

**Der Einfluss verschiedener Phosphorquellen bei alimentärer
Phosphorübersversorgung auf die Phosphorverdaulichkeit und auf
ausgewählte Blutparameter beim Hund**

von Stephanie Siedler

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

**Der Einfluss verschiedener Phosphorquellen bei alimentärer
Phosphorübersversorgung auf die Phosphorverdaulichkeit und auf
ausgewählte Blutparameter beim Hund**

von

Stephanie Siedler

aus München

München 2018

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

Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik

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

Mitbetreuung durch

Dr. B. Dobenecker

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

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

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Ellen Kienzle

Korreferent/en: Prof. Dr. Armin M. Scholz

Tag der Promotion: 10. Februar 2018

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	LITERATURÜBERSICHT.....	3
1.	Phosphorquellen in Lebens- und Futtermitteln.....	3
1.1.	Phosphorquellen in Lebensmittel	3
1.2.	Phosphorquellen in Futtermittel für Hunde	5
2.	Der Phosphorstoffwechsel – Studien an Menschen, kleinen Versuchstieren und in vitro	7
2.1.	Transportsysteme des Phosphors.....	7
2.2.	Die Resorption des Phosphors aus dem Darm	11
2.3.	Die Reabsorption des Phosphors in den Nieren	15
2.4.	Die hormonelle Regulation der Phosphorhomöostase.....	17
2.4.1.	Parathormon	17
2.4.2.	Calcitriol.....	18
2.4.3.	Fibroblast growth factor 23 (FGF23)	19
2.4.4.	Klotho	21
2.4.5.	Zusammenspiel der Hormone und deren Wirkung auf beteiligte Organsysteme	23
3.	Der Phosphorstoffwechsel – Studien an Hunden.....	29
4.	Pathophysiologische Folgen eines anhaltenden Phosphorexzesses	32
III.	MATERIAL UND METHODEN.....	35
1.	Versuchsplan.....	35
2.	Versuchsfutter.....	36
2.1.	Futterzuteilung.....	36
2.2.	Zusammensetzung und Nährstoffgehalte des Grundfutters	38
2.3.	Zusammensetzung der Mineral-Vitamin-Supplemente	39
2.4.	Zusammensetzung und Nährstoffgehalte des Kontroll- und der Versuchsfutter	40
3.	Versuchstiere	43
4.	Versuchstechnik.....	43

5.	Probenaufbereitung und angewandte Untersuchungsmethoden	45
5.1.	Futter	45
5.2.	Kot	46
5.3.	Urin	47
5.4.	Blut	47
5.5.	Bestimmung von Mengenelementen in Kot, Urin, Serum und Futter	48
5.6.	Statistische Methoden	49
IV.	ERGEBNISSE	51
1.	Gesundheitszustand und Allgemeinbefinden der Versuchstiere.....	51
2.	Entwicklung der Körpermasse.....	51
3.	Futterraufnahme	52
4.	Wasseraufnahme	53
5.	Urinabsatz.....	54
6.	Kotabsatz	54
7.	Scheinbare Verdaulichkeit (sV)	54
7.1.	Scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz (sV TS)	54
7.2.	Scheinbare Verdaulichkeit von Calcium (sV Ca)	55
7.3.	Scheinbare Verdaulichkeit von Phosphor (sV P)	56
7.4.	Scheinbare Verdaulichkeit von Magnesium (sV Mg)	57
8.	Urinuntersuchungen	58
8.1.	pH-Wert des Urins	58
8.2.	Spezifisches Uringewicht (USG)	59
8.3.	Kreatininkonzentration im Urin	59
8.4.	Mengenelemente im Urin.....	60
8.4.1.	Calciumkonzentration im Urin (präprandial)	60
8.4.2.	Phosphorkonzentration im Urin	61
8.4.3.	Magnesiumkonzentration im Urin (präprandial)	63
9.	Blutuntersuchungen.....	64
9.1.	Kreatininkonzentration im Serum	64
9.2.	Konzentration des Fibroblast growth factor 23 (FGF23) im Serum	65
9.3.	Calcitriolkonzentration im Serum	66
9.4.	Parathormonkonzentration im Serum	66

9.5.	Konzentration der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (BAP) im Serum.....	68
9.6.	Mengenelemente im Serum.....	69
9.6.1.	Calciumkonzentration im Serum.....	69
9.6.2.	Phosphorkonzentration im Serum	73
9.6.3.	Magnesiumkonzentration im Serum.....	76
V.	DISKUSSION	79
1.	Kritik der Methoden.....	79
1.1.	Versuchskonzept.....	79
1.2.	Versuchstiere	79
1.3.	Futter- und Mineralstoffaufnahme.....	80
1.4.	Sammelmethodik.....	80
1.5.	Messung der Urindichte.....	81
1.6.	Mineralstoffkonzentration im Harn	82
1.7.	Zeitpunkt der Blutentnahme.....	82
2.	Ergebnisse der Kotuntersuchungen	83
2.1.	Fäkale Calciumexkretion	83
2.2.	Fäkale Phosphorexkretion.....	86
3.	Ergebnisse der Urinuntersuchungen	93
3.1.	Harn-pH-Wert	94
3.2.	Calciumkonzentration im Urin	96
3.3.	Phosphorkonzentration im Urin	98
4.	Ergebnisse der Blutuntersuchungen	103
4.1.	Phosphorkonzentration im Serum	103
4.2.	Parathormonkonzentration im Serum	108
4.3.	Calcitriolkonzentration im Serum	112
4.4.	Konzentration des Fibroblast growth factor 23 (FGF23) im Serum	114
4.5.	Konzentration der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (BAP) im Serum.....	117
5.	Fazit.....	119
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	122
VII.	SUMMARY.....	124

VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	126
IX.	ANHANG	166
X.	DANKSAGUNG	181

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

BAP	Bone alkaline phosphatase (knochenspezifische alkalische Phosphatase)
Ca	Calcium
CaR	Calcium sensing receptor
CKD	Chronic kidney disease
Cl	Chlorid
DE	Digestible energy (verdauliche Energie)
diCaP	Calciumhydrogenphosphat (CaHPO_4)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
FEDIAF	European Pet Food Industry Federation
FGF23	Fibroblast growth factor 23
GE	Gross energy (Bruttoenergie)
GeflM	Geflügelfleischknochenmehl
GfE	Gesellschaft für Ernährungswissenschaften
HPD	High phosphorus diet
K	Kalium
KAB	Kationen-Anionen-Bilanz
KM	Körpermasse
KnM	Knochenmehl Rind
KON	Kontrolldurchgang
KpyrP	Tetrakaliumpyrophosphat ($\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$)
LPD	Low phosphorus diet
mCaP	Calciumdihydrogenphosphat ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$)
ME	Metabolisable energy (umsetzbare Energie)
Mg	Magnesium
mKP	Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4)
mNaP	Natriumdihydrogenphosphat (NaH_2PO_4)
N	Stickstoff
Na	Natrium
NatriP	Pentanatriumtriphosphat ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$)
Nfe	Stickstofffreie Extraktstoffe
NRC	National Research Council
OPG	Osteoprotegerin
P	Phosphor/Phosphat
PTH	Parathormon
PTHR	Parathormon Rezeptor
Ra	Rohasche

RANKL	receptor activator of nuclear factor kappa B Ligand
Rfa	Rohfaser
Rfe	Rohfett
RNA	Ribonukleinsäure
Rp	Rohprotein
Rw	Rohwasser
sV	Scheinbare Verdaulichkeit
TS	Trockensubstanz
uS	Ursprüngliche Substanz
VDR	Vitamin D Rezeptor

I. EINLEITUNG

Kommerziell erhältliche Alleinfuttermittel für Hunde sind in aller Regel hoch mineralisiert und enthalten meist ein Mehrfaches des Tagesbedarfs von Hunden an einzelnen Mineralstoffen. Gründe dafür sind u.a. die Verarbeitung von Rohstoffen mit hohen Mineralstoffgehalten wie Fleisch-/Knochenmehle aber auch die Verwendung von phosphathaltigen Zusätzen zu technologischen Zwecken. So ist eine vier- bis achtfache Überversorgung gerade mit den Mengenelementen Phosphor (P) und Calcium (Ca) keine Seltenheit bei Fertigfutter (STREIFF et al., 2002; HAND et al., 2010; RICHARDS und WEDEKIND, 2012; GAGNÉ et al., 2013; ANONYMUS, 2016).

