

Perubahan Patologi Seluler Kelenjar Adrenal Tikus Hipertensi dengan Terapi Sel Punca Mesenkimal Sumsum Tulang

(CELLULER STUDY OF ADRENAL GLAND IN HYPERTENSIVE RATS
WITH IMPACT OF BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELLS THERAPY)

Yanse Yane Rumlaklak¹, Erni Sulistiawati², Dondin Sajuthi³,
Sus Derthi Widhyari³, Setyo Widi Nugroho⁴

¹Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
Babakan, Dramaga, Bogor, Jawa Barat. Indonesia 16680
Telepon: (0251) 628448; Email : yanne_drh@yahoo.co.id

²Pusat Studi Satwa Primata,
Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat IPB.

³Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, IPB

⁴Departemen Bedah Saraf,
Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

Abstract

The purpose of this study was to investigate changes in cellular pathology of adrenal gland as impact of bone marrow mesenchymal stem cells (BMMSC) therapy in hypertensive rats. The research used ten male wistar rats with age \pm 10-12 weeks with body weight \pm 200-250 grams which is divided into two different groups ie BMMSc(-) hypertension and BMMSc(+) hypertension. Rats are conditioned with hypertension using Hasbinoto *et al* method. Right nephrectomy and left carotid communic artery ligation are performed on all rats. Rats are injected with deoxycorticosterone acetate (DOCA), then 0.12 % of α -aminopropionitrile fumarate (BAPN) is added into drinking water. 1% NaCl solution was administered as drinking water during the study. Rats were evaluated for particular indicator ie blood pressure then were euthanized for adrenal organs collections. The data that obtained then analysed using qualitative descriptive. The result of the study indicate hypertension therapy using BMMSC can repair cell damaged of the adrenal gland such as hyperplasia, nodules, cysts and cytoplasm vacuolization.

Key words: adrenal gland; *deoxycorticosterone acetate*; rat hypertension; stem cells

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis perubahan patologi seluler kelenjar adrenal sebagai dampak terapi *stem cell mesenchymal* sumsum tulang (BMMSC) pada tikus hipertensi. Penelitian menggunakan sepuluh tikus wistar jantan dengan umur \pm 10-12 minggu dan bobot badan \pm 200-250 g yang terbagi menjadi dua kelompok yang berbeda yaitu hipertensi BMMSc (-) dan BMMSc (+). Tikus dikondisikan hipertensi menggunakan metode Hasbinoto. Nefrektomi kanan dan ligase arteri *carotid communis* dilakukan pada semua tikus. Tikus disuntik dengan *deoxycorticosterone acetate* (DOCA), kemudian 0,12% *aminopropionitrile fumarate* (BAPN) ditambahkan ke dalam air minum. Larutan NaCl 1% diberikan sebagai air minum selama penelitian. Evaluasi tekanan darah hipertensi dilakukan, kemudian tikus-tikus percobaan dikorbankan nyawanya dengan cara euthanasia untuk koleksi organ kelenjar adrenal. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan terapi hipertensi dengan menggunakan BMMSC dapat memperbaiki sel yang rusak dari kelenjar adrenal seperti hiperplasia, nodul, kista dan vakuolisasi sitoplasma.

Kata-kata kunci: *deoxycorticosterone acetate*; tikus hipertensi; kelenjar adrenal; sel punca.

PENDAHULUAN

Dalam keadaan hipertensi, kelenjar adrenal merupakan salah satu organ yang berperan dalam regulasi tekanan darah. Hipertensi dapat menyebabkan komplikasi dan gangguan berupa kerusakan dan perubahan organ pada jantung, otak, ginjal, kelenjar adrenal dan pembuluh darah (Nadar dan Lip, 2009; Nafrialdi 2007). Kelenjar adrenal pada hewan terdiri dari dua bagian yaitu bagian korteks dan medulla. Keduanya merupakan dua organ endokrin yang berbeda baik secara morfologi dan fungsi maupun juga asal embrioniknya (McGavin dan Zachary, 2007). Korteks dan medulla menunjang dalam ketahanan hidup dan kesejahteraan, namun korteks yang esensial untuk kehidupan. Kehilangan hormon adrenokortikoid dapat menyebabkan kematian (Sjakoer *et al.*, 2011). Korteks adrenal mensintesis hormon steroid yaitu mineralokortikoid yang menghasilkan hormon *aldosterone* dan *deoxycorticosteron*. Kedua hormon itu dibentuk pada zona glomerulosa korteks adrenal. Hormon ini mengatur keseimbangan elektrolit dengan meningkatkan retensi natrium dan ekskresi kalium. Aktivitas fisiologi selanjutnya membantu dalam mempertahankan tekanan darah normal dan curah jantung (Don dan Lo 2007).

