

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.- Prof. Dr. Ellen Kienzle

Mitbetreuung durch: Dr. Britta Dobenecker

**EINFLUSS DER KATIONEN-ANIONEN-BILANZ IM
FUTTER AUF DEN URIN-PH-WERT BEIM KANINCHEN
IM TIERARTLICHEN VERGLEICH**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von Franziska Heer

aus Füssen

München 2017

**Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.- Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, PhD

Berichterstatter: Univ.- Prof. Dr. Ellen Kienzle

Korreferenten: Priv. – Doz. Dr. Sonja Härtle

Univ. – Prof. Dr. Rüdiger Korbel

Tag der Promotion: 29.07.2017

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	I
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V
TABELLENVERZEICHNIS.....	VII
I. EINLEITUNG	1
II. LITERATURÜBERSICHT	3
1. Einfluss der KAB auf den Urin-pH bei verschiedenen monogastrischen Spezies	3
2. Beeinflussung des Urin-pH-Wertes beim Kaninchen.....	8
III. PUBLIKATION	11
IV. DISKUSSION.....	35
1. Kritik der Methoden.....	35
2. Diskussion der Ergebnisse.....	36
V. ZUSAMMENFASSUNG	43
VI. SUMMARY	45
VII. LITERATURVERZEICHNIS.....	47
VIII. DANKSAGUNG.....	63

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°C	Grad Celsius
1N	1 Normalität
a.m.	ante meridiem
Abb.	Abbildung
BE	Basenexzess
BW	Body weight
Ca	Calcium
CAB	Cation-Anion-Balance
CaCl ₂	Calciumchlorid
CF	Crude Fiber
Cl	Chlorid
cm	Zentimeter
CP	Crude Protein
DM	dry matter
Fig.	Figure
g	Gramm
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
h	hours
HNO ₃	Salpetersäure
i.d.R.	in der Regel
i.e.	id est; that is
K	Kalium

Abkürzungsverzeichnis

KAB	Kationen-Anionen-Bilanz
kg	Kilogramm
KM	Körpermasse
l	Liter
mEq	Milliequivalent
Mg	Magnesium
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MMA	Mastitis-Metritis-Agalaktie
mmol	Millimol
Na	Natrium
NABE	Net-Acid-Base-Excretion
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid
NH ₄ Cl	Ammoniumchlorid
nm	Nanometer
NRC	National Research Council
NSBA	Netto-Säure-Basen-Ausscheidung
P	Phosphor
p.m.	post meridiem
S	Schwefel
SE	Standard error; Standardfehler
SEM	Standard error of the mean; Standardfehler des Mittelwerts
Tab.	Table/Tabelle
TS	Trockensubstanz

Abkürzungsverzeichnis

UV	Ultraviolett
z.B.	Zum Beispiel

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

- Abb. 1: Beziehung zwischen der KAB im Futter und dem Urin-pH bei Pferden, bei Rationen ohne grünes Pflanzenmaterial und mit grünem Pflanzenmaterial, nach GOREN (2014)
- Abb. 2: Beziehung zwischen der KAB im Futter und der NSBA im Urin; Daten aus eigener Studie (siehe Table 2)
- Abb. 3: Anteil des Ammoniakgehalts an der renalen Gesamtsäureausscheidung beim Kaninchen in Diäten mit niedrigen KABs (im Mittel 17 mmol/kg TS) und hohen KABs (im Mittel 225 mmol/kg TS); Daten aus eigener Studie
- Abb. 4: Boxplot der Ca-Retention in Abhängigkeit von der KAB und der Ca-Aufnahme; Daten aus eigener Studie (siehe Table S1). Eine Box stellt den Median sowie das 25. und 75. Perzentil dar, Punkte sind Ausreißer außerhalb der durch „Whiskers“ dargestellten 10. und 90. Perzentile
- Abb. 5: Beziehung zwischen Ca- und P-Retention beim Kaninchen; Daten aus eigener Studie (siehe Table S1)
- Abb. 6: Harnmenge beim Kaninchen (in ml/kg KM) nach Einsatz verschiedener Futter-Additive; Daten aus eigener Studie, sowie aus den Studien von PAULUS (2010) und RÜCKERT et al. (2016)

Abbildungen in der Publikation

- Figure 1: Renal Ca excretion [in % of the apparently digested Ca amounts]; Bars not sharing a superscript letter have significantly different data (ANOVA, Holm-Sidak-test, $p < 0.05$); dots are outliers outside the 10th and 90th percentiles

- Figure 2: Renal P excretion [in % of the apparently digested P amounts]; Bars not sharing a superscript letter have significantly different data (ANOVA, Holm-Sidak-test, $p < 0.05$); dots are outliers outside the 10th and 90th percentiles
- Figure 3: CAB and urine pH in rabbits, own data (Δ), literature data from Paulus 2010 (\square) and Kiwull-Schöne et al. 2005 (x)
- Regression line calculated for CAB between -39 and +475 mmol/kg dry matter: Urine pH = $6.096 + 0.00752 \text{CAB}$ (mmol/kg DM); $r^2 = 0.77$, $p < 0.01$, $n = 17$)
- Figure 4: CAB and urine pH in different species, data from present study and from: Baker et al. 1992, Wall et al. 1992, Kienzle et al. 2006, Berchtold 2009, Goren et al. 2014 (horses); Juergens 1991, Finkensiep 1993, Krohn 1993, Beker et al. 1999, DeRouchey et al. 2003, Röcker 2006, Chen and Shan 2014 (pigs); Behnsen 1992, Yamka and Mickelsen 2006 (dogs); Kienzle et al. 1991, Kienzle and Wilms-Eilers 1994, Wagner et al. 2006, Jeremias et al. 2013, Pires et al. 2013 (cats); Kiwull-Schöne 2005, Paulus 2010 (rabbits); data on dogs include unpublished data from 5 trials from a study in our institute

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1 : Regressionsgleichungen für die Beziehungen zwischen der KAB und dem Urin-pH bei verschiedenen monogastrischen Spezies (Pferd, Hund, Katze und Schwein)

Tabellen in der Publikation

Table 1: Composition of diets

Table 2: Effect of CAB on parameters of acid base metabolism

Table S1: Mineral Balances

I. EINLEITUNG

Die Fütterung von Tieren hat einen erheblichen Einfluss auf den Säure-Basen-Haushalt. Dieser Einfluss wird in der Diätetik bei diversen Erkrankungen, wie z.B. Harnsteinen, Blasenentzündung, MMA, Gebärparese u.a.m. (BUFFINGTON, 1989; MARKWELL et al., 1998; RIOND, 2001; DEROUCHÉY et al., 2003; RÖCKER, 2006; STANIK, 2006; KŁOS et al., 2015) wie auch in der Ernährung z.B. von Sportpferden genutzt (RIOND, 2001). In einer Ration wirkt die Summe an Anionen wie Phosphor, Chlorid und Schwefel azidierend und die Summe an Kationen (hauptsächlich Calcium, Kalium, Natrium und Magnesium) alkalisierend (LANGENDORF und LANG, 1963; HARRINGTON und LEMANN, 1970; OH, 2000; REMER, 2000; RIOND, 2001; POUPIN et al., 2012). Zusammengefasst werden diese Elemente in der Kationen-Anionen-Bilanz (KAB), welche sich mit folgender Formel berechnen lässt (nach STÜRMER, 2005): $KAB \text{ (mmol/kg TS)} = 49.9 \cdot Ca + 82.3 \cdot Mg + 43.5 \cdot Na + 25.6 \cdot K - 59 \cdot P - 62.4 \cdot S - 28.2 \cdot Cl$ (Mengelemente in g/kg TS). So ist es beispielsweise möglich, durch Verschiebung des Harn-pH-Wertes mithilfe der KAB im Futter die Löslichkeit verschiedener Urolithen zu verbessern oder sogar zur Steinauflösung zu führen. So lassen sich z.B. bei Katzen Struvitsteine durch Ansäuerung des Harn-pH-Wertes auflösen (TATON et al., 1984; COOK, 1985; OSBORNE et al., 1995; BARTGES et al., 2013). Auch beim Kaninchen ist die Beeinflussung des Urin-pH-Wertes interessant im Hinblick auf Steinbildung, welche i.d.R. aus Calciumcarbonat bestehen (WENKEL et al., 1998; REDROBE, 2002; ECKERMANN-ROSS, 2008; HARCOURT-BROWN, 2013). Bei der Sektion von Kaninchen ergab sich eine Häufigkeit von 0,3% (MAIER und LUTTER, 1989) bis 1,3% (GARIBALDI et al., 1987; RAPPOLD, 2001). Probleme mit dem Harntrakt, beim Kaninchen meistens durch Steine bedingt, gehören zu den zehn am häufigsten gestellten Diagnosen bei Kaninchen (HATT et al., 2009; LANGENECKER et al., 2009). TSCHUDIN et al. (2011) geben nach einer Besitzerumfrage in der Schweiz eine Inzidenz zwischen 0,7 und 4,5% an. Bei verschiedenen monogastrischen Spezies (Katze, Hund, Schwein) werden nach Gabe von säuernden oder alkalisierenden Substanzen sehr ähnliche Veränderungen des Harn-pH-Wertes beobachtet (KIENZLE, 1991; KIENZLE et

al., 1991; BEHNSEN, 1992; KIENZLE und WILMS-EILERS, 1994; BEKER et al., 1999; DEROUCHEY et al., 2003; STEVENSON et al., 2003; RÖCKER, 2006; YAMKA und MICKELSEN, 2006; CARCIOFI, 2007; BARTGES et al., 2013; JEREMIAS et al., 2013; PIRES et al., 2013; CHEN und SHAN, 2014). Beim Pferd gibt es einen zu diesen Tieren vergleichbaren Zusammenhang zwischen KAB und Urin-pH nur, wenn sehr wenig grüne Pflanzen in der Nahrung enthalten sind (KIENZLE et al., 2006; BERCHTOLD, 2009; GOREN et al., 2014); andernfalls ist eine Beeinflussung des pH-Wertes im Urin in nennenswerter Größenordnung nicht möglich. In der Studie von GOREN et al. (2014) wurde die Hypothese entwickelt, dass Chlorophyll – also ein wichtiger Bestandteil grüner Pflanzen - eine stark puffernde Wirkung ausübt.

Beim Kaninchen ist es ebenfalls schwierig, den pH-Wert im Harn durch Änderung der Mineralstoffkonzentrationen oder milde acidierende Substanzen im Futter zu verschieben (PAULUS, 2010; VERFUEHRT, 2016). Darüber hinaus sind Kaninchen und Pferde in Bezug auf ihren Ca-Metabolismus sehr ähnlich, sie scheiden große Mengen Calcium über den Urin aus (SCHRYVER et al., 1974; KAMPHUES et al., 1986; KAMPHUES, 1991; REDROBE, 2002; CLAUSS und HUMMEL, 2008; KIENZLE und BURGER, 2011). Daher sollte in der vorliegenden Studie überprüft werden, ob sich Kaninchen im Hinblick auf den Säure-Basen-Haushalt als Modelltier für das Pferd eignen. Unter Anderem sollte untersucht werden, ob grünes Pflanzenmaterial einen ähnlichen Effekt hat wie beim Pferd. Außerdem sollte ein tierartenübergreifender Vergleich des Einflusses der KAB auf den Urin-pH und den Säure-Basen-Haushalt angestellt werden.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Einfluss der KAB auf den Urin-pH bei verschiedenen monogastrischen Spezies

Eine ausführliche Übersicht über den Einfluss der Ernährung, im Speziellen der KAB, auf den Urin-pH und den Mineralstoffhaushalt bei Pferden, Katzen, Hunden und Schweinen wurde bereits in den vorangegangenen Arbeiten von WILMS-EILERS (1992), BEKER (1999), STÜRMER (2005), BERCHTOLD (2009) und GOREN (2014) gegeben. Nachfolgend soll daher nur ein kurzer Abriss über die vorher genannten Spezies mit Ergänzung neuerer Daten gemacht werden.

Beim Pferd wurde der Einfluss der Fütterung auf den Harn-pH mit diversen Harnsäuerern und unterschiedlichen Kraftfutter/Raufutteranteilen untersucht. Als Futtermittelzulagen wurden Calciumchlorid, Ammoniumchlorid, Magnesiumchlorid, Methionin, Calciumsulfat, Calciumcarbonat, Ammoniumsulfat und Natriumchlorid eingesetzt (REMILLARD et al., 1992; STUTZ et al., 1992; BAKER et al., 1993; POPPLEWELL et al., 1993; MUELLER et al., 2001; MCKENZIE et al., 2002; STÜRMER, 2005; BERCHTOLD, 2009; GOREN, 2014). Hier lagen die KABs zwischen -358 und 1095 mmol/kg TS. Es wurden Urin-pH-Werte zwischen 4,97 und 8,00 erreicht. Beim Pferd war auffällig, dass die KAB nur bei einem hohen Kraftfutteranteil und niedrigem Raufutteranteil in der Ration einen starken Effekt auf den Säure-Basen-Haushalt hat. Die Studien von STÜRMER (2005), BERCHTOLD (2009) und GOREN (2014) geben Hinweise darauf, dass die Stabilisierung des Säure-Basen-Haushaltes durch den grünen Blattfarbstoff Chlorophyll verursacht werden könnte. In Rationen mit wenig grünem Material reagierten die Pferde analog zu anderen Spezies auf Veränderungen der KAB im Futter, wohingegen in Rationen mit hohem Grünfutteranteil die Auswirkungen einer Ansäuerung deutlich geringer waren. In Abbildung 1 sind Daten der Studie von GOREN (2014) dargestellt. Die Urin-pH-Werte erreichen bei KABs im negativen Bereich in Rationen ohne grünem Pflanzenmaterial deutlich tiefere Werte als in Rationen, die dieses enthalten.

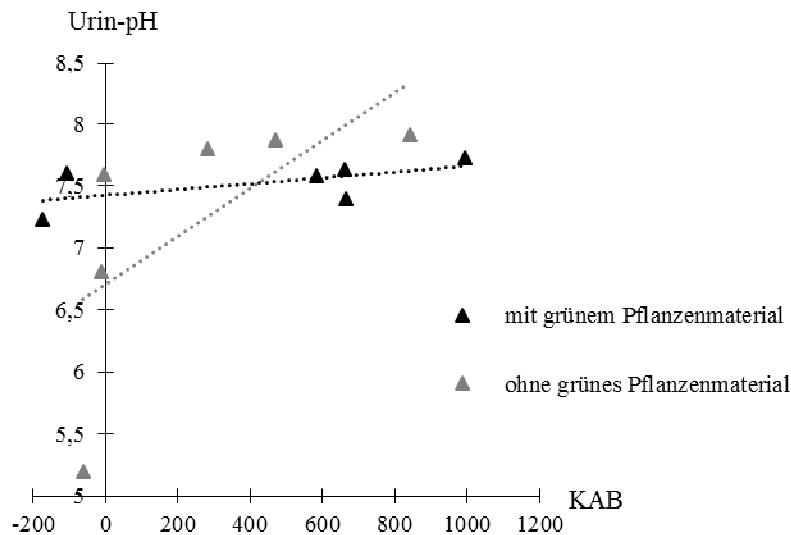


Abb. 1: Beziehung zwischen der KAB im Futter und dem Urin-pH bei Pferden, bei Rationen ohne grünes Pflanzenmaterial und mit grünem Pflanzenmaterial, nach GOREN (2014)

Beim Hund wurde der Urin-pH in mehreren Studien durch Ammoniumchlorid-Zulagen abgesenkt (SHORT und HAMMOND, 1964; SENIOR et al., 1984; SHAW, 1989). Die KABs der Diäten sind in diesen Studien nicht bekannt, wohl aber die Absenkung der KAB um 376 mmol/kg TS (Urin-pH-Absenkung auf unter 6) und um 188 mmol/kg TS (Urin-pH-Absenkung auf unter 6,2). BEHNSEN (1992) stellte in ihren Studien einen deutlichen Zusammenhang zwischen der KAB im Futter und dem Urin-pH her ($\text{pH} = 6,92 + 0,0073 \cdot \text{KAB}$; $r = 0,96^{***}$; $n = 12$). Die KABs variierten hier von -349 mmol/kg TS bis 437 mmol/kg TS und produzierten Harn-pH-Werte von $5,94 \pm 0,55$ bis $7,78 \pm 0,05$. YAMKA und MICKELSEN (2006) beobachteten beim Hund einen unterschiedlich starken Einfluss verschiedener Mengenelemente und schwefelhaltiger Aminosäuren auf den Urin-pH bei Verwendung von Trockenfutter im Gegensatz zu Nassfutter. Aus den in ihren Augen wichtigen Elementen für die jeweilige Futterart wurde dann die KAB berechnet. So entwickelten sie unterschiedliche Formeln für Trocken- und Nassfutter zur Vorhersage des Urin-pH-Wertes [Trockenfutter: $\text{Urin-pH} = 8,09 - (1,15 \cdot \text{S}) - (0,50 \cdot \text{P}) - (0,16 \cdot \text{Methionin})$; Nassfutter: $\text{Urin-pH} = 6,97 + (1,37 \cdot \text{Na}) + (1,24 \cdot \text{K}) - (0,98 \cdot \text{Cl}) - (3,19 \cdot \text{S}) - (0,58 \cdot \text{P}) + (1,06 \cdot \text{Methionin}) + (1,03 \cdot$

Cystein)]. 2008 stellte JANCZIKOWSKI bei Hunden hauptsächlich mit unterschiedlichen Schwefelquellen und -gehalten KABs zwischen -31 mmol/kg TS und 702 mmol/kg TS ein und erreichte damit Urin-pH-Werte $6,06 \pm 0,45$ und $7,79 \pm 0,41$.

