

Diet Fosfor Tinggi Penyebab Osteodistrofia Fibrosa pada Tikus

(HIGH PHOSPHOROUS DIET CAUSED OSTEODISTROFIA FIBROSA IN RATS)

Hartiningsih¹, Raden Wasito²

¹ Bagian Ilmu Bedah dan Radiologi, ² Bagian Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada
Jln. Fauna 2 Kampus UGM Yogyakarta
E-mail: hartiningsih56@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji dampak diet fosfor tinggi pada tulang femur tikus *Sprague Dawley* yang mengkonsumsi kedelai. Sepuluh tikus *Sprague Dawley* betina umur empat minggu secara acak dibagi dua kelompok (PN dan PH), masing-masing lima tikus. Tikus ditempatkan dalam kandang individu dengan suhu ruang berkisar 22-25°C, diberi diet fosfor normal dan air minum aquabidestilata *ad libitum*, untuk adaptasi selama tiga minggu. Pada waktu tikus berumur tujuh minggu, tikus PN diberi diet fosfor normal (mengandung 0,6% kalsium dan 0,4% fosfor), tikus PH diberi diet fosfor tinggi (mengandung 0,6% kalsium dan 3,6% fosfor) selama enam minggu. Pada akhir penelitian, tikus umur 14 minggu dilakukan pengambilan darah melalui pleksus retroorbitalis untuk pemeriksaan kalsium dan fosfor. Selanjutnya tikus dikorbankan nyawanya dengan dieuthanasi, tulang femur kanan difiksasi dalam formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologi. Tikus PH mempunyai kalsium darah lebih rendah dan fosfor darah lebih tinggi yang berbeda sangat signifikan ($P < 0,01$) dengan tikus PN. Hasil pemeriksaan histopatologi tulang femur proksimalis tikus PN terlihat zona osteogenik bagian fisis dan spikulum tulang trabekula di bagian metafisis berbentuk normal, sementara tulang femur distalis tikus PH zona kondrositik dan zona osteogenik bagian fisis terlihat metaplasia fibroblastik yang bersifat difus, spikulum tulang trabekula pada metafisis berbentuk ireguler, proliferasi jaringan fibroblas di antara spikulum tulang trabekula dalam sumsum tulang. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa diet fosfor tinggi menyebabkan osteodistrofia fibrosa.

Kata-kata kunci : fosfor, osteodistrofia fibrosa, kalsium, kedelai

ABSTRACT

The objective of this research was to study the impact of high phosphor diet on the femur of rats consuming soybean. Ten female rats at 4 weeks of age were randomly divided into two groups of five, NP (rats fed with normal phosphor diet) and HP (rat fed with high phosphor diet). Each rats was placed into individual cages at 22-25°C. All rats were given normal diet and water which were provided *ad libitum*. The rats were also adaptation for three weeks before the treatment was given. At seven weeks of age, rats in NP group were fed normal diet (calcium:phosphor=0,6%:0,4%), while rats in HP group were fed high phosphorus diet (calcium:phosphor=0,6%:3,6%) for 6 weeks. At the end of the study, blood was collected from plexus retroorbitalis for calcium and phosphor analysis, while right femur was taken for histopathological examination using hematoxylin and eosin stain. The research results showed that blood of calcium was significantly reduced ($P < 0.01$) in HP group compared with NP group, while blood phosphor was significantly increased ($P < 0.01$) in HP group. Histopathological analysis of the proximalis femur in NP group showed the osteogenic zone of physis and the trabecular bone speculum of metaphysis were normal, while the osteogenic zone of physis and the trabecular bone speculum of metaphysis in HP group were irregular. Fibroblast in trabecular bone speculum of bone marrow were also observed. It can be concluded that high phosphorus diet may cause osteodystrophia fibrosa in rats.

