

**Einfluss der Fütterung verschiedener Phosphatquellen im Exzess  
auf ausgewählte Serumparameter beim gesunden, adulten Hund**

von

Sarah Katharina Herbst

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

**Einfluss der Fütterung verschiedener Phosphatquellen im Exzess  
auf ausgewählte Serumparameter beim gesunden, adulten Hund**

von  
Sarah Katharina Herbst  
aus Weilheim i.OB

München 2021



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**



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

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

**Berichterstatter:** Univ.-Prof. Dr. Ellen Kienzle

**Korreferent/en:** Priv.-Doz. Dr. Petra Kölle

Tag der Promotion: 6. Februar 2021



*Meiner Familie*





Inhalte der vorliegenden Arbeit wurden auf folgenden Kongressen vorgestellt:

- Herbst, S.; Dobenecker, B. (2018): Effects of phosphorus addition from organic and inorganic sources on kinetics of selected blood parameters in dogs. Vortrag auf dem 22. Kongress der ESVCN, München, Deutschland. Verleihung des Waltham Student's Awards für die beste Präsentation eines Nachwuchswissenschaftlers 2018 auf dem ESVCN Kongress 2018 in München für obigen Vortrag.
- Herbst, S.; Dobenecker, B. (2019): Effects of phosphorus addition from organic and inorganic sources on kinetics of selected blood parameters in dogs. Vortrag auf dem 19. Symposium der AAVN, Phoenix, USA.
- Herbst, S.; Dobenecker, B. (2019): Apparent digestibility of different phosphate sources in adult dogs. Vortrag auf dem 23. Kongress der ESVCN, Turin, Italien.
- Herbst, S.; Dobenecker, B. (2019): Increasing the Ca/P ratio does not reduce the apparent digestibility of phosphorus and changes of serum parameters in dogs after supplementing inorganic phosphate. Poster auf dem 23. Kongress der ESVCN, Turin, Italien.
- Herbst, S.; Dobenecker, B. (2020): Apparent digestion of total and highly soluble phosphate in adult dogs fed different phosphate sources. Vortrag auf dem 24. Kongress der ESVCN, virtuell.



# INHALTSVERZEICHNIS

## Inhaltsverzeichnis

1. ÜBERSICHTEN .....	5
1.1. Abkürzungsverzeichnis .....	5
1.2. Abbildungsverzeichnis .....	8
1.3. Tabellenverzeichnis .....	10
2. EINLEITUNG .....	13
3. SCHRIFTTUM .....	15
3.1. Phosphatbedarf und -verwertung .....	15
3.2. Phosphatquellen in Futter- und Lebensmitteln .....	19
3.2.1. Organische Quellen .....	19
3.2.2. Anorganische Quellen .....	19
3.3. Hormonelle Regulation und Pathophysiologie des Phosphatstoffwechsels .....	21
3.3.1. Parameter der Phosphathomöostase .....	21
3.3.1.1. Parathormon .....	21
3.3.1.2. Fibroblast-Growth-Factor 23 .....	23
3.3.1.3. Vitamin D .....	24
3.3.1.4. Parameter des Knochenstoffwechsels .....	25
3.3.2. Effekte einer gestörten Phosphathomöostase auf den Körper .....	26
3.3.2.1. Kardiovaskuläres System .....	26
3.3.2.2. Nieren .....	30
3.3.2.3. Knochen .....	32
4. MATERIAL UND METHODEN .....	34
4.1. Versuchsplan .....	34
4.2. Versuchsfutter .....	36
4.2.1. Futterzuteilung .....	36
4.2.2. Zusammensetzung und Nährstoffgehalte des Basisfutters .....	36
4.2.3. Zusammensetzung der Mineral-Vitamin-Supplemente .....	39
4.2.4. Zusammensetzung und Nährstoffgehalte des Kontrollfutters und der	

## INHALTSVERZEICHNIS

verschiedenen Versuchsfutter .....	40
4.3. Versuchstiere.....	41
4.4. Versuchstechnik.....	42
4.4.1. Probenaufbereitung und angewandte Untersuchungsmethoden .....	44
4.4.1.1. Futter .....	44
4.4.1.2. Kot.....	46
4.4.1.3. Urin .....	46
4.4.1.4. Blut.....	47
4.4.2. Bestimmung von Mengenelementen in Kot, Urin, Serum und Futter .....	50
4.4.3. Statistische Methoden .....	50
5. ERGEBNISSE .....	52
5.1. Gesundheitszustand und Allgemeinbefinden der Versuchstiere .....	52
5.1.1. Vor Versuchsbeginn.....	52
5.1.2. Während des Versuchs.....	52
5.2. Körpermassen der Tiere .....	53
5.3. Futteraufnahme .....	53
5.4. Wasseraufnahme .....	56
5.5. Urinabsatz .....	56
5.6. Kotabsatz.....	56
5.7. Scheinbare Verdaulichkeiten .....	57
5.7.1. Scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz .....	57
5.7.2. Scheinbare Verdaulichkeit der organischen Substanz .....	57
5.7.3. Scheinbare Verdaulichkeit von Phosphat.....	58
5.7.4. Scheinbare Verdaulichkeit von Calcium.....	59
5.7.5. Scheinbare Verdaulichkeit von Natrium und Kalium .....	59
5.7.6. Scheinbare Verdaulichkeit von Magnesium .....	60
5.8. Urinuntersuchungen .....	60
5.8.1. pH-Wert des Urins .....	60

## INHALTSVERZEICHNIS

5.8.2.	Spezifisches Uringewicht.....	61
5.8.3.	Relative Differenz zwischen dem prä- und postprandialen Phosphat/Kreatinin-Verhältnis im Harn.....	62
5.9.	Blutuntersuchungen .....	62
5.9.1.	FGF23-Konzentration im Serum.....	62
5.9.2.	Parathormon-Konzentration im Serum .....	65
5.9.3.	CrossLaps-Konzentrationen im Serum .....	68
5.9.4.	bALP-Konzentration im Serum .....	70
5.9.5.	Phosphatkonzentration im Serum .....	72
5.9.6.	Calciumkonzentration im Serum.....	74
5.9.7.	Calcium x Phosphatprodukt im Serum .....	76
6.	DISKUSSION.....	78
6.1.	Kritik der Methodik .....	78
6.1.1.	Tiere und Design.....	78
6.1.2.	Analytik und Auswertung .....	79
6.2.	Interpretation der erzielten Ergebnisse.....	81
6.3.	Mögliche Folgen einer Hyperphosphatämie .....	87
6.3.1.	Bei anderen Spezies mit bestehender CNI.....	87
6.3.2.	Beim nierenkranken Hund .....	89
6.3.3.	Beim gesunden Hund .....	90
6.4.	Die Bedeutung des Futters in der Epidemiologie der CNI .....	93
6.5.	Mögliche Aussichten für die Praxis .....	94
7.	ZUSAMMENFASSUNG.....	97
8.	SUMMARY .....	99
9.	LITERATURVERZEICHNIS .....	101
10.	TABELLENANHANG.....	135
11.	DANKSAGUNG .....	153



# ÜBERSICHTEN

## 1. ÜBERSICHTEN

### 1.1. Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
1,25-(OH) <sub>2</sub> -D <sub>3</sub>	Calcitriol bzw. 1,25-Dihydroxycholecalciferol
3R	Reduktion, Verfeinerung und Ersatz von Tierversuchen (engl.: reduction, refinement, replacement)
ATP	Adenotriphosphat
AUC <sub>0-7</sub>	Area under the Curve vom Zeitpunkt der Fütterung bis sieben Stunden postprandial
bALP	knochenspezifische alkalische Phosphatase (engl.: bone alkalic phosphatase)
Ca	Calcium
Cl	Chlorid
CNI	chronische Niereninsuffizienz
CON	Kontrollration
Crea	Kreatinin
d	Tag
FEDIAF	The European Pet Food Industry Federation
FGF23	Fibroblast-Growth-Factor 23
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GIT	Gastrointestinaltrakt
HCl	Salzsäure
H <sub>2</sub> O	Wasser
h	Stunde
HPCM	Phosphorexcess-Ration mit Geflügelfleischkarkassenmehl



## ÜBERSICHTEN

HPNaP	Phosphorexzess-Ration mit $\text{NaH}_2\text{PO}_4$
HPKP	Phosphorexzess-Ration mit $\text{KH}_2\text{PO}_4$
IRIS	International Renal Interest Society
K	Kalium
KAB	Kationen-Anionen-Bilanz
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Kaliumdihydrogenphosphat
KM	Körpermasse
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	Natriumdihydrogenphosphat
NO	Nitrit- Oxid
MBD	mineral and bone disorder
MEPE	extrazelluläres Matrix- Phosphoglycoprotein
Mg	Magnesium
Na	Natrium
NaPi	Natrium- Phosphat- Cotransporter
Nfe	Stickstofffreie Extraktionsstoffe
P	Phosphat
Pi	anorganisches Phosphat (engl.: inorganic phosphate)
ppr	postprandial
prpr	präprandial
PTH	Parathormon
Ra	Rohasche
RANKL	receptor activator of nuclear factor $\kappa\text{B}$ - Ligand
RDA	empfohlene Tagesdosis (engl.: recommended daily allowance)
Rfa	Rohfaser

## ÜBERSICHTEN

Rfe	Rohfett
Rp	Rohprotein
RSV	reaktive Sauerstoffverbindung
sCaP	Serum- Calcium-Phosphat-Produkt
sP	Serum- Phosphat
sCa	Serum- Calcium
sV	Scheinbare Verdaulichkeit
TS	Trockensubstanz
u.NWG	unterhalb der Nachweisgrenze
USG	Urinspezifisches Gewicht

## ÜBERSICHTEN

### 1.2. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Mögliche Folgen eines P-Exzesses.
- Abbildung 2: Zeitlicher Ablauf der einzelnen Durchgänge.
- Abbildung 3: Die Kinetik von FGF23 von Zeitpunkt Null bis sieben Stunden postprandial [pg/ml]. ● ○  
△ ▼: Miteinander verbundene Symbole unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt laut Harjes et al. (2017) bei: 315 (211- 449) pg/ml.
- Abbildung 4: Die AUC<sub>0-7</sub> von FGF23 [pg/ml\*t\*10<sup>3</sup>]. Boxplots, welche nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ).
- Abbildung 5: Die Kinetik von PTH von Zeitpunkt Null bis sieben Stunden postprandial [ng/l]. ● ○  
△ ▼: Miteinander verbundene Symbole unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt bei 8-45 ng/l (ALOMED Laboratories).
- Abbildung 6: Die AUC<sub>0-7</sub> von PTH [ng/l\*t]. Boxplots, welche nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ).
- Abbildung 7: Die Kinetik von sP von Zeitpunkt Null bis sieben Stunden postprandial [mmol/l]. ● ○  
△ ▼: Miteinander verbundene Symbole unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt bei: 0,7–1,6 mmol/l (Moritz, 2013).
- Abbildung 8: Die AUC<sub>0-7</sub> von sP [mmol/l\*t]. Boxplots, welche nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ).
- Abbildung 9: Orale Aufnahme an in Wasser hochlöslichem Phosphat ( $P_{sol1}$ ) in Relation zur Menge an scheinbar verdaulichem  $P_{sol1}$ .

## ÜBERSICHTEN

Abbildung 10: Schematische Darstellung der Regulierung nach einer P- und Na-reichen Diät.

## ÜBERSICHTEN

### 1.3. Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Vergleich der Empfehlungen zu den Bedarfszahlen zur P-Versorgung für adulte gesunde Hunde.
- Tabelle 2: Übersicht über die Versuchsdurchgänge und die jeweils verwendeten P-Quellen.
- Tabelle 3: Anteile der verwendeten Komponenten des Basisfutters für die Versuchsrationen CON, HPNaP sowie HPKP.
- Tabelle 4: Verwendung der verschiedenen Kochdurchgänge für die Versuchsdurchgänge.
- Tabelle 5: Gehalte an Mengenelementen in mg/100g TS der verschiedenen Kochdurchgänge. Die Gehalte der verschiedenen Chargen wurden gemittelt und als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.
- Tabelle 6: Die Rohnährstoff- [% TS] und Energiegehalte [MJ ME/100g uS] in den Futtermischungen der verschiedenen Kochdurchgänge (KD). Die Gehalte der verschiedenen Chargen wurden gemittelt und als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.
- Tabelle 7: Gehalte der Mengenelemente [mg/100g TS], Rohnährstoff- [% TS] und Energiegehalte [MJ/100g TS] der HPCM-Ration.
- Tabelle 8: Gehalte an Trockensubstanz [%] und an Mengenelementen [mg/100g TS] der Mineral-Vitamin-Supplemente der verschiedenen Versuchsrationen.
- Tabelle 9: Übersicht der Gehalte an Rohnährstoffen [% TS] und Energiegehalt [MJ ME/100g TS] der einzelnen Versuchsrationen, jeweils ohne Schweineschmalzzulage.
- Tabelle 10: Darstellung der Gehalte an Mengenelementen [mg/100g TS] sowie der KAB [mmol/kg TS] der einzelnen Versuchsrationen ohne Schweineschmalzzulage.
- Tabelle 11: Daten der Versuchstiere zu Versuchsbeginn.
- Tabelle 12: Körpermassen [kg] der Versuchstiere.

## ÜBERSICHTEN

- Tabelle 13: Realisierte Aufnahme der umsetzbaren Energie [MJ/kg KM/ d] sowie der Trockensubstanzaufnahme [g/kg KM/d].
- Tabelle 14: Realisierte Mineralstoffaufnahme [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d].
- Tabelle 15: Prozentuale Anteile an P<sub>sol1</sub> der Versuchsrationen sowie die realisierte Aufnahme an P<sub>sol1</sub> [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d].
- Tabelle 16: Kotabsatzmenge [g/kg KM<sup>0,75</sup>/Tag].
- Tabelle 17: Scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz [%].
- Tabelle 18: Scheinbare Verdaulichkeit der organischen Substanz [%].
- Tabelle 19: Scheinbare Verdaulichkeit von Phosphat [%].
- Tabelle 20: Scheinbare Verdaulichkeit von P<sub>sol1</sub> [%] bzw. die scheinbar verdaute Menge von P<sub>sol1</sub> [mg/kg<sup>0,75</sup> KM].
- Tabelle 21: Scheinbare Verdaulichkeit von Calcium [%].
- Tabelle 22: Scheinbare Verdaulichkeit von Magnesium [%].
- Tabelle 23: Prä- sowie postprandial gemessene pH-Werte im Harn.
- Tabelle 24: Prä- sowie postprandial gemessenes Urinspezifisches Gewicht [mg/ml].
- Tabelle 25: Im Harn gemessene Diff. ( $\frac{P}{Crea}$ ) [%].
- Tabelle 26: FGF23- Konzentrationen im Serum präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten, bis sieben Stunden postprandial [pg/ml].
- Tabelle 27: Die AUC<sub>0-7</sub> der FGF23-Konzentrationen im Serum [pg/ml\*t].
- Tabelle 28: PTH- Konzentrationen im Serum präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten, bis sieben Stunden postprandial [ng/l].
- Tabelle 29: Die AUC<sub>0-7</sub> der PTH-Konzentrationen im Serum [ng/l\*t].
- Tabelle 30: CrossLaps- Konzentrationen im Serum (CrossLaps) präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten bis sieben Stunden postprandial [ng/ml].
- Tabelle 31: Die AUC<sub>0-7</sub> der CrossLaps-Konzentrationen im Serum [ng/ml\*t].

## ÜBERSICHTEN

- Tabelle 32: Die bALP- Konzentrationen im Serum präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten bis sieben Stunden postprandial [U/l].
- Tabelle 33: Die AUC<sub>0-7</sub> der bALP-Konzentrationen im Serum [U/l\*t].
- Tabelle 34: Phosphat- Konzentrationen im Serum (sP) präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten bis sieben Stunden postprandial [mmol/l].
- Tabelle 35: Die AUC<sub>0-7</sub> der Phosphat-Konzentrationen im Serum (sP) [mmol/l\*t].
- Tabelle 36: Calcium- Konzentrationen im Serum (sCa) präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten bis sieben Stunden postprandial [mmol/l].
- Tabelle 37: Die AUC<sub>0-7</sub> der Calcium-Konzentrationen im Serum (sCa) [mmol/l\*t].
- Tabelle 38: Calcium x Phosphat Produkt im Serum (sCaP) präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten bis sieben Stunden postprandial [mg<sup>2</sup>/dl<sup>2</sup>].
- Tabelle 39: Die AUC<sub>0-7</sub> des Calcium x Phosphatproduktes im Serum (sCaP) [mg<sup>2</sup>/dl<sup>2</sup>\*t].
- Tabelle 40: Vergleich der scheinbaren Verdaulichkeiten von Gesamt-P sowie von P<sub>sol1</sub> in [%].
- Tabelle 41: Darstellung der AUC<sub>0-7</sub> der Serumparameter sowie die scheinbare Verdaulichkeit von P nach Fütterung eines P-Exzesses an gesunde, adulte Hunde.
- Table 42: AUC<sub>0-7</sub> of the serum parameters and apparent digestibility of P after feeding different HP-diets to healthy adult dogs.

## 2. EINLEITUNG

Der Einsatz von anorganischen Phosphaten (Pi) in der Lebensmittelindustrie ist in den letzten dreißig Jahren angestiegen, mit dem Ziel den Gebrauch von natriumhaltigen Zusatzstoffen zu reduzieren (Gutiérrez, 2013b). Mit zunehmender Verwendung der Phosphate (P) häuften sich auch Berichte über unerwünschte Effekte auf die Gesundheit der Konsumenten. Heutzutage ist bekannt, dass eine exzessive Aufnahme an P, insbesondere an hochlöslichen Pi Verbindungen, u.a. beim Menschen negative Auswirkungen auf die Gesundheit hat (Gutiérrez, 2013a; Gutiérrez, 2018; Jin et al., 2009). Es sind vor allem die Nieren und das kardiovaskuläre System, aber auch das Skelettsystem betroffen (Calvo & Uribarri, 2013; Ohnishi & Razzaque, 2010; Razzaque, 2011; Ritz, Hahn, Ketteler, Kuhlmann, & Mann, 2012; Uribarri & Calvo, 2013).

Auch in der Produktion von Fertigfuttermitteln für Hunde und Katzen kommen P-haltige Zusatzstoffe zum Einsatz (Anonymous, 2008, 2019; Dobenecker, 2019). Da es bei der Fütterung von Hunden und Katzen oftmals zu einem P-Exzess in der Höhe des Mehrfachen der empfohlenen Tagesaufnahme kommt, wurden auch Untersuchungen zu den Effekten beim Tier angestellt. Bei der Katze führte ein 28-tägiger P-Exzess zu einer Beeinträchtigung der renalen Kreatininexkretion (Pastoor, Otitz, van'T Klooster, & Beynen, 1995; Pastoor, van'T Klooster, Mathot, & Beynen, 1995) sowie einer negativen Beeinflussung weiterer Nierenfunktionsparameter (Dobenecker, Webel, Reese, & Kienzle, 2017; Hertel-Böhnke, 2018). Siedler (2018) führte eine Studie mit einem P-Exzess verschiedener Quellen an Hunden durch, in der sie einen signifikanten Unterschied zwischen der Fütterung von organischen und anorganischen P-Quellen u.a. auf ausgewählte Parameter der Calcium (Ca)- und P-Homöostase zeigen konnte. Die Fütterung von Pi führte hierbei zu signifikant höheren scheinbaren Verdaulichkeiten von P sowie zu höheren Serumwerten der untersuchten Parameter wie Serum-P (sP) oder Parathormon (PTH).

In der vorliegenden Arbeit sollen die Ergebnisse von Siedler (2018) ergänzt werden und neben der Bestimmung von Nährstoffverdaulichkeiten bei P-Exzess (5x RDA), aus organischem bzw. anorganischem Ursprung auch die Kinetik verschiedener Parameter der Ca- und P-Homöostase im Serum untersucht werden. Hierzu wurden, vergleichbar zu Siedler (2018), eine Kontrollration (CON) sowie ein P-Exzess unter Verwendung verschiedener P-Quellen an je acht gesunde, adulte Beagles für jeweils 18 Tage verfüttert. Anders als bei Siedler (2018) wurden am jeweils letzten Versuchstag zu acht verschiedenen Zeitpunkten von prä- bis sieben Stunden postprandial folgende Parameter bestimmt: sP, Serum-Calcium (sCa), das Produkt aus sCa und sP (sCaP), PTH, die Knochenmarker



## EINLEITUNG

Crosslaps und die knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP) sowie das Phosphatonin Fibroblast-Growth-Factor 23 (FGF23). Dies ist, unseres Wissens nach, die erste Arbeit, die die Kinetik der untersuchten Parameter nach einem P-Exzess beim Hund beschreibt. Ziel war es, neben der Kinetik auch die Area under the Curve für den genannten Zeitraum ( $AUC_{0-7}$ ) zu bestimmen, um auf diese Weise den Einfluss der verschiedenen P-Quellen auf die gesundheitlich relevante Ca- und P-Homöostase vergleichen zu können. Basierend auf den Ergebnissen von Siedler (2018) wurde eine höhere Verdaulichkeit für P bei den Rationen, die Pi enthalten, erwartet sowie folglich eine höhere  $AUC_{0-7}$  für die Serumparameter der Ca- und P-Homöostase. Insbesondere erhöhte Werte für sP, sCaP, PTH und FGF23 könnten dabei entscheidende Hinweise auf die Auswirkungen einer P-reichen Fütterung mit anorganischen Phosphaten auf den Organismus liefern, welche bisher beim Hund noch gänzlich fehlen.

### 3. SCHRIFTTUM

#### 3.1. Phosphatbedarf und -verwertung

Phosphor (P) ist ein essenzieller Nährstoff, der in der Regel in Futtermitteln als Phosphat vorliegt. Bis zum heutigen Tag konnten fast dreitausend zelluläre Reaktionen im Körper identifiziert werden, an denen P beteiligt ist (KEGG, 2019). Unter anderem ist P ein wichtiger Bestandteil der Knochenstruktur, von Zellwänden sowie der Desoxyribonukleinsäure (DNA), aber auch des Adenosintriphosphates (ATP) im Energiestoffwechsel des Organismus (Lobaugh, 1995; Weisinger & Bellorín-Font, 1998). Die Empfehlungen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE, 1989) für die tägliche Aufnahme basieren auf einer faktoriellen Kalkulation, die den Bedarf für die jeweiligen Teilleistungen wie Erhaltungsstoffwechsel, Bewegung oder Wachstum berücksichtigt. Die allgemeine Formel für den Bruttobedarf, also die empfohlene tägliche Aufnahme, stellt sich wie folgt dar:

$$\text{Bruttobedarf} = \frac{\text{Nettobedarf}}{\text{Verwertbarkeit [\%]}} \times 100$$

Der Nettobedarf im Erhaltungsstoffwechsel berücksichtigt dabei fäkale, renale und kutane Verluste, die bei bedarfsgerechter Futtermengenaufnahme und Versorgung auftreten. Die endogenen Verluste von P scheinen auch bei marginaler Zufuhr kaum beeinflusst und vergleichsweise hoch zu sein, weshalb eine Summe dieser endogenen Verluste von 30 mg/kg KM/ d für P angenommen wird (GfE, 1989). Die Verwertbarkeit gibt den Anteil des aufgenommenen Nährstoffs an, der für die Deckung des Nettobedarfs zur Verfügung steht. Sheffy und Kollegen ermittelten eine durchschnittliche P-Gesamtverwertung von 40 % bei gesunden adulten Hunden (Sheffy, Williams, Zimmer, & Ryan, 1985). Dieser niedrige Wert beruht auf der geringen Verwertung von P aus pflanzlichem Material, während P tierischen Ursprungs dagegen weitaus besser verdaulich ist (Hoff-Jørgensen, 1946). Die Verwertbarkeit ist ein angenommener Wert, der unter anderem abhängig ist von der Nährstoff-Quelle und ihrer Löslichkeit, sowie der Interaktion und Beeinflussung durch andere Nährstoffe und sich an der scheinbaren Verdaulichkeit orientiert (sV). Dies ist möglich, da die Bilanz bei einer vermehrten Aufnahme von P nicht über eine verminderte Absorption, sondern vielmehr über die gesteigerte renale Exkretion ausgeglichen zu werden scheint (GfE, 1989).

## SCHRIFTTUM

$$sV [\%] = \frac{\textit{orale Aufnahme} - \textit{fäkale Ausscheidung}}{\textit{orale Aufnahme}} \times 100$$

Die notwendige Datenlage zur Abschätzung der empfohlenen täglichen Aufnahme für P beim Hund wurde anhand von publizierten Studien ermittelt, wobei nur eine geringe Anzahl für den adulten Hund vorliegt (National Research Council, 2006). Jenkins und Phillips (1960a) verwendeten in ihren Versuchen eine Basisration, die unter anderem Sojamehl und Blutmehl als Protein- und P-Quelle enthielt. Diese Ration wurde je nach Versuchsgruppe mit unterschiedlichen Mengen an Dinatriumhydrogenphosphat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) supplementiert. Je nach Ration variierte die sV von P zwischen 30 und 76 %. Anhand der sV sowie dem Verlauf der Skelettentwicklung konnte so ein Mindestbedarf von 3,3 g P/kg Trockensubstanz (TS) Futter für den wachsenden Hund definiert werden, wobei davon etwa 76 % verfügbar sind. Wird dieser Bedarf um die Verfügbarkeit korrigiert, ergibt sich ein Bedarf von 2,5 g/kg TS an vollständig verfügbarem P. Bei einer geringeren oralen Zufuhr von P sank hier auch die renale P-Ausscheidung, was bei knapper Versorgung ein Hinweis auf eine unzureichende Aufnahme sein kann (Maynard, 1951). Die sV kann sich reduzieren, wenn Ca in der Ration angehoben wird und ein weites Ca-P-Verhältnis ( $\text{Ca:P} > 2:1$ ) entsteht (Jenkins & Phillips, 1960b; Schoenmakers, Hazewinkel, & van den Brom, 1999). Bei Verwendung von rein organischen P-Quellen sinkt die scheinbare Verdaulichkeit von P auf 13,5–26 % (Hill, Burrows, Ellison, & Bauer, 2001), während die sV anorganischer Quellen bei mindestens 44,7 % zu liegen scheint (Jenkins & Phillips, 1960a, 1960b). Sheffy et al. (1985) ermittelten bei adulten Hunden eine scheinbare Verwertung von 40–50 %. Dies entspräche bei einem durchschnittlichen Energiebedarf und einer Verwertung von 40 % einer tatsächlichen Aufnahme von rund 90 mg/kg Körpermasse (KM), was unverhältnismäßig hoch erscheint gegenüber den ermittelten Ca-Bedarfszahlen (National Research Council, 2006). Bei einer niedrigeren angenommenen durchschnittlichen Verwertung von 22 % ergibt sich bei dem Versuch von Hill et al. (2001) bei einer täglichen Aufnahme von 132 mg P/kg KM eine absorbierte Menge von etwa 30 mg P/kg KM bei gesunden adulten Hunden. Berücksichtigt man nun noch die endogenen Verluste für P so kann eine tatsächliche Verwertung von etwa 30 % angenommen werden (National Research Council, 2006). Rationen mit einem engeren Ca:P-Verhältnis sowie einem höheren Anteil an anorganischem P kommen dagegen vermutlich näher an die von Jenkins und Phillips (1960 a, b) ermittelten 70 % für die scheinbare Verdaulichkeit von P. Unter

## SCHRIFTTUM

Berücksichtigung einer entsprechenden Sicherheitsspanne ergibt sich daher ein Bedarf von 50 mg P/kg KM/d (bzw. 100 mg P/kg  $KM^{0.75}/d$ ) für einen adulten Hund im Erhaltungsstoffwechsel (National Research Council, 2006). Die drei gängigen Empfehlungen zur Nährstoffversorgung für Hunde (FEDIAF, 2020; GfE, 1989; National Research Council, 2006) legen ihren Berechnungen verschiedene Verwertungen zu Grunde, woraus sich mit entsprechenden Sicherheitsspannen unterschiedliche Empfehlungen zu den Bedarfszahlen adulter Hunde ergeben. Ein Vergleich ist in Tabelle 1 dargestellt:

**Tabelle 1:** Vergleich der Empfehlungen zu den Bedarfszahlen zur P-Versorgung für adulte, gesunde Hunde.

	Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, 1989	National Research Council, Nutrient Requirements of Dogs and Cats, 2006	FEDIAF, Nutritional Guidelines, 2020
Einheit	$mg/kg\ KM^{0.75}/d$		
P-Bruttobedarf	148	100	110

Der vergleichsweise hohe Bedarf der GfE beruht auf der Annahme hoher endogener Verluste (etwa 30 mg/kg KM/d) und einer vergleichsweise geringen Verwertbarkeit von P. Beim Menschen findet nach oraler Aufnahme der Großteil der P-Absorption im Duodenum statt (Marks, Debnam, & Unwin, 2010). Bei der Ratte dienen vor allem Jejunum und Duodenum der intestinalen P-Absorption (Walling, 1977). Auch beim Hund weiß man, dass die P-Absorption vor allem präcaecal stattfindet (Schünemann, Lass, & Meyer, 1989). Diese Absorption kann durch verschiedene Transportmechanismen funktionieren: aktiv oder passiv. Die passive Aufnahme erfolgt durch das Konzentrationsgefälle entlang der Bürstensaummembran der Darmwand hin zu den Blutgefäßen durch parazelluläre Diffusion durch die tight junctions und ist nicht sättigbar (Farrington, Mohammed, Newman, Varghese, & Moorhead, 1981; Gutiérrez, Kalantar-Zadeh, & Mehrotra, 2017). Bei einer höheren P-Anflutung steigt die Resorption über diesen passiven Transport (Nordin, 1976; Walton & Gray, 1979).

Der aktive Transport funktioniert über einen Natrium-P-Cotransporter (NaPi-IIb) in der intestinalen Bürstensaummembran. Bei jungen Tieren besteht eine höhere Dichte intestinaler NaPi-IIb Transporter aufgrund des erhöhten Bedarfs an P für die Skelettentwicklung (Arima et al., 2002; Kirchner et al., 2008; Xu, Bai, Collins, & Ghishan,

## SCHRIFTTUM

2002). NaPi-IIb wird durch Calcitriol ( $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ ) und die orale P-Aufnahme reguliert (Hattenhauer, Traebert, Murer, & Biber, 1999; Murer, Forster, & Biber, 2004). Das Parathormon (PTH) hat vermutlich keinen direkten Einfluss auf die Regulation von NaPi-IIb (Lee, Walling, & Corry, 1986; Murer, Hernando, Forster, & Biber, 2001), sondern nur indirekt über seinen Calcitriol stimulierenden Effekt. FGF23 reguliert NaPi-IIb negativ, zum einen direkt durch vermehrten Abbau und zum anderen indirekt durch Unterdrückung der Produktion bzw. durch Stimulation des Abbaus von Calcitriol (Miyamoto, Ito, Kuwahata, Kato, & Segawa, 2005). Wenn weniger intestinale NaPi-IIb Proteine vorhanden sind, dann steigt die Dichte an renalen NaPi-IIa Proteinen, um mehr P zurück zu resorbieren (Sabbagh et al., 2009). Die hierfür notwendigen Signale konnten bisher nicht identifiziert werden. Allerdings wird angenommen, dass ein intestinaler Sensor die Ausschüttung eines enterischen Phosphatonins aus der Dünndarmschleimhaut vermittelt (Berndt et al., 2007). Dieses Phosphatonin könnte das extrazelluläre Matrix-Phosphoglycoprotein (MEPE) sein und sowohl im Darm als auch in den Nieren einen lokalen Regulator für die P-Absorption darstellen (Marks et al., 2010). Von allen bekannten Phosphatoninen (PTH, FGF23, FGF7, sFRP-4, MEPE) konnte gezeigt werden, dass sie eine Hypophosphatämie begünstigen, indem sie die renale P-Ausscheidung erhöhen (Berndt & Kumar, 2007). MEPE beeinflusst zudem die intestinale P-Absorption, jedoch anders als bei FGF23 unabhängig von zirkulierenden Calcitriolkonzentrationen und nur im Jejunum (Marks, Churchill, Debnam, & Unwin, 2008).

In der Bürstensaummembran der proximalen Nierentubuli gibt es neben dem NaPi-IIa auch einen NaPi-IIc und einen PIT-2 Transporter (Forster, Hernando, Biber, & Murer, 2013; Lederer & Miyamoto, 2012). Ihre jeweilige Bedeutung ist speziesabhängig (Forster et al., 2013; Lederer, & Miyamoto, 2012; Segawa et al., 2009). Beim Menschen resorbieren die P-Transporter vom Typ II rund 80 % des filtrierte P (Marks et al., 2010). Sie werden vor allem von der P-Anflutung, PTH sowie FGF23 und seinem Cofaktor Klotho reguliert (Forster et al., 2013). Beim Nager reagiert der NaPi-IIa innerhalb von wenigen Minuten auf PTH (Bacic et al., 2006; Kempson et al., 1995) und innerhalb von zwei Stunden auf Veränderungen der oralen P-Anflutung (Segawa et al., 2005; Villa-Bellosta et al., 2009). NaPi-IIc wird durch die orale P-Aufnahme (Segawa et al., 2005; Villa-Bellosta et al., 2009), Mg-Aufnahme (Thumfart et al., 2008) aber auch durch metabolische Azidose (Nowik et al., 2008) und zirkulierendes FGF23 (Shaikh, Berndt, & Kumar, 2008) reguliert. Bei Nagern spielt er nur eine untergeordnete Rolle für die P-Homöostase (Segawa et al., 2009). Beim Hund liegen hierzu bisher keine Informationen vor. Die Konzentrationen des gespaltenen

Klothofragment (cKlotho) im Blutkreislauf und Urin korrelieren mit der Expression von Klotho in den Nieren (Hu, Shiizaki, Kuro-o, & Moe, 2013). Das cKlotho hemmt direkt NaPi-IIa und NaPi-IIc in den proximalen Tubuli (Hu et al., 2013).

### 3.2. Phosphatquellen in Futter- und Lebensmitteln

#### 3.2.1. Organische Quellen

In der Natur ist P in tierischen und pflanzlichen Proteinquellen enthalten und liegt dort als organischer Phosphorsäureester vor. Von diesem organisch gebundenem P kann der menschliche Körper nur etwa 40–60 % (Uribarri, 2007) und der Hund nur 13–26 % (Hill et al., 2001) aus dem Gastrointestinaltrakt (GIT) absorbieren, da er in dieser Form schlechter bioverfügbar ist als anorganische Quellen, was teilweise auf eine mäßige bzw. geringe Wasserlöslichkeit zurückzuführen ist (Lineva, Kirchner, Kienzle, & Kamphues, 2018). In vielen Getreidesorten und Samen liegt P außerdem als Phytat (= Hexaphosphoinositol) vor, welches die Speicherform von P für Pflanzen darstellt (Maga, 1982). Um P aus dieser Bindung zu lösen, wird das Enzym Phytase benötigt, das der Hund als Monogastrier nicht besitzt (Plimmer, 1913). Daher liegt die Verfügbarkeit des P aus Phytat beim Hund bei nur 20-40 % (Jenkins & Phillips, 1960a). Phytat kann Komplexe mit Mineralstoffen wie Phosphat, Magnesium, Zink und Eisen bilden und somit deren Verfügbarkeit reduzieren (Bohn, Davidsson, Walczyk, & Hurrell, 2004; Hallberg, Rossander, & Skånberg, 1987; Turnlund, King, Keyes, Gong, & Michel, 1984). Enthalten kommerzielle Futtermittel für Hunde neben tierischem Protein, wie beispielsweise Muskelfleisch, Pansen oder Karkassen, auch Kohlenhydrate, was insbesondere bei Trockenfuttermitteln der Fall ist, ist also immer auch ein entsprechender Anteil an organischem P enthalten.

#### 3.2.2. Anorganische Quellen

Im Gegensatz zu den organischen P-Quellen gibt es die Salze der P-Säure ( $H_3PO_4$ ), die in der Literatur oftmals als „anorganische“ P-Quellen bezeichnet werden (Noori et al., 2010). Hier liegt P frei, also nicht organisch gebunden, vor (Ritz et al., 2012).

Diese anorganischen P-Quellen finden sowohl in der Lebensmittel- als auch in der Tierfutterindustrie als Zusatzstoffe sowie als Einzelfuttermittel Verwendung. Im Lebensmittelbereich hat sich die tägliche Aufnahme von P-haltigen Zusatzstoffen innerhalb

## SCHRIFTTUM

der letzten 30 Jahre mehr als verdoppelt (<500 mg/d vs. ~1000 mg/d; (Calvo & Park, 1996; Kalantar-Zadeh et al., 2010)). In der Ernährung der Bevölkerung der Industrienationen machen P-haltige Zusatzstoffe bis zu 1000 mg P/d zusätzlich zu den durchschnittlich aufgenommenen 800–1500 mg P/d aus organischen Quellen aus (Bell, Draper, Tzeng, Shin, & Schmidt, 1977). Bei gleicher totaler Menge an oral aufgenommenem P pro Tag neigen Leute aus sozial niedrigeren Schichten zu höheren sP-Konzentrationen (Gutiérrez et al., 2010). Dies ist vermutlich durch die Art des aufgenommenen P (organisch/ anorganisch) zu erklären. Menschen aus sozial niedrigeren Bevölkerungsschichten nehmen durchschnittlich einen größeren Anteil an prozessierten Lebensmittel zu sich, die reich an Zusatzstoffen sind (Gutiérrez et al., 2010; Ritz et al., 2012). Flüssiger Kaffeeweißer enthält im Durchschnitt etwa 1000 mg/l Dikaliumhydrogenphosphat ( $K_2HPO_4$ ), was etwa 178 mg P/l entspricht (Pearce & Harper, 1982). In Colagetränken sind Gehalte von bis zu 700 mg P/l erlaubt, was einem Gehalt an zugesetztem P aus Zusatzstoffen von etwa 520 mg P/l entspricht (Ritz et al., 2012).

Im Gegensatz zu organischem P sind einige anorganische P-Quellen hoch wasserlöslich (Lineva et al., 2018). Da die Wasserlöslichkeit eine Voraussetzung zur Absorption von P darstellt, ist es nicht verwunderlich, dass diese Salze eine hohe Bioverfügbarkeit haben und somit zu einem großen Anteil aus dem Darm resorbiert werden (Uribarri, 2007). Dass auch in den in Deutschland erhältlichen Futtermitteln für Hunde und Katzen erhebliche Mengen dieser hochlöslichen Phosphate enthalten sind, hat eine Untersuchung aus dem vorigen Jahr gezeigt (Dobenecker, 2019): P wurde als hochlöslich definiert, wenn es bereits nach einer Minute Inkubation in Wasser in Lösung ging ( $P_{sol1}$ ). In 50 % der untersuchten Feuchtfuttermittel ( $n = 14$ ) und in 44 % der untersuchten Trockenfutter für Hunde ( $n = 9$ ) wurde der tägliche Bedarf an P bereits durch  $P_{sol1}$  gedeckt. Zahlreiche anorganische Phosphate sind als Einzelfuttermittel sowie als Zusatzstoffe gemäß Verordnung EG 1831/2003 zugelassen und finden so häufig Verwendung in der Futtermittelindustrie, unter anderem, weil sie für die Produktion zahlreiche positive Eigenschaften liefern: sie dienen beispielsweise als Säuerungsmittel, Säureregulator, Konservierungsstoff, Emulgator, Trägerstoff oder der Bindung von Wasser. Da in der vorliegenden Arbeit Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat ( $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ ; CAS-Nr.: 10049-21-5; Versuchsdurchgang HPNaP) sowie Kaliumdihydrogenphosphat ( $KH_2PO_4$ ; CAS-Nr.: 7778-77-0; Versuchsdurchgang HPKP) verwendetet wurden, wird im Folgenden auf diese anorganischen P-Quellen eingegangen.  $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$  besitzt eine sehr gute Löslichkeit in Wasser ( $H_2O$ ), 96 % des P sind nach einer Minute Inkubation in  $H_2O$  in Lösung (IVA, 2019;

Lineva et al., 2018). In der Futtermittelindustrie ist es als mineralisches Einzelfuttermittel zugelassen (VO (EU) Nr. 68/2013), wird in der Lebensmittelindustrie aber vor allem wegen seiner puffernden Eigenschaften, wie beispielsweise in der Fleischverarbeitung, als Puffer eingesetzt.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  hat ebenfalls eine sehr gute Wasserlöslichkeit (IVA, 2019). Hier sind 92 % des P nach einer Minute in  $\text{H}_2\text{O}$  gelöst (Lineva et al., 2018). In der Futtermittelindustrie ist es sowohl als Einzelfuttermittel (VO (EU) Nr. 68/2013) als auch unter der E-Nummer 340 (i) als Futtermittelzusatzstoff (VO (EU) Nr. 1831/2003) zugelassen. Es findet vorrangig Einsatz als Puffer aber auch als Säureregulator.