Banyak bukti penelitian yang telah dilakukan yang menunjukkan banyaknya perubahan tingkat seluler jaringan kelenjar adrenal yang ditemukan pada kasus hipertensi. Abnormalitas jaringan yang terlihat adalah seperti hiperplasia, hipertropi, *cysts*, nekrosis sel, *cytoplasm vacuolization* dan nodul-nodul. Boulkroun *et al.* (2010) melaporkan peningkatan kejadian hiperplasia pada zona glomerulosa pada 17 dari 25 pasien hipertensi sekunder. Juga ada peningkatan nodul-nodul pada korteks. Kacem *et al.* (2009) menyatakan sel hiperplasia yang berdifusi dan nodul-nodul pada zona fasciculata pada kedua adrenal pada dua pasien hipertensi. Sel-sel memiliki sitoplasma berwarna hijau gelap yang mengandung pigmen lipofuscin. Pada adrenal juga ditemukan sarang sel yang tersebar dengan sitoplasma eosinofilik kompak. Banyak lobulus *intermix* yang tersusun dari jaringan adiposa, dan adanya fokus hematopoietik yang memisahkan korteks.

Kemajuan mutakhir dalam bidang penelitian *stem cells* telah dikonfirmasi berpotensi untuk regenerasi jaringan yang rusak. Selama beberapa dekade terakhir,

banyak penelitian yang dilakukan untuk menilai potensi berbagai sel punca atau sel progenitor. Sel punca yang paling sering digunakan dalam transplantasi adalah bentuk sel mononukleus sumsum tulang atau *bone marrow mesenchymal stem cells* (BMMSC) karena BMMSC memiliki banyak keunggulan yaitu mudah diisolasi, imunogenisitas rendah, dapat diperbanyak secara *ex vivo* dan dimodifikasi secara genetik (Yuliana *et al.*, 2012). Sumber *stem cells* mesenkimal terbanyak yaitu jaringan adipose, daerah tali pusat, dan sumsum tulang (Amin 2013), juga dapat diperoleh dari membran sinovium, cairan synovial dan otot (Lubis *et al.*, 2012). Sebuah studi oleh Sakaguchi *et al.* (2005) membandingkan sifat sel induk mesenkimal yang diisolasi dari sumsum tulang, sinovium, periosteum, otot rangka dan jaringan adiposa, dan hasilnya menunjukkan bahwa kemampuan ekspansi sel induk mesenkimal dari sumsum tulang memiliki kemampuan ekspansi yang bagus. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisa perubahan patologi seluler kelenjar adrenal sebagai dampak terapi *stem cell mesenchymal* sumsum tulang (BMMSC) pada tikus hipertensi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini didesain secara eksperimental laboratorik dengan rancangan *post test only control group* secara *in vivo*. Seluruh prosedur dalam penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor dengan nomor 07-2015 RSHP FKH – IPB. Subjek penelitian adalah sepuluh ekor tikus wistar jantan dengan umur $\pm 10-12$ minggu dan bobot badan $\pm 200-250$ g diaklimatisasi selama 14 hari. Tikus dibagi dalam dua perlakuan secara acak, yaitu kelompok A (hipertensi tanpa *treatment* BMMSC yang selanjutnya disebut hipertensi kontrol) dan kelompok B (hipertensi dengan *treatment* BMMSC).

