

**Einfluss der Futtermittelzusatzstoffe Phosphorsäure und  
Natriumphosphat sowie von Natriumchlorid auf Parameter des  
Phosphathaushalts bei Katzen**

Von Carla Steffen

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

**Einfluss der Futtermittelzusatzstoffe Phosphorsäure und  
Natriumphosphat sowie von Natriumchlorid auf Parameter des  
Phosphathaushalts bei Katzen**

Von Carla Steffen  
aus München

München 2024

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

Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik

Arbeit angefertigt unter der Leitung von

Priv.-Doz. Dr. Britta Dobenecker

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

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

**Berichterstatterin:** Priv.-Doz. Dr. Britta Dobenecker

**Korreferentin:** Priv.-Doz. Dr. Petra Kölle

**Tag der Promotion 10.02.2024**

*Dedicated to my family*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Schrifttum</b> .....	<b>3</b>
2.1	<b>Anorganische Phosphatquellen</b> .....	<b>3</b>
2.1.1	Rechtliche Einordnung.....	3
2.1.2	Verwendung und Deklaration .....	6
2.1.3	Phosphorsäure .....	7
2.1.4	Mononatriumphosphat .....	8
2.2	<b>Natriumchlorid</b> .....	<b>9</b>
2.3	<b>Anorganische Phosphate in der Human- und Tierernährung</b> .....	<b>9</b>
2.4	<b>Kochsalz in der Human- und Tierernährung</b> .....	<b>13</b>
2.5	<b>FGF23 als zentraler Faktor der Phosphorhomöostase</b> .....	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>Publikationen</b> .....	<b>16</b>
3.1	<b>The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats</b> .....	<b>16</b>
3.2	<b>High Intake of Sodium Chloride for 28 Days Causes No Effect on Serum FGF23 Concentrations in Cats</b> .....	<b>29</b>
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>42</b>
4.1	<b>Kritik der Methodik</b> .....	<b>42</b>
4.1.1	Versuchsdesign.....	42
4.1.2	Calcium- /Phosphorverhältnis .....	43
4.1.3	Höhe der Mineralstoffzufuhr .....	44
4.2	<b>Diskussion der Ergebnisse</b> .....	<b>46</b>
4.2.1	Anorganische Phosphatquellen .....	46
4.2.2	Natriumchlorid .....	51
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>53</b>
<b>6</b>	<b>Summary</b> .....	<b>54</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>55</b>
<b>8</b>	<b>Danksagung</b> .....	<b>79</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel der Orthophosphorsäure

Abbildung 2: Strukturformel des Natriumhydrogenorthophosphat

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Liste der für Futter- und Lebensmittel zugelassenen Phosphatverbindungen

## Abkürzungsverzeichnis

ATP.....	<i>Adenosintriphosphat</i>
Ca/P-Verhältnis .....	<i>Calcium-Phosphor-Verhältnis</i>
CKD.....	<i>Chronische Nierenerkrankung</i>
EFSA .....	<i>Europäische Lebensmittelbehörde</i>
FGF23.....	<i>Fibroblast Growth Factor-23</i>
HNaCl.....	<i>High-Natriumchlorid</i>
NaCl.....	<i>Natriumchlorid</i>
PA-NaP.....	<i>Phosphorsäure-Natriummonophosphat</i>
PTH.....	<i>Parathormon</i>
RAAS .....	<i>Renin-Angiotensin-Aldosteron-System</i>
sCaxP.....	<i>Serum-Calcium-Phosphorprodukt</i>
SUL.....	<i>Safe Upper Limit</i>
sVP .....	<i>scheinbare Verdaulichkeit von Phosphor</i>
TS .....	<i>Trockensubstanz</i>

Die Inhalte der vorliegenden Arbeit wurden in folgenden Publikationen veröffentlicht:

- **Steffen, C., Kienzle, E., Dobenecker, B. (2022).** „High Intake of Sodium Chloride for 28 Days Causes No Effect on Serum FGF23 Concentrations in Cats." *Animals* 12.22 (2022): 3195. <https://doi.org/10.3390/ani12223195>. (Impact Factor: 3,0)
- **Steffen, C., Dobenecker, B. (2023).** "The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats." *J Urol Ren Dis* 8 (2023): 1339. [www.doi.org/10.29011/2575-7903.001338](http://www.doi.org/10.29011/2575-7903.001338). (Impact Factor: 3,5)

Inhalte der vorliegenden Arbeit wurden auf folgenden Kongressen vorgestellt:

- Steffen, C., Kienzle, E., Dobenecker, B. (2021). Oral intake of some inorganic phosphates for 28 days increases FGF-23 serum concentrations also in cats. Vortrag auf dem 25. Kongress der ESVCN, Online.
- Steffen, C., Kienzle, E., Dobenecker, B. (2021). High Intake of Sodium Chloride for 28 Days Causes No Effect on Serum FGF23 Concentrations in Cats. Vortrag auf dem 25. Kongress der ESVCN, Online.
- Steffen, C., Kienzle, E., Dobenecker, B. (2021). High Intake of Sodium Chloride for 28 Days Causes No Effect on Serum FGF23 Concentrations in Cats. Vortrag auf dem 31. Kongress der ECVIM, Online.
- Steffen, C., Kienzle, E., Dobenecker, B. (2022). High Intake of Sodium Chloride for 28 Days Causes No Effect on Serum FGF23 Concentrations in Cats. Vortrag auf dem 22. Symposium der AAVN, Online.

Verleihung des Waltham-Student-Awards für die beste Präsentation auf dem ESVCN Kongress 2021 und des 1st Oral Abstract Prize auf dem 31. Kongress der ECVIM 2021 für obigen Vortrag.

- Dobenecker, B., Hering, S., Steffen, C. (2023). Short-term Oral Intake of Inorganic Phosphate Additives Causes an Increase of FGF23 in Cats and Dogs. Vortrag auf dem 33. Kongress der ECVIM, Barcelona.



### **1 Einleitung**

Phosphor spielt als zweithäufigstes Element im Körper eine zentrale Rolle bei diversen physiologischen Prozessen. Zu 80 % liegt es als Hydroxylapatit im Skelett vor. Die verbleibenden 20 % sind unter anderem an Zellwandaufbau, Enzymaktivierung und Energiemetabolismus in Form von Adenosintriphosphat (ATP) beteiligt (Klahr 1983; Soares 1995; Ghosh & Joshi 2008).

Anhand ihrer Quellen lässt sich zwischen organischen und anorganischen Phosphaten differenzieren. Nahrungsmittel wie Fleisch, Milch, Fisch, Hülsenfrüchte und Nüsse sind natürliche Quellen für organischen Phosphor. In tierischen Quellen ist Phosphor an Proteine und kohlenhydrathaltige Moleküle (Boaz & Smetana 1996), in Pflanzen hingegen zu großen Teilen als Phytat gebunden (Eeckhout & De Paepe 1994). Da Monogastrier nicht über das Enzym Phytase zur Aufspaltung von Phytinsäure verfügen, ist die Phosphorverfügbarkeit aus pflanzlichen Quellen im Vergleich zu tierischen gering (Jeroc et al., 2008). Dem gegenüber stehen anorganische Phosphatquellen wie Phosphorsäure und ihre Mineralsalze, die als Zusatzstoffe in Lebens- und Futtermitteln eingesetzt werden und aufgrund ihrer hohen Löslichkeit (Lineva et al., 2019) gastrointestinale Absorptionsraten bei monogastrischen Spezies von bis zu 100 % aufweisen (Kalantar-Zadeh et al., 2010; Noori et al., 2010).

Neben den Konsequenzen eines Phosphormangels (u.a. Hunde: (Kiefer-Hecker et al., 2018); Schweine: (Alexander et al., 2010); Geflügel: (Xu et al., 2019)), rücken zunehmend die Effekte einer exzessiven nutritiven Versorgung in den Fokus. Potenzielle gesundheitliche Folgen einer hohen oralen Aufnahme anorganischer Phosphate wurden bereits 1935 von Mackay & Oliver bei Ratten gezeigt. Auch bei anderen Spezies wurden seitdem negative Auswirkungen nachgewiesen, wobei Schäden an Nieren (Dobenecker et al., 2021c), Skelett (Anderson & Draper 1972; Calvo et al., 2011) und dem Herz-Kreislauf-System (Jono et al., 2000; Neves et al., 2004) im Vordergrund stehen. Dabei spielt neben der Menge die Phosphatquelle eine entscheidende Rolle, wie auch bei Katzen (Dobenecker et al., 2018; Coltherd et al., 2019) und Hunden (Dobenecker et al., 2021d) gezeigt wurde. Die durchschnittliche tägliche Aufnahme an anorganischen Phosphaten stieg beim Menschen in vielen Populationen (Vorland et al., 2017; Fulgoni & Fulgoni III 2021; Mazzaferro et al., 2021) seit den 1990er Jahren deutlich an. Auch bei Katzen und Hunden liegt die Tagesaufnahme an Phosphor aufgrund der hohen Phosphorgehalte in Fertigfuttermitteln häufig weit über dem Bedarf (Brunetto et al., 2019; Dobenecker 2021). Ein Hauptgrund hierfür sind die vielfältigen Einsatzbereiche

phosphathaltiger Zusatzstoffe, weshalb mittlerweile viele kommerziell verarbeitete Lebens- und Futtermittel hohe Konzentrationen an anorganischen Phosphaten enthalten (Uribarri & Calvo 2003; Sherman & Mehta 2009; Dobenecker 2021a). Ein Zusammenhang zwischen der Höhe des Konsums solcher anorganischen Phosphate und der steigenden Prävalenz von Erkrankungen wie chronischer Niereninsuffizienz liegt nahe. Da in Katzenfuttermitteln Phosphorsäure zur Harnsteinprophylaxe (Izquierdo & Czarnecki-Maulden 1991; Spears et al., 2003) und als Geschmacksverstärker (Chemineau 2007) eingesetzt wird, aber kaum publizierte Daten zur Unbedenklichkeit bei dieser Spezies vorliegen, ist die Untersuchung dieses Zusatzstoffes in Hinblick auf die Nierengesundheit von besonderem Interesse. Die Effekte der oralen Phosphataufnahme hängen neben dessen Quelle und der Menge auch von weiteren Faktoren wie der Konzentration anderer Mineralstoffe im Futter ab. Als potenzieller Einflussfaktor auf die Phosphorhomöostase ist unter anderem Natrium zu nennen. Bei Mensch (Erben 2018; Hu et al., 2018) und Maus (Andrukhova et al., 2014) konnten Zusammenhänge zwischen Natrium und dem Phosphatonin Fibroblast Growth Factor-23 (FGF23) festgestellt werden, das neben der renalen Phosphatreabsorption und damit dem Serumphosphat Spiegel auch die Exkretion von Natrium beeinflusst (Gattineni et al., 2009). Ein Anstieg von Serum-FGF23 führt zu einer erhöhten Natriumrückresorption in den Nierentubuli und infolgedessen zu einem Anstieg der Serumnatriumkonzentration, einem erhöhten Blutvolumen und einem Anstieg des Blutdrucks (Andrukhova et al., 2014; Erben & Andrukhova 2017). In einer Studie an Menschen konnte auch ein Einfluss der oralen Natriumzufuhr auf FGF23 beobachtet werden (Zhang et al., 2016). Bisher liegen keine Daten dazu vor, inwiefern diese Interaktion auch bei Katzen besteht. Da viele Alleinfuttermittel neben Phosphaten auch große Mengen an Natrium enthalten (Brunetto et al., 2019), sind potenzielle Zusammenhänge zwischen einer hohen Natriumzufuhr und FGF23 bei dieser Tierart praxisrelevant.

Neben den Effekten von Phosphorsäure und Natriummonophosphat auf Parameter der Phosphorhomöostase bei Katzen sollte daher der Einfluss einer gesonderten Zulage von Natrium in Form von Natriumchlorid auf FGF23 unabhängig von einem Phosphorexzess untersucht werden.

## 2 Schrifttum

### 2.1 Anorganische Phosphatquellen

#### 2.1.1 Rechtliche Einordnung

Bei den nutritiv relevanten anorganischen Phosphaten handelt es sich um Phosphorsäure bzw. Orthophosphorsäure und ihre Mineralsalze. Die Anwendungsgebiete von anorganischen Phosphaten sind vielfältig und umfassen diverse technische Bereiche, beispielsweise Agrarindustrie (Düngemittel), Medizin (Zahntechnik), Reinigungstechnik (Waschmittel), Metallindustrie (Korrosionsschutz) oder Labortechnik (Pufferlösungen) (Havelange et al., 2000). Auch für Lebens- und Futtermittel sind diverse phosphathaltigen Zusatzstoffe zugelassen (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Liste der für Futter- und Lebensmittel zugelassenen Phosphatverbindungen

	E-Nummer nach Futtermittel-zusatzstoff-liste	E-Nummer nach Lebensmittel Zusatzstoff-liste	Nummer nach Positivliste Einzelfuttermittel	Rechtsgrundlage
<b>Orthophosphorsäure</b>	1a338	E 338	-	EU VO Nr. 1831/2003 § 13 FuttMV EU VO 1333/2008
<b>Monokaliumphosphat</b>	E 340 (i)	E 340	11.01.52	EU VO Nr. 1831/2003 § 13 FuttMV EU VO 1333/2008 Positivliste Einzelfuttermittel EU VO Nr. 68/2013
<b>Dikaliumphosphat</b>	E 340 (ii)		-	EU VO Nr. 1831/2003
<b>Trikaliumphosphat</b>	E 340 (iii)		§ 13 FuttMV	
<b>Tetrakaliumdiphosphat</b>	E 450a (iv)			
<b>Pentakaliumtriphosphat</b>	E 450b (iv)		EU VO 1333/2008	

Schrifttum

<b>Monoammoniumphosphat</b>	-	E 342	11.01.33	§ 13 FuttMV EU VO 1333/2008 Positivliste Einzelfuttermittel EU VO Nr. 68/2013
<b>Diammoniumphosphat</b>	-		-	§ 13 FuttMV EU VO 1333/2008
<b>Mononatriumphosphat</b>	E 339 (i)	E 339	11.01.36	EU VO Nr. 1831/2003
<b>Dinatriumphosphat</b>	E 339 (ii)		11.01.18	
<b>Trinatriumphosphat</b>	E 339 (iii)		11.01.50	§ 13 FuttMV EU VO 1333/2008 Positivliste Einzelfuttermittel EU VO Nr. 68/2013
<b>Dinatriumdihydrogenphosphat</b>	E 450a (i)	-	-	EU VO Nr. 1831/2003 § 13 FuttMV
<b>Tetranatriumphosphat</b>	E 450a (iii)	-	-	EU VO Nr. 1831/2003 § 13 FuttMV
<b>Pentatriumphosphat</b>	E 450b (i)	-	-	EU VO Nr. 1831/2003 § 13 FuttMV
<b>Calcium-Natriumphosphat</b>	-	-	11.01.13	Positivliste Einzelfuttermittel EU VO Nr. 68/2013
<b>Mono-Dicalcium-Natriumphosphat</b>	-	-	11.01.35	
<b>Natrium-Calcium-Magnesiumphosphat</b>	-	-	11.01.38	
<b>Monocalciumphosphat</b>	E 341 (i)	E 341	11.01.32	EU VO Nr. 1831/2003
<b>Calciumhydrogenphosphat</b>	E 431 (ii)		-	
<b>Mono-Dicalciumphosphat</b>	-		11.01.34	§ 13 FuttMV
<b>Dicalciumphosphat</b>	E 540		11.01.15	EU VO 1333/2008
<b>Dicalciumphosphat, Dihydrat</b>	-		11.01.54	

## Schrifttum

<b>Tricalciumphosphat</b>	-		11.01.49	Positivliste Einzel Futtermittel  EU VO Nr. 68/2013
<b>Calcium-Magnesiumphosphat</b>	-	-	11.01.12	Positivliste Einzel Futtermittel  EU VO Nr. 68/2013
<b>Magnesiumphosphat</b>	-	E 343	11.01.30	EU VO 1333/2008  Positivliste Einzel Futtermittel  EU VO Nr. 68/2013
<b>Dimagnesiumphosphat</b>	-		11.01.16	
<b>Trimagnesiumphosphat</b>	-		11.01.51	

Die Zulassung von Zusatzstoffen wie den anorganischen Phosphaten erfolgt im Bereich der Futtermittel durch eine Antragsstellung bei der Europäischen Kommission. Im Zuge der Einreichung sind zudem bei der Europäischen Lebensmittelbehörde (EFSA) entsprechende Unterlagen beizubringen, die die Vorgaben nach Verordnung (EG) 429/2008 erfüllen müssen. Zu diesen Kriterien zählen Nachweise zur Unbedenklichkeit und zur technologischen Relevanz. Der Zulassungsantrag umfasst weiterhin Referenzproben des betreffenden Stoffes. Nach Prüfung und Freigabe durch die EFSA und die Europäische Kommission erfolgt der Eintrag in das Gemeinschaftsregister (Europäische Kommission 2008).

Lebensmittelzusatzstoffe werden seit 2010 europaweit einheitlich nach der Verordnung (EG) Nr. 1331/2008 zugelassen (Europäische Kommission 2008). Die Zulassungskriterien sind allerdings im Vergleich zu Futtermittelzusatzstoffen noch enger gesteckt. Neben einer toxikologischen Prüfung im Tiermodell muss die Unbedenklichkeit auch im menschlichen Organismus nachgewiesen werden. Zudem muss eine technologische Notwendigkeit gegeben sein, die die Verwendung des Stoffes rechtfertigt. Das Verfahren wird in seinen Einzelheiten in der Durchführungsverordnung (EG) 234/2011 beschrieben (Europäische Kommission 2011). Insgesamt werden phosphathaltige Zusatzstoffe als sogenannte „GRAS-Substanzen“ (Generally Recognised As Safe) eingestuft (FDA 2023).

### 2.1.2 Verwendung und Deklaration

Sowohl in der Lebensmittelindustrie als auch im Heimtierfutterbereich spielen anorganische Phosphatverbindungen eine bedeutende Rolle.

Phosphathaltige Zusatzstoffe werden im Humanbereich als Konservierungsmittel, Säureregulator, Antioxidationsmittel, Trennmittel, Geschmacksverstärker oder zur Wasserbindung eingesetzt (Shults et al., 1972; Uribarri et al., 2003; Ritz et al., 2012; Calvo & Uribarri 2013). Insbesondere in Fleisch- und Milchprodukten sowie in Softdrinks erfolgt intensiver Einsatz (Ritz et al., 2012). Die Deklaration bei Zusatz in Nahrungsmitteln erfolgt nach der Lebensmittelinformationsverordnung (EU) 1169/2011 unter Angabe der E-Nummer und des Klassennamens (Europäische Kommission 2011). Höchstmengenbeschränkungen variieren je nach Lebensmittelgruppe. In manchen Produkten erfolgt der Einsatz anorganischer Phosphate allerdings nach dem *quantum satis*-Prinzip. Hierzu zählt beispielsweise die Verwendung von Phosphorsäure in Kaugummis oder von modifizierter Stärke zum Einspritzen in verarbeitete Fleischprodukte.

In Futtermitteln erfüllen phosphathaltige Zusatzstoffe ebenfalls diverse Zwecke. Hierzu gehören vor allem die Akzeptanzsteigerung, die Wasserbindung in Feuchtfutter oder die Konservierung von halbfeuchten Produkten (Ibraimi & Finn 2017; Burke & Nelles 2018). Nach der Futtermittelzusatzstoffverordnung (EG) 1831/2003 müssen Zusatzstoffe für nicht-lebensmittelliefernde Tiere nur dann deklariert werden, wenn eine gesetzliche Höchstmenge festgelegt wurde (Europäische Kommission 2003). Da aktuell nur für wenige phosphathaltige Zusatzstoffe wie Pentanatriumphosphat und Manganhydrogenphosphat Höchstmengen gelten, ist die Angabe bei Heimtierfutter in aller Regel nicht verpflichtend.

Im Folgenden findet sich eine Kurzübersicht zu den Mineralstoffquellen, deren Effekte in den eigenen Arbeiten untersucht wurden.

### 2.1.3 Phosphorsäure

Bei der Orthophosphorsäure handelt es sich um eine dreiprotonige Verbindung mit vier Sauerstoffatomen und einem zentralen, 5-bindigen Phosphoratom ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). Die Herstellung erfolgt labortechnisch, beispielsweise über den Säureaufschluss von Apatit. Aufgrund des chemischen Aufbaus weist der farb- und geruchlose Feststoff stark hygroskopische Eigenschaften und eine hohe Wasserlöslichkeit auf. Verwendung findet die Phosphorsäure aus diesem Grund meist als 80-90 %ige wässrige Lösung.

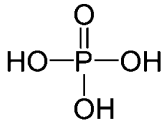


Abbildung 1: Strukturformel der Orthophosphorsäure

Im Lebensmittelbereich steht die azidierende Eigenschaft der Phosphorsäure im Fokus, die man sich beispielsweise in Cola-Getränken zu Nutze macht. Neben der Geschmackskomponente verhindert die pH-Wert-Absenkung auch den Verderb, so dass die Phosphorsäure weitreichenden Einsatz findet (Ritz et al., 2012).

Als Futtermittelzusatzstoff ist sie der Gruppe der konservierenden Stoffe zugeordnet und wird zu diesem Zweck in Ergänzungs- und Alleinfuttermitteln zugesetzt (Brown 1988). In Katzenfuttern dient sie weiterhin u.a. der Optimierung von Palatabilität (Spears et al., 2003; Chemineau 2007), Haltbarkeit (Brown 1988), Wasserbindung (Shults et al., 1972), Struktur (Sherman et al., 2009) und über eine Ansäuerung des Urin-pH-Wertes der Harnsteinprophylaxe (Izquierdo et al., 1991; Spears et al., 2003). In kommerziellen Trockenfuttern erfolgt der Einsatz speziell als Bestandteil von sogenannten „Digests“, die in flüssiger Form zur Akzeptanzerhöhung als Coating auf die Kibbels aufgetragen werden (Gierhart & Hogan 1993; Samant et al., 2021).

### 2.1.4 Mononatriumphosphat

Natriumdihydrogenorthosphat reagiert als Natriumsalz der Phosphorsäure in wässrigen Lösungen leicht sauer und weist eine hohe Löslichkeit auf. Die labortechnische Synthese des weißen Feststoffes kann beispielsweise über die Neutralisation von Phosphorsäure unter Verwendung von Natronlauge erfolgen oder über die Reaktion von Phosphorsäure mit Natriumchlorid (Doan et al., 2015).

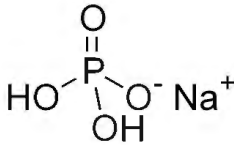


Abbildung 2: Strukturformel des Natriumhydrogenorthosphat

Aufgrund ihrer vielfältigen Eigenschaften zählen Natriumphosphate zu den am häufigsten in Lebensmitteln eingesetzten Phosphatsalzen und sind in Produkten wie Käse, Softdrinks, Dressings und Bäckereiprodukten zu finden (DeMan et al., 1970). Um den Wassergehalt zu erhöhen, werden sie in vielen Ländern außerhalb Europas beispielsweise auch in rohe Fleischprodukte injiziert (Murphy-Gutenkunst & Uribarri 2005; Burros 2006), in Zahncreme werden sie zur Stärkung des Zahnschmelzes eingesetzt (Sun et al., 2014).

Für Futtermittel ist Natriumphosphat sowohl als Zusatzstoff in der Gruppe der Säureregulatoren (Europäische Kommission 2003), als auch als Einzelfuttermittel zugelassen (Normenkommission 2023). Da Natriumpolyphosphate Calcium binden, werden sie häufig zur Zahnsteinprophylaxe in Kauartikeln (Pinto et al., 2008) oder Coatings von Trockenfutterkibbels (Hennet et al., 2007) zugesetzt.



## **2.2 Natriumchlorid**

Der allgemein als „Kochsalz“ (NaCl) bekannte weiße Feststoff geht in Verbindung mit Wasser pH-neutrale Lösungen ein. Im Gegensatz zu anorganischen Phosphaten wird NaCl zur Verwendung in größeren Mengen nicht chemisch synthetisiert, sondern aus natürlich bestehenden Quellen wie Salzminen oder Meerwasser gewonnen. Weiterhin wird Natriumchlorid nicht als Zusatzstoff, sondern ausschließlich als Einzelfuttermittel (11.01.42) definiert und dient damit rechtlich allein der bedarfsdeckenden Versorgung mit Natrium (Normenkommission 2023). Neben dieser Funktion wird es in Futtermitteln zudem zur Steigerung der Palatabilität und der Trinkwasseraufnahme oder zur Harnsteinprophylaxe angewendet (Hamar 1976; Hawthorne & Markwell 2004).

## **2.3 Anorganische Phosphate in der Human- und Tierernährung**

Aufgrund der breiten Einsatzmöglichkeiten sind anorganische Phosphate mittlerweile in vielen Lebensmitteln enthalten (Kowalski et al., 2002). Insbesondere verarbeitete Fleischprodukte wie Wurstwaren, Milchprodukte, Aufbackwaren und colahaltige Getränke tragen zu einem großen Teil der täglichen Phosphoraufnahme der Bevölkerung bei (Ritz et al., 2012). Ende des zwanzigsten Jahrhunderts stellten Unternehmen vermehrt auf phosphathaltige Zusatzstoffe um, um die Verwendung von Natrium und Nitrit zu reduzieren (Molins 2018). Durch die zunehmende Verwendung phosphathaltiger Zusatzstoffe stieg die durchschnittliche Tagesaufnahme an Phosphor seit den 90iger Jahren von ca. 500 mg auf über 1000 mg pro Person an (Calvo & Park 1996; Kalantar-Zadeh et al., 2010; Fulgoni et al., 2021). Damit übersteigt die durchschnittliche Tagesaufnahme bei der überwiegenden Mehrheit an Konsumenten deutlich die empfohlene Tageszufuhr von 700 mg (Trumbo et al., 2001). Laut Calvo et al. (2023) enthalten rund 50 % aller Backwaren, Fertiggerichte und prozessierten Fleischprodukte auf dem amerikanischen Markt Phosphatzusätze (Calvo et al., 2023). Zumeist stellen daher anorganische Phosphate den überwiegenden Anteil der täglichen Gesamtphosphoraufnahme (Uribarri et al., 2003; Sherman et al., 2009).

Es konnte zudem nachgewiesen werden, dass auch in Fertigfuttermitteln die Phosphorkonzentration in einer Großzahl der Produkte für Hunde und Katzen die Versorgungsempfehlungen um ein Vielfaches überstiegen, in einigen Fällen lagen die Phosphorgehalte sogar oberhalb des empfohlenen Maximums (Anonymous 2020; Summers et al., 2020; Dobenecker 2021). In einer Studie von Brunetto et al. (2019) überschritten drei der 13 untersuchten Nassfutter für Hunde sogar das Safe Upper Limit für Phosphor (Brunetto et

al., 2019). In Umfragen aus Italien und Portugal füttern mindestens 60 % der Befragten ihre Hunde und Katzen vollständig oder zumindest anteilig mit kommerziellen Futtermitteln (Cuttrignelli et al., 2005; Vinassa et al., 2020; Prata 2022). Auch in Deutschland füttert mit ca. 78 % bei Hunden und über 90 % bei Katzen die überwiegende Mehrheit an Tierhaltern kommerzielles Alleinfutter (Becker 2009). In den USA beträgt der Anteil ebenfalls ca. 90 % (Schleicher et al., 2019). Ähnlich wie beim Menschen tragen anorganische Phosphate damit auch im Heimtierbereich maßgeblich zur täglichen Gesamtphosphoraufnahme bei.

Relevant ist dies aufgrund des engen Zusammenhangs zwischen Phosphataufnahme und der Konzentration an Phosphat im Serum. In Studien mit Hunden (Dobenecker & Herbst 2021b) konnte gezeigt werden, dass eine hohe orale Aufnahme an anorganischem Phosphat zu einem signifikanten Anstieg der Serumphosphorspiegel führt. Insbesondere langfristig erhöhte Serumphosphorwerte stehen mit ernsthaften Gesundheitsgefährdungen in Verbindung. Bei Nierenpatienten ist der Zusammenhang zwischen der Höhe der Serumphosphatspiegel und der Progression der Erkrankung unumstritten. Ein erhöhter Serumphosphatspiegel korreliert u.a. bei Mensch (Klassen et al., 2002) und Katze (Barber & Elliott 1998; Kuwahara et al., 2006; Boyd et al., 2008) stark mit der Mortalitätsrate und gehört zu den Hauptindikatoren für das Fortschreiten chronischer Nierenerkrankungen (CKD). Für Patienten mit CKD ist die Reduktion der Phosphorzufuhr daher ein zentraler Bestandteil der Therapie (Hong et al., 2015; Dobenecker 2023), um unter anderem durch eine geringere renale Phosphorausscheidung die Progression der Erkrankung auszubremsen und die Überlebenszeit zu verlängern (Santamaria et al., 2018).

Zudem wiesen Humanpatienten mit Hyperphosphatämie deutlich häufiger viszerale und vaskuläre Verkalkungen und eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit auf, an kardiovaskulären Erkrankungen zu versterben (Block et al., 1998). Jone et al. (2000) konnten anhand von *in vitro* Studien zeigen, dass anorganisches Phosphat die Umwandlung von glatten Gefäßmuskelnzellen in kalzifizierende Zellen induziert. Auch in 5/6-nephrektomierten Ratten zeigte sich ein Zusammenhang zwischen Hyperphosphatämie und Beeinträchtigungen der Herz- und Nierenfunktion sowie des Knochenstoffwechsels (Neves et al., 2004). Hyperphosphatämie führt zudem zu einem Anstieg des Calcium-Phosphorproduktes im Serum (sCaxP), einem wichtigen Parameter zur Beurteilung der Mortalitätsrate bei Nierenpatienten (Block et al., 1998). Werte  $> 70 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$  führten bei Hunden und Katzen zu Verkalkungen im Weichteilgewebe und im Interdigitalbereich und stellen in Bezug auf die Nierengesundheit

einen negativen prognostischen Faktor dar (Jackson & Barber 1998; Bertazzolo et al., 2003; Lippi et al., 2014).