### 3.3. Hormonelle Regulation und Pathophysiologie des Phosphatstoffwechsels

#### 3.3.1. Parameter der Phosphathomöostase

Da die nachfolgenden Parameter bisweilen noch nicht hinreichend in der Veterinärmedizin, insbesondere bei Hund und Katze, erforscht sind, wird im Folgenden vor allem auf experimentelle Studien *in vitro* oder an Nagern bzw. aus der Humanmedizin eingegangen. Es wird jedoch angenommen, dass der Hund über eines dem des Menschen ähnlichen Phosphatonin-System verfügt (Hardcastle & Dittmer, 2015). Studien an Hund und Katze selbst werden daher im Folgenden entsprechend als solche gekennzeichnet.

##### 3.3.1.1. Parathormon

Der Serumkalziumspiegel (sCa) ist sehr eng reguliert. Kommt es zu einem Abfall des sCa wird das 84 Aminosäuren lange Polypeptid PTH aus der Parathyreoidea sezerniert und fungiert als Calcioostat (Bergwitz & Jüppner, 2010). Die Regulation der Ausschüttung erfolgt über eine negative Rückkopplung mithilfe von calciumsensitiven G-Proteingekoppelten Rezeptoren auf den Hauptzellen der Parathyreoidea (Brown et al., 1993). Bei niedrigem sCa bzw. ionisiertem Calcium (Hypokalzämie) sorgt die Ausschüttung von PTH für eine Bereitstellung von Ca aus dem Knochen. Die Aktivität der Osteoklasten wird indirekt über Bindung an den PTH-Rezeptoren der Osteoblasten angeregt und somit Knochen resorbiert und Ca in Zirkulation gebracht. Bei Vorliegen einer Hyperkalzämie würde dagegen Calcitonin eine vermehrte Einlagerung von Ca in die Knochen stimulieren. Aber nicht nur ein Abfall an sCa sondern auch der Anstieg von sP bewirkt die Sekretion von PTH: in einem Versuch an Beagles, denen für 28 Wochen eine P-reiche Diät gefüttert



## SCHRIFTTUM

wurde, konnte ein Anstieg von PTH, mit einem Peak 4h postprandial, festgestellt werden (Jowsey, Reiss, & Canterbury, 1974). Eine akute, kurzfristige Anhebung des sP-Spiegels bei konstantem sCa hatte dagegen kaum einen Einfluss auf die PTH-Sekretion beim Hund (Estepa et al., 1999). Bei einem dauerhaft erhöhten sP-Spiegel sinkt die extrazelluläre Ca-Konzentration (Forster et al., 2013). PTH hebt nun den sCa-Spiegel durch Knochenresorption an und wirkt gleichzeitig als Phosphatonin, indem es die Rückresorption von P aus den proximalen Tubuli senkt, die Dichte an NaPi-IIa und NaPi-IIc auf der Bürstensaummembran reduziert und somit die vermehrte Exkretion von P über die Nieren in vivo fördert (Forster et al., 2013). Auf diese Weise kann ein konstantes Serum-Ca-P-Produkt (sCaP) aufrechterhalten werden, bei gleichzeitiger Anhebung der sCa-Konzentration. Bei mäßiger oraler P-Aufnahme ist weniger PTH notwendig, um einen konstanten sCa-Spiegel zu bewahren; andersherum wird mehr PTH bei Vorliegen einer Hyperphosphatämie, beispielsweise infolge einer hohen oralen P-Aufnahme, benötigt (Felsenfeld & Rodriguez, 1999). Die Autoren nehmen an, dass P eine zentrale Rolle in der Ca-Homöostase spielt. Sie vertreten die Annahme, dass die Reduktion von sP, die der Anhebung von sCa vorhergeht, die kalzämische Antwort des Knochens auf PTH verbessert. Das gesunde Individuum kann also eine hohe Anflutung von sP kompensieren, indem die renale Exkretion von P erhöht wird (Krapf, Glatz, & Hulter, 1995). Dagegen nimmt die Zahl an funktionsfähigen Einheiten bei einer chronischen Niereninsuffizienz (CNI) stetig ab, und infolgedessen sinkt die Fähigkeit der Nieren P auszuschcheiden. Dies führt dazu, dass PTH die sP-Konzentrationen irgendwann nicht mehr ausreichend senken kann. Bei dem so zustande kommenden sekundären renalen Hyperparathyreoidismus kann der Körper nicht mehr in adäquater Weise die sP-Konzentration senken und ausreichend P über die Nieren ausscheiden. Diese Diskrepanz nimmt mit Fortschreiten der CNI zu. Parallel dazu nimmt die kalzämische Antwort des Knochens auf die steigenden Konzentrationen von PTH ab und die Freisetzungsrates von Ca aus dem Knochen sinkt, man spricht von einer PTH-Resistenz (Felsenfeld, & Rodriguez, 1999). Da die steigenden PTH-Konzentrationen nicht in ausreichendem Maße die sP-Konzentration senken können, wird ein weiteres Ansteigen des PTHs bedingt. Die Produktion von PTH kann durch ein anderes Phosphatonin, FGF23, gehemmt werden (Galitzer, Ben-Dov, Silver, & Naveh-Many, 2010).

### 3.3.1.2. *Fibroblast-Growth-Factor 23*

Seit einiger Zeit ist bekannt, dass die P-Homöostase nicht nur indirekt vom Ca-Stoffwechsel reguliert wird, sondern dass es durch ein eigenes unabhängiges System gesteuert wird. Dies zeigte sich durch die Untersuchungen der X-chromosomalen hypophosphatämischen Rachitis am Modell von Mäusen, bei denen zirkulierende Faktoren mit inhibierender Wirkung auf renale proximale Na-P-Cotransporter sowie auf die Aktivierung von Calcitriol entdeckt wurden (Econs & Drezner, 1994). Dabei handelt es sich um FGF23 mit seinem Cofaktor  $\alpha$ -Klotho (ADHR- Consortium, 2000; Kurosu et al., 2006). FGF23 steuert neben PTH maßgeblich die P-Homöostase (Liu & Quarles, 2007; Prié, Torres, & Friedlander, 2009). Es wird von Osteozyten, als Reaktion auf erhöhte sP- oder Calcitriol-Konzentrationen (Saito et al., 2005), synthetisiert (Berndt & Kumar, 2009; Liu, & Quarles, 2007; Prié et al., 2009). Studien an Menschen und Nagern haben gezeigt, dass FGF23 im Serum ansteigt, wenn eine P-reiche Diät aufgenommen wird und abfällt wenn P in der Nahrung nur restriktiv zugeteilt wird. Wirken kann FGF23 jedoch nur im Zusammenspiel mit seinem Cofaktor  $\alpha$ -Klotho, der das Binden an seinem Rezeptor FGFR1c möglich macht (Geddes, R. F., Finch, N. C., Elliott, J., & Syme, H. M., 2013). Das  $\alpha$ -Klotho wird in den Nieren, der Nebenschilddrüse, der Hirnanhangsdrüse, dem Choroid Plexus und dem Sinusknoten sezerniert (Takeshita et al., 2004; Tsujikawa, Kurotaki, Fujimori, Fukuda, & Nabeshima, 2003; Urakawa et al., 2006).

Sowohl PTH als auch FGF23 haben einen phosphaturischen Effekt (Ritz et al., 2012). Sie fördern also die Exkretion von P über die Nieren, wodurch die sP-Konzentrationen und das sCaP in normale Bereiche gebracht werden sollen (Shimada et al., 2002). Experimentelle Studien an Ratten, sowohl in vitro als auch in vivo, haben gezeigt, dass FGF23 im Sinne einer Rückkopplung einen hemmenden Effekt auf die PTH-Sekretion hat (Ben-Dov et al., 2007; Krajisnik et al., 2007).

In den Nieren wirkt FGF23 als Regulator für sP und Calcitriol, indem es die dort lokalisierten Natrium-P-Cotransporter vom Typ II (NaPi-IIa und NaPi-IIc; (Marks et al., 2010)) und die 25-(OH)<sub>2</sub>-D-1 $\alpha$ -Hydroxylase (Urakawa et al., 2006) reguliert. FGF23 inhibiert die Synthese von Calcitriol (1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>; (Miyamoto et al., 2005)). Niedrige Calcitriol-Konzentrationen bewirken eine reduzierte Absorption von Ca und P aus dem Darmlumen (Rodriguez-Ortiz et al., 2012). Es wird also nicht nur die Konzentration von sP sondern auch von sCa gesenkt, was unter Umständen eine Hypokalzämie bzw. ein unausgewogenes sCa/sP-Verhältnis zur Folge hat. Hieraus folgt wiederum die Sekretion von PTH sowie von Calcitriol, wogegen FGF23 herunter reguliert wird (Rodriguez-Ortiz et

al., 2012). Vermutlich wird dadurch verhindert, dass FGF23 die Synthese von Calcitriol durch Hemmung der 25-Hydroxyvitamin-D-1 $\alpha$ -Hydroxylase sowie Stimulation der 25-Hydroxyvitamin-D-24-Hydroxylase weiter reduziert und somit die Ca-Absorption aus dem Darm hemmt. Bei gesunden Ratten konnte gezeigt werden, dass FGF23 unabhängig von der sP-Konzentration nicht ansteigt solange ionisiertes sCa über 4,0 mg/dl liegt (Rodriguez-Ortiz et al., 2012). Calcitriol steigert dagegen die Konzentration an FGF23 sowie die Promoteraktivität des FGF23-Gens (Liu et al., 2006). Hohe FGF23-Konzentrationen konnten mit erhöhter Mortalität, Arteriosklerose, Linksherz-Hypertrophie, Gefäßsteifheit und fortschreitender CNI in Kontext gebracht werden (Di Iorio et al., 2013; Dominguez, Shlipak, Whooley, & Ix, 2013; Gutiérrez, 2010; Hardcastle, & Dittmer, 2015). In der Humanmedizin wird vor allem intaktes FGF23 zunehmend als Frühmarker in der Diagnostik von CNI verwendet (Chudek et al., 2014; Stubbs, Liu, & Quarles, 2007). In der Veterinärmedizin, insbesondere bei Katze und Hund, wird dieses Hormon und seine Wirkweise im Zusammenhang mit der CNI bereits erforscht (Geddes, R. F. et al., 2013; Harjes et al., 2017). Für eine routinemäßige Verwendung in der Diagnostik sind jedoch noch weitere Studien erforderlich.

### 3.3.1.3. *Vitamin D*

Vitamin D ist ein essentielles, fettlösliches Vitamin, welches der Hund über die Nahrung aufnehmen muss, da er es im Gegensatz zum Menschen nicht selbst in der Haut mit Hilfe von Sonnenlicht aus der Vorstufe 7-Dehydrocholesterol bilden kann (How, Hazewinkel, & Mol, 1994). Gespeichert wird Vitamin D nach einer Hydroxylierung am C25-Atom als 25-OH-D<sub>3</sub> (Calcidiol) in der Leber. Anschließend findet eine Hydroxylierung am C1-Atom in den proximalen Tubuli der Nieren statt. Es entsteht Calcitriol (1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>), die aktivste Vitamin D-Form (Schweigert, 2015). Je nach Bedarf kann es in den Nieren aber auch inaktiviert werden: dann findet die Hydroxylierung von 25-OH-D<sub>3</sub> an C24 anstelle von C1 statt und wird in die weitaus weniger aktive Form 24,25-Dihydroxycholecalciferol (24,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>) umgewandelt (Feldman, Pike, & Bouillon, 2018; Schweigert, 2015). Dieser Schritt der Hydroxylierung in den Nieren wird unter anderem sehr eng durch PTH reguliert (Brenza et al., 1998), das eine gesteigerte Expression des Gens für die 1 $\alpha$ -Hydroxylase induziert. FGF23 (Miyamoto et al., 2005; Shimada et al., 2004), Hypercalcämie (Bland, Walker, Hughes, Stewart, & Hewison, 1999) und Hyperphosphatämie (Bergwitz, & Jüppner, 2010) sowie hohe Calcitriol Spiegel an sich (Dusso, Brown, & Slatopolsky, 2005)

wirken sich dagegen hemmend auf die Genexpression aus, was eine Reduktion der  $1\alpha$ -Hydroxylase und damit eine verringerte Hydroxylierungsrate zur Folge hat. An seinen Zielorganen wirkt Calcitriol über seinen intrazellulären Rezeptor (Vitamin-D-Rezeptor, VDR) als Steroidhormon. Im Darm ermöglicht es die Aufnahme von Calcium durch die Transporter TRPV5 und TRPV6 in die Dünndarmzellen, wobei die Aufnahmerate von der Dichte an Calcitriol-VDR-Komplexen abhängig ist. Aber auch die Aufnahme von P wird durch Calcitriol gesteigert, da es ebenfalls die Dichte von NaPi-Cotransportern erhöht (Dusso et al., 2005). An den Nieren fördert Calcitriol die Rückresorption von Ca und trägt so auch auf diese Weise dazu bei, den sCa-Spiegel anzuheben. Niedrige Calcitriolkonzentrationen dagegen reduzieren die Absorption von Ca und P aus dem Darmlumen (Rodriguez-Ortiz et al., 2012), was in niedrigen Plasmakonzentrationen an ionisiertem Ca resultiert und stimulieren auf diese Weise indirekt die PTH-Sekretion (Geddes, Rebecca F., Finch, Natalie C., Syme, Harriet M., & Elliott, Jonathan, 2013).

#### *3.3.1.4. Parameter des Knochenstoffwechsels*

Das Skelett unterliegt ein Leben lang einem ständigen Umbau: dem Knochenaufbau durch Osteoblasten auf der einen Seite und Knochenabbau durch Osteoklasten auf der anderen Seite (Marks & Hermey, 1996). Im Erhaltungsstoffwechsel des adulten Tieres befinden sich diese Umbauprozesse im Gleichgewicht (DeLaurier et al., 2004). Im Skelett macht 90 % der organischen Substanz das Kollagen Typ I aus (Burgeson, 1988; Wurtz, Ellerström, Lundmark, & Christersson, 1998). Crosslaps ist ein Abbauprodukt des Kollagens Typ I, der bei erhöhter Resorption des Knochens, beispielweise durch PTH-Einwirkung, vermehrt im Serum anfällt (Rosenquist et al., 1998) und somit einen Marker für die Osteoklastenaktivität darstellt. Er entsteht aus dem Abbau des Kollagen K-abhängigen Typ I Kollagens (Liesegang, Sassi, & Risteli, 2003).

Die knochenspezifische alkalische Phosphatase (bone alkaline phosphatase, bALP) ist ein Marker des Knochenaufbaus. Es gibt verschiedene Isoenzyme der alkalischen Phosphatase, die abhängig von ihren Zuckerketten für verschiedene Gewebe spezifisch sind. So gibt es beispielsweise eine leber- und eine nierenspezifische alkalische Phosphatase sowie eine gewebeunspezifische. Die bALP ist ein Enzym, das im Rahmen der Knochenmineralisation an der Komplexbildung aus Ca, P und den Kollagenfasern beteiligt ist (Demers, 2001; TenCate, 1998). Sich im Wachstum befindliche oder trüchtige Individuen weisen einen höheren Gehalt an bALP auf als solche im Erhaltungsstoffwechsel, da sich hier Knochen

im Aufbau befindet. Beim Hund kann bALP sowohl im Urin (Allen, Allen, Hoffmann, Richardson, & Breur, 2000) als auch im Serum (Allen, Hoffmann, Richardson, & Breur, 1998; Philipov, Pascalev, Aminkov, & Grosev, 1995) bestimmt werden. Andere Knochenaufbaumarker sind beispielsweise Osteocalcin oder das aminotermine Propeptid des Kollagens Typ I (DeLaurier et al., 2004).

### 3.3.2. Effekte einer gestörten Phosphathomöostase auf den Körper

#### 3.3.2.1. *Kardiovaskuläres System*

Dass hohe sP-Konzentrationen insbesondere für Patienten mit CNI zu vermeiden sind, ist bekannt (Hruska, Mathew, Lund, Qiu, & Pratt, 2008; Qunibi, 2004; Shaman & Kowalski, 2016). Erhöhte sP-Konzentrationen stellen aber auch ein potentiell Risiko für Individuen mit normaler Nierenfunktion dar (Sullivan et al., 2009). Einige Studienergebnisse haben gezeigt, dass auch sP-Konzentrationen im oberen Referenzbereich zu Verkalkungen der Koronargefäße führen können (Foley, Collins, Herzog, Ishani, & Kalra, 2009; Linefsky et al., 2011). Hohe sP-Konzentrationen hemmen durch FGF23-Ausschüttung die Calcitriol-Synthese (Portale, Halloran, & Morris, 1989; Portale, Halloran, Murphy, & Morris, 1986). Dieser Mechanismus ist bisher nur für Labornager und Menschen belegt, jedoch noch nicht für Hund und Katze. Niedrige 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>-Konzentrationen reduzieren vermutlich die Kontraktionskraft des Herzens (Zittermann et al., 2003) und fördern eine Verkalkung der Herzkranzgefäße (Watson et al., 1997). Hierbei handelt es sich wohl hauptsächlich um Ablagerungen von Ca-P-Komplexen (Komaba & Fukagawa, 2016). Erhöhte sP-Konzentrationen selbst können sich toxisch auf die Gefäßwand auswirken und zu einer Schädigung der Intima führen: sie bedingen eine Kalzifizierungsneigung der Intimazellen. Die Zellen der glatten Muskulatur in den Gefäßwänden entwickeln einen osteogenen Phänotyp (Jono et al., 2000). Diese Umwandlung ist ein aktiver Prozess und wird als osteogene Transdifferenzierung bezeichnet (Giachelli, 2009). Wenn es bei gesunden Individuen zu Gefäßverkalkungen kommt, spricht man von dystropher Kalzifizierung (Giachelli, 1999). Dies geschieht vermutlich unter anderem aufgrund gesteigerter Osteopontin-Synthese (Chen, O'Neill, Duan, & Moe, 2002; Giachelli, Speer, Li, Rajachar, & Yang, 2005). Der Vorgang der Gefäßverkalkung zeigt Parallelen zur Ossifikation der Knochen, der ein komplexer Prozess ist (Giachelli et al., 2001; Giachelli, 2004). Wenn die Zellen der glatten Gefäßmuskulatur hohen sP-Konzentrationen ausgesetzt sind, wird die P-Aufnahme über PIT-1-Transporter stimuliert und die Transformation der Zellen in

## SCHRIFTTUM

osteoblastenartige Zellen induziert (Giachelli et al., 2001). Ein weiterer Faktor ist, dass eine Hyperphosphatämie die Mitochondrien schädigt, den Zelltod der glatten Gefäßmuskulatur einleitet und somit durch das Freisetzen von Apoptosekörpern Gefäßverkalkungen stimuliert (Reynolds et al., 2004; Shroff et al., 2010). Eine Verkalkung der Intima und der Media durch hohe sP-Konzentrationen innerhalb der Normalbereiche führen somit also zu Arteriosklerose und Gefäßsteifheit (Giachelli, 2004). Es wird angenommen, dass auch kurzzeitig über den Normalbereich erhöhte postprandiale sP-Werte zu einer Reduktion der Vasodilatationsfähigkeit führen und zu der Entwicklung von Arteriosklerose beitragen, während die Folgen von längerfristig erhöhten sP-Werten dagegen eher Intermediaverkalkungen sind (Gutiérrez, 2013a; Houston et al., 2013; Laflamme & Jowsey, 1972; Shuto et al., 2009).

Hohe sP-Konzentrationen innerhalb des Referenzbereiches stehen in Zusammenhang mit der Carotis-Intima-Media-Dicke sowie der Entwicklung von Arteriosklerose (Dhingra et al., 2007; Onufrak et al., 2008). Eine hohe Anflutung von P im Serum reduziert die Vasodilatationsfähigkeit in Rattenaorten (Shuto et al., 2009). Außerdem reduziert es die Produktion von Nitrit-Oxid (NO) in bovinen Aortenendothelzellen und aktiviert die konventionelle Proteinkinase C (Shuto et al., 2009). Eine hohe orale P-Aufnahme und Anflutung im Serum steigert die Aktivität von reaktiven Sauerstoffverbindungen (RSV) und induziert damit die Apoptose von Endothelzellen (Di Marco et al., 2008; Shuto et al., 2009). Dieses Absterben der Endothelzellen beeinflusst die Vasodilatation negativ. RSV sind Radikalfänger von NO und reduzieren so das verfügbare NO, was zu einer Dysregulation des Gefäßtonus führt (Cai & Harrison, 2000; Förstermann & Münzel, 2006). Die Zunahme von RSV infolge einer Hyperphosphatämie scheint eine Ursache für die Kalzifizierung des Gefäßendothels zu sein und erklärt vor allem bei CNI-Patienten die hohe Prävalenz an Gefäßverkalkungen. Antioxidantien können diese beeinträchtigte Vasodilatation nicht verbessern, weshalb angenommen wird, dass neben den RSV noch andere Faktoren eine Rolle spielen (Shuto et al., 2009). Nishida et al. (2006) haben gesunden jungen Männern einmalig eine höhere Dosis von P (1200 mg vs. 400 mg) in Form einer standardisierten Mahlzeit (bestehend aus gekochtem Reis, gekochtem Ei, Schinken und Milch; 690 kcal, 110 g Kohlenhydrate, 400 mg P), mit einem entsprechenden P-Supplement (Gemisch aus  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ; 800 mg P) verabreicht. Sie konnten zeigen, dass dies einen signifikanten Anstieg 2h ppr. von sP, der über den Referenzbereich hinausgeht, sowie von intaktem PTH hervorrufen kann, während die Blutglucose keinen signifikanten Unterschied zeigte. Außerdem hat die flussabhängige Ausdehnung der Gefäße

## SCHRIFTTUM

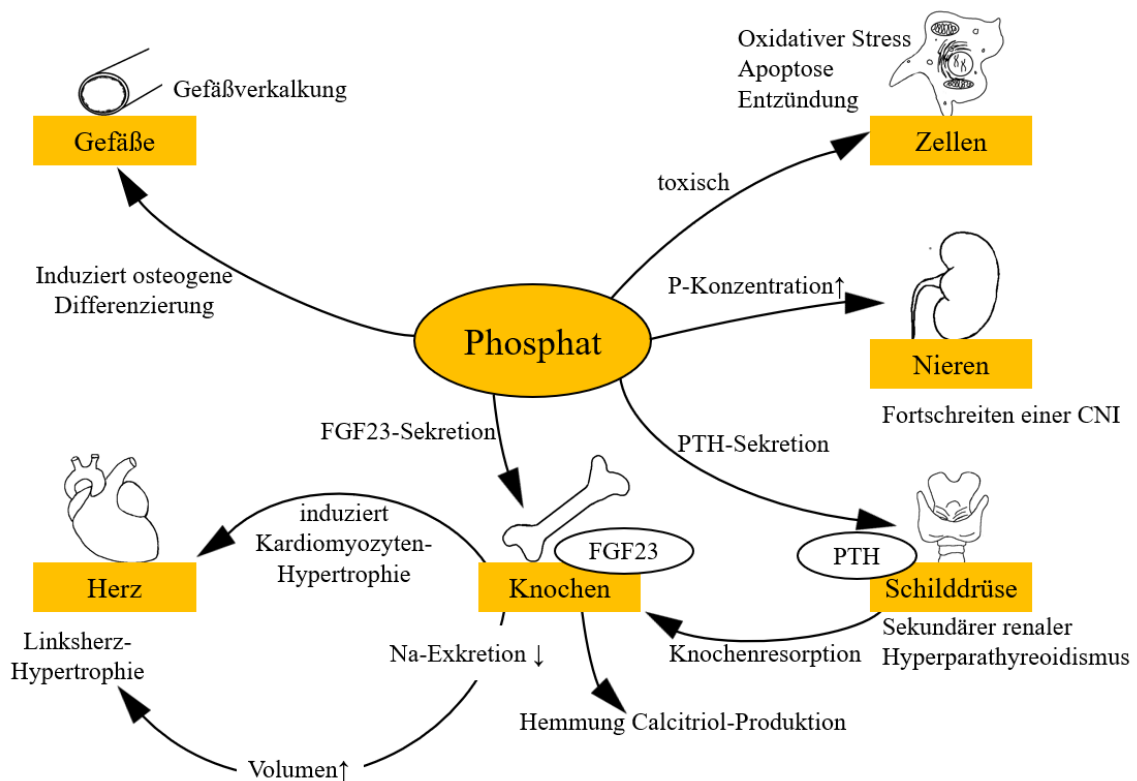
(flow mediated dilatation) 2 h ppr. nach Aufnahme der 1200 mg P signifikant abgenommen (Nishida et al., 2006). Dieser kurzzeitige Anstieg an sP hat also bereits einen signifikanten Einfluss auf die Vasodilatation gehabt.

Daher ist es wahrscheinlich, dass hohe sP-Konzentrationen selbst innerhalb des Referenzbereiches auch für gesunde Individuen ein Risiko darstellen, Herzkreislauferkrankungen zu entwickeln. Auch Dhingra et al. (2007) konnten hohe sP Konzentrationen bei gesunden Studienteilnehmern mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen in einem Follow-up von durchschnittlich 16,1 Jahren in Zusammenhang bringen (Dhingra et al., 2007). Evermann et al. (2003) berichten von einem 28 Monate alten Kind, das 90 Minuten nach einem enteralen Natriumphosphat-Einlauf ein Herz-Kreislauf-Versagen entwickelt hat. Das Kind litt an Symptomen wie Tachykardie, Tachypnoe, Zyanose und Tetanie. Eine Blutuntersuchung zeigte Hyperphosphatämie und Hypernatriämie sowie eine Hypocalcämie. Im Echokardiogramm war eine verminderte Kontraktilität des Herzens auffällig. Das Kind musste aufgrund gestörter Sauerstoffdiffusion intubiert und künstlich beatmet werden. Dies ist eine bekannte Nebenwirkung bei starker Hyperphosphatämie (Lochbühler, Sachs, & Raute-Kreinsen, 1995; Narins, 1994). Hypertone Natriumphosphateinläufe werden bei Kindern häufig bei Verstopfung oder zur Vorbereitung auf chirurgische oder diagnostische Eingriffe des Darms verwendet, wobei eine Reihe an Fällen mit akuter Toxizität bekannt sind (Evermann, Nitu, & Jacobs, 2003). Es kommt hier zur Phosphatvergiftung in Folge hoher intestinaler P-Konzentrationen mit gesteigerter Absorption (Craig, Hodson, & Martin, 1994). Durch die hohe P-Anflutung verschiebt sich der Elektrolythaushalt: sobald das Löslichkeitsprodukt für sP und sCa überschritten ist, kommt es zur Bildung von Ca-P-Komplexen im Serum, was eine Hypocalcämie zur Folge hat (Hebert, Lemann, Petersen, & Lennon, 1966).

FGF23- und Klotho-Knockout-Mäuse entwickeln Arteriosklerose sowie Gefäßverkalkungen infolge einer unregulierten Hyperphosphatämie (Kuro-o et al., 1997; Morishita et al., 2001; Sitara et al., 2004). Vermutlich geschieht dies über die Hochregulation von TRP-6, ein Kalzium-Kanal-Protein des Kardiomyozytenumbaus (Xie, Yoon, An, Kuro-o, & Huang, 2015). Eine P-Restriktion in der Diät konnte bei FGF23-Knockout-Mäusen eine Verminderung der Gefäßverkalkungen bewirken, da diesen Tieren die phosphaturische Wirkung des FGF23 fehlte und es so zu einer Verkalkung der Gefäße kam (Stubbs et al., 2007). Da FGF23 bei einer vermehrten Anflutung von P im Serum die P-Ausscheidung über die Nieren forciert, hat es beim gesunden Tier vermutlich sogar eine

schützende Funktion für das Gefäßendothel, da es extrazelluläre Ca-Ablagerungen verhindert (Lim et al., 2012).

Klotho selbst kann Gefäßverkalkungen entgegenwirken, indem es die Na-abhängige P-Aufnahme hemmt (Xie et al., 2015), während FGF23 bei Abwesenheit von Klotho eine Hypertrophie des linken Ventrikels (Links-Herz-Hypertrophie) bei Menschen und Nagern verursachen kann (Faul et al., 2011). Welche Rolle P in der Pathogenese der Links-Herz-Hypertrophie genau spielt, ist bisher weitgehend unbekannt. Andrukhova et al. (2014) konnten zeigen, dass FGF23 die renale Na- Reabsorption steigern kann, indem die Dichte an NaCl- Cotransportern im distalen Tubulus auf eine Klotho-abhängige Weise erhöht wird (Andrukhova et al., 2014). Die resultierende Volumenerhöhung und Hypertension könnte zu einer Links-Herz-Hypertrophie führen (Komaba, & Fukagawa, 2016). Aber auch PTH hat gezeigt, dass es eine hypertrophe Wirkung auf Kardiomyozyten haben kann (Schlüter & Piper, 1998). Zusammenfassend ist eine schematische Darstellung möglicher Folgen eines P-Exzesses in Abbildung 1 dargestellt.



**Abbildung 1:** Mögliche Folgen eines P-Exzesses.



### 3.3.2.2. Nieren

Bei Hunden mit induzierter CNI konnte festgestellt werden, dass eine Hyperphosphatämie das Fortschreiten der Erkrankung beschleunigt und die Überlebenszeit reduziert (Brown, Crowell, Barsanti, White, & Finco, 1991; Finco et al., 1992). Bei Patienten wirkte sich die Gabe einer P-armen Diät positiv auf die Überlebenszeit aus (Jacob et al., 2002), während der Proteingehalt keinen Effekt hatte (Finco et al., 1992). Ebenso konnte gezeigt werden, dass bei Fortschreiten der CNI PTH nicht ansteigt, wenn eine P-reduzierte Diät gegeben wird (Slatopolsky et al., 1971). Das Senken der PTH-Konzentration hatte bei Hunden mit induzierter CNI außerdem keinen negativen Einfluss auf das ionisierte sCa oder Calcitriol (Lopez-Hilker, Dusso, Rapp, Martin, & Slatopolsky, 1990).

Die Höhe der sP-Konzentration konnte bei Katzen als Parameter für das Fortschreiten einer CNI identifiziert werden (Chakrabarti, Syme, & Elliott, 2012). Das Fortschreiten der CNI wird hier definiert als der Anstieg des Plasmakreatinins um mindestens 25 %.

Hohe sP-Konzentrationen, wie sie durch eine exzessive orale Aufnahme von P oder bei eingeschränkter Nierenfunktion auftreten können, haben einen zytotoxischen Effekt auf das Epithel der Nieren (Haut, Alfrey, Guggenheim, Buddington, & Schrier, 1980; Kuro-o, 2013; Ohnishi, & Razzaque, 2010). In einem Mausmodell mit P-reicher Fütterung konnte eine hohe sP-Konzentration mit Muskel- und Hautatrophie, Herzgefäßverkalkungen und dem Fortschreiten von CNI durch renale Verkalkung sowie vermehrt apoptotische Zellen, assoziiert mit erhöhtem Serumkreatinin, in Verbindung gebracht werden (Eller et al., 2011). Das Voranschreiten der CNI wird mit zunehmender Weichgewebeverkalkungen in Zusammenhang gebracht. Infolge der erhöhten sP-Konzentrationen steigt auch das sCaP an. Ein  $sCaP \geq 55 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$  stellt ein erhöhtes Risiko für Weichgewebeverkalkungen dar (Block, Hulbert-Shearon, Levin, & Port, 1998) und konnte bereits mit den IRIS- Kategorien für Hunde mit CNI korreliert werden (Cortadellas et al., 2010; Lippi et al., 2014). Ein  $sCaP > 77 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$  hat sich dabei als negativer prognostischer Marker bei Hunden mit CNI erwiesen (Lippi et al., 2014). Bei Menschen, die an CNI leiden, ist es daher im Hinblick auf die Überlebenszeit von entscheidender Bedeutung, die sP Konzentrationen sowie das sCaP in physiologisch niedrigen Bereichen zu halten (Locatelli et al., 2002). Weichgewebeverkalkungen bei feliner CNI treten in den Nieren, der thorakalen und abdominalen Aorta, der Magenwand sowie in den Lungengefäßen auf (Barber, 1998; Bertazzolo et al., 2003). Sowohl bei feliner als auch bei caniner CNI wird zudem von metastatischen Verkalkungen, z.B. in den Pfoten, berichtet (Barber, 1998; Bertazzolo et al., 2003; Jackson & Barber, 1998; Kowalewich & Hawkins, 1992). Vermutlich kommt es

## SCHRIFTTUM

hierzu infolge eines  $sCaP > 70 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$  und gleichzeitig erhöhtem PTH (Jackson, & Barber, 1998). Jackson und Barber (1998) berichten, dass sich die Verkalkungen in den Pfoten einer Katze mit Stage 3 CNI innerhalb von drei Monaten aufgelöst haben, nachdem auf eine P-reduzierte Ration umgestellt wurde. Dies ging einher mit einem  $sCaP$  von  $< 70 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$  sowie einer Senkung des sP-Spiegels von 2,2 mmol/l auf 1,5 mmol/l, was innerhalb des empfohlenen Bereichs für die IRIS-Kategorie 3 liegt.

Weitaus häufiger als Hyperphosphatämie ist bei der CNI der Katze aber wohl das Auftreten eines sekundären renalen Hyperparathyreoidismus (Barber & Elliott, 1998). Dies spricht gegen die „trade off“ (trade off = Ausgleich) Hypothese aus den 70er Jahren, die besagt, dass PTH alleinig als Reaktion auf steigende sP-Konzentrationen infolge einer sinkenden glomerulären Filtrationsrate (GFR) ansteigt (Bricker, 1972). Heute weiß man, dass es noch andere Faktoren wie beispielsweise FGF23 gibt, die mit dem Fortschreiten einer feline CNI assoziiert werden können (Geddes, R. F. et al., 2013). Bei Hunden mit CNI entwickeln 75,9 % einen sekundären renalen Hyperparathyreoidismus, wobei die Prävalenz mit zunehmender IRIS-Kategorie ansteigt (Cortadellas, Fernández del Palacio, Talavera, & Bayón, 2010). Und ähnlich wie bei der Katze hat ein geringerer Anteil der Hunde eine Hyperphosphatämie (68,5 %), ebenfalls mit einer zunehmenden Prävalenz bei Fortschreiten der CNI. Bei 18,5 % der Tiere konnten außerdem niedrige Calcitriolwerte gemessen werden. Mit dem Fortschreiten der Erkrankung sinkt die Exkretionsleistung der Nieren für sP und triggert so beispielsweise PTH, um sP möglichst lange innerhalb des Normalbereichs zu halten. Erst wenn diese Kompensationsmechanismen nicht mehr ausreichen, steigt sP an und man spricht von der dekompenzierten CNI.

In frühen Stadien von CNI hemmt FGF23 direkt die Sekretion von PTH, indem der Klotho-FGFR1c Komplex in der Nebenschilddrüse aktiviert wird. Dies soll eine Freisetzung von Ca und damit auch von P aus dem Knochen als Reaktion auf erhöhte PTH-Konzentrationen verhindern (Geddes, Rebecca F. et al., 2013). Mit Fortschreiten der CNI steigt auch die Konzentration von FGF23 im Serum an, da FGF23 am Glomerulus frei filtrierbar ist (Filler et al., 2011). Außerdem steigt die sP-Konzentration an sobald die GFR unter eine bestimmte Rate sinkt (Mensch:  $30 \text{ ml}/\text{min}/1,75\text{m}^2$ ; (Filler et al., 2011; Westerberg et al., 2007)) und stimuliert so die FGF23-Sekretion. Mit der Zeit kommt es zu einer Resistenz von FGF23, da weniger FGFR1 und Klotho-mRNA sezerniert wird (Canalejo et al., 2010; Galitzer et al., 2010; Komaba et al., 2010). Klotho kann Weichgewebeverkalkung verhindern bzw. verzögern, indem es die renale P-Ausscheidung fördert, die glomeruläre Filtration aufrechterhält und direkt die Aufnahme von P in die glatten Gefäßmuskelzellen verhindert

(Hu et al., 2011; Huang & Moe, 2011). Ein Klothomangel begünstigt daher Weichgewebeverkalkungen (Hu et al., 2011) und kann als Frühmarker für CNI bei Menschen und Maus dienen. Niedrige Klothokonzentrationen scheinen eine FGF23-Resistenz herbeizuführen (Lim et al., 2012). Klotho wird durch inflammatorische Zytokine (Angiotensin II und TGF- $\beta$ 1) im Verlauf einer CNI unterdrückt, weshalb immer weniger Klotho im Umlauf ist (Sanchez-Niño, Sanz, & Ortiz, 2013). Dies führt zu weniger FGFR1c-Klotho-Komplexen an denen FGF23 binden kann. Damit lässt die Hemmung der PTH-Sekretion nach (Canalejo et al., 2010; Galitzer et al., 2010) und PTH steigt im Endstadium der CNI schlussendlich an (Galitzer et al., 2010). Gleichzeitig ist mehr freies FGF23 im Serum, welches zwar weiterhin die Calcitriolkonzentration senkt, jedoch mit ausbleibender sP-senkender Wirkung (Geddes, Rebecca F. et al., 2013). Die hieraus folgende P-Retention spielt eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der Chronic Kidney Disease - Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD; (Martin & González, 2011)).

### 3.3.2.3. Knochen

Erhöhte sP- Konzentrationen führen beim gesunden Individuum wie schon beschrieben zu einer gesteigerten Ausschüttung von PTH (Estepa et al., 1999; Silverberg et al., 1986). Die Aufgabe von PTH ist es, sCa innerhalb eines engen physiologischen Bereiches (Hund: 2,3–3,0 mmol/l; (Moritz, 2013)) zu halten. Dies erreicht es durch gesteigerte Ca-Absorption aus dem Darm sowie Freisetzung von Ca aus dem Knochen. Der Rezeptor für PTH im Knochen (PTHr1) ist vor allem in den Osteoblasten lokalisiert (Abou-Samra et al., 1992; Bos, Meer, J. M. van der, Feyen, & Herrmann-Erlee, 1996). Bindet PTH nun an seinem Rezeptor, wird das Zytokin RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand) sezerniert und sein Inhibitor Osteoprotegerin wird gehemmt (Huang et al., 2004). RANKL ist notwendig für die Osteoklastenentwicklung, weshalb Dauer und Erhöhung der PTH-Konzentration maßgeblich für das Ausmaß des Knochenabbaus ist (Nakagawa et al., 1998). Langfristig erhöhte PTH-Konzentrationen können dementsprechend zur Demineralisierung der Knochen, mit entsprechenden Folgen wie Osteomalazie und Osteoporose, führen. Geschieht dies infolge einer beeinträchtigten Nierenfunktion, wenn P nicht mehr in ausreichenden Mengen ausgeschieden werden kann und somit ein erhöhtes sCaP mit einem relativen Ca-Mangel entsteht, spricht man vom sekundären renalen Hyperparathyreoidismus. Katzen mit CNI können als klinische Manifestation eines sekundären renalen Hyperparathyreoidismus den sogenannten „Rubber Jaw“ entwickeln

## SCHRIFTTUM

und sich leichter Frakturen als Folge der Demineralisierung der Knochen zuziehen (Yaphe & Forrester, 1994). Beim Hund sind beispielsweise lockere Zähne (Carmichael, Williams, & Aller, 1995) und ebenfalls eine Osteodystrophie der Kieferknochen (Rusenov, 2010) als klinische Manifestationen eines sekundären renalen Hyperparathyreoidismus beschrieben. Rusenov (2010) beschreibt in dem Fallbericht eines vier Monate alten Welpen mit kongenitaler Niereninsuffizienz des Weiteren röntgenologische Befunde wie zystische Aufhellungen und eine Demineralisierung in den Röhrenknochen, mit ausgedünnter Kompakta und generalisierter Osteoporose. Eine labordiagnostische Blutuntersuchung zeigte erhöhte PTH- sowie sP-Konzentrationen bei gleichzeitig erniedrigten sCa-Konzentrationen.

Solch erhöhte PTH-Konzentrationen scheinen des Weiteren auch eine vermehrte Synthese von FGF23, unabhängig von Vitamin D, zu bedingen (López et al., 2011). Das erklärt auch, weshalb man bei Patienten mit sekundärem renalen Hyperparathyreoidismus eine Korrelation zwischen sCa und FGF23 finden kann (Evenepoel, Naesens, Claes, Kuypers, & Vanrenterghem, 2007; Evenepoel, Viaene, & Meijers, 2011).

Der Symptomkomplex, der sich infolge des gestörten Mineral- und Knochenstoffwechsels bei einer CNI entwickelt, wird als CKD-MBD bezeichnet. Hierzu zählt jegliche Abweichung der sCa-, sP-, PTH- oder Calcitriolkonzentration, der Knochendichte bzw. des Knochenstoffwechsels oder aber das Auftreten von Weichgewebeverkalkungen (Moe, Drüeke, Lamiere, & Eknoyan, 2007). Hohe PTH-Konzentrationen wirken proinflammatorisch, da die resultierende Knochenresorption eine Interleukin-6 Ausschüttung bedingt (Grey et al., 1999), die wiederum mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko in Verbindung gebracht werden kann.

