

Ergänzende Untersuchungen zum quantitativen intestinalen Calciumstoffwechsel des Hundes

von Celina Alicia Hofmann

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

Ergänzende Untersuchungen zum quantitativen intestinalen
Calciumstoffwechsel des Hundes

von Celina Alicia Hofmann
aus Berlin

München 2025

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

Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik

Arbeit angefertigt unter der Leitung von

Univ.-Prof. Dr. Ellen Kienzle

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

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

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Ellen Kienzle

Korreferent/en: Priv.-Doz. Dr. Karin Weber

Tag der Promotion: 26. Juli 2025

Für Casper

INHALTSVERZEICHNIS

1. Übersichten	3
1.1 Abkürzungsverzeichnis	3
1.2 Abbildungsverzeichnis	6
1.3 Tabellenverzeichnis	7
2. Einleitung	9
3. Literatur	10
3.1 Verteilung und Aufgaben von Calcium im Körper	10
3.2 Steuerung des Calciumspiegels im Blut	11
3.2.1 Parathormon	11
3.2.2 Vitamin D und 1,25-Dihydroxycholecalciferol	13
3.2.3 Calcitonin	15
3.3 Alimentäre Calciumversorgung	16
3.3.1 Calciumbedarf	16
3.3.2 Calciummangel	17
3.4 Calciumabsorption und Calciumverdaulichkeit	18
3.4.1 Calciumabsorption aus dem Verdauungstrakt	18
3.4.2 Absorptionsanpassung an Calciummangelrationen	20
3.4.3 Uniformität der Calciumausscheidung und Abhängigkeit zur Trockensubstanzaufnahme beim Hund	21
4. Publikationen	23
4.1 Publikation 1	23
4.2 Publikation 2	39
5. Weitere Untersuchungen	56
5.1 Material & Methoden	56
5.2 Ergebnisse	60
6. Diskussion	63
6.1 Kritik der Methoden	63
6.1.1 Anzahl und Wahl der Versuchstiere	63
6.1.2 Versuchsaufbau	63
6.1.3 Zusammensetzung der Ration	64
6.1.4 Sammelmethode	65
6.2 Interpretation der Ergebnisse	66
6.2.1 Calciumverdaulichkeit	66
6.2.2 Calcium-Creatinin-Quotient im Urin	68
6.2.3 Faecale und renale Phosphorausscheidung	69
7. Zusammenfassung	71
8. Summary	73

9. Literaturverzeichnis	75
10. Danksagung	84

1. ÜBERSICHTEN

1.1 Abkürzungsverzeichnis

Δ	difference
%	Prozent
&	und
aD	apparent digestibility
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
BW	bodyweight
°C	Grad Celsius
Ca	Calcium
ca.	circa
CaCl ₂	Calciumchlorid
CaCO ₃	Calciumcarbonat
CaHPO ₄	Calciumhydrogenphosphat
Ca ₃ (PO ₄) ₂	Tricalciumphosphat
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Hydroxylapatit
Cl	Chlorid
Crea	Creatinin
DCAB	dietary cation-anion-balance
DM	dry matter
DOI	Digital Object Identifier
et al.	et alii / und andere
etc.	et cetera / und so weiter
EU	European Union
FBI	Foxhound-Boehringer-Ingelheim Hund

1. Übersichten

FEDIAF	European Pet Food Industry Federation
g	Gramm
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
h	Stunde
HI	Versuchsdurchgang mit höherer Trockensubstanzaufnahme
INS	Versuchsdurchgang mit unlöslicher Calcium-Phosphor-Verbindung
IU	Internationale Einheit
JAPAN	Journal of Animal Physiology and Nutrition
K	Kalium
KAB	Kationen-Anionen-Bilanz
kg	Kilogramm
KM	Körpermasse
$KM^{0,75}$	metabolische Körpermasse
l / L	Liter
m ²	Quadratmeter
mg	Milligramm
Mg	Magnesium
MJ	Megajoule
mmol	Millimol
n	Anzahl
N	Basisversuchsdurchgang mit bedarfsdeckender Energiezufuhr
Na	Natrium
NABIC	Versuchsdurchgang mit Natriumhydrogencarbonat-Zulage
NaCl	Natriumchlorid
NACL	Versuchsdurchgang mit Natriumchlorid-Zulage
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat

NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat
NfE	stickstofffreie Extraktstoffe
NRC	National Research Council
pH	pondus hydrogenii / Potenzial des Wasserstoffs
P	Phosphor
PTH	Parathormon
S	Schwefel
SOL	Versuchsdurchgang mit löslichen Calcium- und Phosphorquellen
sV	scheinbare Verdaulichkeit
TS	Trockensubstanz
Vit	Vitamin

1.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Faecale Calciumausscheidung in Abhängigkeit zur Calciumaufnahme bei adulten Hunden (nach Mack et al. 2015; mit Daten aus der Studie in KM statt $KM^{0,75}$)21

Abbildung 2. Beziehungen zwischen faecaler Trockensubstanzausscheidung (g/kg KM/Tag) und faecaler Calciumausscheidung (mg/kg KM/Tag), n=48.....66

- Abbildungen in Publikation 1

Figure 1. Faecal calcium (Ca) excretion vs. faecal dry matter (DM) excretion in eight dogs fed different amounts of DM36

Figure 2. Faecal phosphorus (P) excretion vs. faecal dry matter (DM) excretion in eight dogs fed different amounts of DM37

Figure 3. Faecal phosphorus (P) excretion vs. faecal calcium (Ca) excretion in eight dogs fed different amounts of dry matter38

- Abbildungen in Publikation 2

Figure 1. Regression between faecal Ca-excretion and faecal P-excretion in group (INS ● – ; $y = 0.3755x + 6.5598$, $R^2 = 0.9036$) and group (SOL ○ – ; $y = 0.1211x + 55.423$, $R^2 = 0.3676$).
.....54

1.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Versuchsrationen der Durchgänge NABIC und NACL	57
Tabelle 2. Zusammensetzung der Mineral-Vitamin-Mixe (%) der Durchgänge NABIC und NACL	58
Tabelle 3. Aufnahme, faecale Ausscheidung, scheinbare Verdaulichkeit und Kationen-Anionen-Bilanz der Durchgänge NABIC und NACL.....	60
Tabelle 4. Aufnahme, faecale Ausscheidung, scheinbare Verdaulichkeit von Natrium und Kalium und Kationen-Anionen-Bilanz der Durchgänge N, HI, INS und SOL	61
Tabelle 5. Urinparameter (pH, Creatinin, Calcium und Phosphor) der Versuchsdurchgänge N, HI & NABIC	62

- Tabellen in Publikation 1

Table 1. Composition of the diets fed to eight foxhound crossbred dogs.....	33
Table 2. DM intake, digestibility, and faecal DM excretion.....	34
Table S1. Composition of mineral supplement [% dry matter]	35

- Tabellen in Publikation 2

Table 1. Diet composition and food intake (mean \pm standard deviation) in group insoluble (INS) and soluble (SOL).	50
Table 2. Composition of mineral premix (% dry matter) in group insoluble (INS) and soluble (SOL).	51

Table 3. Intake, apparent digestibility, and faecal excretion of dry matter, calcium and phosphorus, dietary cation-anion-balance (mean \pm standard deviation) in group insoluble (INS) and soluble (SOL).52

Table 4. Urinary pH and concentration of creatinine, calcium, and phosphorus (mean \pm standard deviation) in group insoluble (INS) and soluble (SOL).53

2. EINLEITUNG

Mack et al. (2015) und Böswald et al. (2018) fanden in ihren Metaanalysen bei Hund und Katze eine strenge lineare Beziehung zwischen Calciumaufnahme und faecaler Calciumausscheidung. Sie schlossen daraus, dass die wahre Calciumverdaulichkeit unabhängig von der Menge der Calciumaufnahme beim Fleischfresser relativ konstant ist.

Schmitt et al. (2018) zeigten, dass auch über einen längeren Zeitraum der Fütterung eines calciumarmen Futters keine Adaption der Absorption von Calcium aus dem Darm erfolgt.

Da die Studien von Mack et al. (2015) und Böswald et al. (2018) jedoch noch eine erhebliche Variation der faecalen Ausscheidung von Calcium zeigten, wurde nach weiteren Einflussfaktoren auf die Calciumverdaulichkeit gesucht. Dabei zeigte sich die faecale Trockensubstanzausscheidung als wichtiger Faktor bei Hunden und auch bei Katzen (Kienzle et al. 2006, Kienzle et al. 2017, Prola et al. 2009).

Kienzle et al. (2006) und Prola et al. (2009) erreichten die hohen Trockensubstanzaufnahmen in ihren Rationen durch die Zulage von Faser. Bisher ist unklar, ob der Effekt der Trockensubstanz oder der Faser zuzuordnen ist. Kienzle et al. (2017) verwerteten in ihrem Versuch auch Daten mit Versuchsrationen, die einen hohen Gehalt an Knochenmehl als Calciumquelle enthielten. Es ist daher unklar, ob die beobachteten Effekte auf die Zusammensetzung der Versuchsrationen zurückgehen oder ob der Zusammenhang mit der faecalen Trockensubstanzausscheidung per se besteht.

Wesentliche Ziele der vorliegenden Arbeit waren erstens den Zusammenhang zwischen faecaler Trockensubstanz- und Calciumausscheidung per se zu überprüfen. Dazu wurde eine calciumarme Grundration in zwei verschiedenen Mengen verfüttert, um eine unterschiedliche faecale Trockensubstanzausscheidung ohne Zulage schwerverdaulicher Futtermittel zu erreichen. Es wurde der calciumarmen Ration in beiden Fällen so viel Calcium zugelegt, dass die gleiche Calciumaufnahme erreicht wurde. Zweitens wurden Faktoren wie die Löslichkeit der Calcium- und Phosphorquellen, das Calcium-Phosphor-Verhältnis (innerhalb von 1,3 bis 2,0), die Kationen-Anionen-Bilanz und die Natriumzufuhr geprüft. In diesem Kontext wurde auch der Phosphorstoffwechsel untersucht.

3. LITERATUR

3.1 Verteilung und Aufgaben von Calcium im Körper

Der Calciumgehalt in der wasserfreien Körpermasse des adulten Hundes liegt bei ca. 24 g/kg TS (Stadtfeld 1978). Davon sind 98-99 % im Skelettknochen in Form von Hydroxylapatitkristallen $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ gebunden. Hauptaufgabe des Calciums im Organismus des Hundes ist seine Stützfunktion im Skelett (Meyer & Zentek 2005).

Bei allen Säugetieren dient das Skelett gleichzeitig als einziger dynamischer Speicher für Calcium und ist daher maßgeblich an der Calcium-Homöostase beteiligt (Engelhardt & Breves 2005).

Die verbliebenen 1-2 % des Calciums im Säugetierkörper befinden sich in den Zellen und der Extrazellulärflüssigkeit. Calcium ist hier an zahlreichen biologischen Funktionen beteiligt. Freie Ca^{2+} -Ionen stellen die biologisch aktive Form des Calciums dar und dienen Zellen als Signalgeber u.a. bei Muskelkontraktion, Reizweiterleitung und Zell-Zell-Kommunikation (Clapham 2007).

Im Blutserum klinisch gesunder Hunde liegen 56 % des Gesamtcalciums als freie Ca^{2+} -Ionen vor, 34 % sind an Albumin gebunden und die verbliebenen 10 % liegen komplexgebunden vor (Schenck et al. 1996). Die Bindung an Albumin schützt den Säugetierorganismus vor einer Kristallisation des Calciums zu $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ (Blumenthal et al. 1975). Dennoch ist Blut dauerhaft mit Calcium übersättigt und es strömt einem chemischen Gradienten folgend ständig in den Intrazellularraum ein (Talmage et al. 2000).

3.2 Steuerung des Calciumspiegels im Blut

Aufgrund der maßgeblichen Rolle des Calciums in unzähligen Stoffwechselprozessen ist die Aufrechterhaltung eines stabilen Calciumserumspiegels entgegen dem chemischen Gradienten für den Organismus überlebenswichtig (Rosol & Capen 1997). Der physiologische Blutserumgehalt eines gesunden, adulten Hundes liegt zwischen 2,2 und 2,8 mmol/l (Schäfers 2013). Im Folgenden werden die Hormone und ihre Wirkungen erläutert, die zum Erhalt dieser physiologischen Calciumkonzentration beitragen: Parathormon, 1,25-Dihydroxycholecalciferol und Calcitonin.

3.2.1 Parathormon

In der Grundlagenforschung zu Parathormon (PTH) Anfang bis Mitte des 20. Jahrhunderts war der Hund noch gängiges Versuchstier. Später dienten vor allem Ratten und Mäuse als Modelltiere.

Anfang des 20. Jahrhunderts wurde der Nebenschilddrüse erstmals eine regulierende Funktion des Blutcalciumspiegels zugeschrieben. MacCallum & Voegtlin (1909) beobachteten an Hunden nach vollständiger Parathyreoidektomie einen Abfall des Blutcalciumspiegels und eine Unterbrechung der dem Eingriff folgenden Tetanie durch die Administration von Calcium. Arbeiten von Salvesen (1923) und Collip (1925) konnten diese Beobachtungen bestätigen und es wurde postuliert, dass die Nebenschilddrüse des Hundes ein Hormon (Parathormon, PTH) enthält, das den Blutcalciumspiegel kontrolliert. Bensley (1947) wies nach, dass das auf niedrige Blutcalciumspiegel folgend sezernierte Hormon in den Hauptzellen der Nebenschilddrüse des Hundes gebildet wird. Die canine PTH-codierende DNA wurde erstmals von Rosol et al. (1995) sequenziert.

Schon vor der Sequenzierung von PTH konnten Patt & Luckhardt (1942) in Perfusionsversuchen nachweisen, dass ein niedriger Calciumserumspiegel ein direkter Stimulus für die Nebenschilddrüse zur Sekretion von PTH ist. Der sich auf den Hauptzellen befindliche, extrazelluläre Calciumsensitive Rezeptor, der bei einem Abfall des Blutcalciumspiegels eine PTH-Ausschüttung bewirkt, wurde erstmals von Brown et al. (1993) aus bovinem Gewebe der Nebenschilddrüse kloniert. Auch beim Hund ist die Sequenz des Gens, das den Calciumsensitiven Rezeptor codiert, bekannt (Skelly & Franklin 2007).

Potts et al. (1971) konnten an bovinem PTH nachweisen, dass für die biologische Funktion des aus 84 Aminosäuren bestehenden Polypeptids das Areal der vorderen 34 Aminosäuren entscheidend ist.

PTH führt beim Hund initial zu einem leichten Abfall der Ca^{2+} -Konzentration im Plasma und bewirkt dann einen deutlichen Anstieg von Calcium im Plasma (Parsons et al. 1971). Die Hauptzielorgane von PTH zur Regulierung der Calcium-Homöostase sind Knochen und Niere.

Am Knochen nimmt PTH beim Hund sowohl über katabole als auch anabole Effekte Einfluss auf den Knochenturnover, wie zahlreiche Studien mit Hunden als Modelltieren u.a. für die Osteoporoseforschung zeigten (Parsons & Reit 1974, Malluche et al., 1982, Podbesek et al. 1983, Boyce et al. 1996, Zhang et al. 1997, High et al. 1981). Ob PTH eher zu einer indirekten Aktivierung der Osteoklasten oder zu einem anabolen Effekt auf die Osteoblasten führt, hängt beim Menschen davon ab, ob die PTH-Erhöhung kontinuierlich (katabole Wirkung) oder stoßweise (anabole Wirkung) erfolgt (Kopic & Geibel 2013).

In der Niere des Hundes bewirkt PTH eine gesteigerte Reabsorption von Calcium aus dem distalen Nephron bei gleichzeitig verminderter Reabsorption von Phosphat im proximalen Tubulus, die zur Phosphaturie führt (Agus et al. 1971, Agus et al. 1973, Sutton et al. 1976). Außerdem erhöht PTH in der Niere die Aktivität der 1-alpha-Hydroxylase, was eine vermehrte Synthese von 1,25-Dihydroxycholecalciferol bedingt (Parker et al. 2017).

3.2.2 Vitamin D und 1,25-Dihydroxycholecalciferol

Auch bei der Entdeckung von Vitamin D spielte der Hund als Versuchstier eine Rolle. Im Rahmen der Rachitisforschung löste Mellanby (1919) bei Hunden Rachitis durch getreidereiche Rationen aus und stellte fest, dass sich durch Hinzufügen bestimmter tierischer Fettquellen die Entstehung von Rachitis verhindern ließ, allen voran durch Lebertran. Er schloss, dass es einen anti-rachitischen Faktor in der Nahrung geben musste, möglicherweise Vitamin A. McCollum et al. (1922) gelang an Ratten der Nachweis, dass es sich nicht um eine Vitamin-A-Wirkung handelte, indem sie Vitamin A im Lebertran deaktivierten. Dem so entdeckten, antirachitischen Vitamin, fortan Vitamin D, schrieben sie eine calcium-einlagernde Funktion in den Knochen zu.

Zeitgleich entdeckten Wissenschaftler in Europa (Huldschinsky 1919, Chick 1976, Steenbock et al. 1925, Hess & Weinstock, 1925), dass die Exposition zu Sonne bzw. UV-Licht Rachitis bei Kindern und Ratten heilen konnte.

Das moderne Verständnis des Vitamin-D-Stoffwechsels beruht vor allem auf Untersuchungen an Menschen und Ratten (DeLuca 2014). Auch wenn die bekannten am Vitamin-D-Stoffwechsel beteiligten Enzyme und Metabolite auch in Hunden nachgewiesen werden können, gibt es kaum Untersuchungen zum genauen Vitamin-D-Stoffwechsel an Hunden (Hurst et al. 2020, Dodd et al. 2024). Es gibt Hinweise auf speziesspezifische Detail-Unterschiede im Vitamin-D-Metabolismus, die bisher aber noch unzureichend erforscht sind (Hurst et al. 2020).

Prinzipiell kann aktives Vitamin-D-Hormon (1,25-Dihydroxycholecalciferol) von vielen Säugetierspezies über zwei verschiedene Wege gebildet werden: aus über die Nahrung aufgenommenen Vorstufen oder durch endogene Synthese in der Haut. In der Haut befindliches 7-Dehydrocholesterin kann u.a. von Menschen und Ratten mithilfe von UV-Strahlung zu Prävitamin D₃ umgewandelt werden (Holick et al. 1981). Bei Hund und Katze ist diese Umwandlung in der Haut hingegen insuffizient, daher sind beide Tierarten auf die alimentäre Vitamin-D-Zufuhr angewiesen (How et al. 1994).

Die Vitamin-D-Aufnahme aus der Nahrung kann prinzipiell über Ergocalciferol (Vitamin D₂) aus pflanzlichen Quellen oder über Cholecalciferol (Vitamin D₃) aus tierischen Quellen erfolgen. Katzen können Vitamin D₂ weniger effizient als Vitamin D₃ als Hormonvorstufe nutzen (Morris 2002). Beim Mensch zeigen aus Vitamin D₃ gebildete Metabolite eine aktivere Hormonwirkung als solche, die aus Vitamin D₂ synthetisiert wurden (Trang et al. 1998). Beim Hund ist bisher nicht geklärt, inwieweit sich der Vitamin-D-Stoffwechsel bei aus der Nahrung aufgenommenem Vitamin D₂ und Vitamin D₃ unterscheidet, eine Supplementierung mit Vitamin D₂ in rein pflanzlichen Rationen scheint aber suffizient (Dodd et al. 2024).

Reviews, die Vitamin D beim Hund und anderen Haustieren behandeln (Dittmer & Thompson 2011, Weidner & Verbrugghe 2017, Chacar et al. 2020, Hurst et al. 2020), bedienen sich bezüglich der Synthese von aktivem Vitamin-D-Hormon beim Hund der speziesübergreifenden Mechanismen: Nach der Aufnahme von Vitamin D über die Darmschleimhaut wird es größtenteils an Vitamin-D-bindendes Protein gebunden. In der Leber erfolgt die Hydroxylierung zu 25-Hydroxycholecalciferol durch Cytochrom-P450-Enzyme. Der weitere Weg von 25-Hydroxycholecalciferol hängt vor allem von der Calciumkonzentration im Blut ab: In den proximalen Tubuluszellen der Niere wird aus 25-Hydroxycholecalciferol durch eine zweite Hydroxylierung 1,25-Dihydroxycholecalciferol gebildet, wenn die PTH-Konzentration im Blut infolge eines niedrigen Calciumspiegels hoch ist. 1,25-Dihydroxycholecalciferol ist die hormonell aktivste Form von Vitamin D₃. Über ein negatives Feedback-System inhibiert 1,25-Dihydroxycholecalciferol seine eigene Synthese und fördert gleichzeitig die eigene Katalyse zu anderen Metaboliten. Hohe Calciumkonzentrationen im Blut fördern die Bildung des Metaboliten 24,25-Dihydroxycholecalciferol statt 1,25-Dihydroxycholecalciferol.