Potenzielle, unerwünschte Effekte einer hohen Phosphataufnahme auf die Nierenfunktion konnten allerdings nicht nur bei bereits erkrankten Individuen, sondern auch bei gesunden Tieren festgestellt werden: Nach Exposition mit anorganischen Phosphaten wurden bei Ratten Läsionen im Nierengewebe (Mackay & Oliver 1935) und bei Hunden vaskuläre Verkalkungen (Laflamme & Jowsey 1972) sowie tubuläre Atrophie beobachtet (Schneider et al., 1980). Die Übersicht von Razzaque (2011) beleuchtet die Effekte akuter Phosphatvergiftung sowie chronischer Phosphattoxizität, die von Blutgefäßverkalkungen über Tumorwachstum bis hin zu einem beschleunigten Alterungsprozess reichen (Razzaque 2011). Wolf (2010) fasst die potentiellen gesundheitsschädigenden Effekte einer chronischen Erhöhung des Serum FGF23 als Kollateralschäden zusammen (Wolf 2010). Bei gesunden Katzen stellten Pastoor et al. bereits im Jahre 1993 eine erniedrigte Kreatinin-Clearance und damit eine reduzierte renale Exkretionsleistung fest, nachdem diese eine mit Monoatriumphosphat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) versetzte Ration erhalten hatten (Pastoor 1993). In weiteren Untersuchungen an gesunden Katzen konnte dieser Effekt nachvollzogen werden (Dobenecker et al., 2018c). Die Zulage von anorganischen Phosphaten führte darüber hinaus zu einem Anstieg der Serumphosphatspiegel und des Urin-Protein/Kreatinin-Verhältnisses (UP/C). Zudem wurden Mikroalbuminurie und Glucosurie beobachtet und als Zeichen einer akuten tubulären Schädigung interpretiert (Hertel-Boehnke 2018). Auch die renale Phosphorexkretion wurde durch die Aufnahme anorganischer Phosphatquellen signifikant erhöht (Dobenecker et al., 2018; Dobenecker et al., 2018c).

Ähnliche Resultate lieferten auch Studien am Hund: die Zufuhr von Natrium- und Kaliumphosphat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) führte jeweils zu einer signifikanten Erhöhung von Serum-Parathormon (PTH), Serum-FGF23 und der knochenspezifischen Umbaumarker alkalische Phosphatase und Kollagen Crosslaps (Dobenecker et al., 2021b; Dobenecker et al., 2021d).

Die Erforschung möglicher Zusammenhänge zwischen dem zunehmenden Einsatz (Molins 2018) anorganischer Phosphate in Lebens- und Futtermitteln und der steigenden Prävalenz chronischer Nierenerkrankungen sowohl beim Menschen (Lv & Zhang 2019), als auch bei der Katze (Marino et al., 2014; Brown et al., 2016) ist vor dem Hintergrund dieser Studien mit gesunden Individuen von besonderem Interesse.

Demnach ergibt sich auch die Frage, inwiefern Phosphatquellen sich in ihren Effekten auf Nierenparameter unterscheiden.

Untersuchungen dazu zeigten, dass nicht nur die Gesamtmenge an aufgenommenem Phosphor, sondern auch dessen chemische Eigenschaften eine zentrale Rolle beim Gefährdungspotenzial für die Nierengesundheit spielen. In einer vergleichenden *in vitro* Studie mit verschiedenen Phosphaten wiesen anorganische Quellen eine signifikant höhere Wasserlöslichkeit auf als organische (Lineva et al., 2019). Die praktische Relevanz dessen konnten Dobenecker et al. (2021) *in vivo* zeigen: Aufgrund der guten Löslichkeit wurden anorganische Phosphate bei Hunden zu einem deutlich höheren Anteil als Phosphate aus organischen Quellen scheinbar verdaut (Dobenecker et al., 2021b; Dobenecker et al., 2021d). Infolgedessen stiegen im Serum Parathormon (PTH), Serum-FGF23 und die knochenspezifischen Marker alkalische Phosphatase und Kollagen Crosslaps signifikant an. Bei Katzen führte die Aufnahme von Kalium- und Calciumphosphat, nicht aber von Knochenmehl, zu einem signifikanten Anstieg der renalen Phosphorexkretionen (Dobenecker & Schaschl 2018b). Auch bei menschlichen Probanden wurden nach Supplementierung von Di- und Trinatriumphosphat (1,5 g Phosphor/Tag) im Vergleich zu un-supplementierten Versuchsrationen (1,4-1,6 g Phosphor/Tag) die höchsten Werte für die Exkretion von Phosphor über die Nieren beobachtet (Karp et al., 2007).

Weitere Studien mit Nagern zeigten, dass Unterschiede bezüglich der Effekte auf die Nierengesundheit nicht nur zwischen organischen und anorganischen Phosphaten bestehen, sondern auch innerhalb der Gruppe der anorganischen Phosphatquellen: Der Grad an Kalzifikationen im Nierengewebe war bei Ratten nach Aufnahme von Tripolyphosphaten ( $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ;  $\text{K}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) höher als bei gleicher Phosphatzufuhr aus Dihydrogenphosphaten ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (Matsuzaki et al., 1999). Bei Mäusen zeigten sich vermehrt interstitielle Kalzifikation, Fibrose, tubuläre Dilatation und höhere Serum-FGF23-Werte nach Zulage von Polyphosphaten im Vergleich zu Monophosphaten (Sasaki et al., 2022).

## **2.4 Kochsalz in der Human- und Tierernährung**

Wie anorganische Phosphate findet auch Kochsalz in vielerlei Lebensmitteln Einsatz und gehört zu den am häufigsten verwendeten Zusätzen (Albarracín et al., 2011). Insbesondere kommerziell verarbeitete Nahrungsmittel tragen mit ca. 77 % zu einem Großteil zur täglichen Kochsalz- und damit zur Natriumaufnahme bei. Mit 2,8 g/Person/Tag im Median blieb die tägliche Natriumaufnahme in den vergangenen 20 Jahren fast unverändert hoch (Brouillard et al., 2020). Somit überschritten im Untersuchungszeitraum von 2005-2006 9/10 Erwachsene die Verzehrsempfehlung (2,3 g/Tag) für Natrium (Mattes & Donnelly 1991).

Auch viele Alleinfuttermittel für Hunde und Katzen weisen hohe Salzgehalte auf. In einer Studie von Brunetto et al. (2019) mit 25 getesteten Nassfuttern lag der Medianwert für Natrium bei über 1000 % der Versorgungsempfehlung von 0,29 g/1000 kcal. In 7 Produkten wurde sogar das SUL von 3,75 g/1000 kcal (FEDIAF 2022) überschritten (Brunetto et al., 2019).

Gesundheitsorganisationen und Ärzteverbände raten seit geraumer Zeit, die empfohlene Tagesaufnahme deutlich zu senken (1,5 g/Tag) (Campbell 2004). Hintergrund dieser Empfehlung sind Bedenken bezüglich gesundheitlicher Auswirkungen einer langfristig hohen Natriumzufuhr. Sowohl im Mausmodell (Ferguson et al., 2019), als auch bei menschlichen Probanden (Intersalt Cooperative Research 1988; Mente et al., 2014) führte eine kochsalzreiche Diät zu einem Anstieg des Blutdrucks. In der Bevölkerung stellt Hypertonie den Hauptgrund für kardiovaskuläre Erkrankungen dar (Brazy et al., 1989). Insbesondere Patienten mit chronischer Nierenerkrankung entwickeln mit ca. 80 % der Betroffenen besonders häufig Bluthochdruck (Sarafidis et al., 2008). Chronische Hypertonie forciert glomeruläre Schäden und die Verkalkung des Nierengewebes (Bidani & Griffin 2002) und trägt somit zur Progression der Nierenerkrankung bei (Segura et al., 2004).

Die Beeinflussung des Blutdruckes über Natrium erfolgt zum einen durch einen Volumenanstieg in den Gefäßen (Lifton et al., 2001). Zum anderen konnte ein Zusammenhang zwischen hoher Salzaufnahme, Dysbiose im Gastrointestinaltrakt und entzündlichen Gefäßerkrankungen hergestellt werden (Ferguson et al., 2019). Darüber hinaus erfolgt die Regulation des Blutdrucks über die renale Ausscheidung von Natrium, die maßgeblich durch das Hormon FGF23 gesteuert wird (Andrukhova et al., 2014; Zhang et al., 2016). Weiterhin wird vermutet, dass FGF23 über die Senkung der Vitamin D-Serumspiegel (Shimada et al., 2004) eine Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) herbeiführt und damit auch RAAS-abhängig den Blutdruck beeinflusst (de Borst et al., 2011).

In Studien an FGF23-knockout Mäusen konnte der Zusammenhang zwischen FGF23, Hypertonie und Salzaufnahme bereits gezeigt werden (Andrukhova et al., 2014). Auch bei menschlichen Probanden konnte dies nachvollzogen werden (Hu et al., 2018; Ferguson et al., 2019). Im Gegensatz dazu wurden bei Katzen keine Effekte einer hohen Salzzufuhr auf den Blutdruck festgestellt (Luckschander et al., 2004; Chetboul et al., 2014).

Informationen zu potenziellen diätetischen Einflussfaktoren auf FGF23 liegen für diese Spezies trotz großer Relevanz kaum vor. Wie bereits dargelegt, spielt FGF23 neben der Regulation der Natriumretention als Phosphatonin eine maßgebliche Rolle in der Phosphorhomöostase (Erben 2016). Erhöhte Serumphosphat Spiegel stellen einen der Hauptindikatoren für das Fortschreiten einer CKD dar (Chakrabarti et al., 2012). Weiterhin wurde FGF23 kürzlich auch bei Katzen (Hardcastle & Dittmer 2015) als Frühmarker der CKD etabliert. Zudem kann Natrium die intestinale Absorption von Phosphor über den NaPi-IIb-Co-Transporter beeinflussen (Marks et al., 2015). Der hohe Gehalt an Natrium in vielen Alleinfuttermitteln (Brunetto et al., 2019; Kazimierska et al., 2020) könnte daher Auswirkungen auf die Phosphorhomöostase haben. In Studien mit gesunden Katzen konnten bei Verwendung von Natriumphosphaten unerwünschte Effekte auf die Nierengesundheit beobachtet werden (Finco et al., 1989; Dobenecker et al., 2018c). Allerdings konnte dabei nicht differenziert werden, inwiefern Natrium dazu unabhängig von Phosphor einen Beitrag leistet. Aufgrund der genannten Zusammenhänge und der hohen Prävalenz chronischer Nierenerkrankungen (Marino et al., 2014; Brown et al., 2016), der Haupttodesursache geriatrischer Katzen (Chen et al., 2020), ist die Erforschung möglicher Auswirkungen einer hohen Salzaufnahme auf den Phosphorhaushalt und FGF23 notwendig.

## **2.5 FGF23 als zentraler Faktor der Phosphorhomöostase**

Wie bei Herbst (2021) detailliert beschrieben, handelt es sich bei FGF23 um ein von Knochenzellen produziertes Hormon, das die renale Phosphorabsorption und Synthese des aktiven Vitamin D reduziert. Dies geschieht einerseits durch die Herunterregulation der Natrium-Phosphat-Cotransporter der proximalen Tubulusepithelzellen und andererseits durch die Reduktion der  $1\alpha$ -Hydroxylase-Expression in den Nieren (Shimada et al., 2004). Stimuli für die FGF23 Sekretion der Osteoblasten und Osteozyten sind hohe extrazelluläre Phosphat- bzw. Vitamin D Konzentrationen (Martin et al., 2012). Eine Bindung von FGF23 an spezifische Rezeptoren und das Transmembranprotein  $\alpha$ -Klotho als Cofaktor ist Voraussetzung für seine phosphaturische Wirkung (Kurosu et al., 2006). Durch intensive Forschung zu FGF23 wurden weitere direkte und indirekte Effekte des Hormons aufgedeckt. So hat es im Sinne eines Rückkopplungsmechanismus physiologischer Weise einen hemmenden Einfluss auf die Synthese eines weiteren Phosphatonins, des Parathormons (PTH) (Ben-Dov et al., 2007; Krajsnik et al., 2007). Diskutiert werden darüber hinaus potentiell gesundheitsschädigende Effekte bei hohen FGF23 Spiegeln wie der Progression von Nierenerkrankungen, der Auslösung von Endotheldysfunktion und -verkalkung, Zellstress, Apoptose, Linksherzhypertrophie, renaler Anämie, chronischer Entzündung, Knochenabbau, Beeinflussung des Darmmikrobioms und Beschleunigung des Alterungsprozesses (Koizumi et al., 2002; Fliser et al., 2007; Stubbs et al., 2007; Wang et al., 2008; Faul et al., 2011; Isakova et al., 2011; Rebbholz et al., 2015; Komaba & Fukagawa 2016; Skrypnik & Suliburska 2018). Phosphatexzess ist als kritischer Faktor bei der Pathogenese von niereninsuffizienzassoziierten, sogenannten ‚mineral and bone disorders‘ bekannt (Calvo & Tucker 2013; Vorland et al., 2017). Darüber hinaus legen neuere Untersuchungen nahe, dass hohe FGF23 und PTH Spiegel als Folge hoher Phosphataufnahme zu den beobachteten Gesundheitsschäden beitragen (Mac Way et al., 2012; Komaba et al., 2016). Eine Hemmung beider Phosphatonine ist aufgrund weitreichender Effekte auf den Mineralhaushalt allerdings nicht praktikabel in der Therapie einsetzbar (Shalhoub et al., 2012). Vielmehr empfiehlt sich eine Begrenzung der Phosphatlast durch Reduktion der Phosphoraufnahme mit der Nahrung (Komaba et al., 2016). Dies ist auch aufgrund einer drohenden Resistenz auf Ebene der Rezeptoren bei chronisch erhöhten FGF23 Spiegeln vorzuziehen (Olauson et al., 2014; Spichtig et al., 2014).

### 3 Publikationen

#### 3.1 The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats

Journal of Urology and Renal Diseases

Steffen C and Dobenecker B. J Urol Ren Dis 08: 1338.

[www.doi.org/10.29011/2575-7903.001338](https://www.doi.org/10.29011/2575-7903.001338)

[www.gavinpublishers.com](http://www.gavinpublishers.com)

OPEN ACCESS



GAVIN PUBLISHERS

Research Article

## The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats

Carla Steffen and Britta Dobenecker\*

Chair of Animal Nutrition and Dietetics, Department of Animal Sciences, Ludwig-Maximilians-Universität, Schönleutnerstr. 8, 85764 Oberschleissheim, Germany

\*Corresponding author: Britta Dobenecker, Chair of Animal Nutrition and Dietetics, Department of Animal Sciences, Ludwig-Maximilians-Universität, Schönleutnerstr. 8, 85764 Oberschleissheim, Germany

Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. J Urol Ren Dis 08: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001339

Received Date: 26 June 2023; Accepted Date: 30 June 2023; Published Date: 04 July 2023

#### Abstract

Chronic Kidney Disease (CKD) is an increasingly frequent disease in geriatric cats, representing the leading cause of death in this species. Reports about the increasing prevalence of CKD exist also in human medicine. The intake of nutrients, notably phosphorus, can affect renal health. Dietary supply with phosphate can influence concentrations of phosphate and factors of the phosphate homeostasis in blood and urine, possibly causing adverse health effects. Investigating nutritional factors involved in the cause and aggravation of kidney damage in more detail is of high importance not only for feline health. The cat is already successfully used as model for various human diseases which highlights its potential role as translational model for phosphate toxicity in humans. Effects of the food additives  $H_3PO_4$  and  $NaH_2PO_4$  on phosphorus homeostasis were investigated in comparison to a control diet. Adding these highly available phosphate additives to the diet of healthy cats for 28 days caused a significant increase in serum phosphate, calcium, and FGF23 as well as in renal phosphorus excretion. Consequently, the use of both phosphate additives in food processing needs to be critically re-evaluated due to the high availability of these sources and therefore their potential adverse health effects. With up to 80 % prevalence, Chronic Kidney Disease (CKD) is one of the most common chronic diseases in geriatric cats [1,2], and represents the leading cause of death in this species [3]. Reports of the increasing prevalence of CKD in the last decades also exist in human medicine [4]. It has been shown in various species, including humans and cats, that the supply of nutrients, notably phosphorus, can affect renal health [5-7]. To investigate nutritional factors involved in cause and aggravation of kidney damage in more detail is therefore of high importance not only for feline health. The fact that the cat has been successfully used as a model for human diseases in several studies [8-12] supports its potential role as translational model for human medicine.



Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 08: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.0011339

**Keywords:** Chronic kidney disease; Food processing; Nutrition; Phosphate excess; Phosphorus homeostasis

## Introduction

Elevated serum phosphate concentrations have been identified as major risk factor for progression of CKD and correlate strongly with mortality in humans [13] and cats [14-16], and independently predicts progression of CKD [17]. Therefore, stabilizing serum phosphate values by lowering phosphate intake, especially of inorganic phosphates, is a key element of dietary CKD management [18,19]. Apart from the relevance of inorganic phosphate intake in renal patients, dietary supply with inorganic phosphate can also cause adverse health effects in healthy individuals. In studies carried out in the 1930s, MacKay et al. observed permanent renal lesions in rats after feeding diets high in phosphoric acid (2.94 %) [20]. In dogs, oral administration of potassium phosphate (30 mg /kg BW<sup>0.75</sup>) caused tubular atrophy within weeks [21]. Dobenecker et al. (2018) showed that high phosphate supply affected kidney function in cats after only 28 days of feeding calcium and sodium monophosphate [6]. In healthy male adults, FGF23 was significantly higher when supplementing the diet with inorganic phosphate [22] and was found to be positively correlated with renal phosphorus excretion [23]. Restriction of inorganic phosphate intake might therefore be important for treatment or even prevention of CKD and other adverse health effects linked to a high phosphate burden.

Dietary supply with phosphate, influenced by its amount and source, determines the phosphorus influx into the body. Studies investigating phosphorus kinetics showed that most inorganic phosphates, due to their high solubility in water, are absorbed in larger quantities compared to phosphates from organic sources [24-26]. Therefore, the phosphate burden cannot be assessed by the total phosphate intake alone, as its source needs to be considered as well. The clinical relevance of phosphate bioavailability has been demonstrated repeatedly in several species. In dogs, postprandial serum phosphate concentrations as well as parameters of phosphorus homeostasis such as PTH and FGF23 increased significantly after high oral phosphate intake from inorganic but not from organic sources [24]. In rats, nephrocalcinosis was more severe when feeding tripolyphosphates compared to dihydrogen phosphates [27]. Another study in mice found health effects of polyphosphates to be more harmful compared to monophosphates [28]. In cats, adding phosphate from inorganic sources (sodium or potassium phosphate) but not from an organic source (bone meal) led to a significant increase of renal phosphorus excretion [29]. Different effects of organic versus

inorganic phosphates on phosphate homeostasis due to differences in availability and digestibility were also observed *in vitro* [30,31] as well as in humans [32]. Consequently, the source of dietary phosphate needs to be considered when formulating diets for CKD patients as well as healthy individuals. Yet, a recent study of Dobenecker (2021) [33] demonstrated that the concentration of phosphate in commercial pet foods, including renal diets, often greatly exceeds the recommended allowance given by the NRC [34] and these diets often contain high percentages of highly water soluble phosphate. A considerable number of products for human consumption are also known to be enriched with inorganic phosphate and are therefore not recommended for kidney patients [26,35-37]. Further research investigating effects of different sources of phosphate on health parameters is therefore warranted. The availability and range of appropriate parameters is key when researching the effects of different phosphate sources on mineral homeostasis and renal function. Relatively recently, Fibroblast Growth Factor-23 (FGF23) has been established as an early marker of disturbed phosphorus metabolism in human [38,39], feline [40,41] and canine [42] renal patients due to its crucial role in phosphorus homeostasis as phosphatonin [43]. Its most effective pathway involves the kidneys: as a response to phosphate influx into the bloodstream, FGF23 increases the urinary phosphorus excretion by degrading the sodium-phosphate cotransporter in the proximal tubules [44]. A high, potentially toxic serum phosphate concentration usually leads to an increase in serum FGF23 and renal phosphorus excretion [23,45,46]. This elimination strategy might cause consequences itself, because the degree of renal damage (tubular-interstitial fibrosis and tubular atrophy) correlates directly with the amount of phosphorus excreted per nephron [47]. In addition to the effect of FGF23 on the kidneys, further potentially harmful actions of its (chronically) increased concentrations have been identified on cardiovascular health [48,49], vitamin D metabolism and bone mineralisation [50,51].

Another parameter to assess potential damage on kidney health is the serum calcium by phosphorus product (sCaxP). Values of sCaxP above 55 mg<sup>2</sup>/dl<sup>2</sup> are associated with soft tissue calcification in humans [52], and concentrations >70 mg<sup>2</sup>/dl<sup>2</sup> are correlated with decreased life expectancy in canine renal patients [53] and interdigital calcifications in cats [54] with CKD. Dietary phosphate can derive from naturally occurring organic sources, mineral supplements or inorganic sources added during food processing. Due to their various properties, phosphate additives are also widely used in pet food. In cat food, phosphoric acid is applied as texturizer [37,55,56], urine acidifier (prevention of uroliths) [57,58], to enhance palatability especially in dry food

Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 08: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001339

kibbles [59] and as preservative [60]. In the list of commonly used phosphate containing GRAS (generally recognized as safe) substances in food as well as pet food processing, phosphoric acid is noteworthy as a liquid phosphate source with an exceptionally high concentration of phosphorus (32 %) [61]. It is important to note that phosphate from phosphoric acid is described as almost completely absorbable [26,62]. In this source, phosphate appears in a completely dissolved and highly available form. For poultry feed, Kirstein et al (2017) reported that phosphate availability was the highest (84 %) when diets were supplemented with phosphoric acid compared to other sources of inorganic phosphate [63]. For beverages containing phosphoric acid, its bioavailability is reported to reach 100 % [64]. So far, data regarding effects of phosphoric acid on apparent digestibility, phosphorus and calcium homeostasis and possible adverse health effects are scarce, but the existing data raises concerns regarding the safety of phosphoric acid. Concerning effects of phosphoric acid intake have been observed in humans as well as in cats. In healthy young men, consumption of phosphoric acid containing beverages was found to increase serum phosphate concentrations and bone resorption [5]. In cats, Fettman et al. (1992) observed an increase in renal phosphorus excretion after supplementing the test diet with phosphoric acid [65]. In another study by DiBartola et al. (1993), 5/9 cats developed renal lesions over a course of 2 years on a commercial diet containing phosphoric acid [66].

Intake of soluble phosphate sources can cause an increase in serum phosphate concentrations, resulting in hyperphosphatemia [24,67-70]. One major pathway to maintain serum phosphate concentrations stable is to upregulate its renal excretion [23]. Compared to other species, this can lead to even higher urinary phosphorus concentrations in the cat because of its peculiarity in producing highly concentrated urine [71]. Based on the information that the amount of phosphorus per nephron correlates directly with the degree of renal damage [47], it can be hypothesized that the cat is especially sensible to an excessive intake of phosphorus which also explains the high prevalence of CKD in this species triggered by these two factors. In other words, the oral intake of highly available phosphates is presumably more critical in this species because of the physiologically high specific gravity of the urine [71]. Thus, the cat may be suitable as a translational model of phosphate toxicity for human medicine to study long-term effects in a time-lapse fashion. Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of dietary supply of phosphoric acid ( $H_3PO_4$ ) in combination with  $NaH_2PO_4$ , another highly available phosphate source [6,72-74], for 28 days on the phosphate and calcium balance as well as on serum phosphate and FGF23 in

healthy cats also as potential model for human medicine.

#### Animals, Materials and Methods

The effects of an addition of inorganic phosphates from phosphoric acid combined with sodium phosphate on mineral balance and selected serum parameters were investigated in comparison to a control diet. Eleven (control group, CON) and ten (phosphoric acid + sodium phosphate, PA-NaP diet) healthy adult European shorthair cats (4 males, 7 females, 1-4 years of age, 2.7-4.7 kg body weight) bred and housed in the cattery of the chair of Animal Nutrition and Diabetics, Department of Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilians-University Munich, participated in this study. All cats underwent a general health check directly before the start of the study including complete blood count and selected parameters of kidney function (urea, creatinine, SDMA, serum electrolytes) to ensure a proper health status. Each trial lasted 28 days, commencing with an adaptation phase (18 d), followed by a digestibility trial of 10 days. Quantitative sampling of urine and faeces was carried out, and food and water consumption were recorded. The trials were completed by taking fasted (minimum 12 hours (h) after the last meal) and postprandial (3 h after food intake) blood samples on day 28. Visual inspection of the cats was conducted daily by a veterinarian and a general health exam including weighing was performed on a weekly basis. The representative of the Veterinary Faculty for animal welfare and the Government of Upper Bavaria (reference number ROB 55.2-1-2532\_Vet\_02-19-38) approved the study.

#### Housing

During the adaptation phase cats were housed in groups of 4 to 8 animals. To allow individual food intake, the cats were separated into single cages during feeding times for a maximum of 1 h. The same cages for single housing to which the cats had been accustomed beforehand (length  $\times$  width  $\times$  height = 120  $\times$  60  $\times$  53 or 90  $\times$  80  $\times$  75 cm) were used during the digestibility trial. Air temperature and humidity were monitored and controlled using an air conditioning system. Light (natural and artificial) was available for at least 8 h a day. Fresh water was provided in stainless steel bowls ad libitum. The individual cages were equipped with seat boards, blankets and a litterbox.

#### Diets

A complete and balanced basal diet was produced for both parts of the trial and fed in two daily meals. Basic values of all parameters were determined for each individual during the control trial (Table 1). Food quantity was allocated based on historical data for individual energy requirements to maintain body weight. In

Citation: Stieffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 08: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001339

diet CON, phosphorus originated entirely from organic sources, meeting the recommended daily allowance for phosphorus (NRC 0.64 g/Mcal) [34]. Exclusive use of phosphoric acid to reach the targeted amount of inorganic phosphate was not possible due to palatability reasons. Therefore, sodium phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) was used to supplement phosphoric acid in the PA-NaP diet (Table 1). To adjust the pH between 6.8 and 7.2, potassium hydroxide (KOH) was added to the feed. In both diets, the Ca/P ratio was within the recommended range of 1/1 to 2/1.

#### Sample Collection and Storage

During the collection period, the cats were housed individually. To collect urine samples, two plastic basins were stacked on top of each other. The upper basin contained polyethylene beads as litter material to allow normal feline toileting behaviour. Slots in the bottom of the first basin allowed the fresh urine to pass through into the second basin. Urine was collected at several time points during the day with a maximum period in between of 12 h (overnight). Using thymol and paraffin is a reliable method to conserve the stability of urine pH over a period of at least 12 h, as demonstrated in in-house trials [75]. To ensure the reliability of the method, the pH of several fresh urine samples was measured and re-evaluated after 12 h of preservation. The amount of urine produced by each cat was determined by weighing. To collect the urine, the layer of paraffin-thymol-mixture was penetrated with a needle and aspirated. Urine pH (WTW pH 325, calibrated before measuring) and specific weight (refractometer HRM 18, Krüss Optronic, Germany) were determined directly after sampling. Daily samples were kept refrigerated, pooled, and stored at -18 °C thereafter. Faeces were collected quantitatively as soon as defecation was noticed; the samples were then weighed and

stored at -18 °C until analysis. After freeze-drying (T 22 K-E-6, Piatkowsky, Munich, Germany), daily samples were pooled, ground and thoroughly mixed. Blood samples for serum and citrate plasma were drawn on day 28 preprandially (pre; at least 12 h fasted) and 3 h postprandially using either the vena saphena medialis or the vena cephalica antebrachii. After ~30 minutes and ~2 h (FGF23) of clotting, respectively, samples were centrifuged for 15 minutes at 2000 rpm (FGF23) and 10 minutes at 3000 rpm for the remaining parameters and stored at -80 °C until analysis. Wet digestion with 65 %  $\text{HNO}_3$  was performed in a microwave system for feed and faecal samples. An aliquot of each 24 h urine sample was pooled after gentle thawing and proper stirring for analysis.

#### Laboratory Analyses

Calcium was analysed photometrically (flame photometry, Eppendorf EFOX 5033) in urine, faeces and serum. For analysis of phosphorus, the modified vanadate molybdate method modified according to Gericke und Kurmies (1952) [76] (Thermo-Spectronic, Genesis 10uv) was applied. Magnesium in the feed was measured via spectrometry (Perkin Elmer AAnalyst 800), chloride was analysed using a chloridometer (Slamed Chloridmeter 50µl), potassium and sodium were measured photometrically (flame photometry, Eppendorf EFOX 5033). Crude nutrients in the diets and faecal samples were determined by Weende analysis (VDLUFA 2012) [77]. Serum samples were analysed for FGF23 using an ELISA kit validated for feline samples (KAINOS Laboratories Inc., Tokyo, Japan) [40]. Serum creatinine was measured photometrically at IDEXX Vet Med Laboratories GmbH, Ludwigsburg, Germany, and urine creatinine was analysed in-house (MicroVue Creatinine Assay Kit, Quidel Corporation).

Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 08: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001339

		CON	PA-NaP
<b>Ingredients</b>		Beef (Heart, Steak)	72
<b>Basal diet</b>	%	Rice	24
		Cellulose	1
		Rapeseed oil	3
<b>GE</b>	MJ/kg DM	27	
<b>DM</b>	g/kg	431	426
<b>P source</b>	mg/Mcal	698 (organic)	792 (organic) 485 (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) 1478 (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )
<b>Crude protein</b>		439	497
<b>Crude fat</b>		362	325
<b>Crude fibre</b>		35	30
<b>Crude ash</b>		16	20
<b>N/E</b>		77	128
<b>Ca</b>	g/kg DM	5	26
<b>P</b>		3.6	13.1
<b>K</b>		8	10
<b>Mg</b>		0.9	2.2
<b>Na</b>		1.4	6.7
<b>Cl</b>		6.1	2.0
<b>Ca/P</b>	-	1.3/1	2.0/1
<b>Vit. D<sub>3</sub></b>	IU/kg DM	449	382

DM: dry matter, GE: gross energy, N/E: nitrogen-free extract, Ca: calcium, P: phosphorus, K: potassium, Mg: magnesium, Na: sodium, Cl: chloride, Ca/P: Calcium to phosphorus ratio

**Table 1:** Composition of diets

Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 08: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001339

**Calculations and Statistical Analysis**

Values between groups were compared with a Student's t-test while a paired-t-test was performed to compare pre- and postprandial values. To test for normality, a Shapiro-Wilk test was applied. Results with p-values  $\leq 0.001$ ,  $\leq 0.01$  and  $\leq 0.05$ , respectively, were considered significantly different. Apparent digestibility (aD) during the 10day collection period was calculated as follows:  $aD [\%] = (\text{nutrient intake}_{\text{feed}} - \text{nutrient excretion}_{\text{faeces}}) / \text{nutrient intake}_{\text{feed}}$

**Results**

**Nutrient Intake and Balance**

All cats stayed clinically healthy throughout the study. In the PA-NaP diet, water intake increased significantly compared to CON (43±9 ml/kg vs. 29±3 ml/kg BW/d;  $p \leq 0.001$ ). In alignment, urine volume increased as well (20±8 vs. 14±3 g/kg BW/d;  $p \leq$

0.022; Table 4). Intake of dry matter did not differ between groups (13±1 g/kg BW vs. 12±1 g/kg BW), but apparent digestibility of dry matter was about 10 % lower in the PA-NaP diet compared to CON ( $p \leq 0.001$ ; Table 2). While apparent digestibility of calcium remained unaffected by the diet, the apparent digestibility of phosphorus decreased significantly in the PA-NaP diet ( $p \leq 0.001$ ). Still, the amount of apparently digested phosphorus was significantly higher in the PA-NaP diet compared to CON (50 ± 16 vs. 29 ± 3 mg/kg BW/d,  $p \leq 0.001$ ). Renal phosphorus excretion increased significantly when inorganic phosphate was added to the diet ( $p \leq 0.001$ ). Despite a significantly increased concentration of phosphorus in the urine of cats fed the PA-NaP diet ( $p < 0.001$ ; Table 4,3), retention of phosphorus did not differ between groups. Similarly, calcium concentrations were slightly but significantly higher in the PA-NaP diet compared to CON ( $p < 0.01$ ), while calcium retention remained unaffected.

Mineral	Diet	Intake mg/kg BW	Faecal ex. mg/kg BW	aD %	Renal ex. mg/kg BW	Retention mg/kg BW	App. digest. mg/kg BW
P	CON	49±3	19±4	60±9	14±5	15±4	29±3
	PA-NaP	157±20***	110±13***	30±8***	45±14***	2±18	50±16***
Ca	CON	64±4	58±11	10±17	0.4±0.1	6±11	6±11
	PA-NaP	321±42***	311±37***	3±9	0.8±0.3***	9±31	10±31

ex.: excretion, aD: apparent digestibility, App. digest.: apparently digested, Ca: calcium, P: phosphorus,

\* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$  between groups

**Table 2:** Intake, renal and faecal excretion, retention, and apparent digestibility of phosphorus and calcium (mean ± standard deviation)

**Blood Parameters**

Postprandial FGF23 serum concentrations were lower compared to the fasted state in both groups, but only significantly in CON ( $p = 0.001$ ). Compared to CON, the PA-NaP diet led to a highly significant increase of serum FGF23 concentrations at both time points ( $p \leq 0.001$ ). Phosphorus intake from organic sources in CON resulted in significantly lower serum phosphate values postprandially. In contrast, the inorganic phosphate in the PA-NaP diet caused significantly lower preprandial serum phosphate values compared to CON ( $p = 0.019$ ), which then significantly increased by 50 % after food intake ( $p \leq 0.001$ ). In 8/10 cats, postprandial serum phosphate concentrations exceeded the upper reference range. In the PA-NaP diet, serum calcium

values were significantly higher before and after feeding compared to CON ( $p \leq 0.001$ ). Within groups, fasting values for calcium were significantly lower in the PA-NaP diet as well as CON ( $p = 0.018$ ;  $p = 0.013$ ). Accordingly, the preprandial serum calcium by phosphorus product (sCaxP) did not differ between groups. Due to the postprandially increased calcium ( $p \leq 0.001$ ) and phosphate serum concentrations in the PA-NaP diet, values for sCaxP rose above the threshold of 55 mg/dl given by Block et al. (2000) [52] in all cats. In contrast, a significant decrease of sCaxP values 3 h after food feeding ( $p \leq 0.001$ ) was seen in the CON group. Serum creatinine concentrations increased after food intake in both groups (CON:  $p = 0.007$ ; PA-NaP:  $p = 0.033$ ) and were significantly higher postprandially in the PA-NaP diet compared to CON ( $p \leq 0.001$ ).

Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 08: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001319

Serum	Time point	Reference range	CON	n outside reference range	PA-NaP	n > reference range
FGF23 [pg/ml]	pre	< 300	202±53	1/11	354±79***	8/10
	post		142±22*	0/7	282±80***	3/10
P [mmol/l]	pre	0.8-2.2	1.8±0.2	2/11	1.6±0.1*	0/10
	post		1.4±0.1*	0/11	2.4±0.2#***	8/10
Ca [mmol/l]	pre	2.2-2.9	2.3±0.1	0/11	2.6±0.1***	0/10
	post		2.2±0.0*	2/10	2.4±0.1#***	0/10
sCaxP [mg <sup>2</sup> /dF]	pre	< 55	52±6	2/11	51±4	0/10
	post		39±3*	0/10	71±5***	10/10
Creatinine [mmol/l]	pre	0.08-0.20	0.14±0.01	0/11	0.15±0.01	0/10
	post		0.16±0.01*	0/11	0.18±0.01***	0/10

Ca: calcium, P: phosphorus, sCaxP: serum calcium by phosphorus product, pre: preprandial, post: postprandial

\*p ≤ 0.05, \*\*p ≤ 0.01, \*\*\*p ≤ 0.001 between groups; #pre- and postprandial values within one group differ significantly (p ≤ 0.05); • Block et al. (2000) [52]

**Table 3:** Serum parameters after 28 days of either high phosphate or control feeding in cats (mean ± standard deviation)

**Urine Parameters**

All urine parameters were significantly affected by high H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> and NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> intake. Urine creatinine concentrations were lower in the PA-NaP diet (p ≤ 0.001), while phosphorus (p ≤ 0.001) concentrations were significantly higher despite the increase in urine volume (p ≤ 0.022) and the decrease in urine specific gravity (p ≤ 0.001). The same applies to the urinary calcium concentrations in the PA-NaP diet (p = 0.002), but because all values were below the validated detection limit for calcium in the photometric analysis, the validity is restricted.

Urine	CON	PA-NaP	Reference range
P [g/l]	1.0±0.2	2.4±0.6***	-
Ca <sup>o</sup> [g/l]	< 0.04	< 0.04	-
Creatinine [mmol/l]	32±4	21±4***	-
USG [mg/ml]	1060±2	1045±7***	1035-1060
Volume [ml/kg BW/d]	14±3	20±8**	< 50

USG: urine specific gravity, Na: sodium, Cl: chloride, K: potassium, P: phosphorus, P/Crea = phosphorus to creatinine ratio; <sup>o</sup> all measured values below given detection limit; \*p ≤ 0.05, \*\*p ≤ 0.01, \*\*\*p ≤ 0.001 between groups

**Table 4:** Urine parameters after 28 days of either high phosphate or control feeding in cats (mean ± standard deviation)

Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 08: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001339

## Discussion

CKD is the most common terminal disease in aging cats [3]. In humans, the prevalence of CKD is also high and increasing [4]. Phosphate is known to be a main contributor to the progression of CKD [13-17]. Demonstrated adverse health effects from oral ingestion of highly available phosphates such as phosphoric acid [65,66] have raised concerns about the safety of additives even in healthy individuals. Research in felines can help understand factors that promote kidney damage also in human patients. Moreover, inorganic sources of phosphate are used in cat food as well as human food and beverages. Understanding the impact of different sources of phosphate on health parameters is therefore important. Although phosphoric acid is used, for example, as acidulant, preservative, or palatant in pet food [57-60], empirical studies investigating its safety are still scarce. Therefore, this study aimed to gain further insights regarding the effects of phosphoric acid in combination with another source of highly available inorganic phosphate, both with relevance for feline and potentially human nutrition and health.

In order to avoid an inverse calcium to phosphorus ratio, which in itself might cause effects on the phosphorus availability, and to better reflect the pet food market, the calcium supply was increased to achieve a ratio between 1 and 2 to 1. Separate effects of calcium on parameters such as FGF23, described in genetically modified mice [78], were not expected in the own trial. It is known from practical feeding as well as preceding trials, that a nutritional supply with calcium in this magnitude does not lead to hypercalcemia in cats and dogs [7,24,70,79] nor to increased FGF23 concentrations in case of excessive calcium supply from 'organic' sources like meat and bone meal [24,70]. Furthermore, the addition of calcium carbonate caused a slight but biologically probably irrelevant increase in serum calcium concentrations with all values within the reference range. The sodium intake in the test diet was increased by adding sodium phosphate up to levels which are comparable to processed commercial cat food. Besides, phosphate salts permitted as food and feed additives deliver a cation with the phosphate, in this case sodium. The majority of commercially available processed food products for cats supply major minerals in abundance [33,80,81], which makes the mineral profile of this test diet practically relevant.

Notably, there were significant differences between the groups in various parameters even after the short duration of each trial phase. One of the main findings was the significant increase of serum FGF23 after feeding the PA-NaP diet, independent of the sampling time. Dobenecker et al. (2021) [24] found

comparable results when examining the kinetics and effects of inorganic versus organic phosphates added to the diet of dogs. Increased FGF23 concentrations, partly mediated by the co-factor klotho, are linked to several pathological findings. These are left ventricular hypertrophy [82,83], progression of renal failure and cardiovascular diseases through endothelial dysfunction, vascular stiffness and vascular calcification [84,85], cytokine activation leading to chronic inflammation [86,87], an increased risk of infection [88], heart failure [83], and reduced synthesis of active vitamin D [50] in CKD patients. Furthermore, elevated serum FGF23 concentrations might lead to FGF-receptor resistance, further exacerbating the adverse effects mentioned [89]. Whether the association between FGF23 and clinical events is causal, or causal remains controversial [90] and extensive further research is needed to answer this question. However, as long as it is not fully understood to what extent FGF23 contributes to disease rather than merely indicating it, the use of additives causing a significant prolonged increase should be avoided.

Despite the considerable increase of FGF23, the mean postprandial serum phosphate concentrations exceeded the upper reference value in most cats. This might indicate that the regulation by FGF23 was delayed or even insufficient to normalize serum phosphate 3 h postprandially due to the high influx of inorganic phosphate into the bloodstream. In dogs fed 1 meal per day, peak values for serum phosphate concentrations were found 3 h after food intake and had not returned to normal after 7h [24]. In another study in dogs, the addition of inorganic phosphates to the diet also caused a significant postprandial increase of serum phosphate and, in the case of monosodium and monopotassium phosphate, a significant decrease in preprandial samples [70]. In contrast, high phosphate intake from organic sources (bone meal) did not affect serum phosphate values in the respected trials [24,70]. Therefore, the observed increase in serum phosphate values can be linked to the application of inorganic phosphate.

Data in the current study support this finding, where serum phosphate in cats were significantly lower after fasting for at least 12 h compared to postprandial concentrations when fed the high phosphate diet. Presumably, the persistent elevation of serum FGF23 with significantly higher values also preprandially caused a drop of serum phosphate below the values measured in the control group. This finding has practical implications, as routine diagnostics usually include measurement of fasted serum phosphate concentrations, but not of postprandial values. Our study clearly showed that only postprandial serum phosphate concentrations rose above the upper reference, while serum FGF23 values remained elevated in the PA-NaP diet compared to CON.

Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 08: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.0011339

Evaluating postprandial serum phosphate values might therefore be useful when assessing phosphorus homeostasis, due to possible circadian and dietary influences [91].

In the PA-NaP diet, the apparent digestibility of phosphorus was half of what was measured in the control group. However, the apparently digested amount of phosphorus was significantly higher in the PA-NaP diet ( $p < 0.001$ ), explaining the increase of postprandial serum phosphate and renal phosphorus excretion. Considering the apparent digestibility of phosphorus alone after supplying different sources of phosphate can therefore be misleading when assessing the impact of different dietary phosphate sources. The fivefold increase of calcium supply in the PA-NaP diet did not affect the apparent digestibility or the apparently digested amount of this element. Most of the additional calcium was excreted faecally, as expected [92]. Even though the renal calcium excretion proved to be statistically higher in the PA-NaP diet, the amount per kg BW was too low to be biologically relevant. Regarding serum calcium concentrations, interesting results were found as well. In contrast to findings reported by Geddes and coworkers [93] in feline CKD patients after their dietary change to a phosphorus restricted diet, the lower phosphorus intake in the CON group did not cause an increase in serum calcium. To the contrary, the higher phosphorus concentration in the PA-NaP diet lead to significantly higher pre- and postprandial serum calcium concentrations, presumably also because of the higher calcium intake in this group. The authors of the aforementioned paper did not mention if maybe calcium-containing phosphate binders were used in this group of cats with diagnosed CKD, which would explain the observed trend to higher serum calcium [93].

Due to the increased serum calcium and phosphate concentrations in the cats of the PA-NaP diet, mean postprandial sCaxP was significantly higher when compared to CON. Increased sCaxP values correlate with adverse health effects such as soft tissue calcification [52,54] and shortened life expectancy [53] in humans and non-human animals. Therefore, finding values above the threshold of 55 mg/dl [52] in all of the healthy cats in our study is alarming. Consequently, potential effects of food additives such as phosphoric acid on sCaxP should also be investigated in humans. Effects of sodium phosphate alone versus a combination of phosphoric acid and sodium phosphate on serum phosphorus and calcium and therefore sCaxP differ significantly in cats. The effect of phosphoric acid addition was significantly more pronounced compared to sole use of sodium phosphate, even though the total phosphate supply was higher in the trial using only sodium phosphate (4.5 g/Mcal) [94]. This is further

proof that both the total amount of ingested phosphate and its source are responsible for the effects on calcium and phosphorus metabolism. Previously, a SUL for inorganic phosphate intake of 1 g/Mcal in cats has been suggested [95,96]. This recommendation was based on results from medium-term studies in cats using primarily sodium tripolyphosphate (STPP). In consideration of the present study results, more extensive information is needed about possible effects of all inorganic phosphate sources deployed in food processing, in combination with other dietary and individual factors, before postulation of any safe upper limit guaranteeing that inorganic phosphate additives are unconditionally safe for human and animal consumption.

Another factor to consider when interpreting research data using a translational approach is the choice of the animal model. The suitability of a research model is determined by various factors such as availability, maintenance costs, but also the degree of comparability of physiological function of the target organ or structure and, in case of nutritional context, the nutrition or food spectrum of both the animal model and the target species. A considerable percentage of research in the field of dietary impact on renal function has been carried out in rodents [97]. It is important to note that rodents do not fulfil all the factors mentioned above. Commonly used rodent-models such as the 5/6<sup>th</sup> nephrectomy rat model [98,99] and the adenine nephrotoxic model [100,101] develop late stages of CKD due to acute kidney injury. Yet, progression of CKD in humans is usually slow, which limits the comparability of the pathophysiology [102]. Differences are also found in phosphorus absorption and vitamin D and bone metabolism, and while serum vitamin D values decrease in humans, they remain constant or even increase in mice as CKD progresses [103]. Additionally, Lindström et al. (2018) identified significant differences in the timing, scale, organization, and molecular profile of key cell types and composite cell structures between mice and humans [104]. The cat, on the other side, might have some advantages in comparison. Previous studies in healthy felines [6,7] using calcium and sodium monophosphate as sources of inorganic phosphate, found an increase in renal phosphorus excretion, glucosuria and a decrease in creatinine clearance, indicating potential renal damage [105]. It can be hypothesised that increased renal phosphorus excretion with high urine concentrations after excessive oral phosphate loading can be seen as cause for the conspicuously high prevalence [1,2] of CKD in this species. Due to the high sensitivity of the cat to orally administered phosphates, the cat might be a valuable model for human CKD research.



Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 8: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001339

## Conclusion

CKD has a high prevalence in humans as well as felines. Highly available sources of inorganic phosphate are known to adversely affect kidney health. Evaluating the safety of commonly used food additives such as phosphoric acid is therefore important. Adding phosphoric acid in combination with a soluble sodium phosphate to the diet of healthy cats caused a significant increase of serum FGF23, phosphate concentrations, and the serum calcium by phosphorus product as well as renal phosphorus excretion. In this study, we proposed the cat as translational model for human medicine, due to its high sensitivity to dietary phosphate. These findings raise serious concerns regarding the safety of using highly available phosphate sources in processing of food products for feline and human consumption.

## References

- Brown CA, Elliott J, Schmiedt CW, Brown SA (2016) Chronic Kidney Disease in Aged Cats: Clinical Features, Morphology, and Proposed Pathogenesis. *Vet Pathol* 53: 309-326.
- Marino CL, Lascelles BDX, Vaden SL, Gruen ME, Marks SL (2014) Prevalence and classification of chronic kidney disease in cats randomly selected from four age groups and in cats recruited for degenerative joint disease studies. *Journal of feline medicine and surgery* 16: 465-472.
- Chen H, Dunneveich A, Apfelbaum N, Kuzi S, Mazaki-Tovi M, et al. (2020) Acute on chronic kidney disease in cats: Etiology, clinical and clinicopathologic findings, prognostic markers, and outcome. *Journal of veterinary internal medicine* 34: 1496-1506.
- Lv JC, Zhang LX (2019) Prevalence and Disease Burden of Chronic Kidney Disease. In *Renal Fibrosis: Mechanisms and Therapies*, Liu BC, Lan HY, Lv LL, (Editors), Springer Singapore: Singapore: 1165: 3-15.
- Kristiansen M, Jensen M, Kudsk J, Henriksen M, Mølgaard C (2005) Short-term effects on bone turnover of replacing milk with cola beverages: a 10-day interventional study in young men. *Osteoporos Int* 16: 1803-1808.
- Dobenecker B, Webel A, Reese S, Kienzle E (2018) Effect of a high phosphorus diet on indicators of renal health in cats. *J Feline Med Surg* 20: 339-343.
- Dobenecker B, Hertel-Bohnke P, Webel A, Kienzle E (2018) Renal phosphorus excretion in adult healthy cats after the intake of high phosphorus diets with either calcium monophosphate or sodium monophosphate. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 102: 1759-1765.
- Kittleson MD, Meurs KM, Munro MJ, Kittleson JA, Liu SK, et al. (1999) Familial hypertrophic cardiomyopathy in Maine coon cats: an animal model of human disease. *Circulation* 99: 3172-3180.
- Tilley LP, Liu SK, Gilbertson SR, Wagner BM, Lord PF (1977) Primary myocardial disease in the cat. A model for human cardiomyopathy. *Am J Pathol* 86: 493-522.
- Hoenig M (2012) The cat as a model for human obesity and diabetes. *Journal of diabetes science and technology* 6: 525-533.
- Menotti-Raymond M, David VA, Schäffer AA, Stephens R, Wells D, et al. (2007) Mutation in CEP290 discovered for cat model of human retinal degeneration. *Journal of Heredity* 98: 211-220.
- Esteves MI, Schrenzel MD, Marini RP, Taylor NS, Xu S, et al (2000) *Helicobacter pylori* Gastritis in Cats with Long-Term Natural Infection as a Model of Human Disease. *The American Journal of Pathology* 158: 709-721.
- Klassen PS, Lowrie EG, Reddan DN, DeLong ER, Coladonato JA, et al. (2002) Association between pulse pressure and mortality in patients undergoing maintenance hemodialysis. *Jama* 287: 1548-1555.
- Boyd LM, Langston C, Thompson K, Zivin K, Imanishi M (2008) Survival in Cats with Naturally Occurring Chronic Kidney Disease (2000-2002). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22: 1111-1117.
- Barber PJ, Elliott J (1998) Feline chronic renal failure: calcium homeostasis in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995. *J Small Anim Pract* 39: 108-116.
- Kuwahara Y, Ohba Y, Kitoh K, Kuwahara N, Kitagawa H (2006) Association of laboratory data and death within one month in cats with chronic renal failure. *J Small Anim Pract* 47: 446-450.
- Chakrabarti S, Syme HM, Elliott J (2012) Clinicopathological variables predicting progression of azotemia in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 26: 275-281.
- Dobenecker B (2023) Nutritional Management of Renal Disease. *Elsevier Health Science* 2023: 10.
- Hong SH, Park SJ, Lee S, Kim S, Cho MH (2015) Biological effects of inorganic phosphate: potential signal of toxicity. *J Toxicol Sci* 40: 55-69.
- Mackay EM, Oliver J (1935) Renal Damage Following The Ingestion Of A Diet Containing An Excess Of Inorganic Phosphate. *J Exp Med* 61: 319-334.
- Schneider P, Pappritz G, Müller-Peddinghaus R, Bauer M, Lehmann H, et al. (1980) Potassium hydrogen phosphate induced nephropathy in the dog. I. Pathogenesis of tubular atrophy. *Vet Pathol* 17: 699-719.
- Antonucci DM, Yamashita T, Portale AA (2005) Dietary Phosphorus Regulates Serum Fibroblast Growth Factor-23 Concentrations in Healthy Men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 91: 3144-3149.
- Ferrari SL, Bonjour JP, Rizzoli R (2005) Fibroblast Growth Factor-23 Relationship to Dietary Phosphate and Renal Phosphate Handling in Healthy Young Men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90: 1519-1524.
- Dobenecker B, Herbst S (2021) Effects of dietary phosphates from organic and inorganic sources on parameters of phosphorus homeostasis in healthy adult dogs. *PLOS ONE* 16: e0246950.
- Coltherd JC, Staunton R, Colyer A, Thomas G, Gilham M, et al. (2019) Not all forms of dietary phosphorus are equal: an evaluation of postprandial phosphorus concentrations in the plasma of the cat. *Br J Nutr* 121: 270-284.
- Urbarri J, Calvo MS (2003) Hidden sources of phosphorus in the typical American diet: does it matter in nephrology? In *Proceedings of the Seminars in dialysis* 2003: 186-188.
- Matsuzaki H, Kikuchi T, Kajita Y, Masuyama R, Uehara M, et al. (1999) Comparison of various phosphate salts as the dietary phosphorus source on nephrocalcinosis and kidney function in rats. *J Nutr Sci Vitaminol Tokyo* 45: 595-608.

Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 08: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001339

28. Sasaki S, Koike M, Tanifuji K, Uiga M, Kawahara K, et al. (2022) Dietary polyphosphate has a greater effect on renal damage and FGF23 secretion than dietary monophosphate. *J Med Invest* 69: 173-179.

29. Dobenecker B, Schaschi C, Weibel A, Kienle EA (2018) 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: 67.

30. Karp H, Ekholm P, Keml V, Hirvonen T, Lamberg-Allardt C (2012) Differences among Total and In Vitro Digestible Phosphorus Content of Meat and Milk Products. *Journal of Renal Nutrition* 22: 344-349.

31. Karp H, Ekholm P, Keml V, Ilkonen S, Hirvonen T, et al. (2012) Lamberg-Allardt C. Differences Among Total and In Vitro Digestible Phosphorus Content of Plant Foods and Beverages. *Journal of Renal Nutrition* 22: 418-422.

32. Karp HJ, Vahlia KR, Kätköskinen MUM, Niemistö MJ, Lamberg-Allardt CJE (2007) Acute Effects of Different Phosphorus Sources on Calcium and Bone Metabolism in Young Women: A Whole-Foods Approach. *Calofied Tissue International* 90: 251-258.

33. Dobenecker B (2021) Phosphate intake with complete food and diets for chronic kidney disease available on the German market. *Tierärztliche Praxis Kleintiere Heimtiere* 49: 247-254.

34. National Research Council N (2006) *Nutrient Requirements of Dogs and Cats*. National Academic Press, Washington DC.

35. Cupisti A, Kalantar-Zadeh K (2013) Management of Natural and Added Dietary Phosphorus Burden in Kidney Disease. *Seminars in Nephrology* 33: 180-190.

36. Calvo MS (2000) Dietary considerations to prevent loss of bone and renal function. *Nutrition* 16: 584-588.

37. Sherman RA, Mehta D (2009) Phosphorus and potassium content of enhanced meat and poultry products: implications for patients who receive dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 4: 1370-1373.

38. Isakova T, Wahi P, Vargas GS, Gutiérrez OM, Solaia J, et al. (2011) Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney International* 79: 1370-1378.

39. Block G, Port FK (2003) Calcium phosphate metabolism and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Semin Dial* 16: 140-147.

40. Geddes R, Finch N, Elliott J, Syme H (2013) Fibroblast Growth Factor 23 in Feline Chronic Kidney Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine J Vet Intern Med* 27: 234-241.

41. Hardcastle MR, Dittmer KE (2015) Fibroblast Growth Factor 23: A New Dimension to Diseases of Calcium-Phosphorus Metabolism. *Vet Pathol* 52: 770-784.

42. Harjes LM, Parker VJ, Dembek K, Young GS, Giovaninni LH, et al. (2017) Fibroblast Growth Factor-23 Concentration in Dogs with Chronic Kidney Disease. *J Vet Intern Med* 31: 794-790.

43. Erben RG (2016) Update on FGF23 and Klotho signaling. *Mol Cell Endocrinol* 432: 66-65.

44. Gallieni J, Bates C, Twombly K, Dwarakanath V, Robinson ML, et al. (2009) FGF23 decreases renal NaPi-2a and NaPi-2c expression and induces hypophosphatemia in vivo predominantly via FGF receptor 1. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 297: F262-F291.

45. Shimada T, Hasegawa H, Yamezaki Y, Muto T, Hino R, et al. (2004) FGF-23 is a Potent Regulator of Vitamin D Metabolism and Phosphate Homeostasis. *Journal of Bone and Mineral Research* 19: 429-435.

46. Saiko H, Maeda A, Ohmoto SI, Hirata M, Kusano K (2006) Circulating FGF-23 is regulated by 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D3 and phosphorus in vivo. *Journal of Biological Chemistry* 280: 2643-2649.

47. Haul LL, Alfrey AC, Guggenheim S, Buddington B, Schrier N (1980) Renal locality of phosphate in rats. *Kidney International* 17: 722-731.

48. Arnöf J, Carlsson AC, Sundström J, Ingelsson E, Larsson A, et al. (2013) Serum FGF23 and Risk of Cardiovascular Events in Relation to Mineral Metabolism and Cardiovascular Pathology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 8: 781-796.

49. Faul C, Amaral AP, Okouli B, Hu MC, Sloan A, et al. (2011) FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *The Journal of Clinical Investigation* 121: 4393-4408.

50. Gutiérrez OM (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* 5: 1710-1716.

51. Lalic N, Erben, RG (2021) FGF23 and vitamin D Metabolism. *JBRM Plus* 5: e19558.

52. Block GA, Port FK (2000) Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: Recommendations for a change in management. *American Journal of Kidney Diseases* 35: 1226-1237.

53. Lucero MC, Duque FJ, Gil M, Ruiz P, Mesias-García B, et al. (2019) A plasma calcium-phosphorus product can be used to predict the lifespan of dogs with chronic kidney disease. *Can Vet J* 160: 1319-1325.

54. Jackson HA, Barber PJ (1998) Resolution of metastatic calcification in the paws of a cat with successful dietary management of renal hyperparathyroidism. *J Small Anim Pract* 39: 495-497.

55. Ritz E, Hahn K, Ketteler M, Kuhlmann MK, Mann J (2012) Phosphate additives in food—a health risk. *Dtsch Arztebl Int* 109: 49-55.

56. Additives E, Panel O, Flavourings F, Younes M, Aquilina G, et al. (2019) Re-evaluation of phosphoric acid-phosphates-di, tri- and polyphosphates (E 338-341, E 343, E 450-452) as food additives and the safety of proposed extension of use. *EFSA Journal* 17: e05674.

57. Izquierdo JV, Czamecki-Majdlen GL (1991) Effect of Various Acidifying Agents on Urine pH and Acid-Base Balance in Adult Cats. *The Journal of Nutrition* 121: S89-S90.

58. Spears JK, Grieshop CM, Fehey GC (2003) Evaluation of sodium bisulphate and phosphoric acid as urine acidifiers for cats. *Arch Tierernähr* 57: 389-396.