## 4. MATERIAL UND METHODEN

### 4.1. Versuchsplan

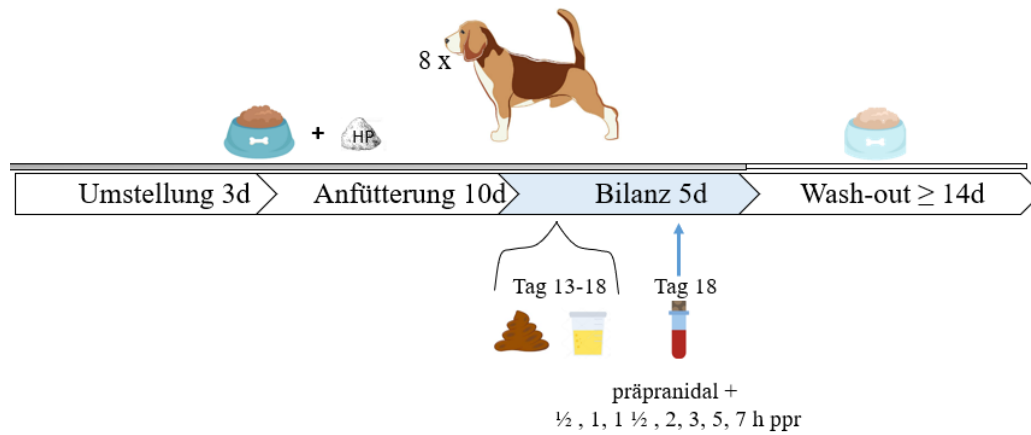
Zur Überprüfung der Effekte eines Phosphatexzesses auf die scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz (TS) und der Mengenelemente sowie auf die Kinetik ausgewählter Serumparameter der P Homöostase an Hunden standen insgesamt acht gesunde, adulte Beagles zur Verfügung. Dazu wurden im Vergleich zu einer ausgewogenen und bedarfsdeckenden Kontrollration (CON; 100 mg P/kg  $KM^{0,75}$ ; 0,4 % P in % TS) drei Rationen mit P Exzess (HP) durch Zugabe unterschiedlicher P-Quellen überprüft. Tabelle 2 zeigt eine Übersicht der Versuchsrationen und der jeweils verwendeten P-Quellen. Die Tiere erhielten ein möglichst identisches Basisfutter aus Pansen, Reis, Casein und einem Mineral-Vitamin-Pulver, das bei den Versuchsrationen auch die jeweilige Phosphorquelle enthielt. Ziel war es, den Erhaltungsbedarf der Hunde an P durch die Futterkomponenten Pansen, Reis und Casein zu decken, während in den Versuchsrationen das Vierfache des P Bedarfs über das Supplement gedeckt wurde, sodass die Hunde insgesamt das Fünffache ihres P-Bedarfs erhielten (500 mg P/kg  $KM^{0,75}$ ; 1,7 % P TS). Um ein Ca:P-Verhältnis zwischen 1,3–1,4:1 zu erhalten, wurde bei den HP-Rationen mit Pi-Quellen Ca in Form von Calciumcarbonat ( $CaCO_3$ ) ergänzt. In Ration HPCM wurde ausschließlich Geflügelfleischkarkassenmehl als organische P-Quelle verwendet. Pi und  $CaCO_3$  wurden hier nicht eingesetzt; das Ca:P lag hier bei 1,9:1.

Alle Durchgänge folgten demselben zeitlichen Ablauf: zu Beginn fand eine Futterumstellung über drei Tage statt, gefolgt von einer Anfütterungsphase von zehn Tagen und schließlich einer Bilanzphase von fünf Tagen. Am letzten Tag der Bilanz (Tag 18) wurden eine präprandiale sowie sieben postprandiale Blutproben entnommen. Zum Zeitpunkt der präprandialen Blutentnahme hatten die Tiere für ca. 23 Stunden nicht gefressen. Die postprandialen Blutentnahmen erstreckten sich über einen Zeitraum von sieben Stunden: ½, 1, 1 ½, 2, 3, 5 und 7 Stunden nach der Fütterung. Zwischen den einzelnen Versuchsdurchgängen lag jeweils eine Wash-out-Phase von  $\geq 14$  Tagen. In dieser Phase erhielten alle Hunde die bedarfsdeckende und ausgewogene Ration CON.

Der Versuch wurde durch einen Tierschutzbeauftragten der Ludwig-Maximilians-Universität sowie der Regierung von Oberbayern genehmigt (Aktenzeichen: 55.2-1-54-2532-30-17).

## MATERIAL UND METHODEN

In Abbildung 2 ist der zeitliche Ablauf eines einzelnen Versuchsdurchgangs dargestellt.



**Abbildung 2:** Zeitlicher Ablauf der einzelnen Versuchsdurchgänge.

Tabelle 2 zeigt eine Übersicht der verschiedenen Durchgänge mit der jeweils verwendeten P-Quelle.

**Tabelle 2:** Übersicht über die Versuchsdurchgänge und die jeweils verwendeten P-Quellen.

Bezeichnung	Verwendete P-Quelle
CON	Kontrolle
HPCM	Geflügelfleischkarkassenmehl
HPNaP	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$
HPKP	$\text{KH}_2\text{PO}_4$

### 4.2. Versuchsfutter

#### 4.2.1. Futterzuteilung

Die Zuteilung der Rationen erfolgte nach dem individuellen Energiebedarf bei Erhalt des Idealgewichts des jeweiligen Tieres. Das Idealgewicht wurde vor Versuchsbeginn durch regelmäßiges Wiegen bei Erhalt des optimalen Ernährungszustandes ermittelt. Das Idealgewicht ist definiert als das Körpergewicht mit einem Body Condition Score (BCS) 5/9 (Laflamme, D. R. P. C., 1997). Der ME-Gehalt des Basisfutters wurde, wie bei Siedler (2018), so konzipiert, dass er den Energiebedarf des Tieres mit dem niedrigsten ME-Bedarf deckte. Tiere mit einem höheren Energiebedarf erhielten eine entsprechende Zulage aus Schweineschmalz. Nach Analytik des Basisfutters wurde ein Mineral-Vitamin-Supplement konzipiert, das den Bedarf aller Mengen- und Spurenelemente sowie Vitamine gemäß NRC (2006) deckte. Für den Phosphorbedarf wurden 100 mg pro kg metabolischer Körpermasse ( $KM^{0,75}$ ) angenommen (National Research Council, 2006). Dieses Mineral-Vitamin-Supplement wurde gemäß der Körpermasse zugeteilt. Sowohl die Ration CON als auch HPNaP sowie HPKP bestanden also aus dem Basisfutter und einem passenden Mineral-Vitamin-Pulver. Das Mineral-Vitamin-Pulver von HPNaP und HPKP enthielt allerdings einen entsprechend höheren Gehalt an P und Ca, um insgesamt die Deckung des fünffachen Bedarfs an P sowie ein ausgewogenes Ca:P von 1,4:1 zugleich erreichen zu können. Die Ration HPCM dagegen bestand aus Reis und dem Geflügelfleischkarkassenmehl ohne Pansen und Casein. Auch hier wurde ein entsprechendes passendes Mineral-Vitamin-Pulver allerdings ohne Ca und P ergänzt.

Über die gesamte Versuchsdauer hinweg erfolgte eine wöchentliche Überprüfung der Körpermasse und des BCS. Um eine Körpermassekonstanz bei optimalem BCS zu erzielen, insbesondere bei jahreszeitlich bedingten Schwankungen der Umgebungstemperaturen, wurde bei Bedarf die ME-Zuteilung in Form von Schweineschmalz entsprechend korrigiert.

#### 4.2.2. Zusammensetzung und Nährstoffgehalte des Basisfutters

Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die Rationskomponenten des Basisfutters sowie deren Anteile aus der Arbeit von Siedler (2018) übernommen. Tabelle 3 zeigt die Zusammensetzung des Basisfutters, das für die Versuche CON, HPNaP sowie HPKP verwendet wurde. In zwei Durchgängen (KD1, KD2) wurden Reis und Pansen gekocht, der Pansen außerdem gekuttert und beides zusammen mit dem Casein anschließend mittels eines Kutters homogen vermengt. Das Vermengen der einzelnen Komponenten erfolgte aus

## MATERIAL UND METHODEN

technischen Gründen je Durchgang in mehreren kleinen Chargen, welche in Tabelle 4 dargestellt sind. Der Versuchsdurchgang HPCM enthielt Geflügelfleischkarkassenmehl als P- sowie Proteinquelle. Daher wurde hier lediglich Reis, jedoch weder Pansen noch Casein zugelegt. Das homogen vermengte Futter wurde in Portionsbeuteln bei -20 °C tiefgefroren und vor der Verfütterung bei Zimmertemperatur über Nacht aufgetaut. Die Gehalte an Mengenelementen sowie Rohnährstoff- und Energiegehalte des Basisfutters sind in den Tabellen 5 bzw. 6 aufgeführt. Tabelle 7 zeigt die Gehalte an Mengenelementen, Rohnährstoffen sowie Energiegehalt der Ration HPCM. Die Gehalte für Natrium, Kalium sowie Chlorid lagen unterhalb der Nachweisgrenzen. Für Natrium liegt diese für die verwendete Methode bei 23 mg/100g (10 mmol/l), für Kalium bei 20 mg/100g (5 mmol/l) und für Chlorid bei 18 mg/100g (5 mmol/l).

**Tabelle 3:** Anteile der verwendeten Komponenten des Basisfutters für die Versuchsrationen CON, HPNaP sowie HPKP.

<b>Komponente</b>	<b>Anteil [%]</b>
Pansen, gekocht	63,8
Reis, gekocht	31,9
Casein	4,3

**Tabelle 4:** Verwendung der verschiedenen Kochdurchgänge für die Versuchsdurchgänge.

<b>Kochdurchgang</b>	<b>Anzahl der Chargen</b>	<b>Verwendung für Versuchsration</b>
KD1	4	CON
KD2	8	HPNaP, HPKP

\*KD = Kochdurchgang.



## MATERIAL UND METHODEN

**Tabelle 5:** Gehalte an Mengenelementen in mg/100g TS der verschiedenen Kochdurchgänge. Die Gehalte der verschiedenen Chargen wurden gemittelt und als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.

<b>KD</b>	<b>Ca</b>	<b>P</b>	<b>Na</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Cl</b>
KD1 (n = 4)	397 $\pm$ 109	326 $\pm$ 44	u.NWG	u.NWG	70 $\pm$ 17	u.NWG
KD2 (n = 8)	550 $\pm$ 228	564 $\pm$ 125	u.NWG	u.NWG	80 $\pm$ 44	u.NWG

\*KD = Kochdurchgang, Ca = Calcium, P = Phosphat, Na = Natrium, K = Kalium, Mg = Magnesium, Cl = Chlorid, u.NWG = unterhalb der Nachweisgrenze.

**Tabelle 6:** Die Rohnährstoff- [% TS] und Energiegehalte [MJ ME/100g TS] in den Futtermischungen der verschiedenen Kochdurchgänge (KD). Die Gehalte der verschiedenen Chargen wurden gemittelt und als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.

<b>KD</b>	<b>TS</b>	<b>Rp</b>	<b>Ra</b>	<b>Rfa</b>	<b>Rfe</b>	<b>ME</b>
KD1 (n = 4)	40 $\pm$ 3	39 $\pm$ 4	3 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	36 $\pm$ 6	3 $\pm$ 0
KD2 (n = 8)	38 $\pm$ 2	44 $\pm$ 3	4 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	26 $\pm$ 5	2 $\pm$ 0

\*KD = Kochdurchgang, TS = Trockensubstanz, Rp = Rohprotein, Ra = Rohasche, Rfa = Rohfaser, Rfe = Rohfett, ME = umsetzbare Energie.

**Tabelle 7:** Gehalte der Mengenelemente [mg/100g TS], Rohnährstoff- [% TS] und Energiegehalte [MJ/100g TS] der HPCM-Ration.

<b>Versuch</b>	<b>Ca</b>	<b>P</b>	<b>Na</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Cl</b>
HPCM	4098	2150	240	338	128	u.NWG

<b>Versuch</b>	<b>TS</b>	<b>Rp</b>	<b>Ra</b>	<b>Rfa</b>	<b>Rfe</b>	<b>ME</b>
HPCM	55	54	12	0	9	2

\*KD = Kochdurchgang, Ca = Calcium, P = Phosphat, Na = Natrium, K = Kalium, Mg = Magnesium, Cl = Chlorid, TS = Trockensubstanz, Rp = Rohprotein, Ra = Rohasche, Rfa = Rohfaser, Rfe = Rohfett, ME = umsetzbare Energie, u.NWG = unterhalb der Nachweisgrenze.

## 4.2.3. Zusammensetzung der Mineral-Vitamin-Supplemente

Das Mineral-Vitamin-Pulver diente dazu, die bedarfsdeckende Versorgung sämtlicher Mengen- und Spurenelemente sowie Vitamine in den Versuchsrationen sicher zu stellen. Das Pulver auf Maisstärkebasis enthielt neben den nötigen Mineralstoffen und Vitaminen bei HPNaP sowie HPKP auch die zu testende P-Quelle sowie außer bei HPCM eine Ca-Zulage ( $\text{CaCO}_3$ ), um ein Ca:P-Verhältnis von 1,3-1,4:1 einzustellen. Diese Komponenten wurden in geeigneten Mischern zu einem Mineral-Vitamin-Pulver gemischt und vor der Verwendung auf seine Genauigkeit hin analysiert (Tabelle 8). Je nach Volumen wurde entweder ein Eppendorf-Cup oder ein Coultergefäß für die Einwaage der individuellen Menge an Mineral-Vitamin-Pulver für jeden Hund verwendet. Vor der Verfütterung wurden das Mineral-Vitamin-Pulver und das Schweineschmalz mit einer entsprechenden Menge des Versuchsfutters homogen vermengt. In HPCM war die P-Quelle bereits im Versuchsfutter enthalten, sodass dieses Mineral-Vitamin-Pulver kein P enthielt. Auch eine  $\text{CaCO}_3$ -Zulage war in dieser Ration nicht notwendig.

**Tabelle 8:** Gehalte an Trockensubstanz [%] und an Mengenelementen [mg/100g TS] der Mineral-Vitamin-Supplemente der verschiedenen Versuchsrationen.

Versuch	TS	Ca	P	Na	K	Mg	Cl
CON	95	9863	6611	3863	20326	109	23326
HPCM	95	253	21	21	40768	5	37418
HPNaP	93	16095	11147	8789	3779	551	3484
HPKP	95	16000	11158	821	14842	0	1105

\*Ca = Calcium, P = Phosphat, Na = Natrium, K = Kalium, Mg = Magnesium, Cl = Chlorid.

## MATERIAL UND METHODEN

### 4.2.4. Zusammensetzung und Nährstoffgehalte des Kontrollfutters und der verschiedenen Versuchsfutter

In Tabelle 9 sind die Gehalte an Rohnährstoffen und umsetzbarer Energie der Versuchsrationen dargestellt, während Tabelle 10 den Mengenelementgehalt, die Kationen-Anionen-Bilanz (KAB) sowie das Ca:P wiedergibt. In der Versuchsration HPCM konnte ein Ca:P von 1,4:1 nicht eingehalten werden. Aufgrund der hier verwendeten P-Quelle, einem Geflügelfleischkarkassenmehl, wies diese Ration, ohne CaCO<sub>3</sub>-Zulage, ein Ca:P von 1,9:1 auf.

**Tabelle 9:** Übersicht der Gehalte an Rohnährstoffen [% TS] und Energiegehalt [MJ ME/100g TS] der einzelnen Versuchsrationen, jeweils ohne Schweineschmalzzulage.

Versuch	Rp	Ra	Rfa	Rfe	ME
CON	37	7	1	36	2,3
HPCM	54	13	0	9	1,9
HPNaP	34	22	4	25	1,8
HPKP	34	21	1	25	1,8

\*Rp = Rohprotein, Ra = Rohasche, Rfa = Rohfaser, Rfe = Rohfett, ME = umsetzbare Energie.

**Tabelle 10:** Darstellung der Gehalte an Mengenelementen [mg/100g TS] sowie der KAB [mmol/kg TS] der einzelnen Versuchsrationen ohne Schweineschmalzzulage.

Versuch	Ca	P	Na	K	Mg	Cl	Ca:P	KAB
CON	804	595	162	875	192	981	1,4	64
HPCM	4066	2133	238	658	127	296	1,9	797
HPNaP	3477	2571	1700	731	164	674	1,4	692
HPKP	3302	2409	151	2721	58	203	1,4	727

\*Ca = Calcium, P = Phosphat, Na = Natrium, K = Kalium, Mg = Magnesium, Cl = Chlorid, KAB = Kationen-Anionen-Bilanz.

### 4.3. Versuchstiere

In der vorliegenden Studie fanden acht gesunde adulte Beagles, sowohl intakte als auch kastrierte Tiere beiderlei Geschlechts, im Alter von  $2,9 \pm 1,0$  Jahren Verwendung, die alle aus der eigenen Zucht des Lehrstuhls stammten (Tabelle 11). Sie wurden von Welpenalter an mit einem eigens konzipierten Medical-Training mittels Clicker gezielt auf Maßnahmen, wie die wöchentliche Allgemeinuntersuchung oder Blutentnahmen, vorbereitet. Vor Versuchsbeginn wurde eine vierwöchige Vorversuchsphase durchgeführt. In dieser Zeit erhielten die Hunde eine Ration auf Basis eines kommerziell erhältlichen Trockenfutters. Dieses deckte den exakten P-Bedarf für die Erhaltung ohne Exzess. Des Weiteren wurden die Tiere während dieser Phase wöchentlich gewogen, um so den individuellen Energiebedarf bei idealem Körpergewicht (BCS 5/9) zu bestimmen. Außerdem wurde eine parasitologische Kotuntersuchung durchgeführt und bei positivem Befund fand eine Behandlung der Hunde mit Anthelminthika statt. Bei den Hunden wurden auch in dieser Phase des Weiteren standardmäßig eine wöchentliche allgemeine Gesundheitskontrolle durch die Tierpfleger sowie eine einmalige Untersuchung vor Versuchsbeginn durch einen Tierarzt durchgeführt. Demnach waren die Hunde zu Versuchsbeginn klinisch gesund. Über den gesamten Verlauf der Studie wurde wöchentlich eine allgemeine Gesundheitskontrolle durch die Tierpfleger durchgeführt. Bei Auffälligkeiten fand eine eingehende Untersuchung durch den diensthabenden Tierarzt statt, der bei Bedarf eine geeignete Therapie verordnete. Sämtliche Maßnahmen wurden aufgezeichnet. Die Körpermasse der Tiere betrug  $14,0 \pm 1,1$  kg (Tabelle 11). Für das Wiegen der Hunde wurde eine geeichte Waage mit Tierwägeprogramm verwendet. Das Gewicht wurde im gesamten Verlauf der Studie wöchentlich kontrolliert und protokolliert. Bei Abweichung der Körpermasse vom Idealgewicht wurde die Energiezuteilung in Form von Schweineschmalzzulage korrigiert.

**Table 11:** Daten der Versuchstiere zu Versuchsbeginn.

Nr.	Name	Geburtsdatum	Alter [Jahre]	sex	Chip-Nr.	Idealgewicht [kg]
1	Monty	19.02.2016	1,4	mk	276098106037541	15,0
2	Neville	31.12.2013	3,6	mk	276098104750159	14,5
3	Silvester	31.12.2013	3,6	mk	276098104745372	14,2
4	Elliot	30.03.2014	3,3	mk	276098104883055	15,0
5	Manni	02.04.2014	3,3	mk	276098104768395	14,2
6	Franzl	02.04.2014	3,3	mk	276098104748765	14,5
7	Dori	22.06.2016	1,1	w	276098106134607	13,5
8	Hedwig	31.12.2013	3,6	w	276098104745410	11,3

\*m = männlich, w = weiblich, k = kastriert.

#### 4.4. Versuchstechnik

Die Tiere wurden, außer während der fünftägigen Bilanzphase, für die gesamte Dauer der Studie tagsüber in ihren gewohnten Gruppen in Außenzwingern gehalten (8:30 – 15:30 Uhr). Über Nacht waren die Hunde einzeln in ausreichend großen Zwingern mit eingestreuten Schlafplätzen im klimatisierten Innenbereich untergebracht, wobei die Tiere Sichtkontakt zueinander hatten, da die Abtrennungen der Zwinger aus Gitterstäben bestanden. Kontakt zu den Pflegern bestand mehrmals täglich. Da die Hunde tagsüber in Gruppen im Außenauslauf gehalten wurden und die Pfleger regelmäßig für kleine Spiel- und Trainingseinheiten sorgten, konnte eine ausreichende Bewegung und Beschäftigung der Tiere sichergestellt werden.

Wasserschüsseln in den Außenzwingern wurden von den Pflegern täglich gereinigt und neu befüllt. In den Einzelzwingern im Innenbereich waren Nippeltränken angebracht. Auf diese Weise war der freie Zugang zu sauberem Trinkwasser für die gesamte Versuchsdauer gewährleistet.

Die Zuteilung der Versuchsration erfolgte für jedes Tier einzeln. Jede Mahlzeit wurde je Tier einzeln eingewogen und mit einer definierten Menge des Mineral-Vitamin-Pulvers

## MATERIAL UND METHODEN

sowie der Schweineschmalzzulage vermengt. Anschließend wurden die Rationen an die Hunde in den Einzelzwingern im Stall verfüttert. Dies erfolgte in Edelstahlnapfen und in einer definierten Reihenfolge, die für die gesamte Versuchsdauer beibehalten wurde. Die Hunde hatten bis zu einer Stunde Zeit für die Futteraufnahme. Es wurde darauf geachtet, dass die Hunde die Versuchsfuttermengen freiwillig vollständig fraßen. Es war geplant, mögliche Rückwaagen in allen Versuchsphasen gleichermaßen zu protokollieren, um die Futter- bzw. Nährstoffaufnahme des Einzeltieres beurteilen zu können.

Während der fünftägigen Bilanzphase wurden die Hunde ausschließlich in ihren Einzelzwingern im Innenbereich gehalten und waren nicht in ihren Gruppen. Um das quantitative Sammeln des Kots zu ermöglichen und eine Kontamination des Kots durch Späne, die als Einstreu für die Schlafplätze diente, zu vermeiden, wurde das Einstreu durch Gummimatten ersetzt. In der Bilanzphase wurde der Kontakt der Hunde mit ihren Pflegern und dem Doktoranden besonders intensiv gepflegt. Um den Tieren Frischluft und Abwechslung zu bieten, wurden sie viermal täglich beaufsichtigt auf dem Gelände der Tierhaltung an der Leine Spazieren geführt. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Tiere nichts fraßen, eventuell abgesetzter Kot wurde vollständig aufgesammelt. Das Futter wurde in der Bilanzphase täglich um 08:00 Uhr für eine Stunde angeboten. Die Bestimmung und Protokollierung der täglichen Trinkwassermenge war aus technischen Gründen nicht möglich. Besondere Beobachtungen bezüglich des Trinkverhaltens wie ein vermehrtes Aufsuchen der Nippeltränken sollte aber in den Versuchsprotokollen notiert werden. Des Weiteren wurde während der Bilanzphase angestrebt, zweimal täglich spontan abgesetzten Urin mit Hilfe eines speziellen Urinauffangbechers (UriCollect, Covetrus GmbH, Deutschland) zu sammeln. Dazu wurden die Hunde an der Leine über das Gelände geführt. Ziel war es, einmal präprandial und einmal 2-4 Stunden postprandial Urin zu sammeln. Anschließend wurden zeitnah pH und Dichte im Urin gemessen und die Proben bis zur weiteren Analytik bei -20 °C tiefgefroren. Aus technischen sowie tierschutzrelevanten Gründen war es nicht möglich, die Gesamttagesurinmenge aufzufangen, da hierzu die Haltung in einem Stoffwechselkäfig von Nöten gewesen wäre, was jedoch eine beträchtliche Einschränkung für die Hunde bedeutet hätte. Der Kot wurde möglichst umgehend nach der Defäkation quantitativ eingesammelt, gewogen und bis zur weiteren Verarbeitung der Proben bei -20 °C eingefroren.

### 4.4.1. Probenaufbereitung und angewandte Untersuchungsmethoden

#### 4.4.1.1. Futter

Gemäß dem Methodenbuch für die chemische Untersuchung von Futtermitteln (Naumann & Bassler, 1976) wurde das Futter mittels Weender-Analyse auf seine Gehalte an Rohnährstoffen hin untersucht.

Die Trockensubstanz (TS) wurde ermittelt, indem von jeder Futtercharge eine Probe in eine Aluminiumschale eingewogen wurde. Anschließend fand eine Trocknung im Trockenschrank (Venticell, LSIS-B2V/VC 111, MMM Medcenter GmbH, Deutschland) für mindestens vier Stunden bei 103 °C bis zur Gewichtskonstanz statt. Die TS wurde dann mittels folgender Formel errechnet:

$$TS [\%] = \frac{\text{Auswaage getrocknetes Futter (g)}}{\text{Einwaage ursprüngliche Substanz (uS) (g)}} \times 100$$

Die derart getrocknete Probe wurde in einer Messermühle (Grindomix GM 200, RETSCH GmbH, Deutschland) vermahlen.

Das Rohprotein (Rp) wurde mittels Kjeldahlverfahren gemessen. Um den Stickstoff (N) in seine Ammoniumform ( $\text{NH}_4^+$ ) zu überführen, wurde eine Oxidierung der Probe in konzentrierter Schwefelsäure ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) durchgeführt (Digestor 2020, Foss, Dänemark). Nach der Zugabe von 32 %iger Natronlauge (NaOH) wird Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) freigesetzt, der in 1 %ige Borsäure ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) überdestilliert und titrimetrisch gegen Salzsäure (HCl) gemessen wird (Kjeltec 2400, Foss, Dänemark). Da Protein im Schnitt 16 % N enthält, konnte von dem ermittelten N-Gehalt auf das im Futter enthaltene Rp mittels folgender Formel geschlossen werden:

$$Rp [\%] = N \times 6,25$$

Die Bestimmung der Rohasche (Ra) erfolgte gemäß VDLUFA (2012) durch sechsstündige Veraschung der Probe bei 550 °C im Muffelofen (Thermicon P, Heraeus Instruments Thermo Fisher Scientific, USA).

Der Gehalt an Rohfaser (Rfa) gemäß der Weender Analyse ist definiert als derjenige fett- und aschefreie Rückstand, der sowohl in verdünnten Säuren als auch Laugen unlöslich ist. Um die Rfa zu bestimmen, wurde die Probe zunächst für dreißig Minuten in 1,25 %iger Schwefelsäure ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) gekocht. Anschließend wurde die Probe mit heißem Wasser gewaschen, worauf eine weitere 30minütige Kochung in 1,25 %iger Kalilauge (KOH) erfolgte (Fibertec 2010 Hot Extractor, Foss, Dänemark). Der Rückstand wurde mit Aceton

## MATERIAL UND METHODEN

(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O) gewaschen (Tecator Cold Extractor, Foss, Dänemark), getrocknet und verascht (Nabertherm Controller P320, Nabertherm GmbH, Deutschland). Der Rfa-Gehalt wurde aus der Differenz des fettfreien Rückstands und der erhaltenen Asche berechnet.

Für die Bestimmung des Gehaltes an Rohfett (Rfe) wurde die Probe zunächst vorentfettet. Nach der Einwaage der Probe in Zellulosehülsen (Ref.nr. 15220030, Foss, Dänemark), erfolgte die Extraktion der Probe in Petroläther (Siedepunkt 40–60 °C) im Soxhletapparat (Tecator 2050 Soxtec Avanti Extraktionssystem, Foss, Dänemark). Daraufhin wurde ein Säureaufschluss nach der Weibull-Stoldt-Methode (Stoldt, 1949) durchgeführt, worauf eine weitere Extraktion im Soxhletapparat mittels Petroläther folgte.

Die stickstofffreien Extraktstoffe (NfE) wurden schließlich rechnerisch bestimmt:

$$NfE [\%] = TM - (Ra + Rfe + Rfa + Rp)$$

Auch die organische Substanz (oS) wurde rechnerisch ermittelt:

$$oS [\%] = TS [\%] - Ra [\%]$$

Die umsetzbare Energie (ME; metabolisable energy) wurde mit Hilfe folgender Formel für selbst zubereitete Rationen abgeschätzt (Atwater, 1902; National Research Council, 2006; Rubner, 1902):

$$ME [kcal] = (4 \times Rohprotein [g]) + (9 \times Rohfett [g]) + (4 \times NfE [g])$$

Die Kationen-Anionen-Bilanz (KAB) wurde mit nachstehender Formel berechnet (Kienzle & Wilms-Eilers, 1994; Schuknecht, 1991):

$$KAB \left[ \frac{mmol}{kg TS} \right] = 49,9 \times Ca + 82,3 \times Mg + 43,5 \times Na + 25,6 \times K \\ - 64,6 \times P - 28,2 \times Cl - 13,4 \times Met - 16,6 \times Cys$$

\*Ca = Calcium, P = Phosphat, Na = Natrium, K = Kalium, Mg = Magnesium, Cl = Chlorid, Met = Methionin, Cys = Cystein.

Die Gehalte an schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin (Met) und Cystein (Cys), wurden mit Hilfe entsprechender Angaben aus Nährwerttabellen (Souci, Fachmann, Kraut, & Andersen, 2016) kalkuliert.



Anschließend wurde der zu erwartende Harn-pH-Werte mit Hilfe nachfolgender Formel abgeschätzt (Behnsen, 1992):

$$\text{Harn} - \text{pH} - \text{Wert} = 6,59 + 0,0019 \times \text{KAB} \left[ \frac{\text{mmol}}{\text{kg TS}} \right]$$

#### 4.4.1.2. Kot

Während der fünftägigen Bilanzphase wurde der Kot jedes Tieres quantitativ gesammelt. Der Kot eines Tages wurde je Tier in einer Aluminiumschale gewogen und bei -20 °C gefroren. Nachdem die Proben durchgefroren waren, wurden sie in einem Lyophilisator im Vakuum gefriergetrocknet (Modell: T 22 K-E-6, Piatkowski- Forschungsgeräte, Deutschland). Nach der Gefrietrocknung wurden Nicht-Futter-Bestandteile wie Steinchen, Holz oder Anteile der Gummimatten aus der Probe herausgesammelt und separat gewogen. Dieser Anteil wurde schließlich von der Kotmasse [g/uS] subtrahiert. Anschließend wurde auch die lyophilisierte Kotmasse gewogen. Die TS ergibt sich schließlich anhand folgender Formel:

$$TS (Kot) = \left( \frac{\text{Kot (lyophilisiert)} [g]}{\text{Kot (uS)} [g] - \text{Nicht-Futter-Bestandteile [g]}} \right) \times 100$$

Der getrocknete Kot der fünftägigen Bilanzphase wurde dann je Tier zu einer Sammelprobe vereinigt. Anschließend wurde die Sammelprobe in einer Messermühle (Grindomix GM 200, RETSCH GmbH, Deutschland) vermahlen und die Roh Nährstoffe mit Hilfe der Weender-Analyse (siehe 4.5.1.) bestimmt. Die scheinbare Verdaulichkeit (sV) der Roh Nährstoffe wurde anhand der nachfolgenden Formel berechnet:

$$\text{sV} [\%] = \frac{(\text{Menge im Futter [g]}) - (\text{Menge im Kot [g]})}{\text{Menge im Futter [g]}} \times 100\%$$

#### 4.4.1.3. Urin

Der prä- und 2-4 Stunden postprandial spontan abgesetzte Urin wurde mittels einem speziellen Auffangbehältnis (UriCollect, Covetrus GmbH, Deutschland) gesammelt. Es folgte eine Temperierung der Urinproben in einem Wasserbad bei 21 °C, da der pH-Wert sowie das urinspezifische Gewicht (USG) temperaturabhängig sind. Der pH-Wert wurde mittels eines pH-Meters (pH 325-A, WTW, Deutschland) und das USG mit Hilfe eines

Refraktometers (HRM-18, Krüss Optronic GmbH, Deutschland) gemessen. Übriger Urin wurde bis zur weiteren Analytik bei -20 °C gelagert. Für die weitere Analytik wurde der Urin langsam bei Raumtemperatur aufgetaut. Anschließend wurden die Proben auf ihre P-Konzentrationen hin (siehe 4.4.2.) sowie hinsichtlich der Kreatinin-Konzentration (Crea) untersucht. Die Bestimmung von Crea erfolgte mittels einem nasschemischen Verfahren nach Jaffé (MicroVue Creatinine Assay Kit, Quidel Corporation, USA) mit dem Photometer (Sunrise Tecan, TECAN AG, Schweiz). Die Priorität der zu analysierenden Parameter, abhängig vom vorhandenen Probenvolumen, war in absteigender Reihenfolge wie folgt: P, Crea, Ca, Na, K, Mg, Cl. Da es in der vorliegenden Studie aus technischen Gründen nicht möglich war, Urin über 24 Stunden zu sammeln, wurden die P-Konzentrationen in Relation zu den gemessenen Crea-Konzentrationen gesetzt (P/Crea) und die Differenz (Diff.) zwischen dem prä- (prpr) und dem postprandialen (ppr) P/Crea in Prozent berechnet. Dieser Wert diente als Indikator für die Änderung der postprandialen renalen P-Exkretion, im Vergleich zur präprandialen. Die Berechnung der Diff.  $(\frac{P}{Crea})$  [%] erfolgte anhand dieser Formel:

$$Diff. (\frac{P}{Crea}) = \frac{\frac{P [\frac{mmol}{l}]}{Crea [\frac{mmol}{l}]} ppr - \frac{P [\frac{mmol}{l}]}{Crea [\frac{mmol}{l}]} prpr}{\frac{P [\frac{mmol}{l}]}{Crea [\frac{mmol}{l}]} prpr} \times 100\%$$

\*ppr = postprandial, prpr = präprandial.

#### 4.4.1.4. Blut

Am letzten Tag der Bilanzphase (Tag 18 des jeweiligen Versuchsdurchgangs) wurde Blut eine Stunde präprandial (~23 Stunden nach der letzten Futteraufnahme) genommen. Postprandial wurde mit sieben Blutentnahmen eine Zeitspanne von sieben Stunden nach der Fütterung abgedeckt. Die Entnahmen erfolgten hier ½, 1, 1½, 2, 3, 5 und 7 Stunden postprandial. Für alle Blutentnahmen wurde über den gesamten Studienzeitraum die gleiche Reihenfolge der Hunde eingehalten, welche auch der Reihenfolge bei der Fütterung entsprach. Für die Blutentnahmen wurden die Hunde von einem ihnen vertrauten Pfleger gehalten und die Vena cephalica antebrachii wurde manuell ohne Stauschlauch gestaut.

## MATERIAL UND METHODEN

Nach Reinigung der Haut erfolgte die Punktion der Vene mittels einer 20 Gauge Kanüle. Je Blutentnahme wurde jedem Tier ein Volumen von insgesamt 8ml entnommen. Davon wurden 6ml in einem Serumröhrchen für die Analytik von PTH, bALP, CrossLaps sowie der Mengenelemente verwendet. Diese Vollblutproben wurden nach 15-30 Minuten (min.) bei Raumtemperatur bei  $1260 \times g$  (3000 Umdrehungen pro Minute) für 10 min. zentrifugiert (Labofuge A, Heraeus Sepatech, Deutschland). Von dem gewonnenen Serum wurde dann eine definierte Menge, entsprechend der benötigten Menge für die Analytik, mittels einer Mikropipette in ein Eppendorf-Safelock-Cup je Parameter aliquotiert. Außerdem wurden 2ml Vollblut in einem separaten Serumröhrchen entnommen und für die Bestimmung von FGF23 verwendet. Dieses Röhrchen ruhte für zwei Stunden bevor die Probe bei  $560 \times g$  (2000 Umdrehungen pro Minute) für 15 min. zentrifugiert wurde (EBA 280 S, Hettich, Germany). Das gewonnene Serum wurde dann ebenfalls in ein Eppendorf-Safelock-Cup pipettiert und sofort tiefgefroren. Alle Eppendorf-Cups wurden bei  $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  bis zur Analytik gelagert.

Die Hunde wurden von Welpenalter an das Prozedere bei der Blutentnahme gewöhnt (siehe 4.3.), um einen möglichen Einfluss von Stress auf die Probenqualität möglichst zu vermeiden (Leidinger, Herrmann, Thöne-Reineke, Baumgart, & Baumgart, 2017; Roth, 2018; Schapiro, Magden, Reamer, Mareno, & Lambeth, 2018).

Zur Bestimmung von FGF23 im Serum wurde ein ELISA-Kit (KAINOS FGF23 ELISA, KAINOS Laboratories Inc., Japan) verwendet. Hierbei handelt es sich um ein Sandwich-ELISA mit einem mucinen monoklonalen Antikörper gegen das humane FGF23. Der Kit wurde ursprünglich zur Messung von FGF23 beim Menschen entwickelt, ist aber bereits für den Hund validiert worden (Harjes et al., 2017). Zwar wurde bisher kein Referenzbereich für den Hund festgelegt, allerdings haben Harjes et al. (2017) bei gesunden adulten Hunden ( $n = 10$ ) Werte in folgendem Bereich gemessen: 315 (211-449) pg/ml.

Die Proben für die PTH-Analytik wurden auf Trockeneis via Expressversand an das untersuchende Labor (ALOMED Müller GmbH & Co.KG, Deutschland) geschickt. Dort wurde ein direkter luminometrischer Sandwich-Immunoassay (ILMA) zur Bestimmung von intaktem caninen PTH durchgeführt. Dabei werden zwei poliklonale Ziegenantikörper gegen verschiedene Epitope des intakten humanen PTHs verwendet. Der erste Antikörper zielt auf das N-terminale Epitop (1-34) ab und wirkt als Indikator, indem er dieses mit Acridiniumester markiert. Der zweite, festphasengebundene Antikörper ist gegen das C-terminale Epitop (39-84) gerichtet. Für diese Methodik wird vom Labor bei gesunden, adulten Hunden für canines intaktes PTH ein Referenzbereich von 8-45 pg/ml angegeben.

## MATERIAL UND METHODEN

Der Marker für die Aktivität von Osteoklasten, CrossLaps, wurde mittels einem ELISA-Kit für humanes Serum (Serum CrossLaps® (CTX-I) ELISA kit; ids GmbH, Deutschland) gemessen, der bereits für Hunde validiert worden ist. Demnach liegt der Referenzbereich für adulte Hunde bei 0,11-1,83 ng/ml (Belić et al., 2012). Werte, die im eigenen Labor im Rahmen anderer Studien gemessen wurden, lagen bei gesunden adulten Hunden meist im Bereich von 0,1 ng/ml (Schmitt et al., 2018; Schmitt & Dobenecker, 2020).

Der Marker für die Aktivität von Osteoblasten, bALP, wurde mit einem Enzymimmunoassay (MicroVue™ Bone BAP EIA; Quidel®, USA) gemessen, der bereits für den Gebrauch beim Hund validiert wurde. Dieser Assay entspricht der Standardmethode gemäß der „Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie“ und nutzt als Substrat ein P-Nitrophenyl-Phosphat, abgepuffert mit Diethanolamin. Wenn Magnesium und Zink vorliegen, wird das P-Nitrophenyl-Phosphat durch die Phosphatasen in P und P-Nitrophenol gespalten. Der Anteil an hierbei freigesetztem P-Nitrophenol entspricht der Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase und kann photometrisch gemessen werden. Der Referenzbereich für adulte Hunde liegt bei 6,7±3,6 U/L (Allen et al., 2000). Werte, die bei Hunden im Rahmen anderer Studien im eigenen Labor gemessen wurden, waren tendenziell etwas höher, aber in einem ähnlichen Bereich (Schmitt et al., 2018).

Die Konzentrationen von Ca und P in den Serumproben wurde im institutseigenen Labor bestimmt (siehe 4.4.2. für die verwendete Methode).

Für alle bestimmten Serumparameter wurde anschließend die „Area under the curve“ für den Zeitraum von der Fütterung bis sieben Stunden postprandial ( $AUC_{0-7}$ ) mit Hilfe dieser Formel berechnet:

$$\begin{aligned} AUC_{0-7} &= \frac{sValue(t = 0) - sValue(t = 0,5)}{2 \times [(t = 0,5) - (t = 0)]} \\ &+ \frac{sValue(t = 0,5) - sValue(t = 1,0)}{2 \times [(t = 1,0) - (t = 0,5)]} + [...] \\ &+ \frac{sValue(t = 5,0) - sValue(t = 7,0)}{2 \times [(t = 7,0) - (t = 5,0)]} \end{aligned}$$

\* $t$  = Zeitpunkt,  $sValue$  = Serumkonzentration.

### 4.4.2. Bestimmung von Mengenelementen in Kot, Urin, Serum und Futter

Bei den Futter- und Kotproben wurden die jeweiligen Gehalte an Ca, P, Na, K, Mg und Cl bestimmt. Die Serumproben wurden hinsichtlich Ca und P, der Urin lediglich auf P untersucht. Dabei erfolgte die jeweilige Analytik gemäß dem Methodenbuch für die chemische Untersuchung von Futtermitteln (Naumann, & Bassler, 1976).

Hierzu wurden die Futter- und Kotproben in 65 %iger Salpetersäure ( $\text{HNO}_3$ ) mit Hilfe eines Mikrowellensystems (MLS-Ethos 1600, MLS GmbH, Deutschland) nass verascht (Janßen, Matter, Rieß, & Seifert, 2006), um schließlich in der mit Reinstwasser verdünnten Säure, mit der vollständig gelösten Futter- bzw. Kotprobe, die Mengenelementkonzentrationen zu bestimmen.