Die hormonell aktivste Form von Vitamin D, 1,25-Dihydroxycholecalciferol, reguliert die Calciumhomöostase vor allem an drei Hauptwirkorten: Es regt die aktive Resorption von Calcium und Phosphat aus dem Darm an und wirkt außerdem zusammen mit PTH an Knochen und Niere (Dittmer & Thompson 2010).

Beim Menschen erfolgt die Synthese von 1,25-Dihydroxycholecalciferol nicht nur in der Niere, sondern auch in mindestens 10 anderen Körpergeweben, darunter Haut, Dickdarm, Nebenschilddrüse und Pankreas. Der Vitamin-D-Rezeptor findet sich beim Menschen außerdem neben der Darmschleimhaut in zahlreichen weiteren Geweben, z.B. Fettzellen, Knochen, Gehirn, Nieren etc. Daher werden Vitamin D neben der Aufrechterhaltung der Calciumhomöostase heutzutage auch weitere Aufgaben im Körper zugeordnet, z.B. in der Immunregulation oder im Insulinstoffwechsel (Norman 2008).

3.2.3 Calcitonin

Erst knapp 40 Jahre nach der Entdeckung von PTH postulierten Copp et al. (1962) an hypercalcämischen Hunden ein rasch wirkendes Hormon, das den Blutcalciumspiegel senkt – Calcitonin. Sie ordneten es damals irrtümlich der Nebenschilddrüse zu. Mit Perfusionsversuchen an Ziegen konnten Foster et al. (1964) nachweisen, dass Calcitonin nicht aus der Nebenschilddrüse, sondern aus der Schilddrüse ausgeschüttet wird. Bussolati & Pearse (1967) gelang via Immunfluoreszenz an Schweinen und Hunden der Nachweis, dass Calcitonin aus den C-Zellen der Schilddrüse stammt.

Canines Calcitonin ist ein aus 32 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon (Mol et al. 1991). Es senkt den Calciumspiegel im Blut des Hundes, wenn dieser erhöht ist (Kumar, et al. 1963, Cramer et al. 1969). Hauptzielorgan von Calcitonin ist der Knochen, bei dem es in vitro eine Hemmung der Knochenresorption bewirkt (Aliapoulios et al. 1966). Während Calcitonin bei Ratten und Menschen auch eine vermehrte Calciurie bewirkt, bleibt die Calciumausscheidung über die Niere beim Hund konstant (Clark & Kenny 1969). Tiscornia et al. (1976) postulierten einen inhibitorischen Effekt von Calcitonin auf die Pankreasaktivität beim Hund, da sie postprandial nach hohen oralen Calciumaufnahmen eine veränderte Pankreassekretion beobachteten.

Ob die tierexperimentell nachweisbare hypocalcämische Wirkung des Calcitonins unter physiologischen Bedingungen bei Ratten und Menschen eine Rolle spielen, wurde schon früh nach der Entdeckung Calcitonins infrage gestellt (MacIntyre 1968). Beim Menschen scheint es unter physiologischen Bedingungen keine bedeutende Rolle im Erhalt der Calciumhomöostase zu spielen (Hirsch & Baruch 2003). Beim Fleischfresser, dessen Ernährungsweise sich durch das Fressen ganzer Beutetiere mit großer Calciumanflutung im Wechsel mit langen Fastenintervallen und damit fehlender Calciumaufnahme auszeichnet, wäre eine physiologische Rolle der Wirkmechanismen des Calcitonins jedoch denkbar, um den Organismus vor Hypercalcämie nach Aufnahme großer Mengen Calcium zu schützen (Felsenfeld & Levine 2015).

3.3 Alimentäre Calciumversorgung

3.3.1 Calciumbedarf

Nach faktorieller Ableitung geben die Versorgungsempfehlungen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE) den Erhaltungsbedarf an Calcium beim adulten Hund mit 100 mg/kg KM/Tag an. Das entspricht bei einem 25 kg schweren Hund einer empfohlenen Calciumzufuhr von 2500 mg Calcium pro Tag (GfE 1989). Die Berechnung des Nährstoffbedarfs auf Grundlage der Körpermasse gilt heute jedoch als veraltet. Der Nährstoffbedarf wird beim Hund in moderneren Empfehlungen pro Kilogramm metabolischer Körpermasse angegeben ($KM^{0,75}$).

Das National Research Council (NRC) der Vereinigten Staaten empfiehlt in seinen aktuellen Leitlinien für adulte Hunde eine tägliche Calciumversorgung von 130 mg/kg $KM^{0,75}$ (NRC, 2006). Das entspricht 1453 mg bei einem 25 kg schweren Hund. Diese Empfehlung liegt unter jener der GfE (1989) und könnte den Calciumbedarf adulter Hunde laut neuerer Untersuchungen unterschätzen. Siedler (2018) und Herbst (2021) beobachteten in ihren Arbeiten negative scheinbare Verdaulichkeiten für Calcium nach Verfütterung von Rationen mit nach NRC 2006 bedarfsdeckender Calciumversorgung an Beagles.

Sowohl laut GfE (1989) als auch NRC (2006) liegt der Calciumbedarf eines Hundes deutlich höher als der eines Menschen mit vergleichbarer Körpermasse: Während ein ausgewachsener Hund mit 60 kg pro Tag laut Empfehlungen 6000 mg (GfE 1989) bzw. 2083 mg (NRC 2006) Calcium benötigt, um seinen Erhaltungsbedarf abzudecken, benötigt ein gleichschwerer erwachsener Mensch nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE) lediglich 1000 mg Calcium pro Tag (DGE 2013). Der tägliche Calciumbedarf eines großwüchsigen, ausgewachsenen Hundes ist bei gleichem Körpergewicht also mindestens doppelt so hoch wie der eines ausgewachsenen Menschen.

3.3.2 Calciummangel

Anders als andere Spezies reagieren Hunde, wie auch Katzen und andere Fleischfresser, sehr empfindlich auf eine defizitäre Versorgung mit Calcium. Sowohl ein primärer Calciummangel in der Nahrung als auch ein sekundäres, durch inverses oder sehr weites Calcium-Phosphor-Verhältnis ausgelöstes Defizit führen langfristig selbst beim adulten Hund zu klinischen Mangelerkrankungen. Typischerweise zeigt sich ein sekundärer Hyperparathyreoidismus mit Erweichung der Skelettknochen, beginnend mit dem typischen „Gummikiefer“ („rubber jaw“) im Bereich des Unterkiefers nach mehrmonatiger Unterversorgung mit Calcium (u.a. Krook et al. 1971, Diquélou et al. 2005, De Fornel-Thibaud et al. 2007, Becker et al. 2012).

In der Praxis kann die Übertragung der modernen Ernährungsgewohnheiten des Menschen auf den Hund zur Calciummangelerkrankung führen: In den Industrienationen hat sich die phosphatreiche, calciumarme Ernährung des Menschen mit inversem Calcium-Phosphor-Verhältnis etabliert („Western Diet“, u.a. Calvo et al. 2014). Während Haushunde historisch betrachtet vermutlich vor allem mit knochen- und damit calciumreichen Essensresten des Menschen ernährt wurden, liegt die Zubereitung selbstgekochter Rationen, sowie die Übertragung der eigenen Ernährungsweise auf den Hund als vermeintlich „gesunde“ Alternative zu kommerziellem Alleinfutter in den letzten Jahren im Trend (Dodd et al. 2020).

Ein durchschnittlicher Erwachsener in Deutschland nimmt pro Tag 12 – 17 mg Ca/kg KM/Tag auf, was bei einer 60 kg schweren Person 720 – 1020 mg Calcium pro Tag entspricht (Trautvetter et al. 2018). Eine solche Ernährung führt bei einem gleichschweren Hund längerfristig zwangsläufig zu einem Calciummangel, der sich klinisch als sekundärer Hyperparathyreoidismus manifestiert, wenn kein calciumhaltiges Mineral-Supplement ergänzt wird.

Beim Menschen gilt die Western Diet hingegen auch bei defizitärer Calciumversorgung nicht als Ursache für sekundären Hyperparathyreoidismus oder Spontanfrakturen. Sekundärer Hyperparathyreoidismus ist beim Menschen eine typische Folge der Chronischen Niereninsuffizienz (Cunningham et al. 2011). Spontanfrakturen beim Menschen sind meist Folge von Osteoporose, deren Ursache multifaktoriell ist. Als zum Teil ernährungsbedingter Risikofaktor wird ein niedriger Vitamin-D-Status diskutiert (Clynes et al. 2020).

3.4 Calciumabsorption und Calciumverdaulichkeit

3.4.1 Calciumabsorption aus dem Verdauungstrakt

- Calciumabsorption bei Ratten und Mäusen

Die Annahmen zu den Transportmechanismen der Calciumabsorption beim Säugetier beruhen Großteils auf in vitro Untersuchungen am Verdauungstrakt von Ratten und Mäusen. Unabhängig von seiner Quelle muss Calcium vor seiner Aufnahme im Verdauungstrakt in Lösung gehen, damit es als Ca^{2+} im Darm absorbiert werden kann. Prinzipiell erfolgt die Absorption auf zwei Wegen: aktiv entgegen dem chemischen Gradienten oder passiv via Diffusion. Der aktive Transportweg ist transzellulär und streng Vitamin-D-abhängig, während der passive Transport parazellulär stattfindet (Bronner 1998, Bronner 2003, Bronner & Pansu 1999).

Der aktive Transport von Calcium durch die Darmzellen erfolgt in drei Schritten. Zuerst gelangt Calcium über Transporter und Kanäle durch die Bürstensaummembran ins Cytosol. Dort bindet es an das Vitamin-D-abhängige Calbindin $\text{D}_{9\text{K}}$ und gelangt so an die basolaterale Membran. Hier verlässt es die Zelle unter Energieaufwand mithilfe der Calcium-ATPase sowohl gegen einen chemischen Gradienten als auch gegen den Calciumgradienten (Bronner 2003).

Der passive Transport von Calcium findet über die Tight Junctions des Darmepithels im Fluss des chemischen Gradienten statt. Wieviel Calcium passiv absorbiert wird, hängt von der Löslichkeit der Calciumquelle, der Passagezeit des Chymus durch den Verdauungstrakt und der Durchlässigkeit des Darmepithels für Ca^{2+} -Ionen ab (Bronner 1998).

Während der aktive Transport einer nicht-linearen Funktion entspricht, der mit steigenden Ca^{2+} -Konzentrationen eine Sättigung erfährt, unterliegt der passive Transport keiner Sättigung und lässt sich mit einer linearen Funktion darstellen (Bronner 2003).

Ein Großteil der Gesamtaborption von Calcium im Verdauungstrakt der Ratte findet im Dünndarm statt. Die aktive Absorption erfolgt vor allem in den vorderen Dünndarmabschnitten (Duodenum und proximales Jejunum). Die passive Absorption findet über die gesamte Länge des Dünndarms statt. (Bronner 2003).

Im Colonepithel der Ratte befinden sich nur ca. 7 % des intestinalen Calbindin $\text{D}_{9\text{K}}$ und auch der Anteil der gesamten Calciumabsorption im Dickdarm wird auf unter 10 % geschätzt (Bronner & Pansu 1999).

- Calciumabsorption beim Hund

Die bisherigen Ergebnisse zur Calciumabsorption im caninen Verdauungstrakt sind teils widersprüchlich.

Cramer (1965) beobachtete in Perfusionsversuchen an Hunden mit Duodenal-, Jejunum- und Ileum-Thiery-Vella-Loops, dass ein Großteil des Calciums in Jejunum (38 %) und Ileum (44 %) absorbiert wurde. Ein kleiner Teil (18 %) wurde im Duodenum absorbiert. Der Autor nahm in der Studie an euthanasierten Hunden außerdem Messungen der Calciumgehalte in Dün- und Dickdarm unter Versuchsrationen mit unterschiedlichem Calciumgehalt vor. Dabei maß er unter allen Rationen im gesamten Darm hohe Calciumgehalte, vor allem im vorderen Ileum.

Schedl et al. (1968) banden die Dünndarmabschnitte des Jejunums und Ileums fastender Hunde ab, versahen sie mit Kanülen und spülten sie mit Kochsalzlösung. Die so vorbereiteten Darmsegmente wurden mit Calciumchlorid-Lösung gefüllt und verschlossen. Nach 30 Minuten wurde die Lösung zur Bestimmung des Calciumgehalts wieder entnommen und es entfolgte eine Entnahme der Darmsegmente mit quantitativer Bestimmung der Schleimhautoberfläche. Es zeigte sich eine Nettosekretion von Calcium im Jejunum, die die im proximalen Ileum nachweisbare Nettoabsorption um 50 % überschritt, was dem Verhältnis der Schleimhautoberfläche beider Darmabschnitte entsprach.

Schünemann et al. (1989) machten an ileum- und colofistulierten Hunden mithilfe von Ballonkathetern, die das craniale Colon und das Rektum dicht verschlossen, Perfusionsversuche. Nach Spülung des Darmsegments wurde die Perfusionslösung über den Katheter durch die Fistel eingebracht und über den Katheter im Rektum wieder ausgebracht. Praecaecal überwog die Nettosekretion von Calcium. Erst im Dickdarm kam es zur Absorption von Calcium. Die höchsten Nettoabsorptionen fanden sich im Colon von Hunden mit niedrigen Calciumaufnahmen. Daher wurde ein aktiver, steuerbarer Prozess postuliert.

Nach diesen Ergebnissen bleiben die genauen quantitativen Bewegungen von Calcium in den einzelnen Darmabschnitten zwar unklar, alle drei Arbeiten maßen Nettoabsorptionen aber vor allem in Darmsegmenten, in denen bei Ratten und Mäusen der parazelluläre, passive Transport von Calcium überwiegt (hintere Dünndarmabschnitte, Dickdarm). Neuere Studien (Mack et al. 2015, Böswald et al. 2018) sprechen ebenfalls für eine passive Calciumabsorption beim Hund (s. 3.4.3.).

3.4.2 Absorptionsanpassung an Calciummangelrationen

- Absorptionsanpassung bei Ratten und Mäusen

Ratten und Mäuse können sich an marginale Calciumaufnahmen durch vermehrte Vitamin-D-Sekretion bei niedrigen Calciumserumgehalten anpassen. Vitamin-D-induziert wird die Transkription von Calbindin D_{9k} im Darmepithel gesteigert und so die aktive Aufnahme von Ca aus dem Darmlumen angeregt (Bronner 2003).

- Absorptionsanpassung beim Hund

Nach Studien aus dem 20. Jahrhundert wurde spekuliert, dass auch der Hund die Calciumausbeute aus dem Chymus in Situationen marginaler Versorgung über einen aktiven Transport in hinteren Darmabschnitten verbessern könnte (Gershoff et al. 1958, Schünemann et al. 1989).

Neuere Untersuchungen, ebenso wie die zahllosen Fallberichte (u.a. Diquélou et al. 2005, Becker et al. 2012), sprechen allerdings gegen eine solche Adaptionsfähigkeit des Hundes an Calciummangelsituationen.

So konnten Mack et al. (2015) in einer Metaanalyse zur Calciumaufnahme und faecalen Calciumausscheidung bei Hunden und Katzen keinen Effekt niedriger Calciumaufnahmen auf die Absorptionsrate feststellen. Es zeigte sich vielmehr eine hoch signifikante lineare Beziehung zwischen Calciumaufnahme und faecaler Calciumausscheidung, die wiederum für eine passive, nicht steuerbare Aufnahme spricht. Auch Böswald et al. (2018) fanden in einer speziesvergleichenden Metaanalyse eine starke lineare Korrelation zwischen Calciumaufnahme und faecaler Calciumausscheidung bei Hund und Katze.

Für eine passive Calciumabsorption sprechen auch die Ergebnisse aus einem Fasermodell von Kienzle et al. (2006) und die Ergebnisse von Kienzle et al. (2017), bei denen sich die Trockensubstanzausscheidung als Einflussfaktor auf die faecale Calciumausscheidung zeigte.

Schmitt et al. (2018) fütterten zwölf Hunden über einen Zeitraum von 28 Wochen eine Ration mit marginaler Calciumversorgung und führten vier Bilanzphasen durch. In allen Phasen wiesen die Autoren negative Calciumbilanzen nach und konnten außerdem eine Steigerung der Aktivität von Knochenmarkern im Blut feststellen. Diese Ergebnisse sprechen gegen eine Adaption der Calciumabsorption und legen nahe, dass Hunde zum Ausgleich der defizitären Calciumversorgung vermehrt Calcium aus dem Knochen mobilisieren. Ähnliche Beobachtungen machten schon Dobenecker et al. (2014) an elf adulten Hunden nach Fütterung mit marginaler Calciumversorgung.

3.4.3 Uniformität der Calciumausscheidung und Abhängigkeit zur Trockensubstanzaufnahme beim Hund

In einer Meta-Analyse konnten Mack et al. (2015) zeigen, dass es bei Hund und Katze eine streng lineare Beziehung zwischen Calciumaufnahme und faecaler Calciumausscheidung gibt. Auch Calcium-Phosphor-Verhältnis oder Eiweißquelle zeigten keinen Einfluss auf diese Korrelation. Unabhängig von Rationsgestaltung, Calciumquelle und Rasse fanden die Autoren eine hochsignifikante lineare Beziehung zwischen Calciumaufnahme und faecaler Calciumausscheidung über eine weite Spanne von Versorgungslevels mit Calcium (Abb. 1).

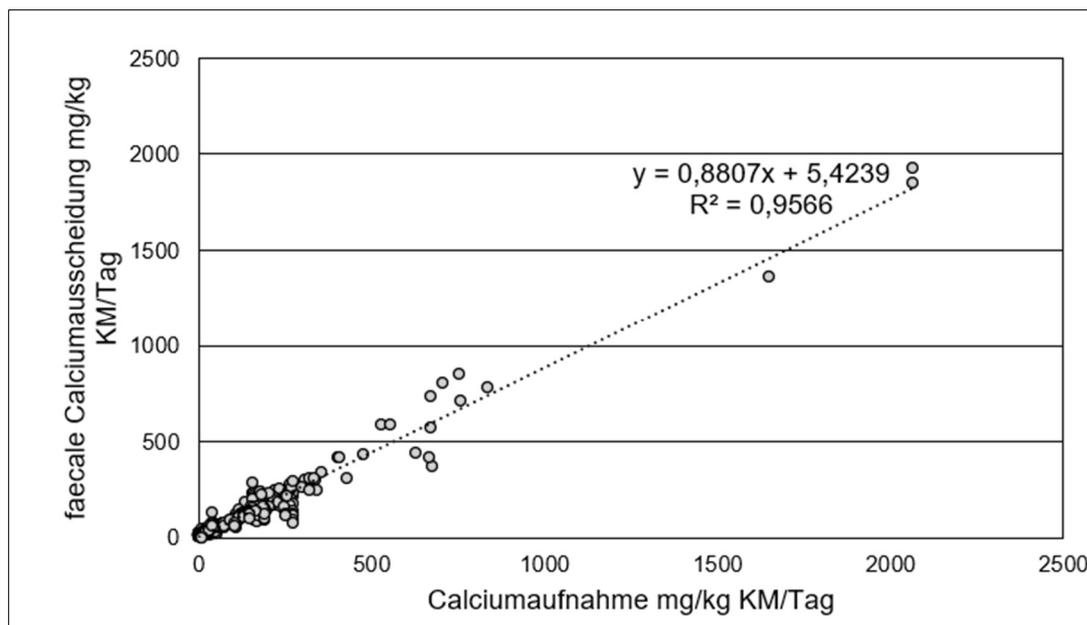


Abbildung 1. Faecale Calciumausscheidung in Abhängigkeit zur Calciumaufnahme bei adulten Hunden (nach Mack et al. 2015; mit Daten aus der Studie in KM statt $KM^{0,75}$)

In älteren Arbeiten wurden auch verschiedene andere Faktoren postuliert, die die Absorption von Calcium beim Hund beeinflussen könnten. So ging man z.B. von höherer Calciumverdaulichkeit durch die Zulage von Lactose (Gross 1927) und niedrigerer Calciumverdaulichkeit durch hohe Fettgehalte (Liu & McCay 1953) oder hohe Knochengehalte (Meyer & Mundt 1983) in der Ration aus. Bei der Katze wurde außerdem eine geringere Calciumverdaulichkeit durch dauerhafte Ansäuerung der Ration mit Ammoniumchlorid postuliert (Ching et al. 1989). Diese vier Arbeiten wurden in der Meta-Analyse von Mack et al. (2015) jedoch miteinbezogen, ohne dass auffällige Abweichungen erkennbar wurden.