59. Chemineau A (2007) Phosphoric acid impacts palatability of cat food.

60. Brown RG (1988) Making pet foods. *Can Vet J* 29: 465-468.

61. Calvo MS, Uribarri J (2013) Contributions to Total Phosphorus Intake: All Sources Considered. *Seminars in Dialysis* 26: 54-61.

62. Karp H, Ekholm P, Keml V, Ilkonen S, Hirvonen T, et al. (2012) Differences among total and in vitro digestible phosphorus content of plant foods and beverages. *J Ren Nutr* 22: 416-422.

63. Kirstein MB (2017) The use of phosphoric acid as an alternative phosphorus source in broiler chicken production. *Stellenbosch: Stellenbosch University* 2017.

**Citation:** Steffen C, Dobenecker B (2022) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 8: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001339

64. Calvo MS, Moehlegh AJ, Tucker KL (2014) Assessing the Health Impact of Phosphorus in the Food Supply: Issues and Considerations. *Advances in Nutrition* 5: 104-113.
65. Fettman MJ, JM C (1992) Effect of dietary phosphoric acid supplementation on acid-base balance and mineral and bone metabolism in adult cats. *American Journal of Veterinary Research* 53: 2125-2135.
66. DiBartola SP, Bullington CA, Chew DJ, McLoughlin MA, Speaks RA (1993) Development of chronic renal disease in cats fed a commercial diet. *J Am Vet Med Assoc* 202: 744-751.
67. Giral H, Caldes Y, Sutherland E, Wilson P, Brausegem S, et al. (2009) Regulation of rat intestinal Na-dependent phosphate transporters by dietary phosphate. *Am J Physiol Renal Physiol* 297: F1466-F1475.
68. Foley RN, Collins AJ, Ishani A, Kalra PA (2008) Calcium-phosphate levels and cardiovascular disease in community-dwelling adults: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *American Heart Journal* 156: 556-563.
69. Moore LW, Nolle JV, Gaber AO, Suki NW (2015) Association of dietary phosphate and serum phosphorus concentration by levels of kidney function 1, 2. *The American Journal of Clinical Nutrition* 102: 444-453.
70. Dobenecker B, Kienzle E, Stielor S (2021) The Source Matters-Effects of High Phosphate Intake from Eight Different Sources in Dogs. *Animals* 11: 3456.
71. Kraft W, Dürr UM (2014) Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin; Andreas Moritz; Schattauer 7.
72. Finoo DR, Barsanti JA, Brown SA (1969) Influence of dietary source of phosphorus on fecal and urinary excretion of phosphorus and other minerals by male cats. *Am J Vet Res* 50: 263-266.
73. Alexander J, Stockman J, Atwal J, Buttenwick R, Colyer A, et al. (2018) Effects of the long-term feeding of diets enriched with inorganic phosphorus on the adult feline kidney and phosphorus metabolism. *Br J Nutr* 121: 1-21.
74. Pastoor FJ, Van't Klooster AT, Malhotra JN, Beynen AC (1995) Increasing phosphorus intake reduces urinary concentrations of magnesium and calcium in adult ovariectomized cats fed purified diets. *J Nutr* 125: 1334-1341.
75. Steffen C, Kienzle E, Dobenecker B (2022) High Intake of Sodium Chloride for 28 Days Causes No Effect on Serum FGF23 Concentrations in Cats. *Animals* 12: 3195.
76. Gerloke S, Kummles B (1952) Colorimetrische Bestimmung der Phosphorsäure mit Vanadat-Molybdat. *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie* 137: 15-22.
77. Janssen EMY, Riess P, Seifert D (2006) Nassausschluss unter Druck. *VDLufte Methodenhochschule III 6Erg* 2006: 1-4.
78. Rodriguez-Ortiz ME, Lopez I, Muñoz-Castañeda JR, Martínez-Moreno JM, Ramírez AP, et al. (2012) Calcium deficiency reduces circulating levels of FGF23. *J Am Soc Nephrol* 23: 1190-1197.
79. Demmel A (2011) Der Einfluss der alimentären Phosphorversorgung auf ausgewählte Nierenfunktionsparameter bei Katzen.
80. Davies M, Alborough R, Jones L, Davis C, Williams C, et al. (2017) Mineral analysis of complete dog and cat foods in the UK and compliance with European guidelines. *Sci Rep* 7: 17107.
81. Pereira AM, Pinto E, Matos E, Castanheira F, Almeida AA, et al. (2018) Mineral Composition of Dry Dog Foods: Impact on Nutrition and Potential Toxicity. *J Agric Food Chem* 66: 7822-7830.
82. Grabner A, Amara-Ansel P, Schramm K, Singh S, Sloan A, et al. (2015) Activation of Cardiac Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Causes Left Ventricular Hypertrophy. *Cell Metabolism* 22: 1026-1032.
83. Gutiérrez OM (2018) Fibroblast growth factor 23 and heart failure: the plot thickens. *Nephrol Dial Transplant* 31: 688-690.
84. Dai B, David V, Martín A, Huang J, Li H, et al. (2012) A comparative transcriptome analysis identifying FGF23 regulated genes in the kidney of a mouse CKD model. *PLoS One* 7: e44161.
85. Epstein M, Fraundlich M (2021) The Intersection of Mineralocorticoid receptor activation and the FGF23-Klotho cascade: a duality that promotes renal and cardiovascular injury. *Nephrology Dialysis Transplantation* 37: 211-221.
86. Faul C (2017) Cardiac actions of fibroblast growth factor 23. *Bone* 100: 69-79.
87. Vervoeft M (2019) Renal and extrarenal effects of fibroblast growth factor 23. *Nat Rev Nephrol* 15: 109-120.
88. Chonchol M, Greene T, Zhang Y, Hoofnagle AN, Cheung AK (2016) Low Vitamin D and High Fibroblast Growth Factor 23 Serum Levels Associate with Infectious and Cardiac Deaths in the HEMO Study. *J Am Soc Nephrol* 27: 227-237.
89. Spichlig D, Zhang H, Mohabbil N, Pavik I, Petzold K, et al. (2014) Renal expression of FGF23 and peripheral resistance to elevated FGF23 in rodent models of polycystic kidney disease. *Kidney International* 85: 1340-1350.
90. Rodelo-Haad C, Santamaría R, Muñoz-Castañeda JR, Pondón-Ruiz-del-Mier MV, et al. (2019) FGF23, Biomarker or Target? *Toxins* 11: 647.
91. Ix JH, Anderson CA, Smits G, Parsky MS, Block GA (2014) Effect of dietary phosphate intake on the circadian rhythm of serum phosphate concentrations in chronic kidney disease: a crossover study. *Am J Clin Nutr* 100: 1392-1397.
92. Mack JK, Alexander LG, Morris PJ, 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.
93. Geddes RF, vanden-Broek DHN, Chang YM, Biourge V, Elliott J, et al. (2021) The effect of attenuating dietary phosphate restriction on blood ionized calcium concentrations in cats with chronic kidney disease and ionized hypercalcemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 35: 967-1007.
94. Steffen C, Kienzle-Ellen DB (2021) Partial exchange of calcium carbonate with calcium chloride influences effects of sodium phosphate on calcium and phosphorus homeostasis in cats. In *Proceedings of the ESVCN* 2021.
95. Coltherd JC, Alexander JE, Pink C, Rawlings J, Elliott J, et al. (2021) Towards establishing no observed adverse effect levels (NOAEL) for different sources of dietary phosphorus in feline adult diets: results from a 7-month feeding study. *British Journal of Nutrition* 126: 1626-1641.
96. Elliott J, Geddes RF (2022) New concepts in phosphorus homeostasis and its impact on renal health with particular reference to the cat. *The Veterinary Journal* 283-284: 105642.
97. Yang HC, Zuo Y, Fogo AB (2016) Models of chronic kidney disease. *Drug Discovery Today: Disease Models* 7: 13-19.

Citation: Steffen C, Dobenecker B (2023) The Phosphate Additives Phosphoric Acid and Sodium Phosphate Lead to Hyperphosphatemia as well as Increased FGF23 and Renal Phosphate Excretion in Healthy Cats. *J Urol Ren Dis* 8: 1339. DOI: 10.29011/2575-7903.001339

98. Cozzolino M, Dusso AS, Liapis H, Finch J, Lu Y, et al. (2002) The effects of sevelamer hydrochloride and calcium carbonate on kidney calcification in uremic rats. *Journal of the American Society of Nephrology* 13: 2298-2308.
99. Hirata M, Katsumata K, Endo K, Fukushima N, Ohkawa H, et al. (2003) In subtotaly nephrectomized rats 22-oxycalcitriol suppresses parathyroid hormone with less risk of cardiovascular calcification or deterioration of residual renal function than 1, 25 (OH) 2 vitamin D3. *Nephrology Dialysis Transplantation* 18: 1770-1776.
100. Katsumata K, Kusano K, Hirata M, Tsunemi K, Nagano N, et al. (2003) Sevelamer hydrochloride prevents ectopic calcification and renal osteodystrophy in chronic renal failure rats. *Kidney international* 64: 441-450.
101. Price P, Roubicek A, Williamson M (2006) Artery calcification in uremic rats is increased by a low protein diet and prevented by treatment with ibandronate. *Kidney International* 70: 1577-1583.
102. Moe SM, Chen NX, Seifert MF, Sinders RM, Duan D, et al. (2009) A rat model of chronic kidney disease-mineral bone disorder. *Kidney international* 75: 176-184.
103. Marcinkowska E (2020) The Vitamin D System in Humans and Mice: Similar but Not the Same. *Reports* 3: 1.
104. Lindström NO, McMahon JA, Guo J, Tran T, Guo Q, et al. (2018) Conserved and divergent features of human and mouse kidney organogenesis. *Journal of the American Society of Nephrology* 29: 785-805.
105. Emeligh-Hart SG (2008) Assessment of renal injury in vivo. *J Pharmacol Toxicol Methods* 52: 30-45.

### 3.2 High Intake of Sodium Chloride for 28 Days Causes No Effect on Serum FGF23 Concentrations in Cats



Article

## High Intake of Sodium Chloride for 28 Days Causes No Effect on Serum FGF23 Concentrations in Cats

Carla Steffen, Ellen Kienzle and Britta Dobenecker

Chair of Animal Nutrition and Dietetics, Department of Animal Sciences, Ludwig-Maximilians-Universität München, Schoenleutnerstr. 8, D-85764 Oberschleissheim, Germany  
\* Correspondence: Dobenecker@lmu.de

**Simple Summary:** Two important functions of the hormone fibroblast growth factor-23 (FGF23) are the regulation of phosphorus homeostasis and sodium retention. Dietary sodium chloride is known to affect FGF23 level and blood pressure in humans and mice. Furthermore, increased serum FGF23 concentrations are associated with chronic kidney disease, which is the most common cause of death in aging cats. It is therefore of interest to investigate the potential influence of high sodium chloride intake on FGF23. In contrast to findings in mice and humans, high sodium chloride supply did not affect serum FGF23 concentrations in cats. Apparent digestibility of phosphorus, on the other hand, was significantly increased by adding sodium chloride to the diet. Therefore, high dietary sodium chloride concentrations may increase the phosphorus burden on the body. This is especially true when phosphate originates from highly available sources, such as inorganic phosphates with high solubility.

**Abstract:** Background: FGF23 is an acknowledged parameter to assess kidney health. As chronic kidney failure is one of the most common diseases in aging cats, dietary influences on renal health warrant investigation. The purpose of this study was therefore to investigate potential correlations between dietary sodium chloride and FGF23. Methods: In a total of two trials, 11 cats were included. In the first trial, the cats were fed a complete and balanced control diet; in the second trial, sodium chloride was added (8 g/kg/DM). Blood, urinary, feed, and faecal samples were analysed for major minerals. FGF23 and creatinine were measured in blood and urine samples. Results: Serum phosphate and FGF23 were unaffected by high sodium chloride intake, thus showing no correlation between serum FGF23 and sodium concentrations. Apparent phosphorus digestibility was significantly increased, however, by high sodium chloride intake, whereas apparent digestibility of calcium was unaffected. The present study confirms differences in FGF23 and sodium chloride interaction in cats compared with other species. Further research regarding the correlation between sodium chloride and phosphate homeostasis is warranted.

**Keywords:** FGF23; phosphate; chronic kidney disease; renal health



Citation: Steffen, C.; Kienzle, E.; Dobenecker, B. High Intake of Sodium Chloride for 28 Days Causes No Effect on Serum FGF23 Concentrations in Cats. *Animals* **2022**, *12*, 3195. <https://doi.org/10.3390/ani12223195>

Academic Editor: Dennis E. Jewell

Received: 19 October 2022

Accepted: 16 November 2022

Published: 18 November 2022

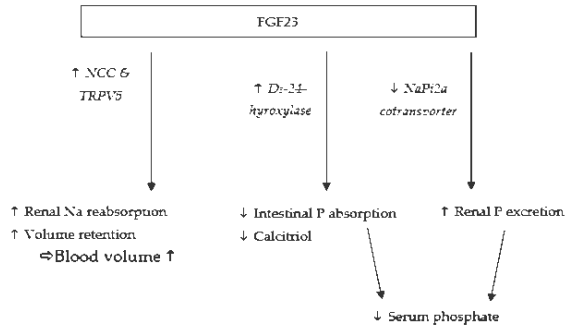
**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### 1. Introduction

Fibroblast growth factor-23 (FGF23) is one of the most important hormones for regulating the serum levels of inorganic phosphate and is produced by osteoblasts and osteocytes [1,2]. Its pivotal role as phosphatonin is mediated by FGF receptors (FGFR) in combination with their co-receptor  $\alpha$ Klotho [3]. FGF23 reduces reabsorption of phosphate in the proximal tubules of the kidney (which is one of its target organs) by degrading the sodium-phosphate cotransporter  $\text{NaPi}2\text{a}$  [4] (Figure 1). By decreasing phosphate retention, FGF23 lowers serum phosphate levels [5]. In contrast, high phosphate intake leads to an increase in serum phosphate and FGF23 concentrations, as shown in cats [6].



**Figure 1.** Selected physiological effects of FGF23 on sodium and phosphate metabolism, as established in humans and rodents.

As demonstrated in mice [7], FGF23 also decreases serum 1,25-dihydroxyvitamin D (vitamin D) levels, which in turn reduces intestinal absorption of calcium, and potentially of phosphate [8,9]. Hence, humans and mice deficient in  $\alpha$ Klotho and FGF23 develop increased vitamin D levels and soft tissue calcifications, due to increased calcium absorption [10,11]. Furthermore, low vitamin D serum levels cause an activation of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) in the kidney. Therefore, FGF23 may up-regulate RAAS by decreasing calcitriol, which is a potential negative regulator of this system [12]. As a response,  $\alpha$ Klotho expression decreases, promoting even higher FGF23 serum levels, resulting in a loop mechanism [13,14].

The connection between FGF23 and phosphate serum levels has raised interest in investigating FGF23 as a potential marker for disturbed phosphate metabolism in chronic kidney disease (CKD) in humans [15,16], cats [17,18], and dogs [19]. Increased serum phosphate levels have been shown to be negatively correlated with life expectancy in CKD patients of various species, including humans [20,21] and cats [22,23]. Understanding the regulatory mechanisms behind phosphate metabolism is therefore crucial. FGF23 also influences renal calcium and sodium excretion in humans [5] and mice [24]. In the distal kidney tubules, FGF23 upregulates the expression of the sodium-chloride cotransporter (NCC). FGF23 also upregulates the transient receptor potential vanilloid-5 (TRPV5) for cations and especially calcium, which increases sodium and calcium reabsorption (Figure 1). In CKD patients, serum FGF23 concentrations are often increased, causing higher sodium retention with potential effects on blood pressure [25–27]. In humans [28,29] and mice [30], high intake of sodium chloride has been shown to increase blood pressure, which is partially explained by an increase in intravascular volume [31]. FGF23 may therefore increase renal sodium uptake independent of the RAAS system, leading to volume expansion and increased blood pressure [24]. As a counteractive mechanism, serum FGF23 concentrations and sodium retention decrease in order to lower blood pressure [24,32,33]. Consequently, renal sodium reabsorption is reduced in cases of low FGF23 levels, as demonstrated in FGF23-knockout mice [34]. FGF23 deficiency was found to decrease sodium retention and lower blood pressure despite high sodium chloride intake [24]. Hypertension is one of the main causes of cardiovascular disease in humans [35], and exacerbates chronic illnesses, such as kidney disease [36]. Kidneys with a reduced glomerular filtration rate are particularly sensitive to fluctuations in blood pressure [37]. Increased serum sodium levels caused by high sodium chloride intake adversely affect kidney health by elevating

blood pressure in humans [38–40]. As a result, chronic hypertension can cause vascular and glomerular injury, leading to nephrosclerosis [41]. FGF23 also directly affects the cardiac tissue. In humans and mice, increased serum FGF23 concentrations have been linked to left ventricular hypertrophy as an independent factor [42,43]. Furthermore, in human patients with RAAS blockage and on a sodium-restricted diet, an elevated serum FGF23 concentration was correlated with proteinuria [44]. Therefore, the role of FGF23 in regulating sodium excretion with RAAS is an important factor to consider in renal patients [45]. In cats, hypertension is less likely to occur in healthy individuals compared with feline CKD patients (hazard ratio = 0.2) [46]. The reported prevalence of hypertension as comorbidity in feline CKD patients ranges from 19 to 65% [46,47]. Renal failure represents the most common metabolic disease in feline patients [48,49], and with up to 80% of geriatric cats reported to develop CKD, it is considered the leading cause of death [50]. Hence, determination of the effects of high sodium chloride intake on FGF23 is important in this species, despite no effect being observed for high oral sodium chloride intake (3.1 g/1000 kcal) on blood pressure in cats [51]. This contrasted to findings in mice and humans.

A study in salt-sensitive Dahl rats found a correlation between increased serum FGF23 and phosphate concentrations, as well as a reduction in  $\alpha$ Klotho values [52]. Considering that sodium is involved in phosphate homeostasis and as FGF23 partakes in the regulation of serum phosphate, a potential connection between dietary sodium chloride and serum FGF23 concentrations may also affect phosphate balance. Therefore, potential factors influencing FGF23 serum concentrations, such as dietary sodium chloride and phosphate intake, need to be considered, especially when formulating diets for CKD patients. Dobenecker et al. (2018) demonstrated that the source of phosphate needs to be considered: sodium phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ ) and calcium phosphate ( $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) + \text{H}_2\text{O}$ ) added to the diet of cats led to an increase in renal phosphate excretion, although apparent phosphate digestibility did not significantly differ from control diets [53]. In dogs, the apparent digestibility of total phosphate was also not influenced by these sources [54,55].

This study aimed to gain further insight on serum FGF23, and the balance of major minerals and parameters of renal health in cats by the selective increase of sodium chloride supply with an otherwise balanced diet.

## 2. Animals, Materials, and Methods

Two trials, each with a duration of 28 days (d), were conducted. Eleven healthy adult European shorthair cats (4 males, 7 females, 1–4 years of age, 2.7–4.7 kg body weight), bred and housed in the cattery of the Chair of Animal Nutrition and Dietetics, Department of Veterinary Sciences, Ludwig Maximilian University of Munich, participated in this study. Before commencing the study, a complete blood count and clinical blood chemistry, including markers of renal health (urea, creatinine, SDMA, and serum electrolytes), were evaluated for each cat to ensure proper health status. Both 28-day trial periods consisted of an adaptation phase for 18 days, followed by a digestibility trial for 10 days. During the digestibility phase, urine and faecal samples were quantitatively collected; food and water intake were measured. Each trial was completed on day 28 by taking blood samples pre-prandially (minimum 12 h after the last meal), as well as 3 h postprandially. Cats were daily examined by a veterinarian and underwent a detailed weekly general clinical exam and weighing.

### 2.1. Housing

All cats were kept in groups of 4 to 8 animals during the 18 days of the adaption phase and were only single-housed during feeding, for a maximum of 2 h a day. During the digestibility trial, the cats were housed individually in cages (length  $\times$  width  $\times$  height (cm) = 120  $\times$  60  $\times$  53 or 90  $\times$  80  $\times$  75), to which they were accustomed and reintroduced to in the weeks prior to the trial. Light (natural and artificial) was available for at least 8 h a day and air temperature and humidity were adjusted by an air-conditioning system. Fresh

water was provided in stainless steel bowls ad libitum, whereas the amount of feed was calculated and apportioned based on the individual energy requirements, according to historical data, to allow for maintenance of individual body weight. Each kennel had seat boards and was equipped with blankets and a litter box.

2.2. Diets

In the first trial (CON), the cats were fed a complete and balanced control diet to establish basic values (Table 1). The second trial (HNaCl) aimed to investigate the influence of a high sodium chloride intake (10 times the recommended level according to FEDIAF, 0.8 g/kg DM) [56] by adding sodium chloride to diet CON (Table 1). The cats were fed two equal meals per day. Both diets contained phosphate of organic sources only, meeting the daily recommendation of phosphorus intake (FEDIAF, 2.6 g/kg DM) [56]. In order to adjust the cation–anion balance, potassium chloride was added to the HNaCl diet, doubling the potassium intake compared with CON (3 times the recommended level of potassium according to FEDIAF, 6 g/kg DM) [56].

Table 1. Composition of diets.

Ingredients basal diet	%	CON	HNaCl
		Beef (Heart, Steak) 72 Rice 24 Cellulose 1 Rapeseed oil 3	
DM	g/kg	431	
GE	MJ/kg DM	27	
Crude protein		439	
Crude fat		362	
Crude fibre		35	
Crude ash		16	
NfE		77	
Ca	g/kg DM	4.6 ± 0.2	
P		3.5 ± 0.1	
K		8	18
Mg		0.75 ± 0.2	
Na		1.4	12.1
Cl		6.1	29.1
Ca/P	-	1.3/1	
Vit. D <sub>3</sub>	IU/kg DM	428 ± 30	

DM = dry matter, GE = gross energy, NfE = nitrogen-free extract, Ca = calcium, P = phosphate, K = potassium, Mg = magnesium, Na = sodium, Cl = chloride, Ca/P = calcium–phosphorus ratio.

2.3. Sample Collection and Storage

Total water intake (drinking water and moisture content of the food) was measured per day. The amount of evaporated water was determined by weighing an identical water bowl during the same time period and factored in. Urine was collected via a double-layer toilet system, with two plastic basins stacked on top of one another. To allow normal feline behaviour while using the litterbox, the first basin was filled with inert polyethylene beads as litter material. The fresh urine passed through slots in the bottom and accumulated in the second basin, which was prepped with a mixture of thymol and paraffin to preserve the urine until collection. Urine was collected repeatedly during the day with a maximum period in between of 12 h (overnight). Known from in-house trials, using thymol and



paraffin is a reliable method to conserve the stability of urine pH over a period of at least 12 h. Additionally, to verify effectiveness of the method, the pH was measured in several fresh urine samples and the consistency of pH values in the preserved samples was repeatedly evaluated over a period of 12 h. The amount of urine was determined by weight. To collect the urine, the surface of the paraffin-thymol mixture was penetrated, and the urine was carefully extracted. Directly after sample collection, pH (WTW pH 325, calibrated before measuring) and specific weight (refractometer HRM 18, Krüss Optronic, Germany) were measured. Samples were kept refrigerated, pooled per day, and stored at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  thereafter. Faeces were collected as soon as defecation was noticed, then weighed and stored at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  until analysis. After the faeces samples were freeze-dried (T 22 K-E-6, Piatkowsky, Munich, Germany), daily samples were pooled, ground, and thoroughly mixed. Blood for serum and citrate plasma was drawn at fixed time points: the first sample was taken preprandially (starting at 7 a.m., pre; at least 12 h fasted) from either the vena saphena medialis or vena cephalica ntebrachia. Afterward, the cats received their morning meal. The second blood sample was taken 3 h postprandially (ppr; after the morning meal). After allowing the blood to clot for  $\sim 30$  min and  $\sim 2$  h (FGF23), respectively, samples were centrifuged for 15 min at 2000 rpm (FGF23) and 10 min at 3000 rpm for the remaining parameters. Until analysis, all samples were stored at  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Before analysis, feed and faecal samples underwent wet digestion with 65%  $\text{HNO}_3$  in a microwave system. Urine samples were gently thawed and an aliquot of each 24 h sample was pooled after stirring and used for analysis.

#### 2.4. Laboratory Analyses

Blood, urine, feed, and faecal samples were photometrically analysed for potassium, sodium, and calcium (flame photometry, Eppendorff EFOX 5033), with a chloridometer for chloride (Slamed Chloridmeter 50  $\mu\text{L}$ ), and photometrically for phosphate, using the modified vanadate molybdate method modified according to Gericke und Kurmies (1952) [57] (Thermo-Spectronic, Genesys 10 uv). Magnesium in feed, faeces, and urine was measured via spectrometry (Perkin Elmer Aanalyst 800) and a Weende analysis (VD-LUFA 2012) was performed to quantify crude nutrients in feed and faecal samples [58]. Apparent digestibility (aD) was calculated using the following equation:  $\text{aD} (\%) = (\text{nutrient intake}_{\text{feed}} - \text{nutrient output}_{\text{faeces}}) / \text{nutrient intake}_{\text{feed}}$ . An ELISA kit (KAINOS Laboratories Inc., Tokyo, Japan) that was validated for feline samples was used to analyse serum samples for intact FGF23 [17]. Serum creatinine was photometrically measured at IDEXX Vet Med Laboratories GmbH, Ludwigsburg, Germany, and urine creatinine was analysed in-house (MicroVue Creatinine Assay Kit, Quidel Corporation).

#### 2.5. Calculations and Statistical Analysis

The apparent digestibility was calculated as follows:  $(\text{intake} - \text{faecal excretion}) / \text{intake} \times 100$ .

Delta calcium to phosphorus ( $\Delta\text{Ca}/\text{P}$ ) in the faeces was calculated using the equation:

$$\Delta\text{Ca}/\text{P} = \text{Ca}/\text{P}_{\text{intake}} - \text{Ca}/\text{P}_{\text{faecal}}$$

For statistical evaluation of results, a Student's paired-t-test was performed to compare pre- and postprandial values and a t-test was used to compare values between groups. A Shapiro-Wilk test was performed to test for normality. Results with  $p$ -values  $\leq 0.01$ ,  $\leq 0.001$ , and  $\leq 0.05$  were considered significantly different.

### 3. Results

#### 3.1. Nutrient Intake and Balance

Throughout the entire study, no adverse clinical effects were observed in any of the cats. Water intake significantly increased in the HNaCl group compared with the CON group ( $p \leq 0.001$ ;  $41 \pm 3$  mL/kg vs.  $29 \pm 3$  mL/kg BW/d), as well as urine volume ( $p \leq 0.001$ ;  $22 \pm 4$  vs.  $14 \pm 3$  g/kg BW/d). Dry matter intake decreased significantly ( $p \leq 0.001$ ),

although apparent digestibility of dry matter was not affected by higher dietary concentrations of sodium chloride (Table 2). The apparent digestibility of phosphate, potassium, sodium, and chloride significantly increased ( $p = 0.028$ ;  $p < 0.001$ ;  $p < 0.001$ ;  $p < 0.001$ ), whereas the apparent digestibility of magnesium and calcium remained unaffected when table salt was added to the diet (Table 2). The addition of sodium chloride led to a highly significant increase in renal sodium and chloride excretion ( $p < 0.001$ ). This also led to a significantly increased concentration of both elements in the urine ( $p < 0.001$ ; Table 4), as well as increased retention of both elements (sodium:  $p = 0.001$ ; chloride;  $p = 0.015$ ). The retention of potassium and magnesium ( $p < 0.001$ ;  $p = 0.008$ ) was significantly increased in diet HNaCl as well.

**Table 2.** Intake, renal and faecal excretion, retention per kg body weight and day, and apparent digestibility [%] of dry matter and minerals (mean  $\pm$  standard deviation).

Nutrient	Diet	Intake	Faecal Excretion	aD	Renal Excretion	Retention
DM [g]	CON	13 $\pm$ 2	1.3 $\pm$ 0.3	90 $\pm$ 2	-	-
	HNaCl	12 $\pm$ 1***	1.2 $\pm$ 0.5	90 $\pm$ 3	-	-
Ca [mg]	CON	64 $\pm$ 4	58 $\pm$ 11	10 $\pm$ 17	0.4 $\pm$ 0.1	6 $\pm$ 11
	HNaCl	55 $\pm$ 4***	47 $\pm$ 16*	16 $\pm$ 26	0.4 $\pm$ 0.1	8 $\pm$ 14
P [mg]	CON	49 $\pm$ 3	19 $\pm$ 4	60 $\pm$ 9	14 $\pm$ 5	15 $\pm$ 4
	HNaCl	42 $\pm$ 3***	13 $\pm$ 4**	69 $\pm$ 10*	16 $\pm$ 4	13 $\pm$ 4
K [mg]	CON	107 $\pm$ 6	3 $\pm$ 1	97 $\pm$ 1	92 $\pm$ 14	12 $\pm$ 11
	HNaCl	218 $\pm$ 14***	2 $\pm$ 1	99 $\pm$ 1***	174 $\pm$ 32***	42 $\pm$ 21***
Mg [mg]	CON	12 $\pm$ 1	6 $\pm$ 1	46 $\pm$ 10	2 $\pm$ 1	4 $\pm$ 2
	HNaCl	8 $\pm$ 1***	5 $\pm$ 1**	43 $\pm$ 17	1 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1**
Na [mg]	CON	19 $\pm$ 1	3 $\pm$ 1	86 $\pm$ 5	29 $\pm$ 4	-12 $\pm$ 4
	HNaCl	149 $\pm$ 10***	3 $\pm$ 1	98 $\pm$ 1***	136 $\pm$ 26***	10 $\pm$ 19***
Cl [mg]	CON	83 $\pm$ 5	3 $\pm$ 1	96 $\pm$ 2	94 $\pm$ 12	-14 $\pm$ 10
	HNaCl	376 $\pm$ 52***	3 $\pm$ 1	99 $\pm$ 0***	346 $\pm$ 67***	27 $\pm$ 71*

aD = apparent digestibility, DM = dry matter, Ca = calcium, P = phosphate, K = potassium, Mg = magnesium, Na = sodium, Cl = chloride, \*  $p \leq 0.05$ , \*\*  $p \leq 0.01$ , \*\*\*  $p \leq 0.001$  between groups.