Key words : phosphorous, osteodystrophia fibrosa, calcium, soybean

PENDAHULUAN

Tingginya angka kejadian fraktur tulang selain berkaitan dengan peran utamanya sebagai penahan beban tubuh, defisiensi kalsium akibat kebiasaan mengkonsumsi pakan yang mengandung fosfor tinggi juga dapat menjadi penyebab fraktur tulang. Konsumsi makanan yang mengandung fosfor tinggi seperti berbagai jenis makanan cepat saji dan minuman bersoda, merupakan tipikal diet masyarakat barat sejak 20-30 tahun silam, sampai sekarang banyak diikuti dan dijadikan pola atau gaya hidup masyarakat di negara berkembang termasuk di Indonesia.

Rasio kalsium dan fosfor untuk pembentukan tulang berkisar 1,5 : 1,0 (EFSA, 2005). Penelitian yang dilakukan Calvo (1993) menunjukkan bahwa remaja cenderung mengkonsumsi makanan yang banyak mengandung fosfor tinggi dan kalsium rendah atau mempunyai rasio kalsium terhadap fosfor yang rendah. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa rasio Ca:P rendah dikaitkan dengan turunnya densitas mineral tulang (Brot *et al.*, 1999). McGartland *et al.*, (2003) melaporkan adanya keterkaitan antara asupan fosfor tinggi dengan turunnya densitas mineral tulang. Asupan pakan yang mengandung fosfor tinggi selain menyebabkan hiperfosfatemia, hipokalsemia, dan hiperparatiroid sekunder, juga meningkatkan resorpsi tulang, hilangnya massa tulang pada berbagai hewan model, dan meningkatkan risiko terjadinya fraktur tulang (Calvo dan Park, 1996; Katsumata *et al.*, 2005).

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). Tingginya hormon paratiroid meningkatkan laju pembentukan tulang (Kuizon dan Salusky, 2002). Beberapa peneliti lain juga melaporkan bahwa tingginya konsumsi fosfor menstimuli osteoblas (Kanatani *et al.*, 2002), menghambat osteoklas, dan resorpsi tulang oleh osteoklas (Yates, 1991; Kanatani *et al.*, 2003). Namun, Katsumata *et al.* (2005) melaporkan bahwa konsumsi fosfor 2,5 kali lebih tinggi dibanding kalsium meningkatkan jumlah osteoklas dan meningkatkan resorpsi tulang. Konsumsi fosfor tinggi juga menurunkan pembentukan tulang dan meningkatkan apoptosis osteoblas (Meleti *et al.*, 2000; Karkainen dan Lamberg-Allardt, 1996).

Oleh karena masih adanya kontroversi tentang pengaruh asupan fosfor tinggi terhadap perubahan aktifitas resorpsi tulang oleh osteoklas dan pembentukan tulang oleh osteoblas, maka tujuan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek diet fosfor tinggi, yakni enam kali dari jumlah kalsium terhadap tulang femur tikus *Sprague Dawley* yang mengkonsumsi kedelai. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang konsumsi pakan yang benar sehingga risiko terjadi fraktur tulang akibat konsumsi fosfor yang berlebihan atau salah pakan dapat dihindarkan.

METODE PENELITIAN

Sepuluh tikus *Sprague Dawley* betina umur empat minggu, pakan yang mengandung fosfor normal dan fosfor tinggi digunakan dalam penelitian ini. Komposisi pakan untuk diet fosfor normal (g/100 g pakan) yang diberikan terdiri dari 57% tepung jagung, 38% tepung kedelai, 3% molase, 0,9% CaCO_3 , 0,2% NaH_2PO_4 , dan 0,9% vitamin mineral, dan komposisi pakan untuk diet fosfor tinggi terdiri dari 44% tepung jagung, 41% tepung kedelai, 3% molase, 0,9% CaCO_3 , 10,2% NaH_2PO_4 , dan 0,9% vitamin mineral. Tikus secara acak dibagi menjadi dua kelompok perlakuan (kelompok tikus dengan diet fosfor normal (PN), dan kelompok tikus dengan diet fosfor tinggi (PH), masing-masing lima tikus. Setiap tikus ditempatkan dalam kandang individu dengan suhu ruang berkisar 22-25°C, diberi diet fosfor normal dan air minum secara *ad libitum*. Tiga minggu pasca adaptasi, tikus PN diberi diet fosfor normal, sedangkan tikus PH diberi diet fosfor tinggi selama enam minggu. Pada akhir penelitian dilakukan pengambilan darah melalui pleksus retroorbitalis untuk pemeriksaan kalsium dan fosfor. Setelah tikus dikorbankan nyawanya dengan cara dieuthanasi, femur kanan difiksasi dalam formalin 10%, kemudian didekalsifikasi sesuai metode yang dilakukan Wasito (1990), selanjutnya dibuat preparat histopatologi dengan pengecatan hematoksilin dan eosin.