Die Bestimmung von P erfolgte in allen Proben nach der Vanadat-Molybdat-Methode, modifiziert nach Gericke und Kurmies (Gericke & Kurmies, 1952), bei 366nm im Photometer (Thermo Spectronic, Genesys 10uv, Thermo Fisher Scientific, USA).

Außerdem wurden die Anteile an löslichem P nach einer Minute in  $\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{P}_{\text{sol1}}$ ) gemäß der Methode von Lineva et al. (2018) im Futter und im Kot bestimmt. Anschließend wurde auch für  $\text{P}_{\text{sol1}}$  die sV berechnet (siehe 4.4.1.2.).

Die Messung von Ca, Na und K erfolgte im Flammenphotometer (Eppendorf EFOX 5033, HJG Spezialmesssysteme, Deutschland). Aus den Konzentrationen von P und Ca im Serum wurde dann das Produkt der beiden Mineralstoffe (sCaP) als Indikator für mögliche Weichgewebeverkalkungen berechnet. Die Konzentration von Mg wurde mittels Atomabsorptionsspektrometrie (Perkin Elmer Analyst 800, Thermo Fisher Scientific, USA) ermittelt. In Urin wurde Cl direkt in der Probe mittels Chloridmeter (Slamed Chloridmeter 50  $\mu\text{l}$ , slamed®, Deutschland) bestimmt, während Futter- und Kotproben zu diesem Zweck verdünnt wurden.

### 4.4.3. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte mittels der IBM SPSS 24.0 Software (IBM, Deutschland). Da jeder Hund sowohl den Kontrolldurchgang als auch alle P-Exzess-Durchgänge durchlief, wurden statistische Methoden verwendet, welche die Abhängigkeit der Daten berücksichtigen. Der paarweise Vergleich aller vier Durchgänge für jeden Hund wurde erstellt und mittels visueller Betrachtung der q-q-Plots auf relevante Unterschiede hinsichtlich der Normalverteilung untersucht. Bei Normalverteilung wurden die Daten als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (s) dargestellt. Andernfalls wurden sie als Median

## MATERIAL UND METHODEN

mit dessen Interquartilrange (IQR) angegeben [Schreibweise: Median (25 %/75 %)]. Alle Ergebnisse wurden mit Hilfe einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung (one way RM ANOVA) auf signifikante Unterschiede hin untersucht. Für den paarweisen Vergleich wurde der post-hoc-Test nach Bonferroni durchgeführt. P-Werte  $<0,05$  wurden als signifikant erachtet.

### 5. ERGEBNISSE

#### 5.1. Gesundheitszustand und Allgemeinbefinden der Versuchstiere

##### 5.1.1. Vor Versuchsbeginn

Mittels einer klinischen Allgemeinuntersuchung und einer Kotuntersuchung wurde der Gesundheitszustand aller acht Hunde bereits vor Versuchsbeginn überprüft. Dabei ergab die Kotuntersuchung einen Befall mit Giardien (Koproantigen-Nachweis). Die Versuchstiere wurden daraufhin mit Anthelminthika behandelt. Kurz vor Versuchsbeginn wurde nochmals eine Kotuntersuchung durchgeführt, deren Ergebnis negativ war. Alle Tiere waren gemäß der Impfpflicht der Ständigen Impfkommission Vet für Hunde geimpft.

##### 5.1.2. Während des Versuchs

Hund 1 hatte an einem Tag während der Bilanz, an Tag 16 des Kontroll-Versuchs, einmalig Durchfall, setzte am selben Tag aber auch festen Kot ab. Das Tier war ansonsten bei ungestörtem Allgemeinbefinden und gutem Appetit. Der gleiche Hund zeigte an Tag 10 der Wash-Out-Phase von HPCM eine Hautwunde, aufgrund derer er für sieben Tage zweimal täglich Amoxicillin- Clavulansäure per os (Dosierung: 10 mg/kg KM) erhielt. Die Wunde ist ohne Komplikationen verheilt.

Hund 2 verweigerte an Tag 10 von HPKP sein Futter, hatte an diesem Tag Durchfall und erbrach sich, während das Abdomen angespannt war. Er erhielt einmalig ein Antiemetikum (Maropitant; Dosierung: 1 mg/kg KM subkutan) und zweimalig Buscopan compositum (Dosierung: 50 mg Metamizol-Natrium/kg KM und 0,4 mg N-Butylscopolaminiumbromid/kg KM bzw. 0,1 ml Buscopan compositum/kg KM intramuskulär). Bereits am nächsten Tag fraß der Hund wieder mit Appetit und war klinisch unauffällig. Da Hund 2 somit an einem Tag kein Futter aufgenommen hat, wurde die Versuchsphase bei diesem Tier um einen Tag verlängert und entsprechend einen Tag später mit der Bilanz begonnen.

### 5.2. Körpermassen der Tiere

Die Versuchshunde wurden in der Vorversuchsphase wöchentlich gewogen und mit Hilfe des BCS das Idealgewicht bestimmt (Idealgewicht = BCS 5/9). Tabelle 12 zeigt die Gewichtsentwicklung der Tiere über die Zeit der Versuchsdurchgänge.

**Tabelle 12:** Körpermassen [kg] der Versuchstiere.

Nr.	Hund	Idealgewicht	Versuchsbeginn	Mittelwert für alle Durchgänge*
1	Monty	15,0	15,0	14,7 ± 0,3
2	Neville	14,5	14,5	14,0 ± 0,3
3	Silvester	14,2	14,2	13,9 ± 0,3
4	Elliot	15,0	15,0	14,7 ± 0,2
5	Manni	14,2	14,2	13,9 ± 0,2
6	Franzl	14,5	14,2	13,9 ± 0,1
7	Dori	13,5	13,5	13,0 ± 0,2
8	Hedwig	11,3	11,3	11,0 ± 0,1

\*Angaben in MW±s.

### 5.3. Futteraufnahme

Die verschiedenen Versuchsrationen wurden unterschiedlich gut gefressen. Die Rationen CON sowie HPCM wurden von allen Tieren ohne Probleme angenommen und ohne Verzögerung vollständig gefressen. Bei HPNaP zeigten die Hunde 6 und 7 eine verringerte Akzeptanz mit verlängerter Fressdauer. Das Futter wurde jedoch innerhalb der gewährten Zeit von einer Stunde vollständig aufgenommen. Bei HPKP zeigten die Hunde 2, 6, 7 und 8 deutlich verlängerte Fresszeiten, bis hin zu deutlicher Abneigung gegen das angebotene Futter. Erst als das Futter zu kleinen Bällchen (Durchmesser etwa 4cm) geformt und per Hand angeboten wurde, fraßen die Hunde das Futter vollständig auf, sodass keine Rückwaagen zu verzeichnen waren. In Tabelle 13 sind die TS-Aufnahmen während der jeweiligen Versuchsdurchgänge dargestellt. In Tabelle 14 ist die realisierte Mineralstoffaufnahme im Vergleich zum Bedarf aufgeführt. Angaben zu den



## ERGEBNISSE

aufgenommenen Mengen an Versuchsfutter sowie an Schweineschmalz der Einzeltiere sind im Tabellenanhang zu finden. In Tabelle 15 sind der prozentuale Anteil der Versuchsrationen an P nach einer Minute in H<sub>2</sub>O (P<sub>sol1</sub>) sowie die realisierten aufgenommenen Mengen an P<sub>sol1</sub> in mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d dargestellt.

**Tabelle 13:** Realisierte Aufnahme der umsetzbaren Energie [MJ/kg KM/d] sowie der Trockensubstanzaufnahme [g/kg KM/d].

	<b>ME-Aufnahme*</b>	<b>TS-Aufnahme*</b>
CON (n = 8)	0,3 (0,3/ 0,3) <sup>a</sup>	11 (11/ 12) <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	0,3 (0,3/ 0,4) <sup>a</sup>	14 (13/ 14) <sup>b</sup>
HPNaP (n = 8)	0,3 (0,3/ 0,3) <sup>b</sup>	13 (12/ 13) <sup>c</sup>
HPKP (n = 8)	0,5 (0,4/ 0,5) <sup>c</sup>	17 (16/ 20) <sup>d</sup>

\*Angaben als Median [25%/75%].

## ERGEBNISSE

**Tabelle 14:** Realisierte Mineralstoffaufnahme [mg/kg  $KM^{0,75}/d$ ].

<b>Empfehlung nach</b>	<b>Ca</b>	<b>P</b>	<b>Na</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Cl</b>
<b>NRC (2006)</b>	130	100	26	140	20	40
<b>Aufnahme*</b>	<b>Ca</b>	<b>P</b>	<b>Na</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Cl</b>
CON (n = 8)	132 ± 3 <sup>a</sup>	97 ± 3 <sup>a</sup>	26 ± 1 <sup>a</sup>	141 ± 3 <sup>a,c</sup>	12 ± 1 <sup>a **</sup>	163 ± 4 <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	944 ± 18 <sup>b</sup>	495 ± 10 <sup>b</sup>	55 ± 1 <sup>b,c</sup>	151 ± 3 <sup>b,c</sup>	30 ± 1 <sup>b</sup>	67 ± 2 <sup>b,c</sup>
HPNaP (n = 8)	644 ± 9 <sup>a,c</sup>	466 ± 7 <sup>b,c</sup>	313 ± 5 <sup>b</sup>	134 ± 2 <sup>a</sup>	31 ± 1 <sup>c</sup>	124 ± 4 <sup>a,c</sup>
HPKP (n = 8)	681 ± 11 <sup>b,c</sup>	494 ± 12 <sup>b</sup>	31 ± 1 <sup>a,c</sup>	558 ± 9 <sup>b</sup>	25 ± 1 <sup>d</sup>	44 ± 1 <sup>b</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant (p<0,05).

\*\*Mindestbedarf nach NRC (2006) für adulte Hunde: 5,9 mg Mg/kg  $KM^{0,75}/d$ .

**Tabelle 15:** Prozentuale Anteile an  $P_{sol1}$  der Versuchsrationen [%] sowie die realisierte Aufnahme an  $P_{sol1}$  [mg/kg  $KM^{0,75}/d$ ].

	<b>Gehalt an <math>P_{sol1}</math> der Versuchsration</b>	<b>Realisierte Aufnahme an <math>P_{sol1}</math></b>
CON (n = 8)	12 <sup>a,c</sup>	15 ± 1 <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	4 <sup>a</sup>	21 ± 1 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 8)	56 <sup>b</sup>	282 ± 13 <sup>b</sup>
HPKP (n = 8)	33 <sup>b,c</sup>	169 ± 12 <sup>c</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant (p<0,05).

#### 5.4. Wasseraufnahme

Die Bestimmung der Trinkwasseraufnahme war aus technischen Gründen nicht möglich. Die Versuchstiere zeigten jedoch subjektiv ein vermehrtes Trinkverhalten während des Versuches HPNaP.

#### 5.5. Urinabsatz

Aus technischen Gründen konnte der Urinabsatz innerhalb von 24 Stunden nicht bestimmt werden. Es wurde nur präprandial und einmal etwa 2-4 Stunden postprandial jeweils der spontan abgesetzte Harn mittels geeignetem Urinauffangbecher gesammelt.

#### 5.6. Kotabsatz

Die abgesetzte Kotmenge stieg bei P-Exzess im Vergleich zu CON signifikant an (Tabelle 16). Die Kotabsatzmenge war numerisch in dem Versuchsdurchgang mit der organischen P-Quelle (HPCM) am höchsten, wobei sie sich nicht signifikant zu HPKP unterschied. Die aus anderen Komponenten bestehende Ration HPCM ist nur bedingt mit den anderen Rationen vergleichbar (Geflügelfleischkarkassenmehl/Reis in HPCM versus Pansen/Reis/Casein in CON, HPNaP und HPKP).

**Tabelle 16:** Kotabsatzmenge [g/kg  $KM^{0,75}/d$ ].

Durchgang	Kotmenge in uS*	Kotmenge in TS*
CON (n = 8)	7 ± 4 <sup>a</sup>	2 ± 1 <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	16 ± 5 <sup>b</sup>	6 ± 2 <sup>b</sup>
HPNaP (n = 8)	11 ± 5 <sup>c</sup>	4 ± 2 <sup>c</sup>
HPKP (n = 8)	15 ± 8 <sup>b</sup>	6 ± 3 <sup>b,c</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant voneinander (p<0,05).

5.7. Scheinbare Verdaulichkeiten

5.7.1. Scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz

Die Verdaulichkeit der TS war in den HP-Rationen signifikant niedriger als in der CON-Ration. Dabei wies HPCM die niedrigste Verdaulichkeit der TS auf (Tabelle 17).

**Tabelle 17:** Scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz [%].

Durchgang	sV TS*
CON (n = 8)	91 ± 3 <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	78 ± 2 <sup>b</sup>
HPNaP (n = 8)	82 ± 3 <sup>c</sup>
HPKP (n = 8)	84 ± 4 <sup>c</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant (p<0,05).

5.7.2. Scheinbare Verdaulichkeit der organischen Substanz

Die scheinbare Verdaulichkeit der organischen Substanz (oS) war bei Fütterung der Ration CON am höchsten, während sie bei Ration HPCM am niedrigsten war (Tabelle 18).

**Tabelle 18:** Scheinbare Verdaulichkeit der organischen Substanz [%].

Durchgang	sV oS*
CON (n = 8)	94 (91/ 95) <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	84 (82/ 88) <sup>b</sup>
HPNaP (n = 8)	89 (86/ 91) <sup>c</sup>
HPKP (n = 8)	90 (88/ 92) <sup>c</sup>

\*Angaben als Median [25%/75%]; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant (p<0,05).

## ERGEBNISSE

### 5.7.3. Scheinbare Verdaulichkeit von Phosphat

Die scheinbare Verdaulichkeit von P (sV P) war in CON, HPNaP sowie HPKP sehr ähnlich und signifikant höher als bei HPCM (Tabelle 19).

**Tabelle 19:** Scheinbare Verdaulichkeit von Phosphat [%].

Durchgang	sV P*
CON (n = 8)	52 ± 9 <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	26 ± 5 <sup>b</sup>
HPNaP (n = 8)	53 ± 9 <sup>a</sup>
HPKP (n = 8)	48 ± 5 <sup>a</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant (p<0,05).

Tabelle 20 zeigt, dass die Ration mit NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> die numerisch höchste sV für den in Wasser hochlöslichen Anteil von P hatte, und sich signifikant von CON sowie der Ration mit P-Exzess aus organischen P-Quellen unterschied.

**Tabelle 20:** Scheinbare Verdaulichkeit von  $P_{sol1}$  [%] bzw. die scheinbar verdaute Menge von  $P_{sol1}$  [mg/kg<sup>0,75</sup> KM].

Durchgang	sV $P_{sol1}$ *	scheinbar verdaute Menge $P_{sol1}$ *
CON (n = 8)	86 ± 6 <sup>a</sup>	13 ± 1 <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	92 ± 2 <sup>a,c</sup>	20 ± 1 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 8)	99 ± 0 <sup>b</sup>	279 ± 14 <sup>b</sup>
HPKP (n = 8)	97 ± 1 <sup>b,c</sup>	163 ± 13 <sup>c</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant (p<0,05).

## ERGEBNISSE

### 5.7.4. Scheinbare Verdaulichkeit von Calcium

Die scheinbare Verdaulichkeit von Ca war nur bei Ration CON negativ, unterschied sich jedoch aufgrund der großen Standardabweichung nicht von den anderen Rationen (Tabelle 21). Lediglich die Ration HPCM hatte eine signifikant höhere sV Ca als HPKP.

**Tabelle 21:** Scheinbare Verdaulichkeit von Calcium [%].

Durchgang	sV Ca*
CON (n = 8)	-15 ± 26 <sup>a,b</sup>
HPCM (n = 8)	16 ± 6 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 8)	6 ± 15 <sup>a,b</sup>
HPKP (n = 8)	0 ± 12 <sup>b</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant (p<0,05).

### 5.7.5. Scheinbare Verdaulichkeit von Natrium und Kalium

Die Gehalte der Mengenelemente Natrium und Kalium im Kot lagen für alle Versuchsdurchgänge unterhalb der Nachweisgrenzen. Die Nachweisgrenze der hier angewandten Methoden beträgt 4,6 g/kg TS für Na und 3,9 g/kg TS für K. Aus diesem Grund kann für diese beiden Mengenelemente zwar keine sV berechnet werden, es kann jedoch angenommen werden, dass diese bei etwa 100 % liegt.

## ERGEBNISSE

### 5.7.6. Scheinbare Verdaulichkeit von Magnesium

Die Rationen CON, HPCM und HPNaP unterschieden sich nicht hinsichtlich ihrer scheinbaren Verdaulichkeit von Mg, ebenso wiesen CON, HPNaP und HPKP keinen signifikanten Unterschied auf (Tabelle 22). HPCM und HPKP unterschieden sich signifikant voneinander in Bezug auf ihre sV Mg.

**Tabelle 22:** Scheinbare Verdaulichkeit von Magnesium [%].

Durchgang	sV Mg*
CON (n = 8)	16 ± 20 <sup>a,b</sup>
HPCM (n = 8)	23 ± 8 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 8)	17 ± 13 <sup>a,b</sup>
HPKP (n = 8)	3 ± 10 <sup>b</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant (p<0,05).

### 5.8. Urinuntersuchungen

#### 5.8.1. pH-Wert des Urins

Die Messung der präprandialen pH-Werte im Urin zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsrationen (Tabelle 23). Bei den postprandialen Messungen ergab die Fütterung der Ration HPCM einen signifikant niedrigeren Harn-pH-Wert.

**Tabelle 23:** Prä- sowie postprandial gemessene pH-Werte im Harn.

Durchgang	pH präprandial*	pH postprandial*
CON	6,3 ± 1,0 <sup>a</sup> (n = 29)	8,1 ± 0,9 <sup>a</sup> (n = 38)
HPCM	5,8 ± 0,2 <sup>a</sup> (n = 31)	6,4 ± 0,7 <sup>b</sup> (n = 33)
HPNaP	6,1 ± 0,6 <sup>a</sup> (n = 30)	7,9 ± 0,7 <sup>a</sup> (n = 38)
HPKP	6,0 ± 0,6 <sup>a</sup> (n = 30)	8,1 ± 0,5 <sup>a</sup> (n = 31)

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant (p<0,05).

## ERGEBNISSE

### 5.8.2. Spezifisches Uringewicht

Die Messung des präprandial gemessenen USG ergab keinen Unterschied zwischen den Rationen CON und HPCM (Tabelle 24). Ebenso unterschied sich HPCM nicht von den anderen beiden HP-Rationen. HPNaP und HPKP wiesen jedoch signifikant niedrigere Messwerte als CON auf. Die postprandialen Messungen zeigten keinen signifikanten Unterschied zwischen den vier verwendeten Versuchsrationen.

**Tabelle 24:** Prä- sowie postprandial gemessenes Urinspezifisches Gewicht [mg/ml].

Durchgang	USG präprandial*	USG postprandial*
CON	1040 ± 9 <sup>a</sup> (n = 29)	1036 ± 13 <sup>a</sup> (n = 38)
HPCM	1037 ± 11 <sup>a,b</sup> (n = 31)	1030 ± 11 <sup>a</sup> (n = 33)
HPNaP	1027 ± 7 <sup>b</sup> (n = 30)	1029 ± 6 <sup>a</sup> (n = 38)
HPKP	1030 ± 5 <sup>b</sup> (n = 30)	1027 ± 5 <sup>a</sup> (n = 31)

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant voneinander (p<0,05).



5.8.3. Relative Differenz zwischen dem prä- und postprandialen Phosphat/Kreatinin-Verhältnis im Harn

Zur Quantifizierung der renalen P-Ausscheidung wurde die Steigerung der postprandialen renalen P-Exkretion im Verhältnis zur Kreatinin-Exkretion im Vergleich zum präprandialen Phosphat/Kreatinin-Verhältnis in Prozent bestimmt. Diese relative Differenz zwischen dem prä- und postprandialen Phosphat/Kreatinin-Verhältnis im Urin ergab die niedrigsten Werte, also den geringsten Unterschied zwischen prä- und postprandialer P-Konzentration im Verhältnis zum Kreatinin, für CON und HPCM. Sowohl HPNaP als auch HPKP ergaben postprandial signifikant höhere Relationen, wobei HPNaP die größte postprandiale Steigerung der P-Ausscheidung aufwies (Tabelle 25).

**Tabelle 25:** Im Harn gemessene Diff.  $(\frac{P}{Crea})$  [%].

Durchgang	Diff. $(\frac{P}{Crea})^*$
CON (n = 6)	-55 ± 23 <sup>a</sup>
HPCM (n = 6)	-77 ± 23 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 8)	389 ± 234 <sup>b</sup>
HPKP (n = 7)	205 ± 102 <sup>c</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant (p<0,05).

5.9. Blutuntersuchungen

5.9.1. FGF23-Konzentration im Serum

Bereits präprandial zeigten sich im Vergleich der Rationen deutliche Effekte auf die Serumkonzentrationen von FGF23 mit signifikant höheren Konzentrationen etwa 23 Stunden nach der Aufnahme eines P-Exzesses aus Pi-Quellen (Tabelle 26, Abb. 3). Auch postprandial ergab die Fütterung von HPNaP und HPKP zu mehreren Zeitpunkten signifikant höhere FGF23-Konzentrationen als HPCM und CON. Die höchsten Werte waren nach Verfütterung der Ration HPKP zu verzeichnen. Die Zufuhr eines P-Exzesses aus organischen Quellen (HPCM) erzielte dagegen im Vergleich zu CON zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede in der FGF23-Serumkonzentration (Abb. 3).

## ERGEBNISSE

**Tabelle 26:** FGF23- Konzentrationen im Serum präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten, bis sieben Stunden postprandial [pg/ml].

FGF23*	0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	5,0	7,0
	[h]							
CON (n = 47)	367 ± 115 <sup>a</sup>	267 ± 29 <sup>a</sup>	238 ± 40 <sup>a</sup>	308 ± 145 <sup>a</sup>	274 ± 130 <sup>a</sup>	211 ± 106 <sup>a</sup>	258 ± 104 <sup>a</sup>	299 ± 100 <sup>a</sup>
HPCM (n = 33)	296 ± 158 <sup>a</sup>	359 ± 98 <sup>a,b</sup>	275 ± 49 <sup>a,b</sup>	282 ± 108 <sup>a</sup>	284 ± 71 <sup>a</sup>	288 ± 69 <sup>a,c</sup>	266 ± 70 <sup>a</sup>	280 ± 72 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 42)	760 ± 233 <sup>b</sup>	662 ± 167 <sup>a,b</sup>	700 ± 255 <sup>a,b</sup>	760 ± 163 <sup>a,b</sup>	550 ± 189 <sup>a,b</sup>	683 ± 213 <sup>b,c</sup>	532 ± 193 <sup>b</sup>	575 ± 175 <sup>b</sup>
HPKP (n = 64)	982 ± 388 <sup>b</sup>	1060 ± 487 <sup>b</sup>	1003 ± 435 <sup>b</sup>	969 ± 450 <sup>b</sup>	875 ± 332 <sup>b</sup>	789 ± 297 <sup>b</sup>	735 ± 242 <sup>c</sup>	793 ± 297 <sup>b</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander (p<0,05). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt laut Harjes et al. (2017) bei: 315 (211- 449) pg/ml.

## ERGEBNISSE

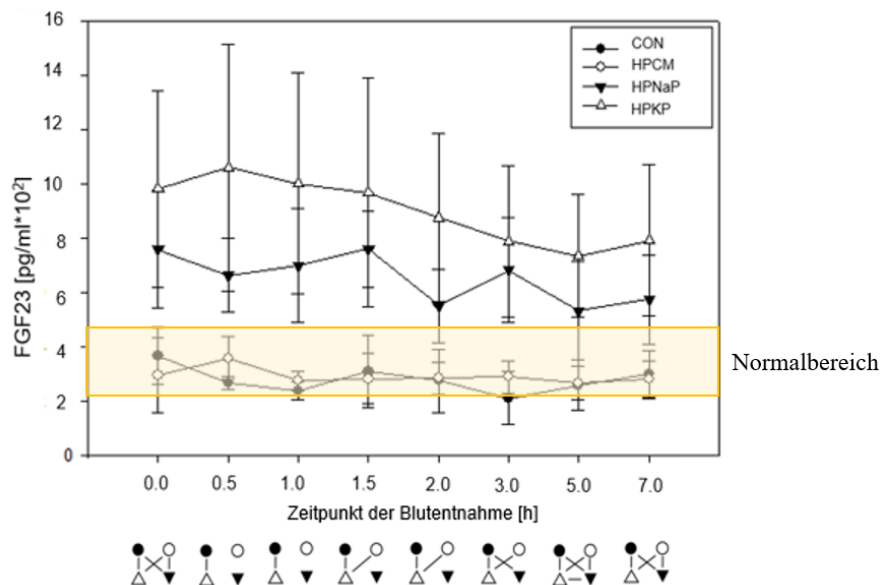
Die Berechnung der  $AUC_{0-7}$  für FGF23 zeigte die signifikant höchste Fläche unter der Kurve für HPKP (Tabelle 27; Abb. 4). Die Rationen CON, HPCM und HPNaP unterschieden sich nicht signifikant voneinander, obwohl die Ration mit Pi-Zusatz eine deutlich höhere FGF23 Konzentration zur Folge hatte ( $p=0,07$ ).

**Tabelle 27:** Die  $AUC_{0-7}$  der FGF23-Konzentrationen im Serum [ $pg/ml \cdot t$ ].

Durchgang	$AUC_{0-7}$ (FGF23)*
CON (n = 8)	$1523 \pm 429^a$
HPCM (n = 8)	$1314 \pm 734^a$
HPNaP (n = 8)	$3146 \pm 1331^a$
HPKP (n = 8)	$5863 \pm 2209^b$

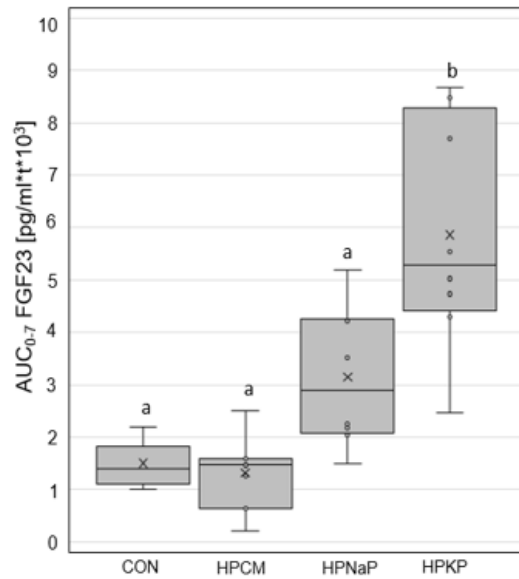
\*Angaben in  $MW \pm s$ ; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ).

Abbildung 3 stellt die Kinetik von FGF23 über den gemessenen Zeitraum dar. Abbildung 4 zeigt dagegen die  $AUC_{0-7}$  für FGF23.



**Abbildung 3:** Die Kinetik von FGF23 von Zeitpunkt Null bis sieben Stunden postprandial [ $pg/ml$ ].  $\bullet$   $\circ$   $\triangle$   $\blacktriangledown$ : Miteinander verbundene Symbole unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt laut Harjes et al. (2017) bei: 315 (211- 449)  $pg/ml$ .

## ERGEBNISSE



**Abbildung 4:** Die AUC<sub>0-7</sub> von FGF23 [pg/ml\*t\*10<sup>3</sup>]. Boxplots, welche nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ).

### 5.9.2. Parathormon-Konzentration im Serum

Die Bestimmung der Serumkonzentrationen eines zweiten Phosphatonins, PTH (Tabelle 28, Abb. 5), ergab vergleichbare Werte zum Zeitpunkt Null. Bereits 30 Minuten nach der Futteraufnahme stiegen die PTH-Werte nach Verfütterung von Rationen mit Pi-Quellen im Mittel deutlich an, wobei die Unterschiede zunächst nur bei HPNaP signifikant waren. Nach drei Stunden wurden die postprandialen Höchstwerte verzeichnet, wobei auch nach sieben Stunden nicht überall die präprandialen Serumwerte wieder erreicht waren.

Die Berechnung der AUC<sub>0-7</sub> (Tabelle 29; Abb. 6) ergab keinen Unterschied zwischen CON und HPCM. Beide Rationen mit anorganischem P ergaben signifikant höhere PTH-Werte, wobei die Verwendung von KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (HPKP) die höchsten Werte zur Folge hatte und sich dadurch von allen anderen Rationen signifikant unterschied.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 28:** PTH- Konzentrationen im Serum präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten, bis sieben Stunden postprandial [ng/l].

PTH*	0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	5,0	7,0
	[h]							
CON (n = 64)	68 ± 24 <sup>a</sup>	56 ± 16 <sup>a</sup>	62 ± 17 <sup>a</sup>	76 ± 30 <sup>a</sup>	77 ± 31 <sup>a</sup>	84 ± 35 <sup>a</sup>	85 ± 35 <sup>a</sup>	82 ± 33 <sup>a</sup>
HPCM (n = 64)	68 ± 37 <sup>a</sup>	65 ± 23 <sup>a</sup>	84 ± 43 <sup>a</sup>	111 ± 73 <sup>a</sup>	90 ± 39 <sup>a</sup>	61 ± 24 <sup>a</sup>	88 ± 43 <sup>a</sup>	52 ± 11 <sup>a,b</sup>
HPNaP (n = 64)	55 ± 34 <sup>a</sup>	120 ± 49 <sup>b</sup>	174 ± 86 <sup>b</sup>	237 ± 92 <sup>b</sup>	241 ± 80 <sup>b</sup>	289 ± 125 <sup>b</sup>	164 ± 121 <sup>a,b</sup>	50 ± 27 <sup>b</sup>
HPKP (n = 64)	81 ± 38 <sup>a</sup>	230 ± 152 <sup>a,b</sup>	258 ± 164 <sup>a,b</sup>	339 ± 252 <sup>a,b</sup>	348 ± 171 <sup>b</sup>	391 ± 197 <sup>b</sup>	291 ± 154 <sup>b</sup>	192 ± 131 <sup>a,b</sup>

\* Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander (p<0,05). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt bei 8-45 ng/l (ALOMED Laboratories).

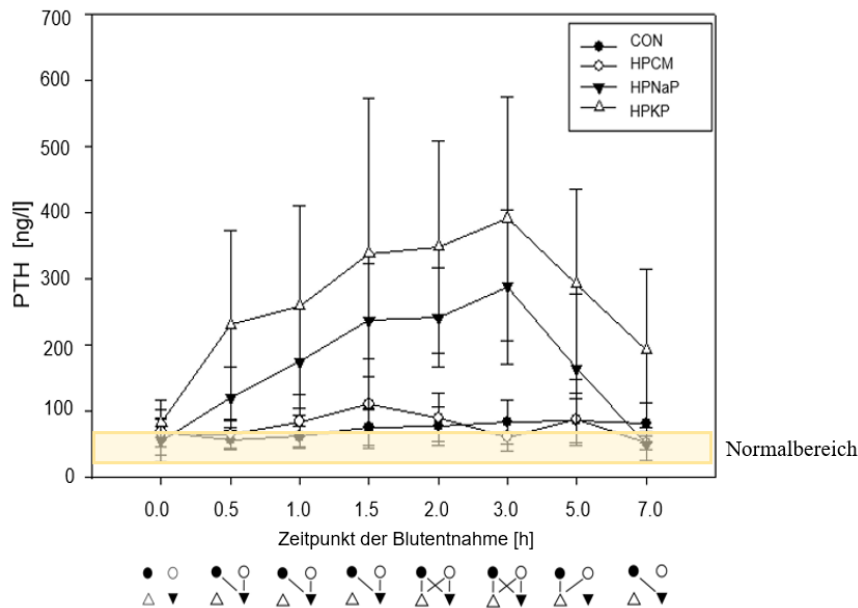
**Tabelle 29:** Die AUC<sub>0-7</sub> der PTH-Konzentrationen im Serum [ng/l\*t].

Durchgang	AUC <sub>0-7</sub> (PTH)*
CON (n = 8)	550 ± 158 <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	533 ± 166 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 8)	1271 ± 570 <sup>b</sup>
HPKP (n = 8)	2056 ± 1032 <sup>c</sup>

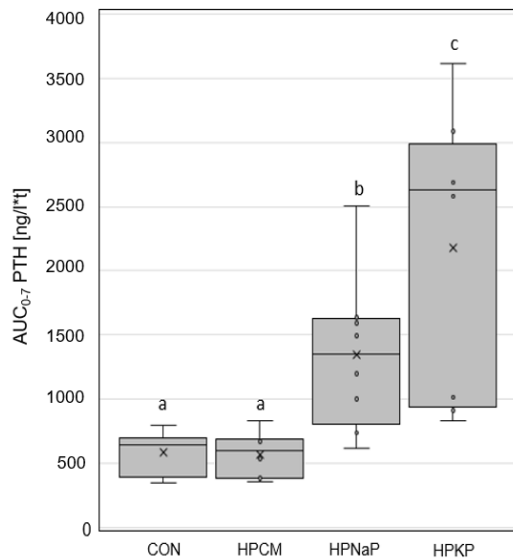
\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant voneinander (p<0,05).

## ERGEBNISSE

Abbildung 5 stellt die Kinetik der PTH-Konzentrationen über den gemessenen Zeitraum dar, während die Abbildung 6 die  $AUC_{0-7}$  für PTH wiedergibt.



**Abbildung 5:** Die Kinetik von PTH von Zeitpunkt Null bis sieben Stunden postprandial [ng/l].  $\bullet$   $\circ$   $\triangle$   $\blacktriangledown$ : Miteinander verbundene Symbole unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt bei 8-45 ng/l (ALOMED Laboratories).



**Abbildung 6:** Die  $AUC_{0-7}$  von PTH [ng/l\*t]. Boxplots, welche nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ).

### 5.9.3. CrossLaps-Konzentrationen im Serum

Die Messung des katabolen Knochenmarkers CrossLaps im Serum (Tabelle 30) ergab präprandial keinen Unterschied zwischen den verwendeten Rationen. Postprandial führte die Verfütterung von HPKP zu durchgehend signifikant höheren Serumkonzentrationen des Knochenabbaumarkers als nach Verfütterung der Kontrolle bzw. eines P-Exzesses durch eine organische Quelle (HPCM). Für HPNaP trifft dies nur drei sowie fünf Stunden postprandial zu. Bei beiden Rationen mit Pi-Exzess waren die präprandialen Ausgangswerte auch sieben Stunden nach der Fütterung noch nicht wieder erreicht.

Die Berechnung der  $AUC_{0-7}$  der CrossLaps (Tabelle 31) verdeutlichte diesen Effekt der P Quellen. Zwischen CON und HPCM bestand kein Unterschied. Beide Rationen mit anorganischem P zeigten dagegen signifikant höhere Werte, wobei die Verwendung von  $KH_2PO_4$  (HPKP) die höchsten Konzentrationen des Knochenabbaumarkers ergab und sich dadurch von allen anderen Rationen signifikant unterschied.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 30:** *CrossLaps- Konzentrationen im Serum (CrossLaps) präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten bis sieben Stunden postprandial [ng/ml].*

CrossLaps*	0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	5,0	7,0
	[h]							
CON (n = 62)	0,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,3 ± 0,2 <sup>a,b</sup>	0,3 ± 0,1 <sup>a,b</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>
HPCM (n = 64)	0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>a,b</sup>	0,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>	0,1 ± 0,1 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 64)	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>b,c</sup>	0,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,2 <sup>b,c</sup>	0,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,6 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,6 ± 0,4 <sup>a,b</sup>
HPKP (n = 64)	0,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,1 <sup>c</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>c</sup>	0,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,5 ± 0,1 <sup>c</sup>	1,1 ± 0,3 <sup>c</sup>	1,1 ± 0,2 <sup>c</sup>	0,9 ± 0,4 <sup>b</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander (p<0,05). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt bei: 0,11-1,83 ng/ml (Belić et al., 2012).

**Tabelle 31:** *Die AUC<sub>0-7</sub> der CrossLaps-Konzentrationen im Serum [ng/ml\*t].*

Durchgang	AUC <sub>0-7</sub> (CrossLaps)*
CON (n = 8)	1,5 ± 0,6 <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	1,4 ± 0,2 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 8)	3,9 ± 1,1 <sup>b</sup>
HPKP (n = 8)	6,2 ± 1,4 <sup>c</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant voneinander (p<0,05).



### 5.9.4. bALP-Konzentration im Serum

Die gemessenen Werte der bALP-Konzentration (Tabelle 32), einem anabolen Knochenmarker, zeigte keinen Unterschied zwischen den verschiedenen Rationen vor sowie eine halbe Stunde nach der Fütterung. HPNaP und HPKP führten zu allen Zeitpunkten zu höheren Konzentrationen, die sich statistisch aber nur punktuell absichern ließen. Dies zeigte sich auch an den unterschiedlichen  $AUC_{0-7}$  für bALP (Tabelle 33), die numerisch höhere Werte für die Pi Quellen zeigen. Aufgrund der hohen Variation war dies nur zwischen HPCM und HPNaP statistisch abzusichern.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 32:** Die bALP- Konzentrationen im Serum präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten bis sieben Stunden postprandial [U/l].

bALP*	0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	5,0	7,0
	[h]							
CON (n = 62)	9 ± 2 <sup>a</sup>	8 ± 2 <sup>a</sup>	8 ± 2 <sup>a</sup>	8 ± 2 <sup>a</sup>	8 ± 2 <sup>a</sup>	9 ± 2 <sup>a,b</sup>	8 ± 2 <sup>a</sup>	8 ± 2 <sup>a</sup>
HPCM (n = 64)	8 ± 2 <sup>a</sup>	7 ± 2 <sup>a</sup>	7 ± 1 <sup>a,b</sup>	7 ± 1 <sup>a,c</sup>	7 ± 1 <sup>a</sup>	7 ± 2 <sup>a</sup>	6 ± 2 <sup>a</sup>	7 ± 1 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 60)	12 ± 4 <sup>a</sup>	10 ± 4 <sup>a</sup>	11 ± 4 <sup>a,b</sup>	11 ± 4 <sup>b</sup>	11 ± 4 <sup>a</sup>	11 ± 5 <sup>a,b</sup>	11 ± 5 <sup>a</sup>	11 ± 4 <sup>a</sup>
HPKP (n = 64)	14 ± 6 <sup>a</sup>	13 ± 6 <sup>a</sup>	14 ± 6 <sup>b</sup>	13 ± 5 <sup>b,c</sup>	14 ± 5 <sup>a</sup>	14 ± 6 <sup>b</sup>	12 ± 5 <sup>a</sup>	13 ± 5 <sup>a</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander (p<0,05). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt bei: 7,0±2,5 U/L (2- 3 Jahre alt); 6,7±3,6 U/L (3- 7 Jahre alt; (Allen, Allen, Breur, Hoffmann, & Richardson, 2000)).

**Tabelle 33:** Die AUC<sub>0-7</sub> der bALP-Konzentrationen im Serum [U/l\*t].

Durchgang	AUC <sub>0-7</sub> (bALP)*
CON (n = 8)	55 ± 12 <sup>a,b</sup>
HPCM (n = 8)	47 ± 10 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 8)	79 ± 31 <sup>b</sup>
HPKP (n = 8)	92 ± 37 <sup>a,b</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant voneinander (p<0,05).



## ERGEBNISSE

**Tabelle 34:** Phosphat- Konzentrationen im Serum (sP) präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten bis sieben Stunden postprandial [mmol/l].

sP*	0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	5,0	7,0
	[h]							
CON (n = 63)	0,8 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,5 ± 0,2 <sup>a</sup>
HPCM (n = 64)	1,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,8 ± 0,2 <sup>b</sup>
HPNaP (n = 58)	0,8 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,8 <sup>a</sup>	2,2 ± 0,3 <sup>b</sup>	2,4 ± 0,3 <sup>b</sup>	1,9 ± 1,2 <sup>a</sup>	3,2 ± 0,5 <sup>b</sup>	2,5 ± 0,6 <sup>b</sup>	1,9 ± 0,1 <sup>b</sup>
HPKP (n = 58)	1,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,3 <sup>b</sup>	2,5 ± 0,7 <sup>b</sup>	3,0 ± 0,5 <sup>b</sup>	3,9 ± 0,7 <sup>b</sup>	3,6 ± 0,6 <sup>c</sup>	2,9 ± 0,8 <sup>b</sup>

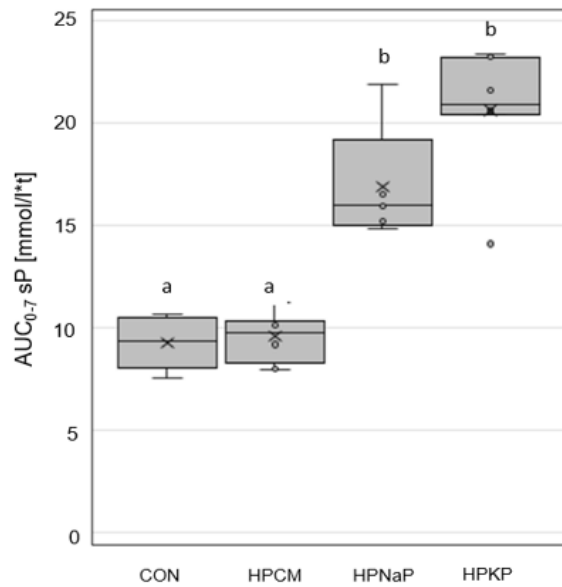
\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander (p<0,05). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt bei: 0,7 – 1,6 mmol/l (Moritz, 2013).