Böswald et al. (2018) konnten in einer speziesübergreifenden Metaanalyse für Fleischfresser ebenfalls eine hochsignifikante lineare Korrelation von Calciumaufnahme und faecaler Calciumausscheidung ermitteln ($R^2 = 0,91$).

Kienzle et al. (2006) konnten bei Hunden mit gleicher Calciumaufnahme nach Faserzulage eine Erhöhung der faecalen Calciumausscheidung beobachten. Prola et al. (2009) konnten

diesen Effekt bei Katzen ebenfalls nachweisen. Dabei blieb in beiden Arbeiten unklar, ob es sich hierbei um einen Effekt der Faser oder lediglich um den Effekt der unter Faserzulage steigenden faecalen Trockensubstanzausscheidung handelte. In einer retrospektiven Studie mit kommerziellen Nass- und Trockenfuttern identifizierten Kienzle et al. (2017) die faecale Trockensubstanzausscheidung als weiteren Einflussfaktor auf die faecale Calciumausscheidung neben der Calciumaufnahme.

Bisherige Untersuchungen können noch nicht die Fragestellung beantworten, ob die von Kienzle et al. (2006) beobachteten Effekte beim Hund rein in Beziehung zur Trockensubstanzausscheidung stehen oder ob es sich um Effekte handelt, die ihrerseits zur faecalen Trockensubstanzausscheidung in Beziehung stehen. Neben dem bereits genannten Fasergehalt kommen hier auch weniger verdauliche Knochenbestandteile infrage.

Erklärt wurden diese Befunde mit einer Besonderheit der Fleischfresser hinsichtlich des Calciumstoffwechsels wie oben erwähnt (s. 3.4.2.). Bei Calciummangel scheinen Hunde die scheinbare Verdaulichkeit des Calciums nicht anzupassen, sondern überwiegend über den Knochenstoffwechsel die Calciumhomöostase zu regulieren (Schmitt et al. 2018). Die Calciumabsorption findet zu einem erheblichen Anteil im Dickdarm und vermutlich passiv statt (Schünemann et al. 1989).

4. PUBLIKATIONEN

4.1 Publikation 1

Das folgende Manuskript „Faecal dry matter excretion per se affects faecal calcium and phosphorus losses in dogs“ wurde am 26. Juli 2022 vom Journal of Physiology and Animal Nutrition (JAPAN) zur Veröffentlichung angenommen.

The manuscript entitled “Faecal dry matter excretion per se affects faecal calcium and phosphorus losses in dogs” has been accepted for publication in the Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (JAPAN) on July 26th, 2022.

Manuscript received: 16 January 2022

Manuscript revised: 28 June 2022

Manuscript accepted: 26 July 2022

Version of Record online: 07 August 2022

Issue Online: 02 November 2022

DOI: 10.1111/jpn.13762

© 2022 The Authors. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition published by Wiley-VCH GmbH.

Faecal dry matter excretion per se affects faecal calcium and phosphorus losses in dogs

Celina Hofmann¹, Ellen Kienzle¹, Britta Dobenecker¹

¹Department of Veterinary Science, Faculty of Veterinary Medicine, Chair of Animal Nutrition and Dietetics, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany

Keywords: calcium metabolism, faecal dry matter excretion, mineral digestibility, phosphorus metabolism

Correspondence

Britta Dobenecker, Department of Veterinary Science, Faculty of Veterinary Medicine, Chair of Animal Nutrition and Dietetics, Ludwig-Maximilians-Universität München, Schönleutnerstrasse 8, 85764 Oberschleissheim, Munich, Germany.

Email: dobenecker@lmu.de

Abstract

The study aimed to investigate the effect of faecal dry matter (DM) excretion on faecal losses of calcium (Ca) and phosphorus (P) without potentially confounding factors. Dogs were fed two levels of the same basal diet (cooked pork, rice, gelatine; 8.5 ± 0.7 and 12.6 ± 1.2 g DM/kg BW). Mineral supplements were added separately for identical Ca and P supply independent of DM intake (Ca 226 and P ~170 mg/kg BW). Digestion trials (10 days adaptation, 5 days quantitative faecal collection) were carried out. Digestibility of DM averaged 87% in both trials. Faecal DM and mineral excretion increased highly significant (DM 1.1 ± 0.3 to 1.7 ± 0.2 g/kg BW, $p=0.00005$; Ca 185 ± 34 and 233 ± 22 mg/kg BW, $p=0.00119$; P 99 ± 23 to 127 ± 12 mg/kg BW, $p=0.00212$), revealing a highly significant correlation. Apparent digestibility of Ca was positive in the first trial and negative in the second leading to a slightly negative Ca retention in the latter one. The results suggest that in dogs (i) factors influencing Ca and P absorption can only be compared if faecal DM excretion is identical and (ii) Ca requirements may be affected by DM intake and digestibility.

1 Introduction

In previous retrospective studies, an increase in faecal Ca excretion with increasing faecal dry matter (DM) excretion was demonstrated in dogs (Kienzle et al., 2006, 2017) as well as in cats (Prola et al., 2009). In two of these studies, the increase in faecal DM excretion was due to addition of fibre. Therefore, it was not clear whether this was a fibre or a DM excretion effect. In the third retrospective study, digestion trials with prepared wet and dry dog food were evaluated (Kienzle et al., 2017). In prepared dog food, a high faecal DM excretion could be due to high fibre but also to an increased percentage of bone meal. Bone meal contains a lot of ash and has a low digestibility (Dobenecker et al., 2010). This could be a confounding factor. Therefore, in the present study, dogs were fed two levels of the same basal diet. Mineral supplements were added separately to ensure the same amount of Ca and P supply with different DM intake of the same diet. The hypothesis was that in the absence of a variation in calcium and phosphorus intake, faecal DM excretion is the main parameter influencing the faecal excretion of Ca. Given the rather constant ratio of faecally excreted Ca and P in dogs (Mack et al., 2015), it was expected that the same would be true for P.

2 Animals, Material and Methods

Eight healthy adult foxhound-crossbred (FBI) dogs were involved in the study (24–32 kg, two neutered males, one intact male, five intact females, age of 3–5 years). The dogs were pair-housed in climate-controlled indoor pens with sufficient resting places with bedding material. Every day of the year, they had access to outdoor runs of about 50 m² equipped with kennels as well as trees or awning in established groups of 4–7 animals for at least 6 h during the day. The dogs were fed separately and their individual food intake was measured daily. Additionally, the dogs were walked on a leash and clicker-trained in regular intervals. During the digestibility trials, they were walked at least twice daily. The indoor pens had natural and artificial light for a minimum of 8 h per day, depending on the season. Humidity varied between 40% and ~70%. Fresh air was provided through a ventilation system throughout the year. The indoor temperature was kept above 16°C. Standard procedure was adopted to the digestion trials (3 days dietary change to test diet, 10 days adaptation, 5 days sampling period, one meal per day). The dogs were housed individually during the 5 days of total faecal collection. Water was provided ad libitum at all times. Between the trials with the same type of food fed in different levels (Table 1) was a 2-week wash-out period.

At the lower intake level (N), lard was added in small amounts to animals with an energy requirement which exceeded the feed allowance to prevent weight loss. At the higher level (HI), weight gain was considered acceptable. The mineral-vitamin mixture (Supporting Information: Table S1) was not mixed into the feed but given into each dog's daily ration to ensure absolutely identical intake of Ca (Table 2). This led to slight differences in the mineral content of the diet in each individual dog.

After total collection, faeces were lyophilised and ground. Calcium levels in food and faeces were analysed by flame-emission photometry (Eppendorf Flammenphotometer EFOX 5,053, HJG Spezialmesssysteme) after acid hydrolysis and wet digestion in a microwave (Janßen et al., 2006). Phosphorus was determined photometrically with ammonium molybdate and ammonium vanadate in HNO₃ (GENESYS 10 UV, Thermo Spectronic). Two means were compared by paired *t*-test after testing normal distribution of data (Shapiro–Wilk test). The significance levels were set at $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$, and $p \leq 0.001$. Linear regression analyses were carried out between faecal DM and Ca excretion and between faecal P and Ca excretion.

3 Results

All animals remained healthy throughout the study. Apparent digestibility of DM was not affected by the level of food intake; it averaged 87% in both trials (Table 2). Faecal DM excretion increased highly significant in trial HI compared to trial N ($p = 0.00005$). The same was true for faecal Ca excretion which was higher by nearly 50 mg/kg BW in trial HI than in trial N ($p = 0.00119$). The resulting apparent digestibility of Ca was positive in trial N and negative in trial HI. In trial N, there was a considerable amount of apparently digested (“retained”) Ca, in the second trial with higher DM intake, this parameter was negative. There was a highly significant positive relationship between faecal DM excretion and faecal Ca excretion (Figure 1; $p \leq 0.001$). There was also a highly significant correlation between faecal organic matter excretion (x ; g/kg BW) and faecal Ca excretion (y ; mg/kg BW): $y = 101.8 + 144.3x$; $R^2 = 0.80$, $p \leq 0.001$). Faecal P excretion also increased significantly with increasing faecal DM excretion (Table 2, Figure 2; $p = 0.00212$). The increase of faecal P excretion with increasing faecal DM excretion was less marked though than the increase of faecal Ca excretion. Apparent P digestibility was positive in both trials. In trial, HI apparent P digestibility was significantly reduced compared to trial N but the difference was less marked than in apparent Ca digestibility. The apparently digested (“retained”) P amounted to 30 mg/kg BW on average. In both trials, P digestibility was higher than Ca digestibility. There was a highly significant relationship between faecal Ca and P excretion (Figure 3).

4 Discussion

The results of the study confirm the hypothesis that faecal DM excretion is a major determinant of faecal Ca excretion (Kienzle et al., 2006, 2017). The same is true for faecal P excretion. The relationship between faecal Ca and P excretion was confirmed again (Böswald et al., 2018; Mack et al., 2015). Mack et al. (2015), Böswald et al. (2018), and Schmitt et al. (2018) suggested that in dogs Ca absorption from the intestine is predominantly a passive transport. This is in excellent agreement with the results of Schünemann et al. (1989). These authors worked with dogs fitted either with an ileal or a colon fistula (methods see Brass & Schünemann, 1989). Schünemann et al. (1989) determined ileocecal flow of minerals as well as faecal excretion. The range of Ca intake was between 11 and 190 mg/kg BW. Ileocecal flow was even higher than the intake in most trials (Schünemann et al., 1989). There was very little net absorption in the small intestine, mostly a net secretion. Absorption of Ca mainly took place in the colon. There was a clear-cut positive relationship between Ca intake, ileocecal Ca flow and faecal Ca-excretion (Schünemann et al., 1989). Given the findings of Mühlum et al. (1989) who demonstrated that fat is digested nearly completely in the small intestine, this explains why Hallebeek and Hazewinkel (1997) did not see any effects of fat on Ca digestibility in dogs. The same was true in this study. The relationship between faecal DM and Ca excretion did not significantly differ ($p = 0.34$) between dogs eating extra lard and those without lard addition.

In the study by Schünemann et al. (1989), there was also a positive relationship between P intake, ileocaecal P flow and faecal P excretion, even though P was absorbed to a higher percentage in the small intestine. In addition, the ileocaecal flow of Ca and P and the faecal excretion of Ca and P were correlated, with the exception of one trial with extremely low Ca intake and an inverse Ca/P ratio (Schünemann et al., 1989). Schünemann et al. (1989) also found a relationship between the net absorption of Ca in the colon (calculated as percentage of ileocecal Ca flow) and the Ca concentration in ileal chyme. This suggests an effect of dilution on passive Ca absorption.

In the present study, faecal Ca excretion increased with increasing faecal DM excretion at a rate of about 100 mg Ca per g DM excretion (Figure 1). Even a relatively small difference of 0.6 g faecal DM excretion per kg BW increased faecal Ca excretion by 26% and reduced apparent Ca digestibility from 18% to negative. This finding is very important for research on Ca in dogs. Factors influencing Ca absorption can only be tested if the excretion of faecal DM is practically identical between experimental and control group, otherwise the researchers will just describe a faecal DM excretion effect. The results of the present study show that faecal DM excretion is an important factor for the estimation of Ca as well as to lesser extent P requirements in dogs because higher DM intake and/or lower DM digestibility increase faecal Ca and P losses.

5 Conclusions

In conclusion, faecal DM excretion influences the faecal Ca and P positively and apparent Ca and P digestibility negatively. A high faecal DM excretion can therefore increase Ca and P requirements.

References

- Bösward, L. F., Dobenecker, B., Clauss, M., & Kienzle, E. (2018). A comparative meta-analysis on the relationship of faecal calcium and phosphorus excretion in mammals. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102, 370–379.
- Brass, W., & Schünemann, C. (1989). *Fortschr. Tierphysiol. Tierernährg., Beiheft 19*. Verlag Parey, pp. 7–13.
- Dobenecker, B., Frank, V., & Kienzle, E. (2010). High calcium intake differentially inhibits nutrient and energy digestibility in two different breeds of growing dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(5), e109–e114.
- Hallebeek, J. M., & Hazewinkel, H. A. W. (1997). Effect of isoenergetic substitution of dietary fat (beef tallow) for carbohydrates (wheatstarch) on the calcium absorption in the dog. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 78, 60–66.
- Janßen, E., Matter, Y., Rieß, P., & Seifert, D. (2006). Nassaufschluss unter Druck. In *VDLufa Methodenbuch III (Vol. 6, pp. 1–4)*. VDLUFA-Verlag.
- Kienzle, E., Brenten, T., & Dobenecker, B. (2017). Impact of faecal DM excretion on faecal calcium losses in dogs eating complete moist and dry pet foods—food digestibility is a major determinant of calcium requirements. *Journal of Nutritional Science*, 6, E13.
- Kienzle, E., Dobenecker, B., Wichert, B., & Schuster, S. (2006). Effect of fecal water and dry matter excretion on fecal mineral excretion in dogs studied in a fiber model. *The Journal of Nutrition*, 136(suppl 7), 2001S–2003S.
- Mack, J. K., Alexander, L. G., Morris, P. J., Dobenecker, B., & Kienzle, E. (2015). Demonstration of uniformity of calcium absorption in adult dogs and cats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99, 801–809.
- Mühlum, A., Junker, S., & Meyer, H. (1989). Präcäcale und postileale Verdaulichkeit verschiedener Fette. In H. Meyer (Ed.), *Beiträge zur Verdauungsphysiologie des Hundes. Fortschritte in der Tierphysiologie und Tierernährung (Vol. 19, pp. 24–30)*. Parey.
- Prola, L., Dobenecker, B., Mussa, P., & Kienzle, E. (2009). Influence of cellulose fibre length on faecal quality, mineral excretion and nutrient digestibility in cat. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94, 362–367.
- Schmitt, S., Mack, J., Kienzle, E., Alexander, L. G., Morris, P. J., Colyer, A., & Dobenecker, B. (2018). Faecal calcium excretion does not decrease during long-term feeding of a low-calcium diet in adult dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102, e798–e805.

Schünemann, C., Lass, N., & Meyer, H. (1989). Intestinaler Stoffwechsel von Calcium, Magnesium und Phosphor beim Hund. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 61, 193–205.

Table 1. Composition of the diets fed to eight foxhound crossbred dogs

	Unit	Diet N	Diet HI
Ingredients, basal diet	%	76.9 pork (rump with rind and fat, heart) 19.2 rice 3.9 gelatine	76.9 pork (rump with rind and fat, heart) 19.2 rice 3.9 gelatine
Dry matter, basal diet	g/kg	368	368
Gross energy, basal diet	MJ/kg DM	24.6	23.2
Crude protein, basal diet	g/kg DM	411	430
Crude fat, basal diet	g/kg DM	164	149
Crude fibre, basal diet	g/kg DM	6	9
NfE ^a , basal diet	g/kg DM	406	396
Intake basal diet	g DM/kg BW	5.6 ± 0.6	11.3 ± 1.2
Intake lard	g DM/kg BW	1.5 ± 0.9	No lard
Intake mineral supplement ^b	mg DM/kg BW	1389 ± 35	1357 ± 34
Vit D ₃ , daily intake, total ration	IU/kg BW	13.9 ± 0.4	13.6 ± 0.4

^a Nitrogen free extract.

^b See Supporting Information: Table S1.

Table 2. DM intake, digestibility, and faecal DM excretion

Diet	Unit	N	HI	p-values
Total DM intake	g DM/kg BW	8.5 ± 0.7	12.6 ± 1.2	0.00005
Faecal DM excretion	g/kg BW	1.1 ± 0.3	1.7 ± 0.2	0.00005
Apparent DM digestibility	%	87 ± 3	87 ± 2	0.39
Apparent energy digestibility	%	94 ± 2	93 ± 1	0.31
Ca intake	mg/kg BW	226 ± 6	226 ± 6	0.25
Faecal Ca excretion	mg/kg BW	185 ± 34	233 ± 22	0.00119
Apparently digested Ca	mg/kg BW	41 ± 32	-8 ± 21	0.001
Apparent Ca digestibility	%	18 ± 15	-3 ± 9	0.0015
P intake	mg/kg BW	172 ± 6	168 ± 7	0.00012
Ca/P in diet	g/g	1.32/1	1.35/1	-
Faecal P excretion	mg/kg BW	99 ± 23	127 ± 12	0.00212
Apparently digested P	mg/kg BW	73 ± 20	41 ± 11	0.0013
Apparent P digestibility	%	43 ± 12	24 ± 6	0.00185

Abbreviation: DM, dry matter.