Konsentrasi kalsium dan fosfor darah diperiksa dengan alat *automatic chemistry Beckman Counter synchron Cx9 Pro.*, metode *Arsenazo III*. Gambaran histopatologi tulang dianalisis secara diskriptif, data kalsium dan fosfor darah dianalisis dengan uji-t tidak berpasangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis terhadap konsentrasi kalsium dan fosfor dalam darah tikus yang mengkonsumsi diet fosfor tinggi disajikan pada Tabel 1. Hasil analisis terhadap konsentrasi kalsium dan fosfor dalam darah tikus yang mengkonsumsi diet fosfor tinggi PH (Ca:P=1,5:9) menunjukkan penurunan konsentrasi kalsium dan peningkatan konsentrasi fosfor secara nyata dibanding dengan tikus yang mengkonsumsi diet fosfor normal PN (Ca:P=1,5:1). Tani *et al.* (2007) melaporkan bahwa absorpsi fosfor melalui usus paralel dengan jumlah fosfor yang dikonsumsi. Beberapa peneliti melaporkan bahwa diet fosfor tinggi meningkatkan fosfor darah, menurunkan kalsium darah, dan meningkatkan hormon paratiroid (Tani *et al.*, 2007; Katsumata *et al.*, 2005; Denda *et al.*, 1996). Menurut 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. Didasarkan temuan tersebut menunjukkan bahwa diet fosfor tinggi mungkin meningkatkan hormon paratiroid. Namun demikian, dalam penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan terhadap status hormon paratiroid.

katsumata *et al.*, (2005) melaporkan bahwa diet fosfor tinggi menyebabkan hiperparatiroid sekunder dan meningkatkan remodeling tulang. Menurut Burr (2002) dan Parfitt (2002) 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). Takahashi *et al.*, (1988) melaporkan bahwa hormon paratiroid meningkatkan resorpsi tulang terutama melalui

mekanisme yang diperantarai oleh osteoblas. Beberapa peneliti melaporkan bahwa hormon paratiroid menstimulasi osteoblas untuk memproduksi *receptor activator of NF- κ B ligand* (RANKL) (Kitasawa *et al.*, 2003; Hofbauer *et al.*, 1999). *Receptor activator of NF- κ B ligand* selanjutnya berinteraksi dengan *receptor activator of NF- κ B* (RANK) yang diekspresikan sel prekursorosteoklas, menstimulasi proliferasi sel prekursor osteoklas menjadi osteoklas (Riggs *et al.*, 2002; Duong dan Rodan, 2001). Katsumata *et al.*, (2005) melaporkan bahwa diet fosfor tinggi (0,6% kalsium: 1,5% fosfor) secara signifikan meningkatkan ekspresi RANKL dan meningkatkan jumlah osteoklas. Dilaporkan Katsumata *et al.*, (2005) dan Huttenen *et al.*, (2007) bahwa diet fosfor tinggi secara signifikan meningkatkan jumlah osteoklas paralel dengan semakin tingginya fosfor dalam pakan, meningkatkan remodeling tulang dan memicu hilangnya tulang, dan menurunkan luas trabekula.