Der Urin-pH-Wert bei der Katze kann durch verschiedene säuernde Substanzen verringert werden. Mit Methionin, Ammoniumchlorid, Calciumchlorid und/oder Natriumhydrogenphosphat (in Konzentrationen zwischen 0,6 und 6,09 Prozent der TS) konnte in verschiedenen Studien der Urin-pH auf Werte zwischen 5,80 und 6,14 reduziert werden (RICH und KIRK, 1968; CHOW et al., 1978; TATON et al., 1984; ZENTEK, 1987; CHING et al., 1989; MARKWELL et al., 1998). Mit Vitamin-C-Zulagen konnte bei der Katze keine starke Urinsäuerung erreicht werden (KIENZLE und MAIWALD, 1998). KIENZLE et al. (1991) stellten in ihrer Studie folgenden Zusammenhang zwischen dem Urin-pH und der KAB im Futter (in mmol/kg TS) her: $\text{pH} = 6,72 + 0,0021 * \text{KAB}$ ($r = 0,90$). In einer Studie von WILMS-EILERS (1992) wurde der Einfluss von Ammoniumchloridzulagen auf den Urin-pH untersucht. Im Vergleich zur Studie von KIENZLE et al. wurden bei WILMS-EILERS wesentlich niedrigere Werte bei der KAB eingestellt. Hierbei stellte sich heraus, dass der Urin-pH ab einer bestimmten KAB nicht mehr weiter abgesenkt werden kann (da die Säureausscheidungskapazität der Niere irgendwann erschöpft sein könnte; auch die Pufferkapazität im Harn könnte eine Rolle spielen). Der Zusammenhang zwischen KAB und Urin-pH war quadratisch: $\text{pH} = 7,07 - 0,019 * \text{KAB} + 9,7E^{-6} * \text{KAB}^2$. 1998 stellten MARKWELL et al. in vier verschiedenen Berechnungsansätzen für die KAB (unterschiedliche Wertigkeit beim Phosphor und Einbeziehung/Ausschluss der schwefelhaltigen Aminosäuren) vier ähnliche Regressionsgleichungen auf, welche alle einen linearen Zusammenhang beschreiben. WAGNER et al. stellten 2006 bei Katzen bei der KAB Werte zwischen -287 mmol/kg TS und 133 mmol/kg TS ein und erreichten pH-Werte zwischen $5,76 \pm 0,13$ und $7,13 \pm 0,22$ (Regressionsgleichung: $\text{pH} = 6,25 + 0,0023 * \text{KAB}$; $r = 0,74$). Die Studien von JEREMIAS et al. (2013), BARTGES et al. (2013) und PIRES et al. (2013) bestätigten ebenfalls den strikten Zusammenhang zwischen KAB und Urin-pH. JEREMIAS (2013) erreichte mit KABs zwischen -180 und 307 mmol/kg TS Urin-pH-Werte zwischen 5,6 und 7,74 (SEM 0,06); hier

wurde, wie bei WILMS-EILERS 1992, ein quadratischer Zusammenhang festgestellt: $\text{pH} = 6.269 + (0.0036 * \text{KAB}) + (0.000003 * \text{KAB}^2)$; $R^2 = 0.91$; $P < 0.001$. BARTGES (2013) konnte signifikant unterschiedliche Urin-pH-Werte bei einer azidierenden, neutralen und alkalisierenden Diät messen (azidierend: $6,21 \pm 0,08$, neutral: $6,61 \pm 0,12$; alkalisierend: $7,03 \pm 0,38$). PIRES stellte 2013 bei Katzen, die mit einer sehr Alkali-reichen Diät gefüttert wurden, keinen Effekt von Ammoniumchloridzulagen von 0,3 %, 0,6 % und 0,9 % der TS auf den Urin-pH fest. Die KAB der Diäten lag im Bereich von 289 mmol/kg TS bis 405 mmol/kg TS und die Harn-pH-Werte zwischen 6,7 und 7,25 (Variationskoeffizient 7,63).

Auch beim Schwein wurde der Einfluss der Kationen-Anionen-Bilanz im Futter auf den Urin-pH mehrfach untersucht. YEN et al. (1981) bemerkten beim Schwein unterschiedlich hohe Futteraufnahmen und Gewichtszunahmen je nach Elektrolytbalance im Futter. YEN führte die reduzierte Futteraufnahme auf eine metabolische Azidose bei den Schweinen, deren Futter mit CaCl_2 supplementiert war, zurück. CANH et al. (1998) untersuchten die Auswirkung der Elektrolytbalance ($\text{Na} + \text{K} - \text{Cl}$, in mEq/kg) sowie verschiedener Calciumverbindungen bei gleicher Elektrolytbalance auf den Urin-pH. Sie stellten fest, dass bei höherer Elektrolytbalance der Urin-pH signifikant höher ist als bei niedrigerer ($6,10 \pm 0,82$ bei 320 mEq/kg und $5,53 \pm 0,73$ bei 100 mEq/kg). Außerdem stellten sich niedrigere Urin-pH-Werte bei den Rationen ein, die bei gleicher Elektrolytbilanz mit Calcium-Benzoat, Calciumsulfat oder Calciumchlorid anstelle von Calciumcarbonat zusammengesetzt waren. Die Säuerung durch Benzoat stellt eine Besonderheit dar; sie kommt durch den Metabolismus der Säure zustande. Benzoesäure wird sofort nach der Resorption zur Entgiftung in der Leber an Glycin gebunden, es entsteht die Hippursäure. Dieses Abbauprodukt wird renal ausgeschieden und säuert den Urin stark an (KRISTENSEN et al., 2009). Bei BEKER (1999) kamen Natriumdihydrogenphosphat, Ammoniumchlorid und Methionin zum Einsatz. Der Urin-pH wurde von $7,39 \pm 0,36$ bei einer KAB von 338 mmol/kg TS auf $5,41 \pm 0,25$ bei einer KAB von -222 mmol/kg TS abgesenkt. Vergleichbar zur Katze ist unter einer bestimmten KAB (hier -222 mmol/kg TS) keine weitere Absenkung des Urin-pHs möglich, da die Säureausscheidungskapazität der Nieren

irgendwann erschöpft sein könnte oder eine Pufferung im Urin stattfindet (BEKER et al., 1999). Der Zusammenhang zwischen KAB und Urin-pH wurde durch folgende Formel dargestellt: $\text{pH} = 6,19 + 0,0031 * \text{KAB} + 3*10^{-6} * \text{KAB}^2$ ($r = 0,95$). In einer Studie von DEROUCHÉY et al. (2003) konnten bei Elektrolytbalancen (Na+K-Cl) von 15 mEq/kg bis 482 mEq/kg mithilfe von Calciumchlorid und Salzsäure Urin-pH-Werte von 4,87 bis 7,70 (SE 0,21) eingestellt werden. 2006 ermittelte RÖCKER beim Schwein mithilfe von Calciumchlorid einen signifikanten Harn-pH-Abfall von $7,31 \pm 0,311$ bei einer KAB von 319 auf einen pH von $6,73 \pm 0,46$ bei einer KAB von 247. Bei KAB-Werten zwischen -100 und 300 mEq/kg (berechnet als Na + K – Cl) erreichten CHEN und SHAN (2014) Urin-pH-Werte zwischen 5,1 und 6,56; die Säuerung gelang hier mit CaCl_2 und NH_4Cl .

Tabelle 1 zeigt bisher ermittelte Regressionsgleichungen verschiedener Tierarten.

Tab. 1 : Regressionsgleichungen für die Beziehungen zwischen der KAB und dem Urin-pH bei verschiedenen monogastrischen Spezies (Pferd, Hund, Katze und Schwein)

Spezies Autor	Regressionsgleichung
Pferd	
<i>Stürmer 2005</i>	$\text{pH} = -1\text{E}^{-4} * \text{KAB}^2 + 0,026 * \text{KAB} + 5,8169$
<i>Berchtold 2009</i>	$\text{pH} = -3\text{E}^{-05} * \text{KAB}^2 + 0,0085 * \text{KAB} + 6,7212$
Hund	
<i>Behnsen 1992</i>	$\text{pH} = 0,0073 * \text{KAB} + 6,92$
<i>Yamka & Mickelsen 2006</i>	$\text{pH} = 7,30 + (0,54 * \text{Na}) + (0,63 * \text{K}) - (0,53 * \text{Cl}) - (1,67 * \text{S}) - (0,61 * \text{P}) + (2,08 * \text{Cystein})$
Katze	
<i>Kienzle et al. 1991</i>	$\text{pH} = 6,72 + 0,0021 * \text{KAB}$
<i>Wilms-Eilers 1992</i>	$\text{pH} = 7,07 - 0,019 * \text{KAB} + 9,7\text{E}^{-6} * \text{KAB}^2$
<i>Markwell et al. 1998</i>	$\text{pH} = 6,42 + 0,572 * \text{Ca} + 0,727 * \text{Na} + 0,674 * \text{K} - 0,731 * \text{P} - 0,546 * \text{Methionin} - 0,183 * \text{Cl}$
<i>Wagner et al. 2006</i>	$\text{pH} = 6,25 + 0,0023 * \text{KAB}$
<i>Jeremias et al. 2013</i>	$\text{pH} = 6,269 + (0,0036 * \text{KAB}) + (0,000003 * \text{KAB}^2)$
Schwein	
<i>Beker 1999</i>	$\text{pH} = 3\text{E}^{-06} * \text{KAB}^2 + 0,003 * \text{KAB} + 6,19$

2. Beeinflussung des Urin-pH-Wertes beim Kaninchen

Kaninchen haben als Pflanzenfresser in der Regel einen alkalischen Urin-pH von 7,5 - 9,5 (BREWER und CRUISE, 1994; JENKINS, 2008; EWRINGMANN, 2010a). BREWER und CRUISE (1994) berichteten, dass Kaninchen über eine reduzierte Protonenausscheidung im Harn über Ammoniumionen verfügen, wodurch sie anfälliger für Säurebelastungen sind. Es gab zudem die These, dass Kaninchen eine reduzierte Aktivität des Enzyms Carboanhydrase in der Niere aufweisen, bzw in bestimmten Nierensegmenten dieses Enzym gar nicht vorhanden ist; von mehreren Autoren wurde berichtet, dass beim Kaninchen keine distale Säuerung in der Niere möglich sei (GIAMMARCO et al., 1978; RICHARDSON et al., 1979; BREWER und CRUISE, 1994; EWRINGMANN, 2010a). Das Enzym Carboanhydrase katalysiert wichtige zur Protonenausscheidung nötige Reaktionen; es gibt sie in mehreren Unter-Formen (PURKERSON und SCHWARTZ, 2007). Beim Kaninchen sind in der Niere hauptsächlich die zytosolische Carboanhydrase II und die Zellwand-lokalisierte Carboanhydrase IV an der Ansäuerung des Urins beteiligt (PURKERSON und SCHWARTZ, 2007), wobei der Carboanhydrase IV die maßgebliche Rolle zugesprochen wird (LUCCI et al., 1983; BRECHUE et al., 1991; PURKERSON und SCHWARTZ, 2007). Es gab einige Studien (in Vivo und in Vitro) zur Carboanhydrase IV in der Niere von Kaninchen, die das Vorhandensein und die Aktivität des Enzyms in alle Teilen des Ausscheidungsapparates bis auf den aufsteigenden Ast der Henle-Schleife bestätigten (IINO und BURG, 1981; DOBYAN et al., 1982; LUCCI et al., 1983; KURTZ et al., 1986; STAR et al., 1987; RIDDERSTRALE et al., 1988; WALL et al., 1991; TSURUOKA und SCHWARTZ, 1997; SCHWARTZ et al., 2000; PURKERSON und SCHWARTZ, 2007). In der tiermedizinischen Forschung gab es kontroverse Ergebnisse bezüglich der Urin-Ansäuerungskapazität von Kaninchen. Hier besteht Interesse am Urin-pH, da durch Beeinflussung des pH-Wertes eine Prophylaxe für Urinsteine betrieben werden könnte (KIENZLE, 1991) und da die Geruchsbelastung durch Kaninchenausscheidungen in Wohnungen durch Senkung des Urin-pH-Wertes verringert werden kann (PAULUS, 2010). Es wurde mehrfach versucht, den Urin-pH-Wert, analog zu anderen Tierarten, durch säuernde Additive zum Futter und unterschiedliche Rationszusammenetzung zu

senken. Eine Säuerung war nicht möglich mit Vitamin C, Calciumchlorid, Methionin, Kochsalz und Ammoniumchlorid (PAULUS, 2010; WOLF et al., 2013; RÜCKERT et al., 2016). Die KAB wurde in diesen Studien von den Autoren nicht explizit berechnet. Die von uns aus den von PAULUS (2010) angegebenen Daten zur Futterzusammensetzung errechneten KABs lagen zwischen 226 und 681 mmol/kg TS und der erreichte Urin-pH war zwischen $8,31 \pm 0,43$ und $9,29 \pm 0,57$. WOLF et al. (2013) bewirkten, ähnlich wie bei der Katze, in ihrer Studie an Kaninchen mit Vitamin-C-Zulagen von 0 mg/kg Futter, 300 mg/kg und 600 mg/kg keine signifikante Änderung des Urin-pH-Wertes (Kontrolle: $9,09 \pm 0,28$, 300 mg: $9,06 \pm 0,32$; 600 mg: $9,00 \pm 0,43$). Bei der Studie von RÜCKERT et al. (2016) konnte keine KAB berechnet werden, wohl aber die Ammoniumchloridkonzentration pro kg Körpermasse und Tag. Diese lag bei 0,06 g/kg KM, der Harn-pH lag bei $9,02 \pm 0,43$ im Gegensatz zum Harn-pH der Kontrollgruppe (ohne NH_4Cl) von $9,14 \pm 0,47$ (kein signifikanter Unterschied). Im Gegensatz zu den Studien von PAULUS (2010) und RÜCKERT et al. (2016) konnten mit Ammoniumchlorid beim Kaninchen bereits Harn-pH-Werte im sauren Bereich erzeugt werden. Die Ammoniumchlorid-Konzentrationen mit denen dies gelang waren vergleichsweise höher als in der Studie von RÜCKERT et al. (2016). So senkten CRUZ-SOTO et al. (1982) den Urin-pH auf $4,69 \pm 0,01$ bei einer Ammoniumchlorid-Dosis von 0,27 g/kg KM und Tag; TSURUOKA und SCHWARTZ (1997) erreichten mit Ammoniumchlorid-Gaben zwischen 0,54 – 0,8 g/kg KM eine Absenkung des pH von dem Kontrollwert $8,0 \pm 0,1$ auf $5,1 \pm 0,1$; ebenso schafften es BRION et al. (1994) mit 0,85 g/kg KM Ammoniumchlorid den Urin-pH von $8,1 \pm 0,1$ auf $5,8 \pm 0,3$ abzusenkten. Aus den drei zuletzt genannten Studien konnte zusätzlich zur Ammoniumchlorid-Konzentration keine KAB berechnet werden. 2005 bewirkten KIWULL-SCHÖNE et al. allein durch eine Diät mit reduziertem Kationen-Anteil (KAB 168 mmol/kg TS im Gegensatz zu 1890 mmol/kg TS) eine Absenkung des Urin-pH-Wertes von $8,21 \pm 0,03$ auf $6,26 \pm 0,14$. 2008 wurde von KIWULL-SCHÖNE et al. festgestellt, dass bei Kationen-reicher Diät einiges mehr an Ammoniumchlorid nötig ist, um den Kaninchen-Urin anzusäuern. In der Kationen-reichen Diät wurde der Urin-pH mit 0,8 g/kg Ammoniumchlorid von $8,09 \pm 0,30$ auf $7,00 \pm 0,32$ verringert, wohingegen in der Kationen-armen Diät

Literaturübersicht

mit 0,2 g/kg Ammoniumchlorid eine Absenkung von $6,32 \pm 0,58$ auf $5,69 \pm 0,45$ erreicht werden konnte.

III. PUBLIKATION

Received: 9 Mai 2016; accepted: 8 November 2016

Article first published online: 16 March 2017

DOI: 10.1111/jpn.12653

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition © 2017 Blackwell Verlag GmbH

Effect of cation-anion-balance in feed on urine pH in rabbits in comparison to other species

Heer, F¹, Dobenecker, B¹, Kienzle, E¹

¹Chair of Animal Nutrition and Dietetics, Department of Veterinary Science, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

Running head: cation-anion-balance in rabbits

Correspondence:

Prof. Dr. Ellen Kienzle, Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik, Veterinärwissenschaftliches Department, LMU München, Schönleutner Str. 8, D 85764 Oberschleißheim, Tel.: +49 (0) 89 / 2180 – 78700; Fax: +49 (0) 89 / 2180 – 78702; Email: kienzle@tiph.vetmed.uni-muenchen.de

Abstract

In the present investigation the impact of diet composition on urine pH in rabbits was compared with previous studies on rabbits, cats, dogs, pigs and horses. A total of 13 dwarf rabbits were fed six different diets with a cation-anion-balance (CAB) between -39 and 320 mmol/kg dry matter (DM) using ammonium chloride (NH₄Cl) as an acidifier. CAB was calculated as follows: CAB (mmol/kg DM) = 49.9*Ca+ 82.3* Mg+ 43.5*Na+ 25.6*K- 59*P- 62.4* S- 28.2*Cl; minerals in g/kg DM. Urine, faeces and blood were collected. Urine pH ranged from 5.26 ± 0.22 at a CAB of -39 mmol/kg DM to 8.56 ± 0.24 at a CAB of +320 mmol/kg DM. A low CAB in the feed reduced blood pH and blood base excess (BE) significantly. Renal excretion of Ca, P, Na and Mg and water was significantly higher in rabbits eating acidifying diets. In comparison to other species rabbits reacted to acidifying diets in a similar way as cats, dogs and pigs. Rabbits on a mildly alkalizing diet, however, had a trend to higher urine pH than other monogastric species on such diets (cats, dogs, pigs, horses).