Table S1. Composition of mineral supplement [% dry matter]

Additive	N	HI
CaHPO ₄ * 2H ₂ O	64.531	54.986
CaCO ₃	2.043	10.281
CaCl ₂ + 2H ₂ O	2.500	0.000
NaCl	2.993	3.316
KCl	8.581	4.321
MgO	1.136	0.158
KJ	0.002	0.002
MnSO ₄ + H ₂ O	0.020	0.014
C ₄ H ₂ FeO ₃	0.081	0.000
ZnSO ₄ + 7H ₂ O	0.334	0.297
(CH ₃ COO) ₂ Cu + H ₂ O	0.023	0.016
Na ₂ SeO ₃ + 5H ₂ O	0.002	0.000
Vit. A 1.000.000 I.E./g	0.007	0.007
Vit D ₃ 500.000 I.E./g	0.002	0.002
Vit E 50 %	0.087	0.087
Vit B ₁ 98 %	0.003	0.003
Vit B ₂ 80 %	0.009	0.009
Vit B ₆ 99 %	0.002	0.002
Vit B ₁₂ 0.1 %	0.050	0.050
Niacin 100 %	0.025	0.025
Choline 50 %	4.864	4.864
Ca-Pantothenic Acid	0.023	0.023
Starch	12.682	21.537

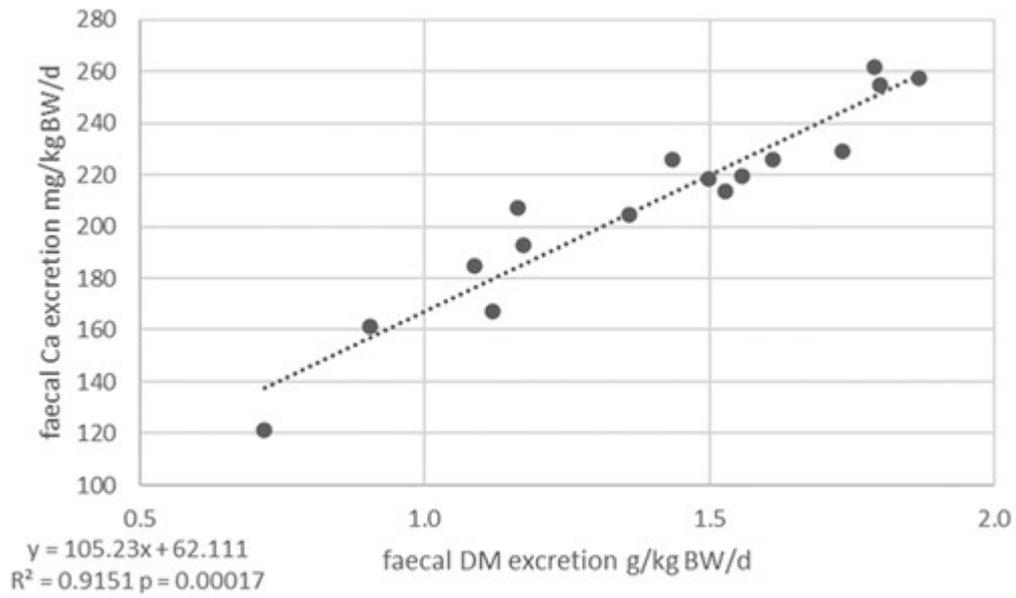


Figure 1. Faecal calcium (Ca) excretion vs. faecal dry matter (DM) excretion in eight dogs fed different amounts of DM

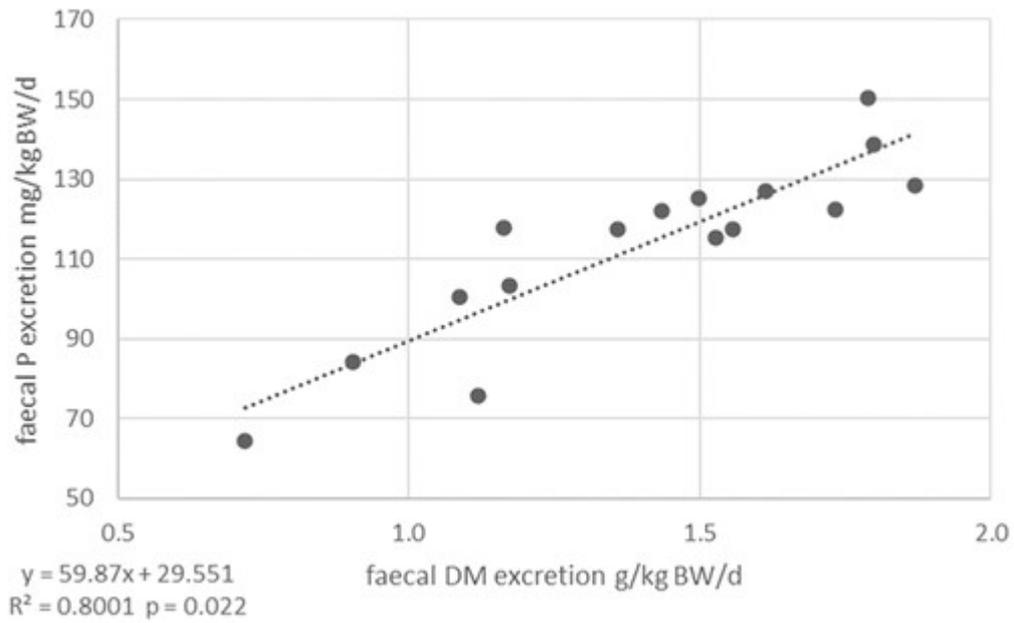


Figure 2. Faecal phosphorus (P) excretion vs. faecal dry matter (DM) excretion in eight dogs fed different amounts of DM

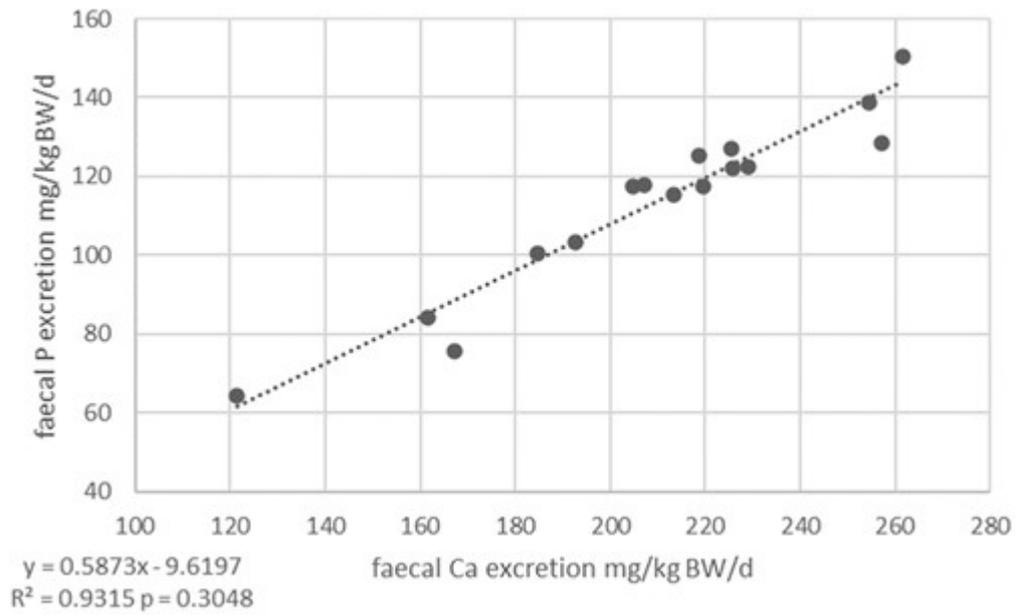


Figure 3. Faecal phosphorus (P) excretion vs. faecal calcium (Ca) excretion in eight dogs fed different amounts of dry matter

4.2 Publikation 2

Das folgende Manuskript „Apparent digestibility and calcium and phosphorus in urine after feeding different combinations of calcium and phosphorus sources to adult dogs“ wurde am 09. August 2024 vom Journal of Physiology and Animal Nutrition (JAPAN) zur Veröffentlichung angenommen.

The manuscript entitled “Apparent digestibility and calcium and phosphorus in urine after feeding different combinations of calcium and phosphorus sources to adult dogs” has been accepted for publication in the Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (JAPAN) on August 09th, 2024.

Manuscript received: 01 December 2023

Manuscript revised: 05 August 2024

Manuscript accepted: 09 August 2024

Version of Record online: 27 August 2024

Issue Online: 14 January 2025

DOI: 10.1111/jpn.14038

© 2024 The Author(s). Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition published by Wiley-VCH GmbH.

Apparent digestibility and calcium and phosphorus in urine after feeding different combinations of calcium and phosphorus sources to adult dogs

Celina Hofmann¹, Britta Dobenecker¹, Ellen Kienzle¹

¹Department of Veterinary Science, Chair of Animal Nutrition and Dietetics, Munich, Germany

Keywords: calcium, digestibility, dog, phosphorus, solubility

Correspondence:

Ellen Kienzle, Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik, Veterinärwissenschaftliches Department, LMU München, Schönleutner Str. 8, D 85764 Oberschleißheim, Germany.

Email: kienzle@tiph.vetmed.uni-muenchen.de

Abstract

The present study aimed to investigate the effect of the combination of a water-soluble calcium (Ca) source (CaCl_2) with a water-soluble phosphorus (P) source ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, diet soluble, SOL) in comparison to a water-insoluble P source ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, diet insoluble, INS) on apparent digestibility and renal excretion of Ca and P in dogs. The Ca intake was 226 mg/kg bodyweight (bw), the Ca/P ratio 1.9/1 in SOL and 2.0/1 in INS. The percentage of Ca from CaCl_2 was 60% in SOL and 33% in INS. Eight adult Foxhound-crossbred dogs FBI, (3–5 years, bw 24–32 kg) were available. Standard digestion trials were carried out (10 days adaptation, 5 days total faecal collection). Spontaneously excreted urine was collected pre- and postprandially. In vitro water solubility of P in the mineral premixes was determined. The Ca digestibility was negative in both trials without significant differences between the groups. Apparent P digestibility was increased in group SOL (26% vs. 20% in INS). In both groups, P content in urine was higher pre- compared to postprandial, with higher concentrations in group SOL. The same was true for the P/Crea ratio. The water solubility of P in the mineral premixes used in the trials showed considerable differences: The P in premix INS was insoluble in water after 1 and after 90 min. By contrast, the P in the premix SOL was highly soluble (98%) after 1 minute. After 90 min, however, the P solubility decreased to 43%, suggesting the formation of insoluble CaP salts, presumably from CaCl_2 and $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. In conclusion, in the present study, apparent Ca digestibility in dogs was not affected by the solubility of Ca and P, while P digestibility and renal P excretion increased.

1 Introduction

Knowledge of dietary phosphorus (P) and calcium (Ca) availability is important for factorial calculation of requirements (Böswald et al., 2019) aiming for a sufficient supply without deficient or excessive intake. The latter is especially relevant to avoid adverse health effects caused by highly available P salts on renal, cardiovascular, and skeletal health in cats and dogs (Coltherd et al., 2019; Dobenecker et al., 2021a, 2021b; 2018).

The present study targeted the effects of either a highly water soluble or an insoluble P source in combination with partial exchange of common dietary Ca sources with soluble Ca chloride on the mineral balance. The hypothesis was that apparent digestibility of Ca and P as well as the renal excretion of P increases, when both minerals are given in a water-soluble form.

2 Animals, Material and Methods

For the study eight adult dogs (Foxhound-crossbred, FBI, 3–5 years, 24–32 kg bodyweight (bw), five females, two neutered males, one intact male) were available. Digestion trials were carried out applying standard procedure: 3 days dietary change to test diet, 10 days adaptation, 5 days digestibility trial, individual feeding of one apportioned daily meal, individual housing for total faecal collection during digestibility trial, water ad libitum). In the first trial (insoluble, INS), the majority of Ca originated from $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (60%) and $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (33%) with less than 1% from raw materials (Tables 1 and 2). $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ was used as inorganic P source because of its low solubility. After a >2-week wash-out period with commercial dry maintenance dog food, a higher percentage of soluble Ca source (60% CaCl_2 , 39% CaCO_3) was combined with a highly water-soluble P source ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) to create diet soluble (SOL).

To prevent weight loss, lard was given to those dogs with an energy requirement above the energy content of the basal diet. The mineral and vitamin premix were apportioned according to bw and added separately to the daily ration of each individual. This ensured identical mineral intake, with neglectable differences in mineral concentrations of the test diets for each dog. Both mineral supplements were tested for water-soluble P by the method of Lineva et al. (2019) after the experiments because of unexpected results.

The dogs' faeces were lyophilised and ground after quantitative collection. After wet ashing, flame photometry was applied to determine Ca; P determination was carried out by photometry with ammonium molybdate and ammonium vanadate in HNO_3 (GENESYS 10 UV, Thermo Spectronic, Rochester, NY, USA). Apparent digestibility (aD%) was calculated as follows: $\text{aD}\% = (\text{Nutrient intake} - \text{faecal nutrient excretion}) / \text{nutrient intake} * 100$. The Ca/P ratio of food and faeces was calculated. The difference between the Ca/P ratios in food and faeces (Δ) was calculated as follows: $\text{Ca/P in food} - \text{Ca/P in faeces}$.

Dietary cation-anion-balance (DCAB) was calculated using dm content of the minerals Ca, magnesium (Mg), sodium (Na), potassium (K), P, sulfur (S) and chloride (Cl) in the diet: $\text{DCAB (mmol/100 g dm)} = 49.9 * \text{Ca} + 82.3 * \text{Mg} + 43.5 * \text{Na} + 25.6 * \text{K} - 64.6 * \text{P} - 62.4 * \text{S} - 28.2 * \text{Cl}$. The factor for S was calculated according to atomic weight and valence. (Behnsen, 1992; Kienzle et al., 1991; Kienzle & Wilms-Eilers, 1994).

A quantitative collection of urine was not conducted due to ethical reasons. Spontaneous urine was caught ~2-h preprandial and ~2-hours postprandial while walking the dogs individually. Urine samples were pooled and analysed for total P and creatinine (Crea), with the latter one using the Jaffé method (MicroVue Creatinine Assay Kit, Quidel Corporation, reader: Sunrise Tecan).

The Shapiro-Wilk normality test was used to assess the distribution of all means. Normally distributed means were compared by paired t-test if applicable or Student's test. If data were not normally distributed, Welch t-test (urine parameters) was used for comparison. Urine parameters which were sampled both pre- and postprandially in each group, were compared using a TWO WAY ANOVA with Mann–Whitney Rank Sum test as post hoc test. $p < 0.05$ was considered significant. The software SigmaPlot 12.5 (Systat Software GmbH) was used for statistical analysis.

The authors confirm that the ethical policies of the journal, as noted on the journal's author guidelines page, have been adhered to and the appropriate ethical review committee approval has been received. The authors confirm that they have followed EU standards for the protection of animals used for scientific purposes. All procedures and protocols were conducted in accordance with the European guidelines of the Protection of Animals Act. The study was approved by the responsible animal protection officer of the Faculty of Veterinary Medicine of the Ludwig-Maximilians-Universität München, as well as the Government of Upper Bavaria (reference number 55.2-1-54-2532-202-2016).

3 Results

Throughout the study, all animals remained healthy. Dry matter (dm) intake, apparent dm digestibility, and energy digestibility are given in Table 3. The apparent Ca digestibility was negative in both trials (Table 3) without statistical differences. The same applies to the apparently digested Ca. There was a negligible difference in the P intake (1.7%) between both trials (Table 3). The apparent P digestibility was overall moderate, but significantly higher in diet SOL ($p = 0.011$); the same was true for the apparently digested P ($p = 0.008$). This resulted in a significant difference in the faecal Ca/P ratio. The same was true for delta (Table 3). The regression between faecal Ca and P excretion is given in Figure 1. The relationship was very close in group INS and practically lost in group SOL.

In both diets, the P content in the urine was higher before than after feeding (Table 4). It was higher in group SOL throughout, leading to a significant interaction (Table 4). The urinary Crea content depended on time of sampling and diet (Table 4), with a significant interaction. In principle, it was higher in preprandial samples; the same was true for the P/Crea ratio (Table 4). Urinary Ca content was not affected by the diet (Table 4). The Ca/Crea ratio as well as the urinary pH was lower before than after feeding in both trials (Table 4). Diet SOL with higher amounts of CaCl_2 reduced the urinary pH both pre- and postprandial.

The in vitro water solubility of the mineral supplements used in the trials showed considerable differences: INS was insoluble in water after 1 and after 90 min while SOL showed a high percentage of P soluble after 1 min (98%). After 90 min, however, the P solubility decreased to 43%.

4 Discussion

In the present study, the apparent Ca digestibility of diet SOL containing soluble Ca and P sources did not differ significantly from diet INS with mostly insoluble Ca and P sources. This confirms previous results on uniformity of Ca digestibility in dogs, which appears to be rather independent of the Ca source (Böswald et al., 2018; Mack et al., 2015).

The study of Schünemann et al. (1989) suggests that in dogs the main site of Ca absorption is the large intestine. It is quite likely that by the time the Ca reaches the large intestine, it is no longer water-soluble CaCl_2 . There may be a falling-out of low water-soluble Ca salts such as CaCO_3 , CaHPO_4 . This would explain that there is no difference between Ca sources.

Ca content as well as Ca/Crea in the urine was unaffected by diet. There was, however, an effect of time after feeding on the Ca/Crea ratio as well as the urinary pH. It is known that during metabolic acidosis the renal Ca excretion increases (Alexander et al., 2016). In the present study, the postprandial urinary pH was always lower after feeding SOL, thus reflecting the intake of acidifying salts such as CaCl_2 , which also confirms previous studies in dogs (Behnsen, 1992).

There was a clear-cut effect of urinary pH on the urinary Ca/Crea coefficient, which was independent of the feeding. Especially when the pH was below 5, the Ca/Crea coefficient was significantly increased (Figure 2). According to Alexander et al. (2016), the increase of renal Ca excretion during acidosis is due to Ca mobilisation from the skeleton. This would explain why there was no specific effect of the diet apart from the effect of urinary pH. It also agrees with the negative Ca balance in both trials.

On the contrary to the Ca excretion, P excretion was affected significantly by diet composition. Apparent P digestibility increased significantly when feeding more soluble Ca and P sources (SOL). The same was true for the preprandial urinary P concentration as well as the P/Crea (Table 4), which suggests an increase in fractional as well as absolute renal P excretion in group SOL. This increases the P load per nephron, which is an important determinant of P nephrotoxicity (Haut et al., 1980).

Compared to previous studies on canine P excretion (Dobenecker et al., 2021a, 2021b; Herbst, 2021), the statistically significant increase in apparent digestibility and renal P excretion was relatively small. Given the statistical significance of the difference in P digestibility the smaller increase of digestibility compared to previous studies is unlikely to be related to the number of animals in the trials. A number of 8 is more than enough to find differences in apparent digestibility of major minerals. This has been shown in previous studies (Dobenecker et al., 2021b).

The decrease of solubility of P from the premix SOL after 90 min in water, might help to explain the difference to previous studies. If both minerals are given in a highly soluble form, it is possible that they form more or less water-insoluble complexes such as CaHPO_4 which are then precipitated and less available. The same thing might happen during the passage of the food through the gastrointestinal tract. There may be other factors such as breed differences as well. Kiefer-Hecker et al. (2018) demonstrated a difference of the Ca and P excretion between growing beagles and FBI dogs. Even so in the present study in the diet containing soluble inorganic P, faecal P excretion in relation to faecal Ca excretion was decreased. Given the close connection between these two minerals this is likely to have metabolic consequences.

In summary, Ca excretion in dogs is rather unaffected by Ca source, whereas P excretion can be influenced considerably by P source and/or Ca source.

References

Alexander, R. T., Cordat, E., Chambrey, R., Dimke, H., & Eladari, D. (2016). Acidosis and urinary calcium excretion: Insights from genetic disorders. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(12), 3511–3520.

Behnsen, K. (1992). Einfluss der Fütterung auf pH-Wert und spezifisches Gewicht im Harn des Hundes. Dissertation of Medicine Veterinary, Tierärztliche Hochschule, Hannover.

Böswald, L. F., Dobenecker, B., Clauss, M., & Kienzle, E. (2018). A comparative meta-analysis on the relationship of faecal calcium and phosphorus excretion in mammals. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102, 370–379.

Böswald, L. F., Klein, C., Dobenecker, B., & Kienzle, E. (2019). Factorial calculation of calcium and phosphorus requirements of growing dogs. *PLoS One*, 14(8), e0220305.

Coltherd, J. C., Staunton, R., Colyer, A., Thomas, G., Gilham, M., Logan, D. W., Butterwick, R., & Watson, P. (2019). Not all forms of dietary phosphorus are equal: An evaluation of postprandial phosphorus concentrations in the plasma of the cat. *British Journal of Nutrition*, 121(3), 270-284.

Dobenecker, B., Hertel-Böhnke, 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.

Dobenecker, B., Kienzle, E., & Siedler, S. (2021a). The source matters—effects of high phosphate intake from eight different sources in dogs. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 11(12), 3456.

Dobenecker, B., Reese, S., & Herbst, S. (2021b). Effects of dietary phosphates from organic and inorganic sources on parameters of phosphorus homeostasis in healthy adult dogs. *PLoS One*, 16(2), e0246950.

Haut, L. L., Alfrey, A. C., Guggenheim, S., Buddington, B., & Schrier, N. (1980). Renal toxicity of phosphate in rats. *Kidney International*, 17(6), 722–731.

Herbst, S. (2021): Einfluss der Fütterung verschiedener Phosphatquellen im Exzess auf ausgewählte Serumparameter beim gesunden, adulten Hund. Dissertation, LMU München: Tierärztliche Fakultät.

Kiefer-Hecker, B., Kienzle, E., & Dobenecker, B. (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.

Kienzle, E., Schuknecht, A., & Meyer, H. (1991). Influence of food composition on the urine pH in cats. *The Journal of Nutrition*, 121(11 Suppl.), S87–S88.

Kienzle, E., & Wilms-Eilers, S. (1994). Struvite diet in cats: Effect of ammonium chloride and carbonates on acid base balance of cats. *Journal of Nutrition*, 124, 2652S–2659S.

Lineva, A., Kirchner, R., Kienzle, E., Kamphues, J., & Dobenecker, B. (2019). A pilot study on in vitro solubility of phosphorus from mineral sources, feed ingredients and compound feed for pigs, poultry, dogs and cats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(1), 317–323.

Mack, J. K., Alexander, L. G., Morris, P. J., Dobenecker, B., & Kienzle, E. (2015). Demonstration of uniformity of calcium absorption in adult dogs and cats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99, 801–809.

Schünemann, C., Lass, N., & Meyer, H. (1989). Intestinaler Stoffwechsel von Calcium, Magnesium und Phosphor beim Hund. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 61, 193–205.

Table 1. Diet composition and food intake (mean \pm standard deviation) in group insoluble (INS) and soluble (SOL).