Eine deutliche Überversorgung mit P steht im Verdacht, bei verschiedenen Spezies für gesundheitliche Veränderungen wie chronische Niereninsuffizienz, Arteriosklerose und Knochenabbau verantwortlich zu sein. In der Humanmedizin besteht der Verdacht, dass ein erhöhter P-Konsum nicht nur das Mortalitätsrisiko bei Nierenkranken steigert, sondern dass er selbst bei nierengesunden Menschen zu einer gesundheitlichen Belastung, u.a. aufgrund erhöhter P-Serumspiegel, führen kann (RAZZAQUE, 2011; RITZ et al., 2012; CALVO und URIBARRI, 2013). Hierbei soll der Konsum von Nahrungsmitteln, die anorganische P-Verbindungen als Zusatzstoffe, wie zum Beispiel Natriumphosphate (E339), Kaliumphosphate (E340), Calciumphosphate (E341), Diphosphate (E450), Triphosphate (E451), Polyphosphate (E452), enthalten, ein besonderes Gesundheitsrisiko darstellen (URIBARRI und CALVO, 2003; RITZ et al., 2012; HAHN et al., 2013). Speziell bei Katzen wird ein P-Exzess im Hinblick auf die Nierengesundheit ebenfalls als bedenklich angesehen (PASTOOR et al., 1995; DEMMEL, 2011). Dabei scheinen die Effekte eines alimentären P-Exzesses sowohl vom Ca/P-Verhältnis (DEMMEL, 2011; HERTEL-BÖHNKE et al., 2012; SCHASCHL et al., 2015) als auch von der Mineralstoffquelle abzuhängen (DOBENECKER et al., 2013, 2014; SCHASCHL et al., 2015).

Mithilfe vorliegender Studie sollte an gesunden Hunden untersucht werden, wie Parameter des P-Stoffwechsels durch definierten alimentären P-Exzess aus verschiedenen Quellen bei ausgeglichenem Ca/P-Verhältnis beeinflusst werden. Es wurden hierfür anorganische Verbindungen zugesetzt, die in der

Futtermittelindustrie u.a. als technologische Zusatzstoffe Anwendung finden, sowie „natürliches Material“ wie Fleisch-/Knochenmehle. Mithilfe der Ergebnisse sollten Erkenntnisse gewonnen werden, die eine bessere Einschätzung ermöglichen, ob P-Exzesse in Rationen für Hunde als potentiell gesundheitsschädlich oder unbedenklich einzustufen sind.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Phosphorquellen in Lebens- und Futtermitteln

1.1. Phosphorquellen in Lebensmittel

Natürlich vorkommend findet man P, in Form organischen Esters vorliegend, hauptsächlich in eiweißreichen Lebensmitteln wie Milchprodukten, Fisch, Fleisch- und Wurstwaren sowie Eiern. Der in Getreide, Nüssen und Hülsenfrüchten enthaltene P liegt vorwiegend in Form von Phytinsäure (Hexa-Phospho-Inosit) vor, die im menschlichen Darm aufgrund des fehlenden Enzyms Phytase nicht gespalten werden kann, womit die Bioverfügbarkeit pflanzlicher P-Ester deshalb in der Regel deutlich niedriger liegt als die der P-Ester aus tierischen Lebensmitteln (BOHN et al., 2008; RITZ et al., 2012). Der P-Gehalt industriell verarbeiteter Nahrungsmittel ist wesentlich höher als in natürlichen Lebensmitteln, da P-haltige Zusätze in der industriellen Nahrungsmittelherstellung vielfach als Lebensmittelzusatzstoff eingesetzt werden (URIBARRI und CALVO, 2003; RITZ et al., 2012; HAHN et al., 2013). Es wird vermutet, dass solche anorganische P-Zusätze bis zu über 90% resorbiert werden können, dahingegen werden nur 40-60% des P aus natürlichen Lebensmitteln aufgenommen (KALANTAR-ZADEH et al., 2010). Als Konsequenz des gesteigerten Einsatzes von Lebensmittelzusatzstoffen hat sich die durchschnittliche tägliche Zufuhr phosphathaltiger Zusatzstoffe beim Menschen seit den 90er Jahren von knapp 500mg P/d auf 1000mg P/d mehr als verdoppelt (RITZ et al., 2012). Verantwortlich für den gegenwärtigen gesteigerten P-Konsum sind heute in erster Linie Fastfood- und Fertigprodukte (HAHN et al., 2013).

In der EU sind mehr als 300 Nahrungszusatzstoffe mit Angaben von Höchstmengengehalten zugelassen und durch einheitliche E-Nummern gekennzeichnet (DIEVERBRAUCHERINITIATIVE, 2017). Tabelle 1 gibt einen Überblick über die zugelassenen P-haltigen Nahrungszusatzstoffe in Lebensmitteln.

Tab. 1: Übersicht der zugelassenen Phosphatzusätze in Lebensmitteln

E-Nr.	Bezeichnung der Gruppe	Bezeichnung der Verbindungen	Funktion
E 338	(Ortho)phosphorsäure	-	Säuerungsmittel
E 339	Natriumphosphate	Mononatriumphosphat Dinatriumphosphat Trinatriumphosphat	Antioxidationsmittel, Schmelzsätze und Säuerungsmittel
E340	Kaliumphosphate	Monokaliumphosphat Dikaliumposphat Trikaliumphosphat	Antioxidationsmittel, Schmelzsätze und Säuerungsmittel
E 341	Calciumphosphate	Monocalciumphosphat Docalciumphosphat Tricalciumphosphat	Backmittel, Säureregulator, Trennmittel
E343	Magnesiumphosphate	Monomagnesiumphosphat Dimagnesiumphosphat Trimagnesiumphosphat	Säureregulator, Trennmittel
E450	Diphosphate	Dinatriumdiphosphat Trinatriumdiphosphat Tetranatriumdiphosphat Tetrakaliumdiphosphat Dicalciumdiphosphat Calciumdihydrogendiphosphat	Emulgatoren, Stabilisatoren, Säureregulatoren, Komplexbildner, Schmelzsätze
E451	Triphosphate	Pentanatriumphosphat Pentakaliumphosphat	Emulgatoren, Stabilisatoren, Säureregulatoren
E452	Polyphosphate	Natriumphosphat Kaliumphosphat Natriumcalciumphosphat Calciumphosphat	Emulgatoren, Stabilisatoren, Säureregulatoren, Schmelzsatz, Komplexbildner
E541	Natriumaluminiumphosphat	-	Backtriebmittel
E1410	Monostärkephosphat	-	Stabilisator, Trägerstoff, Verdickungsmittel
E442	Ammoniumphosphatid	-	Emulgator

Phosphatzusätze in Lebensmitteln müssen nur dann deklariert werden, wenn sie nach Beendigung der Herstellung als Zusatzstoffe (z.B. Stabilisatoren) eingesetzt werden, nicht jedoch, wenn sie im Rahmen des Produktionsprozesses zugegeben werden. Somit wird die Abschätzung des P-Gehalts in kommerziellen Lebensmitteln für den Konsumenten erschwert bzw. unmöglich (HAHN et al., 2013).

P-haltige Nahrungsmittelzusätze und Konservierungsstoffe finden sich zum Beispiel in verarbeiteten Fleisch- und Wurstwaren, Fischkonserven, Backwaren

und Softdrinks wie Cola. In Colagetränken und anderen aromatisierten Erfrischungsgetränken sind größere Mengen an Phosphorsäure (E338) (Höchstmengegehalt: 700mg/l) als Säuerungsmittel zugesetzt. Eine besondere Rolle spielen Phosphatadditive auch als Komponenten des Schmelzsalzes bei der Schmelzkäseherstellung (Höchstmengegehalt in Schmelzkäse und Zubereitungen daraus: 20g/kg). Zugesetzte Phosphate findet man in größeren Mengen auch in Milchpulver (Höchstmengegehalt: 2,5g/kg), Kaffeeweißer (Höchstmengegehalt: 30g/kg) und Puddingpulver (Höchstmengegehalt: 7g/kg) (RITZ et al., 2012; HAHN et al., 2013; DIEVERBRAUCHERINITIATIVE, 2017).

1.2. Phosphorquellen in Futtermittel für Hunde

Natürlich vorkommendes P im Hundefutter stammt vorrangig aus den Proteinquellen, wobei hier Fleisch- und tierische Nebenerzeugnisse (wie Fleisch(knochen)mehl, Bindegewebe und Innereien) den größten Anteil ausmachen dürften. Analog zum Menschen variiert die P-Verdaulichkeit beim Hund ebenfalls in Abhängigkeit der Herkunft der Eiweißquellen. So werden bei Einsatz von Futtermitteln tierischer Herkunft P-Verdaulichkeitswerte von über 70% erreicht (JENKINS und PHILLIPS, 1960a; SHEFFY et al., 1985; GFE, 1989; HILL et al., 2001). Diese sinken bei Zugabe von pflanzlichen, phytatreichen Zusätzen erheblich auf Werte von 20% - 50% (HOFF-JØRGENSEN, 1946; GFE, 1989; HILL et al., 2001).

Bei den P-haltigen Zusätzen in der Hundenahrung ist zwischen Mengenelementzulagen zum Zweck der Versorgung mit Mengenelementen – wie zum Beispiel Calciumphosphaten, und Zulagen von Phosphaten zu technologischen Zwecken zu unterscheiden. Erstere sind im Katalog der Einzelfuttermittel (VO (EU) Nr. 68/2013) gesetzlich geregelt, in der die Kennzeichnungspflicht und Anforderungen an das Einzelfuttermittel festgelegt sind. Unter die Gruppe Einzelfuttermittel fallen diverse Ca-, Natrium (Na)-, und Kalium (K)-P-Verbindungen, wie zum Beispiel $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaHPO_4 , NaH_2PO_4 , $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ und $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$. Für die mineralischen P-Zusätze aus dem Katalog der Einzelfuttermittel sind keine Höchstmengegehalte festgelegt, obligatorische Angaben sind hier nur der Gesamtphosphorgehalt.