Keywords

Acid-base balance, rabbit, cation-anion-balance

Introduction

Paulus (2010) tried to acidify the urine of rabbits in order to acidify litter and thus reduce ammonia emission. She added methionine, calcium chloride or benzoic acid in concentration of 1% of air dry matter to typical rabbit feed. These additions failed to acidify urine in rabbits. Rückert et al. (2016) added ammonium chloride to rabbit feed and reported no effect on urine pH. Brewer and Cruise (1994) described a low renal carbo-anhydrase activity in rabbits (the enzyme catalyzing H⁺-excretion), a finding which would explain the failure to acidify rabbit urine. By contrast Kiwull-Schöne et al. (2005) and Kiwull-Schöne et al. (2008) succeeded in reducing urine pH in rabbits below 7 with a low alkali diet. Cruz-Soto et al. (1982) demonstrated distal acidification in the kidney in rabbits

with ammonium chloride and Tsuruoka and Schwartz (1997) reported H⁺-secretion in acidotic rabbits' outer medullary collecting duct of the kidney after feeding of high doses of ammonium chloride. The present study aimed to compare the effect of diet composition on urine pH in rabbits with that of other monogastric species such as cats, dogs, pigs and horses. As an estimate to predict and compare the effect of diet on acid base balance the CAB of the diet based on the content of the cations Ca, Mg, Na and K and the anions P, Cl and S in DM was used (Langendorf and Lang 1963; Harrington and Lemann 1970; Oh 2000; Remer 2000; Riond 2001; Poupin et al. 2012). In cats, dogs, pigs and horses the relationship between CAB and urine pH has been investigated (Kienzle 1991; Kienzle et al. 1991; Behnsen 1992; Kienzle and Wilms-Eilers 1994; Beker et al. 1999; DeRouchev et al. 2003; Stevenson et al. 2003; Kienzle et al. 2006; Röcker 2006; Yamka and Mickelsen 2006; Carciofi 2007; Berchtold 2009; Bartges et al. 2013; Jeremias et al. 2013; Pires et al. 2013; Chen and Shan 2014; Goren et al. 2014), which allows a direct comparison with the present study with rabbits. A special point was the comparison of rabbits with horses because in contrast to dogs, cats and pigs, rabbits and horses both excrete large amounts of calcium by urine (Schryver et al. 1974; Kamphues et al. 1986; Kamphues 1991; Redrobe 2002; Clauss and Hummel 2008; Kienzle and Burger 2011). In addition, in horses the intake of green plant material such as grass or alfalfa hay, grass cobs, or grass silage as well as fresh grass has a strong impact on the relationship between CAB and urine pH (Goren et al. 2014). Green plant material, including hay and grass cobs, prevents acidification of urine in horses even when CAB is negative. In the present study we wanted to see whether there would be a similar effect of green plant material (hay and grass cobs) in rabbits. The study was approved by the animal welfare officer of the Veterinary faculty as well as the government of Upper Bavaria, the proper authorities according to German laws on animal welfare (Tierschutzgesetz; AZ 55.2-1-54-2532-124-14).

Material and methods

Thirteen healthy intact female dwarf rabbits (age two years, body weight (BW)

2.44 ± 0.43 kg, ranging from 1.73 - 3.40 kg) were available for the study. They were group housed in two groups of six and seven animals, respectively. Six different diets based on hay (two diets) or straw (four diets) and cereals (Tab. 1) were fed for eight days each. All diets were fed parallel in a cross-over design with one group receiving the control diet and the other group the same diet with acidifiers added. After a wash-out period of seven days, where all animals were fed with the control diet containing hay (C+HAY/320, see below), the groups were exchanged or the next trial was started.

The CAB of the diets amounted to -39, 29, 60, 120, 235, 320 mmol/kg DM which was calculated according to the following equation: CAB (mmol/kg DM) = 49.9*Ca + 82.3* Mg + 43.5*Na + 25.6*K – 59*P – 62.4*S – 28.2*Cl; minerals in g/kg DM, which was previously used for species with considerable amounts of organic P in their diets, i.e. horses and pigs (Beker et al. 1999; Kienzle et al. 2006; Berchtold 2009; Goren et al. 2014). CAB of each diet is part of its abbreviation. The main acidifier used in the present investigation was NH₄Cl. In each the hay or straw based diets, one diet was designed (C+HAY/320 and C+STR/235) as a control without adding NH₄Cl. So in principle, the diets C+HAY/29 and C+HAY/320 were identical except that C+HAY/320 did not contain NH₄Cl. Similarly in the diets with straw the major variation was the amount of NH₄Cl. Food was mixed with water to reduce dustiness. Alkalizing minerals especially calcium were kept as low as possible to avoid having to use extremely high doses of NH₄Cl.

Food was offered in two meals (8.00 a.m and 4.00 p.m.). Water was offered free choice.

After the five days of adaptation to each diet the rabbits were housed individually in cages allowing separate collection of urine and faeces (75 x 85 x 75 cm). Urine and faeces were collected for three days quantitatively. The urine was preserved by a pinch of thymol and a layer of paraffin oil added to the sampling container. Urine pH was measured using an electric pH-meter. Before the start of the trial the stability of rabbit's urine pH preserved as described was tested over a period of 24h.

Buffer curves of urine were obtained using hydrochloric acid (1N) and sodium

hydroxide (1N) to titrate 5 ml urine in each case from its starting point to pH 4 and pH 9 adding each time 0.01 ml of the respective solution at room temperature during constant stirring. Urine pH was measured with an electric pH-meter after each application of hydrochloric acid or sodium hydroxide.

Urinary Net-Acid-Base-Excretion (NABE) was calculated according to the following equation: $\text{NABE (mmol/l)} = \text{Bases (mmol/l)} - (\text{Acids (mmol/l)} + \text{Ammonia (mmol/l)})$; values of bases/ acids were used in their equivalent quantity. For each day and rabbit the urine was stored at -30°C in plastic containers until further use. From the three samples per trial and rabbit, aliquots were formed and pooled after thawing the samples. In those, ammonia in urine was analysed enzymatically (R-Biopharm, Test-Nr. 10 542 946 035). The principle of the test is the photometrical measurement (wavelength 340 nm) of the decrease of the amount of NADH (Nicotinamid-adenin-dinucleotid) in the following enzymatic reaction: $2\text{-Oxoglutarat} + \text{NADH} + \text{NH}_4^+ \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-Glutamat} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$ (GLDH = Glutamat-Dehydrogenase). The amount of Ammonia is equivalent to the amount of NADH, which was measured photometrically.

The faeces collected quantitatively were weighed. The 1 g of fresh faeces was diluted with bi-distilled water (1:5) and pH was measured ten minutes after dilution with an electric pH-meter. The rest of the faeces samples was weighed and frozen immediately after collection. Faeces were then lyophilized and ground for further analysis. For mineral analysis wet digestion of dry feed samples, faecal samples and urine samples was carried out in a microwave digestion unit (MLS Ethos 1600). Ca, Na and K were determined by flame emission spectrometry (EFOX 5053, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) and P photometrically with ammonium molybdate and ammonium vanadate in HNO_3 (GENESYS 10 UV, Thermo Spectronic, Rochester, NY, USA). Cl was determined by the Coulomb method with silver ions in a chloridmeter (6610, Eppendorf AG, Hamburg, Germany). Mg was measured in an atomspectroscopic analysis (Analyst 800, no. 90454040301, Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, USA). S was determined at the laboratory of LUFA-ITL GmbH, Agrolab Group, Kiel, Germany, applying the method of atomic emission spectroscopy in feed.

Venous blood samples were taken directly before and two hours after feeding and were immediately analysed for pH, base excess (BE) and bicarbonate (Siemens RAPIDLAB® 248).

Mean and standard deviation were calculated. Comparison of means was carried out after 1-way ANOVA by the Holm-Sidak method in an all-pair wise multiple-comparison procedure using the software Sigmastat 3.0 (SPSS). Pair-wise comparisons of two groups such as before and after feeding or control versus acidified diet were carried out by paired t-test. A p-value of < 0.05 was considered as significant. Simple linear regression was calculated to describe a relationship between parameters.

Results

In all trials, the rabbits remained clinically healthy; average body weight did not change significantly from start of the balance periods to the end of them.

In the present investigation, the CAB of the diet fed to rabbits had a clear-cut and dose dependent effect on urine pH, urinary net acid base excretion (NABE), blood pH and blood base excess (Table 2).

Mean urine pH of the rabbits was 8.62 ± 0.2 in the straw based control diet C+STR/235 and 8.56 ± 0.24 in the hay based control diet C+HAY/320. Feeding the diets with the highest amount of added acidifier NH_4Cl (C+STR/-39 and C+HAY/29) led to a decrease of urinary pH to 5.26 ± 0.22 and 5.30 ± 0.23 .

In those 2 diets with the lowest CAB the urine volume was higher (C+STR/-39: 20.8 ± 9.5 ml/kg BW; C+HAY/29: 24.8 ± 11.9 ml/kg BW), than in all other diets (17.7 ± 11.6 ml/kg BW). The urinary water excretion did not differ between hay or straw based diets (21.32 ± 12.64 ml/kg BW in hay diets, 18.39 ± 11.26 ml/kg BW in straw diets). Faecal water excretion was higher in diets based on hay than in diets based on straw. It was independent of acidification (hay diets 2.73 ± 0.67 ml/kg BW; straw diets 1.60 ± 0.64 ml/kg BW).

Data for the complete mineral balances regarding the three collecting days are given in Table S1.

There was no systematic effect of adding acidifiers on faecal excretion of Ca, P, Mg, K and Cl and therefore on the apparent digestibility of these elements. Cl was nearly completely digestible (apparent digestibility 99.98 ± 0.15 %). The faecal excretion of Na was systematically influenced by the CAB of the diet with decreasing faecal excretion with decreasing CAB values. Therefore, the apparent digestibility of Na was significantly increased in the diets with a CAB of 60 or below (C+STR/60, C+STR/-39, C+HAY/29) compared to the control diets (C+STR/235, C+HAY/320) and diet C+STR/120 (mean of three diets with lower CAB 80.32 ± 14.82 %; mean of three diets with higher CAB 53.83 ± 18.10 %).

Renal excretion showed a different pattern. In percent of apparently digested Ca and P renal excretion of these elements was higher in acidifying diets. Fig. 1 shows a boxplot of renal Ca excretion in percent of apparently digested Ca. Renal P excretion in percent of apparently digested P showed a similar pattern (Fig.2).

The same was true for renal excretion of Na and Mg (data not shown).

Discussion

In the present study CAB had a clear-cut effect on urine pH in rabbits. The data on feed of Paulus (2010) were used to calculate CAB in her diets. CAB and urine pH data from her study was then combined with the results from the present study. The same was done with the results of Kiwull-Schöne et al. (2005). For the biologically relevant range of a CAB between -39 mmol/kg DM and +475 mmol/kg DM a linear regression between CAB and urine pH was calculated (Fig. 3). The relationship between CAB and urinary pH was similar in rabbits to such relations in pigs, dogs, and cats (cats: Kienzle and Schuhknecht 1993; Kienzle and Wilms-Eilers 1994; Wagner et al. 2006; Jeremias et al. 2013; dogs: Behnsen 1992; Yamka and Mickelsen 2006; pigs: Beker et al. 1999; Röcker 2006; Chen and Shan 2014).

The relationship between CAB and urine pH in rabbits was also comparable to data from horses which were not eating green plant material (lowest mean urine pH 5.2 ± 0.38 at a CAB of -63 mmol/kg dry matter). At the alkaline side of the curve rabbits had a trend to higher urine pH in relation to CAB than other species

(Fig. 4). Presumably this is related to the calcium metabolism of rabbits. According to Kamphues et al. (1986), Clauss and Hummel (2008) and Harcourt-Brown (2013) rabbits do not regulate calcium uptake at the gut wall. Calcium is excreted mainly via urine as calcium carbonate (Wenkel et al. 1998; Redrobe 2002; Eckermann-Ross 2008; Harcourt-Brown 2013) which has a strong alkalizing effect.

In contrast to horses in rabbits the inclusion of green plant material had no effect on urine pH. In horses, Goren et al. (2014) hypothesized that excretion of phytoporphyrine, a chlorophyll metabolite, which can take up H⁺-ions by the bile would be an additional metabolic pathway of acid excretion. This would explain that horses eating green plant material did not show strong effects of acidifiers on urine pH.

The results of the present study in rabbits, where the same type of green plant material as in horses had no effect on urine pH, suggest that either rabbits do not excrete large amounts of phytoporphyrine via the bile or that the hypothesis of Goren et al. (2014) is not true. In horses liver disease may cause photosensitivity due to a reduced excretion of phytoporphyrine with the bile (Ford and Gopinath 1974). To the authors' knowledge there are no reports of cases with liver disease as the sole reason of causing photosensitivity in rabbits.

The effect of acidification on mineral metabolism, especially renal excretion of major minerals as described in the present study in rabbits, have been demonstrated in other monogastric species before (Jaffe et al. 1932; Sartorius et al. 1949; Langendorf and Lang 1963; Burnell 1971; Kraut et al. 1986; Ching et al. 1989; Cooper et al. 2000; Riond 2001; McKenzie et al. 2002; Toppliff 2006; Chen and Shan 2014). As you can see in Fig. 1, the rabbits excreted in diet C+STR/-39 more calcium than they apparently digested, what means that they had to mobilize their own body reserves (i.e. from the bones or teeth) for buffering. This effect may be a health concern with the long-term use of acidifying diets for reduction of ammonia emission from litter with regard to skeletal health and/or calcium carbonate-mono-hydrate urolithiasis, which is a major clinical problem in rabbits (Fehr 1990; Pump 1996; Wenkel et al. 1998; Langenecker et al. 2009). In the

present study the acidifying diets increased urine volume, an effect which would help to prevent urolithiasis. This effect may be related to a high Cl intake with the acidifier NH_4Cl . It is possible that other acidifiers do not increase urine volume.

In summary, the following conclusions can be made: The urine of rabbits could be acidified using diets with a CAB lower than 120 mmol/kg DM. Rabbits reacted to acidifying diets in a similar way as pigs. Rabbits on a mildly alkalizing diet, however, had higher urine pH than other monogastric species on such diets (cats, dogs, pigs, horses). In rabbits Ca and P excretion by urine was increased in acidifying diets

References

Baker, L.; Topliff, D.; Freeman, D.; Teeter, R.; Breazile, J., 1992: Effects of dietary cation-anion balance on acid-base status in horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 12, 160-163.

Bartges, J.W.; Kirk, C.A.; Cox, S.K.; Moyers, T.D., 2013: Influence of acidifying or alkalizing diets on bone mineral density and urine relative supersaturation with calcium oxalate and struvite in healthy cats. *American Journal of Veterinary Research* 74, 1347-1352.

Behnsen, K., 1992: *Einfluss der Fütterung auf pH-Wert und spezifisches Gewicht im Harn des Hundes*. Hannover.

Beker, S.; Kienzle, E.; Dobenecker, B., 1999: Untersuchungen zur Einstellung des Harn-pH-Wertes bei Sauen. *Lohmann International* 1, 17-19.

Berchtold, L., 2009: *Untersuchungen zum Einfluss der Anionen-Kationen-Bilanz auf den Mineralstoff- und Säure-Basen-Haushalt bei Ponys*. München.

Brewer, N.; Cruise, L., 1994: Physiology, In: Manning P; Ringler, D.; Newcomer, C. (eds.), *The Biology of the Laboratory Rabbit*, 2nd edn. Academic Press, San Diego. 63-68.

Burnell, J.M., 1971: Changes in bone sodium and carbonate in metabolic acidosis and alkalosis in the dog. *Journal of Clinical Investigation* 50, 327.

Carciofi, A.C., 2007: Methods of study of metabolic responses of dogs and cats to different foods. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36, 235-249.

Chen, S.C.L.W.X.; Shan, B.S.A., 2014: Effects of dietary electrolyte balance on the performance, plasma biochemistry parameters and immunoglobulin of sows during late gestation and lactation. *Animal Feed Science and Technology* 120, 277-298.

Ching, S.V.; Fettman, M.J.; Hamar, D.W.; Nagode, L.A.; Smith, K.R., 1989: The effect of chronic dietary acidification using ammonium chloride on acid-base and mineral metabolism in the adult cat. *The Journal of Nutrition* 119, 902-915.