Diet	Unit	INS	SOL
Ingredients, basal diet	%	76.92 pork (rump with rind and fat, heart) 19.23 rice 3.85 gelatine	76.92 pork (rump with rind and fat, heart) 19.23 rice 3.85 gelatine
Dry matter	g/kg	391	391
Gross energy	MJ/kg dm	23.5	23.5
Crude protein	g/kg dm	398	398
Crude fat	g/kg dm	163	163
Crude fibre	g/kg dm	7	7
NfE	g/kg dm	416	416
Intake diet	g dm/kg bw	5.7 \pm 0.6	5.7 \pm 0.6
Intake lard	g dm/kg bw	2.3 \pm 0.7	2.9 \pm 0.9
Intake mineral supplementa	mg dm/kg bw	1259 \pm 29	1718 \pm 41
Vit D ₃ , daily intake, total ration	IU/kg bw	14.5 \pm 0.4	14.6 \pm 0.4

Abbreviations: bw, bodyweight; dm, dry matter; NfE, nitrogen-free extract; Vit D₃, Vitamin D₃.
^a Composition see Table 2.

Table 2. Composition of mineral premix (% dry matter) in group insoluble (INS) and soluble (SOL).

Additive	INS	SOL
CaHPO ₄ *2H ₂ O	42.064	0.000
CaCO ₃	0.000	14.289
CaCl ₂ *2H ₂ O	21.754	29.440
NaH ₂ PO ₄ *2H ₂ O	0.000	29.498
NaCl	3.660	0.000
KCl	12.871	9.312
MgO	0.984	0.684
KJ	0.002	0.001
MnSO ₄ *H ₂ O	0.023	0.017
ZnSO ₄ *7H ₂ O	0.369	0.304
(CH ₃ COO) ₂ Cu*H ₂ O	0.023	0.019
Na ₂ SeO ₃ *5H ₂ O	0.002	0.001
Vit. A 1.000.000 IU/g	0.008	0.006
Vit. D ₃ 500.000 IU/g	0.002	0.002
Vit. E 50%	0.096	0.071
Vit. B ₁ 98%	0.004	0.003
Vit. B ₂ 80%	0.010	0.008
Vit. B ₆ 99%	0.002	0.002
Vit. B ₁₂ 0,1%	0.055	0.041
Niacin 100%	0.028	0.020
Choline 50%	5.366	3.993
Ca-Pantothenic acid	0.025	0.019
Starch	12.652	12.368

Table 3. Intake, apparent digestibility, and faecal excretion of dry matter, calcium and phosphorus, dietary cation-anion-balance (mean \pm standard deviation) in group insoluble (INS) and soluble (SOL).

Diet	Unit	INS	SOL	<i>p</i> -values
Total dm intake	g dm/kg bw	9.2 \pm 0.8	10.3 \pm 1.0	0.0012**
Faecal dm excretion	g/kg bw	1.4 \pm 0.2	1.7 \pm 0.4	0.023*
Apparent dm digestibility	%	85 \pm 5	83 \pm 3	
Apparent energy digestibility	%	93 \pm 2	92 \pm 2	0.028*
Ca intake	mg/kg bw	226 \pm 5	226 \pm 6	
Soluble Ca	% of Ca intake	33	60	
Faecal Ca excretion	mg/kg bw	240 \pm 50	259 \pm 51	
Apparently digested Ca	mg/kg bw	-4 \pm 18	-33 \pm 47	
Apparent Ca digestibility	%	-2 \pm 8	-14 \pm 20	
P intake	mg/kg bw	115 \pm 4	117 \pm 4	<0.0001***
Soluble P	% of P intake	0	84	
Faecal P excretion	mg/kg bw	93 \pm 8	87 \pm 10	0.0028*
Apparently digested P	mg/kg bw	22 \pm 6	30 \pm 8	0.008**
Apparent P digestibility	%	20 \pm 6	26 \pm 7	0.011*
Ca/P total diet		2.0	1.9	
Ca/P faeces		2.5 \pm 0.1	3.0 \pm 0.5	0.023*
Δ Ca/P total diet – Ca/P faeces		-0.5 \pm 0.1	-1.1 \pm 0.5	0.018*
Dietary cation-anion-balance	mmol/kg dm	-80 \pm 21	-53 \pm 18	

Abbreviations: bw, bodyweight; Ca, calcium; dm, dry matter; P, phosphorus.

* Significant ($p < 0.05$).

** Highly significant ($p < 0.01$).

*** Very highly significant ($p < 0.001$).

Table 4. Urinary pH and concentration of creatinine, calcium, and phosphorus (mean \pm standard deviation) in group insoluble (INS) and soluble (SOL).

Parameter	Unit	INS		SOL	
		Preprandial	Postprandial	Preprandial	Postprandial
pH ^a		5.8 \pm 0.2	5.4 \pm 0.3	5.2 \pm 0.2	4.9 \pm 0.3
		<i>n</i> = 25	<i>n</i> = 27	<i>n</i> = 28	<i>n</i> = 31
Crea ^{a,c}	mmol/L	11.5 \pm 3.0	8.0 \pm 3.1	13.3 \pm 5.3	7.1 \pm 2.5
		<i>n</i> = 25	<i>n</i> = 28 (9)	<i>n</i> = 29 (1)	<i>n</i> = 33 (10)
Ca	mmol/L	2.6 \pm 1.6	3.0 \pm 1.5	2.8 \pm 1.4	2.9 \pm 1.2
		<i>n</i> = 25 (4)	<i>n</i> = 27 (5)	<i>n</i> = 27	<i>n</i> = 33 (1)
P ^{a,b,c}	mmol/L	31.7 \pm 14.5	5.5 \pm 2.0	47.7 \pm 27.3	7.0 \pm 4.7
		<i>n</i> = 23	<i>n</i> = 28 (23)	<i>n</i> = 29	<i>n</i> = 34 (22)
Ca/Crea ^a		0.2 \pm 0.1	0.4 \pm 0.2	0.2 \pm 0.1	0.4 \pm 0.2
		<i>n</i> = 25	<i>n</i> = 27	<i>n</i> = 27	<i>n</i> = 33
P/Crea ^{a,b}		2.7 \pm 1.0	0.8 \pm 0.3	3.7 \pm 1.4	0.1 \pm 0.8
		<i>n</i> = 23	<i>n</i> = 28	<i>n</i> = 29	<i>n</i> = 33

Abbreviations: Ca, calcium; crea, creatinine; *n*, number of samples; P, phosphorus; (number of values below detection limit in brackets).

^a Significant difference between times of sampling within group.

^b Significant difference between groups.

^c Significant interaction.

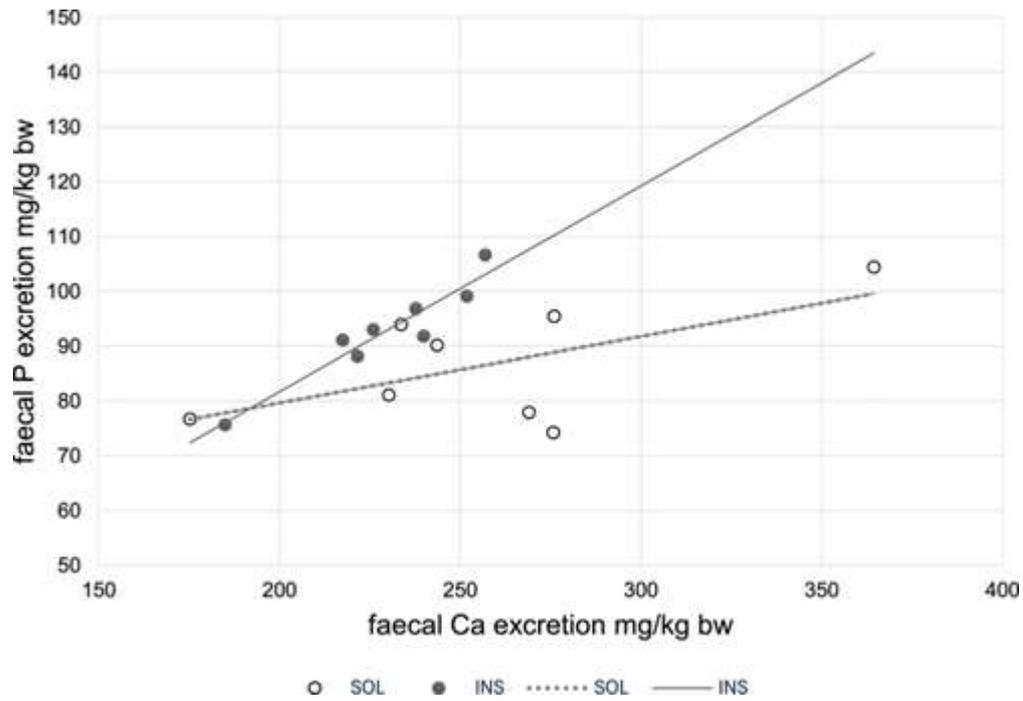


Figure 1. Regression between faecal Ca-excretion and faecal P-excretion in group (INS ● – ; $y = 0.3755x + 6.5598$, $R^2 = 0.9036$) and group (SOL ○; $y = 0.1211x + 55.423$, $R^2 = 0.3676$).

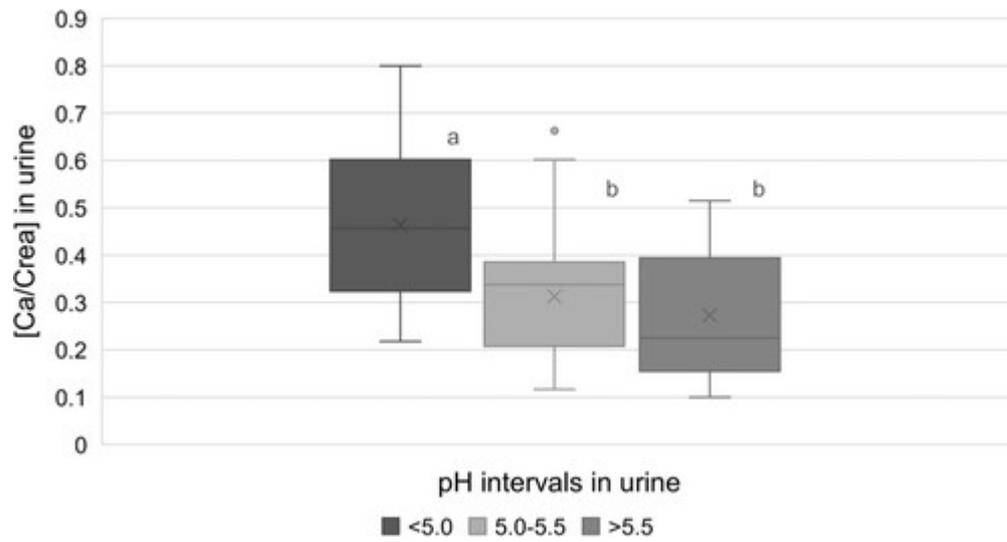


Figure 2. Boxplots (median, 25/75% and 5/95%, outliers) of the ratio of Ca/Crea in urine (mmol/L) in relation to urinary pH. Medians not sharing a superscript letter are significantly different.

5. WEITERE UNTERSUCHUNGEN

Im Rahmen der Dissertation wurden zwei weitere Versuchsdurchgänge durchgeführt, einer mit Natriumbicarbonat (NABIC) und einer mit Natriumchlorid (NACL). Des Weiteren wurde in diesem Rahmen bei den übrigen Versuchsdurchgängen die Verdaulichkeit von Na und K ermittelt. Allerdings waren die erhobenen Daten teils unvollständig, z.B. wurde nicht immer Urin gesammelt. Außerdem hatte die Bestimmung der Werte zum Calciumstoffwechsel Priorität. Aus diesem Grund eigneten sich diese Daten wenig zur Veröffentlichung. Sie werden in dieser Dissertation jedoch trotzdem präsentiert, da sie für weitere Untersuchungen Grundlagen und Anregungen geben können.

Die Daten zur renalen Calciumausscheidung wurde im ersten Paper nicht mitveröffentlicht, da sich diese Publikation rein auf die Verdaulichkeit von Calcium bezog. Als Grundlage für weitere Untersuchungen werden sie im Folgenden ebenfalls präsentiert.

5.1 Material & Methoden

Acht adulte Foxhound-Boehringer-Ingelheim Hunde (FBI) zwischen drei und fünf Jahren mit 24-32 kg Körpergewicht standen für die Versuchsdurchgänge zur Verfügung. Dabei handelte es sich um fünf intakte Hündinnen, zwei kastrierte und einen intakten Rüden.

Der fünftägigen Bilanzphase gingen jeweils eine dreitägige Futterumstellungs- sowie eine zehntägige Adaptionsphase voraus. Die Futterzuteilung erfolgte individuell einmal täglich, zuvor wurde das Basisfutter jedes Hundes mit der individuell passenden Menge Mineral-Vitamin-Mix und Schweineschmalz vermischt, um eine exakte Energie- und Nährstoffaufnahme sicherzustellen. Die Zusammensetzung der Rationen ist in Tabelle 1 und die Mischung der Mineral-Vitamin-Mixe ist in Tabelle 2 gegeben.

Im Mineral-Vitamin-Mix von Durchgang NACL wurde ausschließlich CaHPO_4 als Calciumquelle verwendet (66 % in der Trockensubstanz der Mischung). In Durchgang NABIC kam neben CaHPO_4 (57 % in der Trockensubstanz der Mischung) eine kleine Menge CaCO_3 (4 % in der Trockensubstanz der Mischung) zum Einsatz, um ein Calcium-Phosphor-Verhältnis von 1,4:1 in beiden Durchgängen bei exakt gleicher Calciumaufnahme zu erreichen. Im Durchgang NACL wurde die Ration jedes Hundes außerdem mithilfe von NaCl (Natriumgehalt 38 %, s. Tabelle 1) ergänzt, um eine vergleichbare hohe Natriumaufnahme wie im Durchgang NABIC zu erhalten, dessen Mineral-Vitamin-Mix 23 % NaHCO_3 (Natriumgehalt 27 %) zur Alkalisierung der Ration enthielt (Tabelle 2).

Wasser stand immer ad libitum zur Verfügung. Zwischen den Versuchsdurchgängen erhielten die Hunde kommerzielles Trockenfutter.

5. Weitere Untersuchungen

Tabelle 1. Versuchsrationen der Durchgänge NABIC und NACL

		NABIC	NACL
Zusammensetzung, Basisfutter	%	76,92 Schwein (Hüfte mit Schwarte und Fett, Herz) 19,23 Reis 3,85 Gelatine	76,92 Schwein (Hüfte mit Schwarte und Fett, Herz) 19,23 Reis 3,85 Gelatine
Trockensubstanz, Basisfutter	g/kg	391	368
Bruttoenergiegehalt, Basisfutter	MJ/kg TS	23,5	24,6
Rohprotein, Basisfutter	g/kg TS	398	411
Rohfett, Basisfutter	g/kg TS	163	164
Rohfaser, Basisfutter	g/kg TS	7	6
NfE, Basisfutter	g/kg TS	416	406
Aufnahme Basisfutter	g TS/kg KM	5,7 ± 0,6	5,6 ± 0,5
Aufnahme Schmalz	g TS/kg KM	3,9 ± 1,0	2,3 ± 0,7
Aufnahme Mineral-Vitamin-Mix	mg TS/kg KM	1348 ± 32	1219 ± 28
CaHPO ₄ * 2H ₂ O	% des Mineral-Vitamin-Mix ¹⁾	57	66
Aufnahme NaCl; (Natriumgehalt 38 %)	mg TS/kg KM	0	198 ± 17
Aufnahme NaHCO ₃ *; (Natriumgehalt 27 %)	mg TS/kg KM	310 ± 7	0
Vitamin D ₃ , tägliche Aufnahme, gesamte Ration	IU/kg KM	11,8 ± 0,4	15,2 ± 0,4

*aus Mineral-Vitamin-Mix

¹⁾ Zusammensetzung Mineral-Vitamin-Mixe s. Tabelle 2

5. Weitere Untersuchungen

Tabelle 2. Zusammensetzung der Mineral-Vitamin-Mixe (%) der Durchgänge NABIC und NACL

		NABIC	NACL
CaHPO ₄ * 2H ₂ O	%	57,292	66,313
CaCO ₃	%	3,815	0,000
CaCl ₂ + 2H ₂ O	%	0,000	0,000
NaHCO ₃	%	23,000	0,000
NaCl	%	0,000	0,000*
KCl	%	9,806	9,889
MgO	%	0,916	0,960
KJ	%	0,001	0,021
C ₄ H ₂ FeO ₃	%	0,051	0,111
MnSO ₄ + H ₂ O	%	0,016	0,026
ZnSO ₄ + 7H ₂ O	%	0,316	0,432
(CH ₃ COO) ₂ Cu + H ₂ O	%	0,019	0,028
Na ₂ SeO ₃ + 5H ₂ O	%	0,001	0,002
Vit. A 1.000.000 IE/g	%	0,006	0,009
Vit D ₃ 500.000 IE/g	%	0,002	0,000
Vit D ₃ 100.000 IE/g	%	0,000	0,012
Vit E 50 %	%	0,073	0,104
Vit B ₁ 98 %	%	0,003	0,004
Vit B ₂ 80 %	%	0,008	0,011
Vit B ₆ 99 %	%	0,002	0,003
Vit B ₁₂ 0,1 %	%	0,042	0,060
Niacin 100 %	%	0,021	0,030
Cholin 50 %	%	4,088	5,820
Ca-Pantothemat	%	0,019	0,028
Stärke	%	0,503	16,137

*NaCl wurde separat ergänzt (s. Tabelle 1)

Während der Bilanzphasen wurden die Hunde zur quantitativen Kotsammlung über fünf Tage in Einzelzwingern gehalten, in den Phasen davor und danach hatten sie täglichen Gruppenauslauf für mindestens sechs Stunden. In den Bilanzphasen wurden alle Hunde mindestens zweimal täglich an der Leine spazieren geführt. Dabei wurde rund zwei Stunden präprandial sowie mindestens zwei Stunden postprandial der von den Hunden abgesetzte Spontanurin mit Probebechern aufgefangen. Im Versuchsdurchgang NACL wurden keine Urinproben gewonnen.

Der gesammelte Kot wurde lyophilisiert und gemahlen. Die Urinproben wurden zusammengeführt. Zur Bestimmung der Mengenelemente wurden die Proben nass verascht. Calcium, Natrium und Kalium wurden via Flammenphotometrie (Eppendorf EFOX 5033, HJG Spezialmesssysteme, Deutschland) und Phosphor via Vanadat-Molybdat-Methode, modifiziert nach Gericke und Kurmies (Gericke & Kurmies, 1952), im Photometer (GENESYS 10 UV, Thermo Spectronic, Rochester, NY, USA) bestimmt. Creatinin wurde im Urin mit der Jaffé-Methode analysiert (MicroVue Creatinine Assay Kit, Quidel Corporation, reader: Sunrise Tecan).

Die scheinbare Verdaulichkeit (sV %) wurde mit folgender Formel berechnet:

$$sV \% = \frac{(\text{Nährstoffaufnahme} - \text{faecale Nährstoffausscheidung})}{\text{Nährstoffaufnahme}} \times 100$$

Die Kationen-Anionen-Bilanz wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\begin{aligned} KAB \left(\frac{\text{mmol}}{100 \text{ g TS}} \right) \\ = 49,9 \times Ca + 82,3 \times Mg + 43,5 \times Na + 25,6 \times K - 64,6 \times P - 62,4 \times S \\ - 28,2 \times Cl \end{aligned}$$

Der Faktor für S wurde anhand des atomaren Gewichts und der Valenz bestimmt. (Behnsen, 1992; Kienzle et al., 1991; Kienzle & Wilms-Eilers, 1994)

Die Parameter im Kot wurden mit paarigem T-Test verglichen. Eine statistische Auswertung der unvollständig erfassten Urinparameter erschien nicht zielführend.

p-Werte <0.05 wurden als signifikant erachtet. Für die statistische Auswertung wurde die Software SigmaPlot 12.5 (Systat Software GmbH) genutzt.