## ERGEBNISSE

**Tabelle 35:** Die  $AUC_{0-7}$  der Phosphat-Konzentrationen im Serum (sP) [mmol/l\*t].

Durchgang	$AUC_{0-7}$ (sP)*
CON (n = 8)	$9 \pm 1^a$
HPCM (n = 8)	$10 \pm 1^a$
HPNaP (n = 8)	$17 \pm 3^b$
HPKP (n = 8)	$21 \pm 3^c$

\*Angaben in  $MW \pm s$ ; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ).



**Abbildung 8:** Die  $AUC_{0-7}$  von sP [mmol/l\*t]. Boxplots, welche nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p < 0,05$ ).

### 5.9.6. Calciumkonzentration im Serum

Die sCa-Konzentrationen (Tabelle 36) wiesen für die Messzeitpunkte präprandial keinen Unterschied zwischen den verschiedenen Rationen auf. Auch postprandial führte die Fütterung der HP-Rationen punktuell (1 ½ sowie 3 Stunden postprandial) zu geringen und vorübergehenden, aber signifikanten Erhöhungen der sCa-Spiegel.

Die errechnete  $AUC_{0-7}$  für sCa (Tabelle 37) ergab einen signifikant höheren Wert für HPCM als für HPNaP, während sich beide weder von CON noch von HPKP unterschieden.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 36:** Calcium- Konzentrationen im Serum (sCa) präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten bis sieben Stunden postprandial [mmol/l].

sCa*	0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	5,0	7,0
	[h]							
CON (n = 58)	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,1 <sup>a,b</sup>	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,1 <sup>a,b</sup>	2,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,1 <sup>a</sup>
HPCM (n = 64)	2,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,1 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 58)	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,1 <sup>a</sup>
HPKP (n = 61)	2,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,2 <sup>a,b</sup>	2,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,2 <sup>a</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander (p<0,05). Der Normalbereich für gesunde adulte Hunde liegt bei: 2,3 – 3,0 mmol/l (Moritz, 2013).

**Tabelle 37:** Die AUC<sub>0-7</sub> der Calcium-Konzentrationen im Serum (sCa) [mmol/l\*t].

Durchgang	AUC <sub>0-7</sub> (sCa)*
CON (n = 8)	17 ± 2 <sup>a,b</sup>
HPCM (n = 8)	18 ± 1 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 8)	16 ± 1 <sup>b</sup>
HPKP (n = 8)	18 ± 3 <sup>a,b</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant voneinander (p<0,05).

#### 5.9.7. Calcium x Phosphatprodukt im Serum

Aus den Serumkonzentrationen für P und Ca wurde das sCaP als Marker für die Wahrscheinlichkeit einer Weichgewebeverkalkung berechnet. Werte  $>55 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$  dienen als Indikator für die Verkalkung von Weichteilgewebe (Tabelle 38). Das sCaP zeigte bei den präprandialen Werten signifikante Unterschiede zwischen den HP-Rationen, wobei sich keine von CON unterschied. Bei HPCM und HPKP ergaben sich höhere Werte als HPNaP. Für beinahe den gesamten postprandialen Untersuchungszeitraum führte die Aufnahme der Rationen mit einem P-Exzess aus anorganischen Quellen (HPNaP, HPKP) zu einem starken Anstieg des sCaP. So lag der Messwerte für HPKP drei Stunden nach der Fütterung über dem dreifachen des Wertes der Kontrollration sowie der Ration mit organischem P-Exzess (HPCM). Beide HP-Rationen mit anorganischen Phosphaten überschritten die genannte Obergrenze von  $55 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$  bereits eine Stunde nach der Futteraufnahme und lagen auch sieben Stunden postprandial noch deutlich darüber. HPCM erzielte erst fünf Stunden nach der Fütterung Werte über  $55 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$ , CON zu keinem Zeitpunkt. Insgesamt liegen 2 % aller Messwerte bei CON über dem Grenzwert von  $55 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$ , wobei diese erst nach 7 Stunden auftreten. Bei HPCM sind es 11 %, diese liegen bei den letzten beiden Mess-Zeitpunkten. Bei der Fütterung von Pi erreichten bei beiden Rationen (HPNaP, HPKP) mehr als 70 % Werte oberhalb des Grenzwertes, wobei nur Werte vor sowie eine halbe Stunde nach der Fütterung hier unterhalb lagen.

Die Angabe der AUCs zeigt diesen Effekt der Pi-Aufnahme anschaulich. Das sCaP steigt bei beiden Pi-Quellen, besonders aber HPKP, an, während ein Exzess mit organischen Phosphaten nicht zu einer Erhöhung führt. Die  $\text{AUC}_{0-7}$  für den Parameter sCaP (Tabelle 39) ergab keinen Unterschied zwischen CON und der HP-Ration mit P aus rein organischem Ursprung. HPNaP und HPKP erzielten signifikant höhere Werte, wobei die Werte nach Fütterung der Ration HPKP die größte AUC ergaben.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 38:** Calcium x Phosphat Produkt im Serum (sCaP) präprandial und zu sieben verschiedenen Zeitpunkten bis sieben Stunden postprandial [ $\text{mg}^2/\text{dl}^2$ ].

sCaP*	0	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	5,0	7,0
	[h]							
CON (n = 58)	29,0 ± 4 <sup>a,b</sup>	47,4 ± 38 <sup>a,b</sup>	36,7 ± 6 <sup>a</sup>	36,7 ± 6 <sup>a</sup>	39,1 ± 8 <sup>a</sup>	44,9 ± 6 <sup>a</sup>	43,5 ± 7 <sup>a</sup>	50,1 ± 9 <sup>a</sup>
HPCM (n = 64)	31,3 ± 7 <sup>a</sup>	29,0 ± 8 <sup>a</sup>	32,3 ± 8 <sup>a</sup>	33,9 ± 10 <sup>a</sup>	34,1 ± 10 <sup>a</sup>	41,4 ± 8 <sup>a</sup>	56,5 ± 7 <sup>a</sup>	58,3 ± 7 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 58)	24,0 ± 5 <sup>b</sup>	47,8 ± 12 <sup>b</sup>	69,7 ± 11 <sup>b</sup>	75,8 ± 8 <sup>b</sup>	78,2 ± 7 <sup>b</sup>	94,5 ± 13 <sup>b</sup>	76,1 ± 11 <sup>b</sup>	60,9 ± 4 <sup>a</sup>
HPKP (n = 58)	30,4 ± 5 <sup>a</sup>	49,6 ± 9 <sup>b</sup>	74,4 ± 13 <sup>b</sup>	85,1 ± 22 <sup>b</sup>	98,9 ± 19 <sup>b</sup>	130,6 ± 30 <sup>c</sup>	115,9 ± 12 <sup>c</sup>	88,9 ± 20 <sup>b</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich zum entsprechenden Zeitpunkt signifikant voneinander (p<0,05). Die empfohlene Obergrenze für gesunde adulte Hunde liegt bei: 55  $\text{mg}^2/\text{dl}^2$  (Block et al., 1998).

**Tabelle 39:** Die AUC<sub>0-7</sub> des Calcium x Phosphatproduktes im Serum (sCaP) [ $\text{mg}^2/\text{dl}^2 \cdot \text{t}$ ].

Durchgang	AUC <sub>0-7</sub> (sCaP)*
CON (n = 8)	278 ± 46 <sup>a</sup>
HPCM (n = 8)	314 ± 40 <sup>a</sup>
HPNaP (n = 8)	488 ± 55 <sup>b</sup>
HPKP (n = 8)	645 ± 129 <sup>c</sup>

\*Angaben in MW±s; Werte, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant voneinander (p<0,05).



## 6. DISKUSSION

### 6.1. Kritik der Methodik

#### 6.1.1. Tiere und Design

Um die Ergebnisse von Siedler (2018) bestätigen und erweitern zu können, wurde das Studiendesign, insbesondere die Konzeption der Testdiäten sowie die Fütterungsintervalle, unverändert von dieser Arbeit übernommen. Genau wie in der vorangegangenen Arbeit konnte mithilfe des Versuchsdesigns die Zahl der Versuchstiere begrenzt werden. Da jeder der verwendeten Hunde als seine eigene Kontrolle diente, konnten unter Berücksichtigung der 3R (replacement, reduction, refinement (Russell & Burch, 1959)), die Ergebnisse trotzdem in insgesamt befriedigendem Umfang statistisch abgesichert werden. Man könnte argumentieren, dass es einen kumulativen Effekt auf die P-Homöostase oder aber eine Gewöhnung durch die wiederholte Fütterung eines P-Exzesses gab, allerdings wurden bei anderer Reihenfolge der Versuchsrationen als bei Siedler (2018) gleichartige Ergebnisse erzielt. Dies spricht gegen einen kumulativen oder Gewöhnungseffekt.

Die fäkale TS-Ausscheidung hatte auch hier, wie schon in anderen Studien gezeigt wurde, einen erheblichen Einfluss auf die fäkale Ca- und P-Ausscheidung ( $R^2 = 0,835$  bzw.  $0,8022$  (Kienzle, Brenten, & Dobenecker, 2017; Kienzle, Dobenecker, Wichert, & Schuster, 2006)). Aus offensichtlichen Gründen wie beispielsweise unterschiedlicher Verdaulichkeit der Rationskomponenten oder unterschiedlichem Energiebedarf der Einzeltiere konnte die TS-Ausscheidung nicht konstant gehalten werden. Daher müssen alle Ergebnisse zur fäkalen Ausscheidung und Verdaulichkeit von Ca und P in Relation zur TS-Ausscheidung gesehen werden.

Durch die verschiedenen Mineralzusätze war ein deutlicher Effekt auf die Schmackhaftigkeit der verschiedenen Rationen zu beobachten. Bei Fütterung der Ration HPKP zeigten einzelne Tiere (# 1, 7, 8) einige Tage nach der Umstellung verlängerte Fresszeiten, die mit fortschreitender Versuchsdauer zunahm. Da die Tiere ansonsten in Bezug auf Verhalten und Allgemeinbefinden unauffällig waren, spricht dies für eine erlernte Aversion gegenüber dem dargebotenen Futter. Das angebotene Futter wurde aber dennoch vollständig innerhalb der verfügbaren Zeit (1 Stunde) aufgenommen.

Um den P-Status eines Patienten hinreichend beurteilen zu können, wird in der Humanmedizin das Ziehen mehrerer Blutproben über einen Zeitraum von mindestens acht Stunden empfohlen (Calvo, Kumar, & Heath, 1990). Jowsey et al. (1974) haben sP sowie PTH beim Hund gemessen und hierzu Blut nüchtern, sowie ½, 1, 2, 4, 6 und 7½ Stunden postprandial genommen. Während Siedler (2018) einmal prä- und einmal zwei Stunden

## DISKUSSION

postprandial Blut abgenommen hat, wurde in der aktuellen Studie nüchtern sowie zu sieben Zeitpunkten über einen Zeitraum von sieben Stunden nach der Fütterung Blut genommen (1 Stunde präprandial sowie ½, 1, 1½, 2, 3, 5 und 7 Stunden postprandial), um die Kinetik nach Verfütterung verschiedener P-Quellen zu untersuchen. Dabei wurden die Hunde in beiden Studien einmal täglich morgens gefüttert. Aufgrund der gewählten Blutentnahmezeitpunkte ließ sich zudem die AUC<sub>0-7</sub> für die gemessenen Serumparameter sP, sCaP, PTH, bALP und CrossLaps sowie vor allem auch für den vergleichsweise neuen Parameter FGF23 ermitteln. Insbesondere zu FGF23 sind uns keine vergleichbaren Studien beim Hund bekannt. Weitere Blutentnahmen, beispielsweise nach 12h und 16h, wären interessant gewesen, um ein vollständiges Bild der Kinetik der untersuchten Serumparameter zu erhalten. Jedoch ist das Blutvolumen, das einem Versuchstier innerhalb von 24h entnommen werden darf, begrenzt (GV-SOLAS und Arbeitskreis 4 in der TVT, 2017). Aus diesem Grund musste hier eine Wahl zwischen der Anzahl an untersuchten Parametern und der Zahl an Blutentnahme-Zeitpunkten getroffen werden. Da es Ziel der Studie war, zum einen die Ergebnisse von Siedler (2018) zu verifizieren und zum anderen erste Informationen über den Einfluss eines P-Exzesses auf die Kinetik der relevanten Parameter zu erhalten, wurde hier ein Kompromiss aus der Anzahl an Blutentnahmen und der Auswahl der Serumparameter gewählt. Auf die Messung von 25-Dihydroxy-Vitamin D wurde trotz der möglichen Relevanz aus Kostengründen verzichtet, da bei Siedler (2018) keine nennenswerten Ergebnisse diesbezüglich verzeichnet werden konnten.

### 6.1.2. Analytik und Auswertung

Das hier verwendete FGF23-ELISA-Kit der Firma Kainos (KAINOS Laboratories Inc., Tokyo, Japan) wurde zur Detektion des freien, intakten, humanen FGF23 entwickelt und nutzt murine monoklonale anti-human FGF23 Antikörper. Da das humane FGF23-Gen homolog ist zu dem von Maus, Ratte, Schimpanse, Rhesusaffe und Hund (NCBI, 2019), sollte eine Verwendung des Kits zur Messung des caninen FGF23 uneingeschränkt möglich sein. Tatsächlich wurde dieser Kit bereits in mehreren Studien mit Hunden verwendet (Parker et al., 2012; Shimada et al., 2010) und evaluiert (Harjes et al., 2017). Harjes et al. (2017) haben Serum-FGF23 bei Hunden mit CNI in verschiedenen Stufen des IRIS-Stagings sowie bei zehn gesunden Hunden, als Kontrolle, gemessen. Die Kontrolltiere hatten Serum-FGF23-Konzentrationen im Bereich von 211-449 pg/ml. Die prozentuale Varianz bei Doppelmessungen beträgt 3,0 pg/ml. Dies stimmte sehr gut mit den Werten

## DISKUSSION

überein, die im vorliegenden Versuch bei der Kontrollfütterung (CON) gemessen wurden, während die postprandialen Werte nach der Fütterung einer Pi-reichen Ration im Bereich des IRIS-Stage 3 lagen. Auch bei Ratten konnte nach Fütterung einer P-reichen Diät und nachfolgender Hyperphosphatämie ein Anstieg der FGF23-Konzentrationen verzeichnet werden (Shimada et al., 2002). Diese relativ akute Reaktion auf einen erhöhten Serumphosphatspiegel wird von Hardcastle und Dittmer (2015) auch für den Hund postuliert und konnte durch vorliegende Ergebnisse unterstützt werden.

Beim Vergleich der Ergebnisse aus verschiedenen Studien sollte außerdem berücksichtigt werden, wenn ein Parameter in unterschiedlichen Laboratorien gemessen wurde. Hier wurde das intakte PTH bei Alomed Laboratories (Bayrischzell, Deutschland) gemessen. In der dort angewandten Immunoluminometric Assay Methode (ILMA) wurden zwei polyklonale, von der Ziege stammende Antikörper verwendet. Diese Antikörper reagieren an zwei verschiedenen Epitopen des intakten humanen PTH. Während der erste, mit Acridinium-Ester markierte Antikörper gegen das N-terminale Epitop (1-34) gerichtet ist und als Tracer fungierte, ist der zweite festphasengebunden und gegen das C-terminale Epitop (39-84) gerichtet. Vor jedem Messansatz erfolgte eine Kalibrierung mittels sekundären caninen PTH-Standards. Auf diese Weise wurde der Referenzbereich des caninen intakten PTH für die Methodik von Alomed etabliert. Weltweit werden jedoch verschiedene Methoden zur PTH-Diagnostik verwendet, wobei es in Europa derzeit keine mit der von Alomed vergleichbare gibt. Als der weltweite Standard wird die Methodik von Professor Petroff an der Michigan State University, USA, erachtet, die einen humanen immunoradiometrischen Assay (IRMA) verwendet. Da PTH bei Raumtemperatur sehr instabil ist (Cavalier, Delanaye, Carlisi, Krzesinski, & Chapelle, 2007; Omar, Chamberlin, Walker, & Wood, 2001; Walker & Seth, 2000), müssen die Serumproben bis zur Analytik durchgehend gefroren sein. Da dieser IRMA nur in den USA verfügbar ist, wäre ein Transport der Proben in die USA in gefrorenem Zustand notwendig gewesen. Dies hätte neben zusätzlichen Kosten ein höheres Risiko hinsichtlich der Probenstabilität bedeutet. Daher wurde, wie auch schon in vorangegangenen Studien (Dobenecker et al., 2018; Hertel-Böhnke, 2018; Siedler, 2018), die PTH-Analytik bei Alomed in Deutschland durchgeführt, da sowohl der IRMA als auch der ILMA zu den Immunoassays gehören und beide als Standardmethode zur Messung von intaktem PTH gelten (Renz, 2003).

Möglicherweise hätte eine zusätzliche Untersuchung der Versuchstiere mit bildgebenden Verfahren oder die Entnahme von Gewebeproben weitere Erkenntnisse hinsichtlich schädlicher Einflüsse der P-Gabe auf z.B. Nieren und Blutgefäße, wie sie u.a. von Schneider

et al. (1980) bei Hunden nachgewiesen wurden, gebracht. Der Fokus der vorliegenden Studie lag jedoch auf der Ermittlung der Kinetik der Parameter sowie von Kurzzeiteffekten auf die P-Homöostase.

## 6.2. Interpretation der erzielten Ergebnisse

Sowohl die scheinbaren Verdaulichkeiten der TS als auch der oS waren bei der HP-Ration mit organischer P-Quelle (HPCM) am niedrigsten, während die Kontrollration (CON) die höchste Verdaulichkeit ergab (Tabellen 17 und 18). Die hohe sV bei CON im Vergleich zu den Rationen HPNaP und HPKP war vermutlich auf den geringeren Rohaschegehalt in dieser Ration zurückzuführen. Die geringere sV bei Ration HPCM könnte dagegen durch die Rationskomponente Geflügelfleischkarkassenmehl begründet sein. Stark erhitzte Futtermittel, wie Geflügelfleischkarkassenmehl, weisen aufgrund des Processings eine geringere Verdaulichkeit auf (de-Oliveira, Carvalho Picinato, Kawauchi, Sakomura, & Carciofi, 2012; Wang & Parsons, 1998).

Die stark negative sV für Ca in der ausgewogenen und bedarfsdeckenden Ration CON stimmte gut mit den Ergebnissen von Siedler (2018) überein. Dieses Ergebnis könnte darauf hindeuten, dass der Bedarf für Ca beim adulten Hund vom NRC (2006) unterschätzt wird. Darauf wiesen auch die Daten von Schmitt et al. (2018) hin, die stark negative Ca-Bilanzen nach Fütterung des minimalen Bedarfs gemäß NRC (2006) an gesunde, adulte Hunde erzielten (Schmitt et al., 2018). Es zeigte sich außerdem in allen Rationen ein deutlicher Zusammenhang zwischen der fäkalen TS- und der fäkalen Ca-Ausscheidung ( $R^2 = 0,88$ ), den auch Kienzle et al. (2017) bereits nachweisen konnten ( $R^2 = 0,86$ ). Ebenfalls wie bei Siedler (2018) wies HPCM die niedrigste sV für das Gesamt-P auf (Tabelle 19). Verschiedene Gründe bzw. eine Kombination daraus können dafür verantwortlich gewesen sein. Die niedrige sV der TS bzw. die folglich höhere fäkale TS-Ausscheidung in diesem Versuchsdurchgang dürfte die sV P gesenkt haben (Kienzle et al., 2006; Kienzle et al., 2017). Aber auch ein Effekt der P-Quelle, hier zu einem hohen Anteil aus Knochen, im Wesentlichen also Hydroxylapatit, stammend, liegt nahe. Außerdem lag die Ca:P-Relation bei HPCM mit 1,9:1 höher als bei den übrigen Rationen. Bei verschiedenen monogastrischen Spezies inklusive dem Hund wurde eine Reduktion der sV P durch steigende Ca-Mengen in der Nahrung nachgewiesen (Jenkins, & Phillips, 1960b; Mack, Alexander, Morris, Dobenecker, & Kienzle, 2015). Calcium und Phosphor bilden dann im Verdauungstrakt schwer lösliche Komplexe (Marks et al., 2007), die eine Absorption von

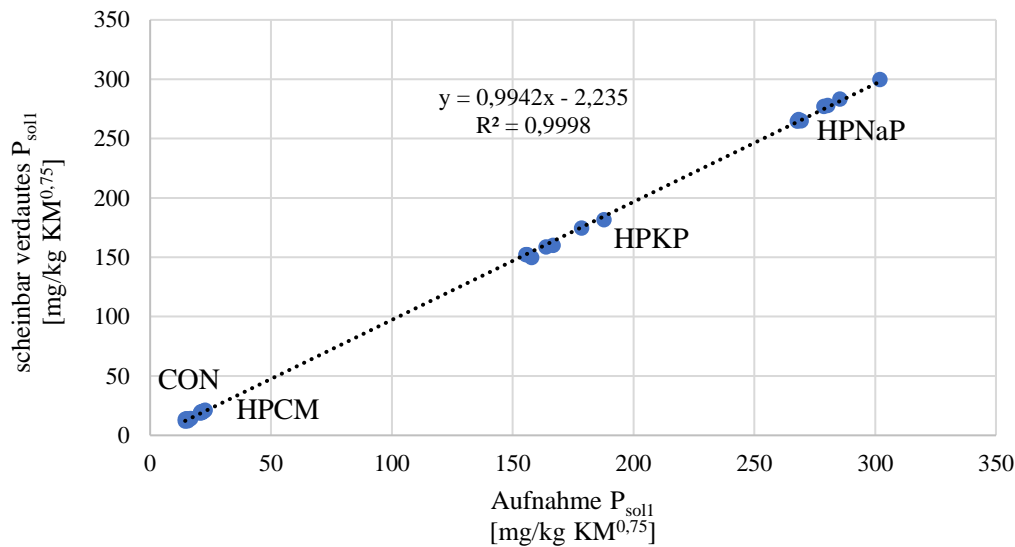
## DISKUSSION

P verringern. Da die Ration HPCM ein höheres Ca:P-Verhältnis hatte als die übrigen Rationen, kann somit nicht ausgeschlossen werden, dass die sV P dieser Ration zumindest teilweise auf das weitere Ca:P-Verhältnis zurückzuführen sind. In einem weiteren Verdauungsversuch (Herbst & Dobenecker, 2019b) konnte dagegen gezeigt werden, dass eine Erhöhung der Ca:P-Relation von 1,4:1 auf 1,9:1 bei einem P-Exzess mit Pi-Zulage nicht zu einer signifikanten Reduktion der sV P führte. Die  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Zulage als P-Quelle und  $\text{CaCO}_3$  als Ca-Quelle zu einer Ration für Hunde, die ebenso zusammengesetzt war wie in vorliegendem Versuch, führte lediglich zu einer mäßigen Reduktion der sV P (Ca:P = 1,4:1:  $48 \pm 5$  % vs. Ca:P = 1,9:1:  $43 \pm 6$  %;  $p = 0,052$ ) und blieb ohne Effekt auf die  $\text{AUC}_{0-7}$  der sP-Werte (Ca:P = 1,4:1:  $20 \pm 4$  mmol/l\*t vs. Ca:P = 1,9:1:  $20 \pm 2$  mmol/l\*t;  $p = 0,474$ ; (Herbst, & Dobenecker, 2019b)). Auch ließ sich ausgehend von der sV P der Rationen nicht verlässlich auf die tatsächliche Höhe der P-Serumwerte und der damit resultierenden  $\text{AUC}_{0-7}$  schließen ( $R^2 = 0,3$ ; (Herbst & Dobenecker, 2019a)).

Um zu überprüfen, ob die Löslichkeit von P einen Einfluss auf die scheinbare Verdaulichkeit dieses Elements hat, wurde die Methode nach Lineva et al. (2018) sowohl für die einzelnen Versuchsrationen als auch für den Kot der Hunde angewendet und die sV des Anteils von P, der nach einer Minute in Wasser löslich ist ( $P_{\text{sol1}}$ ), berechnet (Tabelle 20). Es zeigte sich, dass sich nur geringe Mengen an  $P_{\text{sol1}}$  in der Kontrollration (CON) sowie in der Ration mit Geflügelfleischkarkassenmehl als P-Quelle (HPCM) befanden (CON: 32 mg/100g uS; HPCM: 47 mg/100g uS). Bei ähnlichem Gesamt-P-Gehalt der drei Rationen mit P-Exzess (HPCM; HPNaP; HPKP), enthielten die Rationen HPNaP und HPKP signifikant höhere Gehalte an  $P_{\text{sol1}}$  ( $p < 0,001$ ; HPCM mit 4 %  $P_{\text{sol1}}$  vs. HPNaP mit 56 %  $P_{\text{sol1}}$  bzw. HPKP mit 33 %  $P_{\text{sol1}}$ ). Dementsprechend führte die Aufnahme von HPCM zu einer signifikant niedrigeren Aufnahme an  $P_{\text{sol1}}$  im Vergleich zu den beiden HP-Rationen mit Pi (HPNaP, HPKP). Außerdem unterschied sich die aufgenommene Menge an  $P_{\text{sol1}}$  nicht zur ausgewogenen und bedarfsdeckenden Ration CON (Tabelle 15), obwohl die Ration HPCM einen P-Exzess enthielt. Das P aus den bei HPCM ausgewählten organischen Quellen (Geflügelfleischkarkassenmehl, Reis) war also wenig löslich, was mit den Angaben von Lineva et al. (2018) übereinstimmte. Diese insgesamt schlechte Löslichkeit von P der Ration HPCM infolge des geringeren Anteils an  $P_{\text{sol1}}$ , aber auch die signifikant schlechtere sV der TS ( $p \leq 0,05$ ) trugen zu der niedrigeren sV P in diesem Versuchsdurchgang bei (Tabelle 40). Abbildung 9 zeigt die Abhängigkeit zwischen der aufgenommenen Menge an  $P_{\text{sol1}}$  und dem scheinbar verdauten  $P_{\text{sol1}}$ , jeweils in mg/kg  $\text{KM}^{0,75}$ . Der Korrelationskoeffizient  $R^2 = 0,9998$  zwischen dem Gehalt an  $P_{\text{sol1}}$  der aufgenommenen

## DISKUSSION

Ration und der absoluten scheinbar verdauten Menge P beweist, dass das gesamte hochlösliche  $P_{sol1}$  verdaut wurde. Korreliert man nun die scheinbar verdaute Menge von  $P_{sol1}$  mit der scheinbar verdauten Menge von Gesamt-P, dann wird ersichtlich, dass in Rationen mit höherem Gehalt an  $P_{sol1}$  auch ein entsprechend höherer Anteil des Gesamt-P verdaut wurde ( $R^2 = 0,7853$ ). Daher wiesen auch HPNaP und HPKP, entsprechend den Gehalten an  $P_{sol1}$  in den jeweiligen Rationen (Tabelle 15), die höchste scheinbar verdaute Menge für  $P_{sol1}$  auf (Tabelle 20, sowie Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Orale Aufnahme an in Wasser hochlöslichem Phosphat ( $P_{sol1}$ ) in Relation zur Menge an scheinbar verdaulichem  $P_{sol1}$ .

Die sV von  $P_{sol1}$  lag im Mittel aller vier Versuchsdurchgänge bei  $93 \pm 6 \%$  und somit wesentlich höher als die für die Verwertung von P beim Hund durchschnittlich angenommenen 40-60 % (GfE, 1989). Daraus folgt, dass neben der Gesamtmenge an P in Futtermitteln für Hunde auch die P-Quellen für eine Beurteilung der Versorgungslage nötig wären. Futtermittel mit rein organischen P-Quellen müssen entsprechend höhere P-Mengen zur Bedarfsdeckung enthalten als Futter mit zugesetzten Pi-Quellen.

## DISKUSSION

**Tabelle 40:** Vergleich der scheinbaren Verdaulichkeiten von Gesamt-P sowie von  $P_{sol1}$  in [%].

	sV (Gesamt-P)*	sV ( $P_{sol1}$ )*
<b>CON</b> (n = 8)	52 ± 9 <sup>a</sup>	86 ± 6 <sup>a</sup>
<b>HPCM</b> (n = 8)	22 ± 5 <sup>b</sup>	92 ± 2 <sup>a,c</sup>
<b>HPNaP</b> (n = 8)	53 ± 9 <sup>a</sup>	99 ± 0 <sup>b</sup>
<b>HPKP</b> (n = 8)	48 ± 5 <sup>a</sup>	97 ± 1 <sup>b,c</sup>

\*Angaben in MW±s; Unterschiedliche Buchstaben innerhalb einer Spalte bezeichnen signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) zwischen den Versuchsrationen.

Möglicherweise verändert sich die Löslichkeit der Phosphate entlang der Passage durch den Gastrointestinaltrakt. Beispielsweise könnte die Löslichkeit durch eine Komplexbildung mit Ca verringert werden. Aufgrund des hohen Anteils an  $P_{sol1}$  und der hohen sV dieses Anteils an P (mittlere sV  $P_{sol1} = 93 \pm 6$  %) wurde P aus  $NaH_2PO_4$  und  $KH_2PO_4$  vermutlich so schnell aus dem Darmlumen aufgenommen, dass das P bereits vor einer möglichen Komplexbildung mit Ca absorbiert wurde. Dies legt nahe, dass es in den Versuchsdurchgängen, die diese Pi-Quellen verwendeten (HPNaP, HPKP), postprandial zu einer hohen Anflutung mit P kam und erklärte die rasch ansteigenden postprandialen Serumwerte bei diesen Durchgängen. Dieser Zusammenhang spiegelte sich auch in der Korrelation ( $R^2 = 0,4818$ ) zwischen der oralen Aufnahme an  $P_{sol1}$  [mg/kg  $KM^{0,75}$ ] (Tabelle 15) und der resultierenden  $AUC_{0-7}$  für sP [mmol/l\*t] (Tabelle 35) wider.

Betrachtet man die Kinetik von sP, so lagen die postprandialen Werte für CON und HPCM im Normalbereich, während HPNaP und HPKP eine signifikant größere  $AUC_{0-7}$  ergaben, wobei HPKP sowohl den höchsten Peak als auch die größte  $AUC_{0-7}$  verursachte. Im Gegensatz zur Kinetik von sP lagen die Werte für sCa bei allen vier Versuchsrationen während des gesamten Untersuchungszeitraumes innerhalb des Referenzbereichs (Tabelle 36; (Moritz, 2013)). Das aus sP und sCa resultierende sCaP zeigte dagegen einen signifikanten Unterschied zwischen einem oralen P-Exzess aus organischen Quellen gegenüber anorganischen Quellen. Das schnell lösliche Pi in HPNaP und HPKP verursachte auch hier einen schnellen postprandialen Anstieg des sCaP und erzielte dabei Werte von bis zu 180 mg<sup>2</sup>/dl<sup>2</sup> (HPKP). Bereits Werte ab 55 mg<sup>2</sup>/dl<sup>2</sup> konnten beim Menschen mit einem erhöhten Risiko für Weichgewebeverkalkungen assoziiert werden (Block et al., 1998). Auch beim Hund ist dieser Zusammenhang bekannt und spielt insbesondere beim

## DISKUSSION

Monitoring CNI-kranker Tiere eine wichtige Rolle, da das sCaP als Indikator für die Überlebenszeit des Patienten dient (Cortadellas et al., 2010; Jackson, & Barber, 1998; Lippi, Guidi, Marchetti, Tognetti, & Meucci, 2014).

Um die resultierenden P-Serumspiegel sowie das sCaP in physiologischen Grenzen zu halten, muss der Körper nun einer starken Anflutung von P gegenregulieren und die renale Exkretion erhöhen. Dieser Mechanismus der Gegenregulierung wurde bei Betrachtung der prozentualen Steigerung der Differenz von prä- zu postprandialem P/Crea-Verhältnis deutlich. Hier war, wie bei Siedler (2018), bei CON und HPCM ein Abfall der P-Ausscheidung gegenüber einem signifikanten Anstieg nach Fütterung der Rationen mit Pi-Quellen zu sehen. HPNaP, welches den höchsten Gehalt an  $P_{\text{sol1}}$  hatte, erzielte auch die höchste postprandiale Steigerung der P-Ausscheidung.

FGF23 und PTH, wirken bekanntermaßen als Phosphatonine und erhöhen die renale P-Exkretion (Berndt, & Kumar, 2007; Shaikh et al., 2008). Diese Funktion hat sich in unserer Studie und damit beim Hund deutlich durch die signifikanten Differenzen zwischen prä- und postprandialem P/Crea-Verhältnis gezeigt: die Serumkonzentrationen von FGF23 und PTH stimmten gut mit dem Bild der erhöhten renalen P-Ausscheidung überein, da die Berechnung der  $AUC_{0-7}$  für beide Parameter höhere Werte bei Fütterung der Rationen HPNaP und HPKP als bei den Rationen CON oder HPCM erbrachte (Tabelle 27 bzw. 29). Dies führte in Folge auch zu der postprandialen Steigerung der renalen P-Ausscheidung (Tabelle 25). Dieser postprandiale Anstieg der renalen P-Exkretion wurde auch bei Siedler (2018) gezeigt. Insbesondere bei Betrachtung der Kinetik für FGF23 ist bemerkenswert, dass hier bei Verfütterung einer Pi-reichen Ration über 24 Stunden höhere Serumkonzentrationen erreicht wurden als bei Verfütterung einer ausgewogenen, bedarfsdeckenden Ration (CON; Tabelle 26). Die  $AUC_{0-7}$  FGF23 war bei Verfütterung der Ration HPKP signifikant höher als bei allen anderen Rationen, was mit der ebenfalls höchsten  $AUC_{0-7}$  sP für diesen Versuchsdurchgang im Einklang stand (Tabelle 27 und 35). Die Kinetik von PTH zeigte einen deutlichen postprandialen Anstieg mit Peak nach 3h für die Rationen HPNaP und HPKP. Der Verlauf von HPCM bewegte sich dagegen im gleichen Bereich wie CON. Zwar lässt sich aufgrund der begrenzten Zeitspanne, die hier betrachtet wurde, ein verzögerter Anstieg außerhalb der Messzeitpunkte von PTH bei Fütterung eines organischen P-Exzesses (HPCM) nicht ausschließen. Allerdings wäre bei verzögertem Anstieg auch ein längeres Persistieren des Peaks und damit ein Unterschied bei den präprandialen Werten zu erwarten. Ein solcher wurde jedoch nicht gefunden. Vielmehr scheinen Pi-Quellen, vermutlich aufgrund der höheren Löslichkeit von P (HPNaP: 56 %



## DISKUSSION

$P_{\text{sol1}}$ , HPKP: 33 %  $P_{\text{sol1}}$  vs. HPCM: 4 %  $P_{\text{sol1}}$ ) einen schnellen und massiven Anstieg der PTH-Sekretion zu verursachen, während organische Quellen keinen Einfluss zu haben scheinen.

Auch die beiden Knochenmarker CrossLaps und bALP wiesen zumindest numerisch höhere Serumkonzentrationen für die Rationen mit Pi-Quellen auf. Erhöhte Konzentrationen sprechen generell für einen erhöhten Knochenstoffwechsel („turnover“). In der Humanmedizin wird empfohlen, bALP zusammen mit PTH zu bestimmen, um den Knochenstoffwechsel zu beurteilen (Jehle, 2017). Obwohl in beiden HP-Rationen mit Pi-Quellen (HPNaP, HPKP) eine Erhöhung der Knochenmarker vorlag, konnte dieser Umsatz von Knochengewebe nicht quantifiziert werden, da nicht bekannt ist, inwiefern diese sich gegenseitig „ausgleichen“ und somit letztendlich ein Auf- oder Abbau des Knochens überwog. Hierfür wäre die Bestimmung einer größeren Bandbreite von verschiedenen Knochenparametern notwendig gewesen. In der vorliegenden Studie stand jedoch nur eine begrenzte Menge an Serum je Hund und Blutentnahmezeitpunkt zur Verfügung (GV-SOLAS und Arbeitskreis 4 in der TVT, 2017). Aus diesem Grund musste eine Priorisierung der Parameter, die bestimmt werden konnten, vorgenommen werden. Dennoch ist es bemerkenswert, dass sich die AUCs beider Marker bei Fütterung einer Ration mit Pi-Exzess (HPNaP, HPKP) gegenüber den Werten bei Fütterung eines organischen P-Exzesses (HPCM) in etwa verdoppelten. Vermutlich bedingte die Fütterung einer HP-Ration mit Pi als P-Quelle also einen gesteigerten Knochenstoffwechsel, der den Knochen anfälliger für Knochenstoffwechselstörungen machen könnte, wie aus der Osteoporoseforschung bekannt ist (Eastell et al., 1993; Garnero, Sornay-Rendu, Chapuy, & Delmas, 1996).

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass ein alimentärer P-Exzess mit anorganischen Phosphaten (HPNaP, HPKP) bei adulten, gesunden Hunden zu einem Anstieg der Parameter sP, sCaP, PTH, FGF23 sowie der Knochenmarker führte. Im Kontext mit verschiedenen Erkrankungen, wie z.B. einer chronischen Nierenerkrankung, gelten insbesondere die erst genannten Parameter für die weitere Prognose als relevant. Hohe Werte sind mit verkürzten Lebenszeiten assoziiert (Dhingra et al., 2007; Foley et al., 2009; Tonelli, Sacks, Pfeffer, Gao, & Curhan, 2005). Es stellt sich daher die Frage, ob die Veränderung dieser Parameter auch bei gesunden Tieren als Warnzeichen gesehen werden sollten.

### 6.3. Mögliche Folgen einer Hyperphosphatämie

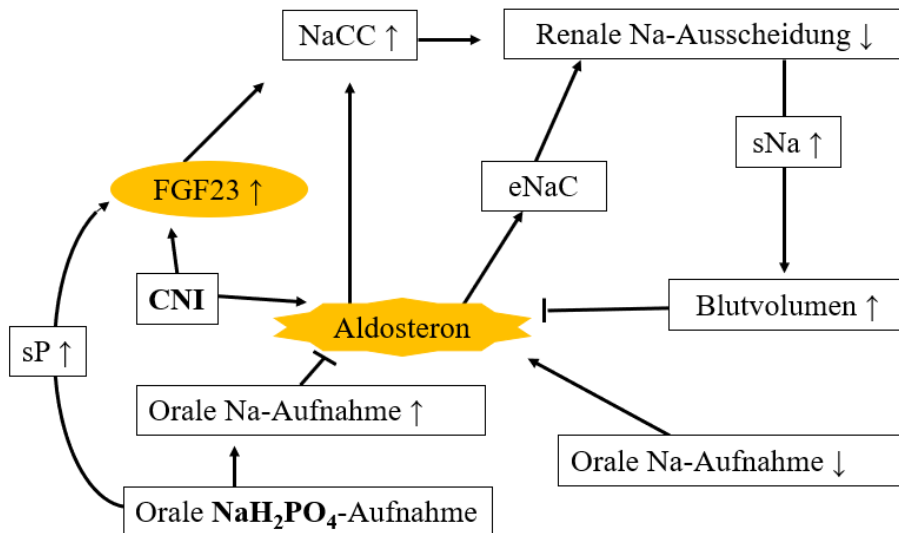
#### 6.3.1. Bei anderen Spezies mit bestehender CNI

Bei Menschen mit Nierenerkrankungen sind erhöhte sP-Konzentrationen, wie sie in der vorliegenden Arbeit beschrieben wurden, vor allem wenn diese über einen längeren Zeitraum bestehen, möglichst zu vermeiden (Dhingra et al., 2007; Foley et al., 2009; Linefsky et al., 2011). Sie konnten in diversen Studien (Ganesh, Stack, Levin, Hulbert-Shearon, & Port, 2001; Ibels et al., 1979; Narang, Ridout, Nonis, & Kooner, 1997), mit einer erhöhten Letalität assoziiert werden (Dhingra et al., 2007; Foley et al., 2009; Tonelli et al., 2005). In einer Kohortenstudie mit über 6000 CNI-Patienten konnte ein signifikant höheres Risiko zu versterben insbesondere mit sP-Werten höher als 3,5 mg/dl (= 1,13 mmol/l; Referenzbereich: 1,12- 1,45 mmol/l (Walker, Hall, Hurst, & editors, 1990)) assoziiert werden (Kestenbaum et al., 2005). Es wird jedoch angenommen, dass bereits eine kurzzeitige postprandiale Erhöhung der sP-Werte die Vasodilatationsfähigkeit negativ beeinflussen kann (Shuto et al., 2009). P selbst kann einen gewebetoxischen Effekt haben und somit die Gefäße und auch das Nierenparenchym schädigen (Haut et al., 1980; Razzaque, 2011), da überschüssiges P über die Nieren ausgeschieden werden muss. Dies wird über den Anstieg der Phosphatonine PTH und FGF23 erreicht. Bei Menschen mit CNI kann ein Anstieg der Phosphatonine wiederum mit der Entstehung einer Links-Herz-Hypertrophie (Faul et al., 2011; Grabner et al., 2017; Gutiérrez et al., 2008; Silver, Rodriguez, & Slatopolsky, 2012) oder eines sekundären renalen Hyperparathyreoidismus bzw. der CKD-MBD (Martin, & González, 2011; Moe et al., 2007; Silver, Kilav, & Naveh-Manly, 2002; Yaphe, & Forrester, 1994) in Verbindung gebracht werden. Auch erhöhte CrossLaps-Serumkonzentrationen gelten als Hinweis auf das Vorliegen einer CKD-MBD (Moe et al., 2007), da sie insbesondere zusammen mit erhöhten PTH-Werten für einen gesteigerten Knochenumsatz sowie Weichgewebeerkrankungen sprechen (Jehle, 2017; Ketteler & Floege, 2016).