Clauss, M.; Hummel, J., 2008: *Getting it out of the (digestive) system: hindgut fermenters and calcium*. Proceedings of the Comparative Nutrition Society. 30-36.

Cooper, S.; Topliff, D.; Freeman, D.; Breazile, J.; Geisert, R., 2000: Effect of dietary cation-anion difference on mineral balance, serum osteocalcin concentration and growth in weanling horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 20, 39-44.

Cruz-Soto, M.; Batlle, D.; Sabatini, S.; Arruda, J.A.; Kurtzman, N.A., 1982: Distal acidification in the rabbit: role of diet and blood pH. *The American Journal of Physiology* 243, F364-371.

DeRouche, J.; Hancock, J.; Hines, R.; Cummings, K.; Lee, D.; Maloney, C.; Dean, D.; Park, J.; Cao, H., 2003: Effects of dietary electrolyte balance on the chemistry of blood and urine in lactating sows and sow litter performance. *Journal of Animal Science* 81, 3067-3074.

Eckermann-Ross, C., 2008: Hormonal regulation and calcium metabolism in the rabbit. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 11, 139-152.

Fehr, M., 1990: Urolithiasis bei Kaninchen und Meerschweinchen. *Der Praktische Tierarzt* 10, 36.

Finkensiep, A., 1993: *Untersuchungen über den Einfluß des Harnstatus auf das Puerperalsyndrom der Sau unter Berücksichtigung der Fütterung und des peripartalen Trinkwasserverbrauchs*. Hannover.

Ford, E.J.; Gopinath, C., 1974: The excretion of phylloerythrin and bilirubin by the horse. *Research in Veterinary Science* 16, 186.

Goren, G.; Fritz, J.; Dillitzer, N.; Hipp, B.; Kienzle, E., 2014: Fresh and preserved green fodder modify effects of urinary acidifiers on urine pH of horses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98, 239-245.

Harcourt-Brown, F.M., 2013: Diagnosis of renal disease in rabbits. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 16, 145-174.

Harrington, J.; Lemann, J., 1970: The metabolic production and disposal of acid and alkali. *The Medical Clinics of North America* 54, 1543-1554.

Jaffe, H.L.; Bodansky, A.; Chandler, J.P., 1932: Ammonium chloride decalcification, as modified by calcium intake: the relation between generalized osteoporosis and ostitis fibrosa. *The Journal of Experimental Medicine* 56, 823.

Jeremias, J.; Nogueira, S.; Brunetto, M.; Pereira, G.; Loureiro, B.; Ferreira, C.; Gomes, M.; Carciofi, A., 2013: Predictive formulas for food base excess and urine pH estimations of cats. *Animal Feed Science and Technology* 182, 82-92.

Juergens, C., 1991: *Einfluss von Futterzusatzstoffen auf den pH-Wert und die Inhaltsstoffe des Harns bei Zuchtsauen*. Hannover.

Kamphues, J., 1991: Calcium-metabolism of rabbits as an etiologic factor for urolithiasis. *The Journal of Nutrition* 121, 95-96.

Kamphues, J.; Carstensen, P.; Schroeder, D.; Meyer, H.; Schoon, H.A.; Rosenbruch, M., 1986: Effekte einer steigenden Calcium-und Vitamin D-Zufuhr auf den Calciumstoffwechsel von Kaninchen¹. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 56, 191-208.

Kienzle, E., 1991: Ernährung und Urolithiasis bei Haussäugetieren. *Übersichten zur Tierernährung* 19, 157-200.

Kienzle, E.; Burger, A., 2011: Der Erhaltungsbedarf des Pferdes an Mengenelementen. *Übersichten zur Tierernährung* 39, 67-104.

Kienzle, E.; Schuhknecht, A., 1993: Struvite stone dietetics: 1. Effect of different feed rations on the urine pH value of cats. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 100, 198-203.

Kienzle, E.; Schuknecht, A.; Meyer, H., 1991: Influence of food composition on the urine pH in cats. *The Journal of Nutrition* 121, 87-88.

Kienzle, E.; Stuermer, K.; Ranz, D.; Clauss, M., 2006: A high roughage/concentrate ratio decreases the effect of ammonium chloride on acid-base balance in horses. *The Journal of Nutrition* 136, 2048S-2049S.

Kienzle, E.; Wilms-Eilers, S., 1994: Struvite diet in cats: effect of ammonium chloride and carbonates on acid base balance of cats. *The Journal of Nutrition* 124, 2652S-2659S.

Kiwull-Schöne, H.; Kalhoff, H.; Manz, F.; Kiwull, P., 2005: Food mineral composition and acid-base balance in rabbits. *European Journal of Nutrition* 44, 499-508.

Kiwull-Schöne, H.; Kiwull, P.; Manz, F.; Kalhoff, H., 2008: Food composition and acid-base balance: alimentary alkali depletion and acid load in herbivores. *The Journal of Nutrition* 138, 431S-434S.

Kraut, J.A.; Mishler, D.R.; Singer, F.R.; Goodman, W.G., 1986: The effects of metabolic acidosis on bone formation and bone resorption in the rat. *Kidney International* 30, 694-700.

Krohn, U., 1993: *Beeinflussung des Säure-Basen-Haushaltes von Zuchtsauen durch Futterzusätze*. Hannover.

Langendorf, H.; Lang, K., 1963: *Säure-Basen-Gleichgewicht und chronische acidogene und alkalogene Ernährung*. Steinkopff, Darmstadt.

Langenecker, M.; Clauss, M.; Hassig, M.; Hatt, J., 2009: Vergleichende Untersuchung zur Krankheitsverteilung bei Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Frettchen. *Tieraerztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere* 37, 326.

McKenzie, E.C.; Valberg, S.J.; Godden, S.M.; Pagan, J.D.; Carlson, G.P.; MacLeay, J.M.; DeLaCorte, F.D., 2002: Plasma and urine electrolyte and mineral concentrations in Thoroughbred horses with recurrent exertional rhabdomyolysis after consumption of diets varying in cation-anion balance. *American Journal of Veterinary Research* 63, 1053-1060.

Oh, M.S., 2000: ACID-BASE IN RENAL FAILURE: New Perspectives on Acid-Base Balance. *Seminars in Dialysis* 13, 212-219.

Paulus, C., 2010: *Fütterungseinflüsse auf die Ammoniakfreisetzung aus den Exkrementen von Zwergkaninchen*. Hannover.

Pires, C.P.; Saad, F.M.d.O.B.; Ogoshi, R.C.S.; Reis, J.S.d.; Santos, J.P.F.; Brunetto, M.A., 2013: Urinary acidifier in diet with high excess base for adult cats. *Ciência e Agrotecnologia* 37, 359-368.

Poupin, N.; Calvez, J.; Lassale, C.; Chesneau, C.; Tomé, D., 2012: Impact of the diet on net endogenous acid production and acid–base balance. *Clinical Nutrition* 31, 313-321.

Pump, B., 1996: Urolithiasis bei Kaninchen. *Der Praktische Tierarzt* 6, 552-559.

Redrobe, S., 2002: Calcium metabolism in rabbits. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 11, 94-101.

Remer, T., 2000: ACID-BASE IN RENAL FAILURE: Influence of Diet on Acid-Base Balance. *Seminars in Dialysis* 13, 221-226.

Riond, J.-L., 2001: Animal nutrition and acid-base balance. *European Journal of Nutrition* 40, 245-254.

Röcker, B., 2006: *Untersuchung zur Acidierung des Harns mittels alimentärer Calciumchlorid-Gabe bei tragenden Sauen*. Hannover.

Rückert, C.; Siener, R.; Ganter, M.; Coenen, M.; Vervuert, I., 2016: Effects of a supplementation on sodium chloride or ammonium chloride on urolithic potential in the rabbit. *Tieraerztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere* 44.

Sartorius, O.; Roemmelt, J.; Pitts, R.; Calhoon, D.; Miner, P., 1949: The renal regulation of acid-base balance in man. IV. The nature of the renal compensations in ammonium chloride acidosis. *Journal of Clinical Investigation* 28, 423-439.

Schryver, H.F.; Hintz, H.F.; Lowe, J.E., 1974: Calcium and phosphorus in the nutrition of the horse. *The Cornell Veterinarian* 64, 493-515.

Stevenson, A.; Hynds, W.; Markwell, P., 2003: The relative effects of supplemental dietary calcium and oxalate on urine composition and calcium oxalate relative supersaturation in healthy adult dogs. *Research in Veterinary Science* 75, 33-41.

Topliff, D., 2006: *Electrolytes, Cations, and Anions in the Performance horse*. Proceedings of the 3rd European Equine Nutrition & Health Congress. Citeseer. 17-18.

Tsuruoka, S.; Schwartz, G.J., 1997: Metabolic acidosis stimulates H⁺ secretion in the rabbit outer medullary collecting duct (inner stripe) of the kidney. *Journal of Clinical Investigation* 99, 1420.

Wagner, E.; Keusch, C.; Iben, C., 2006: Influence of the feed base excess on urine parameters in cats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90, 19-24.

Wall, D.; Topliff, D.; Freeman, D.; Wagner, D.; Breazile, J.; Stutz, W., 1992: Effect of dietary cation-anion balance on urinary mineral excretion in exercised horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 12, 168-171.

Wenkel, R.; Berg, W.; Prange, H., 1998: Urinary calculi in small and other animals--a retrospective study of the years 1980-1989. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 105, 182-186.

Yamka, R.M.; Mickelsen, S.L., 2006: The prediction of urine pH using dietary cations and anions in dogs fed dry and wet foods. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine* 4, 355-361.

Table 1: Composition of diets

		C+STR/-39	C+HAY/29	C+STR/60	C+STR/120	C+STR/235	C+HAY/320
Composition of diet	in wet weight						
Hay	%	-	17.6	-	-	-	17.9
Grass Cobs	%	-	35.2	-	-	-	35.7
Straw	%	23.7	-	23.8	23.9	24.0	-
Oats	%	31.6	22	31.7	31.8	32.0	22.3
Dried sugar beet pulp	%	27.6	8.8	27.8	27.8	28.0	8.9
Soy extraction meal	%	7.9	6.2	7.9	8.0	8.0	6.3
Soy bean oil	%	7.9	8.8	7.9	8.0	8.0	8.9
NH4Cl	%	1.3	1.4	0.9	0.6	-	-
CAB mmol/kg DM		-39	29	60	120	235	320
DM	%	92.2	92.6	92.2	92.1	92.1	92.5
	in DM						
CP	%	10.4	11.5	10.5	10.5	10.6	11.7
CF	%	20.3	20.6	20.4	20.5	20.6	20.8
Fat	%	9.7	11.0	9.7	9.7	9.8	11.1
Ash	%	4.5	5.7	4.6	4.6	4.6	5.8
Ca	%	0.31	0.41	0.31	0.31	0.31	0.42
Mg	%	0.13	0.17	0.13	0.13	0.13	0.17
Na	%	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03	0.04
K	%	1.08	1.54	1.09	1.09	1.10	1.56
P	%	0.30	0.39	0.30	0.30	0.30	0.40
S	%	0.20	0.19	0.20	0.20	0.20	0.20
Cl	%	1.05	1.32	0.70	0.49	0.09	0.32
DM intake	g DM/kg BW^{0.75}	31.1 ± 3.7	36.7 ± 3.2	34.7 ± 4.9	35.4 ± 5.8	37.3 ± 3.9	37.2 ± 1.9
	% of offered meal	77.1 ± 9.3	93.4 ± 5.7	86.4 ± 12.2	88.4 ± 14.5	93.7 ± 9.9	96.2 ± 5.0

Table 2: Effect of CAB on parameters of acid base metabolism

	CAB	NH ₄ Cl	Urine pH	Urine NABE	Blood pH		BE	
	mmol/kg DM	g/ kg BW			mmol/L	pre-prandial	post-prandial	pre-prandial
C+STR/39	-39	0.0038	5.26 ± 0.22 ^a	-33.2 ± 11.6 ^{bc}	7.301 ± 0.068 ^{bc}	7.296 ± 0.099 ^b	-11.19 ± 4.04 ^b	-10.38 ± 5.07 ^b
C+HAY/29	29	0.0044	5.30 ± 0.23 ^a	-29.9 ± 10.5 ^b	7.241 ± 0.15 ^b	7.277 ± 0.067 ^b	-13.285 ± 5.30 ^b	-10.131 ± 3.43 ^b
C+STR/60	60	0.0026	6.95 ± 0.50 ^{ac}	17.9 ± 15.0 ^{bc}	7.336 ± 0.135 ^{abc}	7.409 ± 0.044 ^a	-5.71 ± 7.07 ^{ab}	-3.13 ± 3.24 ^a
C+STR/120	120	0.0017	7.91 ± 0.31 ^{bc}	31.4 ± 14.3 ^{ac}	7.408 ± 0.038 ^{ac}	7.380 ± 0.049 ^a	-3.65 ± 3.20 ^a	-2.58 ± 3.31 ^a
C+STR/235	235	0.0000	8.62 ± 0.2 ^b	101.3 ± 36.4 ^{ac}	7.399 ± 0.040 ^a	7.441 ± 0.036 ^a	-3.52 ± 3.33 ^a	-0.40 ± 2.49 ^a
C+HAY/320	320	0.0000	8.56 ± 0.24 ^b	101.5 ± 33.3 ^a	7.326 ± 0.118 ^{ab}	7.344 ± 0.181 ^{ab}	-6.042 ± 7.28 ^{ab}	-2.408 ± 4.37 ^a

Means not sharing a superscript letter are significantly different (ANOVA, Holm-Sidak-Test, $p < 0.05$)