5.2 Ergebnisse

Die faecale Ausscheidung und scheinbare Verdaulichkeit für Trockensubstanz, Calcium, Phosphor, Natrium und Kalium sowie die scheinbare Energieverdaulichkeit und Kationen-Anionen-Bilanz in den Durchgängen NABIC und NACL sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3. Aufnahme, faecale Ausscheidung, scheinbare Verdaulichkeit und Kationen-Anionen-Bilanz der Durchgänge NABIC und NACL

		NABIC	NACL	p-Wert
Trockensubstanzaufnahme gesamt	g TS/kg KM	11,0 ± 0,9	9,3 ± 0,8	0,00002
Faecale Trockensubstanzausscheidung	g/kg KM	1,7 ± 0,5	1,4 ± 0,4	0,2
Scheinbare Trockensubstanzverdaulichkeit	%	85 ± 4	85 ± 5	0,9
Scheinbare Energieverdaulichkeit	%	93 ± 3	93 ± 3	0,8
Calciumaufnahme	mg/kg KM	226 ± 6	226 ± 5	0,2
Faecale Calciumausscheidung	mg/kg KM	240 ± 50	207 ± 45	0,06
Scheinbar verdautes Calcium	mg/kg KM	-14 ± 48	19 ± 42	0,08
Scheinbare Calciumverdaulichkeit	%	-6 ± 21	9 ± 19	0,08
Phosphoraufnahme	mg/kg KM	156 ± 5	164 ± 5	0,0000000001
Faecale Phosphorausscheidung	mg/kg KM	113 ± 18	106 ± 22	0,3
Scheinbar verdauter Phosphor	mg/kg KM	43 ± 14	58 ± 19	0,05
Scheinbare Phosphorverdaulichkeit	%	28 ± 10	35 ± 12	0,08
Calcium-Phosphor-Verhältnis gesamte Ration		1,4 ± 0,01	1,4 ± 0,01	0,000000000001
Natriumaufnahme	mg/kg KM	88 ± 2	85 ± 7	0,1
Faecale Natriumausscheidung	mg/kg KM	6 ± 3	4 ± 2	0,1
Scheinbar verdautes Natrium	mg/kg KM	82 ± 3	81 ± 7	0,6
Scheinbare Natriumverdaulichkeit	%	93 ± 3	95 ± 2	0,1
Kaliumaufnahme	mg/kg KM	91 ± 4	86 ± 3	0,0000001
Faecale Kaliumausscheidung	mg/kg KM	5 ± 2	4 ± 2	0,6
Scheinbar verdautes Kalium	mg/kg KM	86 ± 4	82 ± 4	0,008
Scheinbare Kaliumverdaulichkeit	%	95 ± 2	95 ± 2	0,5
Kationen-Anionen-Bilanz	mmol/kg TS	497 ± 43	114 ± 18	0,0000002

5. Weitere Untersuchungen

Die Mittelwerte der Aufnahme, faecalen Ausscheidung und scheinbaren Verdaulichkeit von Natrium und Kalium sowie die Kationen-Anionen-Bilanz der Durchgänge N, HI, INS und SOL sind in Tabelle 4 gegeben.

Die Ergebnisse der Urinproben der Durchgänge N, HI und NABIC sind in Tabelle 5 gegeben.

Tabelle 4. Aufnahme, faecale Ausscheidung, scheinbare Verdaulichkeit von Natrium und Kalium und Kationen-Anionen-Bilanz der Durchgänge N, HI, INS und SOL

		N	HI	INS	SOL
Natriumaufnahme	mg/kg KM	18 ± 0	22 ± 0	22 ± 1	78 ± 2
Faecale Natriumausscheidung	mg/kg KM	4 ± 1	5 ± 1	3 ± 1	6 ± 2
Scheinbar verdautes Natrium	mg/kg KM	14 ± 1	17 ± 1	20 ± 1	73 ± 2
Scheinbare Natriumverdaulichkeit	%	79 ± 6	79 ± 6	89 ± 3	93 ± 2
Kaliumaufnahme	mg/kg KM	83 ± 4	81 ± 6	85 ± 2	86 ± 2
Faecale Kaliumausscheidung	mg/kg KM	2 ± 1	7 ± 2	4 ± 2	6 ± 1
Scheinbar verdautes Kalium	mg/kg KM	81 ± 4	75 ± 6	81 ± 3	81 ± 2
Scheinbare Kaliumverdaulichkeit	%	97 ± 1	92 ± 2	95 ± 2	94 ± 1
Kationen-Anionen-Bilanz	mmol/kg TS	-33 ± 16	13 ± 21	-80 ± 21	-53 ± 18

5. Weitere Untersuchungen

Tabelle 5. Urinparameter (pH, Creatinin, Calcium und Phosphor) der Versuchsdurchgänge N, HI & NABIC

Zeitpunkt		N		HI		NABIC	
		präprandial	postprandial	präprandial	postprandial	präprandial	postprandial
pH		5,7 ± 0,5 n=23	6,2 ± 1,0 n=25	5,4 ± 0,4 n=27	7,0 ± 0,7 n=29	6.0 ± 0.4 n=26	8.4 ± 0.3 n=29
Creatinin	mmol/l	18,3 ± 9,2 n=23	7,9 ± 5,3 n=25 (12)	9,2 ± 3,2 n=24	9,5 ± 5,1 n=29 (8)	17.7 ± 7.5 n=25	5.8 ± 2.6 n=29 (12)
Calcium	mmol/l	1,8 ± 1,6 n=22 (11)	1,1 ± 0,8 n=25 (16)	0,9 ± 0,5 n=27 (18)	0,4 ± 0,2 n=29 (29)	1.1 ± 0.4 n=25 (14)	0.7 ± 0.4 n=29 (27)
Calcium/ Creatinin		0,1 ± 0,1 n=22	0,1 ± 0,1 n=25	0,1 ± 0,0 n=24	0,0 ± 0,0 n=29	0.07 ± 0.03 n=25	0.12 ± 0.05 n=29
Phosphor	mmol/l	62,1 ± 26,1 n=20	8,4 ± 6,9 n=22 (9)	34,4 ± 16,4 n=25	18,1 ± 15,1 n=29 (11)	82.1 ± 44.0 n=25	7.9 ± 7.3 n=28 (16)
Phosphor/ Creatinin		4,2 ± 1,9 n=20	1,2 ± 1,0 n=22	3,6 ± 1,5 n=24	1,9 ± 1,1 n=29	5.5 ± 3.4 n=25	1.3 ± 0.9 n=28

n = Anzahl der Stichproben; Nummern in Klammern geben die Anzahl der Werte unter der Nachweisgrenze an

6. DISKUSSION

6.1 Kritik der Methoden

6.1.1 Anzahl und Wahl der Versuchstiere

Bei den acht für die Versuchsdurchgänge verfügbaren Foxhound-Böhringer-Ingelheim Hunden (FBI) handelte es sich in allen Versuchsdurchgängen um dieselben Individuen, wodurch trotz der geringen Anzahl der Versuchstiere eine gute Vergleichbarkeit der Daten gegeben ist. Die Anzahl von acht Tieren liegt über den Richtlinien der FEDIAF zur Durchführung von Verdauungsversuchen, die mindestens sechs adulte Tiere vorsieht (FEDIAF 2024). Bei den verwendeten Hunden handelte es sich um fünf intakte Hündinnen, zwei kastrierte Rüden und einen intakten Rüden. Da es beim Hund keine Hinweise auf geschlechtsspezifische Unterschiede zur Calciumverdaulichkeit gibt, ist die Verwendung von Individuen unterschiedlichen Geschlechts in Verdauungsversuchen zu Calcium verbreitet (u.a. Schmitt et al. 2018). Um eine möglichst hohe Vergleichbarkeit der Rationen gewährleisten zu können, wurden Hunde gleicher Rasse und damit ähnlicher Körpermasse (24-32 kg) und ähnlichem Bedarf verwendet. Dobenecker et al. (2010) konnten bei der Verfütterung von Rationen mit hohen Calciumaufnahmen einen Rasseunterschied zwischen FBI-Hunden und Beagles in Bezug auf die Nährstoff- und Energieverdaulichkeit beobachten. Die Daten der vorliegenden Arbeit stammen von FBI-Hunden als Vertreter großer Rassen und es lässt sich nicht ausschließen, dass Arbeiten an kleineren Hunderassen in Zukunft andere Ergebnisse zeigen und einen Rasseunterschied bestätigen.

6.1.2 Versuchsaufbau

Bei der Verwendung der gleichen Individuen in allen Durchgängen wäre theoretisch denkbar, dass die Rationen früherer Durchgänge durch Anpassungsvorgänge der Verdauungsphysiologie auch spätere Durchgänge beeinflussen könnten. Schmitt et al. (2018) konnten allerdings keine Anpassungen der Calciumverdaulichkeit selbst bei marginaler Versorgungslage über 28 Wochen beobachten. Da außerdem zwischen allen Versuchsdurchgängen der vorliegenden Arbeit eine Wash-Out-Periode von mindestens 14 Tagen eingehalten wurde, alle Hunde sowohl während der Versuchsdurchgänge als auch in den Wash-Out-Perioden nach NRC (2006) bedarfsdeckend mit allen Nährstoffen versorgt waren und sich in keinem der Durchgänge ein unerwarteter Einfluss der Rationsgestaltung auf die Calciumverdaulichkeit gezeigt hat, kann ein solcher Effekt ausgeschlossen werden. Jedem Bilanzversuch gingen eine dreitägige Umstellungs- und zehntägige Adaptionsphase voraus, daher sind auch Effekte des in den Versuchspausen gefütterten kommerziellen Alleinfutters auf die Calciumverdaulichkeit in den Bilanzphasen nicht anzunehmen. Der angewandte

Aufbau des Fütterungsversuchs wurde in früheren Arbeiten bereits vielfach erprobt (u.a. Siedler 2018, Herbst 2021).

6.1.3 Zusammensetzung der Ration

Um eine größtmögliche Vergleichbarkeit aller Durchgänge zu gewährleisten, wurde in allen Versuchsdurchgängen ein Basisfutter mit gleicher Rezeptur verwendet, das aus Schweinefleisch, Reis und Gelatine bestand. Um bei vergleichbarer Trockensubstanzaufnahme des Basisfutters den individuellen Energiebedarf jedes einzelnen Hundes zu decken, wurden individuelle Mengen an Schweineschmalz ergänzt. Dadurch ergaben sich teils hohe prozentuale Rohfettgehalte in einzelnen Rationen und Unterschiede in der Rohfettaufnahme zwischen den Individuen. Während Dobenecker et al. (2010) an wachsenden Hunden zeigen konnten, dass sehr hohe Calciumaufnahmen die Fettverdauung reduzieren können, gibt es umgekehrt beim Hund keine Hinweise darauf, dass der Rohfettgehalt im Futter Einfluss auf die Calciumverdaulichkeit nimmt (Hallebeek & Hazewinkel 1997, Schmitt 2018). Das lässt sich durch die hohe Fettverdaulichkeit beim Hund erklären, die laut NRC (2006) je nach Fettquelle bei bis zu 95 % liegt. Eine relevante Seifenbildung von Fett und Calcium könnte daher nur im Dünndarm stattfinden, bevor das Fett verdaut wurde. Die Calciumabsorption aus dem Verdauungskanal erfolgt beim Hund nach aktueller Studienlage vor allem im Dickdarm, in den beim Hund kaum unverdautes Fett gelangt. Die hohen Rohfettgehalte sind in den Versuchsdurchgängen der vorliegenden Arbeit daher kein potenzieller Störfaktor der Verdaulichkeit und es zeigte sich erwartungsgemäß keine systematisch niedrigere Calciumverdaulichkeit bei Individuen mit hoher Fettaufnahme.

Der Calciumgehalt der Versuchsrationen übertraf die Versorgungsempfehlung der NRC (2006) vierfach. Dabei handelt es sich um praxisübliche Aufnahmen. Eine Überversorgung in diesem Maßstab ist auch durch viele kommerzielle Alleinfuttermittel für Hunde gegeben, wodurch die Wahl dieses Versorgungslevels mit Calcium einerseits die Praxisbedingungen der Fütterung vieler privat gehaltener Hunde spiegelt und gleichzeitig sicherstellt, dass der Calciumbedarf auch bei einer möglichen Unterschätzung des Bedarfs durch NRC (2006) (s. 3.3.1.) gedeckt ist.

Durch die ausschließliche Verwendung nur einer Calciumquelle, z.B. Calciumchlorid (CaCl_2) in allen Durchgängen hätte sich eine noch größere Vergleichbarkeit der Versuchsrationen erreichen lassen. Allerdings hätte das in manchen Durchgängen zu Akzeptanzproblemen des Futters geführt und die Rationsgestaltung bei bestimmten Vorhaben wie z.B. eine Alkalisierung der Ration erschwert oder sogar unmöglich gemacht. Gleichzeitig wurde darauf geachtet, dass vor allem solche Mineralstoffquellen eingesetzt wurden, die einerseits erprobt sind und andererseits auch in kommerziellen Futtern vielfach Verwendung finden, um den Praxisbezug der Untersuchungen nicht aus den Augen zu verlieren. Trotz der unterschiedlichen

Calciumquellen war die Calciumaufnahme in g/kg KM in allen Versuchsdurchgängen exakt gleich. Allerdings ergaben sich manchmal nicht ganz ideale Verteilungen auf die Calciumsalze.

Die leichten Schwankungen in der Phosphoraufnahme ergaben sich durch die Verwendung unterschiedlicher Mineralstoffquellen zur Einstellung der Rationen je nach Zweck des Durchgangs und teils auch durch chargenbedingte Schwankungen des Calcium-Phosphor-Verhältnisses der verwendeten Rohstoffe sowie unterschiedlich hohe mineralische Verunreinigungen der Mineralrohstoffchargen. Dennoch konnte in allen Rationen das jeweils angestrebte Calcium-Phosphor-Verhältnis eingehalten werden, das in allen Versuchsdurchgängen im Sinne des Tierschutzes zwischen 1,3:1 und 2,0:1 lag und so keinen Störfaktor der Calciumverdaulichkeit darstellen konnte.

Der Vitamin-D-Bedarf war in allen Rationen und auch zwischen den Durchgängen nach NRC (2006) gut gedeckt und gleichzeitig in keinem der Durchgänge exzessiv, wodurch eine Beeinflussung des Calciumstoffwechsels durch Fehlversorgungen mit Vitamin D in allen Durchgängen ausgeschlossen werden kann.

6.1.4 Sammelmethoden

Aus Tierschutzgründen wurde auf den Einsatz von Stoffwechselkäfigen während der jeweils fünftägigen Bilanzphase verzichtet. Dadurch unterliegt die quantitative Kotsammlung einer gewissen Schwäche, da es durch Hineintreten der Hunde in den eigenen Kot oder Kotfressen zu Verlusten an Probematerial kommen kann. Dem wurde begegnet, indem die Hunde einen Großteil des Tages unter strenger Beobachtung standen und Kot aus den Einzelzwingern nach dem Absetzen so bald wie möglich und möglichst vollständig aufgesammelt wurde. Verluste an Kotmaterial würden sich in den Ergebnissen außerdem in ungewöhnlich hohen scheinbaren Verdaulichkeiten widerspiegeln, die in keinem der Durchgänge beobachtet wurden.

Durch den Verzicht auf Stoffwechselkäfige konnten nur kleine Probenvolumina Spontanurin gewonnen werden, wodurch die täglich ausgeschiedene Urinmenge nicht quantifiziert werden konnte. Bei allen Proben mit ausreichend großem Volumen wurde daher Creatinin bestimmt, um die renale Ausscheidungsrate von Calcium und Phosphor beurteilen zu können. Außerdem wurde der Urin jeweils morgens vor der Fütterung und ab zwei Stunden nach der Fütterung aufgefangen, um den Einfluss der Fütterung durch Vergleich der prä- und postprandialen Proben bestimmen zu können. Insgesamt lässt sich aber sagen, dass die renale Ausscheidung von Calcium und Phosphor nicht vollständig beurteilt werden kann. Im letzten Versuchsdurchgang (NACL) wurde kein Urin gesammelt, da eine NaCl-Zulage eine noch höhere Verdünnung des Urins mit sich bringt und der Phosphorgehalt des Urins bereits in den anderen Versuchsdurchgängen häufig unter der Nachweisgrenze lag (s. Table 4, Tabelle 5).

6.2 Interpretation der Ergebnisse

6.2.1 Calciumverdaulichkeit

Die Ergebnisse aller sechs Versuchsdurchgänge der vorliegenden Arbeit zeigen bei gleicher Calciumaufnahme eine enge lineare Beziehung zwischen faecaler Calcium- und Trockensubstanzausscheidung beim Hund (Abb. 2) und bestätigen damit die Ergebnisse früherer Arbeiten beim Fleischfresser (Kienzle et al. 2006, Prola et al. 2009, Kienzle et al. 2017)

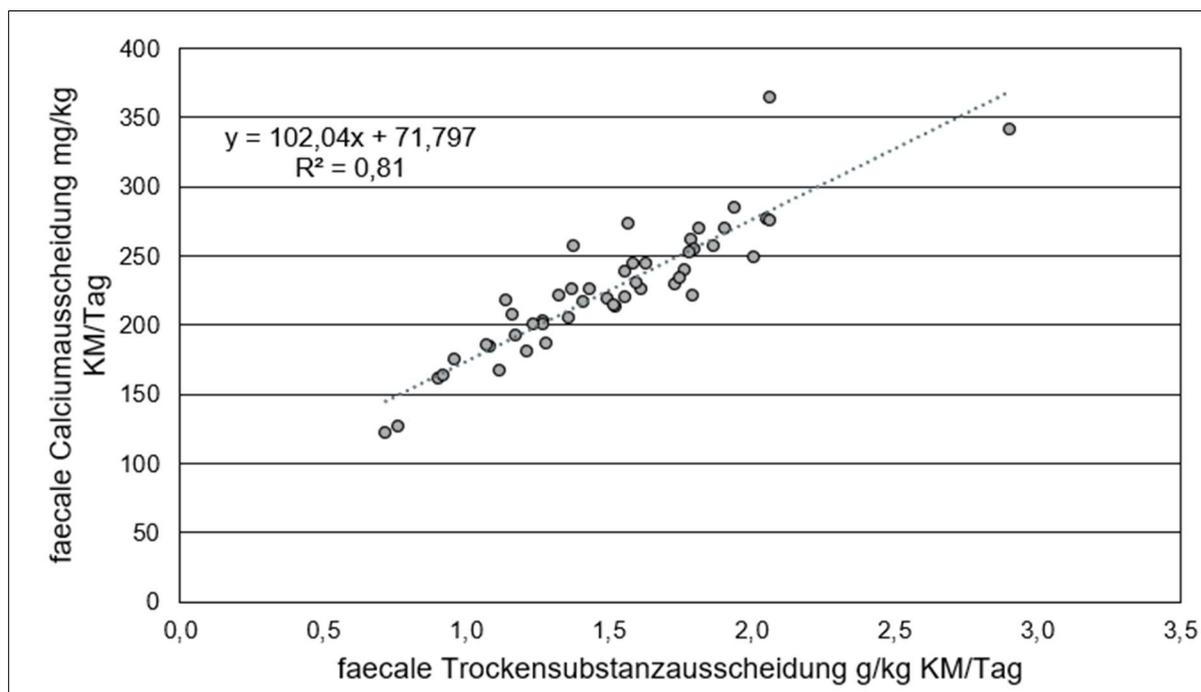


Abbildung 2. Beziehungen zwischen faecaler Trockensubstanzausscheidung (g/kg KM/Tag) und faecaler Calciumausscheidung (mg/kg KM/Tag), n=48

Faktoren wie der Einsatz unterschiedlicher Calcium- und Phosphorquellen, ein verändertes Calcium-Phosphor-Verhältnis (zwischen 1,3 und 2,0), die Natriumaufnahme, die Kationen-Anionen-Bilanz und die Höhe der individuellen Fettzulage konnten diese lineare Korrelation nicht stören.

Die Ergebnisse passen zu den Hypothesen, dass die Calciumaufnahme beim Hund wenig von der Aufnahme in Relation zum Bedarf abhängt (Mack et al. 2015, Böswald et al. 2018, Schmitt et al. 2018), vermutlich weitgehend passiv und überwiegend im Dickdarm erfolgt (Schünemann et al. 1989).

Dominiert die nicht steuerbare, passive Calciumabsorption aus dem Darm, kann der Hund einen Mangel an Calcium in der Nahrung nicht über eine vermehrte Absorption aus dem Chymus ausgleichen. Die Arbeit von Schmitt et al. (2018) weist darauf hin, dass der Hund zur

Aufrechterhaltung der Calcium-Homöostase bei marginaler Calciumversorgung stattdessen auf den Knochen als Speicher von Calcium zurückgreift.

Dieser Unterschied in der Verdauungsphysiologie zu anderen Tierarten wie z.B. Ratten und Mäusen ergibt bei Beutetierfressern aus evolutionsbiologischer Sicht Sinn. Das Fressen ganzer Beutetiere zur Deckung des Energie- und Nährstoffbedarfs bringt bei ausreichender Nahrungsverfügbarkeit immer auch eine bedarfsdeckende Versorgung mit Calcium mit sich, da das Benagen und Fressen von Skelettknochen eine hohe Calciumversorgung bedeutet. Wenn keine Beutetiere vorhanden sind, gibt es in der Natur keine Nahrung und damit auch kein Calcium für Fleischfresser. Im Laufe der Evolution hätte die Entwicklung oder Beibehaltung aktiver, energieverbrauchender Absorptionsmechanismen für Calcium daher keinen Sinn für die Fleischfresser ergeben (Schmitt et al. 2018).