Zusatzstoffe, die in Hunde- und Katzenfutter zu technologischen Zwecken

eingemischt werden, müssen futtermittelrechtlich zugelassen sein. Seit 2007 sind die Zusatzstoffe durch das Gemeinschaftsregister gemäß EG-Verordnung 1831/2003 geregelt. Eine vollständige Liste aller zugelassenen Futtermittel-Zusatzstoffe ist in der tagesaktuell konsolidierten Liste des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit zu finden (BVL, 2017). Für Hunde und Katzen sind P-haltige Zusätze unter den Funktionsgruppen Säureregulatoren und Konservierungsstoffe aufgeführt, für die keine Höchstgehalte festgesetzt sind (Tabelle 2).

Tab. 2: Übersicht der zugelassenen phosphathaltigen Zusätze in Futtermittel von Hunden nach VO (EG) 1831/2003

Funktion	zugelassener Zusatzstoff	
Säureregulatoren	Ammoniumdihydrogenorthosphat	$(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$
	Diammoniumhydrogenorthosphat	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
	Kaliumdihydrogenorthosphat	KH_2PO_4
	Dikaliumhydrogenorthosphat	K_2HPO_4
	Trikaliumorthosphat	K_3PO_4
	Tetrakaliumdiphosphat	$\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$
	Pentakaliumtriphosphat	$\text{K}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$
Konservierungsstoff	Orthophosphorsäure	H_3PO_4

Im Folgenden soll im Vergleich zu anorganischem P der P aus natürlichen Quellen (tierische und pflanzliche Quellen) als „organischer“ P bezeichnet werden, mit dem Bewusstsein, dass dieser Begriff im chemischen Sinn anders verwendet wird.

2. Der Phosphorstoffwechsel – Studien an Menschen, kleinen Versuchstieren und in vitro

Im folgenden Abschnitt wird aufgrund fehlender Forschungsergebnisse in der Veterinärmedizin, insbesondere bei der Spezies Hund, die Transportsysteme des P und die hormonellen Regulatoren der P-Homöostase am Menschen, an Nager-Tiermodellen bzw. anhand in vitro-Studien erläutert.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass im Folgenden die Abkürzung P sowohl für Phosphor als auch für Phosphat gebraucht wird, um welchen Begriff es sich handelt ist aus dem Kontext erkennbar.

2.1. Transportsysteme des Phosphors

P wird sowohl im Intestinum als auch in den Nieren nur in Form von anorganischem P (HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , PO_4^{3-}) aufgenommen. Dies bedeutet, dass der in organischer Form vorliegende P in der Nahrung im Magendarmtrakt zunächst hydrolysiert werden muss, bevor er als anorganische Form resorbiert wird (KAYNE et al., 1993; KALANTAR-ZADEH et al., 2010). Manche organische P Verbindungen, wie zum Beispiel Phosphatidylcholin (Lecithin), bleiben mit fettlöslichen Molekülen aus der Nahrung verbunden und werden dann ohne Verdauung ihrer Phosphatgruppen resorbiert (ANDERSON und GARNER, 1995). Ebenso müssen anorganische Polyphosphate, zumindest beim Menschen, im Darm zunächst enzymatisch gespalten werden, bevor sie als oben genannte P-Ionen resorbiert werden können (MACHOLZ et al., 2010; MATISSEK et al., 2013; ELMADFA und LEITZMANN, 2015).

Die intestinale P Resorption wurde in zahlreichen Säugetieren und Vogelspezies charakterisiert. In vitro Studien an Bürstensaummembranvesikeln zeigten, dass der intestinale P Transport über zwei verschiedene Mechanismen stattfindet: via passiver Diffusion entlang der Bürstensaummembran sowie einem natriumabhängigen, Carrier-vermittelten aktiven Transport (MCHARDY und PARSONS, 1956; CRAMER, 1961; NORDIN, 1976; PETERLIK und WASSERMAN, 1978; WALTON und GRAY, 1979; DANISI und STRAUB, 1980; DANISI et al., 1984; BOROWITZ und GHISHAN, 1985; BOROWITZ und GHISHAN, 1989; KAYNE et al., 1993).

Die passive Diffusion ist in den Nieren vernachlässigbar gering. Im Darm spielt sie eine größere Rolle bei der P Resorption, allerdings ist die relative Verteilung

der beiden Transportmechanismen (aktiv versus passiv) im Darm noch nicht vollständig aufgeklärt (ETO et al., 2006).

Ebenso ist der Mechanismus der passiven P Diffusion noch nicht ganz geklärt. Es ist bekannt, dass der passive Transport grundsätzlich entlang eines elektrischen Gradienten an einer Epithelmembran mittels parazellulärer Diffusion erfolgt, wobei diese durch die sogenannten tight junctions reguliert wird. Diese sind schmale Bänder aus Membranproteinen, die Epithelzellen vollständig umgürten und mit den Bändern der Nachbarzellen in enger Verbindung stehen. Die wichtigsten bisher bekannten Membranproteine der tight junctions werden der Familie der Claudine und Occludine zugeordnet. Zahlreiche Autoren zeigten, dass diese tight junctions durch den Signal-Transduktionsweg reguliert werden, aktiv mit dem Zytoskelett interagieren, und ionen- bzw. Ionengruppen spezifisch sind. (BALDA et al., 1993; BENAIS-PONT et al., 2003; GONZÁLEZ-MARISCAL et al., 2003; KRAUSE et al., 2008; WILL et al., 2008). Trotz wachsender Erkenntnisse über die zellulären Regulationsmechanismen, die den passiven Transport beeinflussen können, ist bis heute noch keine Ionenspezifität für P in Verbindung mit spezifischen tight junctions Proteinen bekannt (SABBAGH et al., 2011).

Dahingegen ist sowohl der renale als auch der intestinale natriumabhängige aktive P Aufnahmemechanismus mittlerweile genauer untersucht: In Säugetieren benutzen die P-Transporter einen einwärts gerichteten, direkten elektrochemischen Gradienten von Natriumionen, aufrechterhalten durch die Na-K-ATPase, um einen P-Einstrom zu ermöglichen.

Typen der aktiven P-Transporter:

Man unterscheidet zwei nicht miteinander verwandte P-Transporter-Familien, Typ II Na⁺/P-Cotransporter (SLC34) und Typ III Na⁺/P-Cotransporter (SLC20).

Das erste Mitglied der Typ II Familie (Npt2a/SLC34A1) wurde anhand immunohistochemische Untersuchungen an der apikalen Membran von renalen proximalen Tubuluszellen identifiziert (MAGAGNIN et al., 1993). Mittlerweile wurde Npt2a auch im Gehirn von Ratten (MULRONEY et al., 2004) in Osteoklasten von Mäusen (KHADEER et al., 2003) und in Osteoblastenvorläuferzellen von Nagern (LUNDQUIST et al., 2007) nachgewiesen. Nach der Entdeckung von Npt2a wurde eine zweite Isoform

(Npt2b/SLC34A2) in der Bürstensaummembran von Enterozyten sowie in Lunge, Hoden und Leber (HILFIKER et al., 1998) entdeckt. Das dritte und jüngste Mitglied (Npt2c/SLC343) wird, genau wie Npt2a, apikal im renalen proximalen Tubulus exprimiert (SEGAWA et al., 2002; MADJDPOUR et al., 2004).

Die Mitglieder der Typ III Familie (Pit1 und Pit2) sind in zahlreichen, verschiedensten Geweben zu finden und man vermutete deshalb zunächst, dass diese eine Art „Housekeeping“ Funktion in den Zellen übernehmen. Mittlerweile konnten den Pit Proteinen spezifischere Rollen in zahlreichen physiologischen, wie auch pathophysiologischen Abläufen nachgewiesen werden. Zum Beispiel scheint der Pit-vermittelte P Transport wichtig bei der Bereitstellung von P für den Knochenaufbau zu sein (CAVERZASIO und BONJOUR, 1996; PALMER et al., 1999; GUICHEUX et al., 2000; ZOIDIS et al., 2004; SUZUKI et al., 2006; YOSHIKO et al., 2007). Neben der physiologischen Kalzifikation spielen Pit Proteine wohl auch eine Rolle bei pathologischen Veränderungen, wie eine durch Hyperphosphatämie induzierte vaskuläre Verkalkung (JONO et al., 2000; LI et al., 2006; MIZOBUCHI et al., 2006) und Osteoarthritis (CECIL et al., 2005). Eine P-regulierende Funktion der Pit Transporter wurde nicht nur im Knochen, sondern auch in extraskeletalen Zellen und Geweben, wie in den Nieren bei Mäusen (TENENHOUSE et al., 1998a), Ratten (VILLA-BELLOSTA et al., 2009) und Menschen (FERNANDES et al., 1999) und in den Nebenschilddrüsen von Ratten (TATSUMI et al., 1998), sowie im Darm bei Mäusen (BAI et al., 2000) und Ratten (KATAI et al., 1999; GIRAL et al., 2009) gezeigt. Dabei scheint die P-regulierende Funktion des Pit2 Transportes aus einer posttranslationalen Modifikation des Transporters zu resultieren (RODRIGUES und HEARD, 1999). Salaun und Mitarbeiter vermuteten in ihrer Studie, dass Veränderungen von extrazellulären P-Konzentrationen eine Modifikation des Pit2 an der Zelloberfläche zur Folge haben. Somit könnte man den Pit Proteinen unterstellen, dass diese eine Rolle in der P-Erkennung/Wahrnehmung spielen (SALAÜN et al., 2002).