### 3.2. Blood Parameters

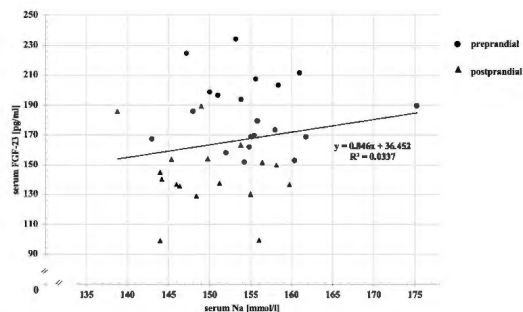
Pre-prandial serum sodium concentrations did not differ between groups (Table 3). Postprandially, the serum sodium concentration significantly decreased in the HNaCl group ( $p < 0.002$ ). Values below the reference range were found in individuals at both time points in group HNaCl (1/11 pre- and 5/11 postprandially). In CON, the serum sodium concentrations were found to exceed the upper reference range in 3/11 cats pre- and 2/11 cats postprandially. In the HNaCl trial, this occurred in the pre-prandial serum samples of two cats. Serum calcium concentrations were significantly higher in group HNaCl before feeding ( $p = 0.018$ ) but significantly decreased after food intake ( $p = 0.001$ ), similar to the values in group CON ( $p = 0.013$ ). Serum phosphate and FGF23 levels were only numerically changed by high sodium chloride intake. In alignment with unaffected serum FGF23 levels, no correlation was seen between serum FGF23 and sodium concentrations (Figure 2, adjusted for one statistical outlier). Comparing pre- and postprandial results, serum phosphate and FGF23 values significantly decreased 2 h after food intake in both groups (CON:  $p < 0.001$ , HNaCl  $p = 0.002$ ). Due to lower postprandial serum phosphate concentrations, the serum calcium by phosphate product (sCaxP) significantly decreased in CON as well ( $p < 0.001$ ). sCaxP values did not differ significantly between CON and HNaCl diets. In 5/11 cats from the HNaCl group and 2/11 cats from the CON group, the sCaxP values rose above the threshold of 55 mg/dl, given by Block et al. (2000) [59]. Serum potassium concentrations were significantly higher in group HNaCl at both time points ( $p < 0.001$ ) compared with CON, with values above the reference range in 3/11 pre-

and 2/11 postprandial samples. For serum creatinine concentrations, no effect of high salt intake was observed. In group CON, serum creatinine values significantly increased after food intake ( $p = 0.007$ ) yet remained within the reference range.

**Table 3.** Concentrations of serum parameters after 28 days of high NaCl or control feeding in cats (mean  $\pm$  standard deviation).

Serum	Time Point	CON	HNaCl	Reference Range
FGF23 [pg/mL]	Pre-prandial	202 $\pm$ 53	183 $\pm$ 23	-
	Postprandial	142 $\pm$ 22 #	146 $\pm$ 25 #	
Creatinine [mmol/L]	Pre-prandial	0.14 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.02	0.08–0.2
	Postprandial	0.15 $\pm$ 0.01 #	0.15 $\pm$ 0.02	
Ca [mmol/L]	Pre-prandial	2.3 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.2 **	2.2–2.9
	Postprandial	2.2 $\pm$ 0.2 #	2.3 $\pm$ 0.1 #	
P [mmol/L]	Pre-prandial	1.8 $\pm$ 0.2	1.9 $\pm$ 0.3	0.8–2.2
	Postprandial	1.4 $\pm$ 0.1 #	1.6 $\pm$ 0.2 #	
sCaxP [mg <sup>2</sup> /dl <sup>2</sup> ]	Pre-prandial	52 $\pm$ 6	60 $\pm$ 10	<55/<70 $\Delta$
	Postprandial	39 $\pm$ 3 #	44 $\pm$ 8 #	
K [mmol/L]	Pre-prandial	4.1 $\pm$ 0.3	5.7 $\pm$ 1.0 ***	3.3–5.8
	Postprandial	4.0 $\pm$ 0.1	5.4 $\pm$ 0.5 ***	
Na [mmol/L]	Pre-prandial	156 $\pm$ 4	154 $\pm$ 9	147–159
	Postprandial	157 $\pm$ 2	146 $\pm$ 4 #***	

Ca = calcium, P = phosphate, sCaxP = serum calcium by phosphorus product, K = potassium, Na = sodium, \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  between groups, # pre- and postprandial values within one group significantly differ ( $p < 0.05$ ).  $\Delta$  [59,60].



**Figure 2.** Correlation between serum Na and serum FGF23.

### 3.3. Urine Parameters

High sodium chloride intake led to a significantly higher urine volume ( $p < 0.001$ ), with lower specific gravity ( $p < 0.001$ ) and lower urinary creatinine concentrations ( $p < 0.001$ ) compared with control feeding. Renal sodium excretion per kg BW increased ~4.5-fold and renal chloride excretion ~3.6-fold (Table 2) in trial HNaCl. Urine concentration of both minerals increased as well ( $p < 0.001$ ; Table 4). Despite this increase in urine concentration combined with a ~50% higher urine volume, retention of sodium and chloride was significantly higher in the high salt group ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.015$ ; Table 2). Urine concentration

of potassium was significantly higher in group HNaCl ( $p < 0.001$ ), despite a significant increase in potassium retention compared with CON ( $p < 0.001$ ). Irrespective of the increase in urine volume, the urinary concentration of sodium, chloride, and potassium significantly increased in group HNaCl. Urine phosphate concentration significantly decreased ( $p = 0.003$ ) after feeding HNaCl. However, there was no difference between the groups when corrected for creatinine (P/Crea).

**Table 4.** Concentrations of urine parameters after 28 days of high NaCl or control feeding in cats (mean  $\pm$  standard deviation).

Urine	CON	HNaCl	Reference Range
Creatinine [mmol/L]	32 $\pm$ 4	20 $\pm$ 2 ***	-
USG [mg/mL]	1060 $\pm$ 2	1052 $\pm$ 5 ***	1001–1085
Volume [mL/kg BW/d]	14 $\pm$ 3	22 $\pm$ 4 ***	<50
Na [g/L]	2.0 $\pm$ 0.3	6.2 $\pm$ 0.5 ***	-
Cl [g/L]	6.6 $\pm$ 0.7	15.8 $\pm$ 1.3 ***	-
K [g/L]	6.5 $\pm$ 0.7	8.0 $\pm$ 0.6 ***	-
P [g/L]	1.0 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.1 **	-
P/Crea [mmol/L]	1.0 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.2	-

USG = urine specific gravity, Na = sodium, Cl = chloride, K = potassium, P = phosphorus, P/Crea = phosphorus-creatinine ratio, \*\*  $p \leq 0.01$ , \*\*\*  $p \leq 0.001$  between groups.

#### 4. Discussion

This study investigated the effects of high sodium chloride intake on serum FGF23 and parameters of mineral balance. The purpose of the study was to gather knowledge regarding implications on calcium and phosphate metabolism, blood pressure, and renal health in cats. Therefore, we aimed to produce a test and a control diet with identical concentrations of nutrients, apart from sodium and chloride. The cation–anion balance of both diets was adjusted by adding potassium to the HNaCl diet to prevent effects on electrolyte homeostasis, e.g., via its impact on renal excretion of certain minerals. To limit strain on the cats, blood samples were only drawn at one postprandial time point in this study. We cannot exclude the possibility that the concentrations of serum FGF23 and other parameters were influenced by the sodium chloride intake at different time points after food intake. Nonetheless, comparison of pre- and postprandial serum values in cats fed a high sodium or control diet gave insight to the potential effects of high sodium chloride intake on nutrient balance and selected serum parameters.

Studies in dogs [54] and cats [61] showed that complete and balanced diets tended to lower serum FGF23 concentrations 3 h postprandially. The same was seen in this study, independent of the sodium chloride content of the diet: both groups showed a significant decrease in postprandially measured serum FGF23. No differences were detected between the feeding groups. In contrast to observations made in mice and humans [24,32], high intake of sodium chloride for a moderate time span (28 days) did not cause a decrease in serum FGF23 concentrations in cats, neither in the fasted state nor postprandially. However, these results are consistent with studies demonstrating that high sodium chloride intake neither caused changes in blood pressure nor in serum aldosterone levels of healthy cats [51]. Humans and dogs tend to show a higher prevalence of increased blood pressure

compared with cats; for example, only 69% [47] of feline patients with CKD were found to be hypertensive, compared with about 86% of humans [62] and up to 93% of dogs [63,64] developing increased blood pressure with renal failure.

The significant decrease of postprandial serum sodium values 3 h after food intake was probably caused by the highly significant increase observed in renal excretion of sodium, combined with the highly significant increase in water consumption. A possible explanation for this assumed correlation is that the high sodium chloride intake led to an upregulation of renal sodium excretion with a transient drop in serum sodium concentrations. In addition to sodium chloride, the potassium supply, and therefore its serum concentrations, might have affected serum FGF23 concentrations [65]. Specifically, a study in humans found a potential connection between low dietary potassium intake and an increase in FGF23 [66]. Therefore, it was expected that a high sodium chloride supply combined with a high potassium intake (as in group HNaCl) would cause a decrease in serum FGF23. This hypothesis was also supported by findings from Yeung et al. (2021), who observed an inverse correlation between renal potassium excretion and serum FGF23 in humans [67]. Despite a higher potassium and sodium supply, plus increased renal potassium excretion in the HNaCl group, no effect on serum FGF23 values was seen in cats. In this respect, cats appear to hold a divergent position compared with other monogastric species.

Next to FGF23, phosphate metabolism is also influenced by sodium intake in humans. The urinary excretion of sodium and phosphorus were found to correlate strongly in healthy adults [68]. In our study with cats, despite a decrease in the urinary phosphate concentration in group HNaCl, there was no impact on renal phosphate excretion per kg BW or the urine phosphate to creatinine ratio. The drop in urinary phosphate concentration could be explained by the increased diuresis from significantly higher urine volume with high sodium chloride intake. Similarly, serum phosphate remained unaffected by higher dietary sodium chloride intake. However, the apparent digestibility of phosphate was increased in group HNaCl. Weak, but positive correlations were found (chloride  $R^2 = 0.284 > \text{NaCl } R^2 = 0.259 > \text{sodium } R^2 = 0.194$ ) when testing the correlation between apparent digestibility of phosphorus, along with the intake of either sodium and chloride alone, or the sodium chloride compound, respectively. Similar effects were found in pigs [69] and rats [70], where adding sodium chloride to the diet also led to an increase in apparent digestibility of phosphorus.

When evaluating apparent phosphorus digestibility, its source also needs to be taken into consideration. As shown in cats, highly soluble inorganic phosphates can have a higher availability in the gut compared with organic sources, resulting in an increase in apparent phosphorus digestibility [71]. Our study demonstrated that the source and amount of phosphate did not differ between the groups. The difference in apparent phosphorus digestibility was probably caused by the sodium chloride concentration of the diet, which was possibly mediated by the Na-/P-co-transporter in the gut, as demonstrated in rats [70].

Furthermore, the faecal calcium to phosphorus ratio ( $\text{Ca}/\text{P}_{\text{faecal}}$ ) was significantly higher in the HNaCl group compared with CON ( $3.6 \pm 0.5; 3.0 \pm 0.4; p = 0.008$ ). Consequently,  $\Delta\text{Ca}/\text{P}$  was significantly lower when sodium chloride was added to the diet (CON:  $-1.7 \pm 0.4$ ; HNaCl:  $-2.3 \pm 0.5; p = 0.007$ ). The wider  $\text{Ca}/\text{P}_{\text{faecal}}$  ratio and decrease in  $\Delta\text{Ca}/\text{P}$  imply that even though the source of phosphate did not differ between groups, more phosphate was digested in the HNaCl group. These results differ from previous findings by Bösward et al. (2020), who found that highly soluble phosphates led to significantly lower  $\Delta\text{Ca}/\text{P}$  values in dogs [72] but not in cats [73]. A possible explanation for the higher digestibility of phosphorus in our study could be from an increase in phosphate availability due to the high sodium chloride intake. The combination of high sodium chloride intake with a high phosphate supply, especially from highly soluble sources, could further increase the apparent digestibility of phosphate. Our results suggest that excess dietary phosphorus, which is often found in commercial pet food [74], combined with high sodium chloride, may increase the phosphorus burden on the body, potentially causing adverse health effects, as described in cats and other species [20–23]. Consequently, the addition of

sodium chloride to increase urine volume and dilute urinary phosphorus concentration, to reduce potential adverse effects of phosphate, may be counterproductive. Nguyen et al. (2017) demonstrated that the addition of sodium significantly above levels recommended by the NRC (40 mg/MJ ME) or FEDIAF (45 mg/MJ ME) is common practice in commercial diets for cats. In the 26 products investigated, sodium content ranged from 110 mg/MJ ME in a renal diet up to 820 mg/MJ ME in a diet formulated for urolithiasis, which exceeds the safe upper limit suggested by Nguyen et al. (740 mg/MJ ME) [75]. The results of a study on rats underlined this potential issue. Specifically, feeding a high sodium chloride diet after recovery from an acute kidney injury caused accelerated tubulointerstitial damage, increased hypertension, and albuminuria, whereas parameters continued to be stable when fed a low sodium chloride diet [76]. Furthermore, lower sodium retention and blood pressure was found in FGF23-deficient mice [24]. Therefore, low FGF23 serum levels and low sodium chloride intake may have a protective effect for hypertension in some species. In contrast, no effect of sodium chloride intake on FGF23 serum levels was measured in the cats of our study. This matched previous results that found blood pressure remained unaffected by adding sodium chloride to the diet of this species [51]. These results imply differences in the correlation between FGF23 and dietary sodium chloride in cats compared with other species. This calls for further research to investigate regulatory mechanisms of FGF23 in felines. FGF23 reduces the production of vitamin D, which leads to an activation of RAAS. Chronically increased FGF23 concentrations indirectly lower  $\alpha$ Klotho values [12], potentially elevating FGF23 serum concentrations even more. This further justifies continued research on the connection between dietary sodium chloride and phosphorus metabolism in cats, especially with the knowledge that elevated FGF23 serum concentration is an early marker for kidney damage in felines and several other species [15–19].

## 5. Conclusions

In the present study on cats, high sodium chloride intake did not affect serum FGF23 concentrations as observed in other species. Here, serum FGF23 and sodium chloride intake were shown to be unrelated. This confirms a different relationship between FGF23 and sodium chloride in cats compared with other species, limiting possible conclusions regarding blood pressure and other clinical implications. The impact of sodium chloride supply on the apparent digestibility of phosphorus should be considered, as it could lead to potential adverse health effects. This is especially important due to the high supply of these elements in many complete cat food products on the market. To establish a safe upper limit for sodium chloride in cats, it should be considered that excessive sodium chloride intake may have different adverse health effects compared with other species. Furthermore, the correlation between sodium chloride supply and phosphorus digestibility must be considered.

**Author Contributions:** Conceptualization, B.D.; methodology, B.D.; investigation, C.S. and B.D.; resources, B.D.; data curation, B.D. and C.S.; writing—original draft preparation, C.S. and B.D.; writing—review and editing, B.D. and E.K.; visualization, B.D.; project administration, B.D.; funding acquisition, B.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** All procedures and protocols were conducted in accordance with the European guidelines of the Protection of Animals Act. The study was approved by the representative of the Chair of Animal Welfare of the Faculty of Veterinary Medicine of the Ludwig-Maximilians-Universität München, as well as the Government of Upper Bavaria (reference number ROB 55.2-2532\_Vet\_02-19-38).

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Data presented in this study are available on request from the corresponding author.

**Acknowledgments:** The authors acknowledge the skill and expertise of colleagues at the Ludwig-Maximilians Universität München in the care and training of the cats and for the analysis of samples collected throughout the study.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Yoshiko, Y.; Wang, H.; Minamizaki, T.; Ijuin, C.; Yamamoto, R.; Suemune, S.; Kozai, K.; Tanne, K.; Aubin, J.E.; Maeda, N. Mineralized tissue cells are a principal source of FGF23. *Bone* **2007**, *40*, 1565–1573. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Noonan, M.L.; White, K.E. FGF23 Synthesis and Activity. *Curr. Mol. Biol. Rep.* **2019**, *5*, 18–25. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Erben, R.G. Update on FGF23 and Klotho signaling. *Mol. Cell Endocrinol.* **2016**, *432*, 56–65. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Gattineni, J.; Bates, C.; Twombly, K.; Dwarakanath, V.; Robinson, M.L.; Goetz, R.; Mohammedi, M.; Baum, M. FGF23 decreases renal NaPi-2a and NaPi-2c expression and induces hypophosphatemia in vivo predominantly via FGF receptor 1. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* **2009**, *297*, F282–F291. [\[CrossRef\]](#)
5. Erben, R.G. Physiological Actions of Fibroblast Growth Factor-23. *Front. Endocrinol.* **2018**, *9*, 267. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Steffen, C.; Kienzle, E.; Dobenecker, B. Oral Intake of Some Inorganic Phosphates for 28 Days Increases EGF-23 Serum Concentrations also in Cats; ESVCN: Vila Real, Portugal, 2021.
7. Shimada, T.; Hasegawa, H.; Yamazaki, Y.; Muto, T.; Hino, R.; Takeuchi, Y.; Fujita, T.; Nakahara, K.; Fukumoto, S.; Yamashita, T. FGF-23 Is a Potent Regulator of Vitamin D Metabolism and Phosphate Homeostasis. *J. Bone Miner. Res.* **2004**, *19*, 429–435. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Meyer, M.B.; Watanuki, M.; Kim, S.; Shevde, N.K.; Pike, J.W. The Human Transient Receptor Potential Vanilloid Type 6 Distal Promoter Contains Multiple Vitamin D Receptor Binding Sites that Mediate Activation by 1,25-Dihydroxyvitamin D3 in Intestinal Cells. *Mol. Endocrinol.* **2006**, *20*, 1447–1461. [\[CrossRef\]](#)
9. Suzuki, Y.; Landowski, C.P.; Hediger, M.A. Mechanisms and regulation of epithelial Ca<sup>2+</sup> absorption in health and disease. *Annu. Rev. Physiol.* **2008**, *70*, 237–271. [\[CrossRef\]](#)
10. Ichikawa, S.; Imel, E.A.; Kreiter, M.L.; Yu, X.; Mackenzie, D.S.; Sorenson, A.H.; Goetz, R.; Mohammadi, M.; White, K.E.; Econs, M.J. A homozygous missense mutation in human KLOTHO causes severe tumoral calcinosis. *J. Clin. Invest.* **2007**, *117*, 2684–2691. [\[CrossRef\]](#)
11. Kuro-o, M.; Matsumura, Y.; Aizawa, H.; Kawaguchi, H.; Suga, T.; Utsugi, T.; Ohyama, Y.; Kurabayashi, M.; Kaname, T.; Kume, E.; et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* **1997**, *390*, 45–51. [\[CrossRef\]](#)
12. de Borsst, M.H.; Vervloet, M.G.; ter Wee, P.M.; Navis, G. Cross Talk Between the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Vitamin D-FGF-23-klotho in Chronic Kidney Disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2011**, *22*, 1603–1609. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Mitani, H.; Ishizaka, N.; Aizawa, T.; Ohno, M.; Usui, S.; Suzuki, T.; Amaki, T.; Mori, I.; Nakamura, Y.; Sato, M.; et al. In vivo klotho gene transfer ameliorates angiotensin II-induced renal damage. *Hypertension* **2002**, *39*, 838–843. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Kurpas, A.; Supel, K.; Idzikowska, K.; Zielińska, M. FGF23: A Review of Its Role in Mineral Metabolism and Renal and Cardiovascular Disease. *Dis. Markers* **2021**, *2021*, 8821292. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Isakova, T.; Wahl, P.; Vargas, G.S.; Gutiérrez, O.M.; Scialla, J.; Xie, H.; Appleby, D.; Nessel, L.; Bellorch, K.; Chen, J.; et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int.* **2011**, *79*, 1370–1378. [\[CrossRef\]](#)
16. Block, G.; Port, F.K. Calcium phosphate metabolism and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Semin. Dial.* **2003**, *16*, 140–147. [\[CrossRef\]](#)
17. Geddes, R.; Finch, N.; Elliott, J.; Syme, H. Fibroblast Growth Factor 23 in Feline Chronic Kidney Disease. *J. Vet. Intern. Med./Am. Coll. Vet. Intern. Med.* **2013**, *27*, 234–241. [\[CrossRef\]](#)
18. Hardcastle, M.R.; Dittmer, K.E. Fibroblast Growth Factor 23: A New Dimension to Diseases of Calcium-Phosphorus Metabolism. *Vet. Pathol.* **2015**, *52*, 770–784. [\[CrossRef\]](#)
19. Harjes, L.M.; Parker, V.J.; Dembek, K.; Young, G.S.; Giovaninni, L.H.; Kogika, M.M.; Chew, D.J.; Tonbio, R.E. Fibroblast Growth Factor-23 Concentration in Dogs with Chronic Kidney Disease. *J. Vet. Intern. Med.* **2017**, *31*, 784–790. [\[CrossRef\]](#)
20. Kesianbaum, B.; Sampson, J.N.; Rudser, K.D.; Patterson, D.J.; Seliger, S.L.; Young, B.; Sherrard, D.J.; Andress, D.L. Serum phosphate levels and mortality risk among people with chronic kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2005**, *16*, 520–528. [\[CrossRef\]](#)
21. Voormolen, N.; Noordzij, M.; Grootendorst, D.C.; Beetz, I.; Sijpkens, Y.W.; van Manen, J.G.; Boeschoten, E.W.; Huisman, R.M.; Krediet, R.T.; Dekker, F.W. High plasma phosphate as a risk factor for decline in renal function and mortality in pre-dialysis patients. *Nephrol. Dial. Transpl.* **2007**, *22*, 2909–2916. [\[CrossRef\]](#)
22. King, J.N.; Tasker, S.; Gunn-Moore, D.A.; Strehlau, G. Prognostic factors in cats with chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* **2007**, *21*, 906–916. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Boyd, L.M.; Langston, C.; Thompson, K.; Zivin, K.; Imanishi, M. Survival in Cats with Naturally Occurring Chronic Kidney Disease (2000–2002). *J. Vet. Intern. Med.* **2008**, *22*, 1111–1117. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Andrukova, O.; Slavic, S.; Smorodchenko, A.; Zeitz, U.; Shalhoub, V.; Lanske, B.; Pohl, E.E.; Erben, R.G. FGF23 regulates renal sodium handling and blood pressure. *EMBO Mol. Med.* **2014**, *6*, 744–759. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

25. Fliser, D.; Kollerits, B.; Neyer, U.; Arkerst, D.P.; Lhotka, K.; Lingenhel, A.; Ritz, E.; Kronenberg, F. Fibroblast Growth Factor 23 (FGF23) Predicts Progression of Chronic Kidney Disease: The Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2007**, *18*, 2600–2608. [\[CrossRef\]](#)
26. Gutiérrez, O.; Isakova, T.; Rhee, E.; Shah, A.; Holmes, J.; Collerone, G.; Jüppner, H.; Wolf, M. Fibroblast Growth Factor-23 Mitigates Hyperphosphatemia but Accentuates Calcitriol Deficiency in Chronic Kidney Disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2005**, *16*, 2205–2215. [\[CrossRef\]](#)
27. Isakova, T.; Gutiérrez, O.; Shah, A.; Castaldo, L.; Holmes, J.; Lee, H.; Wolf, M. Postprandial Mineral Metabolism and Secondary Hyperparathyroidism in Early CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2008**, *19*, 615–623. [\[CrossRef\]](#)
28. Mente, A.; O'Donnell, M.J.; Rangarajan, S.; McQueen, M.J.; Poirier, P.; Wielgosz, A.; Morrison, H.; Li, W.; Wang, X.; Di, C.; et al. Association of Urinary Sodium and Potassium Excretion with Blood Pressure. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 601–611. [\[CrossRef\]](#)
29. Intersalt Cooperative Research, G. Intersalt: An International Study Of Electrolyte Excretion And Blood Pressure. Results For 24 Hour Urinary Sodium And Potassium Excretion. *BMJ Br. Med. J.* **1988**, *297*, 319–328.
30. Ferguson, J.F.; Aden, L.A.; Barbaro, N.R.; Van Beursem, J.P.; Xiao, L.; Simmons, A.J.; Warden, C.; Pasic, L.; Himmel, L.E.; Washington, M.K.; et al. High dietary salt-induced dendritic cell activation underlies microbial dysbiosis-associated hypertension. *JCI Insight* **2019**, *5*, e126241. [\[CrossRef\]](#)
31. Lifton, R.P.; Gharavi, A.G.; Geller, D.S. Molecular Mechanisms of Human Hypertension. *Cell* **2001**, *104*, 545–556. [\[CrossRef\]](#)
32. Zhang, B.; Umbach, A.T.; Chen, H.; Yan, J.; Fakhri, H.; Fajol, A.; Salkar, M.S.; Spichtig, D.; Daryadel, A.; Wagner, C.A.; et al. Up-regulation of FGF23 release by aldosterone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2016**, *470*, 384–390. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Hu, J.-W.; Wang, Y.; Chu, C.; Mu, J.-J. Effect of Salt Intervention on Serum Levels of Fibroblast Growth Factor 23 (FGF23) in Chinese Adults: An Intervention Study. *Med. Sci. Monit.* **2018**, *24*, 1948–1954. [\[CrossRef\]](#)
34. Erben, R.G.; Andrukhova, O. FGF23-Klotho signaling axis in the kidney. *Bone* **2017**, *100*, 62–68. [\[CrossRef\]](#)
35. Go, A.S.; Mozafarian, D.; Roger, V.L.; Benjamin, E.J.; Berry, J.D.; Borden, W.B.; Bravata, D.M.; Dai, S.; Ford, E.S.; Fox, C.S.; et al. Executive summary: Heart disease and stroke statistics—2013 update: A report from the American Heart Association. *Circulation* **2013**, *127*, 143–152. [\[CrossRef\]](#)
36. Brazy, P.C.; Stead, W.W.; Fitzwilliam, J.F. Progression of renal insufficiency: Role of blood pressure. *Kidney Int.* **1989**, *35*, 670–674. [\[CrossRef\]](#)
37. Segura, J.; Campo, C.; Gil, P.; Roldán, C.; Vigil, L.; Rodicio, J.L.; Ruilope, L.M. Development Of Chronic Kidney Disease and Cardiovascular Prognosis in Essential Hypertensive Patients. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2004**, *15*, 1616–1622. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Weinberger, M.H.; Fineberg, N.S.; Fineberg, S.E.; Weinberger, M. Salt sensitivity, pulse pressure, and death in normal and hypertensive humans. *Hypertension* **2001**, *37*, 429–432. [\[CrossRef\]](#)
39. Lev-Ran, A.; Porta, M. Salt and hypertension: A phylogenetic perspective. *Diabetes Metab. Res. Rev.* **2005**, *21*, 118–131. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. Collins, A.J.; Foley, R.N.; Gilbertson, D.T.; Chen, S.-C. United States Renal Data System public health surveillance of chronic kidney disease and end-stage renal disease. *Kidney Int. Suppl.* (2011) **2015**, *5*, 2–7. [\[CrossRef\]](#)
41. Bidani, A.K.; Griffin, K.A. Long-term renal consequences of hypertension for normal and diseased kidneys. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* **2002**, *11*, 73–80. [\[CrossRef\]](#)
42. Faul, C.; Amaral, A.P.; Oskoue, B.; Hu, M.-C.; Sloan, A.; Isakova, T.; Gutiérrez, O.M.; Aguilon-Prada, R.; Lincoln, J.; Hare, J.M.; et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J. Clin. Investig.* **2011**, *121*, 4393–4408. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Grabner, A.; Amaral, A.P.; Schramm, K.; Singh, S.; Sloan, A.; Yanucil, C.; Li, J.; Shehadeh, L.A.; Hare, J.M.; David, V.; et al. Activation of Cardiac Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Causes Left Ventricular Hypertrophy. *Cell Metab.* **2015**, *22*, 1020–1032. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Humalda, J.K.; Lambers Heerspink, H.J.; Kwakernaak, A.J.; Slagman, M.C.J.; Waanders, F.; Vervloet, M.G.; Ter Wee, P.M.; Navis, G.; de Borst, M.H. Fibroblast Growth Factor 23 and the Antiproteinuric Response to Dietary Sodium Restriction During Renin-Angiotensin-Aldosterone System Blockade. *Am. J. Kidney Dis.* **2015**, *65*, 259–266. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Freundlich, M.; Gamba, G.; Rodriguez-Iturbe, B. Fibroblast growth factor 23—Klotho and hypertension: Experimental and clinical mechanisms. *Pediatr. Nephrol.* **2021**, *36*, 3007–3022. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Bijmans, E.S.; Jepsen, R.E.; Chang, Y.M.; Syme, H.M.; Elliott, J. Changes in systolic blood pressure over time in healthy cats and cats with chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* **2015**, *29*, 855–861. [\[CrossRef\]](#)
47. Kobayashi, D.L.; Peterson, M.E.; Graves, T.K.; Lesser, M.; Nichols, C.E. Hypertension in cats with chronic renal failure or hyperthyroidism. *J. Vet. Intern. Med.* **1990**, *4*, 58–62. [\[CrossRef\]](#)
48. Brown, C.A.; Elliott, J.; Schmiedt, C.W.; Brown, S.A. Chronic Kidney Disease in Aged Cats: Clinical Features, Morphology, and Proposed Pathogenesis. *Vet. Pathol.* **2016**, *53*, 309–326. [\[CrossRef\]](#)
49. Christina, L.; Marino, B.D.X.L.; Vaden, S.L.; Gruen, M.E.; Marks, S.L. The prevalence and classification of chronic kidney disease in cats randomly selected within four age groups and in cats recruited for degenerative joint disease studies. *J. Feline Med. Surg.* **2014**, *16*, 465–472.
50. Chen, H.; Dunaeovich, A.; Apfelbaum, N.; Kuzi, S.; Mazaki-Tovi, M.; Aroch, I.; Segev, G. Acute on chronic kidney disease in cats: Etiology, clinical and clinicopathologic findings, prognostic markers, and outcome. *J. Vet. Intern. Med.* **2020**, *34*, 1496–1506. [\[CrossRef\]](#)