Auch ein oraler Na-Exzess, wie er in den eigenen Untersuchungen in dem Durchgang HPNaP gefüttert wurde, kann bei Menschen mit Nierenerkrankungen zu einer Links-Herz-Hypertrophie führen (Andrukhova et al., 2014): Da HPNaP  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  als P-Quelle beinhaltet, wurde dem Organismus hier also nicht nur P, sondern insbesondere  $\text{P}_{\text{sol}}$  und auch Na im Exzess zugeführt (Tabelle 15 bzw. 14). Die in den eigenen Untersuchungen resultierenden erhöhten sP-Konzentrationen verursachten einen Anstieg an FGF23. Von einem derartigen Anstieg ist beim Menschen bekannt, dass er wiederum die Dichte an Na-Cl-Cotransportern (NaCC) in den distalen Nierentubuli erhöhen kann (Andrukhova et al.,

## DISKUSSION

2014). Dieser Anstieg an Na-Cl-Cotransportern bedingt eine erhöhte Rückresorption von Na aus dem Urin und somit erhöhte Serum-Na-Konzentrationen (sNa). Dies hat ein gesteigertes Blutvolumen und Hypertension zur Folge und hemmt die Aldosteron-Sekretion in den Nebennieren, was wiederum die epitheliale Na-Kanal-Expression (eNaC) im distalen Nephron senkt (Andrukhova et al., 2014). Insbesondere der Anstieg des zirkulierenden Volumens könnte z.T. das erhöhte Risiko für eine Links-Herz-Hypertrophie infolge von Hypertension bei CNI-Patienten erklären (siehe Abbildung 10). Na-arme Diäten können dagegen, ebenso wie eine CNI, den Hypertensionseffekt von FGF23 steigern, da sie die Wirkung von Aldosteron auf die Expression von Na-Cl-Cotransportern und epithelialen Na-Kanälen verstärken. Allerdings hat wohl auch FGF23 selbst einen direkten Einfluss auf die Entstehung der Links-Herz-Hypertrophie beim Menschen (Faul et al., 2011; Grabner et al., 2017; Silver et al., 2012).



**Abbildung 10:** Schematische Darstellung der Regulierung nach einer P- und Na-reichen Diät.

In einer Studie mit unilateral nephrektomierten Mäusen, die eine P-reiche Diät erhalten haben (100 mg P/100g KM/d; Empfehlungen: 45 mg P/100g KM/d (National Research Council, 1995; Wolfensohn & Lloyd, 2003)), wurden, vergleichbar mit der vorliegenden Arbeit, ebenfalls erhöhte Serumwerte für P, PTH und FGF23 ermittelt (Eller et al., 2011). Bereits nach 8 Wochen waren bei der pathologischen Untersuchung der Tiere makroskopisch erkennbare, kleine weiße Granula auf der verbliebenen Niere erkennbar. Eine Analyse dieser Granula ergab Hydroxylapatit-Ablagerungen ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3$ ) im distalen Tubulus und dem Sammelrohr. Außerdem waren die Septumwände sowie Wände des linken Herzventrikels verdickt, was auf eine hypertrophe Kardiomyopathie hindeutete. Diese Myopathie hat sich vermutlich infolge der durch die Hydroxylapatit-Ablagerungen

## DISKUSSION

versteiften Gefäße entwickelt, was wiederum eine verminderte Elastizität und somit einen erhöhten Gefäßdruck zur Folge hatte (Shuto et al., 2009).

Bei Katzen mit CNI ist die häufigste Folge der Hyperphosphatämie die Entstehung eines sekundären renalen Hyperparathyreoidismus (Barber, & Elliott, 1998; DiBartola, Rutgers, Zack, & Tarr, 1987), insbesondere wenn bereits die IRIS Stufen 3 und 4 erreicht sind (Kidder & Chew, 2009). Als klinische Manifestation des sekundären renalen Hyperparathyreoidismus wird häufig der sogenannte „rubber jaw“ gesehen aber auch Frakturen sind bei der Katze nicht ungewöhnlich (Yaphe, & Forrester, 1994). Bei dieser Spezies gilt eine P-reiche Ration bereits unumstritten zu den Risikofaktoren, die zur Entstehung einer CNI beitragen können (Dobenecker et al., 2017; Pastoor, van't Klooster, Mathot, & Beynen, 1995; Polzin, Osborne, Ross, & Jacob, 2000). Andersherum gibt es Daten, die belegen, dass eine Limitierung bzw. Reduktion der oralen P-Aufnahme das Fortschreiten der CNI bei Katzen einschränken kann (Ross, Finco, & Crowell, 1982).

Insgesamt wurde in der vorliegenden Arbeit bei gesunden Hunden also eine derartige Veränderung von Laborparametern induziert, die denen nierenkranker Individuen nach Aufnahme einer P-reichen Diät ähneln.

### 6.3.2. Beim nierenkranken Hund

Wie bei anderen Spezies besteht auch beim nierenkranken Hund ein Zusammenhang zwischen Hyperphosphatämie und der Sterberate (Bartges, 2012; Jowsey et al., 1974). Mit zunehmender Hyperphosphatämie steigt auch das sCaP an. Dieses kann bei Hunden mit CNI mit den IRIS-Stagings korreliert werden, wobei Werte über  $77 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$  als negativer Parameter für die Verlaufsprognose des erkrankten Tieres identifiziert werden konnten (Cortadellas et al., 2010; Lippi et al., 2014). Die gesunden Hunde in der vorliegenden Studie erreichten postprandial sCaP-Werte deutlich über dem genannten Grenzwert (siehe Tabelle 38). Für nierenkranke Tiere bedeutet dies, dass eine im P-Gehalt vergleichbare Ration besonders schlechte verträglich ist.

Auch beim Hund können erhöhte sP-Werte im Zusammenspiel mit einer CNI zu der Entstehung eines sekundären renalen Hyperparathyreoidismus führen: in einer Studie mit CNI-kranken Hunden entwickelten 84 % der Tiere mit sP-Werten von 1,45-1,78 mmol/l einen sekundären renalen Hyperparathyreoidismus (Cortadellas et al., 2010). Interessanterweise liegt dieser Bereich nur zum Teil über dem Referenzbereich für gesunde adulte Hunde, der bei 0,7-1,6 mmol/l liegt (Moritz, 2013). Fütterung einer Pi-haltigen P-

## DISKUSSION

Exzessration führte in der vorliegenden Arbeit zu Werten, die weit über 1,6 mmol/l lagen (HPKP: drei Stunden postprandial Werte bis zu 4,8 mmol/l), und der Anteil an sP-Werten, die postprandial jenseits des Referenzbereichs lagen, war bei den Rationen mit Pi-Zulagen signifikant höher als bei CON und HPCM (HPNaP: 83; HPKP: 78 vs. CON: 24 und HPCM: 29 %). In Kombination mit einer bestehenden CNI dürfte die Fütterung einer P- aber insbesondere einer P<sub>sol1</sub>-reichen Ration einen sekundären renalen Hyperparathyreoidismus zur Folge haben.

Während in den 1970er Jahren die CNI beim Hund vor allem noch auf eine chronische, interstitielle Nephritis zurückgeführt wurde (Macdougall, Cook, Steward, & Cattell, 1986), sind inzwischen diverse Ursachen bekannt (Schaer & Gaschen, 2016). Dazu gehören unter anderem Infektionskrankheiten, wie die Babesiose oder auch kongenitale Erkrankungen (Hinney & Leschnik, 2015; Schaer, & Gaschen, 2016). Unabhängig der zahlreichen möglichen Ursachen wird in allen diagnostizierten Fällen eine P-reduzierte Diät empfohlen (Brown et al., 1991; Finco et al., 1992; Finco, D. R. et al., 1992; Roudebush, Polzin, Adams, Towell, & Forrester, 2010). In einer Studie mit 48 Hunden mit induzierter CNI wurden vier verschiedene Rationen (1: 0,4 % P, 16 % Protein; 2: 1,4 % P, 16 % Protein; 3: 0,4 % P, 32 % Protein; 4: 1,4 % P, 32 % Protein) im Hinblick auf das Fortschreiten der Erkrankung untersucht (Finco et al., 1992). Bei denjenigen Hunden, die eine P-arme Diät erhalten hatten, blieb die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) länger konstant und die Überlebensrate war signifikant besser. Insbesondere, wenn bereits eine CNI vorliegt, kann ein alimentärer P-Exzess das Fortschreiten der Krankheit also begünstigen (Polzin, 2019). Grund dafür ist, dass eine höhere P-Aufnahme die P-Ausscheidung je Nephron erhöht, während die Exkretionsleistung der Nieren für P gleichzeitig sinkt und höhere Mengen retiniert werden, was den Gesamtstoffwechsel wiederum belastet (Finco et al., 1992; Kalantar-Zadeh et al., 2010).

### 6.3.3. Beim gesunden Hund

Nach all dem oben Gesagten stellt sich die Frage, ob die Verfütterung von P, insbesondere von Pi, in Dosierungen wie in der vorliegenden Studie über längere Zeit nicht auch bei gesunden Hunden Gesundheitsschäden hervorrufen könnte. Die genannten Resultate unterstützen die Ergebnisse vorheriger Studien (Jowsey et al., 1974; Schneider, Müller-Peddinghaus, Pappritz, Trieb, G. Trautwein, G., & Ueberberg, 1980; Siedler, 2018) und deuten insgesamt darauf hin, dass bei längerfristiger Verfütterung von Pi an den gesunden

## DISKUSSION

Hund gesundheitliche Folgen möglich sind. Während in diesem Zusammenhang die Arteriosklerose und Links-Herz-Hypertrophie ein häufiges Bild beim Menschen sind, so kommen diese eher selten beim Hund vor. Es ist aber nicht auszuschließen, dass auch andere Erkrankungen, wie die CNI oder die beim Hund häufiger auftretende Osteoarthritis, sich durch die langfristige Aufnahme Pi-haltiger Futtermittel verschlechtern.

Bei verschiedenen Spezies, unter anderem dem Hund, wurde von schwerwiegenden Folgen wie Nierenversagen und sogar Tod nach sehr hohen Pi-Gaben an gesunde Individuen berichtet (unter anderem bei: Mensch (Evermann et al., 2003; Fliser et al., 2007), Maus (Martin, Lisehora, Braxton, & Barcia, 1987; Ohnishi, & Razzaque, 2010), Kaninchen (Jin et al., 2009), Hund (Harris et al., 1976; Jowsey et al., 1974; Schneider et al., 1980)). Erste Untersuchungen zu alimentärer Pi-Aufnahme beim Hund sind schon über 40 Jahre alt und gewinnen heutzutage umso mehr an Bedeutung, als dass aufgrund des höheren Bearbeitungsgrades der Futtermittel höhere Gesamt- und Pi-Gehalte in den Futtermitteln vorhanden sein können. Schneider et al. (1980) konnten eine Atrophie der proximalen Tubuli, fokale Vernarbungen und eine Nephrokalzinose feststellen, nachdem Pi in Exzess für 38 Wochen an gesunde Hunde ( $0,8\text{g K}_2\text{HPO}_4/\text{kg KM}$  bzw.  $1,4\text{g K}_2\text{HPO}_4/\text{kg KM}^{0,75}$ ) verfüttert wurde. Die tubuläre Atrophie beginnt vermutlich damit, dass die tubulären Epithelzellen ihre Differenzierung verlieren (Schneider et al., 1980). Verschiedene histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen konnten hier einen Anstieg an autophagischen Vakuolen und Autophagenlysosomen nachweisen.

Auch in den eigenen Untersuchungen wurde eine kaliumhaltige Pi-Quelle ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) in HPKP verwendet. Diese Ration erzielte z.T. signifikant höhere Serumparameter als die andere verwendete Pi-Quelle. Kalium liegt im Körper vor allem intrazellulär vor und wird extrazellulär mit Hilfe von Aldosteron streng in einem engen Bereich reguliert. Auch ein minimaler Serum-K-Anstieg bewirkt daher den Anstieg von Aldosteron beim gesunden Mensch (Himathongkam, Dluhy, & Williams, 1975; Rabinowitz, 1996). Von einem solchen Aldosteron-Anstieg ist bei der Maus bekannt, dass er die FGF23-Sekretion stimuliert (Zhang et al., 2016). Dies stimmt mit den extrem hohen FGF23-Konzentrationen überein, die in der eigenen Untersuchung an Hunden nach Fütterung von HPKP auftraten. Beim Menschen ist außerdem bekannt, dass die orale K-Gabe zu einem Anstieg der sP-Konzentrationen führt (Humalda et al., 2020). Man könnte daher vermuten, dass dies in vorliegendem Versuch zusammen mit dem oralen P-Exzess einen kumulativen Effekt auf die sP-Konzentrationen und in Folge auf die anderen untersuchten Parameter der P-Homöostase hatte.

## DISKUSSION

Des Weiteren konnte in einer 10-monatigen Studie an gesunden Hunden mit Fütterung einer HP-Ration mit Pi ( $\sim 411 \text{ mg/kg KM}^{0,75}/\text{d}$  für vier Monate und dann  $\sim 455 \text{ mg/kg KM}^{0,75}/\text{d}$  für weitere sechs Monate vs.  $484 \pm 16 \text{ mg/kg KM}^{0,75}/\text{d}$  für jeweils 18d in der vorliegenden Arbeit) infolge der Hyperphosphatämie eine Demineralisierung der Knochen sowie Verkalkungen in den Nieren, der Aorta, dem Herz und in den Linsen beobachtet werden (Laflamme & Jowsey, 1972). Allerdings wurde bei Laflamme & Jowsey einer Kontrollration lediglich Pi in Form von Hyper-Phos-K-Tabletten (The Kendall Co., Needham Heights, Mass., USA) jedoch kein Ca zugelegt, was in einem inversen Ca-P-Verhältnis resultierte. Somit dürfte ein Teil der gefundenen Veränderungen darauf zurückzuführen sein. Die beiden Diäten aus vorliegendem Versuch, welche Pi enthielten (HPNaP, HPKP), haben im Vergleich zu CON und HPCM unter anderem zu höheren postprandialen Serumwerten für die beiden Parameter des Knochenstoffwechsels geführt. Dies könnte auf einen gesteigerten Knochen turnover hindeuten. Hier bleibt zu vermuten, dass die geringfügigen, aber längerfristig einwirkenden Effekte auf den Knochenstoffwechsel infolge einer längerfristigen bzw. lebenslangen Aufnahme von Pi-haltigen Futtermitteln letztendlich kumulieren und zu einer Beeinflussung der Knochengesundheit führen könnten. In der eigenen Arbeit konnte an der Zieltierart eine Korrelation zwischen sP- und PTH-Konzentrationen ( $R^2 = 0,4219$ ) ermittelt werden, was einen Zusammenhang zwischen Knochengesundheit und einer hohen Pi-Aufnahme vermuten lässt. Außerdem konnte gezeigt werden, dass, wie bei anderen Tierarten (Ben-Dov et al., 2007), auch beim gesunden Hund eine Abhängigkeit zwischen FGF23 und PTH in gewissem Umfang ( $R^2 = 0,3145$ ) besteht.

Bei Fütterung der Ration HPNaP lagen 86 % bzw. bei HPKP 100 % der Werte für FGF23 über dem von Harjes et al. (2017) definierten Normalbereich gesunder Hunde (315 (211- 449) pg/ml). Diese Ergebnisse könnten die Annahme stützen, dass FGF23 ein geeigneter Marker beim Hund sein könnte, um eine Störung der Ca- und P-Homöostase beim adulten Hund frühzeitig zu detektieren (Harjes et al., 2017). Des Weiteren sind die in der vorliegenden Arbeit gemessenen enorm hohen FGF23-Konzentrationen bei gesunden Hunden womöglich klinisch relevant. Eine dauerhafte Erhöhung dieses Parameters kann nach heutigem Wissenstand vermutlich nicht nur für nierenkranke, sondern auch für nierengesunde Individuen schädlich sein. Das trifft insbesondere in Kombination mit erhöhten sP-Werten zu. Bei Ratten konnte gezeigt werden, dass die orale Gabe von Pi systemische Entzündungen verursacht, im Schweregrad abhängig von der Dosis der Pi-Gabe (Yamada et al., 2014). Eine Entzündung wiederum bewirkt bei der Maus die

## DISKUSSION

Ausschüttung von FGF23 aus Knochen sowie Thymus und Milz (Liu et al., 2003; Masuda Yuki et al., 2015). Des Weiteren konnte bei dieser Spezies bereits gezeigt werden, dass ein solcher Anstieg an FGF23 selbst ebenfalls eine inflammatorische Wirkung auf Nieren- und Lebergewebe haben kann (Han et al., 2016). Diese proinflammatorische Wirkung von P sowie FGF23 könnte somit unterschiedliche Erkrankungen bei Mensch und Tier negativ beeinflussen oder sogar mit verursachen. So ist neben der Mitverursachung oder Verschlechterung von Nierenerkrankungen eine Beteiligung an der Entstehung von Osteoarthrosen beim Hund denkbar.

### 6.4. Die Bedeutung des Futters in der Epidemiologie der CNI

Bei Hunden ist die Inzidenz von CNI im Alter allgemein niedriger als bei Katzen (Bartges, 2012; Polzin, 2011). Bei Katzen wurde ein Zusammenhang zwischen Pi-Aufnahme und Nierenschädigungen bereits mehrfach postuliert (Alexander et al., 2018; Coltherd et al., 2018; Dobenecker et al., 2018; Dobenecker, Webel, Reese, & Kienzle, 2018; Pastoor, & Otitz et al., 1995; Pastoor, & van'T Klooster et al., 1995). Daher liegt die Vermutung nahe, dass Hunde weniger empfindlich für Pi aus dem Futter sind als Katzen. Allerdings muss hierbei die Fütterungspraxis berücksichtigt werden. Zum einen erhalten Hunde deutlich häufiger hausgemachte Nahrung als Katzen, zum anderen höhere Anteile an Trockenfutter (Becker, 2009; Becker, Dillitzer, Sauter-Louis, & Kienzle, 2012). Nach Lineva et al. (2018) enthalten Trockenfutter für Hunde aber weniger Pi als Feuchtfutter für beide Spezies. Somit nehmen die meisten Hunde also vermutlich weniger Pi auf als Katzen, was die geringere Inzidenz für CNI bei dieser Spezies erklären könnte, wenn man davon ausgeht, dass bei einem gewissen Anteil der Erkrankungen das Futter möglicherweise an der Entstehung beteiligt ist.

Bei der Untersuchung von kommerziellen Alleinfuttermitteln für Hunde und Katzen nach der Methode von Lineva et al. (2018) zeigte sich außerdem, dass der Großteil der getesteten Futtermittel ein Vielfaches der empfohlenen P-Menge enthält. Bei 91 % der getesteten Trockenfutter für Katzen und 44 % der Trockenfutter für Hunde wird diese Empfehlung bereits allein durch den Gehalt an  $P_{\text{sol1}}$  übertroffen (Dobenecker, 2019). Die Empfehlungen zur täglichen Versorgung mit Gesamt-P beruhen auf einer durchschnittlichen Verwertung von etwa 40-60 % beim Hund (GfE, 1989). Die sV von  $P_{\text{sol1}}$  in den Rationen der vorliegenden Arbeit, die Pi-Quellen verwendeten, liegt jedoch bei nahezu 100 % (Tabelle 20). Dies könnte bedeuten, dass bei Verwendung von hochlöslichen Pi-Quellen, aufgrund



## DISKUSSION

der höheren Verfügbarkeit als von der GfE (1989) für P angenommen wird, eine weitaus höhere P-Absorption aus dem Darm erzielt wird als angenommen. In diesem Fall würde selbst die genaue Einhaltung der Versorgungsempfehlungen zu einem alimentären P-Exzess führen. Strenggenommen müssten für diesen Fall die Versorgungsempfehlungen nach unten korrigiert werden. Dazu müsste aber überprüft werden, ob der Anteil an besser verfügbarem P tatsächlich retiniert oder über den Harn ausgeschieden wird. Außerdem muss die P-Versorgung immer im Zusammenhang mit dem Ca:P-Verhältnis betrachtet werden. Da eine Korrektur der Versorgungsempfehlungen in dieser Weise ein sehr weites Ca:P-Verhältnis zur Folge hätte, ist es sehr fraglich, ob diese Anpassung realistisch ist.

### 6.5. Mögliche Aussichten für die Praxis

In der vorliegenden Studie wurde die fünffache Menge des täglichen P-Bedarfs gesunder adulter Hunde verfüttert. Im Falle der Rationen HPNaP und HPKP stammte der überwiegende Anteil des P aus definierten Pi-Quellen. Insofern bilden die verwendeten Versuchsrationen vermutlich nicht die Zusammensetzung der meisten auf dem Markt befindlichen kommerziellen Futtermittel ab. Andererseits gibt es in kommerziellem Tierfutter nicht selten Gesamt-P sowie  $P_{\text{sol1}}$ -Gehalte, die selbst die Mengen in den Versuchsrationen übersteigen (Anonymous, 2008, 2019; Brunetto et al., 2019; Dobenecker, 2019). Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Ergebnisse geben Anlass für die Überlegung, ob eine weitergehende Überprüfung der Sicherheit zugesetzter Pi-Quellen in Futtermitteln sinnvoll wäre und ob eine Obergrenze für den Einsatz festgelegt werden sollte. Solche Einsatzgrenzen werden in der Regel auf Basis eines sogenannten safe upper limits (SUL) festgelegt, welches die höchste Menge angibt, bei der keine schädlichen Folgen für die Gesundheit festgestellt werden konnten. Besonders kritisch dürfte die Verwendung solcher Zusatzstoffe bei der Herstellung von Nierendiäten zu sehen sein. Für Diäten mit dem besonderen Ernährungszweck „Unterstützung der Nierenfunktion bei chronischer Niereninsuffizienz“ ist ein maximaler P-Gehalt von 5 g/kg Alleinfuttermittel (88 % TS; entspricht 5,7 g P/kg TS) festgelegt (Richtlinie 2008/38/EG). Allerdings ist diese Reduktion an Gesamt-P nicht gleichbedeutend mit einer knappen oder reduzierten Versorgung im Vergleich zum P-Bedarf: diese Menge an Gesamt-P entspricht noch immer in etwa dem Doppelten der Empfehlung für die tägliche P-Versorgung eines gesunden adulten Hundes (3,0 g P/kg TS; (National Research Council, 2006)) und damit etwa einem Drittel der hier in den HP-Rationen (fünffacher Bedarf) verwendeten Mengen. In diesen speziellen Diäten

## DISKUSSION

muss zwar, im Gegensatz zu einem Alleinfuttermittel für gesunde Tiere, die Proteinquelle und u.a. der Gehalt an Ca und P deklariert werden, aber nicht die verwendete P-Quelle (Richtlinie 2008/38/EG). Es besteht aber die Möglichkeit, dass hier ebenso Pi-haltige Zusatzstoffe aus produktionstechnischen Gründen zum Einsatz kommen. Es gibt bisher jedoch keine Labormethode, mit Hilfe derer einzelne P-Verbindungen in einem Futtermittel zweifelsfrei identifiziert werden könnten. Die bis zum heutigen Tag einzige Möglichkeit, um zumindest den Anteil an hochlöslichen Phosphaten, zu denen viele der Pi-Quellen zählen, zu bestimmen, stellt die Methode nach Lineva et al. (2018) dar. Ob und wenn, welche Zusatzstoffe in einem Futtermittel verwendet wurden, ist momentan für den Verbraucher nicht erkennbar, da auch gemäß Verordnung (EG) Nr. 767/2009 nicht alle zugesetzten Pi-Quellen in Futtermitteln deklariert werden müssen. Beide hier getesteten Pi-Quellen ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) sind entweder zur Verwendung als Zusatzstoff oder als Mineralstoffquelle für Futtermittel zugelassen (VO (EU) Nr. 68/2013; VO (EU) Nr. 1831/2003). Um dem Verbraucher eine fundierte Produktauswahl zu ermöglichen, müsste generell die Deklaration der in einem Futtermittel verwendeten P-Quellen verpflichtend sein und die Verwendung von Pi-Quellen in Nierendiäten sogar gänzlich untersagt werden. Da sich Haptik und Geschmack und damit die Akzeptanz der Produkte bei weitgehendem Verzicht auf Pi-Quellen deutlich verändern dürfte, bedarf es aber sicherlich auch der Aufklärung der Tierhalter. Solange die Verwendung von hochlöslichen anorganischen Phosphaten in kommerziellen Diäten jedoch nicht zweifelsfrei ausgeschlossen werden kann, kann die Verwendung einer speziell konzipierten, selbst hergestellten Diät mit rein organischen P-Quellen eine Lösung sein. Generell sollten bei einer bestehenden CNI die aktuellen IRIS Empfehlungen zu Staging und Therapie befolgt werden (International Renal Interest Society, 2020). Hier wird bereits ab Stufe II die Gabe einer Nierendiät empfohlen. Bei Stage II liegt nach dem aktuellen Staging-System der sP-Wert noch unter 1,45 mmol/l und damit innerhalb des Referenzbereichs. Die frühzeitige Reduktion der oralen P-Zufuhr wird u.a. damit begründet, dass somit das Umstellen auf diese Diät noch vor Eintreten der Azotämie-bedingten Inappetenz erfolgen kann. Polzin (2019) empfiehlt außerdem regelmäßige Kontrolluntersuchungen mit Reevaluierung des IRIS Stagings alle 3-4 Monate (Polzin, 2019). Sollte hier neben sCrea und sP auch PTH bestimmt werden, ist zu beachten, dass eine sP-Konzentration innerhalb des oberen Referenzbereichs als „anormal“ zu beurteilen ist, wenn PTH gleichzeitig erhöht ist, da bei hohem PTH die sP-Konzentration niedrig sein sollte (Felsenfeld, & Rodriguez, 1999). Aufgrund der eigenen Ergebnisse kann die Aussage bekräftigt werden, dass bei der Diagnostik berücksichtigt werden muss, wenn

## DISKUSSION

der Patient bei der Blutentnahme nicht nüchtern war. Die sP- und PTH-Werte erreichten etwa 3h postprandial ihren Maximalwert und könnten mithin zu einem falschem Staging führen, da das IRIS Stagingsystem auf nüchtern gemessenen Werten basiert (Polzin, 2019).

7. ZUSAMMENFASSUNG

Anorganische Phosphate, welche in prozessierten Lebensmitteln zum Einsatz kommen, können beim Menschen an der Entstehung verschiedener Erkrankungen des renalen, kardiovaskulären und skelettalen Systems beteiligt sein. Solche Phosphate können auch in höheren, bedarfsüberschreitenden Mengen in Alleinfuttermitteln für Hunde enthalten sein. In der vorliegenden Arbeit wurden eine ausgewogene und bedarfsdeckende Kontrollration (CON; 100 mg P/kg KM<sup>0,75</sup>/d) sowie drei Rationen mit P-Exzess (HP), die in etwa das fünffache des P-Bedarfs (484 ± 16 mg P/kg KM<sup>0,75</sup>/d) enthielten, für jeweils 18 Tage an acht gesunde, adulte Beagles (2,9 ± 1,0 Jahre alt; 14,0 ± 1,1 kg KM) verfüttert. Dabei wurden verschiedene P-Quellen verwendet: Die Ration HPCM hat den Exzess aus rein organischen P-Quellen (Geflügelfleischkarkassenmehl und Reis ) gedeckt, während der größte Anteil an P der beiden anderen Rationen aus wasserlöslichen anorganischen P-Quellen (HPNaP: NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; HPKP: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) stammte. Nach einer Anfütterungsphase (13d) folgte eine fünftägige Bilanzphase, während derer quantitativ Kot und Urin als spot samples gesammelt wurde. An Tag 18 des jeweiligen Durchgangs wurde den Hunden zu acht verschiedenen Zeitpunkten (1h präprandial; ½, 1, 1½, 2, 3, 5, 7h postprandial) Blut abgenommen und P, Ca, Ca x P- Produkt, PTH, FGF23, bALP und CrossLaps im Serum bestimmt. Es wurden neben der scheinbaren Verdaulichkeit und der Differenz zwischen der prä- und postprandialen Ausscheidung von P im Urin auch die Kinetik sowie die AUC<sub>0-7</sub> der Serumparameter bestimmt.

**Tabelle 41:** Darstellung der scheinbaren Verdaulichkeit von P und der AUC<sub>0-7</sub> der Serumparameter nach Fütterung eines P-Exzesses an gesunde, adulte Hunde.

		CON	HPCM	HPNaP	HPKP
sV P	[%]	52 ±9 <sup>a</sup>	26 ±5 <sup>b</sup>	53 ±9 <sup>a</sup>	48 ±5 <sup>a</sup>
sP	[mmol/l*t]	9 ±1 <sup>a</sup>	10 ±1 <sup>a</sup>	17 ±3 <sup>b</sup>	21 ±3 <sup>c</sup>
sCaP	[mg <sup>2</sup> /dl <sup>2</sup> *t]	278 ±46 <sup>a</sup>	314 ±40 <sup>a</sup>	488 ±55 <sup>b</sup>	645 ±129 <sup>c</sup>
PTH	[ng/l*t]	550 ±158 <sup>a</sup>	533 ±166 <sup>a</sup>	1271 ± 570 <sup>b</sup>	2056 ±1032 <sup>c</sup>
FGF23	[pg/ml*t]	1523 ±429 <sup>a</sup>	1314 ±734 <sup>a</sup>	3146 ±1331 <sup>a</sup>	5863 ±2209 <sup>b</sup>
bALP	[U/l*t]	55 ±12 <sup>a,b</sup>	47 ±10 <sup>a</sup>	79 ±31 <sup>b</sup>	92 ±37 <sup>a,b</sup>
CrossLaps	[ng/ml*t]	1,5 ±0,6 <sup>a</sup>	1,4 ±0,2 <sup>a</sup>	3,9 ±1,1 <sup>b</sup>	6,2 ±1,4 <sup>c</sup>

Angaben in MW±s; Werte innerhalb einer Zeile, welche keinen gemeinsamen Buchstaben aufweisen, unterscheiden sich signifikant voneinander (p<0,05).

## ZUSAMMENFASSUNG

Es bestätigte sich die höhere Verdaulichkeit für P aus hochlöslichen anorganischen Phosphaten. Bei Verfütterung der beiden anorganischen P-Quellen wurden für alle Serumparameter, außer Ca, Werte außerhalb des Referenzbereichs erzielt. Ebenfalls ergab die Fütterung von HPNaP sowie HPKP Serumkonzentrationen, die zum Teil über mehrere Stunden erhöht waren und somit, insbesondere bei Verwendung von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , zu signifikant höheren AUCs führte (Tabelle 41).

Für kranke Tiere stellen derart veränderte Serumwerte einen negativen Indikator dar und bedeuten bei CNI-Patienten bereits ab IRIS Stage 2 eine schlechtere Prognose für den weiteren Krankheitsverlauf. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werfen somit die Frage auf, ob Futtermittel, die anorganische Phosphate in vergleichbaren Mengen enthalten, nicht auch für gesunde Tiere ein Risiko darstellen.

## SUMMARY

### 8. SUMMARY

Inorganic phosphates, which are used in highly processed food, are known to induce a variety of different renal, cardiovascular, and skeletal diseases in humans. Such phosphates may also be contained in dog feed in amounts, even exceeding the requirements. In the present study a balanced and complete control diet (CON; 100 mg P/kg BM<sup>0.75</sup>/d) and three diets containing the fivefold P-requirements (HP; 484 ± 16 mg P/kg BM<sup>0.75</sup>/d) were fed to eight healthy adult beagle dogs (age: 2.9 ± 1.0 years; bodyweight: 14.0 ± 1.1 kg) for 18d each. Each trial used a different P-source: HPCM consisted of only organic P-sources (poultry meal and rice), while the majority of P in the other two HP diets were inorganic and highly soluble in water (HPNaP: NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; HPKP: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). The adaptation feeding period (13d) was followed by five days of balance trial. During the balance trial faeces was collected quantitatively and urine as spot samples. On day 18 of each trial blood was sampled at eight different times ((1h preprandial; ½, 1, 1½, 2, 3, 5, 7h postprandial) and the serum was analyzed for P, Ca, Ca x P- product, PTH, FGF23, bALP und CrossLaps. Next to the apparent digestibility and the difference between pre- and postprandial renal excretion of P, also the kinetics and AUC<sub>0-7</sub> of the serum parameters were determined.

**Table 42:** AUC<sub>0-7</sub> of the serum parameters and apparent digestibility of P after feeding different HP-diets to healthy adult dogs.

		CON	HPCM	HPNaP	HPKP
aD P	[%]	52 ±9 <sup>a</sup>	26 ±5 <sup>b</sup>	53 ±9 <sup>a</sup>	48 ±5 <sup>a</sup>
sP	[mmol/l*t]	9 ±1 <sup>a</sup>	10 ±1 <sup>a</sup>	17 ±3 <sup>b</sup>	21 ±3 <sup>c</sup>
sCaP	[mg <sup>2</sup> /dl <sup>2</sup> *t]	278 ±46 <sup>a</sup>	314 ±40 <sup>a</sup>	488 ±55 <sup>b</sup>	645 ±129 <sup>c</sup>
PTH	[ng/l*t]	550 ±158 <sup>a</sup>	533 ±166 <sup>a</sup>	1271 ±570 <sup>b</sup>	2056 ±1032 <sup>c</sup>
FGF23	[pg/ml*t]	1523 ±429 <sup>a</sup>	1314 ±734 <sup>a</sup>	3146 ±1331 <sup>a</sup>	5863 ±2209 <sup>b</sup>
bALP	[U/l*t]	55 ±12 <sup>a,b</sup>	47 ±10 <sup>a</sup>	79 ±31 <sup>b</sup>	92 ±37 <sup>a,b</sup>
CrossLaps	[ng/ml*t]	1.5 ±0.6 <sup>a</sup>	1.4 ±0.2 <sup>a</sup>	3.9 ±1.1 <sup>b</sup>	6.2 ±1.4 <sup>c</sup>

Displayed as mean ± std; values within one line, which share no common letter, are significantly different (p<0,05).

A higher apparent digestibility of P from highly soluble inorganic sources was confirmed. Feeding the two inorganic HP-diets caused serum concentrations exceeding the reference

## SUMMARY

range in all parameters, except of Ca. Also feeding HPNaP and HPKP caused serum concentrations, which were in part elevated for several hours and therefore caused significantly higher AUCs, especially after intake of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (table 42). This indicates a higher utilization of inorganic phosphates than is assumed and that a smaller amount of inorganic P is necessary to cover the requirement in feed than when using only organic P-sources.

In such a way modified serum parameters display a negative indicator and a worse prognosis for patients with chronic kidney disease of IRIS Stage 2 and more. The results of the present study therefore rise the question whether feed stuff containing inorganic phosphates in similar amounts might also be a risk to healthy dogs.

## 9. LITERATURVERZEICHNIS

- Abou-Samra, A. B., Jüppner, H., Force, T., Freeman, M. W., Kong, X. F., Schipani, E., . . . Potts, J. T. (1992). Expression cloning of a common receptor for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide from rat osteoblast-like cells: a single receptor stimulates intracellular accumulation of both cAMP and inositol trisphosphates and increases intracellular free calcium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89, 2732–2736. doi:10.1073/pnas.89.7.2732
- ADHR- Consortium (2000). Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet*, 26 (3), 345–348.
- Alexander, J., Stockman, J., Atwal, J., Butterwick, R., Colyer, A., Elliott, D., . . . Watson, P. (2018). Effects of the long-term feeding of diets enriched with inorganic phosphorus on the adult feline kidney and phosphorus metabolism. *The British Journal of Nutrition*, 1–21. doi:10.1017/S0007114518002751
- Allen, L. C., Allen, M. J., Breur, G. J., Hoffmann, W. E., & Richardson, D. C. (2000). A comparison of two techniques for the determination of serum bone-specific alkaline phosphatase activity in dogs. *Research in Veterinary Science*, 68, 231–235. doi:10.1053/rvsc.1999.0369
- Allen, M. J., Allen, L. C., Hoffmann, W. E., Richardson, D. C., & Breur, G. J. (2000). Urinary markers of type I collagen degradation in the dog. *Research in Veterinary Science*, 69, 123–127. doi:10.1053/rvsc.2000.0397
- Allen, M. J., Hoffmann, W. E., Richardson, D. C., & Breur, G. J. (1998). Serum markers of bone metabolism in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 59, 250–254.
- Allen, M. R. (2000). Biochemical markers of bone metabolism in animals: uses and limitations. *Veterinary Clinical Pathology*, 32, 101–113.
- Andrukhova, O., Slavic, S., Smorodchenko, A., Zeitz, U., Shalhoub, V., Lanske, B., . . . Erben, R. G. (2014). FGF23 regulates renal sodium handling and blood pressure. *EMBO molecular medicine*, 6, 744–759. doi:10.1002/emmm.201303716
- Anonymous (2008). Katzenfutter- von sehr gut bis mangelhaft. *Stiftung Warentest*, 9/2008.



## LITERATURVERZEICHNIS

- Anonymous (2019). Hundefutter- Barf oder Dose? Nass-futter von sehr gut bis mangelhaft. *Stiftung Warentest*, 07/2019.
- Arima, K., Hines, E. R., Kiela, P. R., Drees, J. B., Collins, J. F., & Ghishan, F. K. (2002). Glucocorticoid regulation and glycosylation of mouse intestinal type IIb Na-P(i) cotransporter during ontogeny. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 283, G426-34. doi:10.1152/ajpgi.00319.2001
- Atwater, W. O. (1902). Experiments on the metabolism of matter and energy in the human body, 1898-1900 (No. 109). *US Government Printing Office*.
- Bacic, D., LeHir, M., Biber, J., Kaissling, B., Murer, H., & Wagner, C. A. (2006). The renal Na<sup>+</sup>/phosphate cotransporter NaPi-IIa is internalized via the receptor-mediated endocytic route in response to parathyroid hormone. *Kidney international*, 69, 495–503. doi:10.1038/sj.ki.5000148
- Barber, P. (1998). Parathyroid gland function in the aging cat. *Royal Veterinary College (University of London)*.
- Barber, P. J., & Elliott, J. (1998). Feline chronic renal failure: calcium homeostasis in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995. *Journal of Small Animal Practice*, 39, 108–116. doi:10.1111/j.1748-5827.1998.tb03613.x
- Bartges, J. W. (2012). Chronic kidney disease in dogs and cats. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 42, 669-92, vi. doi:10.1016/j.cvsm.2012.04.008
- Becker, N. (2009). *Erhebungen zur Fütterung von Hunden und Katzen mit und ohne Verdacht auf eine Futtermittelallergie in Deutschland*. München.
- Becker, N., Dillitzer, N., Sauter-Louis, C., & Kienzle, E. (2012). Fütterung von Hunden und Katzen in Deutschland. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere / Heimtiere*, 40, 391–397. doi:10.1055/s-0038-1623670
- Behnsen, K. (1992). *Einfluss der Fütterung auf pH-Wert und spezifisches Gewicht im Harn des Hundes*.