Table S1: Mineral Balances

			C+STR/-39	C+HAY/29	C+STR/60	C+STR/120	C+STR/235	C+HAY/320	
Ca	Intake	mg/kg BW	76.8 ± 8.7 ^b	123.9 ± 4.8 ^a	85.7 ± 11.0 ^b	88.4 ± 12.8 ^b	91.1 ± 7.4 ^b	125.9 ± 7.0 ^a	
	Excretion	Fecal	mg/kg BW	38.7 ± 9.1 ^b	65.2 ± 5.7 ^{ad}	47.4 ± 11.3 ^c	49.3 ± 9.9 ^{cd}	57.3 ± 6.3 ^d	68.6 ± 9.6 ^a
		Renal	mg/kg BW	40.3 ± 13.2 ^a	45.1 ± 10.3 ^a	28.0 ± 8.2 ^{ac}	21.1 ± 10.4 ^b	13.7 ± 7.6 ^b	22.2 ± 10.0 ^{bc}
	Retention	mg/kg BW	-2.2 ± 9.4 ^b	13.6 ± 13.0 ^c	10.3 ± 11.1 ^c	18.0 ± 14.6 ^c	20.1 ± 11.6 ^c	35.1 ± 12.8 ^a	
	apparent digestibility	%	49.9 ± 8.3 ^a	47.3 ± 4.6 ^a	45.4 ± 9.8 ^a	43.8 ± 9.4 ^{ab}	36.7 ± 8.2 ^b	45.5 ± 6.9 ^a	
P	Intake	mg/kg BW	74.3 ± 8.4 ^b	115.0 ± 4.5 ^a	82.9 ± 10.7 ^b	85.5 ± 12.4 ^b	88.2 ± 7.2 ^b	119.9 ± 6.7 ^a	
	Excretion	Fecal	mg/kg BW	39.1 ± 10.1 ^b	71.3 ± 7.4 ^a	50.4 ± 11.5 ^c	51.9 ± 10.5 ^c	58.4 ± 7.6 ^c	67.5 ± 10.2 ^a
		Renal	mg/kg BW	20.3 ± 7.3 ^a	19.6 ± 9.5 ^a	11.2 ± 4.8 ^{ab}	8.4 ± 4.3 ^b	5.5 ± 3.1 ^b	9.8 ± 4.0 ^{ab}
	Retention	mg/kg BW	15.0 ± 8.3 ^b	24.2 ± 15.3 ^b	21.3 ± 6.9 ^b	25.2 ± 12.0 ^b	24.3 ± 9.4 ^b	42.6 ± 9.1 ^a	
	apparent digestibility	%	47.6 ± 11.0 ^a	38.0 ± 6.4 ^{ab}	39.9 ± 10.3 ^{ab}	38.8 ± 10.9 ^{ab}	33.4 ± 9.8 ^b	43.8 ± 7.3 ^a	
K	Intake	mg/kg BW	267.6 ± 30.4 ^b	454.1 ± 17.7 ^{ac}	301.2 ± 38.8 ^b	310.7 ± 45.0 ^b	323.3 ± 26.2 ^{bc}	467.5 ± 26.0 ^a	
	Excretion	Fecal	mg/kg BW	26.3 ± 8.5 ^b	49.9 ± 6.6 ^a	38.2 ± 12.3 ^b	39.0 ± 11.1 ^{ab}	36.1 ± 6.4 ^b	49.6 ± 7.6 ^a
		Renal	mg/kg BW	173.5 ± 44.0 ^{bc}	249.9 ± 52.4 ^{ac}	161.9 ± 49.8 ^{bc}	157.1 ± 66.1 ^b	171.9 ± 66.3 ^{bc}	221.1 ± 87.0 ^c
	Retention	mg/kg BW	67.8 ± 37.7 ^b	154.3 ± 56.9 ^{ac}	101.1 ± 45.4 ^{bc}	114.6 ± 67.2 ^{abc}	115.3 ± 52.4 ^{abc}	196.8 ± 82.0 ^a	
	apparent digestibility	%	90.2 ± 2.6 ^a	89.0 ± 1.4 ^{ab}	87.5 ± 3.5 ^{ab}	87.5 ± 2.8 ^b	88.8 ± 1.8 ^{ab}	89.4 ± 1.4 ^{ab}	
Mg	Intake	mg/kg BW	32.2 ± 3.7 ^b	50.1 ± 2.0 ^a	35.9 ± 4.6 ^b	37.1 ± 5.4 ^b	38.2 ± 3.1 ^b	50.9 ± 2.8 ^a	
	Excretion	Fecal	mg/kg BW	12.5 ± 3.0 ^b	30.8 ± 2.9 ^a	14.3 ± 3.6 ^b	14.8 ± 2.7 ^{bc}	17.2 ± 1.9 ^c	29.9 ± 4.4 ^a
		Renal	mg/kg BW	14.7 ± 4.3 ^a	13.2 ± 3.4 ^{ab}	13.3 ± 4.5 ^{ab}	11.6 ± 4.8 ^{ab}	10.2 ± 4.9 ^b	9.5 ± 3.8 ^b
	Retention	mg/kg BW	5.0 ± 3.3 ^a	6.1 ± 4.1 ^a	8.4 ± 4.2 ^{ab}	10.6 ± 6.1 ^b	10.9 ± 4.4 ^b	11.6 ± 4.8 ^b	
	apparent digestibility	%	61.4 ± 7.0 ^b	38.6 ± 5.7 ^a	60.5 ± 8.4 ^b	59.4 ± 7.5 ^{bc}	54.7 ± 6.6 ^c	41.4 ± 7.1 ^a	
Na	Intake	mg/kg BW	7.4 ± 0.8 ^b	11.8 ± 0.5 ^a	8.3 ± 1.1 ^b	8.6 ± 1.2 ^b	8.8 ± 0.7 ^b	12.0 ± 0.7 ^a	
	Excretion	Fecal	mg/kg BW	1.1 ± 1.0 ^b	1.6 ± 0.9 ^b	2.6 ± 1.4 ^d	3.9 ± 1.8 ^c	4.1 ± 1.3 ^c	5.5 ± 2.2 ^a
		Renal	mg/kg BW	11.4 ± 4.0 ^a	12.3 ± 3.9 ^a	5.2 ± 4.0 ^b	4.1 ± 2.1 ^b	4.0 ± 2.9 ^b	4.8 ± 4.9 ^b
	Retention	mg/kg BW	-5.1 ± 3.5 ^a	-2.2 ± 4.2 ^{ab}	0.5 ± 4.3 ^b	0.5 ± 2.5 ^b	0.7 ± 3.5 ^b	1.7 ± 4.4 ^b	
	apparent digestibility	%	85.7 ± 12.1 ^b	86.5 ± 7.7 ^b	68.8 ± 15.7 ^c	54.7 ± 18.1 ^a	53.0 ± 17.1 ^a	53.8 ± 18.9 ^a	
Cl	Intake	mg/kg BW	260.2 ± 29.5 ^{ac}	389.3 ± 15.2 ^a	193.5 ± 24.9 ^c	139.7 ± 20.2 ^{bc}	26.5 ± 2.1 ^b	95.9 ± 5.3 ^{bc}	
	Excretion	Fecal	mg/kg BW	0.0 ± 0.0 ^a	0.5 ± 1.2 ^a	0.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^a	0.0 ± 0.0 ^a
		Renal	mg/kg BW	178.2 ± 65.0 ^{ac}	266.7 ± 53.1 ^a	128.1 ± 43.1 ^{ac}	91.3 ± 36.6 ^{bc}	56.7 ± 87.5 ^b	83.7 ± 32.6 ^{bc}
	Retention	mg/kg BW	82.0 ± 52.5 ^a	122.0 ± 55.5 ^a	65.4 ± 34.1 ^{ac}	48.4 ± 35.7 ^{abc}	-5.2 ± 12.0 ^b	12.2 ± 31.2 ^{bc}	
	apparent digestibility	%	100 ± 0.0 ^a	99.9 ± 0.3 ^a	100 ± 0.0 ^a	100 ± 0.0 ^a	100 ± 0.0 ^a	100 ± 0.0 ^a	

Means not sharing a superscript letter are significantly different (ANOVA, Holm-Sidak-Test, p < 0.05)

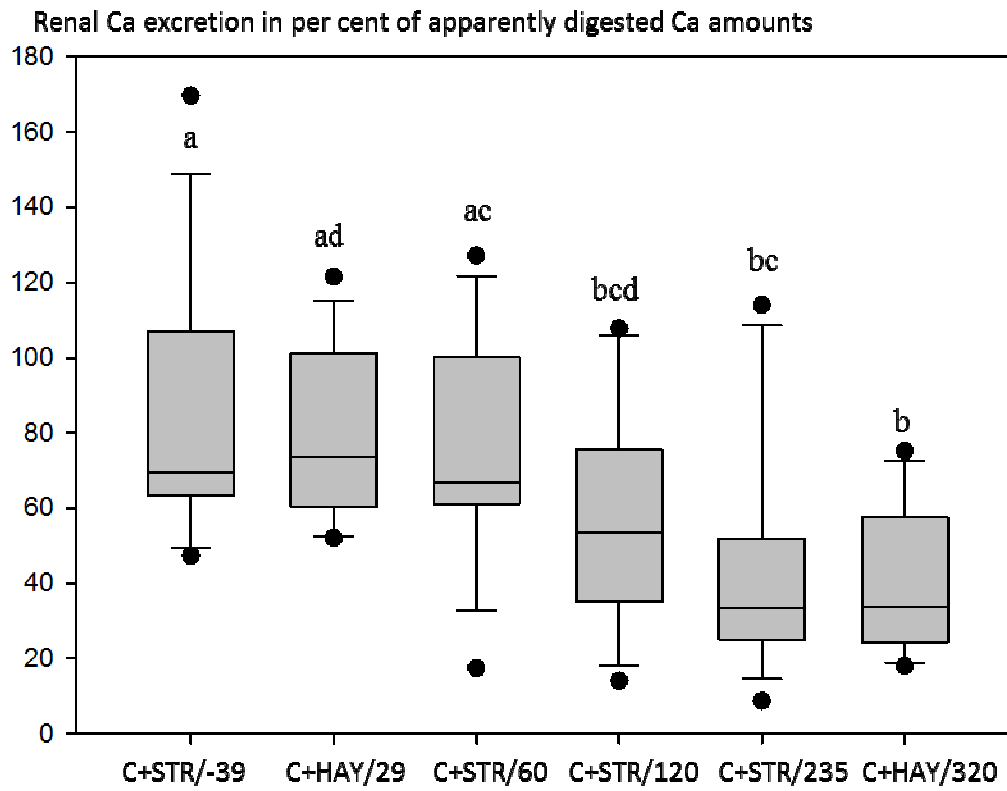


Figure 1: Renal Ca excretion [in % of the apparently digested Ca amounts]; Bars not sharing a superscript letter have significantly different data (ANOVA, Holm-Sidak-test, $p < 0.05$); dots are outliers outside the 10th and 90th percentiles

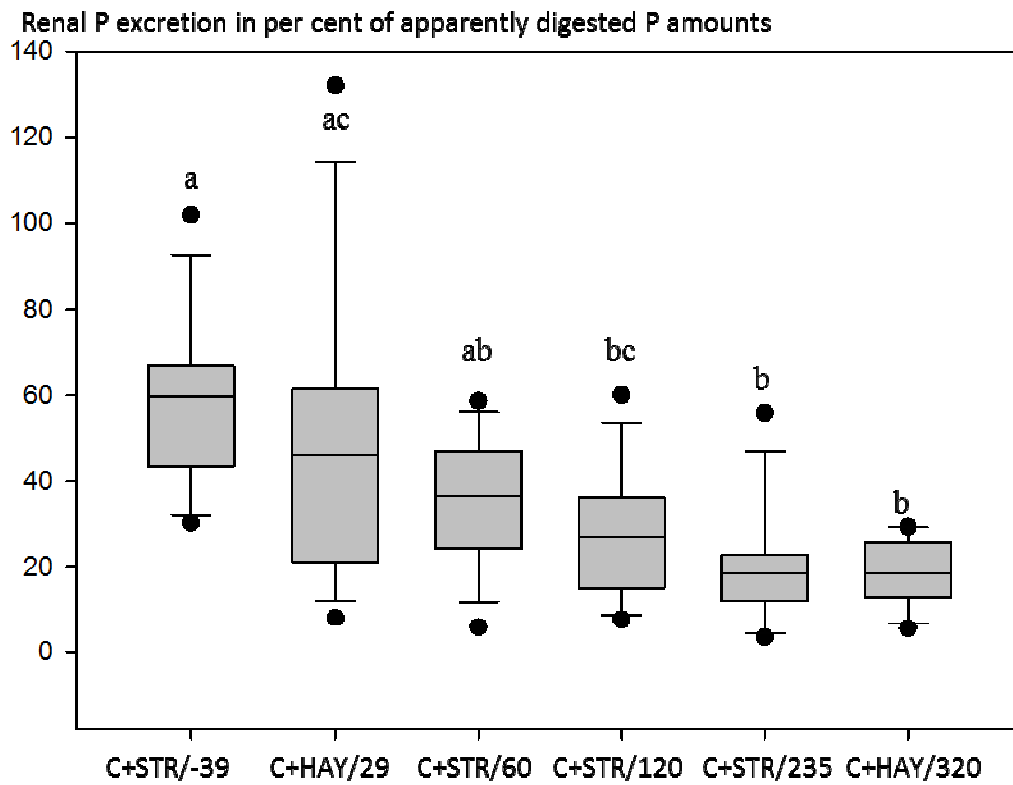


Figure 2: Renal P excretion [in % of the apparently digested P amounts]; Bars not sharing a superscript letter have significantly different data (ANOVA, Holm-Sidak-test, $p < 0.05$); dots are outliers outside the 10th and 90th percentiles

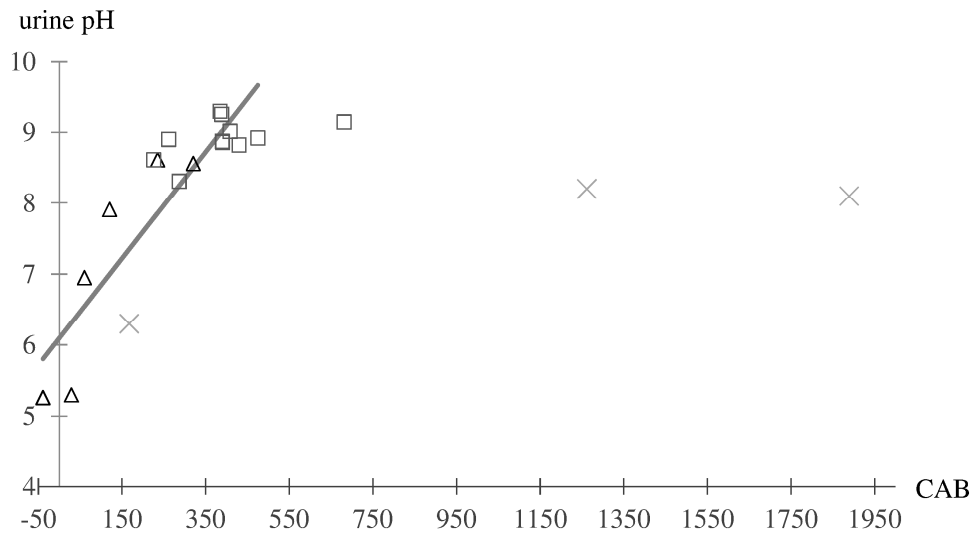


Figure 3: CAB and urine pH in rabbits, own data (Δ), literature data from Paulus 2010 (\square) and Kiwull-Schöne et al. 2005 (\times)

Regression line calculated for CAB between -39 and +475 mmol/kg dry matter:
 Urine pH = $6.096 + 0.00752\text{CAB}$ (mmol/kg DM); $r^2 = 0.77$, $p < 0.01$, $n = 17$)

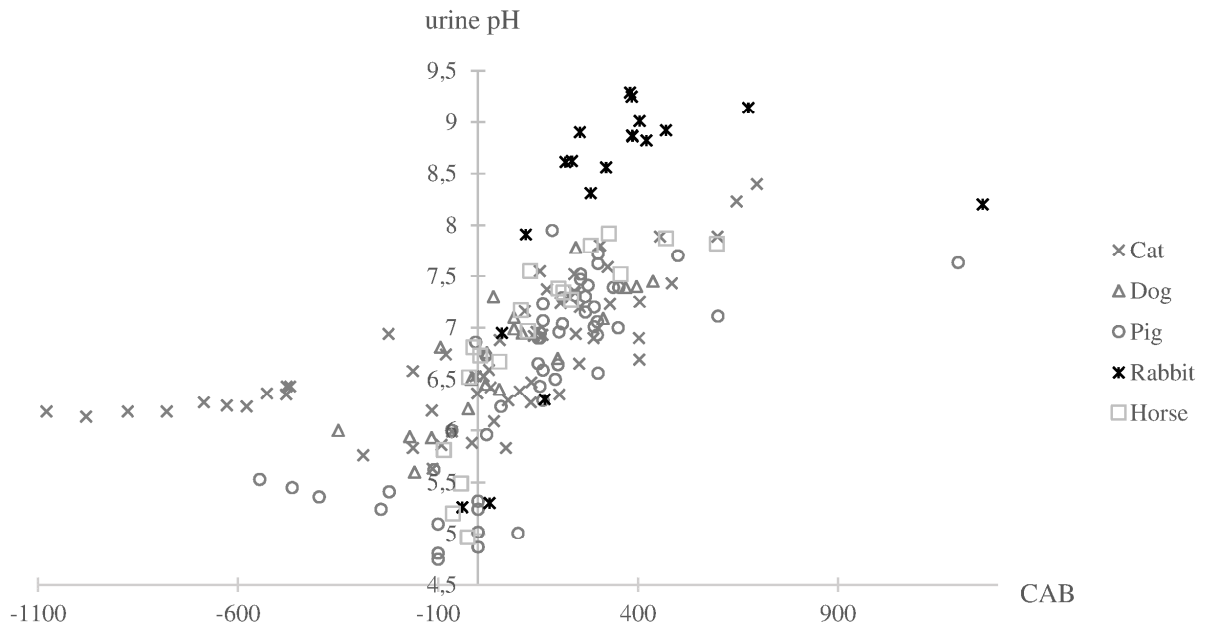


Figure 4: CAB and urine pH in different species, data from present study and from: Baker et al. 1992, Wall et al. 1992, Kienzle et al. 2006, Berchtold 2009, Goren et al. 2014 (horses); Juergens 1991, Finkensiep 1993, Krohn 1993, Beker et al. 1999, DeRouchey et al. 2003, Röcker 2006, Chen and Shan 2014 (pigs); Behnsen 1992, Yamka and Mickelsen 2006 (dogs); Kienzle et al. 1991, Kienzle and Wilms-Eilers 1994, Wagner et al. 2006, Jeremias et al. 2013, Pires et al. 2013 (cats); Kiwull-Schöne 2005, Paulus 2010 (rabbits); data on dogs include unpublished data from 5 trials from a study in our institute

IV. DISKUSSION

1. Kritik der Methoden

Die Nährstoffversorgung der Kaninchen wurde entsprechend der Empfehlungen des NRC bedarfsdeckend gestaltet (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1977). Im Bezug auf die Calciumversorgung gibt das NRC jedoch nur Bedarfszahlen für wachsende, tragende und laktierende Kaninchen an (0,4 % – 0,75 % lufttrockene Substanz). CHEEKE (1994) nennt einen Bedarf von 0,4 % - 0,5 % (lufttrockene Substanz) für nicht-laktierende Kaninchen. Kaninchen, die ausschließlich Heu ohne jegliche Supplementierung zu sich nehmen, haben eine große Spanne beim Calciumgehalt von 0,018 % bis 1,02 % in der Ration sofern man Ergebnisse aus Heuanalysen zu Grunde legt (MÖLLMANN, 2007). Die Calciumversorgung der Kaninchen in der eigenen Studie wurde mit 0,31 % – 0,42 % der TS bewusst knapp gewählt, da Calcium einen alkalisierenden Effekt ausübt. Bei weniger Calcium in der Ration kann mit entsprechend weniger Säuerern gearbeitet werden, was die Verträglichkeit der säuernden Ration auch beim Kaninchen erheblich verbessern dürfte. Für Katzen wurde dies bereits gezeigt (KIENZLE und WILMS-EILERS, 1994). Trotz der relativ geringen Ca-Aufnahme in der vorliegenden Studie war die Ca-Bilanz der Kaninchen bis auf eine Ausnahme (C+STR/-39) positiv. Eine Ca-Mangelernährung mit erheblichen Auswirkungen auch auf andere Mineralstoffe dürfte daher wohl nicht vorgelegen haben. Es kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, dass die Kaninchen die Ca-Absorption aus dem Darm und/oder die Rückresorption aus dem Primärharn aktiv heraufreguliert haben.