Kinetik und Stöchiometrie der aktiven P-Transporter:

Die beiden Transporterfamilien (Typ II und III) präferieren jeweils unterschiedliche Formen des P (monovalent – divalent). Somit haben die beiden P-Formen (H_2PO_4^- und HPO_4^{2-}), die bei physiologischen pH-Wert hauptsächlich vorkommen, quasi jeweils ihr eigenes Carrier-System: Die beiden Pit Transporter

bewegen zwei Na^+ -Ionen für jedes monovalente H_2PO_4^- mit Verschiebung einer positiven Ladung (RAVERA et al., 2007). Die Typ II Familie hingegen zeigt eine Präferenz für die divalente Form des P (HPO_4^{2-}). Allerdings unterscheiden sich die Mitglieder innerhalb der Typ II Familie hinsichtlich der Elektrogenität und Stöchiometrie: Npt2a und Npt2b sind elektrogen und bewegen P mit einer Stöchiometrie von 3:1 ($\text{Na}^+ : \text{HPO}_4^{2-}$), wohingegen Npt2c elektroneutral ist und divalentes P in einem Verhältnis von 2:1 ($\text{Na}^+ : \text{HPO}_4^{2-}$) transportiert. Da die Transporter entweder H_2PO_4^- oder HPO_4^{2-} bewegen, kommt es zu einer messbaren Veränderung an H^+ -Konzentration (Typ III führt zur Alkalisierung durch den Transport und Typ II zur Azidierung). Der Transport jeder P-Form durch die Membran hat also konsequenterweise auch einen Einfluss auf den pH-Wert, da es das Reaktionsgleichgewicht von $\text{H}_2\text{PO}_4^- \leftrightarrow \text{HPO}_4^{2-} + \text{H}^+$ verschiebt. Pit Proteine sind weniger sensitiv auf H^+ als Mitglieder der SLC34 Familie. Die erzielbare maximale P Transportrate (V_{max}) wird durch pH-Wertveränderungen innerhalb 5,0 und 7,4 nicht beeinflusst. Im Gegensatz dazu ist der P Transport vermittelt durch die Typ II Familie im sauren pH stark herabgesetzt, aufgrund des hemmenden Effektes der Protonen auf den Transportzyklus, sowie aufgrund der reduzierten Verfügbarkeit des divalenten HPO_4^{2-} (FORSTER et al., 2000) (VIRKKI et al., 2005). Somit unterscheiden sich die zwei Familien auch hinsichtlich ihres pH-Optimumbereichs, der sich im Bereich des pK_a Werts oben genannter Reaktion (= pH ~6,8) überlappt. Die Typ III Familie transportiert am effizientesten im sauren und Typ II im alkalischen Bereich. Somit können die Pit Proteine eine hohe P-Transportkapazität auch dann bewahren, wenn der pH im starken sauren Bereich von 5,0 ist, wo SLC34 Transporter nicht mehr tätig sind (VIRKKI et al., 2007).

Diese Unterschiede hinsichtlich der Stöchiometrie und P-Affinität haben auch eine Kapazitätsdifferenz der P-Konzentration zur Folge: Npt2c stellt mit einer 100fachen Kapazität die niedrigste, und Npt2a und Npt2b mit einer 10000fachen die höchste Kapazität dar (VIRKKI et al., 2007). Interessant ist auch die Tatsache, dass die Energiekosten für den P-Transport von Npt2c geringer sind, als die von den elektrogenen „Partnern“, da Npt2c ein Na^+ -Ion weniger transportiert. Je weniger Na^+ in die Zelle geschleust wird, desto weniger Energie ist nötig um das negative Zellmembranpotential aufrecht zu erhalten (VIRKKI et al., 2007). Tabelle 3 gibt einen Überblick über die Transportertypen und deren Eigenschaften.

Tab. 3: Eigenschaften der Na/P-Cotransporter [aus: Virkki et al., 2007]

Transporter Typ		Substrat	Na ⁺ : P	Elektrogenität	pH Optimum	Kapazität*
Typ II (SLC34)	Npt2a	Na ⁺ , HPO ₄ ²⁻	3:1	ja	alkalisch	10000
	Npt2b		3:1	ja		10000
	Npt2c		2:1	nein		100
Typ III (SLC20)	PiT1	Na ⁺ , H ₂ PO ₄ ⁻	2:1	ja	sauer	1000
	PiT2		2:1	ja		1000

* bei einem Membranpotential von -60mV und einem 10-fachen Na⁺-Gradienten (außen-innen)

2.2. Die Resorption des Phosphors aus dem Darm

Bereits in den 70ern ließen die P-Resorptionskurven humaner Perfusionsstudien (NORDIN, 1976; WALTON und GRAY, 1979) vermuten, dass die intestinale P Resorption bei niedrigen intraluminalen P-Konzentrationen hauptsächlich aktiver Natur, und bei hohen P-Konzentrationen eher passiver Natur ist. Eto et al. (2006) zeigten in ihrer Studie elektrophysiologisch mittels eines Spannungsgenerators am Jejunum von Ratten, dass die P Aufnahme durch die jejunale Membran (KH₂PO₄ als P-Quelle, radioaktiv markiert) sowohl über den transzellulären als auch den parazellulären Weg erfolgt, wobei ersterer unter physiologischen Bedingungen den größeren Beitrag zur P-Permeation leistet (78% transzellulär, 22% parazellulär). Ob jedoch diese Verteilung auch unter unphysiologischen Bedingungen, wie extrem hohe luminale P-Konzentrationen gegeben ist, bleibt zu ermitteln (ETO et al., 2006).

Die Art des Transportmechanismus scheint nicht nur von der jeweiligen luminalen P Konzentration abhängig zu sein, sondern auch einer zeitlichen Abhängigkeit zu unterliegen: Farrington et al. (1981) wiesen in ihrer humanen Studie mittels radioisotopen-Technik zwei zeitliche Komponenten der Resorptionsrate im Darm nach: eine initiale schnelle Phase, die innerhalb 3h abgeschlossen war mit einer P Aufnahme von über 50% des gesamten oral aufgenommenen P und eine langsamere, deutlich länger andauernde Phase, die auch noch nach 7,5h P aufnimmt. Die Autoren vermuten bei der initialen, schnellen Resorption einen aktiven Mechanismus, der bei chronisch nierenkranken Patienten beeinträchtigt ist, und bei der länger andauernden, langsamen Phase einen passiven Mechanismus, der bei gesunden Probanden und chronisch nierenkranken Patienten gleich ist (FARRINGTON et al., 1981).

P wird über die gesamte Länge des Darms aufgenommen, wobei der Dickdarm im Vergleich zum Dünndarm hierbei eine eher untergeordnete Rolle zu spielen scheint. Eine *in vitro* Studie mit Hilfe der Ussing-Kammer Technik am Kolon von Ratten (LEE et al., 1980), und eine *in vivo* Studie an Hühnern (SKADHAUGE und THOMAS, 1979) konnten keinerlei aktive Transportmechanismen nachweisen; die P Aufnahme scheint im Dickdarm allein über einen passiven, natriumunabhängigen Transportmechanismus zu erfolgen. Tatsächlich scheint unter physiologischen Bedingungen die P Resorption im Dickdarm irrelevant zu sein; erst bei sehr hohen luminalen P-Konzentrationen kommt sie zum Tragen (LEE et al., 1980; MARTIN et al., 1987; HU et al., 1997), wie es zum Beispiel in der Humanmedizin beim Gebrauch von phosphorhaltigen Abführmitteln gegeben ist (GROSSKOPF et al., 1991) (MARRAFFA et al., 2004).

Im Darm wurden Npt2b (Typ II Familie) sowie Pit1 und Pit2 (Typ III Familie) nachgewiesen, wobei scheinbar die Kapazität des intestinalen Na^+/P Cotransportes, gemessen an Bürstensaummembranvesikeln am Jejunum von Ratten, deutlich niedriger ist als die des renalen Na^+/P Cotransportes (KATAI et al., 1999). Giral et al. (2009) untersuchten in ihrer Studie an Bürstensaummembranvesikeln von Ratten das regionale Profil der P-Resorptionsrate entlang des Dünndarms. Diese Studie zeigte, dass die Npt2b Protein Expression am höchsten in der Bürstensaummembran des Jejunums ist. Dies steht im Einklang mit einer vorangegangenen Studie (Marks, 2006), die zeigte, dass die höchste Npt2b mRNA Expression bei Ratten ebenfalls in Jejunum ist. Dahingegen konnte im Ileum von Ratten weder eine apikale Expression von Npt2b Protein (GIRAL et al., 2009) noch eine Expression der mRNA von Npt2b (MARKS et al., 2006) nachgewiesen werden. Das Pit1-Protein bei Ratten zeigte ein ähnliches Expressionsmuster wie das Npt2b Protein: höhere Konzentrationen in Duodenum und Jejunum, aber kein Nachweis des Pit1 Proteins im Ileum (GIRAL et al., 2009). Dahingegen war die Pit2 mRNA Expression über den gesamten Dünndarm stets minimal im Vergleich zu den anderen beiden Transportern (GIRAL et al., 2009). Die Ergebnisse von Giral et al. (2009) könnten vermuten lassen, dass die intestinale P Aufnahme in Ratten hauptsächlich in Duodenum und Jejunum, und vernachlässigbar gering im Ileum stattfindet. Marks et al. (2006) zeigten auch, dass das Ileum von Ratten nur eine sehr geringe Kapazität zur P-Resorption besitzt. Bei Mäusen scheint die Expression der Npt2b