Induksi Hipertensi pada Hewan Coba

Kondisi hipertensi pada penelitian ini dilakukan dengan mengikuti metode Hashimoto *et al.* (1980). Sebelum operasi, semua tikus dianestesi secara intraperitoneal. Tindakan *nefrektomi dextra* dan ligasi arteri *carotis communis* kiri dilakukan pada semua tikus. Satu minggu pascaoperasi, tikus diinjeksi

deoxycorticosterone acetate (DOCA) secara subkutan dua kali seminggu, diberikan selama penelitian. Minggu kedua pascaoperasi ditambahkan *â-aminopropionitrile* (BAPN) dengan konsentrasi 0,12% (standar diet laboratorium) dalam pakan. Larutan NaCl 1% diberikan dalam air minum selama penelitian. Induksi hipertensi ini dilakukan selama 12 minggu.

Menilai Keberhasilan Induksi Hipertensi pada Hewan Coba

Dalam menilai keberhasilan induksi hipertensi dilakukan pengukuran tekanan darah tikus setiap minggu dengan metode *tail-cuff auto-pickup*, tanpa anestesi.

Penyuntikan *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells* (BMMS) in Vivo

BMMS disuntikkan ke dalam pembuluh darah tikus kelompok hipertensi dengan terapi BMMS melalui vena kursor lateralis sebanyak 5×10^6 sel dalam media kultur 3ml.

Tindakan akhir penelitian

Penilaian terhadap *stem cells* dilakukan DUA minggu pasca transplantasi *stem cells*. Prosedur yang dilakukan adalah tikus dianestesi dengan kombinasi *ketamine* HCl 10% dan *xylazine* HCl 10% dengan menggunakan dosis induksi. Tikus diletakkan dengan posisi *dorsal recumbency*, dan dilanjutkan dengan nekropsi. Koleksi kelenjar adrenal dengan larutan fiksasi formadehid 10% untuk pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan Hematoksin-eosin (HE).

Evaluasi histopatologi

Preparat sampel organ kelenjar adrenal yang telah diwarnai dievaluasi perubahan tingkat seluler hiperplasia, *cytoplasma vacuolization*, *cycts*, nodul, hipertropi, kongesti, hemoragi, atropi. Pemeriksaan mikroskopik dilakukan dengan menghitung jumlah masing-masing perubahan di kapsul, dan korteks adrenal yang meliputi zona glomerulosa, zona fasikulata, zona retikularis dan medulla pada 10 lapang pandang. Cara melakukan skoring adalah dengan menggunakan metode skoring dari Mordue *et al.* (2001) yaitu dengan mengamati perubahan pada bagian-bagian korteks dan medulla. Perubahan seluler yang ditemukan pada zona glomerulosa, zona fasikulata dan zona retikularis dan medulla, diberi skor (-) bila tidak ditemukan perubahan seluler, skor (+) bila

akumulasi/ presentasi perubahan dibawah 30% dari daerah yang diamati, skor (++) bila akumulasi/ presentasi perubahan antara 30-70% dari daerah yang diamati dan skor (+++) bila akumulasi/ presentasi perubahan lebih dari 70% dari daerah yang diamati.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan data primer dan data sekunder. Data primer dalam penelitian ini mencakup evaluasi preparat histopatologi kelenjar adrenal. Parameter yang dievaluasi adalah perubahan tingkat seluler yang terjadi pada kelenjar adrenal, sedangkan data sekunder dalam penelitian ini adalah data hipertensi. Semua data dikumpulkan dan dianalisis secara deskriptif kualitatif (Mordue *et al.* 2001).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penilaian Keberhasilan Induksi Hipertensi Tikus

Hasil evaluasi tekanan darah tikus di akhir minggu ke-12 pada kelompok hipertensi kontrol dan hipertensi dengan terapi BMMS adalah 171/128 mmHg dan 171/130 mmHg, dengan rata-rata tekanan arteri 143 mmHg dan 144 mmHg (Nugroho 2017). Berdasarkan hasil tersebut, hipertensi berhasil dikondisikan pada kedua kelompok tikus dalam penelitian ini..

Diet garam berlebih secara kronis dapat menghasilkan hipertensi pada tikus yang secara morfologi mirip hipertensi pada manusia (Badyal *et al.* 2003). Lebih lanjut, Badyal *et al.* (2003) juga mengemukakan bahwa hipertensi asupan garam tinggi telah diproduksi pada tikus, kelinci dan anak ayam dengan mengganti air minum dengan natrium klorida 1-2% selama 9-12 bulan. Namun asupan garam yang tinggi bersamaan dengan nefrektomi unilateral menghasilkan hipertensi yang dipercepat hanya dalam waktu 3-4 minggu. Ligasi arteri karotis bertujuan untuk meningkatkan turbulensi aliran darah (Nugroho 2017). Induksi *deoxycorticosterone acetate* (DOCA) pada tikus menyebabkan retensi natrium dan air dalam tubuh karena meningkatnya tekanan pada ginjal.