Dari gambaran histopatologi tulang femur distalis tikus PN menunjukkan zona osteogenik bagian fisis, dan spikulum tulang trabekula di bagian metafisis dan diafisis berbentuk normal sesuai dengan yang digambarkan Jee (1983), Doige (1988) dan Palmer (1993). Menurut Jee (1983), Doige (1988) dan Palmer (1993) zona osteogenik bagian fisis dibagi menjadi zona kondrosit istirahat, proliferasi, dan hipertropi yang meliputi maturasi, degenerasi dan kalsifikasi. Dalam keadaan normal, di dalam zona kondrosit istirahat, kondrosit berbentuk sferis, tunggal atau berpasangan. Zona kondrosit proliferasi tersifat dengan sel kondrosit berbentuk pipih dan setelah beberapa kali mitosis berubah bentuk menjadi oval. Setelah masuk zona maturasi sel-sel yang tersifat dengan susunan selnya yang berderet memanjang, tinggi sel menjadi 4-5 kali, volume sel juga membesar sampai 10 kali. Sel-sel tersebut kemudian mengalami kalsifikasi dan menjadi kerangka pembentukan tulang trabekula spongiosa primer di bagian

Tabel 1. Rataan kalsium darah dan fosfor darah tikus *Sprague Dawley* yang mengkonsumsi diet fosfor tinggi selama 6 minggu

Parameter	Kalsium:fosfor normal (1,5:1)	Kalsium: fosfor tinggi (1,5:9)
Kalsium mg/dl	9,28±0,17 ^a	7,44±0,45 ^b
Fosfor mg/dl	5,82±0,54 ^a	7,04±0,92 ^b

Keterangan:

Angka dalam satu baris yang diikuti huruf yang tidak sama menunjukkan beda nyata



Gambar 1. Tulang femur proksimalis tikus *Sprague Dawley* yang mengkonsumsi diet fosfor normal (Ca:P=1,5:1), terlihat zona osteogenik bagian fisis berbentuk normal (a), sumsum tulang didominasi jaringan hematopoietik(b), spikulum tulang trabekula di bagian metafisis berbentuk normal (c) (HE 100X)



Gambar 2. Tulang femur proksimalis tikus *Sprague Dawley* yang mengkonsumsi diet fosfor tinggi (Ca:P=1,5:9), (a) zona osteogenik bagian fisis terlihat metaplasia fibroblastik yang bersifat difus, (b) proliferasi jaringan fibroblas di antara spikulum tulang trabekula dalam sumsum tulang (c) spikulum tulang trabekula pada metafisis berbentuk ireguler (HE 100X)

metafisis setelah bergerak masuk ke dalam zona osteogenik dan sel osteoblastik bergabung di dalamnya (Gambar 1). Gambaran histopatologi tulang femur tikus PH terlihat metaplasia fibroblastik bersifat difus di zona osteogenik bagian fisis, spikulum tulang trabekula di bagian metafisis dan diafisis berbentuk sangat ireguler, ada penambahan jumlah dan ukuran spikulum tulang trabekula pada metafisis, rongga sumsum tulang menjadi lebih sempit, dan sel hematopoietik di antara spikulum tulang trabekula dalam sumsum tulang didominasi jaringan fibroblas (Gambar 2). Gambaran histopatologi tulang femur tikus *Sprague Dawley* yang mengkonsumsi diet fosfor tinggi secara terus menerus memberi gambaran terjadinya perubahan pada pembentukan tulang oleh osteoblas selama proses remodeling tulang. Teitelbaum (2000), Burr (2002) dan Parfitt (2002) melaporkan bahwa dalam siklus remodeling tulang, setelah terjadi fase resorpsi dan setelah osteoklas melepaskan diri dari permukaan tulang yang sudah di resorpsi dan bergerak ke tempat resorpsi baru, di bagian tulang yang sudah diresorpsi dan ditinggalkan osteoklas ditempati oleh osteoblas untuk pembentukan tulang baru. Dalam penelitian ini, adanya metaplasia fibroblastik yang bersifat difus di zona osteogenik bagian fisis dan proliferasi jaringan fibroblas di antara spikulum trabekula memberi gambaran terjadinya osteodistrofia fibrosa. Menurut Gonzales *et al.*, (2002) osteodistrofia fibrosa ditandai oleh adanya peningkatan jumlah