Bei niedriger Ca-Versorgung gelang es in der vorliegenden Studie die KAB im Futter und den pH im Harn erheblich abzusenken. Die Frage drängt sich auf, ob bei höherer Ca-Versorgung und einer vergleichbaren KAB, die dann entweder durch mehr Harnsäurer oder durch Tausch von Calcium-Carbonat gegen Calcium-Chlorid zustande kommen kann eine Harnsäuerung möglich gewesen wäre, oder ob in diesem Fall die Ca-Ausscheidung in den Harn als Carbonat dies unmöglich gemacht hätte. In der Studie von TSURUOKA und SCHWARTZ (1997) konnte trotz eines Calciumgehaltes von 1,1% der Urin-pH stark abgesenkt

werden, was dafür spricht, dass durch einen höheren Einsatz von Harnsäuerern Kaninchen mit für sie typischen Diäten ebenso angesäuert werden könnten.

In der durchgeführten Studie wurde aus Tierschutzgründen spontan abgesetzter Urin für die Analysen verwendet. Dieser konnte nahezu vollständig aufgefangen werden, da die Kaninchen sich auf Lochboden befanden und der Urin über eine mit Gefälle angebrachte Edelstahlwanne in einen Auffangbecher geleitet wurde. Die Wanne war ständig mit einer dünnen Schicht Paraffin benetzt, damit auch kleine langsam fließende Mengen abfließen konnten. Bis zu der zweimal am Tag durchgeführten pH-Messung wurde der Urin in den Bechern unter einer Schicht aus Paraffinöl und Thymol stabilisiert. Diese Methode der Urinkonservierung wurde von WILMS-EILERS (1992) als wirksam erwiesen und am Lehrstuhl schon mehrfach erfolgreich angewandt. In eigenen Vorversuchen wurde die pH-Stabilität von Kaninchen-Urin über 24h überprüft. Spontanurin vom Kaninchen ist laut EWRINGMANN (2010b) für die physikalische und chemische Untersuchung geeignet; die in der vorliegenden Studie angewandten Untersuchungen gehören alle in diese beiden Kategorien.

Der Hartkot der Kaninchen konnte ebenso komplett erfasst werden, da dieser sofort durch den Lochboden auf ein über der Urinwanne angebrachtes Netz fiel und den Kaninchen nicht mehr zur Aufnahme zugänglich war. In der vorliegenden Studie wurde den Kaninchen die Aufnahme ihres Blinddarmkotes nicht verwehrt, das heißt dieser konnte nicht separat in die Analysen mit einbezogen werden. Die Referenzmethode der europäischen Gesellschaft für Kaninchenernährung (ERGAN) für Verdaulichkeitsbestimmung sieht keine separate Analyse von Hart- und Weichkot vor, hier wird aus dem vom Kaninchen endgültig ausgeschiedenen Kot die Gesamt-Verdaulichkeit bestimmt (PEREZ et al., 1995).

2. Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie hatte die KAB einen deutlichen Effekt auf den Urin-pH beim Kaninchen. Mithilfe der Angaben über die Inhaltsstoffe der Ration in der Arbeit von PAULUS (2010) wurden die KABs in deren Rationen berechnet. Anschließend wurden KABs und Urin-pH-Werte mit den Ergebnissen

der vorliegenden Studie kombiniert; auf die selbe Art und Weise wurde mit den Ergebnissen von KIWULL-SCHÖNE et al. (2005) verfahren und eine Regression für den biologisch relevanten Bereich von einer KAB von -39 mmol/kg TS bis zu +475 mmol/kg TS erstellt. Es gilt beim Kaninchen zur Vorhersage des Urin-pHs im biologisch relevanten Bereich folgende Gleichung: $\text{Urin-pH} = 6,096 + 0,00752 \cdot \text{KAB (mmol/kg TS)}$; $r^2 = 0,77$, $p < 0,01$, $n = 17$. Hieraus wird deutlich, dass das Verhältnis von KAB und Urin-pH beim Kaninchen ähnlich zu dem von Schweinen, Hunden und Katzen ist (Katzen: KIENZLE und SCHUHKNECHT, 1993; KIENZLE und WILMS-EILERS, 1994; WAGNER et al., 2006; JEREMIAS et al., 2013; Hunde: BEHNSEN, 1992; YAMKA und MICKELSEN, 2006; Schweine: BEKER et al., 1999; RÖCKER, 2006; CHEN und SHAN, 2014). Auch zu den Verhältnissen bei Pferden, die kein grünes Pflanzenmaterial zu sich nehmen, ist der Zusammenhang von KAB und Urin-pH vergleichbar. Im tierartlichen Vergleich zeigte sich, dass im alkalischen Bereich der KAB Kaninchen im Vergleich zu anderen Tierarten die Tendenz zu höheren Urin-pH-Werten hatten. Dieser höhere pH könnte durch den besonderen Ca-Haushalt beim Kaninchen bedingt sein. Kaninchen nehmen Calcium unreguliert aus dem Darmlumen auf (KAMPHUES et al., 1986; CLAUSS und HUMMEL, 2008; HARCOURT-BROWN, 2013). Überschüssiges Calcium wird größtenteils über die Nieren als Calciumcarbonat ausgeschieden (WENKEL et al., 1998; REDROBE, 2002; ECKERMANN-ROSS, 2008; HARCOURT-BROWN, 2013); dieses ist im Urin stark alkalisierend.

Da ein Effekt von grünem Pflanzenmaterial wie beim Pferd von GOREN et al. (2014) beschrieben auf den Säure-Basen-Haushalt beim Kaninchen in der vorliegenden Studie ausgeblieben ist kann das Kaninchen in dieser Hinsicht nicht als Modelltier für das Pferd fungieren.

Die Fähigkeit von Kaninchen zur Säureausscheidung konnte in der vorliegenden Studie bestätigt werden. Die in der Niere sezernierten Protonen werden im Urin ausgeschieden oder an andere Puffersubstanzen und Ammoniak gebunden und als titrierbare Säure und Ammoniumionen ausgeschieden (FROMM und GÄBEL, 2004; GSTRAUNTHALER, 2010). In der vorliegenden Studie konnte eine Steigerung der Ausscheidung saurer Valenzen bei niedrigeren KABs sowohl durch Protonenausscheidung (Veränderung des Urin-pH-Wertes) als auch durch

Erhöhung der Säureausscheidung (Säuren + Ammoniak) beobachtet werden. Die Säureausscheidung wird in der NSBA berücksichtigt [Basen – (Säuren + Ammoniak)]. Abb. 2 zeigt einen klaren Zusammenhang der KAB im Futter und der NSBA im Urin.

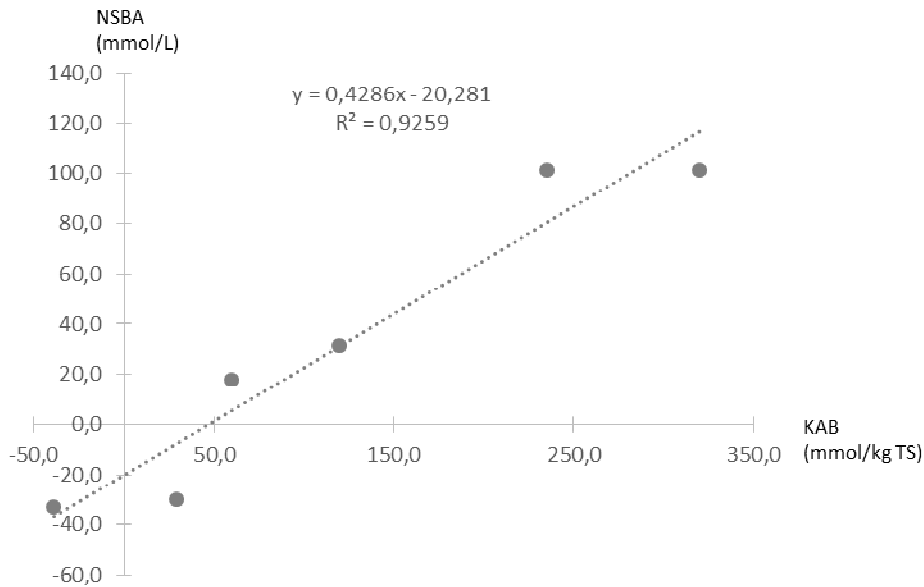


Abb. 2: Beziehung zwischen der KAB im Futter und der NSBA im Urin; Daten aus eigener Studie (siehe Table 2)

Die hauptsächliche Säureausscheidung erfolgte bei den Kaninchen über die titrierbaren Säuren und nicht über die Ammoniakausscheidung. Der Ammoniakgehalt lag in der vorliegenden Studie zwischen $1,1 \pm 1,33$ mmol/l und $7,91 \pm 7,04$ mmol/l; die Ausscheidung der titrierbaren Säuren zwischen $5,7 \pm 2,2$ mmol/l und $43,8 \pm 10,5$ mmol/l (unterer Wert jeweils bei Kontrolldiät und hoher Wert bei saurer Diät). Der prozentuale Anstieg der titrierbaren Säuren betrug 722 %. Die Ammoniakausscheidung wurde zwar sehr wohl ebenfalls um einiges gesteigert (192 %), aber der Anteil vom Ammoniak an der Gesamtsäureausscheidung lag bei 32,2 % in den drei Diäten mit höherer KAB im

Gegensatz zu 14,5 % in den drei Diäten mit niedrigerer KAB. Die Größenordnung der Säurezunahme und der Zunahme des Ammoniakgehaltes im Verhältnis zur Gesamtsäureausscheidung wird in Abb. 3 deutlich. Bereits in anderen Studien wurde gezeigt, dass Pflanzenfresser weniger Ammoniak ausscheiden als Fleischfresser (BALAGURA-BARUCH, 1971; PITTS, 1973; BALAGURA-BARUCH, 1975). Auch im Vergleich zur omnivoren Ratte scheidet das Kaninchen unter azidotischen Bedingungen weniger Ammoniak aus (TANNER, 1984; SESHADRI et al., 2006). Dies hängt mit einer geringeren Aktivität des Enzyms Glutaminase zusammen, welches die Ammoniakausscheidung über die Niere katalysiert (DAVIES und YUDKIN, 1952; RECTOR JR et al., 1955; RICHTERICH und GOLDSTEIN, 1958).

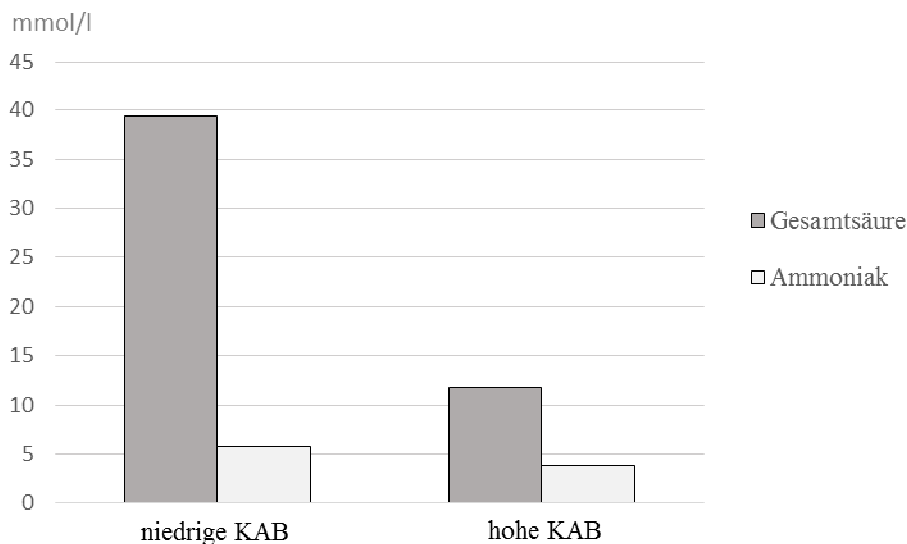


Abb. 3: Anteil des Ammoniakgehalts an der renalen Gesamtsäureausscheidung beim Kaninchen in Diäten mit niedrigen KABs (im Mittel 17 mmol/kg TS) und hohen KABs (im Mittel 225 mmol/kg TS); Daten aus eigener Studie

Die Beeinflussung der Ausscheidung der Mengenelemente, insbesondere der renalen Ausscheidung, konnte beim Kaninchen in ähnlicher Art und Weise beeinflusst werden wie schon vorher bei anderen monogastrischen Spezies (JAFFE et al., 1932; SARTORIUS et al., 1949; LANGENDORF und LANG, 1963; BURNELL, 1971; KRAUT et al., 1986; CHING et al., 1989; COOPER et al., 2000; RIOND, 2001; MCKENZIE et al., 2002; TOPLIFF, 2006; CHEN und SHAN, 2014).

Die Ca-Retention war in der vorliegenden Studie nicht nur von der Ca-Aufnahme abhängig, sondern auch von der KAB. Bei sechs Versuchsdurchgängen ist die Berechnung einer multiplen Regression sicherlich sehr gewagt. Explorativ zeigte sich in dieser Berechnung ein engerer Zusammenhang für die KAB und die Ca-Retention als für die Ca-Aufnahme und die Ca-Retention. Zwischen Ca-Aufnahme und Ca-Retention bestand keine hohe Ko-Korrelation. Abb. 4 zeigt Boxplots der Ca-Retention in Abhängigkeit von der KAB und der Ca-Aufnahme. Hier wird der Effekt der KAB deutlich sichtbar.

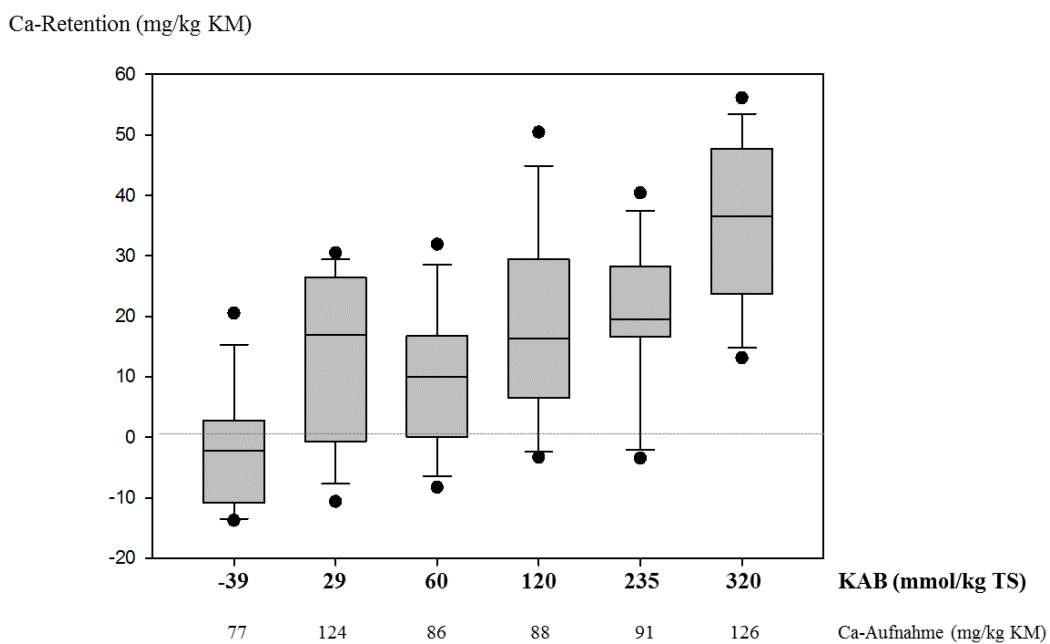


Abb. 4: Boxplot der Ca-Retention in Abhängigkeit von der KAB und der Ca-Aufnahme; Daten aus eigener Studie (siehe Table S1). Eine Box stellt den Median sowie das 25. und 75. Perzentil dar, Punkte sind Ausreißer außerhalb der durch „Whiskers“ dargestellten 10. und 90. Perzentile

Der Grund könnte sein, dass das Skelett an der Pufferung des Körpers beteiligt ist und bei saurer Stoffwechsellage eher Calcium freigibt als bei alkalischer, während umgekehrt bei alkalischem Milieu eher eine Einstellung von Calcium und Phosphor in den Knochen geben dürfte. In der vorliegenden Studie gab es eine enge Korrelation zwischen der Ca- und P-Retention (Abb. 5).

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse, insbesondere der Mengenelementausscheidung im Harn, muss der langfristige Einsatz von säuernden Diäten zur Reduktion von Geruchsentwicklung der Einstreu oder zur Prävention von Harnsteinen kritisch betrachtet werden; es könnten Probleme in der Knochengesundheit auftreten.