Penilaian Perubahan Tingkat Seluler pada Organ Kelenjar Adrenal

Pemeriksaan mikroskopik kelenjar adrenal kelompok hipertensi kontrol dan kelompok hipertensi BMMS ditemukan delapan

perubahan seluler yaitu hiperplasia, *cytoplasmic vacuolization*, hipertropi, nodul-nodul, kongesti, hemoragi, *cysts* dan atropi. Ini sesuai dengan Boulkroun *et al.* (2010) dan Kacem *et al.* (2009), melaporkan bahwa abnormalitas jaringan yang ditemui pada hipertensi adalah hiperplasia, hipertropi, *cysts*, nekrosis sel, *cytoplasm vacuolization*, dan nodul-nodul.

Perubahan yang dominan terjadi pada kedua kelompok adalah hiperplasia, *cytoplasm vacuolization* dan *cyst* (Gambar 1 dan Tabel 1). Hiperplasia ditemukan pada semua zona pada korteks dan medulla adrenal. *Cysts* dan *cytoplasm vacuolization* dominan ditemukan pada zona retikularis dan sedikit di zona fasikulata.

Pada kelompok hipertensi BMMSC, hiperplasia dijumpai menyebar lebih banyak dan semua zona pada korteks dan juga medulla. Pada kelompok hipertensi kontrol hanya dijumpai hiperplasia pada zona yg lebih terbatas dan jumlahnya lebih sedikit (Tabel 1). *Cytoplasm vacuolization* dan *cyst* masih ditemukan pada kelompok hipertensi BMMSC dalam skoring yang lebih sedikit dibandingkan pada kelompok hipertensi kontrol. HiperPlasia, *cytoplasmic vacuolization*, dan *cysts* merupakan reaksi awal sel terhadap stres fisiologi berlebihan atau suatu rangsangan yang patologi menyebabkan terjadinya keadaan baru yang berubah yang mempertahankan kelangsungan hidup sel (Guyton dan Hall, 2006).

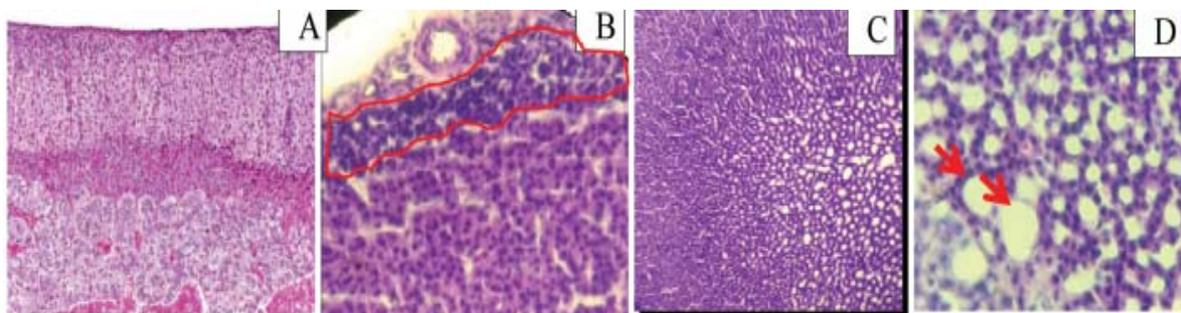
Hiperplasia dalam penelitian ini terlihat seperti ada penumpukan sel-sel di korteks pada zona glomerulosa, fasikulata dan retikularis sehingga zona-zona tersebut menjadi lebih tebal dari normalnya. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan temuan hiperplasia pada korteks adrenal dengan karakteristik penumpukan sel pada zona-zona dalam korteks adrenal sehingga menjadi lebih tebal dibanding normalnya (Biglieri *et al.*, 1972; Otsuka *et al.*,

2000; Kacem *et al.*, 2009; Boulkroun *et al.*, 2010).