dan ukuran spikulum tulang trabekula pada metafisis, rongga sumsum tulang menjadi lebih sempit, spikulum tulang trabekula dalam sumsum tulang dikelilingi jaringan fibroblas, rongga sumsum tulang atau di antara spikulum tulang trabekula dalam sumsum tulang didominasi jaringan fibroblas. Menurut Palmer (1991) osteodistrofia fibrosa ditandai oleh adanya proliferasi jaringan fibroblas di bagian tulang yang diresorpsi oleh osteoklas akibat sekresi hormon paratiroid yang berlebihan secara terus menerus. 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. Menurut Uzawa *et al.*, (1995) hiperparatiroid sekunder menyebabkan perkembangan fibrosis dalam sumsum tulang dan terjadinya akumulasi fibroblas dalam tulang trabekula. Dilaporkan Lotinun *et al.*, (2005) bahwa 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 penanda 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 Lawry *et al.*, (2008) peningkatan hormon paratiroid secara kronis memicu sel fibroblas khusus mensintesis matriks ekstraseluler dalam jumlah besar dan memicu terbentuknya fibroblas peritrabekula. Dilaporkan oleh Pun dan Ho (1989) dan Lotinun *et al.*, (2003) hormon paratiroid memengaruhi 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 Lawry *et al.*, (2008) hormon paratiroid menginduksi fibrosis dalam sumsum tulang melalui media *platelet-derivate growth factor* 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.

SIMPULAN

Berdasar hasil penelitian disimpulkan bahwa diet fosfor tinggi menyebabkan osteodistrofia fibrosa dan beresiko terjadi patah tulang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan sebagian hasil penelitian yang dibiayai dari dana penunjang pendidikan Universitas Gadjah Mada tahun 1997. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Gadjah Mada yang telah memberi dana penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Almanden Y, Hernandez A, 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.

Brot C, Jorgensen N, Madsen OP, Jensen LB, Sorensen OH. 1999. Relationships between bone mineral density, serum vitamin D metabolites and calcium:phosphorus intake in healthy perimenopausal women. *J intern Med* 245:509-516.

Burr DB. 2002. Targeted and nontargeted remodeling. *Bone* 30 :2-4.

Calvo MS. 1993. Dietary phosphorus, calcium metabolism and bone. *J Nutr*. 123:1627-1633.

Calvo MS, Park YK. 1996. Changing phosphorus content of the U.S. diet : Potential for adverse effects on bone. *J Nutt* 126:1168S-1180S

Denda M, Finch J, Slatopolsky E. 1996. Phosphorus accelerates the development of parathyroid hyperplasia and secondary hyperparathyroidism in rats with renal failure. *Am J Kidney Dis* 28:596-602.

Doige C. 1988. Skeletal system, *In Special Veterinary Pathology*, Thompson (ed). BC. Toronto, Decker Inc pp. 467-483.

Duong LT, Rodan GA. 2001. Regulation of osteoclast formation and function. *Rev Endocr Metab Disord*. 2:95-104.

Gali SJ, Kalesnicoff J, Grimbaldeston MA, Piliponsky AM, Williams CM, Tsai M. 2005. Mast cells as tunable effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annu Rev Immunol* 23:749-786.

Gonzalez E, Lund RJ, Martin KJ, McCartney JE, Tondravi MM, Sampath TK, Hruska KA. 2002. Treatment of a murine model of high-turnover renal osteodystrophy by exogenous BMP-7. *Kidney Int* 61:1322-1331.

Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR., Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL. 1999. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology* 140:4367-4370.

Huttunen MM, Tillman L, Viljakainen HT, Tuukkanen J, Peng ZQ, Pekkinen M, Lamberg-Allardt JE. 2007. High dietary phosphate intake reduces bone strength in the growing rat skeleton. *J Bone and Min Res* 22:83-92

Jee WSS. 1983. The skeletal tissues. *In Histology Cell and Tissue Biology*, 5th ed., Weiss, L. ed., New York Elsevier Biomedical pp. 201-255.

Kanatani M, Sugimoto T, Kano J, Chihara K. 2002. IGF-I mediates the stimulatory effect of high phosphate concentration on osteoblastic cell proliferation. *J Cell Physiol* 190:306-312.

Kanatani M, Sugimoto T, Kano J, Kanzawa M, Chihara K. 2003. Effect of high phosphate concentration on osteoclast differentiation as well as bone-resorbing activity. *J Cell Physiol* 196:180-189.