Proteine ein anderes Muster zu haben als bei Ratten, womit im Darm genauso wie in den Nieren speziesspezifische Unterschiede hinsichtlich der Expression der Na/P Transporter festgestellt werden können: Radanovic et al. (2005) zeigten, dass Npt2b bei Mäusen vor allem im Ileum exprimiert wird, und nur sehr wenig in Duodenum und Jejunum (RADANOVIC et al., 2005). Dies stimmt mit der Mäuse-Studie von Marks et al. (2006) überein, die die höchste P-Absorptionsrate bei Mäusen dem Ileum zuordneten. In der Tat bewiesen Sabbagh et al. (2009) am Ileum von Npt2b^{-/-} und Wildtypmäusen, dass diesem hinteren Dünndarmabschnitt über 90% der gesamten aktiven P Resorption Npt2b zuzurechnen sind (SABBAGH et al., 2009). Somit unterscheidet sich das regionale Profil der P-Resorptionsrate zwischen den beiden Nagern, wobei das von Ratten dem der Menschen ähnlicher zu sein scheint; Studien über das humane regionale Profil der P-Resorption zeigten eine deutlich höhere P-Aufnahmekapazität im proximalen Dünndarmbereich als im distalen (WALTON und GRAY, 1979).

Ein bereits bekannter, wichtiger Stimulus sowohl des renalen als auch des intestinalen aktiven P-Transportes ist die diätetische P-Restriktion (CROSS et al., 1990; LEVI et al., 1996; DANISI und MURER, 2011). Analog zu den Na/P-Transporter (Npt2a) in den Nieren wird durch Fütterung eines niedrigen P-Gehalts (low P diet, LPD) ein Anstieg der Npt2b Transporter im Darm induziert. Mittlerweile ist bekannt, dass LPD dabei ein vom Vitamin-D-Rezeptor (VDR) und 1,25(OH)2D3 unabhängiger Stimulus des intestinalen aktiven Na/P Transportes ist (SEGAWA et al., 2004; CAPUANO et al., 2005). Wie sich die Fütterung eines hohen P-Gehalts (high P diet, HPD) auf den Npt2b Transport auswirkt, haben die Studien an Ratten von Giral et al. (2009) untersucht: Ratten, die chronisch an LPD gewohnt waren und dann akut auf ein Futter mit hohem P-Gehalt (HPD) umgestellt wurden, zeigten eine gesteigerte natriumabhängige P-Transport-Aktivität im Duodenum. Die Tatsache, dass eine Upregulation des Npt2b nachgewiesen wurde, aber nicht ein Anstieg der mRNA, lassen einen nicht genomischen, posttranslationalen Regulationsmechanismus bei der akuten Antwort auf HPD vermuten (GIRAL et al., 2009).

Dabei scheint bei der Antwort auf HPD von den aktiven Na⁺/P Cotransportern vor allem Npt2b eine große Rolle zu spielen: Npt2b^{-/-} Mäuse zeigten eine um 50% geringere P Resorption als die Wildtyp-Mäuse bei Fütterung einer HPD nach

chronischer Fütterung einer LPD (SABBAGH et al., 2009). Dahingegen hatte sich die Pit1 Protein Expression in der Bürstensaummembran im Duodenum und Jejunum bei Ratten durch Veränderungen des alimentären P Gehalts im Gegensatz zu Npt2b Protein nicht verändert (GIRAL et al., 2009).

Allerdings scheint es bei der alimentären Adaptation des Na^+/P Transportes regionspezifische Unterschiede zu geben: Das Jejunum scheint zumindest bei Ratten eine größere Rolle bei der chronischen Anpassung an LPD zu spielen (mit gesteigertem natriumabhängigen P Transport, Upregulation von Npt2b, sowie Anstieg der Npt2b mRNA), wohingegen das Duodenum wichtiger bei der akuten Antwort auf HPD zu sein scheint, was einen Anstieg der P Resorption zur Folge hat und einen Anstieg des postprandialen P Serumspiegels induziert (GIRAL et al., 2009). Letztgenannte akute Upregulation von Npt2b im Duodenum der Ratte als akute Antwort auf HPD kann zu einer transienten postprandialen Hyperphosphatämie führen, die mehrere Stunden anhalten kann (GIRAL et al., 2009). Humanstudien, die die adaptiven Veränderungen aufgrund der Gabe verschiedener alimentärer P-Dosierungen untersuchten, haben ähnliche postprandiale Erhöhungen des Serum P gezeigt (NISHIDA et al., 2006). In den Individuen, denen die HPD gegeben wurde, wurde ein erheblicher Anstieg des Serum P-Spiegels deutlich jenseits des Normalspiegels mit einem Peak nach 2h beobachtet. Allerdings scheint eine durch HPD induzierte Hyperphosphatämie bei Menschen (von 3,5 auf 5,0 mg/dl) milder zu sein als bei Ratten (von 5 auf 17 mg/dl) (NISHIDA et al., 2006; ISAKOVA et al., 2008; GIRAL et al., 2009).

Ähnliche regionspezifische Unterschiede hinsichtlich der P-Resorption konnten Marks et al. (2006) bei der Antwort auf $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gaben an Nager, die ausgewogen mit P gefüttert wurden, feststellen. Eine intraperitoneale Injektion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ scheint in Ratten und Mäusen die P-Resorption im Jejunum zu steigern, aber im Duodenum nicht zu beeinflussen (MARKS et al., 2006).

Die Tatsache, dass duodenale und jejunale Abschnitte unterschiedlich auf alimentären P reagieren, lässt vermuten, dass entlang des Intestinaltrakts unterschiedliche Regulationsmechanismen vorliegen. Diese regionspezifischen Anpassungen könnten eine unterschiedliche Expression von noch nicht identifizierten Regulationsproteine bedeuten, die die Expression und/oder die Aktivität von Npt2b Transportern modifizieren (SABBAGH et al., 2011).

Eine Anpassung des passiven P-Transportes im Dünndarm als Antwort auf LPD oder Vitamin D₃ konnte nicht festgestellt werden (HATTENHAUER et al., 1999; KATAI et al., 1999).

Mittlerweile wurde gezeigt, dass neben der alimentären P-Menge und Hormonen wie Parathormon (PTH), Calcitriol, Fibroblast growth factor 23 (FGF23), die in Kapitel 2.4. genauer beschrieben werden, eine Reihe weiterer Faktoren spezifisch oder auch indirekt die Npt2b Expression und/oder den natriumabhängigen P Transport im Intestinum regulieren: epidermale Wachstumsfaktor (EGF), Glukocorticoide, Östrogene, Metabolische Azidose, matrix extrazelluläres Phosphoglycoprotein (MEPE) (GAFTER et al., 1986; BOROWITZ und GRANRUD, 1992; XU et al., 2001; ARIMA et al., 2002; XU et al., 2003a; XU et al., 2003b; STAUBER et al., 2005; MARKS et al., 2008; MARKS et al., 2010). Informationen über die Rolle und Beeinflussung dieser genannten Faktoren untereinander sind noch begrenzt.

2.3. Die Reabsorption des Phosphors in den Nieren

Die P-Reabsorption in den Nieren soll hier nur kurz angesprochen werden, da diese bereits in einer Parallelarbeit behandelt wird.

Wie oben bereits thematisiert, sind in den Nieren mittlerweile vier Typen der Na/P-Transporter nachgewiesen worden: Npt2a und Npt2c sowie Pit1 und Pit2. Die Transporter der Typ II Familie (Npt2a und Npt2c) scheinen eine speziesspezifische unterschiedliche Rolle an der renalen Gesamt-P-Absorption zu spielen: Bei Mäusen hat wohl der Npt2a Transporter den größten Anteil an der renalen P Absorption; im Gegensatz dazu scheint beim Menschen der Npt2c eine größere Rolle bei der P Reabsorption in den Nieren zu spielen (BIBER et al., 2009; MIYAMOTO et al., 2011). Bei der Maus konnten Pit1 und Pit2 entlang des gesamten Nephrons nachgewiesen werden (TENENHOUSE et al., 1998b). Die physiologische Relevanz von Pit2 hinsichtlich P Absorption ist noch ungeklärt (BIBER et al., 2013). Mittlerweile ist bekannt, dass der P Transport über Pit1 in den Nieren, zumindest in vitro an humanen embryonalen Nierenzellen, durch PTH reguliert wird (FERNANDES et al., 1999). Ein Regulator des P Transports über Pit2 in den Nieren bei Ratten scheint die orale P Aufnahme zu sein (VILLABELLOSTA et al., 2009). Bei normalen diätetischen Gegebenheiten ist die Ausprägung der Na/P Cotransporter im juxtamedullärem Nephron am höchsten

(BIBER et al., 2013).

