *et al.*, 2004; Cockel *et al.*, 2004; Matsuzaki *et al.*, 2001).

Pada tikus kelompok C terlihat ada metastase kalsifikasi di dalam dan di luar lumen tubulus ginjal, sel epitel tubulus mengalami atrofi dan nekrosis, di dalam jaringan interstitiil terlihat proliferasi jaringan ikat dan peningkatan jaringan mesangial (Gambar 3). Perubahan ginjal pada tikus kelompok C

menunjukkan terjadi tubulus nekrosis akut. Menurut Osborn *et al.* (1972) perubahan pada tubulus ginjal yang berupa atropi dan nekrosis diduga terkait epitel tubulus ginjal mempunyai aktivitas metabolik tinggi sehingga lebih peka terhadap iskemik dibanding glomeruli, pembuluh darah, dan jaringan intersisiil. Iskemik yang berlangsung dalam waktu lama mengakibatkan epitel tubulus ginjal mengalami degenerasi, diikuti nekrosis semua epitel tubulus, dan pengelupasan sel. Dalam penelitian ini adanya deposisi garam kalsium dan fosfat adalah sesuai dengan laporan Cotran *et al.* (1989) bahwa mineralisasi atau deposisi garam kalsium dalam jaringan hidup (metastase kalsifikasi) terjadi karena katabolisme tulang yang meningkat, retensi fosfat dan hiperparatiroid, sedangkan deposisi garam kalsium dalam jaringan mati (distrofik kalsifikasi) terjadi karena sel yang mengalami nekrosis membebaskan kristal tertentu yang dapat memacu deposisi mineral.

Pada tikus kelompok D terlihat ada metastase kalsifikasi di dalam dan di luar lumen tubulus ginjal, sel epitel tubulus mengalami atrofi dan nekrosis, proliferasi sel epitel glomerulus, dan proliferasi jaringan ikat di dalam jaringan intersisiil (Gambar 3). Perubahan ginjal pada tikus kelompok D menunjukkan terjadi glomerulonefritis kronik. Menurut Maxi (1993) glomerulonefritis kronik ditandai penebalan kapsul Bowmani akibat hiperplasia epitel parietal, penebalan membran basalis, dan proliferasi sel mesangial, infiltrasi jaringan fibrosis dalam glomerulus, fibrosis periglomeruler, sebagian besar tubulus yang tidak berfungsi, iskhemia dan atrofi diganti jaringan ikat.

Berdasar hasil penelitian disimpulkan bahwa diet yang mengandung P dua kali lebih banyak

dibanding Ca menyebabkan nefrokalsinosis, diet yang mengandung P empat kali lebih banyak dibanding Ca menyebabkan hiperplasia kelenjar paratiroid, nefrokalsinosis, nefrosis akut, dan osteodistrofia fibrosa, sedangkan diet yang mengandung P enam kali dibanding Ca menyebabkan hiperplasia kelenjar paratiroid, nefrokalsinosis, glomerulonefritis kronis, dan osteodistrofia fibrosa.

Daftar Pustaka

- Almanden, Y., Hernandez, A. and Torregrosa, V. (1998) High phosphate level directly stimulates parathyroid hormone secretion and synthesis by human parathyroid tissue in vitro. *J Am Soc Nephrol.* 9: 1845-1852.
- Banks, W.J. (1981) *Aplied Veterinary histology*, Williams & Wilkins, Baltimore/London, pp.104-469.
- Bourrin, S., Toromanoss, A., Ammann, P., Bonjour, J.P., Rizzoli, R. (2000) Dietary protein deficiency induces osteoporosis in aged male rats. *J Bone Miner Res.* 15: 1555-1563.
- Buckwalter, J.A., Glimcher, M.J., Cooper, R.R., Recker, R. (1996). Bone biology, part II: formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. *JBSJ Instr. Course Lect.* 45: 387-399.
- Burr, D.B. (2002) Targeted and nontargeted remodeling. *Bone.* 30: 2-4.
- Calvo, M.S. and Park, Y.K. (1996) Changing phosphorus content of the U.S. diet : Potential for adverse effects on bone. *J Nutr.* 126: 1168S-1180S
- Capen, C. C. (1993) Parathyroid glands and calcium regulating hormones, *In Pathology of Domestic Animals*, Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and Palmer, N. (ed), pp. 287-329. Academic Press. Inc. Harcourt Brace Jovanovich Publishers, San Diego.
- Cockel, A. and Belonje, B. (2004) Nephrocalcinosis