- Karkkainen M, 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, 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.
- Kitasawa S, Kajimoto K, Kondo T, Kitazawa R. 2003. Vitamin D3 support osteoclastogenesis via functional vitamin D response element of human RANKL gene promoter. *J Cell Biochem* 89:772-777.
- Kuizon BD, and Salusky I.B. 2002. Cell biology of renal osteodystrophy. *Pediatr Nephrol* 7:777-789.
- Kruse-Jarres JD. 1979. Klinische chemie, band II, Spezielle Klinisch-chemische analytic. Stuttgart. Gustav Fischer Verlag.
- Lotinun S, Sibonga JD, Turner RT. 2005. Evidence that the cells responsible for marrow fibrosis in rat model for hyperparathyroidism are preosteoblasts. *Endocrinology* 146 (9):4074-4081.
- Lotinun S, Sibonga JD, Turner RT. 2003. Triazolopyrimidine (Trapidil), a platelet-derived growth factor antagonist, inhibits parathyroid bone disease in a animal model for chronic hyperparathyroidism. *Endocrinology* 144:2000-2007.
- Lawry MB, Lotinun S, Leontovich AA, Zhang M, Maran A, Shogren KL, Palama BK, Marley K, Iwaniec UT, And Turner RT. 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(11): 5735-5746.
- McGartland C, Robson PJ, Murray L, Cran G, Savage MJ, Watkins DS, Rooney M, Boreham C. 2003. Carbonated soft drink consumption and bone mineral density in adolescence : The Notherm Ireland Young Hearts project. *J Bone Miner Res* 9:1563-1569.
- Meleti Z, Shapiro IM, Adam CS. 2000. Inorganic Phosphate induces apoptosis of osteoblast-like cells in culture. *Bone* 7:359-366.
- Palmer N. 1991. Bones and Joints. In Pathology of domestic animals. Jubb KVF, Kennedy PC, and Palmer N. *ed.* San Diego, Academic Press., Inc., Harcourt Brace Jovanovich publishers, pp.1-181.
- Palmer N. 1993. Bones and Joints. In Pathology of domestic animals. Jubb KVF, Kennedy PC, and Palmer N. *ed.* San Diego, Academic Press., Inc., Harcourt Brace Jovanovich publishers, pp.1-181.
- Parfitt AM. 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 KK, Ho PW. 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.
- Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. 2002. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 23:279-302.
- Roussanne MC, Lieberherr M, Souberbielle JC, 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.
- 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.
- Takahashi N, Yamana H, Yoshiki S, Roodman GD, Mundy GR, Jones SJ, Boyde A, and Suda T. 1988. Osteoclast-like cell formation and its regulation by osteotropic hormones in mouse bone marrow cultures. *Endocrinology* 122:1373-1382.
- Tani Y, Sato T, Yamanaka-Okumura H, Yamamoto H, Arai H, Sawaka N, Genjida K, Taketani Y, Takeda E. 2007. Effects of prolong high phosphorus diet on phosphorus and calcium balance in rats. *J Clin Biochem Nutr* 40 (3):221-228.
- Teitelbaum SL. 2000. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 289 :1504–1508.

- EFSA/The European food safety authority. 2005. Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to the tolerable upper intake level of phosphorus. *EFSA J* 233:1-19.
- Toyoda T, Ochiai K, Komatsu M, Kimura T, Umemura T. 2004. Nutritional secondary hyperparathyroidism and osteodystrophia fibrosa in a Hodgson's hawk-eagle (*Spizaetus nipalensis*). *Avian Pathology* 33(1): 9-12.
- Uzawa T, Hori M, Ejiri S, Osawa H. 1995. Comparison of the effects of intermittent and continuous administration of human parathyroid hormone (1-34) on rat bone. *Bone* 16: 477-484.
- Wasito R. 1990. Teknik preparasi histologik rongga hidung, *Bulletin FKH-UGM*. 7: 63-67.
- Yates AJ, Oreffo ROC, Mayor K, Mundy GR. 1991. Inhibition of bone resorption by inorganic phosphate is mediated by both reduced osteoclast formation and decreased activity of mature osteoclasts. *J bone miner Res* 6: 473-478.