Die Reabsorption von P im proximalen Tubulus wird durch eine Vielzahl an hormonellen und metabolischen Faktoren reguliert bzw. beeinflusst, die letztendlich die Anzahl von Na^+/P Cotransportern entweder individuell oder kollektiv an der apikalen Membran verändern. Es ist wichtig zwischen schnellen (akuten) Anpassungen (z.B. solche verursacht durch PTH oder Dopamin), die innerhalb von Minuten ablaufen und langsamen (chronischen) Anpassungen (z.B. verursacht durch Östrogene (FAROQUI et al., 2008) oder Hypokaliämie (BREUSEGEM et al., 2009)) zu unterscheiden. Zudem unterscheiden sich auch der zeitliche Ablauf und die Signaltransduktionswege, die bei der Regulation der verschiedenen Na^+/P Cotransporter beteiligt sind, unter den oben genannten Faktoren (BIBER et al., 2013).

Die P Exkretion reagiert bemerkenswert schnell auf die alimentäre P Versorgung. Die Anpassung der renalen P Absorption auf veränderte orale P Aufnahme geschieht in < 60 min (akute Anpassung) (LEVINE et al., 1986; LEVI et al., 1996; RITTHALER et al., 1999). Studien über den Transport in Bürstensaummembranvesikeln zeigten, dass diese Anpassung in Form von Veränderungen in der scheinbaren maximalen P Transportrate an der apikalen Membran geschieht (VILLA-BELLOSTA et al., 2009). Bei Tieren, die chronisch mit HPD gefüttert wurden, steigerte ein akuter Switch auf LPD die P Reabsorption über den Npt2a Transporter; diese Adaptation benötigt keine Proteinsynthese (LEVINE et al., 1986). Die gegenteilige Funktionalität wurde bei Tieren beobachtet, die chronisch an LPD gewöhnt waren und bei denen eine Umstellung auf hohe P Aufnahmen schnell zu einem Abfall der Npt2a Expression führte. Diese Reaktion ist von der Downregulation von Npt2a durch PTH nicht zu unterscheiden (KEUSCH et al., 1998). Demnach verursacht HPD eine Internalisierung mit Verlagerung der Npt2a in Lysosomen. HPD führt auch zu einer Internalisierung von Npt2c, wenn auch langsamer, ohne dass Npt2c in Lysosomen transportiert wird (SEGAWA et al., 2005). Die signalgebenden Mechanismen, die die akute Veränderung der P Absorption aufgrund der Höhe der P Aufnahme vermitteln, sind nicht ganz verstanden. Obwohl Veränderungen in Serum P zwar die Serumspiegel von Ca, PTH, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und FGF23 beeinflussen, ist die adaptierte Antwort unabhängig von diesen genannten Faktoren (BIBER et al., 2009). Demzufolge scheinen die Zellen im proximalen

Tubulus Veränderungen der P Konzentration im Plasma oder im Primärharn durch bis heute noch nicht bekannte Mechanismen zu registrieren (BERGWITZ und JÜPPNER, 2011). Alternativ könnte auch ein bis jetzt noch unbekannter Faktor an der adaptiven Antwort beteiligt sein (BERNDT et al., 2007; BIBER et al., 2013).

2.4. Die hormonelle Regulation der Phosphorhomöostase

Im Folgenden sollen die am P Stoffwechsel beteiligten Hormone vorgestellt und die Beeinflussung ihrer Konzentrationen durch den Ca- und P-Spiegel im Blut erläutert werden.

2.4.1. Parathormon

Das Peptidhormon wird in den Nebenschilddrüsen gebildet, dessen Hauptaufgabe es wohl ist als „Calciostat“ zu fungieren (BERGWITZ und JÜPPNER, 2010). Die PTH-Sekretionsrate wird streng, und zwar reziprok, durch die extrazelluläre Ca-Konzentration reguliert, d.h. ein Anstieg über den Normalwert hemmt die PTH-Sekretion (negative Rückkopplung). Für diesen Regulationsmechanismus ist der 1993 entdeckte calciumsensitive Rezeptor (CaR) verantwortlich (BROWN et al., 1993). Mittlerweile ist bekannt, dass eine Veränderung des Ca-Spiegels nicht der alleinige Regulator der PTH-Sekretion ist, sondern auch Veränderungen des P-Spiegels die PTH-Sekretion sowohl direkt als auch indirekt beeinflussen. So steigert eine persistierende Hyperphosphatämie die PTH-Sekretion indirekt mutmaßlich durch die Absenkung des extrazellulären Ca und Steigerung der PTH mRNA (NAVEH-MANY et al., 1995; MOALLEM et al., 1998; BERGWITZ und JÜPPNER, 2010). Im Falle einer Hypophosphatämie wird die PTH-Sekretion indirekt durch die Upregulation von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ unterdrückt. Neben diesen indirekten Effekten ließen bereits zahlreiche Studien an Ratten einen ebenso direkten Effekt von P auf die Nebenschilddrüsen unabhängig des Ca-Serum Spiegels vermuten (ALMADEN et al., 1996; HERNANDEZ et al., 1996; MASUYAMA et al., 2000). Mittlerweile wird angenommen, dass P die PTH mRNA Stabilität über den Peptidylprolyl-Isomerase 1 (Pin 1)/ K-homology splicing regulator protein (KSRP)-Signalweg reguliert (DINUR et al., 2006; NECHAMA et al., 2008; KUMAR, 2009; NECHAMA et al., 2009), wobei die exakten Mechanismen noch nicht geklärt sind (BERGWITZ und JÜPPNER, 2011).

2.4.2. Calcitriol

Vitamin D wird über die Nahrung aufgenommen und nach der intestinalen Resorption von Vitamin D im Dünndarm, bzw. beim Menschen auch nach der Bildung von Provitamin D₃ in der Haut, an ein Vitamin-D-bindendes Protein (DBP) gebunden und zur Leber transportiert. In den Hepatozyten erfolgt der erste Schritt der metabolischen Aktivierung, indem das 25-C-Atom hydroxyliert wird. Als nächster Schritt erfolgt die Einführung einer Hydroxylgruppe mittels der 1 α -Hydroxylase, einem Enzym, das in den Mitochondrien von Zellen im proximalen Tubulus der Nieren vorhanden ist. Neben der 1 α -Hydroxylierung von 25(OH)D₃ zu 1,25(OH)₂D₃ (= die aktive Form des Vitamin D, Calcitriol) existiert in den Nieren eine weitere Hydroxylierungsreaktion von 1,25(OH)₂D₃ zum 24,25-Dihydroxycholecalciferol (24,25(OH)₂D₃) mittels der 24-Hydroxylase, was eine Art Inaktivierung des Vitamin D darstellt.

1,25(OH)₂D₃ selbst zeigt keine biologische Aktivität, sondern kann nur über die Interaktion mit einem intrazellulären Rezeptor (Vitamin-D-Rezeptor, VDR) wirken. Dieser gehört zur Superfamilie der Steroidhormonrezeptoren (EVANS, 1988) und funktioniert als ein Liganden-aktivierter Transkriptionsfaktor, d.h. der 1,25(OH)₂D₃/VDR-Komplex löst im Nukleus eine Änderung der Gentranskription aus (BROWN et al., 1999; EBERT et al., 2006).

Wie andere Steroidhormone, kann Vitamin D auch schnelle Effekte an Zielzellen bewirken, die innerhalb Sekunden bis Minuten ablaufen. Diese Wirkungen werden oft als sogenannte „nicht genomische“ Effekte bezeichnet, da sie binnen der kurzen Reaktionszeit nicht durch oben erwähnte Genexpression hervorgerufen worden sein können (BOYAN et al., 2003). Allerdings ist der Ausdruck „nicht genomisch“ hier nicht ganz korrekt, da diese schnellen Reaktionen, die aus Veränderungen im Ca-Einstrom oder der Kinase-Aktivität resultieren, sekundär eine Genregulation induzieren und somit darauf folgende Ereignisse sehr wohl auf einer genomischen Wirkung basieren (EBERT et al., 2006). Mittlerweile wird deshalb vermutet, dass nicht nur intrazelluläre, sondern auch membranständige, steroidabhängige Rezeptoren existieren bzw. wird diskutiert, ob der 1,25(OH)₂D₃/VDR-Komplex nicht nur nukleäre, sondern auch membranständige Effekte ausüben kann, indem er mit einem membranständigen Protein fusioniert (NEMERE et al., 2004; EBERT et al., 2006). Letztere Hypothese wird durch eine Studie an Mäusen, in der eine Eliminierung des VDR zu einem Verschwinden der

schnellen, nicht genomischen Effekte von Vitamin D führte, bekräftigt (ERBEN et al., 2002; EBERT et al., 2006).

Mittlerweile ist bekannt, dass $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nicht nur auf die Ca- und P-Homöostase, sondern auf verschiedenste biologische Vorgänge einen Einfluss hat, unter anderem auf Zelldifferenzierung und –wachstum, auf Immunreaktionen und auf die Insulinsekretion (DUSSO et al., 2005). Letztgenannte Wirkungen von Calcitriol auf solche „nicht klassischen Zielorgane“, sollen aber nicht Bestandteil vorliegender Arbeit sein.