- caused by dietary calcium:phosphorus imbalance in female rats develops rapidly and is irreversible. *J Nutr.* 134: 637-640.
- Confer, A.W. and Panchiera, R.J. (1988) Urinary sistem, *In special veterinary pathology*, Thompson (ed.), B.C., Decker Inc. Toronto, pp.437-460.
- Cotrans, R.A., Kumar, V. and Robbins, S.L. (1989) Robbins Pathologic Basis of Disease, 4th ed., W.B., Saunders Company, pp. 416-423.
- Dick, M., Dvine, A., Beilby, J. and Prince, R.L. (2005) Effects of endogenous estrogen on renal calcium and phosphate handling in elderly women. *Am. J. Physiol. Metab.* 288: E430-E435.
- Fitzpatrick, L.A., Bilezikian, J.P. (1999) Parathyroid hormone: structure, function and dynamic actions. In: Seibel MJ, Robbins SP, Bilezikian JP, eds. *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism* San Diego, Calif: Academic Press. 187-202.
- Gali, S.J., Kalesnicoff, J., Grimbaldeston, M.A., Piliponsky, A.M., Williams, C.M., Tsai, M. (2005) Mast cells as tunable effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annu. Rev. Immunol.* 23: 749-786.
- Hernandez, A., Concepcion, M.T., Rodriguez, M., Salido, E., Torres, A. (1996) High Phosphorus diet increases preproPTH mRNA independent of calcium and calcitriol in normal rats. *Kidney Int.* 50: 1872-1878.
- Huttunen, M.M., Tillman, L., Viljakainen, H.T., Tuukkanen, J., Peng, Z.Q., Pekkinen, M., Lamberg-Allardt, J.E. (2007) High dietary phosphate intake reduces bone strength in the growing rat skeleton. *J Bone and Min Res.* 22: 83-92
- Jee, W.S. (1983) The skeletal tissues. *In Histology Cell and Tissue Biology*, 5th ed., Weiss, L. (ed), Elsevier Biomedical New York. pp. 201-255.
- Jubb, K.V.F., Kenneddy, P.C. and Palmer, N. (1985) Pathophysiology of Domestic Animals, 3rd. Ed., Academic Press. Inc. Orlando Sandigo. Pp.2-54.
- Karkkainen, M. and Lamberg-Allardt, C. 1996) An acute intake of phosphate increases parathyroid hormone secretion and inhibits bone formation in young women. *J Bone Miner Res.* 11 :1905-1912.
- Katsumata, S., Masuyama, R., Uehara, M. and Suzuki, K. (2005) High-phosphorus diet stimulates receptor activator of nuclear factor- κ B ligand mRNA expression by increasing parathyroid hormone secretion in rats. *British Journal of Nutrition.* 94: 666-674.
- Lawrey, M.B., Lotinun, S., Leontovich, A.A., Zhang, M., Maran, A., Shogren, K.L., Palama, B.K., Marley, K., Iwaniec, U.T. And Turner, R.T. (2008) Osteitis fibrosa is mediated by platelet-derived growth factor-A via a phosphoinositide 3-kinase-dependent signaling pathway in arat model for chronic hyperparathyroidism. *Endocrine.* 149: 5735-5746.
- Lotinun, S., Sibonga, J.D., Turner, R.T. (2005) Evidence that the cells responsible for marrow fibrosis in rat model for hyperparathyroidism are preosteoblasts. *Endocrinology.* 146:4074-4081.
- Lotinun, S., Sibonga, J.D., Turner, R.T. (2003) Triazolopyrimidine (Trapidil), a platelet-derived growth factor antagonist, inhibits parathyroid bone disease in a animal model for chronic hyperparathyroidism. *Endocrinology.* 144:2000-2007.
- Matsuzaki, H., Katsumata, S, Uehara, M., Suzuki, K. and Miwa, M. (2007). High-phosphorus diet induced osteopontin expression of renal tubules in rats. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 41: 178-183.
- Matsuzaki, H., Masuyama, R., Uehara, M., Nakamura, K. and Suzuki, K. (2004) Effect of simultaneous increases in dietary phosphorus and magnesium concentrations on nephrocalcinosis and kidney function in female rats. *Magnes Res.* 17: 14-19.
- Matsuzaki, H., Masuyama, R., Uehara, M., Nakamura, K. and Suzuki, K. (2001) Greater effect of dietary potassium tripolyphosphate than of potassium dihydrogenphosphate on nephrocalcinosis and proximal tubular function