51. Chetboul, V.; Reynolds, B.S.; Tzehiou-Sechi, E.; Nguyen, P.; Concordet, D.; Sampedrano, C.C.; Testault, I.; Elliott, J.; Abadie, J.; Biourge, V.; et al. Cardiovascular effects of dietary salt intake in aged healthy cats: A 2-year prospective randomized, blinded, and controlled study. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e97862. [\[CrossRef\]](#)
52. Wang, Q.; Ishizawa, K.; Li, J.; Fujii, W.; Nemoto, Y.; Yamazaki, O.; Tamura, Y.; Miura, Y.; Nie, X.; Abe, R.; et al. Urinary phosphate-containing nanoparticle contributes to inflammation and kidney injury in a salt-sensitive hypertension rat model. *Commun. Biol.* **2020**, *3*, 575. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Dobenecker, B.; Hertel-Bohnke, P.; Weber, A.; Kienzle, E. Renal phosphorus excretion in adult healthy cats after the intake of high phosphorus diets with either calcium monophosphate or sodium monophosphate. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **2018**, *102*, 1759–1765. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
54. Herbst, S.D.B. Effects of dietary phosphates from organic and inorganic sources on parameters of phosphorus homeostasis in healthy adult dogs. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0246950. [\[CrossRef\]](#)
55. Dobenecker, B.; Kienzle, E.; Siedler, S. The Source Matters—Effects of High Phosphate Intake from Eight Different Sources in Dogs. *Animals* **2021**, *11*, 3456. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
56. FEDIAF *Nutritional Guidelines For Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs*; European Pet Food Industry Federation: Brussels, Belgium, 2020.
57. Gericke, S.; Kurmies, B. Colorimetrische Bestimmung der Phosphorsäure mit Vanadat-Molybdat. *Fresenius' Z. Anal. Chem.* **1952**, *137*, 15–22. [\[CrossRef\]](#)
58. Janßen, E.M.Y.; Rieß, P.; Seifert, D. Nassaufschluss unter Druck. *VDLJfa Methodenbuch III* **6.Erg.** **2006**, *10*, 1–4.
59. Block, G.A.; Port, F.K. Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: Recommendations for a change in management. *Am. J. Kidney Dis.* **2000**, *35*, 1226–1237. [\[CrossRef\]](#)
60. Jackson, H.A.; Barber, P.J. Resolution of metastatic calcification in the paws of a cat with successful dietary management of renal hyperparathyroidism. *J. Small Anim. Pract.* **1998**, *39*, 495–497. [\[CrossRef\]](#)
61. Coltherd, J.C.; Staunton, R.; Colyer, A.; Thomas, G.; Gilham, M.; Logan, D.W.; Butterwick, R.; Watson, P. Not all forms of dietary phosphorus are equal: An evaluation of postprandial phosphorus concentrations in the plasma of the cat. *Br. J. Nutr.* **2019**, *121*, 270–284. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
62. Sarafidis, P.A.; Li, S.; Chen, S.-C.; Collins, A.J.; Brown, W.W.; Klag, M.J.; Bakris, G.L. Hypertension Awareness, Treatment, and Control in Chronic Kidney Disease. *Am. J. Med.* **2008**, *121*, 332–340. [\[CrossRef\]](#)
63. Cowgill, L.D.; Kallet, A.J. Systemic hypertension. *Curr. Vet. Ther. Phila. WB Saunders* **1986**, *32*, 360–366.
64. Wehner, A.; Hartmann, K.; Hirschberger, J. Associations between proteinuria, systemic hypertension and glomerular filtration rate in dogs with renal and non-renal diseases. *Vet. Rec.* **2008**, *162*, 141–147. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
65. Humalda, J.K.; Yeung, S.M.H.; Geleijnse, J.M.; Gijbbers, L.; Riphagen, I.J.; Hoorn, E.J.; Rotmans, J.I.; Vogt, L.; Navis, G.; Bakker, S.J.L.; et al. Effects of Potassium or Sodium Supplementation on Mineral Homeostasis: A Controlled Dietary Intervention Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2020**, *105*, e3246–e3256. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
66. Eckberg, K.; Kramer, H.; Wolf, M.; Durazo-Arvizu, R.; Tayo, B.; Luke, A.; Cooper, R. Impact of westernization on fibroblast growth factor 23 levels among individuals of African ancestry. *Nephrol. Dial. Transpl.* **2015**, *30*, 630–635. [\[CrossRef\]](#)
67. Yeung, S.M.H.; Hoorn, E.J.; Rotmans, J.I.; Gansevoort, R.T.; Bakker, S.J.L.; Vogt, L.; de Borst, M.H. Urinary Potassium Excretion, Fibroblast Growth Factor 23, and Incident Hypertension in the General Population-Based PREVEND Cohort. *Nutrients* **2021**, *13*, 4532. [\[CrossRef\]](#)
68. Humalda, J.K.; Keyzer, C.A.; Binnenmars, S.H.; Kwakemaak, A.J.; Slagman, M.C.J.; Laverman, G.D.; Bakker, S.J.L.; de Borst, M.H.; Navis, G.J. Concordance of dietary sodium intake and concomitant phosphate load: Implications for sodium interventions. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2016**, *26*, 689–696. [\[CrossRef\]](#)
69. Yin, Y.; Huang, C.; Wu, X.; Li, T.; Huang, R.; Kang, P.; Hu, Q.; Chu, W.; Kong, X. Nutrient digestibility response to graded dietary levels of sodium chloride in weanling pigs. *J. Sci. Food Agric.* **2008**, *88*, 940–944. [\[CrossRef\]](#)
70. Kaup, S.M.; Greger, J.L. Effect of various chloride salts on the utilization of phosphorus, calcium, and magnesium. *J. Nutr. Biochem.* **1990**, *1*, 542–548. [\[CrossRef\]](#)
71. Dobenecker, B.; Weber, A.; Reese, S.; Kienzle, E. Effect of a high phosphorus diet on indicators of renal health in cats. *J. Feline Med. Surg.* **2018**, *20*, 339–343. [\[CrossRef\]](#)
72. Böswald, L.; Herbst, S.; Dobenecker, B. *Influence of Phosphorus Source on the Difference between Dietary and Faecal Ca/P Ratio and Serum Phosphorus Levels in Dogs*; ESVCN: Munich, Germany, 2020.
73. Böswald, L.; Herbst, S.; Schaschl, C.; Kienzle, E.; Dobenecker, B. *Inorganic P Salts Disrupt the Strong Linear Correlation between Faecal Calcium and Phosphorus Excretion in Dogs but Not in Cats*; ESVCN: Munich, Germany, 2020.
74. Dobenecker, B. Phosphate intake with complete food and diets for chronic kidney disease available on the German market. *Tierärztliche Prax. Kleintiere Heintiere* **2021**, *49*, 247–254. [\[CrossRef\]](#)
75. Nguyen, P.; Reynolds, B.; Zentek, J.; Paßlack, N.; Leray, V. Sodium in feline nutrition. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **2017**, *101*, 403–420. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
76. Spurgeon-Pechman, K.R.; Donohoe, D.L.; Mattson, D.L.; Lund, H.; James, L.; Basile, D.P. Recovery from acute renal failure predisposes hypertension and secondary renal disease in response to elevated sodium. *Am. J. Physiol. -Ren. Physiol.* **2007**, *293*, F269–F278. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

## **4 Diskussion**

### **4.1 Kritik der Methodik**

#### **4.1.1 Versuchsdesign**

Aufgrund des begrenzten Versuchszeitraumes von 28 Tagen sind Langzeiteffekte der Diäten nicht beurteilbar. Diese wären allerdings von hoher Relevanz, da ein Großteil der Hunde und Katzen langfristig bzw. lebenslang mehr oder weniger ausschließlich mit industriell verarbeiteten Fertigfuttermitteln gefüttert wird (Becker 2009; Schleicher et al., 2019). Entsprechende Langzeitversuche mit Ausweitung der Untersuchungsparameter (unter anderem Sonographie) sind aufgrund der bereits nach 28 Tagen festgestellten Effekte eindeutig wünschenswert. In den eigenen Untersuchungen wurden zudem relativ hohe Konzentrationen an zwei anorganischen Phosphaten eingesetzt. Der tatsächliche Gehalt an anorganischem Phosphat bzw. an einzelnen Phosphatquellen in kommerziell erhältlichen Produkten ist durch die fehlende Deklaration und Transparenz nicht nachvollziehbar und damit mit den hier eingesetzten Mengen nicht vergleichbar. Allerdings konnten in vielen Produkten hohe Werte für Gesamt- und hochlöslichen Phosphor gemessen werden (Dobenecker 2021a): Der mediane Gehalt an Gesamtphosphor lag in Feuchtfuttern für Katzen bei 745 mg/MJ ME und in Trockenfuttern bei 666 mg/MJ ME, wovon ein hoher Anteil aus hochlöslichem Phosphor bestand (Feuchtfutter: 257 mg/MJ ME, Trockenfutter: 173 mg/MJ ME). Höchstwerte für Gesamtphosphor und hochlösliches Phosphat lagen in diesen Produkten bei 1099 bzw. 500 mg/MJ ME. Damit wurde im Großteil der untersuchten Alleinfuttermittel der Tagesbedarf an Phosphor für Katzen (150 mg/MJ ME) allein durch hochlösliches Phosphat, das zu einem großen Anteil aus anorganischem Phosphat stammen dürfte, gedeckt. Somit ist die in dieser Untersuchung gewählte Menge an Gesamt- bzw. anorganischem Phosphat (658 mg/MJ ME bzw. 469 mg/MJ ME) durchaus praxisrelevant.

Die begrenzte Versuchsdauer in Kombination mit relativer hoher Konzentration anorganischer Phosphatzusätze hat zu statistisch abgesicherten Effekten bei Katzen geführt, die Anlass zu Folgeversuchen geben sollten. Im Versuch mit Zulage von Natriumchlorid konnte zudem gezeigt werden, dass sich die Katze in Bezug auf die Zusammenhänge zwischen Natrium und FGF23 von anderen Spezies wie dem Mensch (Humalda et al., 2020) und Nagern (Andrukhova et al., 2014) unterscheidet. Es ist unwahrscheinlich, dass sich Effekte auf FGF23 erst bei langfristiger Gabe entwickeln, da die Regulation über FGF23 kurzfristig erfolgt und genannte Versuche in anderen Spezies über ähnliche Zeiträume hinweg durchgeführt wurden.

#### 4.1.2 Calcium-/Phosphorverhältnis

Da parallel zu Phosphor auch die Calciumzufuhr angehoben wurde, war der Phosphorexzess in den vorliegenden Untersuchungen nicht selektiv.

In einem vorangegangenen Versuch an Katzen (Dobenecker et al., 2018c) wurden die Effekte eines selektiven Phosphatexzesses (Ca/P 0,4:1) auf Parameter der Nierengesundheit nachgewiesen. Anders als beim Menschen (Metz et al., 1993; Kemi et al., 2010) ist das Ca/P-Verhältnis der durchschnittlichen Tagesration bei Hunden und Katzen nicht invers, sondern liegt in der Praxis meist im empfohlenen Bereich von 1 bis 2:1 (FEDIAF 2022). Es ist bekannt, dass die Höhe der Calciumzufuhr und das Ca/P-Verhältnis die Verdaulichkeit von Phosphor beeinflussen können. In Studien mit Ratten (Schaafsma & Visser 1980), Hunden (Jenkins & Phillips 1960) und Katzen (Pastoor 1993; Pessinger 1996) konnte gezeigt werden, dass eine hohe Calciumaufnahme beziehungsweise ein weites Ca/P-Verhältnis (> 2,0:1) die Verdaulichkeit von Phosphor senken kann. Im Gegensatz dazu kann die Phosphorverdaulichkeit bei einem engen Ca/P-Verhältnis (< 1,1:1) ansteigen (Pastoor 1993; Pessinger 1996). Bei Verwendung anorganischer Phosphate bestand der Effekt eines weiteren Ca/P-Verhältnisses auf die Phosphorverdaulichkeit bei Hunden allerdings nicht (Herbst & Dobenecker 2019) und die ansonsten bei dieser Spezies enge Korrelation zwischen der fäkalen Calcium- und Phosphorausscheidung (Böswald et al., 2018) blieb nicht erhalten (Böswald et al., 2020).

Um die Praxisrelevanz zu gewährleisten und zur besseren Vergleichbarkeit der Versuchsdurchgänge inklusive des Kontrolldurchgangs mit bedarfsdeckender und ausgewogener Mineralstoffversorgung, wurde das Ca/P-Verhältnis in dieser Studie im Bereich von 1,3:1 bis 2,0:1 eingestellt (FEDIAF 2022). Dies erlaubt die Beurteilung von Mengeneffekten und Unterschieden in Bezug auf die gesundheitliche Relevanz von Phosphorsäure und Natriumphosphat im Vergleich zu anderen bisher untersuchten anorganischen Phosphatquellen. Praxisübliche Ca/P-Verhältnisse ermöglichen zudem den Vergleich zu kommerziell erhältlichen Alleinfuttermitteln und erlauben damit Rückschlüsse auf mögliche unerwünschte Effekte der enthaltenen Zusatzstoffe.

### 4.1.3 Höhe der Mineralstoffzufuhr

Zur Einstellung des gewünschten Bereiches der Ca/P-Verhältnisse war eine Zufuhr von Calcium oberhalb der Versorgungsempfehlung notwendig. Ein potenzieller Effekt von Calcium auf einen der Zielparameter der vorliegenden Studien, den FGF23-Serumspiegel, wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Bislang konnte dieser in einem Teil der Studien nur unter Manipulation der Serumcalciumspiegel z.T. unter Ausschaltung weiterer Elemente der Mineralstoffhomöostase (Parathyreoidektomie, Vitamin D<sub>3</sub>-Mangel, intravenöse Calciuminjektion) beobachtet werden (Shimada et al., 2005; Rodriguez-Ortiz et al., 2012). Im Gegensatz dazu konnten Gravesen et al. (2014) keinen Zusammenhang zwischen FGF23-Serumwerten und einer Hyper- bzw. Hypocalcaemie beobachten (Gravesen et al., 2014). Die Entwicklung einer Hypercalcaemie aufgrund der gesteigerten Calciumversorgung war basierend auf Literaturdaten (Demmel 2011; Dobenecker et al., 2018; Dobenecker et al., 2021b; Dobenecker et al., 2021d) und der praxisüblichen Calciumexzesse in kommerziellen Katzenfuttermitteln in der vorliegenden Studie aber nicht zu erwarten und wurde auch nicht festgestellt.

Die Höhe der Phosphorzufuhr war im Vergleich zu vorangegangenen Versuchen der Arbeitsgruppe mit ähnlichen Fragestellungen (Dobenecker et al., 2018; Dobenecker et al., 2018c) etwas niedriger. Es ist zwar bekannt, dass anorganische Phosphate in kommerziellen Produkten häufig Einsatz finden und die Gesamtphosphorgehalte den Bedarf in vielen Fällen deutlich überschreiten (Izquierdo et al., 1991; Spears et al., 2003; Chemineau 2007; Summers et al., 2020; Dobenecker 2021), allerdings liegen wie bereits dargestellt keine exakten Angaben vor. Dies liegt sowohl an fehlenden Höchstmengenbeschränkungen und fehlender Deklarationspflicht als auch an mangelnder Transparenz durch die Hersteller von Petfood. Im Sinne einer optimalen Akzeptanz des Versuchsfutters sowie der Sicherheit der Versuchskatzen wurde die maßgeblich zu testende Substanz, Phosphorsäure, in begrenzter Menge eingesetzt (485 mg Phosphor/1000 kcal). Um die Gesamtkonzentration an anorganischen Phosphaten in der Trockensubstanz (TS) in eine vergleichbare Größenordnung (13 g/kg TS) wie in den genannten Arbeiten zu bringen (15-17 g/kg TS Dobenecker (2018a); Dobenecker (2018c)), wurde zudem Natriumphosphat (1478 mg Phosphor/1000 kcal) zugesetzt. Ein Vergleich mit einer Studie, in der Phosphorsäure zum Besprühen von Trockenfutterkibbels verwendet wurde, zeigt zudem, dass die Menge an Phosphorsäure im vorliegenden Versuch durchaus realistisch gewählt war (Spears et al. (2003): 103-206 mg Phosphor/100 g TS versus eigener Versuch: 236 mg Phosphor/100 g TS aus Phosphorsäure).

Zur Überprüfung möglicher Einflüsse einer hohen Natriumchloridaufnahme auf die gemessenen Parameter wurden auch hier die Versorgungsempfehlungen überschritten (National Research Council 2006). Dies reflektiert praxisrelevante Salzaufnahmen bei der Verwendung kommerzieller Feucht- und Trockenfutter: Kochsalz wird in vielen Produkten u.a. zur Erhöhung der Trinkwasseraufnahme zugegeben sowie um Harnsteinbildung und Nierenerkrankungen vorzubeugen (Hamar 1976; Hawthorne et al., 2004; Kirk et al., 2006).

Insgesamt führen hohe Mineralstoffkonzentrationen in Alleinfuttermitteln sehr häufig zu Aufnahmen deutlich oberhalb des Bedarfs und unterstreichen somit die praktische Relevanz der vorliegenden Ergebnisse (Davies et al., 2017; Pereira et al., 2018; Dobenecker 2021a).

## **4.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **4.2.1 Anorganische Phosphatquellen**

Informationen über potenzielle gesundheitsschädigende Wirkungen oral aufgenommener, anorganischer Phosphate auch bei gesunden Individuen verschiedener Spezies liegen in umfangreicher Zahl in der Literatur vor (Mackay et al., 1935; Hong et al., 2015; Alexander et al., 2018; Dobenecker et al., 2018; Coltherd et al., 2019; Dobenecker et al., 2021b). Ein wichtiger Faktor für die möglichen toxischen Effekte solcher anorganischen Phosphate, die als Zusatzstoffe in der Herstellung von Nahrungs- und Futtermitteln für Heimtiere vielfach Anwendung finden, ist die Löslichkeit (Lineva et al., 2019), die die Aufnahme aus dem Magendarmtrakt direkt beeinflusst (Uribarri et al., 2003; Coltherd et al., 2019). Phosphorsäure oder  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  wird in der Nahrungs- und Futtermittelindustrie u.a. als Säureregulator, Komplexbildner und im Bereich Antioxidation eingesetzt. Bei Fertigfuttermitteln für Katzen findet es speziell zur Prophylaxe der relativ häufig verbreiteten Struvituroolithiasis Verwendung (Izquierdo et al., 1991; Spears et al., 2003). Informationen zur Sicherheit und Verträglichkeit des Phosphorsäureeinsatzes liegen in der Literatur in nur sehr spärlichem Umfang vor. So wurde der Zusatz von 0,4, 0,6 und 0,8% Phosphorsäure (75 %) zu einem Trockenfutter für je eine Woche bei 18 Katzen eingesetzt (Spears et al. 2010). Untersucht wurde hier aber lediglich der Einfluss auf den Harn pH-Wert, das spezifische Harngewicht und die Kotqualität im Vergleich zu einem kommerziellen Trockenfutter mit unbekannter Menge an anorganischen Phosphaten. Bei Mensch und Nagern wird die orale Aufnahme von Phosphorsäure unter anderem für Hypocalcämie sowie erhöhte Knochenresorption und infolge für erhöhte Frakturneigung verantwortlich gemacht (Fernando et al., 1999; García-Contreras et al., 2000; Wyslak 2000). Die Untersuchung von Effekten der Zulage von Phosphorsäure zum Futter von Katzen hat entsprechend hohe Relevanz.

In Übereinstimmung mit der Arbeitshypothese konnten deutliche Einflüsse der eingesetzten Phosphatquellen auf ausgewählte Parameter der Phosphorhomöostase nachgewiesen werden. Die Beobachtungen reihen sich in die bisherigen Untersuchungen zu anorganischen Phosphatquellen an Hunden (Dobenecker et al., 2021b) und Katzen (Dobenecker et al., 2018c) ein und liefern zusätzliche Informationen, die zur gesundheitlichen Beurteilung dieser Zusatzstoffe herangezogen werden können.

In der vorliegenden Studie mit gesunden Katzen führte die Aufnahme der anorganischen Phosphate Orthophosphorsäure und Natriummonophosphat postprandial zu einem deutlichen

Anstieg der Serumphosphorwerte mit einer Überschreitung des oberen Referenzwertes bei 8/10 Katzen. Bei Nierenpatienten ist bekannt, dass die Mortalitätswahrscheinlichkeit pro 1 mg P/dl Serum um 23 % ansteigt (Kestenbaum et al., 2005). Aber auch bei gesunden Menschen konnte eine Korrelation zwischen der Höhe des Serumphosphorspiegels und der Lebenserwartung (Tonelli et al., 2009), kardiovaskulären Erkrankungen (Foley et al., 2009; Dhingra et al., 2010) und Nierenschäden (Sim et al., 2013) gezeigt werden. Gesundheitsschäden konnten sowohl bei CKD-Patienten (Eddington et al., 2010; Chang et al., 2016), als auch bei gesunden Menschen sogar dann schon festgestellt werden, wenn sich die Serumphosphorwerte noch im Normbereich bzw. am oberen Ende des Referenzbereiches bewegten (Foley et al., 2009; Osuka & Razzaque 2012).

In den eigenen Versuchen führte die Zulage von Phosphorsäure und Natriumphosphat neben dem Anstieg der Phosphorkonzentration im Blut zu einer deutlich höheren renalen Phosphorexkretion. Da eine erhöhte Phosphorausscheidung zur Schädigung des Nierengewebes beitragen kann (Haut et al., 1980), ist dies ein relevantes Ergebnis. Dementsprechend muss auch bei gesunden Individuen unter anderem mit Nierenschädigungen in Folge eines Exzesses an anorganischen Phosphaten gerechnet werden. Dies legen auch Berichte über akute Vergiftungen mit anorganischen Phosphaten nahe, die zur akuten Phosphatnephropathie führten (Beyea et al., 2007; Palmadottir 2010; Moulin & Ponchon 2018). Nachdem die Prävalenz von CKD insbesondere bei Katzen sehr hoch ist (Chen et al., 2020), sollte der Zusammenhang zwischen Phosphorquelle und Einfluss auf die Phosphorhomöostase besonders berücksichtigt werden.

Des Weiteren ist auch das Überschreiten des oberen Referenzwertes ( $55 \text{ mg}^2/\text{dl}^2$ ) (Block & Port 2000) des postprandialen sCaxP bei sämtlichen Katzen in der PA-NaP-Gruppe von großer Relevanz. Neben den bereits genannten gesundheitlichen Folgen wie der Kalzifikation von Weichteilgewebe (Jackson et al., 1998) existiert bei humanen und caninen Nierenpatienten auch eine direkte negative Korrelation zwischen dem sCaxP und der Lebenserwartung (Block et al., 2000; Lucero et al., 2019). Der Anstieg des sCaxP durch Zulage anorganischer Phosphate in der vorliegenden Studie bei gesunden Katzen innerhalb eines kurzen Versuchszeitraumes ist daher hoch relevant.

Auch der beobachtete Anstieg der FGF23-Konzentrationen im Serum von gesunden Katzen nach einer relativ kurzen Supplementationsdauer von 28 Tagen ist bemerkenswert. Während der obere Referenzbereich für Serumphosphat nach Gabe der anorganischen Phosphate nur postprandial überschritten wurde, war dies für FGF23 vor allem im nüchternen Zustand der

Fall, wobei es auch postprandial zu einer signifikanten Erhöhung von FGF23 kam. Auch Dobenecker et al. (2021) konnten bei Hunden beobachten, dass die Zulage verschiedener anorganischer Phosphate im Gegensatz zu organischen Quellen prä- und bis zu sieben Stunden postprandial zu einem Anstieg der Serum FGF23 Konzentrationen führte (Dobenecker et al., 2021b).

Physiologisch wird nach Anstieg der extrazellulären Phosphatkonzentration die Ausschüttung regulatorischer Faktoren wie FGF23 initiiert, um die renale Phosphatexkretion zu erhöhen und den Serumspiegel konstant zu halten (Gattineni et al., 2009). Mit abnehmenden Serumphosphatwerten sinkt schließlich auch FGF23 wieder ab. In dieser Studie wurden aber selbst mindestens 12 h nach der Aufnahme anorganischer Phosphate signifikant höhere FGF23-Werte in der PA-NaP-Gruppe im Vergleich zur Kontrolle gemessen. Dieses Ergebnis ist im Einklang mit den Ergebnissen bei Hunden (Herbst 2021). Im Gegensatz dazu wurde bei Hunden (Dobenecker et al., 2021b) und Katzen (Coltherd et al., 2019) bei Exzess ausschließlich mit organischen Phosphaten weder ein Anstieg der Serumphosphorwerte, noch ein signifikanter Effekt auf FGF23 festgestellt. Eine mögliche Erklärung für den Anstieg von FGF23 auch präprandial ist die Überschreitung der Kompensationsfähigkeit der physiologischen Phosphorregulation: Aufgrund der hohen Löslichkeit anorganischer Phosphate (Lineva et al., 2019) erfolgt die Absorption im Darmlumen rasch und führt zu einer abrupten Anflutung von Phosphat im Blut (Uribarri et al., 2003; Coltherd et al., 2019; Dobenecker et al., 2021b). Ein gesteigerter Umfang der Absorption von Phosphat aus hochlöslichen Quellen zeigte sich auch darin, dass die Werte für scheinbar verdautes Phosphat in der PA-NaP-Gruppe rund 40 % höher lagen als in der Kontrolle. Die Kombination aus Absorptionsgeschwindigkeit und aufgenommener Phosphormenge führte möglicherweise zu einer Überkompensation der physiologischen Regulation in Form von konstant höheren FGF23-Werten, zumal die Halbwertszeit von FGF23 im Bereich von wenigen Minuten liegt (Mace et al., 2015; Schnedl et al., 2015) und daher eine konstant erhöhte Synthese des FGF23 vorliegen muss. Wie bereits beschrieben, führt exzessive Aufnahme anorganischer Phosphate, vermittelt über PTH, zudem zu einer gesteigerten Knochenresorption (Mac Way et al., 2012). Hierbei wird im Knochen gespeichertes Phosphat freigesetzt und führt seinerseits zu einer erhöhten Synthese von FGF23 auch im postabsorptiven Zustand. Problematisch ist dies, da eine hohe Phosphataufnahme sowie langfristig erhöhte FGF23-Werte auch zu einer chronisch gesteigerten renalen Phosphorexkretion führen, wobei die Phosphatkonzentration pro Nephron ausgediebstem Phosphat direkt mit dem Maß an tubulärer Atrophie und Fibrose korreliert (Haut et al., 1980).



Weitere potenziell pathologische Einflüsse chronisch erhöhter FGF23-Serumwerte wurden beim Menschen zudem auf den Mineralstoff- und Vitamin-D-Metabolismus (Gutiérrez 2010; Latic & Erben 2021) sowie auf das Herz-Kreislaufsystem (Faul et al., 2011; Ärnlov et al., 2013) beobachtet. Insbesondere der Zusammenhang zwischen Linksherzhypertrophie und FGF23 ist dabei hervorzuheben (Faul et al., 2011), da die hypertrophe Kardiomyopathie die häufigste kardiovaskuläre Erkrankung alternder Katzen darstellt (Ferasin et al., 2003). Zudem ist bekannt, dass chronisch erhöhte FGF23-Werte zu einer sinkenden Rezeptorsensitivität führen können (Spichtig et al., 2014). Dies führt zu einer zunehmenden Resistenz der Zielorgane, so dass FGF23 beispielsweise auch seinen direkten inhibierenden Effekt auf PTH verliert. Der senkende Effekt auf 1,25-Hydroxycholecalciferol trägt zusätzlich zu einer verstärkten PTH-Sekretion bei, so dass die steigenden PTH-Serumwerte wiederum zur Störung der Mineralstoffhomöostase und zur Entstehung der sogenannten „mineral bone disorder“ beitragen (Mac Way et al., 2012).

Ob diese pathophysiologischen Zusammenhänge auch für die Katze relevant sind, bedarf weiterer Studien.