Der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegel im Blut wird vorrangig durch den Gehalt der Enzyme $1-\alpha$ -Hydroxylase bzw 24-Hydroxylase bestimmt. So führen Hypocalcämie (BLAND et al., 1999) und Hypophosphatämie (TANAKA und DELUCA, 1973; HUGHES et al., 1975) zu einer gesteigerten Expression des Gens CYP27B1, das für das Enzym $1-\alpha$ -Hydroxylase codiert. Zu einer Reduktion der CYP27B1-Genexpression und somit zu einer Senkung des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Spiegels führen Hypercalcämie (BLAND et al., 1999) und Hyperphosphatämie (BERGWITZ und JUPPNER, 2010). Ein hoher Spiegel an $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ selbst wirkt ebenfalls hemmend auf die $1-\alpha$ -Hydroxylase (DUSSO et al., 2005). Allerdings lässt sich an Zellkulturen kein direkter Einfluss des P feststellen, sodass man hier einen systemischen, über ein Hormon vermittelten Effekt vermutet. Die hierbei in Frage kommenden Faktoren könnten die Phosphatonine FGF23, frizzled-related protein 4 (FRP-4) und matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE) sein (SCHIAVI und KUMAR, 2004; DUSSO et al., 2005).

2.4.3. Fibroblast growth factor 23 (FGF23)

FGF23 gehört zur FGF19 Subfamilie der FGF Familie. Im Gegensatz zu den anderen SubFamilien, die als parakrine/autokrine Substanzen fungieren, wirken die FGFs aus der FGF19 Familie als endokrine Faktoren oder Hormone (KUROO, 2012). All diesen endokrinen FGFs ist gemeinsam, dass ihnen eine Heparin-bindende Domäne fehlt, die für die Aktivierung des Fibroblast Growth Factor Rezeptors (FGFR) nötig ist. Dieses Handicap wird dadurch kompensiert, dass die endokrinen FGFs stattdessen Klothoproteine benutzen, um schließlich mit Klotho als Cofaktor als FGF-FGFR-Komplex am Zielorgan wirken zu können (KUROSU et al., 2006). Da FGFRs, im Gegensatz zu Klotho, nahezu ubiquitär exprimiert werden, scheint es so, dass die Anwesenheit von Klotho darüber entscheidet, ob

eine Zelle eine FGF23 Zielzelle ist (HU et al., 2013). Klotho defiziente Mäuse (Klotho $-/-$) weisen einen extrem hohen FGF23-Spiegel im Blut auf, höchstwahrscheinlich bedingt durch eine Resistenz des Endorgans (URAKAWA et al., 2006).

FGF23 wird in den Osteozyten Parathormon Rezeptor (PTHr) - abhängig (RHEE et al., 2011) und in Osteoblasten VDR-abhängig (MASUYAMA et al., 2006) synthetisiert und dessen Expression von den beiden knochenspezifischen Proteinen PHEX-Gen (ein P-regulierendes Gen mit Homologie zur Endopeptidase auf X-Chromosom) und DMP-1 (dentin matrix protein 1) reguliert (MARTIN et al., 2011).

Hypocalcämie scheint einen hemmenden Effekt auf die FGF23 Expression zu haben, wie eine Fütterungsstudie an Ratten vermutet lässt (RODRIGUEZ-ORTIZ et al., 2012): In Nebenschilddrüsenektomierten Ratten mit Hypocalcämie führte eine zehntägige Ca-Supplementierung zu einem Anstieg des Ca-Spiegels, vergesellschaftet mit einem Anstieg des FGF23-Spiegels und einem Abfall der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegels und keinen Veränderungen des Serum P Spiegels.

Im Gegensatz dazu scheint der Serum P Spiegel eine positive Wirkung auf die FGF23 Expression zu haben, allerdings ist der Mechanismus hierbei noch nicht verstanden, zumal es einige Diskrepanzen in den Studien zu geben scheint: So zeigte die Fütterungsstudie von Yu et al. (2005) an VDR($-/-$)knockout-Mäusen, dass P den FGF23 Spiegel im Blut unabhängig von Vitamin D steigert (YU et al., 2005). Jedoch steigerte ein akuter Anstieg des P Spiegels im Blut durch eine intravenöse P- Injektion bei Menschen nicht den FGF23 Spiegel (ITO et al., 2007). Die Ergebnisse von Lopez et al (2011) demonstrierten, dass bei einem niedrigen PTH-Spiegel, ein hoher P-Serumspiegel die FGF23-Konzentration nicht zu steigern vermag (LOPEZ et al., 2011).

Hardcastle und Dittmer (2015) wiesen darauf hin, dass scheinbare Diskrepanzen in Studien, die den Zusammenhang zwischen P- und FGF23-Konzentrationen untersuchten, auch durch noch vorliegende Wissenslücken hierüber erklärt werden könnten. So ist zum Beispiel derzeit noch unklar, wie die extrazelluläre P Konzentration registriert wird und was FGF23 genau reguliert (WOLF, 2010).

Zudem scheint die Dauer erhöhter P-Spiegel eine Rolle bei der Wirkung von P auf FGF23 zu spielen: Eine langfristige Steigerung des P Spiegels im Blut führt wohl

eher zu einem Anstieg der FGF23 Konzentration als kurzfristige Erhöhungen des P Spiegels (LARSSON et al., 2003). Weiterhin scheint die extrazelluläre P Konzentration die FGF23 Sekretion, unabhängig von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (YU et al., 2005), über das Gen des Polypeptid N-acetylgalactosaminyltransferase 3 (GALNT3) beeinflussen zu können (CHEFETZ et al., 2009). GALNT3 ist für die posttranslationale Glykosylierung des C-terminalen Fragment des FGF23 zu seiner intakten, bioaktiven Form notwendig (FRISHBERG et al., 2007). Eine Mutation des GALNT3-Gens und somit der Wegfall der Glykosylierung führt bei Menschen zur tumorösen Calcinose (ARAYA et al., 2005; BERGWITZ et al., 2009; ICHIKAWA et al., 2009; BERGWITZ und JÜPPNER, 2011).

2.4.4. Klotho

Klotho wurde ursprünglich als „aging suppressor gene“ identifiziert, das in Mäusen zu erhöhter Lebenserwartung bei Überexpression (KUROSU et al., 2005) und zu einem Krankheitsbild ähnelnd des Alterungsprozesses des Menschen bei Mutation führt (KURO-O et al., 1997). Es gibt drei Klotho Unterfamilien: α Klotho, β Klotho und γ Klotho. α Klotho wird in den Nieren, den Nebenschilddrüsen und im Choroidplexus im Gehirn exprimiert, wo es einen Komplex mit FGFR1c, FGFR3c und FGFR4 formt, und als Rezeptor mit hoher Affinität für FGF23 dient (KUROSU et al., 2006). Da der benötigte Cofaktor für FGF23 α Klotho ist, wird im Folgenden nur auf diesen genauer eingegangen. Neben der Funktion als Transmembranprotein kann α Klotho zusätzlich als humoraler, löslicher Faktor unabhängig von FGF23 fungieren (KUROSU et al., 2005). Im Zusammenhang mit dem Ca- und P-Stoffwechsel sind dem zirkulierenden, löslichen α Klotho mittlerweile folgende Funktionen zugeschrieben:

- (1) Es kontrolliert und aktiviert das Zelloberflächenprotein TRPV5 (transient receptor potential ion channel 5), was zu einer Stimulation des transepithelialen Calcium-Transports in den Nieren führt (CHANG et al., 2005).
- (2) Es inaktiviert den renalen P-Transporter Npt2a, was zu einer Steigerung der renalen P-Ausscheidung führt (HU et al., 2010).
- (3) Es hält die Na/K-ATPase-Aktivität an der Zellmembran im Falle einer Hypocalcämie aufrecht und fördert somit die PTH Sekretion (IMURA et al., 2007; NABESHIMA, 2008).

Da α Klotho sowohl als membranständige Form zusammen mit FGF23, als auch als lösliche Form selbstständig über die Regulation renaler Na/P Cotransporter und renaler Ca-Kanäle auf den Ca- und P-Stoffwechsel einwirkt, ist sein Wirkspektrum sehr komplex. Es gibt inzwischen deutliche Hinweise darauf, dass die Interaktionen zwischen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, FGF23 und Klotho eine endokrine Achse für den Ca- und P-Metabolismus bilden und eine Störung dieser Achse zum Fortschreiten renaler Erkrankungen führt (DE BORST et al., 2011).

Klotho kann als ein „nierenschützender“ Faktor angesehen werden: Im Falle einer Klotho-Überexpression übt es einen heilsamen Effekt auf Mäuse mit Glomerulonephritis (HARUNA et al., 2007) und auf Ratten mit akutem Nierenschaden (SUGIURA et al., 2005) aus. Ein Abfall der renalen Klotho Expression geht sowohl mit einer FGF23 Überexpression als auch mit Hyperphosphatämie einher. Des Weiteren zeigten Klotho-defiziente Mäuse eine gesteigerte Expression des 1- α -Hydroxylase-Gens und somit erhöhte $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegel trotz Hypercalcämie und Hyperphosphatämie und verstarben schließlich früh an ektopischen Gewebsverkalkungen (YOSHIDA et al., 2002).