## LITERATURVERZEICHNIS

- Belić, M., Kusec, V., Svetina, A., Grizelj, J., Robić, M., Vrabanac, Z., . . . Turk, R. (2012). The influence of sex on biochemical markers of bone turnover in dogs. *Research in Veterinary Science*, 93, 918–920.
- Bell, R. R., Draper, H. H., Tzeng, D. Y., Shin, H. K., & Schmidt, G. R. (1977). Physiological responses of human adults to foods containing phosphate additives. *The Journal of nutrition*, 107, 42–50. doi:10.1093/jn/107.1.42
- Ben-Dov, I. Z., Galitzer, H., Lavi-Moshayoff, V., Goetz, R., Kuro-o, M., Mohammadi, M., . . . Silver, J. (2007). The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *The Journal of Clinical Investigation*, 117, 4003–4008. doi:10.1172/JCI32409
- Bergwitz, C., & Jüppner, H. (2010). Regulation of phosphate homeostasis by PTH, Vitamin D, and FGF23. *Annual review of medicine*, 61, 91–104. doi:10.1146/annurev.med.051308.111339
- Berndt, T., & Kumar, R. (2009). Novel Mechanisms in the Regulation of Phosphorus Homeostasis. *Physiology*, 24, 17–25. doi:10.1152/physiol.00034.2008
- Berndt, T., & Kumar, R. (2007). Phosphatonins and the regulation of phosphate homeostasis. *Annual review of physiology*, 69, 341–359. doi:10.1146/annurev.physiol.69.040705.141729
- Berndt, T., Thomas, L. F., Craig, T. A., Sommer, S., Li, X., Bergstralh, E. J., & Kumar, R. (2007). Evidence for a signaling axis by which intestinal phosphate rapidly modulates renal phosphate reabsorption. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 11085–11090. doi:10.1073/pnas.0704446104
- Bertazzolo, W., Toscani, L., Calcaterra, S., Crippa, L., Caniatti, M., & Bonfanti, U. (2003). Clinicopathological findings in five cats with paw calcification. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 5, 11–17. doi:10.1053/jfms.2002.0195
- Bland, R., Walker, E. A., Hughes, S. V., Stewart, P. M., & Hewison, M. (1999). Constitutive expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 $\alpha$ -hydroxylase in a transformed human proximal tubule cell line: evidence for direct regulation of vitamin D metabolism by calcium. *Endocrinology*, 140, 2027–2034. doi:10.1210/endo.140.5.6683

## LITERATURVERZEICHNIS

- Block, G. A., Hulbert-Shearon, T. E., Levin, N. W., & Port, F. K. (1998). Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: A national study. *American Journal of Kidney Diseases*, 4, 607–617. doi:10.1053/ajkd.1998.v31.pm9531176
- Bohn, T., Davidsson, L., Walczyk, T., & Hurrell, R. F. (2004). Phytic acid added to white-wheat bread inhibits fractional apparent magnesium absorption in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 79, 418–423. doi:10.1093/ajcn/79.3.418
- Bos, M. P., Meer, J. M. van der, Feyen, J. H. M., & Herrmann-Erlee, M. P. M. (1996). Expression of the parathyroid hormone receptor and correlation with other osteoblastic parameters in fetal rat osteoblasts. *Calcified Tissue International*, 58, 95–100. doi:10.1007/BF02529730
- Brenza, H. L., Kimmel-Jehan, C., Jehan, F., Shinki, T., Wakino, S., Anazawa, H., . . . DeLuca, H. F. (1998). Parathyroid hormone activation of the 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase gene promoter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 1387–1391. doi:10.1073/pnas.95.4.1387
- Bricker, N. S. (1972). On the pathogenesis of the uremic state. An exposition of the "trade-off hypothesis". *The new england journal of medicine*, 286, 1093–1099. doi:10.1056/NEJM197205182862009
- Brown, E. M., Gamba, G., Riccardi, D., Lombardi, M., Butters, R., Kifor, O., . . . Hebert, S. C. (1993). Cloning and characterization of an extracellular Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature*, 366, 575–580. doi:10.1038/366575a0
- Brown, S. A., Crowell, W. A., Barsanti, J. A., White, J. V., & Finco, D. R. (1991). Beneficial effects of dietary mineral restriction in dogs with marked reduction of functional renal mass. *Journal of the American Society of Nephrology*, 1, 1169–1179.
- Brunetto, M. A., Zafalon, R. V. A., Teixeira, F. A., Vendramini, T. H. A., Rentas, M. F., Pedrinelli, V., . . . Macedo, H. T. (2019). Phosphorus and sodium contents in commercial wet foods for dogs and cats. *Veterinary medicine and science*. doi:10.1002/vms3.183
- Burgeson, R. E. (1988). New collagens, new concepts. *Annual review of cell biology*, 4, 551–577. doi:10.1146/annurev.cb.04.110188.003003

## LITERATURVERZEICHNIS

- Cai, H., & Harrison, D. G. (2000). Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circulation research*, 87, 840–844. doi:10.1161/01.res.87.10.840
- Calvo, M. S., Kumar, R., & Heath, H. (1990). Persistently elevated parathyroid hormone secretion and action in young women after four weeks of ingesting high phosphorus, low calcium diets. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 70, 1334–1340. doi:10.1210/jcem-70-5-1334
- Calvo, M. S., & Park, Y. K. (1996). Changing phosphorus content of the U.S. diet: potential for adverse effects on bone. *The Journal of nutrition*, 126, 1168S-80S. doi:10.1093/jn/126.suppl\_4.1168S
- Calvo, M. S., & Uribarri, J. (2013). Public health impact of dietary phosphorus excess on bone and cardiovascular health in the general population. *American Journal of Clinical Nutrition*, 98, 6–15.
- Canalejo, R., Canalejo, A., Martinez-Moreno, J. M., Rodriguez-Ortiz, M. E., Estepa, J. C., Mendoza, F. J., . . . Rodriguez, M. (2010). FGF23 fails to inhibit uremic parathyroid glands. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 21, 1125–1135. doi:10.1681/ASN.2009040427
- Carmichael, D. T., Williams, C. A., & Aller, M. S. (1995). Renal Dysplasia with Secondary Hyperparathyroidism and Loose Teeth in a Young Dog. *Journal of Veterinary Dentistry*, 12, 143–146. doi:10.1177/089875649501200401
- Cavalier, E., Delanaye, P., Carlisi, A., Krzesinski, J.-M., & Chapelle, J.-P. (2007). Stability of intact parathyroid hormone in samples from hemodialysis patients. *Kidney international*, 72, 370–372. doi:10.1038/sj.ki.5002363
- Chakrabarti, S., Syme, H. M., & Elliott, J. (2012). Clinicopathological variables predicting progression of azotemia in cats with chronic kidney disease. *Journal of veterinary internal medicine*, 26, 275–281. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.00874.x
- Chen, N. X., O'Neill, K. D., Duan, D., & Moe, S. M. (2002). Phosphorus and uremic serum up-regulate osteopontin expression in vascular smooth muscle cells. *Kidney international*, 62, 1724–1731. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00625.x

## LITERATURVERZEICHNIS

- Chudek, J., Kocełak, P., Owczarek, A., Bożentowicz-Wikarek, M., Mossakowska, M., Olszanecka-Glinianowicz, M., & Wiecek, A. (2014). Fibroblast growth factor 23 (FGF23) and early chronic kidney disease in the elderly. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 29, 1757–1763. doi:10.1093/ndt/gfu063
- Coltherd, J., Staunton, R., Colyer, A., Thomas, G., Gilham, M., Logan, D., . . . Watson, P. (2018). Not all forms of dietary phosphorus are equal: an evaluation of postprandial phosphorus concentrations in the plasma of the cat. *The British Journal of Nutrition*, 1–42.
- Cortadellas, O., Fernández del Palacio, M., Talavera, J., & Bayón, A. (2010). Calcium and phosphorus homeostasis in dogs with spontaneous chronic kidney disease at different stages of severity. *Journal of veterinary internal medicine*, 24, 73–79. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0415.x
- Craig, J. C., Hodson, E. M., & Martin, H. C. O. (1994). Phosphate enema poisoning in children. *Medical Journal of Australia*, 160, 347–351. doi:10.5694/j.1326-5377.1994.tb138236.x
- DeLaurier, A., Jackson, B., Pfeiffer, D., Ingham, K., Horton, M. A., & Price, J. S. (2004). A comparison of methods for measuring serum and urinary markers of bone metabolism in cats. *Research in Veterinary Science*, 77, 29–39. doi:10.1016/j.rvsc.2004.02.007
- Demers, L. M. (Ed.) (2001). *Bone markers: biochemical and clinical perspectives: Bone-specific alkaline phosphatase*. London.
- de-Oliveira, L. D., Carvalho Picinato, M. A. de, Kawauchi, I. M., Sakomura, N. K., & Carciofi, A. C. (2012). Digestibility for dogs and cats of meat and bone meal processed at two different temperature and pressure levels\*. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 96, 1136–1146. doi:10.1111/j.1439-0396.2011.01232.x
- Dhingra, R., Sullivan, L. M., Fox, C. S., Wang, T. J., D'Agostino, R. B., Gaziano, J. M., & Vasan, R. S. (2007). Relations of serum phosphorus and calcium levels to the incidence of cardiovascular disease in the community. *Archives of internal medicine*, 167, 879–885. doi:10.1001/archinte.167.9.879
- Di Iorio, B. R., Bellizzi, V., Bellasi, A., Torraca, S., D'Arrigo, G., Tripepi, G., & Zoccali, C. (2013). Phosphate attenuates the anti-proteinuric effect of very low-protein diet in CKD

## LITERATURVERZEICHNIS

- patients. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 28, 632–640.  
*doi:10.1093/ndt/gfs477*
- Di Marco, G. S., Hausberg, M., Hillebrand, U., Rustemeyer, P., Wittkowski, W., Lang, D., & Pavenstädt, H. (2008). Increased inorganic phosphate induces human endothelial cell apoptosis in vitro. *American journal of physiology. Renal physiology*, 294, F1381-7.  
*doi:10.1152/ajprenal.00003.2008*
- DiBartola, S. P., Rutgers, H. C., Zack, P. M., & Tarr, M. J. (1987). Clinicopathologic findings associated with chronic renal disease in cats: 74 cases (1973-1984). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 190, 1196–1202.
- Dobenecker, B. (2019). Concentrations of highly soluble phosphates in commercial pet food purchased in Germany. *23rd ESVCN Congress*, Turin, 110.
- Dobenecker, B., Schaschl, C., Webel, A., & Kienzle, E. (2018). A comparison of the faecal and renal phosphorus excretion after excessive intake of monophosphate from calcium and potassium monophosphate in adult cats. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*, 27, 95.
- Dobenecker, B., Webel, A., Reese, S., & Kienzle, E. (2017). Effect of a high phosphorus diet on indicators of renal health in cats. *journal of Feline Medicine and Surgery*, 1–5.
- Dobenecker, B., Webel, A., Reese, S., & Kienzle, E. (2018). Effect of a high phosphorus diet on indicators of renal health in cats. *journal of Feline Medicine and Surgery*, 20, 339–343.  
*doi:10.1177/1098612X17710589*
- Dominguez, J. R., Shlipak, M. G., Whooley, M. A., & Ix, J. H. (2013). Fractional excretion of phosphorus modifies the association between fibroblast growth factor-23 and outcomes. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 24, 647–654.  
*doi:10.1681/ASN.2012090894*
- Dusso, A., Brown, A. J., & Slatopolsky, E. (2005). Vitamin D and renal failure. *Vitamin D*, 1313-1338.

## LITERATURVERZEICHNIS

- Eastell, R., Robins, S. P., Colwell, T., Assiri, A.M.A., Riggs, B. L., & Russell, R.G.G. (1993). Evaluation of bone turnover in type I osteoporosis using biochemical markers specific for both bone formation and bone resorption. *Osteoporosis international*, 3, 255–260. doi:10.1007/BF01623829
- Econs, M. J., & Drezner, M. K. (1994). Tumor-induced osteomalacia--unveiling a new hormone. *The new england journal of medicine*, 330, 1679–1681. doi:10.1056/NEJM199406093302310
- Eller, P., Eller, K., Kirsch, A., Patsch, J., Wolf, A., Tagwerker, A., . . . Rosenkranz, R. (2011). A murine model of phosphate nephropathy. *The American Journal of Pathology*, 178 (5), 1999–2006. doi:10.1016/j.ajpath.2011.01.024
- Estepa, J. C., Aguilera-Tejero, E., Lopez, I., Almaden, Y., Rodriguez, M., & Felsenfeld, A. J. (1999). Effect of phosphate on parathyroid hormone secretion in vivo. *Journal of bone and mineral research*, 14, 1848–1854. doi:10.1359/jbmr.1999.14.11.1848
- Evenepoel, P., Naesens, M., Claes, K., Kuypers, D., & Vanrenterghem, Y. (2007). Tertiary 'hyperphosphatoninism' accentuates hypophosphatemia and suppresses calcitriol levels in renal transplant recipients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, 7, 1193–1200. doi:10.1111/j.1600-6143.2007.01753.x
- Evenepoel, P., Viaene, L., & Meijers, B. K. I. (2011). Targeting FGF23 and phosphorus in CKD, do not forget calcium. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 26, 1749-50; author reply 1750. doi:10.1093/ndt/gfr040
- Evermann, D., Nitu, M., & Jacobs, B. (2003). Respiratory failure requiring extracorporeal membrane oxygenation after sodium phosphate enema intoxication. *Eur J Pediatr*, 162, 517–519.
- Farrington, K., Mohammed, M. N., Newman, S. P., Varghese, Z., & Moorhead, J. F. (1981). Comparison of radioisotope methods for the measurement of phosphate absorption in normal subjects and in patients with chronic renal failure. *Clinical science (London, England : 1979)*, 60, 55–63. doi:10.1042/cs0600055

## LITERATURVERZEICHNIS

- Faul, C., Amaral, A., Oskouei, B., Hu, M.-C., Sloan, A., Isakova, T., . . . Wolf, M. (2011). FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *The Journal of Clinical Investigation*, 121, 4393–4408. doi:10.1172/JCI46122
- FEDIAF (2020). *Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs: The European Pet Food Industry Federation; Sept. 2020, S.58.*
- Feldman, D., Pike, J. W., & Bouillon, R. (Eds.) (2018). *Vitamin D: Volume 1: Biochemistry, physiology and diagnostics*. London, San Diego, CA: Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Felsenfeld, A. J., & Rodriguez, M. (1999). Phosphorus, Regulation of Plasma Calcium, and Secondary Hyperparathyroidism: A Hypothesis to Integrate a Historical and Modern Perspective. *Journal of the American Society of Nephrology*, 10, 878–890.
- Filler, G., Liu, D., Huang, S.-H. S., Casier, S., Chau, L. A., & Madrenas, J. (2011). Impaired GFR is the most important determinant for FGF-23 increase in chronic kidney disease. *Clinical Biochemistry*, 44, 435–437. doi:10.1016/j.clinbiochem.2011.01.009
- Finco, Brown, S. A., Crowell, W. A., Duncan, R. J., Barsanti, J. A., & Bennett, S. E. (1992). Effects of dietary phosphorus and protein in dogs with chronic renal failure. *American journal of veterinary research*, 53, 2264–2271.
- Finco, D. R., Brown, S. A., Crowell, W. A., Groves, C. A., Duncan, J. R., & Barsanti, J. A. (1992). Effects of phosphorus/calcium-restricted and phosphorus/calcium-replete 32% protein diets in dogs with chronic renal failure. *American journal of veterinary research*, 53, 157–163.
- Fliser, D., Kollerits, B., Neyer, U., Ankerst, D., Lhotta, K., Lingenhel, A., . . . Kronenberg, F. (2007). Fibroblast Growth Factor 23 (FGF23) Predicts Progression of Chronic Kidney Disease: The Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18, 2601–2608.
- Foley, R. N., Collins, A. J., Herzog, C. A., Ishani, A., & Kalra, P. A. (2009). Serum phosphorus levels associate with coronary atherosclerosis in young adults. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 20, 397–404. doi:10.1681/ASN.2008020141



## LITERATURVERZEICHNIS

- Forster, I. C., Hernando, N., Biber, J., & Murer, H. (2013). Phosphate transporters of the SLC20 and SLC34 families. *Molecular Aspects of Medicine*, 34, 386–395. doi:10.1016/j.mam.2012.07.007
- Förstermann, U., & Münzel, T. (2006). Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*, 113, 1708–1714. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.602532
- Galitzer, H., Ben-Dov, I. Z., Silver, J., & Naveh-Many, T. (2010). Parathyroid cell resistance to fibroblast growth factor 23 in secondary hyperparathyroidism of chronic kidney disease. *Kidney international*, 77, 211–218. doi:10.1038/ki.2009.464
- Ganesh, S. K., Stack, A. G., Levin, N. W., Hulbert-Shearon, T. E., & Port, F. K. (2001). Association of elevated serum PO<sub>4</sub>, Ca × PO<sub>4</sub> product, and parathyroid hormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12, 2131–2138.
- Garnero, P., Sornay-Rendu, E., Chapuy, M., & Delmas, P. D. (1996). Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *Journal of bone and mineral research*, 11(3), 337–349. doi:10.1002/jbmr.5650110307
- Geddes, R. F., Finch, N. C., Elliott, J., & Syme, H. M. (2013). Fibroblast growth factor 23 in feline chronic kidney disease. *Journal of veterinary internal medicine*, 27, 234–241. doi:10.1111/jvim.12044
- Geddes, R. F., Finch, N. C., Syme, H. M., & Elliott, J. (2013). The role of phosphorus in the pathophysiology of chronic kidney disease. *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001)*, 23, 122–133. doi:10.1111/vec.12032
- Gericke, S., & Kurmies, B. (1952). Colorimetrische Bestimmung der Phosphorsure mit Vanadat-Molybdat. *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie*, 137, 15–22. doi:10.1007/BF00452421
- GfE (Ed.) (1989). *Energie- und Nährstoffbedarf Energy and nutrient requirements: Nr.5 Hunde/ dogs*. DLG Verlag Frankfurt (Main).

## LITERATURVERZEICHNIS

- Giachelli, C. M., Jono, S., Shioi, A., Nishizawa, Y., Mori, K., & Morii, H. (2001). Vascular calcification and inorganic phosphate. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 38, S34-7. doi:10.1053/ajkd.2001.27394
- Giachelli, C. M. (1999). Ectopic Calcification: gathering hard facts about soft tissue calcification. *The American Journal of Pathology*, 154, 671–675. doi:10.1016/S0002-9440(10)65313-8
- Giachelli, C. M. (2004). Vascular calcification mechanisms. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 15, 2959–2964. doi:10.1097/01.ASN.0000145894.57533.C4
- Giachelli, C. M. (2009). The emerging role of phosphate in vascular calcification. *Kidney international*, 75, 890–897. doi:10.1038/ki.2008.644
- Giachelli, C. M., Speer, M. Y., Li, X., Rajachar, R. M., & Yang, H. (2005). Regulation of vascular calcification: roles of phosphate and osteopontin. *Circulation research*, 96, 717–722. doi:10.1161/01.RES.0000161997.24797.c0
- Grabner, A., Schramm, K., Silswal, N., Hendrix, M., Yanucil, C., Czaya, B., . . . Faul, C. (2017). FGF23/FGFR4-mediated left ventricular hypertrophy is reversible. *Scientific Reports*, 7, 1993. doi:10.1038/s41598-017-02068-6
- Grey, A., Mitnick, M. A., Masiukiewicz, U., Sun, B. H., Rudikoff, S., Jilka, R. L., . . . Insogna, K. (1999). A role for interleukin-6 in parathyroid hormone-induced bone resorption in vivo. *Endocrinology*, 140, 4683–4690. doi:10.1210/endo.140.10.7036
- Gutiérrez, O. M. (2018). Dietary phosphorus and kidney and cardiovascular health. *Proceedings ESVCN Congress 2018, Munich*, 12–21.
- Gutiérrez, O. M., Mannstadt, M., Isakova, T., Rauh-Hain, J. A., Tamez, H., Shah, A., . . . Wolf, M. (2008). Fibroblast Growth Factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*, 359, 584–592.
- Gutiérrez, O. M. (2010). Fibroblast growth factor 23 and disordered vitamin D metabolism in chronic kidney disease: updating the "trade-off" hypothesis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 5, 1710–1716. doi:10.2215/CJN.02640310

## LITERATURVERZEICHNIS

- Gutiérrez, O. M. (2013a). The connection between dietary phosphorus, cardiovascular disease, and mortality: where we stand and what we need to know. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 4, 723–729. doi:10.3945/an.113.004812
- Gutiérrez, O. M. (2013b). Sodium- and phosphorus-based food additives: persistent but surmountable hurdles in the management of nutrition in chronic kidney disease. *Advances in chronic kidney disease*, 20, 150–156. doi:10.1053/j.ackd.2012.10.008
- Gutiérrez, O. M., Anderson, C., Isakova, T., Scialla, J., Negrea, L., Anderson, A. H., . . . Wolf, M. (2010). Low socioeconomic status associates with higher serum phosphate irrespective of race. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 21, 1953–1960. doi:10.1681/ASN.2010020221
- Gutiérrez, O. M., Kalantar-Zadeh, K., & Mehrotra, R. (2017). *Clinical Aspects of Natural and Added Phosphorus in Foods*. New York, NY: Springer New York. doi:10.1007/978-1-4939-6566-3
- GV-SOLAS und Arbeitskreis 4 in der TVT (2017). Empfehlung zur Blutentnahme bei Versuchstieren, insbesondere kleinen Versuchstieren, 9–10.
- Hallberg, L., Rossander, L., & Skånberg, A. B. (1987). Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. *The American journal of clinical nutrition*, 45, 988–996. doi:10.1093/ajcn/45.5.988
- Han, X., Li, L., Yang, J., King, G., Xiao, Z., & Quarles, L. D. (2016). Counter-regulatory paracrine actions of FGF-23 and 1,25(OH)<sub>2</sub>D in macrophages. *FEBS letters*, 590, 53–67. doi:10.1002/1873-3468.12040
- Hardcastle, M., & Dittmer, K. (2015). Fibroblast Growth Factor 23: a new dimension to diseases of calcium- phosphorus metabolism. *Veterinary pathology*, 52 (5), 770–784. doi:10.1177/0300985815586222
- Harjes, L., Parker, V., Dembek, K., Young, G., Giovaninni, L., Kogika, M., . . . Toribio, R. (2017). Fibroblast Growth Factor-23 concentration in dogs with chronic kidney disease. *Journal of veterinary internal medicine*, 31, 784–790.

## LITERATURVERZEICHNIS

- Harris, W., Heany, R., Davis, L., Weinberg, E., Coutts, R., & Schiller, A. (1976). Stimulation of bone formation in vivo by phosphate supplementation. *Calcif. Tiss. Res.*, 22, 85–98.
- Hattenhauer, O., Traebert, M., Murer, H., & Biber, J. (1999). Regulation of small intestinal Na-P(i) type IIb cotransporter by dietary phosphate intake. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 277, G756-62. doi:10.1152/ajpgi.1999.277.4.G756
- Haut, L. L., Alfrey, A. C., Guggenheim, S., Buddington, B., & Schrier, N. (1980). Renal toxicity of phosphate in rats. *Kidney international*, 17, 722–731. doi:10.1038/ki.1980.85
- Hebert, L. A., Lemann, J., Petersen, J. R., & Lennon, E. J. (1966). Studies of the mechanism by which phosphate infusion lowers serum calcium concentration. *The Journal of Clinical Investigation*, 45, 1886–1894. doi:10.1172/JCI105493
- Herbst, S., & Dobenecker, B. (2019a). Apparent digestibility of different phosphate sources in dogs. *Proceedings ESVCN Congress 2019, Turin*, 23.
- Herbst, S., & Dobenecker, B. (2019b). Increasing the Ca/P ratio does not reduce the apparent digestibility of phosphorus and changes of serum parameters in dogs after supplementing inorganic phosphate. *Proceedings ESVCN Congress 2019, Turin*, 23.
- Hertel-Böhnke, P. (2018). *Einfluss der Phosphorquelle und des Calcium-Phosphor-Verhältnisses bei Phosphorübersorgung auf Parameter der Nierengesundheit bei der Katze*. München.
- Hill, R. C., Burrows, C. F., Ellison, G. W., & Bauer, J. E. (2001). The effect of texturized vegetable protein from soy on nutrient digestibility compared to beef in cannulated dogs. *Journal of animal science*, 79, 2162–2171. doi:10.2527/2001.7982162x
- Himathongkam, T., Dluhy, R. G., & Williams, G. H. (1975). Potassium-aldosterone-renin interrelationships. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 41, 153–159. doi:10.1210/jcem-41-1-153
- Hinney, B., & Leschnik, M. (2015). Reiseparasitosen der Hunde und Katzen. *Kleintierpraxis*, 60 (5). doi:10.2377/0023-2076-60-25

## LITERATURVERZEICHNIS

- Hoff-Jørgensen, E. (1946). The influence of phytic acid on the absorption of calcium and phosphorus: 1. In dogs. *The Biochemical journal*, 40, 189–192.
- How, K. L., Hazewinkel, H.A.W., & Mol, J. A. (1994). Dietary Vitamin D Dependence of Cat and Dog Due to Inadequate Cutaneous Synthesis of Vitamin D. *General and Comparative Endocrinology*, 96, 12–18. doi:10.1006/gcen.1994.1154
- Hruska, K. A., Mathew, S., Lund, R., Qiu, P., & Pratt, R. (2008). Hyperphosphatemia of chronic kidney disease. *Kidney international*, 74, 148–157. doi:10.1038/ki.2008.130
- Hu, M. C., Shi, M., Zhang, J., Quiñones, H., Griffith, C., Kuro-o, M., & Moe, O. W. (2011). Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 22, 124–136. doi:10.1681/ASN.2009121311
- Hu, M. C., Shiizaki, K., Kuro-o, M., & Moe, O. W. (2013). Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism. *Annual review of physiology*, 75, 503–533. doi:10.1146/annurev-physiol-030212-183727
- Huang, C.-L., & Moe, O. W. (2011). Klotho: a novel regulator of calcium and phosphorus homeostasis. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 462, 185–193. doi:10.1007/s00424-011-0950-5
- Huang, J. C., Sakata, T., Pflieger, L. L., Bencsik, M., Halloran, B. P., Bikle, D. D., & Nissenson, R. A. (2004). PTH differentially regulates expression of RANKL and OPG. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 19, 235–244. doi:10.1359/JBMR.0301226
- Humalda, J. K., Yeung, S. M. H., Geleijnse, J. M., Gijssbers, L., Riphagen, I. J., Hoorn, E. J., . . . Borst, M. H. de (2020). Effects of Potassium or Sodium Supplementation on Mineral Homeostasis: A Controlled Dietary Intervention Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 105. doi:10.1210/clinem/dgaa359
- Ibels, L. S., Alfrey, A. C., Huffer, W. E., Craswell, P. W., Anderson, J. T., & Weil, R. (1979). Arterial calcification and pathology in uremic patients undergoing dialysis. *The American Journal of Medicine*, 66, 790–796. doi:10.1016/0002-9343(79)91118-5

## LITERATURVERZEICHNIS

- International Renal Interest Society (2020, January 6). IRIS Kidney - Guidelines - IRIS Staging of CKD. Retrieved from <http://www.iris-kidney.com/guidelines/staging.html>.
- IVA (2019). "Gestis-Stoffdatenbank". *gestis.itrust.de*.
- Jackson, H. A., & Barber, P. J. (1998). Resolution of metastatic calcification in the paws of a cat with successful dietary management of renal hyperparathyroidism. *Journal of Small Animal Practice*, 39, 495–497. doi:10.1111/j.1748-5827.1998.tb03687.x
- Jacob, F., Polzin, D. J., Osborne, C. A., Allen, T. A., Kirk, C. A., Neaton, J. D., . . . Swanson, L. L. (2002). Clinical evaluation of dietary modification for treatment of spontaneous chronic renal failure in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220, 1163–1170. doi:10.2460/javma.2002.220.1163
- Janßen, E., Matter, Y., Rieß, P., & Seifert, D. (2006). Nassaufschluss unter Druck. *VDLufa Methodenbuch III, 6.Erg.*, 10.8.1, 1–4.
- Jehle, P. M. (2017). Update Knochenstoffwechsel bei Niereninsuffizienz. *Der Nephrologe*, 12, 162–167. doi:10.1007/s11560-017-0142-1
- Jenkins, K. J., & Phillips, P. H. (1960a). The mineral requirements of the dog. I. Phosphorus requirement and availability. *The Journal of nutrition*, 70, 235–240. doi:10.1093/jn/70.2.235
- Jenkins, K. J., & Phillips, P. H. (1960b). The mineral requirements of the dog. II. The relation of calcium, phosphorus and fat levels to minimal calcium and phosphorus requirements. *The Journal of nutrition*, 70, 241–246. doi:10.1093/jn/70.2.241
- Jin, H., Xu, C.-X., Lim, H.-T., Park, S.-J., Shin, J.-Y., Chung, Y.-S., . . . Cho, M.-H. (2009). High dietary inorganic phosphate increases lung tumorigenesis and alters Akt signaling. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 179, 59–68. doi:10.1164/rccm.200802-306OC
- Jono, S., McKee, M. D., Murry, C. E., Shioi, A., Nishizawa, Y., Mori, K., . . . Giachelli, C. M. (2000). Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circulation research*, 87, E10-7. doi:10.1161/01.res.87.7.e10

## LITERATURVERZEICHNIS

- Jowsey, J., Reiss, E., & Canterbury, J. (1974). Long-term effects of high phosphorus intake on parathyroid hormone levels and bone metabolism. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 45, 801–808. doi:10.3109/17453677408989691
- Kalantar-Zadeh, K., Gutekunst, L., Mehrotra, R., Kovesdy, C., Bross, R., Shinaberger, C., . . . Kopple, J. (2010). Understanding Sources of Dietary Phosphorus in the Treatment of Patients with Chronic Kidney Disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 5, 519–530. doi:10.2215/CJN.06080809
- KEGG (Ed.) (2019). *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes; September 29th 2019*: [https://www.genome.jp/dbget-bin/www\\_bfind\\_sub?mode=bfind&max\\_hit=1000&locale=en&serv=kegg&dbkey=reaction&keywords=phosphate&page=1](https://www.genome.jp/dbget-bin/www_bfind_sub?mode=bfind&max_hit=1000&locale=en&serv=kegg&dbkey=reaction&keywords=phosphate&page=1).
- Kempson, S. A., Lötscher, M., Kaissling, B., Biber, J., Murer, H., & Levi, M. (1995). Parathyroid hormone action on phosphate transporter mRNA and protein in rat renal proximal tubules. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 268, F784-91. doi:10.1152/ajprenal.1995.268.4.F784
- Kestenbaum, B., Sampson, J. N., Rudser, K. D., Patterson, D. J., Seliger, S. L., Young, B., . . . Andress, D. L. (2005). Serum phosphate levels and mortality risk among people with chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 16, 520–528. doi:10.1681/ASN.2004070602
- Ketteler, M., & Floege, J. (2016). Chronische Niereninsuffizienz: Störungen im Mineral- und Knochenstoffwechsel. In: H. Lehnert, S. M. Schellong, J. Mößner, C. Sieber, W. Swoboda, A. Neubauer, . . . G. Hasenfuß (Eds.), *DGIM Innere Medizin*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1–6. doi:10.1007/978-3-642-54676-1\_81-1
- Kidder, A., & Chew, D. (2009). Treatment options for hyperphosphatemia in feline CKD. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 913–924.
- Kienzle, E., & Wilms-Eilers, S. (1994). Struvite Diet in Cats: Effect of Ammonium Chloride and Carbonates on Acid Base Balance in Cats. *J Nutr*, 124, 2652–2659.
- Kienzle, E., Brenten, T., & Dobenecker, B. (2017). Impact of faecal DM excretion on faecal calcium losses in dogs eating complete moist and dry pet foods - food digestibility is a major

## LITERATURVERZEICHNIS

- determinant of calcium requirements. *Journal of nutritional science*, 6, e13. doi:10.1017/jns.2017.11
- Kienzle, E., Dobenecker, B., Wichert, B., & Schuster, S. (2006). Effect of fecal water and dry matter excretion on fecal mineral excretion in dogs studied in a fiber model. *The Journal of nutrition*, 136, 2001S-2003S. doi:10.1093/jn/136.7.2001S
- Kirchner, S., Muduli, A., Casirola, D., Prum, K., Douard, V., & Ferraris, R. P. (2008). Luminal fructose inhibits rat intestinal sodium-phosphate cotransporter gene expression and phosphate uptake. *The American journal of clinical nutrition*, 87, 1028–1038. doi:10.1093/ajcn/87.4.1028
- Komaba, H., & Fukagawa, M. (2016). Phosphate—a poison for humans? *Kidney international*, 90, 753–763. doi:10.1016/j.kint.2016.03.039
- Komaba, H., Goto, S., Fujii, H., Hamada, Y., Kobayashi, A., Shibuya, K., . . . Fukagawa, M. (2010). Depressed expression of Klotho and FGF receptor 1 in hyperplastic parathyroid glands from uremic patients. *Kidney international*, 77, 232–238. doi:10.1038/ki.2009.414
- Kowalewich, N. J., & Hawkins, E. C. (1992). Calcinosis circumscripta involving the metatarsal region in a dog with chronic renal failure. *The Canadian Veterinary Journal*, 33, 465–466.
- Krajisnik, T., Björklund, P., Marsell, R., Ljunggren, O., Akerström, G., Jonsson, K. B., . . . Larsson, T. E. (2007). Fibroblast growth factor-23 regulates parathyroid hormone and 1 $\alpha$ -hydroxylase expression in cultured bovine parathyroid cells. *The Journal of endocrinology*, 195, 125–131. doi:10.1677/JOE-07-0267
- Krapf, R., Glatz, M., & Hulter, H. N. (1995). Neutral phosphate administration generates and maintains renal metabolic alkalosis and hyperparathyroidism. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 268, F802-7. doi:10.1152/ajprenal.1995.268.5.F802
- Kuro-o, M. (2013). Klotho, phosphate and FGF-23 in ageing and disturbed mineral metabolism. *Nature reviews. Nephrology*, 9, 650–660. doi:10.1038/nrneph.2013.111
- Kuro-o, M., Matsumura, Y., Aizawa, H., Kawaguchi, H., Suga, T., Utsugi, T., . . . Nabeshima, Y.-i. (1997). Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*, 390, 45–51. doi:10.1038/36285



## LITERATURVERZEICHNIS

- Kurosu, H., Ogawa, Y., Miyoshi, M., Yamamoto, M., Nandi, A., Rosenblatt, K. P., . . . Kuroo, M. (2006). Regulation of Fibroblast Growth Factor-23 Signaling by Klotho. *Journal of Biological Chemistry*, 281, 6120–6123. doi:10.1074/jbc.C500457200
- Laflamme, G. H., & Jowsey, J. (1972). Bone and soft tissue changes with oral phosphate supplements. *The Journal of Clinical Investigation*, 51, 2834–2840. doi:10.1172/JCI107106
- Laflamme, D. R. P. C. (1997). Development and validation of a body condition score system for dogs: a clinical tool. *Canine Pract*, 22 (4), 10–15.
- Lederer, E., & Miyamoto, K.-i. (2012). Clinical consequences of mutations in sodium phosphate cotransporters. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 7, 1179–1187. doi:10.2215/CJN.09090911
- Lee, D. B., Walling, M. W., & Corry, D. B. (1986). Phosphate transport across rat jejunum: influence of sodium, pH, and 1,25-dihydroxyvitamin D3. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 251, G90-5. doi:10.1152/ajpgi.1986.251.1.G90
- Leidinger, C., Herrmann, F., Thöne-Reineke, C., Baumgart, N., & Baumgart, J. (2017). Introducing Clicker Training as a Cognitive Enrichment for Laboratory Mice. *Journal of Visualized Experiments*, 121. doi:10.3791/55415
- Liesegang, A., Sassi, M.-L., & Risteli, J. (2003). Diurnal variation in concentrations of various markers of bone metabolism in growing female goats and sheep. *Animal Science*, 77, 197–203. doi:10.1017/S1357729800058938
- Lim, K., Lu, T.-S., Molostvov, G., Lee, C., Lam, F. T., Zehnder, D., & Hsiao, L.-L. (2012). Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. *Circulation*, 125, 2243–2255. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.053405
- Linefsky, J. P., O'Brien, K. D., Katz, R., Boer, I. H. de, Barasch, E., Jenny, N. S., . . . Kestenbaum, B. (2011). Association of serum phosphate levels with aortic valve sclerosis and annular calcification: the cardiovascular health study. *Journal of the American College of Cardiology*, 58, 291–297. doi:10.1016/j.jacc.2010.11.073

## LITERATURVERZEICHNIS

- Lineva, A., Kirchner, R., Kienzle, E., & Kamphues, J. (2018). A pilot study on in vitro solubility of phosphorus from mineral sources, feed ingredients and compound feed for pigs, poultry, dogs and cats. *Journal of animal physiology and animal nutrition*. doi:10.1111/jpn.12986
- Lippi, I., Guidi, G., Marchetti, V., Tognetti, R., & Meucci, V. (2014). Prognostic role of the product of serum calcium and phosphorus concentrations in dogs with chronic kidney disease: 31 cases (2008-2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 245, 1135–1140. doi:10.2460/javma.245.10.1135
- Liu, S., Guo, R., Simpson, L. G., Xiao, Z., Burnham, C. E., & Quarles, L. D. (2003). Regulation of Fibroblastic Growth Factor 23 Expression but Not Degradation by PHEX. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 37419–37426. doi:10.1074/jbc.M304544200
- Liu, S., & Quarles, L. D. (2007). How fibroblast growth factor 23 works. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 18, 1637–1647. doi:10.1681/ASN.2007010068
- Liu, S., Tang, W., Zhou, J., Stubbs, J. R., Luo, Q., Pi, M., & Quarles, L. D. (2006). Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 17, 1305–1315. doi:10.1681/ASN.2005111185
- Lobaugh, B. (1995). Blood calcium and phosphorus regulation. *Calcium and Phosphorus in Human and Disease*, 27–43.
- Locatelli, F., Cannata-Andía, J. B., Drüeke, T. B., Hörl, W. H., Fouque, D., Heimbürger, O., & Ritz, E. (2002). Management of disturbances of calcium and phosphate metabolism in chronic renal insufficiency, with emphasis on the control of hyperphosphataemia. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 17, 723–731. doi:10.1093/ndt/17.5.723
- Lochbühler, H., Sachs, J., & Raute-Kreinsen, U. (1995). The pharmacological effect of sodium phosphate after absorption from the peritoneal cavity. *European journal of pediatric surgery : official journal of Austrian Association of Pediatric Surgery ... [et al] = Zeitschrift für Kinderchirurgie*, 5, 84–87. doi:10.1055/s-2008-1066173
- López, I., Rodríguez-Ortiz, M. E., Almadén, Y., Guerrero, F., Oca, A. M. d., Pineda, C., . . . Aguilera-Tejero, E. (2011). Direct and indirect effects of parathyroid hormone on circulating

## LITERATURVERZEICHNIS

- levels of fibroblast growth factor 23 in vivo. *Kidney international*, 80, 475–482. doi:10.1038/ki.2011.107
- Lopez-Hilker, S., Dusso, A. S., Rapp, N. S., Martin, K. J., & Slatopolsky, E. (1990). Phosphorus restriction reverses hyperparathyroidism in uremia independent of changes in calcium and calcitriol. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 259, F432-7. doi:10.1152/ajprenal.1990.259.3.F432
- Macdougall, D. F., Cook, T., Steward, A. P., & Cattell, V. (1986). Canine chronic renal disease: Prevalence and types of glomerulonephritis in the dog. *Kidney international*, 29, 1144–1151. doi:10.1038/ki.1986.120
- Mack, J. K., Alexander, L. G., Morris, P. J., Dobenecker, B., & Kienzle, E. (2015). Demonstration of uniformity of calcium absorption in adult dogs and cats. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 99, 801–809. doi:10.1111/jpn.12294
- Maga, J. A. (1982). Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30, 1–9. doi:10.1021/jf00109a001
- Marks, J., Churchill, L. J., Srai, S. K., Biber, J., Murer, H., Jaeger, P., . . . Unwin, R. J. (2007). Intestinal phosphate absorption in a model of chronic renal failure. *Kidney international*, 72, 166–173. doi:10.1038/sj.ki.5002292
- Marks, J., Debnam, E. S., & Unwin (2010). Phosphate homeostasis and the renal-gastrointestinal axis. *Am J Physiol Renal Physiol*, 299, 285–296.
- Marks, J., Churchill, L. J., Debnam, E. S., & Unwin, R. J. (2008). Matrix extracellular phosphoglycoprotein inhibits phosphate transport. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 19, 2313–2320. doi:10.1681/ASN.2008030315
- Marks, S. C., & Hervey, D. C. (1996). The structure and development of bone. in: *Principles of Bone Biology*. Bilezikian, J.P.; Raisz, L.G.; Rodan, G.A., 3, !\$.
- Martin, K. J., & González, E. A. (2011). Prevention and control of phosphate retention/hyperphosphatemia in CKD-MBD: what is normal, when to start, and how to treat?