Hiperplasia adalah meningkatnya jumlah sel dalam jaringan atau organ sehingga jaringan atau organ menjadi lebih besar ukurannya dari normal. Pada hipertensi, hiperplasia yang terjadi merupakan hiperplasia fisiologik kompensasi. Hiperplasi dapat terjadi dan ditemui pada sel yang dirangsang dengan peningkatan beban kerja pensinyalan oleh hormon, atau sinyal yang dihasilkan secara lokal sebagai respons terhadap penurunan kepadatan jaringan. Hiperplasia adalah respon adaptasi sel pada jaringan tubuh (Guyton dan Hall 2006).

Perubahan hiperplasia terjadi karena adanya kelebihan produksi aldosteron dan adrenokortikotropik (ACTH). Kelebihan aldosteron (aldosteronisme) merupakan suatu keadaan yang memengaruhi kadar kalium, natrium, bikarbonat dan klorida dalam darah, yang menyebabkan tekanan darah tinggi, kelemahan dan kadang kelumpuhan periodik (Price dan Wilson, 2006). Peningkatan hormon ACTH terjadi karena tidak tercukupinya sintesis kortisol karena defisiensi 21-hydroxylase sehingga hipotalamus dan hipofisis mensekresi ACTH berlebih. Sekresi ACTH dalam jumlah besar menyebabkan hiperplasia korteks adrenal dan hipersekresi kortisol. Sumber kelainan sekresi kortisol dapat berasal dari hipotalamus. Fungsi abnormal dari hipotalamus adalah meningkatkan CRH dan tingginya stimulasi ACTH (Guyton dan Hall 2006).

Cytoplasmic vacuolization merupakan akumulasi cairan atau nekrobiosis terbatas sehingga terbentuk (seperti) “kolam” dalam sel yang berisi lemak. *Cytoplasmic vacuolization* merupakan cedera awal pada sel yang masih reversibel. Perubahan sel ini muncul ketika sel tidak mampu mempertahankan homeostatis ionik dan cairan (Siahaan *et al.*, 2016) yang ditandai dengan sel-sel epitel tubulus yang membesar dan secara mikroskopis terlihat



Gambar 1. Kelenjar adrenal normal (A); hiperplasia (*scribel* merah) (B); *cytoplasm vacuolization* (C) dan *cysts* (panah merah) (D). Pewarnaan HE, Perbesaran 40 kali.

Tabel 1. skoring perubahan seluler yang dominan pada kelompok hipertensi dan kelompok hipertensi dengan terapi BMMSC

Perubahan	No Sampel	Kelompok Hipertensi					No Sampel	Kelompok Hipertensi BMMSC				
		Kap	ZG	ZF	ZR	M		Kap	ZG	ZF	ZR	M
Hiperplasia	A10	-	++	-	+	-	C1	-	+++	+	++	-
	A17	-	++	-	+	-	C13	-	++	-	++	-
	A31	-	+	+	++	-	C16	-	++	+++	+	++
	A35	-	++	+++	++	-	C19	-	++	++	+++	-
	A44	-	+++	-	++	-	C33	-	++	++	++	++
<i>Cytoplasm Vacuolization</i>	A10	-	-	+	-	-	C1	-	-	-	-	-
	A17	-	-	+	+	-	C13	-	-	+	+	-
	A31	-	-	+	+	-	C16	-	-	-	-	-
	A35	-	-	+	+	-	C19	-	-	-	-	-
	A44	-	-	+	+	-	C33	-	-	+	+	-
<i>Cyst</i>	A10	-	-	-	+	-	C1	-	-	-	+	-
	A17	-	-	-	++	-	C13	-	-	-	+	-
	A31	-	-	+	++	-	C16	-	-	-	-	-
	A35	-	-	-	+	-	C19	-	-	-	-	-
	A44	-	-	-	-	-	C33	-	-	-	+	-