Inwiefern die dauerhaft hohe Aufnahme anorganischer Phosphate langfristige Folgen hat, ist in dieser Studie aufgrund des Versuchsdesigns nicht nachvollziehbar. Dennoch geben die Resultate, die bereits innerhalb von 28 Tagen ermittelt wurden, Grund zur Besorgnis. Ein Gros der kommerziell verfügbaren Alleinfuttermittel weist hohe Konzentrationen an Gesamt- und hochlöslichem Phosphat auf (Brunetto et al., 2019; Dobenecker 2021a). Während beim Menschen die Aufnahme an anorganischen Phosphaten stark über den Konsum von bzw. Verzicht an kommerziell verarbeiteten Produkten steuerbar ist, erfahren Hunde und Katzen durch die Verwendung von Alleinfuttermitteln eine kontinuierlich hohe Exposition mit anorganischen Phosphaten.

Anhand der vorliegenden Daten aus Versuchen an Menschen und verschiedenen Tierarten kann gefolgert werden, dass Tageshöchstmengen für Gesamtphosphor, unabhängig von dessen Quelle, nicht zielführend. Es ergibt sich vielmehr die Notwendigkeit, häufig verwendete Phosphatquellen in Lebens- und Futtermitteln hinsichtlich ihres Gefahrenpotenzials individuell zu beurteilen und die Verwendung von phosphorhaltigen Zusatzstoffen grundsätzlich zu überdenken. Für eine Quantifizierung und Beurteilung der täglichen Phosphatlast ist allerdings eine offene Deklaration von zugesetzten Phosphaten inklusive der jeweiligen Mengen Voraussetzung. Aufgrund der derzeitigen Gesetzeslage sowie fehlender freiwilliger

Herstellerangaben ist weder eine Beurteilung der Versorgung bzw. Belastung mit hochverfügbaren Phosphaten beim Einzeltier noch der Population möglich. Da die analytische Bestimmung der Phosphatquellen in einem Produkt kaum möglich ist und bisher nur über die Fraktionierung der Phosphate nach ihrer Löslichkeit (Lineva et al 2018) abgeschätzt werden kann, ist selbst eine Beurteilung bei Einzelprodukten schwierig. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, die Serumphosphorwerte regelmäßig zu monitoren und bei einer Konzentration im oberen Quartil des Referenzbereichs die Aufnahme an Phosphor, insbesondere an anorganischen Phosphaten, auch bei gesunden Individuen zu begrenzen.

#### 4.2.2 Natriumchlorid

Um einen möglichen Effekt von Natrium auf den FGF23 Spiegel bei Gabe von Natriumphosphaten zu überprüfen und da in kommerziellen Produkten häufig Exzesse an Phosphaten und Natrium vorliegen, wurde der Einfluss eines selektiven Natriumexzesses auf Parameter des Phosphathaushalts wie FGF23 in Katzen untersucht. Im Mausmodell (Andrukhova et al., 2014) und beim Menschen (Hu et al., 2018) konnte ein Zusammenhang zwischen FGF23 und Natrium festgestellt werden. Wechselwirkungen zwischen der Nährstoffaufnahme und FGF23, einem Frühmarker der Niereninsuffizienz, sind bei einer Tierart wie der Katze mit ausgesprochen hoher Prävalenz der CKD (Marino et al., 2014) besonders interessant. Außerdem sind kontinuierlich hohe Natriumaufnahmen bei den meisten Hauskatzen anzunehmen, da viele Alleinfuttermittel hohe Salzgehalte aufweisen (Brunetto et al., 2019). Zudem kann eine hohe Natriumzufuhr die gastrointestinale Absorption von Phosphor über einen gemeinsamen Co-Transporter stimulieren (Marks et al., 2015). Bei der Untersuchung von natriumhaltigen Phosphatsalzen müssen potenzielle Effekte von Natrium auf die Nierengesundheit dementsprechend berücksichtigt werden. Ziel dieser Arbeit war daher, Zusammenhänge zwischen einer hohen Natriumaufnahme und FGF23 unabhängig von einem Phosphorexzess bei gesunden Katzen zu überprüfen.

Im Gegensatz zu Maus und Mensch konnte in der vorliegenden Studie bei Katzen kein Zusammenhang zwischen Natrium auf FGF23 festgestellt werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit Studien, in denen ein Kochsalzexzess bei feline Patienten, im Gegensatz zu menschlichen Probanden (Hu et al., 2018; Ferguson et al., 2019), keine Auswirkungen auf den Blutdruck hatte (Luckschander et al., 2004; Chetboul et al., 2014). Dafür spricht auch, dass im eigenen Versuch mit Zulage von Phosphorsäure und Natriumphosphat trotz knapp 5facher Natriumaufnahme im Vergleich zur Kontrollration und signifikant erhöhtem Serumspiegel an FGF23 keine Erhöhung der Natriumkonzentration im Serum der Katzen oder der Natriumretention festzustellen war. Die Regulation des Blutdruckes und der renalen Natriumexkretion über FGF23 scheint demnach bei der Katze im Vergleich zu anderen Spezies abweichenden Mechanismen zu folgen.

Im Gegensatz dazu zeigte der Salzexzess unter Verwendung von ausschließlich organischen Phosphatquellen allerdings einen deutlichen Einfluss auf die scheinbare Verdaulichkeit von Phosphor (sVP). Der Mittelwert für sVP lag in der HNaCl-Gruppe (High-Natriumchlorid) ca. 9 % höher als in der Kontrolle. Ähnliche Resultate lieferten auch Versuche mit Schweinen (Yin et al., 2008) und Ratten (Kaup & Greger 1990), in denen ebenfalls ein Anstieg der sVP nach

Salzzulage beobachtet wurde. Hierdurch kann es zu einer Überversorgung mit Phosphor bzw. einer Verschärfung eines Phosphatexzesses mit beschriebener gesundheitlicher Gefährdung kommen. Ob der Effekt exzessiver Natriumkonzentrationen im Futter auf die Verfügbarkeit anorganischer Phosphate einen vergleichbaren Einfluss hat, kann nur vermutet werden und bedarf weiterer Untersuchungen.

Auch wenn das Phosphatonin FGF23 bei Katzen nicht direkt durch eine exzessive Versorgung mit Natriumchlorid beeinflusst wurde, bestehen aufgrund der höheren Phosphorverdaulichkeit Vorbehalte hinsichtlich der Auswirkungen eines chronischen Salzexzesses auf die Nierengesundheit. Insbesondere der intensive Einsatz von Natriumchlorid in Nierendiäten zur Erhöhung der Trinkwasseraufnahme (Hawthorne et al., 2004) sollte anhand der Ergebnisse dringend überdacht werden. Hinzu kommt der in kommerziellen Futtermitteln weit verbreitete Einsatz anorganischer Phosphatquellen, die eine hohe Verfügbarkeit aufweisen. Die Kombination eines hohen Gehaltes an Natriumchlorid mit anorganischen Phosphaten könnte die negativen Effekte auf die Nierengesundheit verstärken und auch für gesunde Individuen bedenklich sein.

## **5 Zusammenfassung**

Anorganische Phosphate werden kommerziellen Lebens- und Futtermitteln aus technologischen Gründen zugesetzt. Phosphorsäure (1a338) wird zudem speziell bei Katzen zur Prophylaxe der Struvituroolithiasis verwendet. In Futtermitteln besteht für die meisten phosphathaltigen Zusatzstoffe keine Deklarationspflicht, weshalb der Gehalt an anorganischen Phosphaten anhand der Deklaration nicht feststellbar ist.

In Übereinstimmung mit vorangegangenen Studien konnten in der vorliegenden Untersuchung nach 28tägigem Zusatz von Phosphorsäure und Natriumphosphat bei gesunden Katzen erstmals Effekte anorganischer Phosphate auf Parameter der Phosphathomöostase beobachtet werden, wodurch sich Bedenken hinsichtlich der Sicherheit dieser Zusatzstoffe ergeben. Insbesondere der hochsignifikante Anstieg des Phosphatoninins FGF23 im Serum der gefütterten und nüchternen Katzen nach Gabe von Phosphorsäure und Natriumphosphat mit dem Futter ist kritisch zu beurteilen. Zu fordern ist Transparenz bei der Deklaration von Fertigfuttermitteln für Heimtiere mit Angabe von Art und Menge zugesetzter Phosphate. Umfassende weitere Forschung ist nötig, um entscheiden zu können, ob auf den Zusatz phosphathaltiger Zusatzstoffe gänzlich verzichtet werden sollte oder ob eine Festlegung sicherer Obergrenzen je nach zugelassenem phosphathaltigem Zusatzstoff möglich ist.

Hohe Gehalte an Natrium in kommerziellen Futtermitteln für Heimtiere sowie die Verbindung zwischen den Serumkonzentrationen an FGF23 und Natrium bei Mensch und Nagern waren Anlass für die Untersuchung einer selektiven Kochsalzzulage auf FGF23 und weitere Parameter der Phosphorhomöostase. Im Gegensatz zu Untersuchungen bei Mäusen und Menschen konnte bei der Katze kein Zusammenhang zwischen Natriumchloridaufnahme und FGF23 festgestellt werden, wobei die Natriumretention nach Salzgabe zwar signifikant anstieg, die Serumkonzentration präprandial unverändert und postprandial sogar signifikant niedriger war.

Die Salzzulage führte zudem zu einer signifikanten Erhöhung der scheinbaren Phosphorverdaulichkeit bei Verwendung ausschließlich organischer Phosphatquellen. Dies ist ein wichtiger Aspekt im Hinblick auf die Nierengesundheit. Die Verwendung höherer Salzkonzentrationen in Fertigfuttermitteln für Katzen zum Beispiel zur Stimulation der Trinkwasseraufnahme sollte aufgrund vorliegender Ergebnisse vor allem in Produkten mit exzessiven Phosphorgehalten überdacht werden.

## **6 Summary**

Inorganic phosphates are added to commercial food and feed for technological reasons. Phosphoric acid (1a338) is also used specifically in cat food to prevent struvite uroliths. In feedstuff, there is no declaration required for most phosphate-containing additives, which is why the content of inorganic phosphates cannot be assessed through the declared information. In alignment with previous studies, effects of inorganic phosphates on parameters of phosphate homeostasis were observed in the present study by dietary addition of phosphoric acid and sodium phosphate in healthy cats, substantiating concerns about the safety of these additives. In particular, the highly significant increase of the phosphatonin FGF23 in the serum pre- and postprandially after dietary administration of phosphoric acid and sodium phosphate should be critically evaluated. Transparency in the declaration of commercial pet foods indicating the type and amount of added phosphates should be required. Extensive further research is needed to decide whether the addition of phosphate-containing additives should be avoided or whether it is possible to determine safe upper limits depending on the approved phosphate-containing additive.

High levels of sodium in commercial pet foods and the association between serum concentrations of FGF23 and sodium in humans and rodents prompted the investigation of selective sodium chloride supplementation on FGF23 and other parameters of phosphorus homeostasis. In contrast to studies in mice and humans, no link between sodium chloride intake and FGF23 was found in the cat. Although sodium retention increased significantly after sodium chloride administration, serum concentrations were unchanged preprandially and even significantly lower postprandially.

Sodium chloride supplementation also resulted in a significant increase in apparent phosphorus digestibility when only organic phosphate sources were used. This is an important aspect regarding renal health. Based on the presented results, the use of high sodium chloride concentrations in commercial cat diets to stimulate water intake should be reconsidered, especially in products with excessive phosphorus levels.

## 7 Literaturverzeichnis

- Albarracín, W., I. C. Sánchez, R. Grau and J. M. Barat (2011). "Salt in food processing; usage and reduction: a review." International Journal of Food Science & Technology **46**(7): 1329-1336.
- Alexander, J., J. Stockman, J. Atwal, R. Butterwick, A. Colyer, D. Elliott, M. Gilham, P. Morris, R. Staunton, H. Renfrew, J. Elliott and P. Watson (2018). "Effects of the long-term feeding of diets enriched with inorganic phosphorus on the adult feline kidney and phosphorus metabolism." Br J Nutr **121**(3): 1-21.
- Alexander, L. S., A. Mahajan, J. Odle, K. L. Flann, R. P. Rhoads and C. H. Stahl (2010). "Dietary phosphate restriction decreases stem cell proliferation and subsequent growth potential in neonatal pigs." The Journal of nutrition **140**(3): 477-482.
- Anderson, G. H. and H. H. Draper (1972). "Effect of Dietary Phosphorus on Calcium Metabolism in Intact and Parathyroidectomized Adult Rats1." The Journal of Nutrition **102**(9): 1123-1132.
- Andrukhova, O., S. Slavic, A. Smorodchenko, U. Zeitz, V. Shalhoub, B. Lanske, E. E. Pohl and R. G. Erben (2014). "FGF23 regulates renal sodium handling and blood pressure." EMBO Molecular Medicine **6**(6): 744-759.
- Anonymous (2020). "Katzenfuttertest " Stiftung Warentest **05/2020**: 66-73.
- Ärnlöv, J., A. C. Carlsson, J. Sundström, E. Ingelsson, A. Larsson, L. Lind and T. E. Larsson (2013). "Serum FGF23 and Risk of Cardiovascular Events in Relation to Mineral Metabolism and Cardiovascular Pathology." Clinical Journal of the American Society of Nephrology **8**(5): 781-786.
- Barber, P. J. and J. Elliott (1998). "Feline chronic renal failure: calcium homeostasis in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995." J Small Anim Pract **39**(3): 108-116.

- Becker, N. (2009). Erhebungen zur Fütterung von Hunden und Katzen mit und ohne Verdacht auf eine Futtermittelallergie in Deutschland. Imu.
- Ben-Dov, I. Z., H. Galitzer, V. Lavi-Moshayoff, R. Goetz, M. Kuro-o, M. Mohammadi, R. Sirkis, T. Naveh-Many and J. Silver (2007). "The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats." The Journal of clinical investigation **117**(12): 4003-4008.
- Bertazzolo, W., L. Toscani and S. Calcaterra (2003). "Clinicopathological findings in five cats with paw calcification." J Feline Med Surg **5**: 11-17.
- Beyea, A., C. Block and A. Schned (2007). "Acute phosphate nephropathy following oral sodium phosphate solution to cleanse the bowel for colonoscopy." American journal of kidney diseases **50**(1): 151-154.
- Bidani, A. K. and K. A. Griffin (2002). "Long-term renal consequences of hypertension for normal and diseased kidneys." Current Opinion in Nephrology and Hypertension **11**(1): 73-80.
- Block, G. A., T. E. Hulbert-Shearon, N. W. Levin and F. K. Port (1998). "Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study." Am J Kidney Dis **31**(4): 607-617.
- Block, G. A. and F. K. Port (2000). "Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: Recommendations for a change in management." American Journal of Kidney Diseases **35**(6): 1226-1237.
- Boaz, M. and S. Smetana (1996). "Regression equation predicts dietary phosphorus intake from estimate of dietary protein intake." J Am Diet Assoc **96**(12): 1268-1270.
- Böswald, L., B. Dobenecker, M. Clauss and E. Kienzle (2018). "A comparative meta-analysis on the relationship of faecal calcium and phosphorus excretion in mammals." Journal of animal physiology and animal nutrition **102**(2): 370-379.



- Böswald, L., S. Herbst and B. Dobenecker (2020). Correlation between faecal calcium and phosphorus excretion in adult dogs fed high phosphorus diets.
- Boyd, L. M., C. Langston, K. Thompson, K. Zivin and M. Imanishi (2008). "Survival in Cats with Naturally Occurring Chronic Kidney Disease (2000–2002)." Journal of Veterinary Internal Medicine **22**(5): 1111-1117.
- Brazy, P. C., W. W. Stead and J. F. Fitzwilliam (1989). "Progression of renal insufficiency: Role of blood pressure." Kidney International **35**(2): 670-674.
- Brouillard, A. M., E. Deych, C. Canter and M. W. Rich (2020). "Trends in Sodium Intake in Children and Adolescents in the US and the Impact of US Department of Agriculture Guidelines: NHANES 2003-2016." The Journal of Pediatrics **225**: 117-123.
- Brown, C. A., J. Elliott, C. W. Schmiedt and S. A. Brown (2016). "Chronic Kidney Disease in Aged Cats: Clinical Features, Morphology, and Proposed Pathogeneses." Vet Pathol **53**(2): 309-326.
- Brown, R. G. (1988). "Making pet foods." Can Vet J **29**(5): 465-468.
- Brunetto, M. A., R. V. A. Zafalon, F. A. Teixeira, T. H. A. Vendramini, M. F. Rentas, V. Pedrinelli, L. W. Risolia and H. T. Macedo (2019). "Phosphorus and sodium contents in commercial wet foods for dogs and cats." Veterinary Medicine and Science **5**(4): 494-499.
- Burke, M. and L. Nelles (2018). Pet food palatability with antimicrobial properties based on organic acids, Google Patents.
- Burros, M. (2006). "The customer wants a juicy steak? Just add water." New York Times.

- Calvo, M., J. Anderson, S. Garner and P. Klemmer (2011). "Inorganic phosphorus: do higher dietary levels affect phosphorus homeostasis and bone?" Diet, nutrition and bone. UNC-Chapel Hill, NC: Taylor and Francis (CRC Logo): 141-156.
- Calvo, M. S., E. K. Dunford and J. Uribarri (2023). "Industrial Use of Phosphate Food Additives: A Mechanism Linking Ultra-Processed Food Intake to Cardiorenal Disease Risk?" Nutrients **15**(16): 3510.
- Calvo, M. S. and Y. K. Park (1996). "Changing phosphorus content of the US diet: potential for adverse effects on bone." The Journal of nutrition **126**(suppl\_4): 1168S-1180S.
- Calvo, M. S. and K. L. Tucker (2013). "Is phosphorus intake that exceeds dietary requirements a risk factor in bone health?" Annals of the New York Academy of Sciences **1301**(1): 29-35.
- Calvo, M. S. and J. Uribarri (2013). "Contributions to Total Phosphorus Intake: All Sources Considered." Seminars in Dialysis **26**(1): 54-61.
- Campbell, S. (2004). "Dietary reference intakes: water, potassium, sodium, chloride, and sulfate." Clinical Nutrition Insight **30**(6): 1-4.
- Chakrabarti, S., H. M. Syme and J. Elliott (2012). "Clinicopathological variables predicting progression of azotemia in cats with chronic kidney disease." J Vet Intern Med **26**(2): 275-281.
- Chang, W. X., N. Xu, T. Kumagai, T. Shiraishi, T. Kikuyama, H. Omizo, K. Sakai, S. Arai, Y. Tamura and T. Ota (2016). "The impact of normal range of serum phosphorus on the incidence of end-stage renal disease by a propensity score analysis." PLoS one **11**(4): e0154469.

- Chemineau, A. (2007). "Phosphoric acid impacts palatability of cat food.", from <https://www.petfoodindustry.com/articles/608-phosphoric-acid-impacts-palatability-of-cat-food>.
- Chen, H., A. Dunaevich, N. Apfelbaum, S. Kuzi, M. Mazaki-Tovi, I. Aroch and G. Segev (2020). "Acute on chronic kidney disease in cats: Etiology, clinical and clinicopathologic findings, prognostic markers, and outcome." Journal of veterinary internal medicine **34**(4): 1496-1506.
- Chetboul, V., B. S. Reynolds, E. Trehou-Sechi, P. Nguyen, D. Concordet, C. C. Sampedrano, I. Testault, J. Elliott, J. Abadie, V. Biourge and H. P. Lefebvre (2014). "Cardiovascular effects of dietary salt intake in aged healthy cats: a 2-year prospective randomized, blinded, and controlled study." PLoS One **9**(6): e97862.
- Coltherd, J. C., R. Staunton, A. Colyer, G. Thomas, M. Gilham, D. W. Logan, R. Butterwick and P. Watson (2019). "Not all forms of dietary phosphorus are equal: an evaluation of postprandial phosphorus concentrations in the plasma of the cat." Br J Nutr **121**(3): 270-284.
- Cutrignelli, M. I., S. Calabro, F. Bovera, R. Tudisco, S. D'Urso and V. Piccolo (2005). Investigation of pet food management in Campania (Southern Italy). 9th Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition.
- Davies, M., R. Alborough, L. Jones, C. Davis, C. Williams and D. S. Gardner (2017). "Mineral analysis of complete dog and cat foods in the UK and compliance with European guidelines." Sci Rep **7**(1): 17107.
- de Borst, M. H., M. G. Vervloet, P. M. ter Wee and G. Navis (2011). "Cross Talk Between the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Vitamin D-FGF-23-klotho in Chronic Kidney Disease." Journal of the American Society of Nephrology **22**(9): 1603-1609.

- DeMan, J., M. Jiohn and P. Melnychyn (1970). Phosphates in Food Processing: Symposium. Ontario, Avi Pub Co, Westport.
- Demmel, A. (2011). Der Einfluss der alimentären Phosphorversorgung auf ausgewählte Nierenfunktionsparameter bei Katzen. L. Chair of Animal Nutrition and Dietetics.
- Dhingra, R., P. Gona, E. J. Benjamin, T. J. Wang, J. Aragam, R. B. D'Agostino Sr, W. B. Kannel and R. S. Vasan (2010). "Relations of serum phosphorus levels to echocardiographic left ventricular mass and incidence of heart failure in the community." European journal of heart failure **12**(8): 812-818.
- Doan, P. M., N. Ange and S. Patrick (2015). "Production of Sodium Dihydrogen Phosphate Using Sodium Chloride and Orthophosphoric Acid." Industrial & Engineering Chemistry Research **54**(50): 12467-12473.
- Dobenecker, B. (2021). "Phosphate intake with complete food and diets for chronic kidney disease available on the German market." Tierärztliche Praxis Kleintiere Heimtiere **49**(04): 247-254.
- Dobenecker, B. (2021a). "Phosphataufnahme durch auf dem deutschen Markt befindliche Alleinfutter und Nierendiäten für Hunde und Katzen." Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere/Heimtiere **49**(04): 247-254.
- Dobenecker, B. (2023). Nutritional Management of Renal Disease., Elsevier Health Science.
- Dobenecker, B. and S. Herbst (2021b). "Effects of dietary phosphates from organic and inorganic sources on parameters of phosphorus homeostasis in healthy adult dogs." PLOS ONE **16**(2): e0246950.
- Dobenecker, B., P. Hertel-Bohnke, A. Webel and E. Kienzle (2018). "Renal phosphorus excretion in adult healthy cats after the intake of high phosphorus diets with either

- calcium monophosphate or sodium monophosphate." J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) **102**(6): 1759-1765.
- Dobenecker, B., A. Hinrichs, A. Blutke, B. Kessler, M. Altweck and C. Pankratz (2021c). Dietary sodium and potassium phosphate causes significant adverse effects on kidneys of fattening pigs.
- Dobenecker, B., E. Kienzle and S. Siedler (2021d). "The Source Matters-Effects of High Phosphate Intake from Eight Different Sources in Dogs." Animals **11**(12): 3456.
- Dobenecker, B. and C. Schaschl (2018b). Phosphorus source affects renal phosphorus excretion after excessive intake of phosphorus in adult cats. ESVCN, Munich.
- Dobenecker, B., C. Schaschl, A. Webel and E. Kienzle (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**: 67.
- Dobenecker, B., A. Webel, S. Reese and E. Kienzle (2018c). "Effect of a high phosphorus diet on indicators of renal health in cats." J Feline Med Surg **20**(4): 339-343.
- Eddington, H., R. Hoefield, S. Sinha, C. Chrysochou, B. Lane, R. N. Foley, J. Hegarty, J. New, D. J. O'Donoghue and R. J. Middleton (2010). "Serum phosphate and mortality in patients with chronic kidney disease." Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN **5**(12): 2251.
- Eeckhout, W. and M. De Paepe (1994). "Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs." Animal Feed Science and Technology **47**(1): 19-29.
- Erben, R. G. (2016). "Update on FGF23 and Klotho signaling." Mol Cell Endocrinol **432**: 56-65.

- Erben, R. G. (2018). "Physiological Actions of Fibroblast Growth Factor-23." Frontiers in Endocrinology **9**(267).
- Erben, R. G. and O. Andrukhova (2017). "FGF23-Klotho signaling axis in the kidney." Bone **100**: 62-68.
- Europäische Kommission (2003). VERORDNUNG (EG) Nr. 1831/2003 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung.
- Europäische Kommission (2008). VERORDNUNG (EG) Nr. 429/2008 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich der Erstellung und Vorlage von Anträgen sowie der Bewertung und Zulassung von Futtermittelzusatzstoffen.
- Europäische Kommission (2008). VERORDNUNG (EG) Nr. 1331/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES über ein einheitliches Zulassungsverfahren für Lebensmittelzusatzstoffe, -enzyme und -aromen.
- Europäische Kommission (2011). VERORDNUNG (EU) Nr. 234/2011 DER KOMMISSION vom 10. März 2011 zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 1331/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates über ein einheitliches Zulassungsverfahren für Lebensmittelzusatzstoffe, -enzyme und -aromen.
- Europäische Kommission (2011). VERORDNUNG (EU) Nr. 1169/2011 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES betreffend die Information der Verbraucher über Lebensmittel und zur Änderung der Verordnungen (EG) Nr. 1924/2006 und (EG) Nr. 1925/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates und zur Aufhebung der Richtlinie 87/250/EWG der Kommission, der Richtlinie 90/496/EWG des Rates, der Richtlinie 1999/10/EG der Kommission, der Richtlinie 2000/13/EG des Europäischen Parlaments und des Rates, der Richtlinien 2002/67/EG und 2008/5/EG der Kommission und der Verordnung (EG) Nr. 608/2004 der Kommission.

Faul, C., A. P. Amaral, B. Oskouei, M.-C. Hu, A. Sloan, T. Isakova, O. M. Gutiérrez, R. Aguillon-Prada, J. Lincoln, J. M. Hare, P. Mundel, A. Morales, J. Scialla, M. Fischer, E. Z. Soliman, J. Chen, A. S. Go, S. E. Rosas, L. Nessel, R. R. Townsend, H. I. Feldman, M. St. John Sutton, A. Ojo, C. Gadegebeku, G. S. Di Marco, S. Reuter, D. Kentrup, K. Tiemann, M. Brand, J. A. Hill, O. W. Moe, M. Kuro-o, J. W. Kusek, M. G. Keane and M. Wolf (2011). "FGF23 induces left ventricular hypertrophy." The Journal of Clinical Investigation **121**(11): 4393-4408.

FDA. (2023). "Select Committee on GRAS Substances." from <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/?set=SCOGS&sort=Sortsubstance&order=ASC&startrow=1&type=basic&search=phosphor>.

FEDIAF, E. P. F. I. F. (2022). "Nutritional Guidelines For Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs".

Ferasin, L., C. Sturgess, M. Cannon, S. M. Caney, T. J. Gruffydd-Jones and P. R. Wotton (2003). "Feline idiopathic cardiomyopathy: a retrospective study of 106 cats (1994–2001)." Journal of feline medicine and surgery **5**(3): 151-159.

Ferguson, J. F., L. A. Aden, N. R. Barbaro, J. P. Van Beusecum, L. Xiao, A. J. Simmons, C. Warden, L. Pasic, L. E. Himmel, M. K. Washington, F. L. Revetta, S. Zhao, S. Kumaresan, M. B. Scholz, Z. Tang, G. Chen, M. P. Reilly and A. Kirabo (2019). "High dietary salt-induced dendritic cell activation underlies microbial dysbiosis-associated hypertension." JCI insight **5**(13): e126241.

Fernando, G.-R., R.-M. Martha and R. Evangelina (1999). "Consumption of soft drinks with phosphoric acid as a risk factor for the development of hypocalcemia in postmenopausal women." Journal of clinical epidemiology **52**(10): 1007-1010.

Finco, D. R., J. A. Barsanti and S. A. Brown (1989). "Influence of dietary source of phosphorus on fecal and urinary excretion of phosphorus and other minerals by male cats." Am J Vet Res **50**(2): 263-266.

- Fliser, D., B. Kollerits, U. Neyer, D. P. Ankerst, K. Lhotta, A. Lingenhel, E. Ritz and F. Kronenberg (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**(9): 2600-2608.
- Foley, R. N., A. J. Collins, C. A. Herzog, A. Ishani and P. A. Kalra (2009). "Serum phosphorus levels associate with coronary atherosclerosis in young adults." Journal of the American Society of Nephrology: JASN **20**(2): 397.
- Fulgoni, K. and V. L. Fulgoni III (2021). "Trends in total, added, and natural phosphorus intake in adult Americans, NHANES 1988–1994 to NHANES 2015–2016." Nutrients **13**(7): 2249.
- García-Contreras, F., R. Paniagua, M. Avila-Díaz, L. Cabrera-Muñoz, I. Martínez-Muñiz, E. Foyo-Niembro and D. Amato (2000). "Cola beverage consumption induces bone mineralization reduction in ovariectomized rats." Archives of Medical Research **31**(4): 360-365.
- Gattineni, J., C. Bates, K. Twombly, V. Dwarakanath, M. L. Robinson, R. Goetz, M. Mohammadi and M. Baum (2009). "FGF23 decreases renal NaPi-2a and NaPi-2c expression and induces hypophosphatemia in vivo predominantly via FGF receptor 1." American Journal of Physiology-Renal Physiology **297**(2): F282-F291.
- Ghosh, A. K. and S. R. Joshi (2008). "Disorders of calcium, phosphorus and magnesium metabolism." J Assoc Physicians India **56**: 613-621.
- Gierhart, D. L. and W. C. Hogan (1993). Flavor composition for pet food, Google Patents.
- Gravesen, E., M. L. Mace, J. Hofman-Bang, K. Olgaard and E. Lewin (2014). "Circulating FGF23 levels in response to acute changes in plasma Ca<sup>2+</sup>." Calcified tissue international **95**: 46-53.