- in female rats from the intake of a high-phosphorus diet. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 119: 1423-1431, 1989.
- Maxi, M.G. (1993) The urinary sistem. In *Pathology of Domestic Animals*. Jubb, KVF., Kennedy, P.C., and Palmer, N. (ed) Academic Press, Inc. Harcourt Brace Jovanovich Publishers, San Diego, pp. 343-389.
- Meleti, Z, Shapiro, IM, Adam, CS. (2000) Inorganic Phosphate induces apoptosis of osteoblast-like cells in culture. *Bone.* 7: 359-366.
- Mihai, R. and Faradon, J.R. (2000) Parathyroid disease and calcium metabolism. *Britis Journal of Anaesthesia*, 85: 29-43.
- Osborn, C.A., Low, D.G. and Finco, D.R. (1972) Canine and feline urology, WB saunders Company, Philadelphia, pp.127-135, 165-169, 214-219.
- Palmer, N. (1991) Bones and Joints. In *Pathology of Domestic Animals*. Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and Palmer, N. ed. Academic Press., Inc., Harcourt Brace Jovanovich publishers, San Diego, pp.1-181.
- Palmer, N. (1993) Bones and Joints. In *Pathology of Domestic Animals*. Jubb, K.V.F, Kennedy, P.C. and Palmer, N. ed. Academic Press., Inc., Harcourt Brace Jovanovich publishers, San Diego, pp.1-181.
- Parfitt, A.M. (2002) Targeted and nontargeted bone remodeling: Relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone.* 30: 5 –7.
- Pejler, G., Abrink, M., Ringvall, M., Wernersson, S. (2007) Mast cell proteases. *Adv Immunol.* 95: 167-255.
- Pun, K.K. And Ho, P.W. (1989) Identification and characterization of parathyroid hormone receptors on dog kidney, human kidney, chick bone and human dermal fibroblast. A comparative study of functional and structure properties. *Biochem J.* 259: 785-789.
- Roussanne, M.C., Lieberherr, M., Souberbielle, J.C., Sarfati, E., Druke, T., Bourdeau, A. (2001) Human parathyroid cell proliferation in response to calcium, NPS R-467, calcitriol and phosphate. *Eur J Clin Invest.* 31: 610-616.
- Seeman, E. (2003) Bone quality. *Osteoporos Int.* 14: S3-S7.
- Slatopolsky, E., Finch, J., Denda, M. (1996) Phosphate restriction prevents parathyroid cell growth in uremic rats. High phosphate directly stimulates PTH secretion in vitro. *J Clin Invest.* 97: 2534-2540.
- Stanislaus, D. (2000) *In vivo* regulation of apoptosis in metaphyseal trabecular bone of young rats by synthetic human parathyroid hormone (1-34) fragment. *Bone.* 27: 209-218.
- Teitelbaum, SL. (2006) Osteoblast, culprits in inflammatory osteolysis. *Arth. Res. Ther.* 201: 1-8.
- Teitelbaum, S.L. (2000) Bone resorption by osteoclasts. *Science.* 289: 1504 –1508.
- Toyoda, T., Ochiai, K., Komatsu, M., Kimura, T. and Umemura, T. (2004). Nutritional secondary hyperparathyroidism and osteodystrophia fibrosa in a Hodgson's hawk-eagle (*Spizaetus nipalensis*). *Avian Pathology.* 33: 9-12.
- Ullrey, D.E. and Stowe, H.D. (1984) Comparative animal nutrition, 4th ed., Michigan State University, East Lansing, Michigan, pp. 42-43.