Keterangan : Kap = kapsul; ZR = zona glomerulosa; ZF = zona fasciculata; ZR = zona retikularis dan M = medulla

adanya vakuola-vakuola dalam sitoplasma (Siahaan *et al.*, 2016; Chusniati *et al.*, 2008). *Cytoplasmic vacuolization* terjadi karena hipoksia dan gangguan pengaturan energi pada sel selama cekaman stres. Kondisi stres menyebabkan terjadi respons termoregulasi tubuh dalam upaya menurunkan efek stres dan peningkatan penormalan kondisi stres (Tamzil 2014). Dalam kejadian hipertensi, terdapat influks air yang berlebihan, sel berespons membatasi proses nekrobiosis dengan membentuk batas-batas agar proses ini tidak berlanjut, retikulum endoplasma diubah menjadi kantung-kantung yang berisi cairan, yang secara histopatologi terlihat sitoplasma bervakuola (Price dan Wilson, 2006). Vakuolisasi dapat terjadi saat membran sel mengalami fragmentasi akibat organel sitoplasma di cerna oleh enzim (Corwin 2007). *Cytoplasm vacuolization* dapat juga terjadi kelebihan zat kimia dalam tubuh. Kelebihan natrium pada tubuh dapat menimbulkan nekrosis akibat gangguan keseimbangan osmotik sel (Guyton dan Hall, 2006).

Cysts merupakan perubahan lanjutan dari *cytoplasm vacuolization*. Ketika gangguan terus berlangsung, vakuola-vakuola bersatu membentuk vakuola besar yang berisi cairan protein, sel darah merah atau fibrinosa dan

mendorong inti ke tepi, menyebabkan sel pecah dan membentuk *cysts* (Guyton dan Hall, 2006; Chusniati *et al.*, 2008). *Cysts* yang ditemui adalah tahap awal yang ditandai dengan adanya *focus* kecil dari sinusoid sel korteks yang melebar. *Cysts* dapat terjadi akibat hilangnya fungsi sel yang disebabkan oleh hambatan kerja sebagian besar enzim (Corwin 2007).

Dari pengamatan yang dilakukan pada kedua kelompok (kelompok hipertensi BMMSC(-) dan hipertensi BMMSC(+)), terapi sel punca mesenkimal dari sumsum tulang mampu meregenerasi sel pada kelenjar adrenal dengan menurunkan persentase *cytoplasmic vacuolization* dan *cysts*. Selain itu, terapi sel punca mesenkimal dari sum-sum tulang dapat memperbaiki (*repair*) sel yaitu sel membelah dan berdiferensiasi sehingga terjadi penumpukan sel-sel baru pada korteks adrenal (hiperplasia). Saat sel punca mengalami proliferasi dan diferensiasi menghasilkan faktor pertumbuhan (*growth factors*) dan sitokin. Dalam proses penyembuhan, sitokin berperan dalam berkomunikasi dan menstimuli sel itu sendiri (efek autokrin) dan sel lainnya (efek parakrin) sehingga aktif dalam proses penyembuhan (*recovery/ repair*) (Widjiati *et al.*, 2015; Rantam *et al.*, 2014).

SIMPULAN

Studi tingkat seluler pada tikus model hipertensi dengan terapi *bone marrow mesenchymal stem cells* (BMMSC) menunjukkan tiga perubahan utama pada kelenjar adrenal yaitu hiperplasia, *cytoplasm vacuolization*, dan *cyst*. Dampak terapi BMMSC dapat memperbaiki morfologi seluler pada kelenjar adrenal yang mengindikasikan keberhasilan terapi hipertensi.