Eine beim Hund weitgehend passive Absorption von Calcium im Dickdarm würde auch erklären, weshalb eine höhere Löslichkeit der Calciumquelle in Kombination mit einer löslichen Phosphorquelle in Durchgang SOL keinen Einfluss auf die Calciumverdaulichkeit nahm. Löslichkeit ist eine Voraussetzung für die Absorption von Calcium (Bronner & Pansu 1999). Wenn Calcium beim Hund aber erst im Dickdarm absorbiert wird, ist es möglich, dass sich im Verlauf des Verdauungstraktes die vorliegende chemische Form des Calciums ändern kann, z.B. durch Interaktion mit anderen Ionen. Insbesondere das Ausfallen von Calciumphosphaten bei der Kombination von löslichen Calcium- und Phosphorsalzen ist zu erwarten. Es könnte z.B. Tricalciumphosphat $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ ausfallen (Böswald et al. 2018). Eine Verminderung der Phosphor-Löslichkeit in Wasser nach 90 Minuten konnte für den Mineral-Vitamin-Mix des Durchgangs SOL in vitro nach der Methode von Lineva et al. (2019) nachgewiesen werden, was für eine Komplexbildung mit Calcium spricht.

Damit verbleibt neben der Höhe der Calciumaufnahme als Einflussfaktor auf die absorbierte Calciummenge nur noch die faecale Trockensubstanzausscheidung. Diese ist für die Planung zukünftiger Arbeiten ebenso wie für die Interpretation bestehender Studien zur Calciumverdaulichkeit beim Hund relevant. So muss bei der Versuchsplanung eine vergleichbare Trockensubstanzaufnahme und -verdaulichkeit sichergestellt werden, um zu gewährleisten, dass beobachtete Unterschiede in der Calciumverdaulichkeit keine Folge einer unterschiedlichen Trockensubstanzausscheidung sind.

Auch für die Fütterungspraxis hat die lineare Beziehung zwischen Calcium- und Trockensubstanzverdaulichkeit Bedeutung: Bei der Entwicklung kommerzieller Hundefutter und im Rahmen der Zusammenstellung selbstgekochter Rationen muss beachtet werden, dass durch eine Erhöhung der Trockensubstanzausscheidung (z.B. durch einen höheren Fasergehalt des Futters) eine geringere Calciumverdaulichkeit zu erwarten ist. Das ist insbesondere dann relevant, wenn der Calciumgehalt des Futters die Versorgungsempfehlung

nach NRC (2006) nur knapp deckt. Denkbar wäre ein solches Szenario z.B. im Rahmen der Rationsberechnung für einen übergewichtigen Hund, der viel Faser erhält, für Arbeitshunde oder für laktierende Hündinnen, die extrem viel Futter benötigen und deshalb auch bei hoher Trockensubstanzverdaulichkeit eine hohe faecale Trockensubstanzausscheidung aufweisen. Auch bei Fütterung mit viel pflanzlichem Material, z.B. vegan oder vegetarisch, muss geprüft werden, ob überdurchschnittlich viel Trockensubstanz mit dem Kot ausgeschieden wird. In diesem Fall könnte die Calciumverdaulichkeit reduziert sein.

Unter Maßgabe, dass die Theorie von der überwiegend passiven Absorption von Calcium im Dickdarm beim Hund zutreffend ist, können folgende Punkte zu dem Zusammenhang zwischen faecaler Trockensubstanzausscheidung und faecaler Calciumausscheidung beitragen:

1. Eine höhere Trockensubstanzausscheidung ist bei gleichem Wassergehalt des Kotes und Chymus mit einer höheren Füllung des Dickdarms verbunden. Damit wird der Anteil des Chymus, der in Kontakt mit der Schleimhaut kommt, zwangsläufig reduziert, da die relative Oberfläche dieses „Zylinders“ mit steigender Größe bzw. Füllungsgrad des Darms sinkt.
2. Eine höhere Trockensubstanzausscheidung kann, muss aber nicht mit einer kürzeren Passagezeit des Dickdarms verbunden sein, was insbesondere bei faserreichem Material einen zusätzlichen Effekt haben kann. Dies wurde in der vorliegenden Arbeit nicht geprüft. Trotzdem darf dieser Aspekt nicht völlig aus den Augen verloren werden.

6.2.2 Calcium-Creatinin-Quotient im Urin

Wie in der Literatur beschrieben, gab es sehr wenig Effekte der Rationen auf den Calcium-Creatinin-Quotienten im Urin (Chen & Neuman 1955). Deutliche Effekte zeigten sich nur, wenn der Urin-pH unter 5 lag. Es ist bekannt, dass eine metabolische Azidose zur vermehrten Ausscheidung von Calcium führt (Alexander et al. 2016). Hiermit ist auch erklärt, warum oberhalb dieses Wertes keine Effekte des Säure-Basen-Haushalts auf die renale Ausscheidung mehr auftreten.

6.2.3 Faecale und renale Phosphorausscheidung

Während sich die Calciumverdaulichkeit in der vorliegenden Arbeit lediglich von der Trockensubstanzausscheidung signifikant beeinflussen ließ, konnte bei der Phosphorverdaulichkeit auch ein signifikanter Unterschied bei Verwendung unterschiedlich löslicher Calcium- und Phosphorquellen beobachtet werden. Im Durchgang SOL war die Phosphorverdaulichkeit durch Ergänzung löslicher Calcium- und Phosphorquellen (CaCl_2 , NaH_2PO_4) höher als bei vorwiegender Verwendung einer weniger löslichen Quelle in Durchgang INS (CaHPO_4).

Im Gegensatz zu Calcium wird Phosphor beim Hund sowohl im Dünndarm als auch im Dickdarm absorbiert (Schünemann et al. 1989). Das erklärt den beobachteten Unterschied zwischen löslichen und unlöslichen Verbindungen in der Phosphorverdaulichkeit im Vergleich zur Calciumverdaulichkeit hinreichend.

Auch die Phosphorausscheidung über die Nieren sowie das Verhältnis von Phosphor zu Creatinin nahmen bei Verfütterung löslicher Quellen zu. Eine signifikant erhöhte Phosphorausscheidung konnte vor allem präprandial beobachtet werden.

Im Vergleich zu früheren Studien zur Phosphorverdaulichkeit beim Hund (Dobenecker et al. 2021a, 2021b, Herbst 2021) waren die beobachteten Effekte der löslichen Phosphorquelle auf faecale und renale Phosphorausscheidung in der vorliegenden Arbeit geringer. Die sinkende Phosphorlöslichkeit in vitro nach 90 min in Wasser des im Durchgang SOL verwendeten Mineral-Vitamin-Mixes könnte diesen geringeren Effekt erklären, da die Reaktion der löslichen Calcium- und Phosphorquellen zu einer weniger löslichen Calcium-Phosphor-Verbindung bereits im Futter sowie im Laufe der Darmpassage in vivo denkbar ist.

Pastoor et al. (1994) beobachteten bei Katzen, die als Phosphorquelle NaH_2PO_4 erhielten, einen Rückgang der renalen Phosphorausscheidung, wenn CaCO_3 teilweise durch CaCl_2 ersetzt wurde. Dies bestätigt die eigenen Ergebnisse.

Die Ergebnisse der Urinparameter der Durchgänge N, HI und NABIC zeigen ebenfalls eine höhere Phosphorausscheidung präprandial im Vergleich zu postprandial. Am höchsten lag die präprandiale Phosphorausscheidung in Durchgang NABIC. Es bleibt unklar, welcher physiologische Regulationsmechanismus diese deutliche Erhöhung der quantitativen Phosphorausscheidung bedingt, denkbar wäre aber z.B. eine Hemmung der Natrium-Phosphor-Co-Transporter (NaPi-IIa, NaPi-IIc) in der Niere zur Steuerung der Phosphor-Homöostase (Murer et al. 2004), möglicherweise infolge der postprandialen verstärkten Alkalisierung durch den Einsatz von NaHCO_3 . Beim Hund kommt es physiologisch immer zu einer leichten postprandialen Alkalisierung infolge der vermehrten Magensäurebildung (Langbroek et al. 1990). Diese Alkalisierung hat sich in der vorliegenden Arbeit postprandial

auch im pH-Wert des Urins wiedergespiegelt. Sofern eine Ausscheidung alkalisierender Komponenten wie Natrium oder Kalium postprandial als Reaktion auf die verfütterte Kationen-Anionen-Bilanz folgt, könnte das durch eine Wirkung auf Co-Transporter auch die Phosphorausscheidung beeinflussen. Die präprandial höheren Phosphorwerte im Urin könnten auf eine circadiane bzw. prandiale Rhythmik der Phosphorausscheidung zurückzuführen sein. Möglich sind auch Verzögerungen der Phosphorausscheidung.

Da der Phosphatstoffwechsel nicht Fragestellung der vorliegenden Arbeit war und die Phosphoraufnahmen der Rationen daher einer geringeren Vergleichbarkeit als die Calciumaufnahmen unterliegen, können keine konkreten Schlüsse auf den Phosphorstoffwechsel des Hundes gezogen werden. Dass Effekte insbesondere durch die Löslichkeit der Phosphorquelle beobachtet wurden, bestätigt jedoch Ergebnisse früherer Untersuchungen beim Hund (Dobenecker et al. 2021a, 2021b, Herbst 2021). Eine denkbare Konsequenz für die Fütterungspraxis dieser Beobachtungen wäre, in Hinblick auf die Nierengesundheit weniger lösliche Phosphorquellen wie CaHPO_4 in der Rationsgestaltung von Hunden zu bevorzugen.

7. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der Zusammenhang zwischen Rationsgestaltung und Calciumverdaulichkeit näher untersucht. Ziel war es, mögliche Effekte durch veränderte Parameter unter Ausschluss anderer Störfaktoren – insbesondere von Unterschieden in der Calciumaufnahme – zu untersuchen. Folgende Parameter wurden überprüft:

- faecale Trockensubstanzausscheidung
- Löslichkeit der Calcium- und Phosphorquellen
- Calcium-Phosphor-Verhältnis
- Kationen-Anionen-Bilanz
- Natriumzulagen

Zu diesem Zweck wurden sechs Verdauungsversuche mit acht adulten Hunden (Foxhound-Boehringer-Ingelheim Hunde, drei bis fünf Jahre, fünf intakte Hündinnen, zwei kastrierte, ein intakter Rüde) durchgeführt. In allen Versuchsdurchgängen wurde das Basisfutter (Schweinefleisch, Reis und Gelatine) individuell mit Schmalz und einem Mineral-Vitamin-Mix ergänzt, um eine exakt gleiche Calciumaufnahme (226 mg/kg KM/Tag) bei adäquater Energieversorgung jedes Individuums zu gewährleisten. Nach dreitägiger Futterumstellung und zehntägiger Adaption wurde in jedem Durchgang über fünf Tage der Kot der Tiere gesammelt, lyophilisiert und analysiert (Trockensubstanz, Energie, Calcium, Phosphor, Natrium, Kalium). In fünf der sechs Durchgänge wurde auch Spontanurin zur Bestimmung von pH, Calcium, Phosphor und Creatinin aufgefangen.

Überprüfung des Effekts der faecalen Trockensubstanzausscheidung (Publikation 1)

Ein Versuchsdurchgang mit bedarfsgerechter Energiezufuhr diente als Basis (N). Im zweiten Versuchsdurchgang (HI) wurde die Menge an Basisfutter nahezu verdoppelt, während die Calciumaufnahme nicht variiert wurde, um eine höhere faecale Trockensubstanzausscheidung bei gleicher Calciumaufnahme zu erreichen. Die verwendeten Calcium- und Phosphorverbindungen waren überwiegend unlöslich und das Calcium-Phosphor-Verhältnis lag bei 1,3:1 (N) bzw. 1,4:1 (HI).

Überprüfung der Effekte von löslichen Calcium- und Phosphorverbindungen (Publikation 2)

In einem Versuchsdurchgang (SOL) wurde ein Teil des Calciums aus CaCl_2 und der Phosphor aus NaH_2PO_4 aufgenommen. Dagegen wurden bei gleicher Calciumaufnahme in Durchgang INS Calcium und Phosphor überwiegend aus CaHPO_4 verwendet. Das Calcium-Phosphor-Verhältnis lag bei 1,9:1 (SOL) bzw. 2,0:1 (INS).

Überprüfung der Effekte von Natriumzulagen (unveröffentlichte Daten)

Es wurden Zulagen von NaHCO_3 (NABIC) und NaCl (NACL) hinsichtlich ihres Einflusses auf den Calciumstoffwechsel geprüft. Die Calcium- und Phosphorquellen waren überwiegend unlöslich und das Calcium-Phosphor-Verhältnis lag bei 1,4:1. Die Zulage von NaHCO_3 bewirkte eine starke Erhöhung der Kationen-Anionen-Bilanz in NABIC.

Ergebnisse Publikation 1

Ein linearer Zusammenhang zwischen faecaler Trockensubstanz- und Calciumausscheidung bestätigte sich ($y=105,23x+62,111$; $R^2=0,92$). Bei der faecalen Phosphorausscheidung zeigte sich ebenfalls signifikante Korrelation mit der Trockensubstanzausscheidung ($y=59,87x+29,551$; $R^2=0,80$). Wenn mehr Basisfutter gegeben wurde, sank die scheinbare Verdaulichkeit von Calcium und Phosphor.

Ergebnisse Publikation 2

Die Löslichkeit der Calcium- und Phosphor-Quelle zeigte keinen Einfluss auf die scheinbare Calciumverdaulichkeit aber auf die scheinbare Phosphorverdaulichkeit und den Phosphor-Creatinin-Quotienten im Urin. Die scheinbare Phosphorverdaulichkeit stieg bei der löslichen Quelle an, ebenso der Phosphor-Creatinin-Quotient. Der Calcium-Creatinin-Quotient änderte sich dagegen nur mit dem Urin-pH-Wert, er stieg bei Werten unter 5 an.

Ergebnisse, die nicht in wissenschaftlichen Originalarbeiten veröffentlicht wurden

Die Natriumzufuhr hatte keinen Effekt auf die scheinbare Calciumverdaulichkeit. Der Unterschied in der Kationen-Anionen-Bilanz zwischen NABIC und NACL hatte keinen Effekt auf die scheinbare Verdaulichkeit von Calcium und Phosphor.

Über beide Publikationen und die unveröffentlichten Ergebnisse hinweg hatte das Calcium-Phosphor-Verhältnis innerhalb des geprüften Bereichs zwischen 1,3 und 2,0 keinen Effekt auf die scheinbare Calciumverdaulichkeit.

Die Ergebnisse passen ins Bild der Hypothese, dass Calcium beim Hund in den hinteren Darmabschnitten und weitgehend passiv absorbiert wird. Der Phosphorstoffwechsel des Hundes scheint weiteren Einflüssen zu unterliegen, wobei insbesondere die Löslichkeit des Phosphors eine Rolle spielt.

8. SUMMARY

In the present work the relationship between diet design and calcium digestibility was investigated. The aim was to check possible effects of changing parameters, excluding other disruptive factors - especially differences in calcium intake. The parameters were:

- Faecal dry matter excretion
- Solubility of calcium and phosphorus sources
- Calcium-phosphorus-ratio
- Cation-anion-balance
- Sodium supplementation

For this purpose, six digestive experiments were carried out with eight adult dogs (Foxhound-Boehringer-Ingelheim dogs, three to five years old, five intact females, two castrated, one intact male). In all trials, the basic feed (pork, rice and gelatin) was individually supplemented with lard and a mineral-vitamin-mix to ensure exactly the same calcium intake (226 mg/kg bw/day) with adequate energy supply for each individual. After three days of feed conversion and ten days of adaptation, the faeces of the animals were collected for five days, then lyophilized and analyzed (dry matter, energy, calcium, phosphorus, sodium, potassium). In five of the six trials, spontaneous urine was also collected to determine pH, calcium, phosphorus and creatinine.

Investigation of the effect of faecal dry matter excretion (publication 1)

A trial run with sufficient energy supply served as basis (N). In the second experimental run (HI) the amount of basic feed was almost doubled, while the calcium intake was not varied to achieve a higher fecal excretion at the same calcium intake. The calcium and phosphorus compounds used were predominantly insoluble and the calcium-phosphorus-ratio was 1.3:1 (N) and 1.4:1 (HI).

Investigation of the effects of soluble calcium and phosphorus sources (publication 2)

In one trial (SOL), a part of the calcium from CaCl_2 and the phosphorus from NaH_2PO_4 was absorbed. In contrast, calcium and phosphorus were used predominantly from CaHPO_4 in trial INS at the same calcium intake. The calcium-phosphorus ratio was 1.9:1 (SOL) and 2.0:1 (INS).

Investigation of the effects of sodium supplementation (unpublished data)

NaHCO_3 (NABIC) and NaCl (NACL) supplementation were tested for their influence on calcium metabolism. The calcium and phosphorus sources were predominantly insoluble, and the calcium-phosphorus-ratio was 1.4:1. The addition of NaHCO_3 resulted in a strong increase of the cation-anion-balance in NABIC.

Results publication 1

A linear relationship between the excretion of faecal dry matter and calcium was confirmed ($y=105.23x+62.111$; $R^2=0.92$). The fecal phosphorus excretion also showed a significant correlation with the dry matter excretion ($y=59.87x+29.551$; $R^2=0.80$). When more basic feed was given, the apparent digestibility of calcium and phosphorus decreased.

Results publication 2

The solubility of the calcium and phosphorus source showed no influence on the apparent calcium digestibility but on the apparent phosphorus digestibility and the phosphorus-creatinine-ratio in urine. The apparent phosphorus digestibility increased at the soluble source, as did the phosphorus-creatinine-quotient. The calcium-creatinine-ratio changed only with urine pH; it increased at values below 5.

Results not published in original scientific papers

The sodium intake had no effect on the apparent calcium digestibility. The difference in cation-anion-balance between NABIC and NACL had no effect on the apparent digestibility of calcium and phosphorus.

Over both publications and the unpublished results, the calcium-phosphorus-ratio within the tested range of 1.3 to 2.0 had no effect on the apparent calcium digestibility.

The results fit the hypothesis that calcium is absorbed in the dog's posterior intestines and largely passively. The phosphorus metabolism of the dog seems to be subject to further influences, in particular the solubility of phosphorus plays a role.

9. LITERATURVERZEICHNIS

Agus, Z. S., Gardner, L. B., Beck, L. H., & Goldberg, M. (1973). Effects of parathyroid hormone on renal tubular reabsorption of calcium, sodium, and phosphate. *The American journal of physiology*, 224(5), 1143–1148.

Agus, Z. S., Puschett, J. B., Senesky, D., & Goldberg, M. (1971). Mode of action of parathyroid hormone and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate on renal tubular phosphate reabsorption in the dog. *The Journal of clinical investigation*, 50(3), 617–626.

Alexander, R. T., Cordat, E., Chambrey, R., Dimke, H., & Eladari, D. (2016). Acidosis and urinary calcium excretion: Insights from genetic disorders. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(12), 3511–3520.

Aliapoulios, M. A., Goldhaber, P., & Munson, P. L. (1966). Thyrocalcitonin inhibition of bone resorption induced by parathyroid hormone in tissue culture. *Science*, 151(3708), 330–331.

Becker, N., Kienzle, E., & Dobenecker, B. (2012). Kalziummangel - bei wachsenden und ausgewachsenen Hunden ein Problem. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K Kleintiere / Heimtiere*, 40(02), 135–139.

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

Bensley, S. H. (1947). The normal mode of secretion in the parathyroid gland of the dog. *The Anatomical record*, 98(3), 361–381.

Blumenthal, N. C., Betts, F., & Posner, A. S. (1975). Effect of carbonate and biological macromolecules on formation and properties of hydroxyapatite. *Calcified tissue research*, 18(2), 81–90.

Boyce, R. W., Paddock, C. L., Franks, A. F., Jankowsky, M. L., & Eriksen, E. F. (1996). Effects of intermittent hPTH(1-34) alone and in combination with 1,25(OH)(2)D(3) or risedronate on endosteal bone remodeling in canine cancellous and cortical bone. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 11(5), 600–613.

Böswald, L. F., Dobenecker, B., Clauss, M., & Kienzle, E. (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.

Bronner, F. (1998). Calcium absorption - a paradigm for mineral absorption. *The Journal of Nutrition*, 128(5), 917-920.