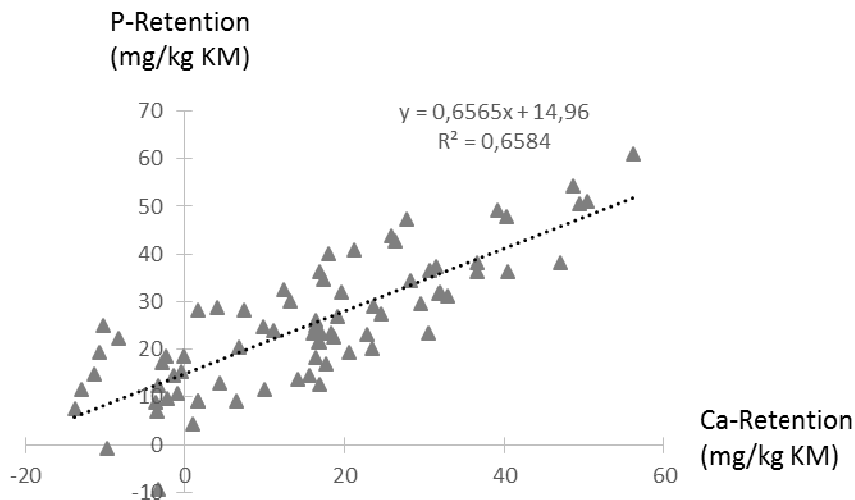


Abb. 5: Beziehung zwischen Ca- und P-Retention beim Kaninchen; Daten aus eigener Studie (siehe Table S1)

In der vorliegenden Studie konnte das Urinvolumen durch azidierende Diäten gesteigert werden (Urinverdünnung), was zur Urinstein-Prophylaxe genutzt werden könnte (BIOURGE, 2007). Eine Möglichkeit zur Steigerung der Urinmenge, die vermutlich weniger Gesundheitsrisiken mit sich bringt, könnte die Supplementierung mit Kochsalz sein (RÜCKERT et al., 2016). Weniger starke Effekte ließen sich bei PAULUS (2010) durch andere Harnsäurer erzielen (Methionin, Calciumchlorid und Benzoesäure). Die Harnmengen (ml/kg KM) in den zwei genannten Studien und der eigenen Studie im Vergleich sind in Abb. 6 dargestellt.

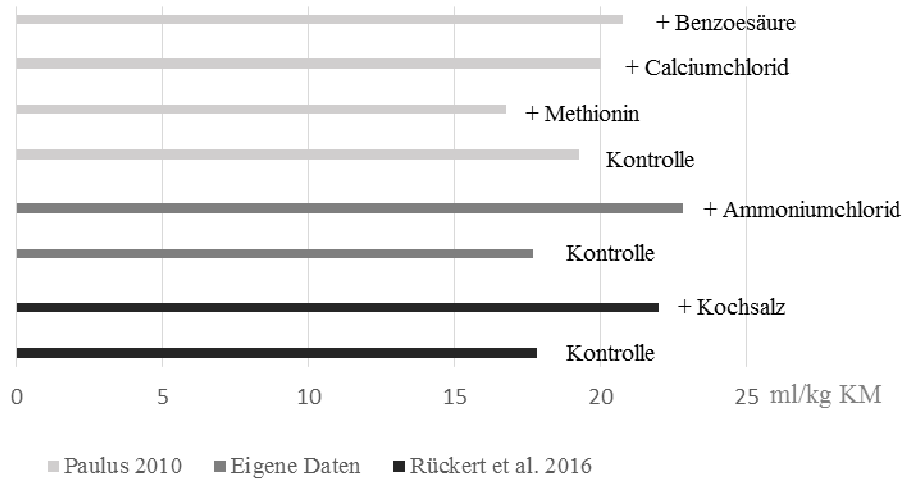


Abb. 6: Harnmenge beim Kaninchen (in ml/kg KM) nach Einsatz verschiedener Futter-Additive; Daten aus eigener Studie, sowie aus den Studien von PAULUS (2010) und RÜCKERT et al. (2016)

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei diversen monogastrischen Spezies (Hund, Katze, Schwein, Pferd) kann ein klarer Zusammenhang zwischen der Kationen-Anionen-Bilanz (KAB) im Futter und dem Urin-pH hergestellt werden. Bei Pferden gilt dieser Zusammenhang nur, wenn keine grünen Pflanzenbestandteile in der Ration enthalten sind. Das Kaninchen weist gewisse Ähnlichkeiten zum Pferd auf auf: Calcium wird in hohen Mengen renal ausgeschieden und es gibt widersprüchliche Aussagen zur Harnansäuerung durch die Fütterung. In der vorliegenden Studie sollte überprüft werden, ob sich das Kaninchen als Modell für den Säure-Basen-Haushalt des Pferdes eignet. Außerdem sollte ein tierartübergreifender Vergleich des Einflusses der KAB auf den Säure-Basen-Haushalt zu anderen Monogastrieren angestellt werden.

Für den Versuch standen 13 weibliche Zwergkaninchen zur Verfügung. Es kamen sechs verschiedene Rationen, bestehend aus Heu oder Stroh, Kraftfutter und unterschiedlichen Mengen Ammoniumchlorid zum Einsatz. Die KAB wurde wie folgt berechnet: $KAB \text{ (mmol/kg TS)} = 49.9 \cdot Ca + 82.3 \cdot Mg + 43.5 \cdot Na + 25.6 \cdot K - 59 \cdot P - 62.4 \cdot S - 28.2 \cdot Cl$ (Mengelemente in g/kg TS). Die Kationen-Anionen-Bilanzen lagen zwischen -39 mmol/kg TS und 320 mmol/kg TS. Das Futter wurde entsprechend dem Erhaltungsbedarf zugeteilt. Die Rationen wurden überwiegend vollständig aufgenommen. Als Prüfparameter wurden Urin-pH, Netto-Säure-Basen-Ausscheidung im Urin, Kot-pH, Blut-pH, Basen-Exzess im Blut, Verdaulichkeiten und Mineralstoffbilanzen festgelegt.

Sowohl Urin-pH als auch Blut-pH und Basen-Exzess im Blut waren in Rationen mit niedriger KAB signifikant niedriger als in Rationen mit hoher KAB. Die Netto-Säure-Basen-Ausscheidung lag in sauren Rationen deutlich höher. Der Urin-pH konnte von über $8,56 \pm 0,24$ bis auf $5,26 \pm 0,22$ gesenkt werden. Die Regressionsgleichung für die Beziehungen zwischen der KAB und dem Urin-pH beim Kaninchen lautet folgendermaßen: $Urin-pH = 6,096 + 0,00752 \cdot KAB$ (mmol/kg TS). Grüne Pflanzenbestandteile, wie z.B. Heu hatte im Gegensatz zu vorangegangenen Studien beim Pferd beim Kaninchen keinen Effekt. Auf den Kot-pH zeigte sich kein systematischer Einfluss. Die Kotwasser-Ausscheidung war bei Heu-Rationen signifikant höher als bei Stroh-Rationen.

Die Mengenelementverdaulichkeiten und deren fäkale Exkretion waren (bis auf eine höhere Natrium-Verdaulichkeit in sauren Rationen) unabhängig von der KAB. Im Gegensatz dazu war die renale Ausscheidung von Calcium, Phosphor, Natrium und Magnesium in sauren Rationen signifikant höher als in alkalischen.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass beim Kaninchen eine Beeinflussung des Urin-pH-Wertes in ähnlicher Weise möglich ist wie bei anderen monogastrischen Spezies; bei einer langfristigen Anwendung bestehen Risiken hinsichtlich des Mengenelementhaushaltes (ähnlich wie bereits bei anderen Spezies bereits bekannt).

VI. SUMMARY

In different monogastric species (dog, cat, pig, horse), there is a clear connection between cation-anion-balance (CAB) in feed and urine pH. In horses these clear effects only exist when no green fodder is used. Rabbits have some similarities to horses: Calcium is excreted via urine in high amounts and there are some contradictory results regarding the influence of feeding on acidification of urine. In the present study should be investigated if the rabbit is a suitable model animal for the horse concerning its acid-base-balance. Furthermore, comparisons should be drawn between rabbits and other monogastric species in matters of the influence of CAB on acid-base-balance.

13 female dwarf rabbits were available for the study. Six different diets based on hay or straw, concentrate and different amounts of ammonium chloride were fed. The CAB was calculated as follows: $CAB \text{ (mmol/kg DM)} = 49.9 \cdot Ca + 82.3 \cdot Mg + 43.5 \cdot Na + 25.6 \cdot K - 59 \cdot P - 62.4 \cdot S - 28.2 \cdot Cl$ (major elements in g/kg DM). The CAB ranged from -39 mmol/kg dry matter (DM) to 320 mmol/kg DM. The rabbits were fed on maintenance requirements and the rations were ingested almost completely. The investigated parameters were urine pH, net-acid-base-excretion in urine, fecal pH, blood pH, base excess in blood, digestibilities and mineral balances.

Urine pH, blood-pH and base-excess in blood decreased significantly in rations with lower CAB compared to rations with higher CAB. Net-acid-base-excretion was higher in acidifying diets. Urine pH decreased from 8.65 ± 0.24 to 5.26 ± 0.22 . The equation of the regression between CAB and urine pH is: $Urine \text{ pH} = 6.096 + 0.00752 \cdot CAB \text{ (mmol/kg DM)}$. Green fodder had no effects on the rabbits, in contrast to previous studies with horses. In the present study was no significant influence on fecal pH. Fecal water excretion was significantly higher in hay diets than in straw diets.

The digestibilities of major elements and their fecal excretion were independent of the CAB (except a higher digestibility of sodium in acidified diets). In contrast, the renal excretion of calcium, phosphorus, sodium and magnesium was significantly higher in diets with lower CAB than in diets with higher CAB.

Summary

The results of the present study show that it is possible to influence rabbit urine pH similar to other monogastric species; in long term use there are some risks concerning the major element balances (similar to those already known in other species).

VII. LITERATURVERZEICHNIS

BAKER L., TOPLIFF D., FREEMAN D., TEETER R., BREAZILE J. Effects of dietary cation-anion balance on acid-base status in horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 1992; 12: 160-3.

BAKER L. A., WALL D. L., TOPLIFF D. R., FREEMAN D. W., TEETER R. G., BREAZILE J. E., WAGNER D. G. Effect of dietary cation-anion balance on mineral balance in anaerobically exercised and sedentary horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 1993; 13: 557-61.

BALAGURA-BARUCH S. Renal metabolism and transfer of ammonia. In: *The Kidney: Morphology, Biochemistry and Physiology*, 3 edn. ROUILLER C., AS M., eds. New York: Academic Press New York 1971: 253-327.

BALAGURA-BARUCH S. (1975) *Medical Clinics of North America: Symposium on Renal Metabolism*. W.B. Saunders

BARTGES J. W., KIRK C. A., COX S. K., MOYERS T. D. Influence of acidifying or alkalinizing diets on bone mineral density and urine relative supersaturation with calcium oxalate and struvite in healthy cats. *American Journal of Veterinary Research* 2013; 74: 1347-52.

BEHNSEN K. (1992) Einfluss der Fütterung auf pH-Wert und spezifisches Gewicht im Harn des Hundes. *Vet. Med. Diss.*, Tierärztliche Hochschule, Hannover

BEKER S., KIENZLE E., DOBENECKER B. Untersuchungen zur Einstellung des Harn-pH-Wertes bei Sauen. *Lohmann International* 1999; 1: 17-9.

BEKER S. C. M. (1999) Einstellung des Harn-pH-Wertes bei Sauen. *Vet. Med. Diss.*, Ludwig-Maximilians-Universität, München

BERCHTOLD L. (2009) Untersuchungen zum Einfluss der Anionen-Kationen-Bilanz auf den Mineralstoff- und Säure-Basen-Haushalt bei Ponys. Vet. Med. Diss., Ludwig-Maximilians-Universität, München

BIOURGE V. Urine dilution: a key factor in the prevention of struvite and calcium oxalate uroliths. *Veterinary Focus* 2007; 17: 41-4.

BRECHUE W., KINNE-SAFFRAN E., KINNE R., MAREN T. Localization and activity of renal carbonic anhydrase (CA) in CA-II deficient mice. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 1991; 1066: 201-7.

BREWER N., CRUISE L. Physiology. In: *The Biology of the Laboratory Rabbit*, 2 edn. MANNING P, RINGLER D., NEWCOMER C., eds. San Diego: Academic Press 1994: 63-8.

BRION L., ZAVILOWITZ B. J., SUAREZ C., SCHWARTZ G. J. Metabolic acidosis stimulates carbonic anhydrase activity in rabbit proximal tubule and medullary collecting duct. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 1994; 266: F185-F95.

BUFFINGTON C. Ernährung und Struvit-Urolithiasis bei Katzen. *Veterinary Medicine International* 1989; 1: 1-17.

BURNELL J. M. Changes in bone sodium and carbonate in metabolic acidosis and alkalosis in the dog. *Journal of Clinical Investigation* 1971; 50: 327.

CANH T. T., AARNINK A. J. A., MROZ Z., JONGBLOED A. W., SCHRAMA J. W., VERSTEGEN M. W. A. Influence of electrolyte balance and acidifying calcium salts in the diet of growing-finishing pigs on urinary pH, slurry pH and ammonia volatilisation from slurry. *Livestock Production Science* 1998; 56: 1-13.

CARCIOFI A. C. Methods of study of metabolic responses of dogs and cats to different foods. *Revista Brasileira de Zootecnia* 2007; 36: 235-49.

CHEEKE P. R. (1994) *The Biology of the Laboratory Rabbit*. Academic Press, London

CHEN S. C. L. W. X., SHAN B. S. A. Effects of dietary electrolyte balance on the performance, plasma biochemistry parameters and immunoglobulin of sows during late gestation and lactation. *Animal Feed Science and Technology* 2014; 120: 277-98.

CHING S. V., FETTMAN M. J., HAMAR D. W., NAGODE L. A., SMITH K. R. The effect of chronic dietary acidification using ammonium chloride on acid-base and mineral metabolism in the adult cat. *The Journal of Nutrition* 1989; 119: 902-15.

CHOW F., TATON G., LEWIS L., HAMAR D. Effect of dietary ammonium chloride, DL methionine, sodium phosphate and ascorbic acid on urinary pH and electrolyte concentrations of male cats. *Feline Practice* 1978; 8: 29-32.

CLAUSS M., HUMMEL J. (2008) Getting it out of the (digestive) system: hindgut fermenters and calcium. *Proceedings of the Comparative Nutrition Society*. 30-6

COOK N. The importance of urinary pH in the prevention of Feline Urologic Syndrome. *Pet Food Industry* 1985; 27: 24-31.

COOPER S., TOPLIFF D., FREEMAN D., BREAZILE J., GEISERT R. Effect of dietary cation-anion difference on mineral balance, serum osteocalcin concentration and growth in weanling horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 2000; 20: 39-44.

CRUZ-SOTO M., BATLLE D., SABATINI S., ARRUDA J. A., KURTZMAN N. A. Distal acidification in the rabbit: role of diet and blood pH. *American Journal of Physiology* 1982; 243: F364-71.

DAVIES B. M., YUDKIN J. Studies in biochemical adaptation. The origin of urinary ammonia as indicated by the effect of chronic acidosis and alkalosis on some renal enzymes in the rat. *Biochemical Journal* 1952; 52: 407.

DEROUCHEY J., HANCOCK J., HINES R., CUMMINGS K., LEE D., MALONEY C., DEAN D., PARK J., CAO H. Effects of dietary electrolyte balance on the chemistry of blood and urine in lactating sows and sow litter performance. *Journal of Animal Science* 2003; 81: 3067-74.

DOBYAN D. C., MAGILL L. S., FRIEDMAN P. A., HEBERT S. C., BULGER R. E. Carbonic anhydrase histochemistry in rabbit and mouse kidneys. *The Anatomical Record* 1982; 204: 185-97.

ECKERMANN-ROSS C. Hormonal regulation and calcium metabolism in the rabbit. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 2008; 11: 139-52.

EWRINGMANN A. Urinveränderungen. In: *Leitsymptome beim Kaninchen: Diagnostischer Leitfaden und Therapie*. 2edn, Stuttgart: Enke 2010a: 156-72.

EWRINGMANN A. Harnuntersuchung. In: *Leitsymptome beim Kaninchen: Diagnostischer Leitfaden und Therapie*. 2edn, Stuttgart: Enke 2010b: 293-5.

FEHR M. Urolithiasis bei Kaninchen und Meerschweinchen. *Der Praktische Tierarzt* 1990; 10: 36.

FINKENSIEP A. (1993) Untersuchungen über den Einfluß des Harnstatus auf das Puerperalsyndrom der Sau unter Berücksichtigung der Fütterung und des peripartalen Trinkwasserverbrauchs. Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule, Hannover

FORD E. J., GOPINATH C. The excretion of phylloerythrin and bilirubin by the horse. Research in Veterinary Science 1974; 16: 186.

FROMM M., GÄBEL G. Niere. In: Physiologie der Haustiere, 5 edn. VON ENGELHARDT W., BREVES G., M D., G G., eds. Stuttgart: Enke 2004: 299-323.

GARIBALDI B. A., FOX J. G., OTTO G., MURPHY J. C., PECQUET-GOAD M. E. Hematuria in rabbits. Laboratory Animal Science 1987; 37: 769-72.

GIAMMARCO R., GOLDSTEIN M., HALPERIN J., HAMMEKE M., RICHARDSON R., ROBSON W., STINEBAUGH B., HALPERIN M. Collecting duct hydrogen ion secretion in the rabbit: role of potassium. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1978; 91: 948-59.

GOREN G. (2014) Grünfütter und Grünfütterkonserven modifizieren den Säuren-Basen-Haushalt des Pferdes. Vet. Med. Diss., Ludwig-Maximilians-Universität, München

GOREN G., FRITZ J., DILLITZER N., HIPPE B., KIENZLE E. Fresh and preserved green fodder modify effects of urinary acidifiers on urine pH of horses. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2014; 98: 239-45.

GSTRAUNTHALER G. Säure-Basen-Haushalt. In: Klinische Ernährungsmedizin Wien: Springer 2010: 23-32.

HARCOURT-BROWN F. M. Diagnosis of renal disease in rabbits. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 2013; 16: 145-74.

HARRINGTON J., LEMANN J. The metabolic production and disposal of acid and alkali. *The Medical clinics of North America* 1970; 54: 1543-54.