- 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 **5**(9): 1710-1716.
- Hamar, D. (1976). "Effect of sodium chloride in prevention of experimentally produced phosphate uroliths in male cats." J. Ame. Ani. Hos. Asso. **12**: 514-517.
- Hardcastle, M. R. and K. E. Dittmer (2015). "Fibroblast Growth Factor 23: A New Dimension to Diseases of Calcium-Phosphorus Metabolism." Vet Pathol **52**(5): 770-784.
- Haut, L. L., A. C. Alfrey, S. Guggenheim, B. Buddington and N. Schrier (1980). "Renal toxicity of phosphate in rats." Kidney International **17**(6): 722-731.
- Havelange, S., N. Van Lierde, A. Germeau, E. Martins, T. Theys, M. Sonveaux, C. Toussaint, K. Schrödter, G. Bettermann, T. Staffel, F. Wahl, T. Klein and T. Hofmann (2000). Phosphoric Acid and Phosphates. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry: 1-55.
- Hawthorne, A. J. and P. J. Markwell (2004). "Dietary Sodium Promotes Increased Water Intake and Urine Volume in Cats." The Journal of Nutrition **134**(8): 2128S-2129S.
- Hennet, P., E. Servet, Y. Soulard and V. Biourge (2007). "Effect of pellet food size and polyphosphates in preventing calculus accumulation in dogs." J Vet Dent **24**(4): 236-239.
- Herbst, S. (2021). Einfluss der Fütterung verschiedener Phosphatquellen im Exzess auf ausgewählte Serumparameter beim gesunden, adulten Hund, lmu.
- Herbst, S. and B. Dobenecker (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. Proceedings ESVCN Congress.

- Hertel-Boehnke, P. (2018). Einfluss der Phosphorquelle und des Calcium-Phosphor-Verhältnisses bei Phosphorübersorgung auf Parameter der Nierengesundheit bei der Katze. L. M. Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik. München.
- Hong, S. H., S. J. Park, S. Lee, S. Kim and M. H. Cho (2015). "Biological effects of inorganic phosphate: potential signal of toxicity." J Toxicol Sci **40**(1): 55-69.
- Hu, J.-W., Y. Wang, C. Chu and J.-J. Mu (2018). "Effect of Salt Intervention on Serum Levels of Fibroblast Growth Factor 23 (FGF23) in Chinese Adults: An Intervention Study." Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research **24**: 1948-1954.
- Humalda, J. K., S. M. H. Yeung, J. M. Geleijnse, L. Gijsbers, I. J. Riphagen, E. J. Hoorn, J. I. Rotmans, L. Vogt, G. Navis, S. J. L. Bakker and M. H. de Borst (2020). "Effects of Potassium or Sodium Supplementation on Mineral Homeostasis: A Controlled Dietary Intervention Study." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism **105**(9): e3246-e3256.
- Ibraimi, A. and R. C. Finn (2017). Pet food palatant composition comprising mixed alkali metal pyrophosphates, Google Patents.
- Intersalt Cooperative Research, G. (1988). "Intersalt: An International Study Of Electrolyte Excretion And Blood Pressure. Results For 24 Hour Urinary Sodium And Potassium Excretion." BMJ: British Medical Journal **297**(6644): 319-328.
- Isakova, T., P. Wahl, G. S. Vargas, O. M. Gutiérrez, J. Scialla, H. Xie, D. Appleby, L. Nessel, K. Bellocich, J. Chen, L. Hamm, C. Gadegbeku, E. Horwitz, R. R. Townsend, C. A. M. Anderson, J. P. Lash, C.-y. Hsu, M. B. Leonard, M. Wolf and G. on behalf of the Chronic Renal Insufficiency Cohort Study (2011). "Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease." Kidney International **79**(12): 1370-1378.

- Izquierdo, J. V. and G. L. Czarnecki-Maulden (1991). "Effect of Various Acidifying Agents on Urine pH and Acid-Base Balance in Adult Cats." The Journal of Nutrition **121**(suppl\_11): S89-S90.
- Jackson, H. A. and P. J. Barber (1998). "Resolution of metastatic calcification in the paws of a cat with successful dietary management of renal hyperparathyroidism." J Small Anim Pract **39**(10): 495-497.
- Jenkins, K. and P. Phillips (1960). "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**(2): 241-246.
- Jeroch, H., W. Drochner and O. Simon (2008). Ernährung landwirtschaftlicher nutztiere: Ernährungsphysiologie, füttermittelkunde, fütterung, UTB.
- Jono, S., M. D. McKee, C. E. Murry, A. Shioi, Y. Nishizawa, K. Mori, H. Morii and C. M. Giachelli (2000). "Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification." Circ Res **87**(7): E10-17.
- Kalantar-Zadeh, K., L. Gutekunst, R. Mehrotra, C. P. Kovesdy, R. Bross, C. S. Shinaberger, N. Noori, R. Hirschberg, D. Benner, A. R. Nissenson and J. D. Kopple (2010). "Understanding Sources of Dietary Phosphorus in the Treatment of Patients with Chronic Kidney Disease." Clinical Journal of the American Society of Nephrology **5**(3): 519-530.
- Karp, H. J., K. P. Vaihia, M. U. M. Kärkkäinen, M. J. Niemistö and C. J. E. Lamberg-Allardt (2007). "Acute Effects of Different Phosphorus Sources on Calcium and Bone Metabolism in Young Women: A Whole-Foods Approach." Calcified Tissue International **80**(4): 251-258.

- Kaup, S. M. and J. L. Greger (1990). "Effect of various chloride salts on the utilization of phosphorus, calcium, and magnesium." The Journal of Nutritional Biochemistry **1**(10): 542-548.
- Kazimierska, K., W. Biel and R. Witkowicz (2020). "Mineral Composition of Cereal and Cereal-Free Dry Dog Foods versus Nutritional Guidelines." Molecules **25**(21): 5173.
- Kemi, V. E., M. U. Kärkkäinen, H. J. Rita, M. M. Laaksonen, T. A. Outila and C. J. Lamberg-Allardt (2010). "Low calcium: phosphorus ratio in habitual diets affects serum parathyroid hormone concentration and calcium metabolism in healthy women with adequate calcium intake." British journal of nutrition **103**(4): 561-568.
- Kestenbaum, B., J. N. Sampson, K. D. Rudser, D. J. Patterson, S. L. Seliger, B. Young, D. J. Sherrard and D. L. Andress (2005). "Serum Phosphate Levels and Mortality Risk among People with Chronic Kidney Disease." Journal of the American Society of Nephrology **16**(2).
- Kiefer-Hecker, B., E. Kienzle and B. Dobenecker (2018). "Effects of low phosphorus supply on the availability of calcium and phosphorus, and musculoskeletal development of growing dogs of two different breeds." Journal of animal physiology and animal nutrition **102**(3): 789-798.
- Kirk, C. A., D. E. Jewell and S. R. Lowry (2006). "Effects of sodium chloride on selected parameters in cats." Vet Ther **7**(4): 333-346.
- Klahr, S. (1983). "Nonexcretory Functions of the Kidney." The Kidney and Body Fluids in Health and Disease: 65-90.
- Klassen, P. S., E. G. Lowrie, D. N. Reddan, E. R. DeLong, J. A. Coladonato, L. A. Szczech, J. M. Lazarus and W. F. Owen, Jr. (2002). "Association between pulse pressure and mortality in patients undergoing maintenance hemodialysis." Jama **287**(12): 1548-1555.

- Koizumi, T., K. Murakami, H. Nakayama, T. Kuwahara and Y. Ohnishi (2002). "Role of dietary phosphorus in the progression of renal failure." Biochemical and biophysical research communications **295**(4): 917-921.
- Komaba, H. and M. Fukagawa (2016). "Phosphate—a poison for humans?" Kidney international **90**(4): 753-763.
- Kowalski, Z., R. Kijkowska, D. Pawłowska-Kozińska and Z. Wzorek (2002). "Sodium tripolyphosphate and others condensed sodium phosphates production methods." Pol. J. Chem. Tech **4**(3): 27-33.
- Krajisnik, T., P. Björklund, R. Marsell, O. Ljunggren, G. r. Åkerström, K. B. Jonsson, G. Westin and T. E. Larsson (2007). "Fibroblast growth factor-23 regulates parathyroid hormone and 1 $\alpha$ -hydroxylase expression in cultured bovine parathyroid cells." Journal of Endocrinology **195**(1): 125-131.
- Kurosu, H., Y. Ogawa, M. Miyoshi, M. Yamamoto, A. Nandi, K. P. Rosenblatt, M. G. Baum, S. Schiavi, M.-C. Hu and O. W. Moe (2006). "Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho." Journal of Biological Chemistry **281**(10): 6120-6123.
- Kuwahara, Y., Y. Ohba, K. Kitoh, N. Kuwahara and H. Kitagawa (2006). "Association of laboratory data and death within one month in cats with chronic renal failure." J Small Anim Pract **47**(8): 446-450.
- Laflamme, G. H. and J. Jowsey (1972). "Bone and soft tissue changes with oral phosphate supplements." The Journal of Clinical Investigation **51**(11): 2834-2840.
- Latic, N. and R. G. Erben (2021). "FGF23 and Vitamin D Metabolism." JBMR Plus **5**(12): e10558.
- Lifton, R. P., A. G. Gharavi and D. S. Geller (2001). "Molecular Mechanisms of Human Hypertension." Cell **104**(4): 545-556.

- Lineva, A., R. Kirchner, E. Kienzle, J. Kamphues and B. Dobenecker (2019). "A pilot study on in vitro solubility of phosphorus from mineral sources, feed ingredients and compound feed for pigs, poultry, dogs and cats." J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) **103**(1): 317-323.
- Lippi, I., G. Guidi, V. Marchetti, R. Tognetti and V. Meucci (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**(10): 1135-1140.
- Lucero, M. C., F. J. Duque, M. Gil, P. Ruiz, B. Macías-García, J. I. Cristóbal, C. Zaragoza and R. Barrera (2019). "A plasma calcium-phosphorus product can be used to predict the lifespan of dogs with chronic kidney disease." Can Vet J **60**(12): 1319-1325.
- Luckschander, N., C. Iben, G. Hosgood, C. Gabler and V. Biourge (2004). "Dietary NaCl does not affect blood pressure in healthy cats." J Vet Intern Med **18**(4): 463-467.
- Luckschander, N., C. Iben, G. Hosgood, C. Gabler and V. Biourge (2004). "Dietary NaCl Does Not Affect Blood Pressure in Healthy Cats." Journal of Veterinary Internal Medicine **18**(4): 463-467.
- Lv, J.-C. and L.-X. Zhang (2019). Prevalence and Disease Burden of Chronic Kidney Disease. Renal Fibrosis: Mechanisms and Therapies. B.-C. Liu, H.-Y. Lan and L.-L. Lv. Singapore, Springer Singapore: 3-15.
- Mac Way, F., M. Lessard and M.-H. Lafage-Proust (2012). "Pathophysiology of chronic kidney disease-mineral and bone disorder." Joint Bone Spine **79**(6): 544-549.
- Mace, M. L., E. Gravesen, J. Hofman-Bang, K. Olgaard and E. Lewin (2015). "Key role of the kidney in the regulation of fibroblast growth factor 23." Kidney international **88**(6): 1304-1313.

- Mackay, E. M. and J. Oliver (1935). "RENAL DAMAGE FOLLOWING THE INGESTION OF A DIET CONTAINING AN EXCESS OF INORGANIC PHOSPHATE." J Exp Med **61**(3): 319-334.
- Marino, C. L., B. Duncan, X. Lascelles, S. L. Vaden, M. E. Gruen and S. L. Marks (2014). "The prevalence and classification of chronic kidney disease in cats randomly selected within four age groups and in cats recruited for degenerative joint disease studies." J Feline Med Surg **16**(6): 465-472.
- Marino, C. L., B. D. Lascelles, S. L. Vaden, M. E. Gruen and S. L. Marks (2014). "Prevalence and classification of chronic kidney disease in cats randomly selected from four age groups and in cats recruited for degenerative joint disease studies." J Feline Med Surg **16**(6): 465-472.
- Marks, J., G. J. Lee, S. P. Nadaraja, E. S. Debnam and R. J. Unwin (2015). "Experimental and regional variations in Na<sup>+</sup>-dependent and Na<sup>+</sup>-independent phosphate transport along the rat small intestine and colon." Physiol Rep **3**(1).
- Martin, A., V. David and L. D. Quarles (2012). "Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways." Physiological reviews **92**(1): 131-155.
- Matsuzaki, H., T. Kikuchi, Y. Kajita, R. Masuyama, M. Uehara, S. Goto and K. Suzuki (1999). "Comparison of various phosphate salts as the dietary phosphorus source on nephrocalcinosis and kidney function in rats." J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) **45**(5): 595-608.
- Mattes, R. D. and D. Donnelly (1991). "Relative contributions of dietary sodium sources." J Am Coll Nutr **10**(4): 383-393.
- Mazzaferro, S., N. de Martini, J. Cannata-Andía, M. Cozzolino, P. Messa, S. Rotondi, L. Tartaglione, M. Pasquali and E.-E. C.-M. W. Group† (2021). "Focus on the possible

- role of dietary sodium, potassium, phosphate, magnesium, and calcium on CKD progression." Journal of Clinical Medicine **10**(5): 958.
- Mente, A., M. J. O'Donnell, S. Rangarajan, M. J. McQueen, P. Poirier, A. Wielgosz, H. Morrison, W. Li, X. Wang, C. Di, P. Mony, A. Devanath, A. Rosengren, A. Oguz, K. Zatonska, A. H. Yusufali, P. Lopez-Jaramillo, A. Avezum, N. Ismail, F. Lanas, T. Puoane, R. Diaz, R. Kelishadi, R. Iqbal, R. Yusuf, J. Chifamba, R. Khatib, K. Teo and S. Yusuf (2014). "Association of Urinary Sodium and Potassium Excretion with Blood Pressure." New England Journal of Medicine **371**(7): 601-611.
- Metz, J. A., J. Anderson and P. N. Gallagher Jr (1993). "Intakes of calcium, phosphorus, and protein, and physical-activity level are related to radial bone mass in young adult women." The American journal of clinical nutrition **58**(4): 537-542.
- Molins, R. (2018). Phosphates in food, Routledge.
- Moulin, B. and T. Ponchon (2018). "A comparative review of use of sulphate and phosphate salts for colonoscopy preparations and their potential for nephrotoxicity." Endoscopy International Open **6**(10): E1206-E1213.
- Murphy-Gutenkunst, L. and J. Uribarri (2005). "Hidden phosphorus—enhanced meats." J Ren Nutr **15**: E1-4.
- National Research Council, N. (2006). "Nutrient Requirements of Dogs and Cats." National Academic Press., Washington, DC.
- Neves, K. R., F. G. Graciolli, L. M. Dos Reis, C. A. Pasqualucci, R. M. A. MoysÉS and V. Jorgetti (2004). "Adverse effects of hyperphosphatemia on myocardial hypertrophy, renal function, and bone in rats with renal failure." Kidney International **66**(6): 2237-2244.



- Noori, N., J. J. Sims, J. D. Kopple, A. Shah, S. Colman, C. S. Shinaberger, R. Bross, R. Mehrotra, C. P. Kovesdy and K. Kalantar-Zadeh (2010). "Organic and inorganic dietary phosphorus and its management in chronic kidney disease." *Iran J Kidney Dis* **4**(2): 89-100.
- Normenkommission, f. E. (2023). Positivliste für Einzelfuttermittel, Zentralaussschuss der Deutschen Landwirtschaft, Normenkommission für Einzelfuttermittel. **15**.
- Olauson, H., M. G. Vervloet, M. Cozzolino, Z. A. Massy, P. U. Torres and T. E. Larsson (2014). *New insights into the FGF23-Klotho axis*. Seminars in nephrology, Elsevier.
- Osuka, S. and M. S. Razzaque (2012). "Can features of phosphate toxicity appear in normophosphatemia?" *Journal of bone and mineral metabolism* **30**: 10-18.
- Palmadottir, V. (2010). "Sodium phosphate Nephrotoxicity: 15 case reports." *Reactions* **1332**: 18.
- Pastoor, F. J. (1993). "Interactions of dietary minerals in the cat." *Doctoral Thesis, University of Utrecht, Netherlands*.
- Pereira, A. M., E. Pinto, E. Matos, F. Castanheira, A. A. Almeida, C. S. Baptista, M. A. Segundo, A. J. M. Fonseca and A. R. J. Cabrita (2018). "Mineral Composition of Dry Dog Foods: Impact on Nutrition and Potential Toxicity." *J Agric Food Chem* **66**(29): 7822-7830.
- Pessinger, C. (1996). *Untersuchungen zum Phosphor-Bedarf adulter Katzen*, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Pinto, A., F. Saad, C. Leite, A. Aquino, M. Alves and D. Pereira (2008). "Sodium tripolyphosphate and sodium hexametaphosphate in preventing dental calculus accumulation in dogs." *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* **60**: 1426-1431.

- Prata, J. C. (2022). "Survey of Pet Owner Attitudes on Diet Choices and Feeding Practices for Their Pets in Portugal." Animals **12**(20): 2775.
- Razzaque, M. S. (2011). "Phosphate toxicity: new insights into an old problem." Clinical science **120**(3): 91-97.
- Rebholz, C. M., M. E. Grams, J. Coresh, E. Selvin, L. A. Inker, A. S. Levey, P. L. Kimmel, R. S. Vasan, J. H. Eckfeldt and H. I. Feldman (2015). "Serum fibroblast growth factor-23 is associated with incident kidney disease." Journal of the American Society of Nephrology: JASN **26**(1): 192.
- Ritz, E., K. Hahn, M. Ketteler, M. K. Kuhlmann and J. Mann (2012). "Phosphate additives in food--a health risk." Dtsch Arztebl Int **109**(4): 49-55.
- Rodríguez-Ortiz, M. E., I. Lopez, J. R. Muñoz-Castañeda, J. M. Martínez-Moreno, A. P. Ramírez, C. Pineda, A. Canalejo, P. Jaeger, E. Aguilera-Tejero, M. Rodríguez, A. Felsenfeld and Y. Almaden (2012). "Calcium deficiency reduces circulating levels of FGF23." J Am Soc Nephrol **23**(7): 1190-1197.
- Samant, S. S., P. G. Crandall, S. E. Jarma Arroyo and H.-S. Seo (2021). "Dry Pet Food Flavor Enhancers and Their Impact on Palatability: A Review." Foods **10**(11): 2599.
- Santamaría, R., J. M. Díaz-Tocados, M. V. Pendón-Ruiz de Mier, A. Robles, M. D. Salmerón-Rodríguez, E. Ruiz, N. Vergara, E. Aguilera-Tejero, A. Raya, R. Ortega, A. Felsenfeld, J. R. Muñoz-Castañeda, A. Martín-Malo, P. Aljama and M. Rodríguez (2018). "Increased Phosphaturia Accelerates The Decline in Renal Function: A Search for Mechanisms." Scientific Reports **8**(1): 13701.
- Sarafidis, P. A., S. Li, S.-C. Chen, A. J. Collins, W. W. Brown, M. J. Klag and G. L. Bakris (2008). "Hypertension Awareness, Treatment, and Control in Chronic Kidney Disease." The American Journal of Medicine **121**(4): 332-340.

- Sasaki, S., M. Koike, K. Tanifuji, M. Uga, K. Kawahara, A. Komiya, M. Miura, Y. Harada, Y. Hamaguchi, S. Sasaki, Y. Shiozaki, I. Kaneko, K. I. Miyamoto and H. Segawa (2022). "Dietary polyphosphate has a greater effect on renal damage and FGF23 secretion than dietary monophosphate." J Med Invest **69**(3.4): 173-179.
- Schaafsma, G. and R. Visser (1980). "Nutritional interrelationships between calcium, phosphorus and lactose in rats." The Journal of Nutrition **110**(6): 1101-1111.
- Schleicher, M., S. B. Cash and L. M. Freeman (2019). "Determinants of pet food purchasing decisions." Can Vet J **60**(6): 644-650.
- Schnedl, C., A. Fahrleitner-Pammer, P. Pietschmann and K. Amrein (2015). "FGF23 in Acute and Chronic Illness." Disease Markers **2015**: 358086.
- Schneider, P., G. Pappritz, R. Müller-Peddinghaus, M. Bauer, H. Lehmann, H. Ueberberg and G. Trautwein (1980). "Potassium hydrogen phosphate induced nephropathy in the dog. I. Pathogenesis of tubular atrophy " Vet Pathol **17**(6): 699-719.
- Segura, J., C. Campo, P. Gil, C. Roldán, L. Vigil, J. L. Rodicio and L. M. Ruilope (2004). "Development Of Chronic Kidney Disease and Cardiovascular Prognosis in Essential Hypertensive Patients." Journal of the American Society of Nephrology **15**(6): 1616-1622.
- Shalhoub, V., E. M. Shatzen, S. C. Ward, J. Davis, J. Stevens, V. Bi, L. Renshaw, N. Hawkins, W. Wang and C. Chen (2012). "FGF23 neutralization improves chronic kidney disease-associated hyperparathyroidism yet increases mortality." The Journal of clinical investigation **122**(7): 2543-2553.
- Sherman, R. A. and O. Mehta (2009). "Phosphorus and potassium content of enhanced meat and poultry products: implications for patients who receive dialysis." Clin J Am Soc Nephrol **4**(8): 1370-1373.

- Shimada, T., H. Hasegawa, Y. Yamazaki, T. Muto, R. Hino, Y. Takeuchi, T. Fujita, K. Nakahara, S. Fukumoto and T. Yamashita (2004). "FGF-23 Is a Potent Regulator of Vitamin D Metabolism and Phosphate Homeostasis." Journal of Bone and Mineral Research **19**(3): 429-435.
- Shimada, T., Y. Yamazaki, M. Takahashi, H. Hasegawa, I. Urakawa, T. Oshima, K. Ono, M. Kakitani, K. Tomizuka and T. Fujita (2005). "Vitamin D receptor-independent FGF23 actions in regulating phosphate and vitamin D metabolism." American Journal of Physiology-Renal Physiology **289**(5): F1088-F1095.
- Shults, G. W., D. R. Russell and E. Wierbicki (1972). "Effect of Condensed Phosphates on pH, Swelling and Water-Holding Capacity Of Beef." Journal of Food Science **37**(6): 860-864.
- Sim, J. J., S. K. Bhandari, N. Smith, J. Chung, I. L. A. Liu, S. J. Jacobsen and K. Kalantar-Zadeh (2013). "Phosphorus and risk of renal failure in subjects with normal renal function." The American journal of medicine **126**(4): 311-318.
- Skrypnik, K. and J. Suliburska (2018). "Association between the gut microbiota and mineral metabolism." Journal of the Science of Food and Agriculture **98**(7): 2449-2460.
- Soares, J. H. (1995). 12 - Phosphorus bioavailability. Bioavailability of Nutrients for Animals. C. B. Ammerman, D. H. Baker and A. J. Lewis. San Diego, Academic Press: 257-294.
- Spears, J. K., C. M. Grieshop and G. C. Fahey, Jr. (2003). "Evaluation of sodium bisulphate and phosphoric acid as urine acidifiers for cats." Arch Tierernahr **57**(5): 389-398.
- Spichtig, D., H. Zhang, N. Mohebbi, I. Pavik, K. Petzold, G. Stange, L. Saleh, I. Edenhofer, S. Segerer, J. Biber, P. Jaeger, A. L. Serra and C. A. Wagner (2014).

- "Renal expression of FGF23 and peripheral resistance to elevated FGF23 in rodent models of polycystic kidney disease." Kidney International **85**(6): 1340-1350.
- Stubbs, J. R., S. Liu, W. Tang, J. Zhou, Y. Wang, X. Yao and L. D. Quarles (2007). "Role of hyperphosphatemia and 1, 25-dihydroxyvitamin D in vascular calcification and mortality in fibroblastic growth factor 23 null mice." Journal of the American Society of Nephrology **18**(7): 2116-2124.
- Summers, S. C., J. Stockman, J. A. Larsen, L. Zhang and A. S. Rodriguez (2020). "Evaluation of phosphorus, calcium, and magnesium content in commercially available foods formulated for healthy cats." Journal of Veterinary Internal Medicine **34**(1): 266-273.
- Sun, Y., X. Li, Y. Deng, J. N. Sun, D. Tao, H. Chen, Q. Hu, R. Liu, W. Liu, X. Feng, J. Wang, M. Carvell and A. Joiner (2014). "Mode of action studies on the formation of enamel minerals from a novel toothpaste containing calcium silicate and sodium phosphate salts." Journal of Dentistry **42**: S30-S38.
- Tonelli, M., G. Curhan, M. Pfeffer, F. Sacks, R. Thadhani, M. L. Melamed, N. Wiebe and P. Muntner (2009). "Relation Between Alkaline Phosphatase, Serum Phosphate, and All-Cause or Cardiovascular Mortality." Circulation **120**(18): 1784-1792.
- Trumbo, P., A. A. Yates, S. Schlicker and M. Poos (2001). "Dietary reference intakes." Journal of the American Dietetic Association **101**(3): 294-294.
- Uribarri, J. and M. S. Calvo (2003). Hidden sources of phosphorus in the typical American diet: does it matter in nephrology? Seminars in dialysis, Wiley Online Library.
- Vinassa, M., D. Vergnano, E. Valle, M. Giribaldi, J. Nery, L. Prola, D. Bergero and A. Schiavone (2020). "Profiling Italian cat and dog owners' perceptions of pet food quality traits." BMC Veterinary Research **16**(1): 131.

- Vorland, C. J., E. R. Stremke, R. N. Moorthi and K. M. Hill Gallant (2017). "Effects of excessive dietary phosphorus intake on bone health." Current osteoporosis reports **15**: 473-482.
- Wang, H., Y. Yoshiko, R. Yamamoto, T. Minamizaki, K. Kozai, K. Tanne, J. E. Aubin and N. Maeda (2008). "Overexpression of fibroblast growth factor 23 suppresses osteoblast differentiation and matrix mineralization in vitro." Journal of bone and mineral research **23**(6): 939-948.
- Wolf, M. (2010). "Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease." J Am Soc Nephrol **21**(9): 1427-1435.
- Wyshak, G. (2000). "Teenaged girls, carbonated beverage consumption, and bone fractures." Archives of pediatrics & adolescent medicine **154**(6): 610-613.
- Xu, H., S. Dai, K. Zhang, X. Ding, S. Bai, J. Wang, H. Peng and Q. Zeng (2019). "Dietary phosphorus deficiency impaired growth, intestinal digestion and absorption function of meat ducks." Asian-Australas J Anim Sci **32**(12): 1897-1906.
- Yin, Y., C. Huang, X. Wu, T. Li, R. Huang, P. Kang, Q. Hu, W. Chu and X. Kong (2008). "Nutrient digestibility response to graded dietary levels of sodium chloride in weanling pigs." Journal of the Science of Food and Agriculture **88**: 940-944.
- Zhang, B., A. T. Umbach, H. Chen, J. Yan, H. Fakhri, A. Fajol, M. S. Salker, D. Spichtig, A. Daryadel, C. A. Wagner, M. Föllner and F. Lang (2016). "Up-regulation of FGF23 release by aldosterone." Biochemical and Biophysical Research Communications **470**(2): 384-390.

### **8 Danksagung**

In erster Linie möchte ich mich herzlich bei Frau Dr. Britta Dobenecker für die Vergabe des Themas und die fortwährende Unterstützung sowohl während des Versuches, als auch bei allen nachfolgenden Herausforderungen bedanken. Ihr passionierter Forschungseinsatz wird mir stets ein Vorbild sein. Ebenso bedanke ich mich bei Prof. Dr. Ellen Kienzle für die Ermöglichung des Versuchsvorhabens an Ihrem Lehrstuhl. Ein großer Dank geht außerdem an die 11 wunderbaren und geduldigen Katzen, mit denen ich das Vergnügen hatte, zu arbeiten.

Weiterhin danke ich den Tierpflegern und Tierpflegerinnen, insbesondere Steffen Mitschke, Adrian Frille, Gabriele Reder, Maike Bretsch und Antje Döring für ihre zuverlässige Unterstützung und die stets positive Zusammenarbeit.

Ein weiterer Dank gilt dem Laborteam für die Aufbereitung und Analytik unzähliger Proben. Insbesondere Christian Overdiek danke ich für die fachlich kompetente Unterstützung bei der Probenaufarbeitung und der Durchführung von Analysen.

Bei Dr. Sarah Hering (geb. Herbst) möchte ich mich für die Hilfe bei der Organisation des Studienablaufes und der Probennahme bedanken. Ich bedanke mich außerdem herzlich bei meinen Kolleginnen Dr. Christina Pankratz und Marion Schmitz für ihren emotionalen Beistand und fachlichen Input.

Bei meiner lieben Freundin Dr. Veronika Hajek möchte ich mich herzlich für den steten Zuspruch und den persönlichen und fachlichen Austausch bedanken.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, für ihre fortwährende und unerschütterliche Unterstützung in allen erdenklichen Belangen, ohne die diese Arbeit nicht hätte entstehen können.

A special thank you goes to Dr. William Folger who was the first to train me in feline medicine and to spark my interest in chronic kidney disease. I will always appreciate his knowledge and wisdom. I also thank him and his wife Sherry Folger for repeatedly welcoming me into their home with open arms.

I also express my sincerest appreciation to my beloved partner and companion Rodrigo, for supporting and believing in me unconditionally.