- Bronner, F. (2003). Mechanisms and functional aspects of intestinal calcium absorption. *Journal of Experimental Zoology Part a Comparative Experimental Biology*, 300A(1), 47–52.
- Bronner, F., & Pansu, D. (1999). Nutritional aspects of calcium absorption. *Journal of Nutrition*, 129(1), 9–12.
- Brown, E. M., Gamba, G., Riccardi, D., Lombardi, M., Butters, R., Kifor, O., Sun, A., Hediger, M. A., Lytton, J., & Hebert, S. C. (1993). Cloning and characterization of an extracellular Ca(2+)-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature*, 366(6455), 575–580.
- Bussolati, G., & Pearse, A. G. E. (1967). Immunofluorescent Localization of Calcitonin in The 'C' Cells of Pig and Dog Thyroid. *Journal of Endocrinology*, 37(2), 205-NP
- Calvo, M. S., Moshfegh, A. J., & Tucker, K. L. (2014). Assessing the health impact of phosphorus in the food supply: Issues and considerations. *Advances in Nutrition*, 5(1), 104–113.
- Chacar, F. C., Kogika, M. M., Zafalon, R. V. A., & Brunetto, M. A. (2020). Vitamin D Metabolism and Its Role in Mineral and Bone Disorders in Chronic Kidney Disease in Humans, Dogs and Cats. *Metabolites*, 10(12), 499.
- Chen, P. S., & Neuman, W. F. (1955). Renal excretion of calcium by the dog. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 180(3), 623-631.
- Chick, D. H. (1976). Study of rickets in Vienna 1919-1922. *Medical History*, 20(1), 41-51.
- Ching, S. V., Fettman, M. J., Hamar, D. W., Nagode, L. A., & Smith, K. R. (1989). The effect of chronic dietary acidification using ammonium chloride on Acid-Base and mineral metabolism in the adult cat. *Journal of Nutrition*, 119(6), 902–915.
- Clapham, D. E. (2007). Calcium Signaling. *Cell*, 131(6), 1047–58.
- Clark, J. D., & Kenny, A. D. (1969). Hog thyrocalcitonin in the dog: urinary calcium, phosphorus, magnesium and sodium responses. *Endocrinology*, 84(5), 1199–1205.
- Clynes, M. A., Harvey, N. C., Curtis, E. M., Fuggle, N. R., Dennison, E. M., & Cooper, C. (2020). The epidemiology of osteoporosis. *British Medical Bulletin*, 133(1), 105–117.
- Collip, J. B. (1925). The extraction of a parathyroid hormone which will prevent or control parathyroid tetany and which regulates the level of blood calcium. *Journal of Biological Chemistry*, 63(2), 395-438.

- Copp, D. H., Cameron, E. C., Cheney, B. A., Davidson, A. G. F., & Henze, K. G. (1962). Evidence for Calcitonin—A New Hormone from the Parathyroid That Lowers Blood Calcium. *Endocrinology*, 70(5), 638–649.
- Cramer, C. F. (1965). Sites of calcium absorption and the calcium concentration of gut contents in the dog. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 43(1), 75–78.
- Cramer, C. F., Parkes, C. O., & Copp, D. H. (1969). The effect of chicken and hog calcitonin on some parameters of Ca, P, and Mg metabolism in dogs. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 47(2), 181–184.
- Cunningham, J., Locatelli, F., & Rodriguez, M. (2011). Secondary Hyperparathyroidism: Pathogenesis, Disease Progression, and Therapeutic Options. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 6(4), 913–921.
- De Fornel-Thibaud, P., Blanchard, G., Escoffier-Chateau, L., Segond, S., Guetta, F., Begon, D., Delisle, F., & Rosenberg, D. (2007). Unusual case of osteopenia associated with nutritional calcium and vitamin D deficiency in an adult dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 43(1), 52–60.
- DeLuca, H. F. (2014). History of the discovery of vitamin D and its active metabolites. *BoneKEY reports*, 3, 479.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE) (2013). Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Deutschland
- Dittmer, K. E., & Thompson, K. G. (2011). Vitamin D Metabolism and Rickets in Domestic Animals: A Review. *Veterinary Pathology*, 48(2), 389-407.
- Diquélou, A., Chaput, C., Priymenko, N., & Benoit, E. (2005). Hypocalcaemia due to nutritional calcium deficiency and hypoparathyroidism in an adult dog. *Veterinary Record*, 156(2), 45–48.
- Dobenecker, B., Frank, V., & Kienzle, E. (2010). High calcium intake differentially inhibits nutrient and energy digestibility in two different breeds of growing dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(5), e109–e114.
- Dobenecker, B., Kienzle, E., & Siedler, S. (2021a). The source matters—effects of high phosphate intake from eight different sources in dogs. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 11(12), 3456.
- Dobenecker, B., Reese, S., & Herbst, S. (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., Schmitt, S., Mack, J., Kienzle, E., Alexander, L., & Morris, P. (2014). Regulation of intestinal calcium absorption appears to be different in dogs and man (908.9). *The FASEB Journal*, 28, 908.9.
- Dodd, S. A. S., Adolphe, J., Dewey, C., Khosa, D., Abood, S. K., & Verbrugghe, A. (2024). Efficacy of vitamin D2 in maintaining serum total vitamin D concentrations and bone mineralisation in adult dogs fed a plant-based (vegan) diet in a 3-month randomised trial. *British Journal of Nutrition*, 131(3), 391-405.
- Dodd, S., Cave, N., Abood, S., Shoveller, A., Adolphe, J., & Verbrugghe, A. (2020). An observational study of pet feeding practices and how these have changed between 2008 and 2018. *Veterinary Record*, 186(19), 643.
- Kopic, S., & Geibel, J. P. (2013). Gastric Acid, Calcium Absorption, and Their Impact on Bone Health. *Physiological Reviews*, 93(1), 189–268.
- Engelhardt, W., & Breves, G. (2005). Physiologie der Haustiere. 2. Edition, *Enke Verlag*, Stuttgart.
- FEDIAF (2024). Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs. *The European Pet Food Industry Federation*, Brussels.
- Felsenfeld, A. J., & Levine, B. S. (2015). Calcitonin, the forgotten hormone: does it deserve to be forgotten? *Clinical Kidney Journal*, 8(2), 180–187.
- Foster, G. V., Baghdiantz, A., Kumar, M. A., Slack, E., Soliman, H. A., & MacIntyre, I. (1964). Thyroid origin of calcitonin. *Nature*, 202(4939), 1303-1305.
- Gericke, S., & Kurmies, B. (1952). Colorimetrische Bestimmung der Phosphorsure mit Vanadat-Molybdat. *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie*, 137, 15–22.
- Gershoff, S. N., Legg, M. A., & Hegsted, D. M. (1958). Adaptation to Different Calcium Intakes in Dogs. *The Journal of Nutrition*, 64(2), 303–312.
- Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE) (1989). Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Hunde. *DLG-Verlag GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland*.
- Gross, E. G. (1927). The Effect of Lactose on Calcium-Phosphorus Balance in Dogs. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 80(3), 661–667.
- Hallebeek, J. M., & Hazewinkel, H. a. W. (1997). Effect of isoenergetic substitution of dietary fat (beef tallow) for carbohydrates (wheat starch) on the calcium absorption in the dog. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 78(1–5), 60–66.

- Herbst, S. (2021). Einfluss der Fütterung verschiedener Phosphatquellen im Exzess auf ausgewählte Serumparameter beim gesunden, adulten Hund. *Dissertation, LMU München: Tierärztliche Fakultät.*
- Hess, A. F., & Weinstock, M. (1924). Antirachitic properties imparted to lettuce and to growing wheat by ultraviolet irradiation. *Experimental Biology and Medicine*, 22(1), 5–6.
- High, W. B., Capen, C. C., & Black, H. E. (1981). The effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol, parathyroid hormone, and thyroxine on trabecular bone remodeling in adult dogs. A histomorphometric study. *The American journal of pathology*, 105(3), 279–287.
- Hirsch, P. F., & Baruch, H. (2003). Is calcitonin an important physiological substance?. *Endocrine*, 21(3), 201–208.
- Holick, M F (1981). The cutaneous photosynthesis of previtamin D3: a unique photoendocrine system. *Journal of Investigative Dermatology*, 77(1), 51–58.
- How, K., Hazewinkel, H. A. W., & Mol, J. A. (1994). Dietary vitamin D dependence of cat and dog due to inadequate cutaneous synthesis of vitamin D. *General and Comparative Endocrinology*, 96(1), 12-18.
- Huldschinsky, K. (1919). Heilung von Rachitis durch künstliche Höhensonne. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 45(26), 712-713.
- Hurst, E. A., Homer, N. Z., & Mellanby, R. J. (2020). Vitamin D Metabolism and Profiling in Veterinary Species. *Metabolites*, 10(9), 371.
- Kienzle, E., Brenten, T., & Dobenecker, B. (2017). Impact of faecal DM excretion on faecal calcium losses in dogs eating complete moist and dry pet foods – food digestibility is a major determinant of calcium requirements. *Journal of Nutritional Science*, 6, e13.
- Kienzle, E., Dobenecker, B., Wichert, B., & Schuster, S. (2006). Effect of fecal water and dry matter excretion on fecal mineral excretion in dogs studied in a fiber model. *Journal of Nutrition*, 136(7), 2001S-2003S.
- Kienzle, E., Schuknecht, A., & Meyer, H. (1991). Influence of food composition on the urine pH in cats. *The Journal of Nutrition*, 121(11 Suppl.), S87–S88.
- Kienzle, E., & Wilms-Eilers, S. (1994). Struvite diet in cats: Effect of ammonium chloride and carbonates on acid base balance of cats. *Journal of Nutrition*, 124, 2652S–2659S.
- Krook, L., Lutwak, L., Henrikson, P., Kallfelz, F., Hirsch, C., Romanus, B., Bélanger, L. F., Marier, J. R., & Sheffy, B. E. (1971). Reversibility of Nutritional Osteoporosis: Physicochemical Data on Bones from an Experimental Study in Dogs. *Journal of Nutrition*, 101(2), 233–246.

- Kumar, M. A., Foster, G., & Macintyre, I. (1963). Further Evidence for Calcitonin. A Rapid-Acting Hormone Which Lowers Plasma-Calcium. *The Lancet*, 282(7306), 480–482.
- Langbroek, A. J. M., Nijmeijer, A., Rispens, P., & Zijlstra, W. G. (1990). Pitfalls in acid/base experiments with conscious dogs. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 417(2), 157–160.
- Lineva, A., Kirchner, R., Kienzle, E., Kamphues, J., & Dobenecker, B. (2019). A pilot study on in vitro solubility of phosphorus from mineral sources, feed ingredients and compound feed for pigs, poultry, dogs and cats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(1), 317–323.
- Liu, C. H., & McCay, C. H. (1953). Studies of calcium metabolism in dogs. *Journal of Gerontology*, 8(3), 264–271.
- MacCallum, W. G., & Voegtlin, C. (1909). On the relation of tetany to the parathyroid glands and to calcium metabolism. *The Journal of experimental medicine*, 11(1), 118–151.
- MacIntyre, I. (1968). Calcitonin: a review of its discovery and an account of purification and action. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 170(1018), 49–60.
- Mack, J. K., Alexander, L. G., Morris, P. J., Dobenecker, B., & Kienzle, E. (2015). Demonstration of uniformity of calcium absorption in adult dogs and cats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99(5), 801–809.
- McCollum, E. V., Simmonds, N., Becker, J. E., & Shipley, P. G. (1922). Studies on experimental rickets: XXI. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition, *Journal of Biological Chemistry*, 53(2), 293-312.
- Malluche, H. H., Sherman, D., Meyer, W., Ritz, E., Norman, A. W., & Massry, S. G. (1982). Effects of long-term infusion of physiologic doses of 1-34 PTH on bone. *The American journal of physiology*, 242(2), F197–F201.
- Mellanby, E. (1919), An experimental investigation in rickets. *The Lancet*, 1, 407-412.
- Meyer, H., & Mundt, H. C. (1983). Untersuchungen zum Einsatz von Knochenschrot in Futterrationen für Hunde. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 90, 81–86.
- Meyer, H., & Zentek, J. (2005). Ernährung des Hundes. *Parey Verlag, Stuttgart*.
- Mol, J. A., Kwant, M. M., Arnold, I. C., & Hazewinkel, H. A. (1991). Elucidation of the sequence of canine (pro)-calcitonin. A molecular biological and protein chemical approach. *Regulatory Peptides*, 35(3), 189–195.

- Morris, J. G. (2002). Cats discriminate between cholecalciferol and ergocalciferol*. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 86(7–8), 229–238.
- Murer, H., Forster, I., & Biber, J. (2004). The sodium phosphate cotransporter family SLC34. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 447(5), 763–767.
- National Research Council (NRC) (2006). Nutrient requirements of dogs and cats. *The National Academies Press, Washington, DC, USA*.
- Norman, A. W. (2008). From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88(2), 491S-499S.
- Parker, V. J., Rudinsky, A. J., & Chew, D. J. (2017). Vitamin D metabolism in canine and feline medicine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 250(11), 1259-1269.
- Parsons, J. A., Neer, R. M., & Potts, J. T. (1971). Initial Fall of Plasma Calcium After Intravenous Injection of Parathyroid Hormone. *Endocrinology*, 89(3), 735–740.
- Parsons, J. A., & Reit, B. (1974). Chronic response of dogs to parathyroid hormone infusion. *Nature*, 250(5463), 254–257.
- Pastoor, F., Opitz, R., Van 't Klooster, A. T., & Beynen, A. C. (1994). Dietary Calcium Chloride vs. Calcium Carbonate Reduces Urinary pH and Phosphorus Concentration, Improves Bone Mineralization and Depresses Kidney Calcium Level in Cats. *Journal of Nutrition*, 124(11), 2212–2222.
- Podbesek, R., Edouard, C., Meunier, P. J., Parsons, J. A., Reeve, J., Stevenson, R. W., & Zanelli, J. M. (1983). Effects of two treatment regimes with synthetic human parathyroid hormone fragment on bone formation and the tissue balance of trabecular bone in greyhounds. *Endocrinology*, 112(3), 1000–1006.
- Potts, J. T., Jr, Murray, T. M., Peacock, M., Niall, H. D., Tregear, G. W., Keutmann, H. T., Powell, D., & Deftos, L. J. (1971). Parathyroid hormone: sequence, synthesis, immunoassay studies. *The American journal of medicine*, 50(5), 639–649.
- Prola, L., Dobenecker, B., Mussa, P. P., & Kienzle, E. (2009). Influence of cellulose fibre length on faecal quality, mineral excretion and nutrient digestibility in cat. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(3), 362–367.
- Rosol, T. J., & Capen, C.C. (1997). Chapter 23 - Calcium-Regulating Hormones and Diseases of Abnormal Mineral (Calcium, Phosphorus, Magnesium) Metabolism. *In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Academic Press*, 619–702.

- Rosol, T. J., Steinmeyer, C. L., McCauley, L. K., Gröne, A., DeWille, J. W., & Capen, C. C. (1995). Sequences of the cDNAs encoding canine parathyroid hormone-related protein and parathyroid hormone. *Gene*, 160(2), 241–243.
- Salvesen, H. A. (1923). The function of the parathyroids. *Journal of Biological Chemistry*, 56(2), 443-456.
- Schäfers, A. (2013): Hämatologische und klinisch-chemische Referenzwerte für Hunde. *Dissertation, LMU München: Tierärztliche Fakultät*,
- Schedl, H., Osbaldiston, G., & Mills, I. (1968). Absorption, secretion, and precipitation of calcium in the small intestine of the dog. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 214(4), 814–819.
- Schenck, P. A., Chew, D. J., & Brooks, C. L. (1996). Fractionation of canine serum calcium, using a micropartition system. *American journal of veterinary research*, 57(3), 268–271.
- Schmitt, S. (2018): Untersuchung zur Anpassung des Calciumstoffwechsels adulter Hunde an längerfristige marginale Calciumversorgung. *Dissertation, LMU München: Tierärztliche Fakultät*.
- Schmitt, S., Mack, J., Kienzle, E., Alexander, L. G., Morris, P. J., Colyer, A., & Dobenecker, B. (2018). Faecal calcium excretion does not decrease during long-term feeding of a low-calcium diet in adult dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(2).
- Schünemann, C., Lass, N., & Meyer, H. (1989). Intestinaler Stoffwechsel von Calcium, Magnesium und Phosphor beim Hund. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 61(1–5), 193–205.
- Siedler, S. (2018). Der Einfluss verschiedener Phosphorquellen bei alimentärer Phosphorübersversorgung auf die Phosphorverdaulichkeit und auf ausgewählte Blutparameter beim Hund. *Dissertation, LMU München: Tierärztliche Fakultät*.
- Skelly, B. J., & Franklin, R. J. (2007). Mutations in genes causing human familial isolated hyperparathyroidism do not account for hyperparathyroidism in Keeshond dogs. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 174(3), 652–654.
- Stadtfeld, G. (1978). Untersuchungen über die Körperzusammensetzung des Hundes. *Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover*.
- Steenbock, H., Black, A., Nelson, M. T., Hoppert, C. A., & Riising, B. M. (1925). Fat-soluble vitamins: XXIII. The induction of growth-promoting and calcifying properties in fats and their unsaponifiable constituents by exposure to light. *Journal of Biological Chemistry*, 64(2), 263-298.

- Sutton, R. A., Wong, N. L., & Dirks, J. H. (1976). Effects of parathyroid hormone on sodium and calcium transport in the dog nephron. *Clinical science and molecular medicine*, 51(4), 345–351.
- Talmage, R. V., Lester, G. E., & Hirsch, P. F. (2000). Parathyroid hormone and plasma calcium control: an editorial. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*, 1(2), 121–126.
- Tiscornia, O. M., Lévesque, D., Sarles, H., Voirol, M., Bretholz, A., Laugier, R., & Pauli, A. M. (1976). Canine exocrine pancreatic secretory changes induced by calcium or ethanol plus calcium intraduodenal infusion. *The American journal of gastroenterology*, 66(5), 452-459.
- Trang, H. M., Cole, D. E. C., Rubin, L. A., Pierratos, A., Siu, S., & Vieth, R. (1998). Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68(4), 854-858.
- Trautvetter, U., Ditscheid, B., Jahreis, G., & Glej, M. (2018). Habitual intakes, food sources and excretions of phosphorus and calcium in three German study collectives. *Nutrients*, 10(2), 171.
- Weidner, N., & Verbrugghe, A. (2017). Current knowledge of vitamin D in dogs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(18), 3850–3859.
- Zhang, L., Takahashi, H., Inoue, J., Tanizawa, T., Endo, N., Yamamoto, N., & Hori, M. (1997). Effects of intermittent administration of low dose human PTH(1–34) on cancellous and cortical bone of lumbar vertebral bodies in adult beagles. *Bone*, 21(6), 501–506.

10. DANKSAGUNG

Allen voran bedanke ich mich herzlich bei Prof. Dr. Ellen Kienzle für die Überlassung des spannenden Themas und ihre wertvolle Unterstützung. Hervorheben möchte ich ihre große Hilfe und nicht enden wollende Geduld bei der Veröffentlichung der Publikationen, sowie die stets gute und aufmerksame Betreuung während der Erstellung dieser Arbeit.

Auch gilt mein Dank Dr. Britta Dobenecker, insbesondere für ihre Hilfe bei der Versuchsplanung, den Veröffentlichungen und der tatkräftigen Unterstützung bei der Suche archivierter Laborproben und verschollener Literatur am Lehrstuhl.

Beim Team der Versuchstierpfleger, insbesondere Gabi Reder, Steffen Mischke und Adrian Frille, möchte ich mich für Ihre unverzichtbare Hilfe bei der Durchführung der Versuche und für die liebevolle Betreuung der Versuchshunde bedanken.

Danken möchte ich auch Christian Overdiek und seinem Laborteam für die Hilfe bei der Analyse meiner Proben und die sorgfältige Einführung in die Laborarbeit.

Sarah, Carmen und Marten möchte ich danken, dass sie mir bei der Planung bzw. Durchführung der Versuche geholfen haben.

Meinem Arbeitgeber und meinen Kolleginnen möchte ich danken, dass sie mir für mein Promotionsvorhaben immer wieder die nötigen Freiräume gewährt haben.

Danken möchte ich auch meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, die mir das Studium ermöglicht haben, und Christian für seine Motivation, Unterstützung und das Ertragen in allen Phasen der Erstellung dieser Arbeit.

Nicht zuletzt möchte ich auch „meinen“ Versuchshunden Lotte, Abby, Fanni, Irmi, Frieda, Kalle, Rumpel und Legolas danken, ohne die es keine Daten für diese Arbeit gegeben hätte und die auch in den anstrengenden Zwingerphasen der Bilanztage immer zugewandt und fröhlich waren.