HATT J. M., LANGENECKER M., CLAUSS M., HÄSSIG M. Vergleichende Untersuchung zur Krankheitsverteilung bei Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Frettchen. *Tierärztliche Praxis Kleintiere* 2009; 37: 326-33.

IINO Y., BURG M. B. Effect of acid-base status in vivo on bicarbonate transport by rabbit renal tubules in vitro. *The Japanese Journal of Physiology* 1981; 31: 99-107.

JAFFE H. L., BODANSKY A., CHANDLER J. P. Ammonium chloride decalcification, as modified by calcium intake: the relation between generalized osteoporosis and ostitis fibrosa. *The Journal of Experimental Medicine* 1932; 56: 823.

JANCZIKOWSKI M. (2008) Untersuchungen zur Schwefelbilanz von Hunden bei Supplementierung des Futters mit unterschiedlichen S-Verbindungen (Cystein, CaSO₄, S-Blüte) und S-Gehalten. *Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule, Hannover*

JENKINS J. R. Rabbit diagnostic testing. *Journal of Exotic Pet Medicine* 2008; 17: 4-15.

JEREMIAS J., NOGUEIRA S., BRUNETTO M., PEREIRA G., LOUREIRO B., FERREIRA C., GOMES M., CARCIOFI A. Predictive formulas for food base excess and urine pH estimations of cats. *Animal Feed Science and Technology* 2013; 182: 82-92.

JUERGENS C. (1991) Einfluss von Futterzusatzstoffen auf den pH-Wert und die Inhaltsstoffe des Harns bei Zuchtsauen, Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule, Hannover

KAMPHUES J., CARSTENSEN P., SCHROEDER D., MEYER H., SCHOON H. A., ROSENBRUCH M. Effekte einer steigenden Calcium-und Vitamin D-Zufuhr auf den Calciumstoffwechsel von Kaninchen¹. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 1986; 56: 191-208.

KAMPHUES J. Calcium-metabolism of rabbits as an etiologic factor for urolithiasis. The Journal of Nutrition 1991; 121: 95-6.

KIENZLE E. Ernährung und Urolithiasis bei Haussäugetieren. Uebersichten zur Tierernaehrung 1991; 19: 157-200.

KIENZLE E., SCHUKNECHT A., MEYER H. Influence of food composition on the urine pH in cats. The Journal of Nutrition 1991; 121: 87-8.

KIENZLE E., SCHUHNECHT A. Struvite stone dietetics: 1. Effect of different feed rations on the urine pH value of cats. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 1993; 100: 198-203.

KIENZLE E., WILMS-EILERS S. Struvite diet in cats: effect of ammonium chloride and carbonates on acid base balance of cats. The Journal of Nutrition 1994; 124: 2652S-9S.

KIENZLE E., MAIWALD E. Effect of vitamin C on urine pH in cats. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 1998; 80: 134-9.

KIENZLE E., STUERMER K., RANZ D., CLAUSS M. A high roughage/concentrate ratio decreases the effect of ammonium chloride on acid-base balance in horses. Journal of Nutrition 2006; 136: 2048S-9S.

KIENZLE E., BURGER A. Der Erhaltungsbedarf des Pferdes an Mengenelementen. Uebersichten zur Tierernaehrung 2011; 39: 67-104.

KIWULL-SCHÖNE H., KALHOFF H., MANZ F., KIWULL P. Food mineral composition and acid-base balance in rabbits. European Journal of Nutrition 2005; 44: 499-508.

KIWULL-SCHÖNE H., KIWULL P., MANZ F., KALHOFF H. Food composition and acid-base balance: alimentary alkali depletion and acid load in herbivores. The Journal of Nutrition 2008; 138: 431S-4S.

KŁOS B., KALICIAK M., WALKOWIAK K., ADAMSKI M. THE INFLUENCE OF NEGATIVE CATION-ANION BALANCE IN COWS ON THE FREQUENCY OF MILK FEVER. Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica 2015; 14: 91-8.

KRAUT J. A., MISHLER D. R., SINGER F. R., GOODMAN W. G. The effects of metabolic acidosis on bone formation and bone resorption in the rat. Kidney International 1986; 30: 694-700.

KRISTENSEN N. B., NØRGAARD J. V., WAMBERG S., ENGBÆK M., FERNÁNDEZ J. A., ZACHO H., POULSEN H. Absorption and metabolism of benzoic acid in growing pigs. Journal of Animal Science 2009; 87: 2815-22.

KROHN U. (1993) Beeinflussung des Säure-Basen-Haushaltes von Zuchtsauen durch Futterzusätze, Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule, Hannover

KURTZ I., STAR R., BALABAN R., GARVIN J. L., KNEPPER M. Spontaneous luminal disequilibrium pH in S3 proximal tubules. Role in ammonia and bicarbonate transport. Journal of Clinical Investigation 1986; 78: 989.

LANGENDORF H., LANG K. (1963) Säure-Basen-Gleichgewicht und chronische acidogene und alkalogene Ernährung. Steinkopff, Darmstadt

LANGENECKER M., CLAUSS M., HASSIG M., HATT J. Vergleichende Untersuchung zur Krankheitsverteilung bei Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten und Frettchen. Tieraerztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere 2009; 37: 326.

LUCCI M. S., TINKER J. P., WEINER I., DUBOSE T. Function of proximal tubule carbonic anhydrase defined by selective inhibition. American Journal of Physiology-Renal Physiology 1983; 245: F443-F9.

MAIER R., LUTTER F. X. Urolithiasis beim Kaninchen. Der Praktische Tierarzt 1989; 70: 16-20.

MARKWELL P. J., BUFFINGTON C. T., SMITH B. H. The effect of diet on lower urinary tract diseases in cats. The Journal of Nutrition 1998; 128: 2753S-7S.

MCKENZIE E. C., VALBERG S. J., GODDEN S. M., PAGAN J. D., CARLSON G. P., MACLEAY J. M., DELACORTE F. D. Plasma and urine electrolyte and mineral concentrations in Thoroughbred horses with recurrent exertional rhabdomyolysis after consumption of diets varying in cation-anion balance. American Journal of Veterinary Research 2002; 63: 1053-60.

MÖLLMANN F. (2007) Analysen und Abschätzung des Mineralstoffgehaltes in Heuproben aus oberbayerischen Pferdehaltungsbetrieben. Vet. Med. Diss., Ludwig-Maximilians-Universität, München

MUELLER R., COOPER S., TOPLIFF D., FREEMAN D., MACALLISTER C., CARTER S. Effect of dietary cation-anion difference on acid-base status and energy digestibility in sedentary horses fed varying levels and types of starch. Journal of Equine Veterinary Science 2001; 21: 498-502.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements and Signs of Deficiency and Toxicity. In: Nutrient Requirements of Rabbits, Second Revised Edition, 2 edn Washington DC: The National Academic Press 1977: 2-9.

OH M. S. ACID-BASE IN RENAL FAILURE: New Perspectives on Acid-Base Balance. Seminars in Dialysis 2000; 13: 212-9.

OSBORNE C., LULICH J., BARTGES J., UNGER L., THUMCHAI R., KOEHLER L., BIRD K., FELICE L. Canine and feline urolithiasis: relationship of etiopathogenesis to treatment and prevention. Canine and Feline Nephrology and Urology 1995: 798-888.

PAULUS C. (2010) Fütterungseinflüsse auf die Ammoniakfreisetzung aus den Exkrementen von Zwergkaninchen. Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule, Hannover

PEREZ J., LEBAS F., GIDENNE T., MAERTENS L., XICCATO G., PARIGI-BINI R., DALLE ZOTTE A. European reference method for in vivo determination of diet digestibility in rabbits. World Rabbit Science 1995; 3: 41-3.

PIRES C. P., SAAD F. M. D. O. B., OGOSHI R. C. S., REIS J. S. D., SANTOS J. P. F., BRUNETTO M. A. Urinary acidifier in diet with high excess base for adult cats. Ciência e Agrotecnologia 2013; 37: 359-68.

PITTS R. Production and excretion of ammonia in relation to acid-base regulation. In: Handbook of Physiology, 1 edn Washington DC: Lippincott Williams and Wilkins 1973: 455-96.

POPPELWELL J. C., TOPLIFF D. R., FREEMAN D. W., BREAZILE J. E. Effects of dietary cation-anion balance on acid base balance and blood parameters in anaerobically exercised horses. Journal of Equine Veterinary Science 1993; 13: 552-5.

POUPIN N., CALVEZ J., LASSALE C., CHESNEAU C., TOMÉ D. Impact of the diet on net endogenous acid production and acid–base balance. *Clinical Nutrition* 2012; 31: 313-21.

PUMP B. Urolithiasis bei Kaninchen. *Der Praktische Tierarzt* 1996; 6: 552-9.

PURKERSON J., SCHWARTZ G. The role of carbonic anhydrases in renal physiology. *Kidney International* 2007; 71: 103-15.

RAPPOLD S. (2001) Vergleichende Untersuchungen zur Urolithiasis bei Kaninchen und Meerschweinchen. *Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule, Hannover*

RECTOR JR F. C., SELDIN D. W., COPENHAVER J. H. The mechanism of ammonia excretion during ammonium chloride acidosis. *Journal of Clinical Investigation* 1955; 34: 20.

REDROBE S. Calcium metabolism in rabbits. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 2002; 11: 94-101.

REMER T. ACID-BASE IN RENAL FAILURE: Influence of Diet on Acid-Base Balance. *Seminars in Dialysis* 2000; 13: 221-6.

REMILLARD R. L., MODRANSKY P. D., WELKER F. H., THATCHER C. D. Dietary management of cystic calculi in a horse. *Journal of Equine Veterinary Science* 1992; 12: 359-63.

RICH L., KIRK R. Feline urethral obstruction: mineral aspects. *American Journal of Veterinary Research* 1968; 29: 2149.

RICHARDSON R. M. A., GOLDSTEIN M. B., STINEBAUGH B. J., HALPERIN M. L. Influence of diet and metabolism on urinary acid excretion in the rat and the rabbit. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1979; 94: 510-8.

RICHTERICH R. W., GOLDSTEIN L. Distribution of glutamine metabolizing enzymes and production of urinary ammonia in the mammalian kidney. *American Journal of Physiology* 1958; 195: 316-20.

RIDDERSTRALE Y., KASHGARIAN M., KOEPPEN B., GIEBISCH G., STETSON D., ARDITO T., STANTON B. Morphological heterogeneity of the rabbit collecting duct. *Kidney International* 1988; 34: 655-70.

RIOND J.-L. Animal nutrition and acid-base balance. *European Journal of Nutrition* 2001; 40: 245-54.

RÖCKER B. (2006) Untersuchung zur Acidierung des Harns mittels alimentärer Calciumchlorid-Gabe bei tragenden Sauen. *Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule, Hannover*

RÜCKERT C., SIENER R., GANTER M., COENEN M., VERVUERT I. Effects of a supplementation on sodium chloride or ammonium chloride on urolithic potential in the rabbit. *Tieraerztliche Praxis Ausgabe K Kleintiere Heimtiere* 2016; 44

SARTORIUS O., ROEMMELT J., PITTS R., CALHOON D., MINER P. The renal regulation of acid-base balance in man. IV. The nature of the renal compensations in ammonium chloride acidosis. *Journal of Clinical Investigation* 1949; 28: 423-39.

SCHRYVER H. F., HINTZ H. F., LOWE J. E. Calcium and phosphorus in the nutrition of the horse. *Cornell Veterinarian* 1974; 64: 493-515.

SCHWARTZ G. J., KITTELBERGER A. M., BARNHART D. A., VIJAYAKUMAR S. Carbonic anhydrase IV is expressed in H⁺-secreting cells of rabbit kidney. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 2000; 278: F894-F904.

SENIOR D., MERCHANT S., SUNDSTROM D. Ammonium chloride as a long-term urinary acidifier in the dog. *California Veterinarian* 1984; 11: 7-9.

SESHADRI R. M., KLEIN J. D., KOZLOWSKI S., SANDS J. M., KIM Y.-H., HAN K.-H., HANDLOGTEN M. E., VERLANDER J. W., WEINER I. D. Renal expression of the ammonia transporters, Rhbg and Rhcg, in response to chronic metabolic acidosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 2006; 290: F397-F408.

SHAW D. H. Acute response of urine pH following ammonium chloride administration to dogs. *American Journal of Veterinary Research* 1989; 50: 1829-30.

SHORT E. C., HAMMOND P. B. AMMONIUM CHLORIDE AS A URINARY ACIDIFIER IN THE DOG. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1964; 144: 864-7.

STANIK K. (2006) Tierartlich vergleichende Literatur und experimentelle Arbeiten zu Effekten unterschiedlicher Calcium-Aufnahmen auf die Calcium-Homöostase beim arbeitenden Pferd. *Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule, Hannover*

STAR R. A., KURTZ I., MEJIA R., BURG M. B., KNEPPER M. A. Disequilibrium pH and ammonia transport in isolated perfused cortical collecting ducts. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 1987; 253: F1232-F42.

STEVENSON A., HYNDS W., MARKWELL P. The relative effects of supplemental dietary calcium and oxalate on urine composition and calcium oxalate relative supersaturation in healthy adult dogs. *Research in Veterinary Science* 2003; 75: 33-41.

STÜRMER K. (2005) Untersuchungen zum Einfluss der Fütterung auf den Säure-Basen-Haushalt bei Ponys. *Vet. Med. Diss., Ludwig-Maximilians-Universität, München*

STUTZ W. A., TOPLIFF D. R., FREEMAN D. W., TUCKER W. B., BREAZILE J. W., WALL D. L. Effects of dietary cation-anion balance on blood parameters in exercising horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 1992; 12: 164-7.

TANNER G. A. Renal regulation of acid-base balance: ammonia excretion. *Physiologist* 1984; 27: 95-7.

TATON G., HAMAR D., LEWIS L. Urinary acidification in the prevention and treatment of feline struvite urolithiasis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1984; 184: 437-43.

TOPLIFF D. (2006) Electrolytes, Cations, and Anions in the Performance horse. *Proceedings of the 3rd European Equine Nutrition & Health Congress*. 17-8

TSCHUDIN A., CLAUSS M., HATT J.-M. Umfrage zur Fütterung und Tränke von Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*) in der Schweiz 2008/2009. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 2011; 153: 134-8.

TSURUOKA S., SCHWARTZ G. J. Metabolic acidosis stimulates H⁺ secretion in the rabbit outer medullary collecting duct (inner stripe) of the kidney. *Journal of Clinical Investigation* 1997; 99: 1420.

WAGNER E., KEUSCH C., IBEN C. Influence of the feed base excess on urine parameters in cats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2006; 90: 19-24.

WALL D., TOPLIFF D., FREEMAN D., WAGNER D., BREAZILE J., STUTZ W. Effect of dietary cation-anion balance on urinary mineral excretion in exercised horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 1992; 12: 168-71.

WALL S. M., FLESSNER M. F., KNEPPER M. A. Distribution of luminal carbonic anhydrase activity along rat inner medullary collecting duct. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 1991; 260: F738-F48.

WENKEL R., BERG W., PRANGE H. Urinary calculi in small and other animals--a retrospective study of the years 1980-1989. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 1998; 105: 182-6.

WILMS-EILERS S. (1992) Einfluss von Ammoniumchloridzulagen auf den Säuren-Basen- und Mineralstoffhaushalt der Katze. *Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule, Hannover*

WOLF P., ZUMBROCK B., DILLMAN K., KAMPHUES J. (2013) Effects of dietary vitamin C supplementation on urinary pH-values and caecotrophes quality in rabbits. *Congress of the Society of Nutrition Physiology. Göttingen. 175*

YAMKA R. M., MICKELSEN S. L. The prediction of urine pH using dietary cations and anions in dogs fed dry and wet foods. *INTERNATIONAL JOURNAL OF APPLIED RESEARCH IN VETERINARY MEDICINE* 2006; 4: 355-61.

YEN J., POND W., PRIOR R. Calcium chloride as a regulator of feed intake and weight gain in pigs. *Journal of Animal Science* 1981; 52: 778-82.

ZENTEK J. (1987) Untersuchungen zum Mineralstoffhaushalt der Katze unter besonderer Berücksichtigung des Magnesiums. Vet. Med. Diss., Freie Universität, Berlin

VIII. DANKSAGUNG

Mein großer Dank gilt Frau Prof. Dr. Kienzle für die Überlassung des Themas und die hilfsbereite und fachlich exzellente Betreuung bei der Anfertigung der Arbeit.

Ebenso möchte ich mich bei Frau Dr. Dobenecker für die jederzeit gern gewährte Hilfe bedanken.

Ein großes Dankeschön geht an das Team vom Oberwiesefeld, besonders an Gabi, für die Mitversorgung der Kaninchen und die Mithilfe beim Versuch.

Vielen Dank an das Labor-Team für die Analyse meiner Proben. Ganz besonders herzlich danken möchte ich Christian Overdiek für die vielen Stunden die wir in freundschaftlicher Zusammenarbeit im Labor verbracht haben.

Vielen Dank auch an meine Promotionskollegen Christian Schaschl und Stephanie Siedler für die lustige und kollegiale Zusammenarbeit während der Bilanzphasen.

Zuletzt danke ich meiner Familie und meinen Freunden dafür, dass ich immer große Unterstützung erfahren durfte.