SARAN

Perlunya melanjutkan dengan pemeriksaan imunohistokimia untuk memperoleh informasi yang lebih jelas tentang karakterisasi dari *bone marrow mesenchymal stem cells* dalam memperbaiki morfologi sel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada dr. Setyo Widi Nugroho, Sp. BS(K) yang telah mengizinkan penulis ikut dalam penelitian kolaboratif dalam tema besar penelitian disertasi dan menggunakan data penelitiannya sebagai data sekunder.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin HZ. 2013. Terapi *stem cell* untuk Infark Miokard Akut. *E-Jurnal Kedokteran Indonesia*. 1(2):156-164.
- Badyal DK, Lata H, Dadhich AP. 2003. Animal Model of Hypertension and Effect of Drugs. *Indian Journal of Pharmacology* 35: 349-362.
- Biglieri E, Stockigt J, Schambelan M. 1972. Adrenal mineralocorticoids causing hypertension. *The American journal of medicine*. 52(5): 623-632.
- Boulkroun S, Samson-Couterie B, Dzib JG, Lefebvre H, Louiset E, Amar L, Plouin PO, Lalli E, Jeunemaitre X, Benecke A, Meatchi T, Zennaro MC. 2010. Adrenal Cortex Remodeling and Functional Zona Glomerulosa Hyperplasia in Primary Aldosteronism. *Hypertension* 56: 885-892.
- Chusniati L, Huda U, Sugiarti, Yuharni V, Suwanti LT. 2008. Pengaruh Pemberian Biji Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Ayam yang diinfeksi *Ascaridia galli*. *Journal of Poultry Diseases* 1(1): 32-35.
- Guyton AC, Hall JE. 2006. *Textbook of Medical Physiology. 11 Edition*. Pennsylvania. Elsevier Inc,
- Hashimoto N, Handa H, Nagata I, Hazama F. 1980. Experimental inducement of saccular cerebral aneurysms in rats. *No Shinkei Geka*. 8(1); 31-34.
- Kacem M, Moussa A, Khochtali I, Nabouli R, Morel Y, Zakhama A. 2009. Bilateral adrenalectomy for severe hypertension in congenital adrenal hyperplasia due to 11-hydroxylase deficiency: Long term follow-up. *Annales d'Endocrinologie*. 70: 113-118.
- Lubis AMT, Lubis VK. 2012. Review article : Adult Bone Marrow Stem Cells in Cartilage Therapy. *Acta Medica Indonesiana* 44(1): 62-68.
- McGavin MD, Zachary JF. 2007. *Pathology Basic of Veteriner Disease*. Ed ke-4. Missouri (US): Elsevier.
- Mordue DG, Monroy F, Regina ML, Dinarello CA, Sibley LD. 2001. Acute Toxoplasmosis Leads to Lethal Overproduction of cytokines. *Journal of Immunology* 167: 4574-4584.
- Nadar S, Lip G. 2009. *Hypertension*. Oxford University Press Inc, New York.
- Nugroho SW. 2017. Pengaruh *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells* terhadap Pertumbuhan Tunika Muskularis Aneurisma Intrakranial: Uji Eksperimental in Vivo pada Tikus [Disertasi]. Jakarta (ID) : Universitas Indonesia.
- Otsuka F, Ogura T, Kataoka H, Kishida M, Takahashi M, Mimura Y, Yamauchi T, Makino H. 2000. Differential effect of chronic inhibition of calcium channel and angiotensin II type 1-receptor on aldosterone synthesis in spontaneously hypertensive rats. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 74(3): 125-136.
- Rantam F, Ferdiansyah, Purwati. 2014. *Stem Cells : Mesenchymal, Hematopoetik dan Model Aplikasi. Edisi Kedua*. Surabaya. Airlangga University Press,

- Sakaguchi Y, Sekiya I, Yagishita K, Muneta T. 2005. Comparison of Human Stem Cells Derived From Various Mesenchymal Tissues. *Journal of Rheumatism and Arthritis*. 52(8): 2521-2529.
- Siahaan GS, Lintong PM, Loho LL. 2016. Gambaran Histopatologik Ginjal Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Gentamisin dan diberikan Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L. Poir). *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 4(1).
- Sjakoer NAA, Permatasari N. 2011. Mekanisme *Deoxycorticosterone Acetate* (DOCA)-garam terhadap Peningkatan Tekanan Darah pada Hewan Coba. *El-Hayah* 1(4): 199-213.
- Tamzil, MH. 2014. Stres Panas pada Unggas : Metabolisme, Akibat dan Upaya Penanggulangan. *Wartazoa* 24(2): 57-66.
- Widjiati, Madyawati SP, Rimayanti, Achmad AB. 2015. Terapi Sel Punca Mesenkimal Sumsum Tulang Tikus dalam Meregenerasi Sel Sitotrofoblas Nekrosis yang dipapar *Carbon Black*. *J Veteriner*. 16(2): 265-273.
- Yuliana I, Suryani D, Pawitan JA. 2012. Terapi Sel Punca pada Infark Miokard. *Jurnal Kedokteran Maranatha* 11(2): 176-190