## LITERATURVERZEICHNIS

- Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 6, 440–446.  
*doi:10.2215/CJN.05130610*
- Martin, R. R., Lisehora, G. R., Braxton, M., & Barcia, P. J. (1987). Fatal Poisoning From Sodium Phosphate Enema: Case Report and Experimental Study. *JAMA*, 257, 2190–2192.  
*doi:10.1001/jama.1987.03390160076030*
- Masuda Yuki, Hiroya Ohta, Yumiko Morita, Yoshiaki Nakayama, Ayumi Miyake, Nobuyuki Itoh, & Morichika Konishi (2015). Expression of Fgf23 in activated dendritic cells and macrophages in response to immunological stimuli in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, b14-00276. *doi:10.1248/bpb.b14-00276*
- Maynard, L. A. (Ed.) (1951). *Animal Nutrition* (3rd ed.). New York: McGraw-Hill Book Co., Inc.,
- Miyamoto, K.-i., Ito, M., Kuwahata, M., Kato, S., & Segawa, H. (2005). Inhibition of intestinal sodium-dependent inorganic phosphate transport by fibroblast growth factor 23. *Therapeutic apheresis and dialysis : official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy*, 9, 331–335. *doi:10.1111/j.1744-9987.2005.00292.x*
- Moe, S., Drüeke, T., Lamiere, N., & Eknoyan, G. (2007). Chronic Kidney Disease–Mineral-Bone Disorder: a new paradigm. *Advances in chronic kidney disease*, 14, 3–12.  
*doi:10.1053/j.ackd.2006.10.005*
- Morishita, K., Shirai, A., Kubota, M., Katakura, Y., Nabeshima, Y., Takeshige, K., & Kamiya, T. (2001). The progression of aging in klotho mutant mice can be modified by dietary phosphorus and zinc. *The Journal of nutrition*, 131, 3182–3188. *doi:10.1093/jn/131.12.3182*
- Moritz, A. (Ed.) (2013). *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*.
- Murer, H., Forster, I., & Biber, J. (2004). The sodium phosphate cotransporter family SLC34. *Pflügers Archiv*, 447, 763–767. *doi:10.1007/s00424-003-1072-5*
- Murer, H., Hernando, N., Forster, I., & Biber, J. (2001). Molecular mechanisms in proximal tubular and small intestinal phosphate reabsorption (Plenary Lecture). *Molecular Membrane Biology*, 18, 3–11. *doi:10.1080/09687680010019357*

## LITERATURVERZEICHNIS

- Nakagawa, N., Kinosaki, M., Yamaguchi, K., Shima, N., Yasuda, H., Yano, K., . . . Higashio, K. (1998). RANK Is the Essential Signaling Receptor for Osteoclast Differentiation Factor in Osteoclastogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 253, 395–400. doi:10.1006/bbrc.1998.9788
- Narang, R., Ridout, D., Nonis, C., & Kooner, J. S. (1997). Serum calcium, phosphorus and albumin levels in relation to the angiographic severity of coronary artery disease. *International Journal of Cardiology*, 60, 73–79. doi:10.1016/S0167-5273(97)02971-9
- Narins, R. G. (Ed.) (1994). *Maxwell and Kleeman's Clinical Disorders of Fluid and Electrolyte Metabolism, 5th edn.: pp 1084*. New York, NY: McGraw- Hill.
- National Research Council (1995). *Nutrient Requirements of the Mouse*. National Academies Press (US).
- National Research Council (2006). *Nutrient Requirements of Dogs and Cats*. Washington, D.C.: National Academies Press. doi:10.17226/10668
- Naumann, C., & Bassler, R. (1976). *Handbuch der Landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik: Methodenbuch Band III* (3rd ed.). Darmstadt: VDLUFA - Verlag.
- NCBI (2019). FGF23 fibroblast growth factor 23 [ *Canis lupus familiaris* (dog) ] Gene ID: 611773. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/611773>.
- Nishida, Y., Taketani, Y., Yamanaka-Okumura, H., Imamura, F., Taniguchi, A., Sato, T., . . . Takeda, E. (2006). Acute effect of oral phosphate loading on serum fibroblast growth factor 23 levels in healthy men. *Kidney international*, 70, 2141–2147. doi:10.1038/sj.ki.5002000
- Noori, N., Sims, J., Kopple, J., Shah A., Colman, S., Shinaberger, C., . . . Kalantar-Zadeh, K. (2010). Organic and inorganic phosphorus and its management in chronic kidney disease. *Iranian Journal of Kidney Disease*, 4, 89–100.
- Nordin, B. E. C. (1976). *Calcium, phosphate, and magnesium metabolism*. Churchill Livingstone.
- Nowik, M., Picard, N., Stange, G., Capuano, P., Tenenhouse, H. S., Biber, J., . . . Wagner, C. A. (2008). Renal phosphaturia during metabolic acidosis revisited: molecular mechanisms

## LITERATURVERZEICHNIS

- for decreased renal phosphate reabsorption. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 457, 539–549. doi:10.1007/s00424-008-0530-5
- Ohnishi, M., & Razzaque, M. S. (2010). Dietary and genetic evidence for phosphate toxicity accelerating mammalian aging. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 24, 3562–3571. doi:10.1096/fj.09-152488
- Omar, H., Chamberlin, A., Walker, V., & Wood, P. J. (2001). Immulite 2000 parathyroid hormone assay: stability of parathyroid hormone in EDTA blood kept at room temperature for 48 h. *Annals of clinical biochemistry*, 38, 561–563. doi:10.1177/000456320103800516
- Onufrak, S. J., Bellasi, A., Shaw, L. J., Herzog, C. A., Cardarelli, F., Wilson, P. W., . . . Raggi, P. (2008). Phosphorus levels are associated with subclinical atherosclerosis in the general population. *Atherosclerosis*, 199, 424–431. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2007.11.004
- Parker, V., Harjes, L., Dembek, K., Young, G., Chew, D., & Toribio, R. (2012). Association of Vitamin D metabolites with Parathyroid Hormone, Fibroblast Growth Factor-23, calcium, and phosphorus in dogs with various stages of chronic kidney disease. *Journal of veterinary internal medicine*.
- Pastoor, F., Otitz, R., van'T Klooster, A. T., & Beynen, A. C. (1995). Dietary phosphorus restriction to half the minimum required amount slightly reduces weight gain and length of tibia, but sustains femur mineralization and prevents nephrocalcinosis in female kittens. *British Journal of Nutrition*, 74, 85–100. doi:10.1079/BJN19950109
- Pastoor, F., van't Klooster, A. T., Mathot, J. N., & Beynen, A. C. (1995). Increasing phosphorus intake reduces urinary concentrations of magnesium and calcium in adult ovariectomized cats fed purified diets. *The Journal of nutrition*, 125, 1334–1341. doi:10.1093/jn/125.5.1334
- Pastoor, F., van'T Klooster, A., Mathot, J., & Beynen, A. (1995). Increasing phosphorus intake reduces urinary concentrations of magnesium and calcium in adult ovariectomized cats fed purified diets. *Journal of Nutrition*, 125, 1334–1341.
- Pearce, R., & Harper, W. (1982). A Method for the Quantitative Evaluation of Emulsion Stability in Coffee Whiteners. *Journal of Food Science*, 47, 680–681. doi:10.1111/j.1365-2621.1982.tb10154.x

## LITERATURVERZEICHNIS

- Philipov, J. P., Pascalev, M. D., Aminkov, B. Y., & Grosev, C. D. (1995). Changes in serum carboxyterminal telopeptide of type I collagen in an experimental model of canine osteomyelitis. *Calcified Tissue International*, 57, 152–154. doi:10.1007/BF00298436
- Plimmer, R. H. (1913). The Metabolism of Organic Phosphorus Compounds. Their Hydrolysis by the Action of Enzymes. *The Biochemical journal*, 7, 43–71. doi:10.1042/bj0070043
- Polzin, D. J. (2011). Chronic kidney disease in small animals. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 41, 15–30. doi:10.1016/j.cvsm.2010.09.004
- Polzin, D. J. (2019). When, If & How Much To Restrict Pi in Chronic Renal Disease. *PURINA Institute- Companion animal nutrition summit 2019, Costa Rica*, 63–65.
- Polzin, J., Osborne, C. A., Ross, S., & Jacob, F. (2000). Dietary management of feline chronic renal failure: where are we now? In what direction are we headed? *journal of Feline Medicine and Surgery*, 2, 75–82.
- Portale, A. A., Halloran, B. P., & Morris, R. C. (1989). Physiologic regulation of the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D by phosphorus in normal men. *The Journal of Clinical Investigation*, 83, 1494–1499. doi:10.1172/JCI114043
- Portale, A. A., Halloran, B. P., Murphy, M. M., & Morris, R. C. (1986). Oral intake of phosphorus can determine the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D by determining its production rate in humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 77, 7–12. doi:10.1172/JCI112304
- Prié, D., Torres, P. U., & Friedlander, G. (2009). Latest findings in phosphate homeostasis. *Kidney international*, 75, 882–889. doi:10.1038/ki.2008.643
- Qunibi, W. Y. (2004). Consequences of hyperphosphatemia in patients with end-stage renal disease (ESRD). *Kidney international. Supplement*, S8-S12. doi:10.1111/j.1523-1755.2004.09004.x
- Rabinowitz, L. (1996). Aldosterone and potassium homeostasis. *Kidney international*, 49, 1738–1742. doi:10.1038/ki.1996.258

## LITERATURVERZEICHNIS

- Razzaque, M. S. (2011). Phosphate toxicity: new insights into an old problem. *Clinical Science*, 91–97.
- Renz, H. (Ed.) (2003). *Integrative klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin: Pathophysiologie, Pathobiochemie, Hämatologie*. Berlin: de Gruyter.
- Reynolds, J. L., Joannides, A. J., Skepper, J. N., McNair, R., Schurgers, L. J., Proudfoot, D., . . . Shanahan, C. M. (2004). Human vascular smooth muscle cells undergo vesicle-mediated calcification in response to changes in extracellular calcium and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 15, 2857–2867. doi:10.1097/01.ASN.0000141960.01035.28
- Ritz, E., Hahn, K., Ketteler, M., Kuhlmann, M., & Mann, J. (2012). Phosphate additives in food- a health risk. *Deutsches Ärzteblatt International*, 109, 49–55. doi:10.3238/arztebl.2012.0049
- Rodriguez-Ortiz, M. E., Lopez, I., Muñoz-Castañeda, J. R., Martinez-Moreno, J. M., Ramírez, A. P., Pineda, C., . . . Almaden, Y. (2012). Calcium deficiency reduces circulating levels of FGF23. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 23, 1190–1197. doi:10.1681/ASN.2011101006
- Rosenquist, C., Fledelius, C., Christgau, S., Pedersen, B. J., Bonde, M., Qvist, P., & Christiansen, C. (1998). Serum CrossLaps One Step ELISA. First application of monoclonal antibodies for measurement in serum of bone-related degradation products from C-terminal telopeptides of type I collagen. *Clinical Chemistry*, 44, 2281–2289. doi:10.1093/clinchem/44.11.2281
- Ross, L. A., Finco, D. R., & Crowell, W. A. (1982). Effect of dietary phosphorus restriction on the kidneys of cats with reduced renal mass. *American journal of veterinary research*, 43, 1023–1026.
- Roth, M. (2018). Behavioural education (training) of laboratory animals impacts animal welfare- and possibly more. *Proceedings ESVCN Congress 2018, Munich*, 22–27.



## LITERATURVERZEICHNIS

- Roudebush, P., Polzin, D. J., Adams, L. G., Towell, T. L., & Forrester, S. D. (2010). An evidence-based review of therapies for canine chronic kidney disease. *The Journal of small animal practice*, 51, 244–252. doi:10.1111/j.1748-5827.2010.00932.x
- Rubner, M. (1902). The law of energy consumption in nutrition. *Washington, DC: US Army Research Institute*, 7–57.
- Rusenov, A. (2010). A clinical case of secondary renal hyperparathyroidism in a four-month-old Pug puppy. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 161, 570–573.
- Russell, W. M. S., & Burch, R. L. (1959). *The principles of humane experimental technique*. London: Methuen & Co. Ltd.
- Sabbagh, Y., O'Brien, S. P., Song, W., Boulanger, J. H., Stockmann, A., Arbeeny, C., & Schiavi, S. C. (2009). Intestinal npt2b plays a major role in phosphate absorption and homeostasis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 20, 2348–2358. doi:10.1681/ASN.2009050559
- Saito, H., Maeda, A., Ohtomo, S.-i., Hirata, M., Kusano, K., Kato, S., . . . Fukushima, N. (2005). Circulating FGF-23 Is Regulated by 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyvitamin D3 and Phosphorus in Vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 2543–2549. doi:10.1074/jbc.M408903200
- Sanchez-Niño, M. D., Sanz, A. B., & Ortiz, A. (2013). Klotho to treat kidney fibrosis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 24, 687–689. doi:10.1681/ASN.2013030294
- Schaer, M., & Gaschen, F. (Eds.) (2016). *Clinical Medicine of the Dog and Cat*; (3rd ed.). Inc. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Schapiro, S., Magden, E., Reamer, L., Mareno, M., & Lambeth, S. (2018). Behavioral Training as Part of the Health Care Program. *Management of Animal Care and Use Programs in Research, Education, and Testing, CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton (FL)*, 2.
- Schlüter, K.-D., & Piper, H. M. (1998). Cardiovascular actions of parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide. *Cardiovascular Research*, 37, 34–41. doi:10.1016/S0008-6363(97)00194-6

## LITERATURVERZEICHNIS

- Schmitt, S., Mack, J., Kienzle, E., Alexander, L. G., Morris, P. J., Colyer, A., & Dobenecker, B. (2018). Faecal calcium excretion does not decrease during long-term feeding of a low-calcium diet in adult dogs. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102, e798-e805. doi:10.1111/jpn.12837
- Schmitt, S., & Dobenecker, B. (2020). Calcium and phosphorus metabolism in peripartal dogs. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 104, 707–714. doi:10.1111/jpn.13310
- Schneider, P., Müller-Peddinghaus, R., Pappritz, G., Trieb, G., Trautwein, G., & Ueberberg, H. (1980). Potassium hydrogen phosphate induced nephropathy in the dog. *Veterinary pathology*, 1980, 720–737.
- Schoenmakers, I., Hazewinkel, H. A., & van den Brom, W. E. (1999). Excessive Ca and P intake during early maturation in dogs alters Ca and P balance without long-term effects after dietary normalization. *The Journal of nutrition*, 129, 1068–1074. doi:10.1093/jn/129.5.1068
- Schuknecht, A. (1991). *Untersuchungen zum Einfluss der Fütterung auf den Harn-pH-Wert und die renale Mineralstoffausscheidung bei der Katze*. Tierärztliche Hochschule Hannover, Deutschland: Doktorarbeit.
- Schünemann, C., Lass, N., & Meyer, H. (1989). Intestinaler Stoffwechsel von Calcium, Magnesium und Phosphor beim Hund. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 61, 193–205. doi:10.1111/j.1439-0396.1989.tb00100.x
- Schweigert, F. J. (2015). *Physiologie der Haustiere* (5th ed.). Stuttgart: Enke Verlag.
- Segawa, H., Onitsuka, A., Kuwahata, M., Hanabusa, E., Furutani, J., Kaneko, I., . . . Miyamoto, K.-i. (2009). Type IIc sodium-dependent phosphate transporter regulates calcium metabolism. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 20, 104–113. doi:10.1681/ASN.2008020177
- Segawa, H., Yamanaka, S., Ito, M., Kuwahata, M., Shono, M., Yamamoto, T., & Miyamoto, K.-i. (2005). Internalization of renal type IIc Na-Pi cotransporter in response to a high-phosphate diet. *American journal of physiology. Renal physiology*, 288, F587-96. doi:10.1152/ajprenal.00097.2004

## LITERATURVERZEICHNIS

- Shaikh, A., Berndt, T., & Kumar, R. (2008). Regulation of phosphate homeostasis by the phosphatonins and other novel mediators. *Pediatric Nephrology*, 23, 1203–1210. doi:10.1007/s00467-008-0751-z
- Shaman, A. M., & Kowalski, S. R. (2016). Hyperphosphatemia Management in Patients with Chronic Kidney Disease. *Saudi pharmaceutical journal : SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 24, 494–505. doi:10.1016/j.jsps.2015.01.009
- Sheffy, B. E., Williams, A. J., Zimmer, J. F., & Ryan, G. D. (1985). Nutrition and metabolism of the geriatric dog. *The Cornell Veterinarian*, 75(2), 324–347.
- Shimada, T., Hasegawa, H., Yamazaki, Y., Muto, T., Takeuchi, Y., Fujita, T., . . . Yamashita, T. (2002). FGF-23 is a novel humoral factor regulating vitamin D metabolism. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13, 28A-28A.
- Shimada, T., Hasegawa, H., Yamazaki, Y., Muto, T., Hino, R., Takeuchi, Y., . . . Yamashita, T. (2004). FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 19, 429–435. doi:10.1359/JBMR.0301264
- Shimada, T., Urakawa, I., Isakova, T., Yamazaki, Y., Epstein, M., Wesseling-Perry, K., . . . Jüppner, H. (2010). Circulating fibroblast growth factor 23 in patients with end-stage renal disease treated by peritoneal dialysis is intact and biologically active. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 95, 578–585. doi:10.1210/jc.2009-1603
- Shroff, R. C., McNair, R., Skepper, J. N., Figg, N., Schurgers, L. J., Deanfield, J., . . . Shanahan, C. M. (2010). Chronic mineral dysregulation promotes vascular smooth muscle cell adaptation and extracellular matrix calcification. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 21, 103–112. doi:10.1681/ASN.2009060640
- Shuto, E., Taketani, Y., Tanaka, R., Harada, N., Isshiki, M., Sato, M., . . . Takeda, E. (2009). Dietary Phosphorus Acutely Impairs Endothelial Function. *J Am Soc Nephrol*, 20, 1504–1512. doi:10.1681/ASN.2008101106
- Siedler, S. (2018). *Der Einfluss verschiedener Phosphorquellen bei alimentärer Phosphorübersorgung auf die Phosphorverdaulichkeit und auf ausgewählte Blutparameter beim Hund*. München.

## LITERATURVERZEICHNIS

- Silver, J., Kilav, R., & Naveh-Many, T. (2002). Mechanisms of secondary hyperparathyroidism. *American journal of physiology. Renal physiology*, 283, F367-76. doi:10.1152/ajprenal.00061.2002
- Silver, J., Rodriguez, M., & Slatopolsky, E. (2012). FGF23 and PTH--double agents at the heart of CKD. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 27, 1715–1720. doi:10.1093/ndt/gfs050
- Silverberg, S. J., Shane, E., Clemens, T. L., Dempster, D. W., Segre, G. V., Lindsay, R., & Bilezikian, J. P. (1986). The effect of oral phosphate administration on major indices of skeletal metabolism in normal subjects. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 1, 383–388. doi:10.1002/jbmr.5650010412
- Sitara, D., Razzaque, M. S., Hesse, M., Yoganathan, S., Taguchi, T., Erben, R. G., . . . Lanske, B. (2004). Homozygous ablation of fibroblast growth factor-23 results in hyperphosphatemia and impaired skeletogenesis, and reverses hypophosphatemia in Phe<sup>x</sup>-deficient mice. *Matrix Biology*, 23, 421–432. doi:10.1016/j.matbio.2004.09.007
- Slatopolsky, E., Caglar, S., Penneli, J., Taggart, D., Canterbury, J., Reiss, E., & Bricker, N. (1971). On the Pathogenesis of Hyperparathyroidism in Chronic Experimental Renal Insufficiency in the Dog. *The Journal of Clinical Investigation*, 50, 492–499.
- Souci, S. W., Fachmann, W., Kraut, H., & Andersen, G. (Eds.) (2016). *Food composition and nutrition tables: Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen* (8th ed.). Stuttgart: MedPharm Scientific Publishers an imprint of Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
- Stoldt, W. (1949). *Deutsches Lebensmittel Rundschreiben*, 49, 41.
- Stubbs, J., Liu, S., & Quarles, L. D. (2007). Role of fibroblast growth factor 23 in phosphate homeostasis and pathogenesis of disordered mineral metabolism in chronic kidney disease. *Seminars in Dialysis*, 20, 302–308. doi:10.1111/j.1525-139X.2007.00308.x
- Stubbs, J. R., Liu, S., Tang, W., Zhou, J., Wang, Y., Yao, X., & Quarles, L. D. (2007). Role of hyperphosphatemia and 1,25-dihydroxyvitamin D in vascular calcification and mortality in

## LITERATURVERZEICHNIS

- fibroblastic growth factor 23 null mice. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 18, 2116–2124. doi:10.1681/ASN.2006121385
- Sullivan, C., Sayre, S. S., Leon, J. B., Machekano, R., Love, T. E., Porter, D., . . . Sehgal, A. R. (2009). Effect of food additives on hyperphosphatemia among patients with end-stage renal disease: a randomized controlled trial. *JAMA*, 301, 629–635. doi:10.1001/jama.2009.96
- Takeshita, K., Fujimori, T., Kurotaki, Y., Honjo, H., Tsujikawa, H., Yasui, K., . . . Nabeshima, Y.-i. (2004). Sinoatrial node dysfunction and early unexpected death of mice with a defect of *klotho* gene expression. *Circulation*, 109, 1776–1782. doi:10.1161/01.CIR.0000124224.48962.32
- TenCate, A. R. (1998). Oral histology: development, structure, and function. *Mosby-Year Book Inc., St. Louis*.
- Thumfart, J., Jung, S., Amasheh, S., Krämer, S., Peters, H., Sommer, K., . . . Müller, D. (2008). Magnesium stimulates renal phosphate reabsorption. *American journal of physiology. Renal physiology*, 295, F1126-33. doi:10.1152/ajprenal.00353.2007
- Tonelli, M., Sacks, F., Pfeffer, M., Gao, Z., & Curhan, G. (2005). Relation between serum phosphate level and cardiovascular event rate in people with coronary disease. *Circulation*, 112, 2627–2633. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.553198
- Tsujikawa, H., Kurotaki, Y., Fujimori, T., Fukuda, K., & Nabeshima, Y.-i. (2003). *Klotho*, a gene related to a syndrome resembling human premature aging, functions in a negative regulatory circuit of vitamin D endocrine system. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 17, 2393–2403. doi:10.1210/me.2003-0048
- Turnlund, J. R., King, J. C., Keyes, W. R., Gong, B., & Michel, M. C. (1984). A stable isotope study of zinc absorption in young men: effects of phytate and alpha-cellulose. *The American journal of clinical nutrition*, 40, 1071–1077. doi:10.1093/ajcn/40.5.1071
- Urakawa, I., Yamazaki, Y., Shimada, T., Iijima, K., Hasegawa, H., Okawa, K., . . . Yamashita, T. (2006). *Klotho* converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*, 444, 770–774. doi:10.1038/nature05315

## LITERATURVERZEICHNIS

- Uribarri, J. (2007). Phosphorus homeostasis in normal health and in chronic kidney disease patients with special emphasis on dietary phosphorus intake. *Seminars in Dialysis*, 20, 295–301. doi:10.1111/j.1525-139X.2007.00309.x
- Uribarri, J., & Calvo, M. S. (2013). Introduction to dietary phosphorus excess and health. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1301, iii–iv. doi:10.1111/nyas.12302
- Villa-Bellosta, R., Ravera, S., Sorribas, V., Stange, G., Levi, M., Murer, H., . . . Forster, I. C. (2009). The Na<sup>+</sup>-Pi cotransporter PiT-2 (SLC20A2) is expressed in the apical membrane of rat renal proximal tubules and regulated by dietary Pi. *American journal of physiology. Renal physiology*, 296, F691-9. doi:10.1152/ajprenal.90623.2008
- Walker, H. K., Hall, W. D., Hurst, J. W., & editors (Eds.) (1990). *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. (3rd ed.). Boston, MA: Butterworth Publishers, a division of Reed Publishing.
- Walker, K., & Seth, J. (2000). Stability of parathyroid hormone in blood from renal patients on haemodialysis. *Annals of clinical biochemistry*, 37, 800–801.
- Walling, M. W. (1977). Intestinal Ca and phosphate transport: differential responses to vitamin D3 metabolites. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 233, E488-94. doi:10.1152/ajpendo.1977.233.6.E488
- Walton, J., & Gray, T. K. (1979). Absorption of inorganic phosphate in the human small intestine. *Clinical science (London, England : 1979)*, 56, 407–412. doi:10.1042/cs0560407
- Wang, X., & Parsons, C. M. (1998). Effect of raw material source, processing systems, and processing temperatures on amino acid digestibility of meat and bone meals. *Poultry Science*, 77, 834–841. doi:10.1093/ps/77.6.834
- Watson, K. E., Abrolat, M. L., Malone, L. L., Hoeg, J. M., Doherty, T., Detrano, R., & Demer, L. L. (1997). Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. *Circulation*, 96, 1755–1760. doi:10.1161/01.cir.96.6.1755
- Weisinger, J. R., & Bellorín-Font, E. (1998). Magnesium and phosphorus. *The Lancet*, 352, 391–396. doi:10.1016/S0140-6736(97)10535-9

## LITERATURVERZEICHNIS

- Westerberg, P.-A., Linde, T., Wikström, B., Ljunggren, O., Stridsberg, M., & Larsson, T. E. (2007). Regulation of fibroblast growth factor-23 in chronic kidney disease. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 22, 3202–3207. doi:10.1093/ndt/gfm347
- Wolfensohn, S., & Lloyd, M. (Eds.) (2003). *Handbook of Laboratory Animal - Management and Welfare* (4th ed.). Wiley-Blackwell.
- Wurtz, T., Ellerström, C., Lundmark, C., & Christersson, C. (1998). Collagen mRNA expression during tissue development: The temporospatial order coordinates bone morphogenesis with collagen fiber formation. *Matrix Biology*, 17, 349–360. doi:10.1016/S0945-053X(98)90087-7
- Xie, J., Yoon, J., An, S.-W., Kuro-o, M., & Huang, C.-L. (2015). Soluble Klotho Protects against Uremic Cardiomyopathy Independently of Fibroblast Growth Factor 23 and Phosphate. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 26, 1150–1160. doi:10.1681/ASN.2014040325
- Xu, H., Bai, L., Collins, J. F., & Ghishan, F. K. (2002). Age-dependent regulation of rat intestinal type IIb sodium-phosphate cotransporter by 1,25-(OH)(2) vitamin D(3). *American journal of physiology. Cell physiology*, 282, C487-93. doi:10.1152/ajpcell.00412.2001
- Yamada, S., Tokumoto, M., Tatsumoto, N., Taniguchi, M., Noguchi, H., Nakano, T., . . . Kitazono, T. (2014). Phosphate overload directly induces systemic inflammation and malnutrition as well as vascular calcification in uremia. *American journal of physiology. Renal physiology*, 306, F1418-28. doi:10.1152/ajprenal.00633.2013
- Yaphe, W., & Forrester, S. (1994). Renal secondary hyperparathyroidism- pathophysiology, diagnosis, and treatment/ IPERPARATIROIDISMO SECONDARIO RENALE: FISIOPATOLOGIA, DIAGNOSI E TRATTAMENTO. *Compend Contin Educ Pract Vet*, 16, 173–181.
- Zhang, B., Umbach, A. T., Chen, H., Yan, J., Fakhri, H., Fajol, A., . . . Lang, F. (2016). Up-regulation of FGF23 release by aldosterone. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 470, 384–390. doi:10.1016/j.bbrc.2016.01.034

## LITERATURVERZEICHNIS

Zittermann, A., Schleithoff, S. S., Tenderich, G., Berthold, H. K., Körfer, R., & Stehle, P. (2003). Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure? *Journal of the American College of Cardiology*, 41, 105–112. doi:10.1016/S0735-1097(02)02624-4



## LITERATURVERZEICHNIS

TABELLENANHANG

10. TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 1:** Aufnahme an Versuchsfutter [g TS/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	15	22	15	17
2	16	23	15	19
3	16	22	16	17
4	15	23	15	17
5	16	23	16	17
6	16	23	15	17
7	17	22	16	18
8	19	23	18	20
MW	16	23	16	18
s	1	0	1	1

**Anh. Tab. 2:** Aufnahme an Schweineschmalz [g TS/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	4	4	5	11
2	5	5	6	17
3	10	5	10	17
4	5	4	5	11
5	6	6	6	11
6	5	4	4	9
7	4	4	4	11
8	3	2	3	11
MW	5	4	5	12
s	2	1	2	3

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 3:** Aufnahme an Mineral-Vitamin-Pulver [g TS/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	0,7	0,2	3,7	3,9
2	0,7	0,2	3,9	4,1
3	0,7	0,2	3,7	3,9
4	0,7	0,2	3,8	4,0
5	0,7	0,2	3,7	4,0
6	0,7	0,2	3,8	4,0
7	0,7	0,2	3,7	3,9
8	0,7	0,2	3,7	3,8
MW	0,7	0,2	3,7	3,9
s	0,0	0,0	0,1	0,1

**Anh. Tab. 4:** Gesamt-TS-Aufnahme [g/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	20	26	24	31
2	22	29	25	39
3	26	28	29	38
4	21	27	24	32
5	22	28	26	32
6	21	27	23	30
7	21	26	24	33
8	22	25	25	35
MW	22	27	25	34
s	2	1	2	3

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 5:** Ca-Aufnahme [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	130	924	632	665
2	131	977	662	704
3	130	931	638	677
4	130	952	645	680
5	130	936	636	678
6	131	947	644	682
7	131	918	633	671
8	141	955	651	683
MW	132	942	643	680
s	4	18	9	11

**Anh. Tab. 6:** P-Aufnahme [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	96	484	457	482
2	96	512	479	511
3	96	488	462	491
4	96	499	466	491
5	96	491	461	491
6	96	497	466	494
7	97	481	460	487
8	105	501	475	498
MW	97	494	466	493
s	3	9	7	8

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 7:** Na-Aufnahme [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	27	54	309	30
2	26	57	324	32
3	25	55	310	31
4	27	56	316	31
5	25	55	309	31
6	26	56	315	31
7	25	54	306	30
8	25	56	310	30
MW	26	55	312	31
s	1	1	5	0

**Anh. Tab. 8:** K-Aufnahme [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	140	149	133	548
2	144	157	139	575
3	28	150	133	556
4	140	153	135	561
5	142	150	133	557
6	138	152	135	562
7	141	146	132	548
8	139	147	133	548
MW	127	150	134	557
s	37	3	2	9

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 9:** Mg-Aufnahme [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	12	29	30	24
2	12	31	31	26
3	12	29	30	24
4	12	30	30	24
5	12	29	30	24
6	12	30	31	24
7	13	29	31	25
8	14	30	33	26
MW	12	29	31	25
s	1	1	1	1

**Anh. Tab. 10:** fäkale TS-Exkretion [g/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	2	6	4	5
2	1	7	4	5
3	2	6	5	6
4	2	6	5	8
5	2	6	4	6
6	2	5	4	4
7	2	6	3	5
8	3	6	5	4
MW	2	6	4	5
s	1	1	1	1

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 11:** fäkale Ca-Exkretion [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	139	785	523	732
2	111	889	588	661
3	133	754	592	730
4	141	867	619	820
5	157	893	596	662
6	135	731	620	626
7	160	903	477	660
8	242	820	813	568
MW	152	830	604	682
s	37	63	92	72

**Anh. Tab. 12:** fäkale P-Exkretion [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	45	363	191	277
2	35	421	218	266
3	44	348	196	235
4	48	421	224	283
5	44	389	219	250
6	38	351	218	216
7	51	400	161	279
8	68	392	318	230
MW	47	386	218	255
s	9	27	43	24

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 13:** fäkale Na-Exkretion [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
2	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
3	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
4	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
5	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
6	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
7	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
8	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
MW				
s				

**Anh. Tab. 14:** fäkale K-Exkretion [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
2	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
3	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
4	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
5	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
6	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
7	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
8	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
MW				
s				



TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 15:** fäkale Mg-Exkretion [mg/kg KM<sup>0,75</sup>/d]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	44	102	112	119
2	39	132	123	114
3	40	104	117	111
4	51	124	133	143
5	51	126	132	121
6	43	97	128	112
7	79	110	105	119
8	69	107	181	120
MW	52	113	129	120
s	14	12	22	9

**Anh. Tab. 16:** sV TS [%]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	89	77	82	83
2	94	77	80	80
3	93	79	78	76
4	92	74	74	65
5	90	74	80	74
6	92	81	78	81
7	90	76	84	81
8	85	76	77	83
MW	91	77	79	78
s	3	2	3	6

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 17: sV Ca [%]**

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	-7	15	17	-10
2	15	9	11	6
3	-2	19	7	-7
4	-8	9	4	-21
5	-20	6	7	3
6	-3	23	4	8
7	-22	2	25	2
8	-72	14	-25	16
MW	-15	12	6	0
s	24	7	14	11

**Anh. Tab. 18: sV P [%]**

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	52	25	58	43
2	63	18	54	48
3	55	29	58	52
4	50	16	52	42
5	55	22	53	50
6	60	29	53	56
7	47	17	65	43
8	34	21	33	54
MW	52	22	53	48
s	8	5	9	5

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 19: sV Na [%]**

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	~100	~100	~100	~100
2	~100	~100	~100	~100
3	~100	~100	~100	~100
4	~100	~100	~100	~100
5	~100	~100	~100	~100
6	~100	~100	~100	~100
7	~100	~100	~100	~100
8	~100	~100	~100	~100
MW	~100	~100	~100	~100
s	0	0	0	0

**Anh. Tab. 20: sV K [%]**

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	~100	~100	~100	~100
2	~100	~100	~100	~100
3	~100	~100	~100	~100
4	~100	~100	~100	~100
5	~100	~100	~100	~100
6	~100	~100	~100	~100
7	~100	~100	~100	~100
8	~100	~100	~100	~100
MW	~100	~100	~100	~100
s	0	0	0	0

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 21:** sV Mg [%]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	25	29	25	0
2	35	14	21	12
3	34	29	23	9
4	12	17	13	-19
5	17	15	14	2
6	29	35	17	8
7	-26	23	32	3
8	2	28	-12	9
MW	16	24	17	3
s	19	7	12	9

**Anh. Tab. 22:** pH-Wert Urin präprandial

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	6,8	5,9	6,5	6,2
2	6,1	5,7	6,2	5,9
3	5,6	5,8	6,0	5,4
4	6,6	6,0	6,5	6,1
5	9,2	6,0	5,5	
6	6,5	5,8	5,5	5,6
7		5,9	7,0	6,7
8	5,4	5,7	6,1	6,2
MW	6,6	5,9	6,2	6,0
s	1,1	0,1	0,5	0,4

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 23:** pH-Wert Urin postprandial

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	7,5	6,5	7,9	8,4
2	8,1	6,5	7,6	8,0
3	7,4	6,0	7,1	7,7
4	8,2	7,0	7,7	7,8
5	9,3	5,5	8,7	9,0
6	8,4	7,2	7,9	8,4
7	8,7		8,9	8,1
8	6,9	5,7	7,5	7,6
MW	8,1	6,4	7,9	8,1
s	0,7	0,6	0,6	0,4

**Anh. Tab. 24:** USG präprandial

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	1039	1040	1021	1031
2	1048	1044	1035	1028
3	1050	1050	1040	1037
4	1038	1040	1021	1035
5	1048	1017	1019	
6	1033	1034	1028	1032
7		1050	1027	1025
8	1024	1024	1027	1021
MW	1040	1037	1027	1030
s	9	11	7	5

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 25:** USG postprandial

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	1044	1028	1030	1029
2	1021	1022	1024	1022
3	1063	1054	1034	1029
4	1023	1036	1024	1026
5	1042	1013	1038	1035
6	1033	1037	1030	1030
7	1041		1034	1027
8	1022	1023	1017	1018
MW	1036	1030	1029	1027
s	13	12	6	5

**Anh. Tab. 26:** P-Konzentration Urin präprandial [mmol/l]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	36	64	37	86
2	79	76	102	83
3	95	81	96	129
4	54	74	47	71
5	31	2	75	
6	46	44	80	89
7		84	58	61
8	47	18	24	35
MW	55	55	65	79
s	22	29	26	27

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 27:** P-Konzentration Urin postprandial [mmol/l]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	27	7	129	104
2	4	5	107	75
3	59	19	156	127
4	4	7	117	125
5	31	7	167	94
6	18	12	130	113
7	21		133	111
8	12	4	64	63
MW	22	9	125	102
s	17	5	29	21

**Anh. Tab. 28:** Kreatinin-Konzentration Urin präprandial [mmol/l]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	17	14	13	12
2	30	14	20	9
3	24	16	18	13
4	25	15	13	12
5	10	10	8	
6	23	13	18	11
7		15	14	9
8	9	9	8	6
MW	20	13	14	10
s	7	2	4	2

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 29:** Kreatinin-Konzentration Urin postprandial [mmol/l]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	19	7	5	7
2	7	8	7	5
3	25	18	10	6
4	8	10	5	4
5	13	9	9	8
6	11	5	8	6
7	23		7	4
8	5	7	3	3
MW	14	9	7	5
s	7	4	2	1

**Anh. Tab. 30:** AUC<sub>0-7</sub> sP [mmol/l\*t]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	11	10	15	21
2	9	9	16	23
3	10	10	15	23
4	10	11	14	22
5	8	8	17	20
6	8	9	15	21
7	9	10	15	14
8	8	8	22	14
MW	9	10	16	20
s	1	1	2	3



TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 31:** AUC<sub>0-7</sub> sCa [mmol/l\*t]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	17	18	16	19
2	19	19	17	19
3	17	19	14	18
4	18	18	15	19
5	13	18	17	18
6	17	19	17	19
7	18	19	18	19
8	16	18	16	11
MW	17	18	16	18
s	2	1	1	3

**Anh. Tab. 32:** AUC<sub>0-7</sub> sCaP [mg<sup>2</sup>/dl<sup>2</sup>\*t]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	330	330	448	691
2	298	321	487	794
3	308	346	442	731
4	332	361	448	709
5	200	249	513	656
6	255	313	461	709
7	286	347	497	485
8	219	249	610	386
MW	278	314	488	715
s	46	40	52	42

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 33:** AUC<sub>0-7</sub> FGF23 [pg/ml\*t]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	1388	1465	2254	2471
2	1366	643	1500	5537
3	2188	208	4280	7696
4	1097	1264	2169	4296
5		1525	3523	4734
6	1824		4224	8474
7	1796	1593	2040	5023
8	1003	2502	5180	8680
MW	1523	1314	3146	5864
s	397	680	1245	2066

**Anh. Tab. 34:** AUC<sub>0-7</sub> PTH [ng/l\*t]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	649	338	583	784
2	570	638	1130	2550
3	662	783	1543	2915
4	328	360	694	957
5	746	646	2362	3411
6	479	504	1410	2436
7	324	364	942	861
8	642	632	1503	2537
MW	550	533	1271	2056
s	148	156	533	965

TABELLENANHANG

**Anh. Tab. 35:** AUC<sub>0-7</sub> CrossLaps [ng/ml\*t]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	2,8	1,8	3,2	5,0
2	2,2	1,5	4,4	7,2
3	0,9	1,5	3,2	8,1
4	1,4	1,5	2,8	5,1
5	1,1	1,0	4,5	5,1
6	1,0	1,3	3,7	7,2
7	1,1	1,3	2,9	4,5
8	1,6	1,2	6,4	7,6
MW	1,5	1,4	3,9	6,2
s	0,6	0,2	1,1	1,4

**Anh. Tab. 36:** AUC<sub>0-7</sub> bALPs [U/l\*t]

Hund	CON	HPCM	HPNaP	HPKP
1	68	65	113	115
2	50	42	42	56
3	36	33	48	80
4	74	50	93	165
5	57	52	92	110
6	61	53	99	72
7	47	50	51	41
8	48	34	59	84
MW	55	47	75	90
s	11	10	26	36

## DANKSAGUNG

### 11. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich meinen größten Dank Frau Prof. Dr. Ellen Kienzle aussprechen für die Überlassung dieses spannenden Themas der Dissertation. Ihr wertvoller akademischer Rat war bei der Entstehung dieser Arbeit unerlässlich. Außerdem bedanke ich mich für die geduldige Anleitung und Unterstützung beim Erstellen dieser Arbeit.

Meiner Mitbetreuerin Frau Dr. Britta Dobenecker möchte ich ganz herzlich für das in mich gesetzte Vertrauen danken. Ich bin sehr dankbar für ihre engagierte Betreuung, die organisatorische und fachliche Hilfestellung sowie die stets gute Zusammenarbeit auch an verschiedenen anderen spannenden Projekten.

Bei Herrn Prof. Dr. Sven Reese möchte ich mich herzlich für die hilfsbereite Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten bedanken.

Darüber hinaus bedanke ich mich vielmals bei unseren engagierten Tierpflegern Steffen Mitschke, Adrian Frille, Gabriele Reder, Antje Döring und Maike Bretsch für ihre tatkräftige Unterstützung und stets verlässliche Hilfsbereitschaft, ohne diese die Umsetzung dieses Projektes nicht möglich gewesen wäre. Weiterhin danke ich Stefanie Lang, die mich stets tatkräftig und zuverlässig bei der praktischen Durchführung der Bilanzen unterstützt hat. Mit ihr hat auch die anstrengendste Versuchsphase Spaß gemacht.

Besonderer Dank gilt auch allen Mitarbeitern des Labors des Lehrstuhls für die Analytik meiner zahlreichen Proben. Insbesondere möchte ich mich hier bei Christian Overdiek für die engagierte Unterstützung und unzählige Tüfteleien bedanken.

Meinen Kolleginnen Dr. Linda Böswald und Dr. Carmen Klein möchte ich ganz herzlich danken, da ich sie nicht nur jederzeit nach ihrer Meinung fragen durfte, sondern auch stets hilfsbereit mit Rat und Tat unterstützt wurde. Michaela Noack möchte ich für ihre positive und hilfsbereite Art danken.

Meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, möchte ich ganz besonders dafür danken, dass ich stets ihre Unterstützung erfahre und mich jederzeit auf sie verlassen kann. Zuletzt möchte ich Martin danken, dass er mich, während allen Höhen und Tiefen des Studiums sowie der Dissertation, immer ertragen, motiviert und unterstützt hat. Dieser bedingungslose Rückhalt hat wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.