Mittlerweile ist bekannt, dass die Klotho Gen Expression durch den $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ /VDR-Komplex (FORSTER et al., 2011) und durch das Renin-Angiotensin-Aldosteron System (RAAS) in den Nieren (DE BORST et al., 2011) reguliert wird. Die Aktivierung des Letzteren, wie es zum Beispiel bei chronischer Nierenerkrankung (Chronic kidney disease; CKD) der Fall ist, führt zu einer Reduktion der renalen Klotho Expression. Zudem ist im Falle eines Nierenschadens die Synthese von VDR, vermutlich aufgrund einer Hemmung durch urämische Toxine (PATEL et al., 1994a), sowie die nukleäre Aufnahme des VDR reduziert (PATEL et al., 1994b), was beides zu einer reduzierten Wirkung des VDR und somit zu einem Abfall der Klotho Expression führt (FORSTER et al., 2011). Weiterhin scheint oxidativer Stress ein weiterer Inhibitor der Klotho Expression zu sein, wie eine vitro Studie an Nierenzellen von Mäusen zeigte (MITOBE et al., 2005).

2.4.5. Zusammenspiel der Hormone und deren Wirkung auf beteiligte Organsysteme

Im Folgenden wird das Zusammenspiel der Wirkungen der bereits genannten Hormone untereinander (Feedbacksysteme), sowie deren Wirkungen auf beteiligte Organsysteme (Knochen, Nieren und Nebenschilddrüsen) anhand von Abbildung 1 veranschaulicht.

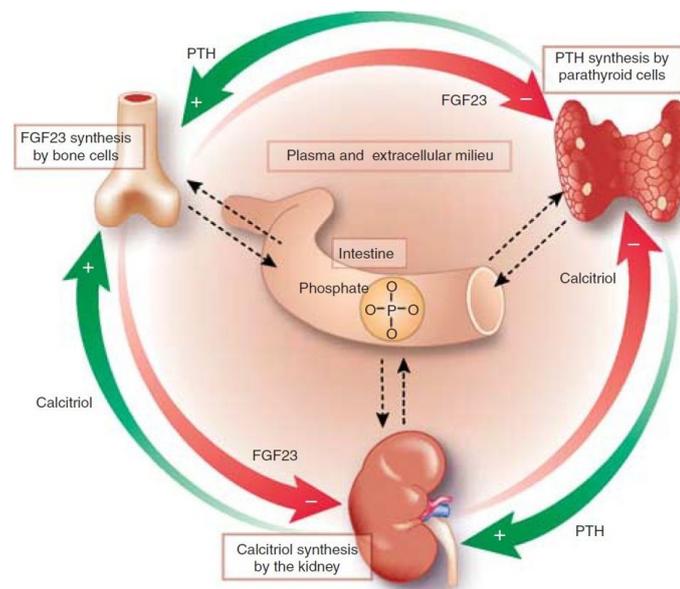


Abb. 1: Regulatoren der Phosphorhomöostase

[aus: (TORRES und DE BRAUWERE, 2011)]

a) Wirkungen von PTH auf die Knochen:

Im Falle einer Hypocalcämie fördert ein erhöhter PTH Spiegel den Knochenabbau durch Stimulation der Osteoklastogenese, was schließlich zu einer Ca-(und P-)Freisetzung aus dem Knochen führt. PTH besitzt ebenso anabole Effekte auf den Knochenstoffwechsel. Diese vermeintlich paradoxe Wirkungsweise von PTH lässt sich wie folgt erklären:

Der Rezeptor für PTH (PTHr) ist hauptsächlich in Osteoblasten und weniger in Osteoklasten zu finden (ABOU-SAMRA et al., 1992; BOS et al., 1996). Die Stimulation der Osteoblasten durch PTH über den PTHr führt zu einer gesteigerten Sekretion des Cytokins RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand) und zu einem Abfall der Expression von Osteoprotegerin (OPG), ein Inhibitor von RANKL aus der Familie der Tumornekrosefaktor (TNF)-Rezeptoren (HUANG et al., 2004). RANKL ist ein bedeutender Faktor der

Osteoklastenentwicklung, wohingegen OPG diese und die Osteoklastenaktivität reduziert (SIMONET et al., 1997; NAKAGAWA et al., 1998). Folglich ist das Verhältnis der RANKL/OPG Expression ein Maß für den Grad des Knochenabbaus, das mit dem Ausmaß und der Dauer der Erhöhung des PTH-Spiegels ansteigt. Somit entscheidet das Verhältnis der RANKL/OPG Expression über die katabolen bzw. anabole Effekte von PTH (EMAMI-NEMINI, 2012). Mittlerweile wird vermutet, dass der CaR sowohl bei den anabolen als auch katabolen Effekten von PTH eine Rolle spielt, wie Studien an PTH Gen und/oder CaR Gen- Knockout Mäusen zeigten (XUE et al., 2012).

Zudem stimuliert PTH die Synthese und Sekretion von FGF23 über die Aktivierung des PTHR im Knochen (LAVI-MOSHAYOFF et al., 2010; RHEE et al., 2011). Die Studienergebnisse von Lopez et al. (2011) zeigten sogar, dass PTH für die Aufrechterhaltung eines normalen FGF23-Spiegels notwendig ist. In Nebenschilddrüsenektomierten Ratten, die eine deutliche Hyperphosphatämie zeigten, sank die FGF23-Plasmakonzentration ab. Dahingegen steigerte eine PTH-Supplementation den FGF23-Spiegel dosisabhängig, obwohl die extrazelluläre P Konzentration zeitgleich abfiel. Zudem hatten Veränderungen des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Spiegels einen Einfluss auf den stimulatorischen Effekt von PTH auf FGF23, allerdings nur wenn die PTH Konzentration niedrig war. Bei hohem PTH-Spiegel scheint PTH eine von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ unabhängige Wirkung auf FGF23 zu haben (LOPEZ et al., 2011).

b) Wirkungen von PTH auf die Nieren:

Hohe PTH Konzentrationen führen in den Nieren zur Inaktivierung der Na/P-Cotransporter (Npt2a und Npt2c) über die Aktivierung des PTHR1 in den proximalen Tubuluszellen, was zu einem Abfall der renalen P-Absorption und somit zu einer Steigerung der P-Exkretion führt. Studien an Nagern zeigten hierbei, dass die Stimulation des PTHR1 zu einem Abfall der apikalen Npt2a Expression innerhalb von Minuten führt (BACIC et al., 2006), wohingegen eine Veränderung der apikalen Anzahl an Npt2c erst nach Stunden beobachtet werden konnte (SEGAWA et al., 2007).

Quasi als Gegenspieler von FGF23 reguliert PTH die Expression von Cyp27b1, das Gen das für das Enzym 1α -Hydroxylase codiert, in den Nieren hoch (BRENZA et al., 1998; MURAYAMA et al., 1998). Somit wird der Blutspiegel

von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gesteigert, das wiederum durch eine gesteigerte intestinale P Resorption der phosphaturischen Wirkung von PTH bzw. FGF23 entgegenwirkt.

c) Wirkungen von PTH auf den Darm:

PTH hat im Gegensatz zu den Na/P-Cotransportern in den Nieren keinen Einfluss auf die Expression des Na/P-Cotransporters (Npt2b) im Darm (SABBAGH et al., 2011). Als Ursache wird eine zu Npt2a und Npt2c verschiedene terminale Aminosäurestruktur des Npt2b vermutet, denn Npt2b fehlt im Vergleich zu Npt2a und Npt2c ein zweibasisches Ende (KARIM-JIMENEZ et al., 2000; MURER et al., 2001). Allerdings kann PTH den intestinalen P-Transport indirekt durch seinen stimulatorischen Effekt auf die Synthese von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ steigern (MARKS et al., 2010). Des Weiteren wird wohl auch ein indirekter Effekt von PTH auf den intestinalen VDR vermutet, wobei der Mechanismus hierbei noch zu ermitteln ist (SZABÓ et al., 1998).

d) Wirkungen von Calcitriol auf die Knochen:

Ein hoher $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Serumspiegel steigert die FGF23 Synthese (KOLEK et al., 2005; NISHI et al., 2005) in einer VDR-abhängigen Signalkaskade (BARTHEL et al., 2007).

Zudem wird $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sowohl für anabole als auch für katabole Vorgänge im Knochengerüst benötigt, denn es spielt bei dem RANKL-OPG-System (siehe hierzu Wirkungen von PTH auf Knochen) ebenfalls eine Rolle: Es kann die RANKL Expression und somit die Osteoklastogenese stimulieren (KITAZAWA et al., 2003), aber ebenso durch Förderung der OPG-Synthese der Osteoklastogenese entgegenwirken (KONDO et al., 2004). Dabei scheint die Art der Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf die Knochen (anabol versus katabol) unter anderem von der Dauer des Einflusses von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ abhängig zu sein, wie in vitro Studien zeigten: Eine kurzzeitige Einwirkung hoher $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Konzentrationen auf Osteoblastenvorläuferzellen führte zu einer Downregulation der OPG Expression und hatte einen katabolen Effekt zur Folge. Jedoch scheint auf Dauer (nach 72 Stunden) das OPG Gen unsensibel auf $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu werden und die OPG Gen Expression sinkt auf den „steady state“ ab, was den anabolen Effekt von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ überwiegen lässt (KONDO et al., 2004).

e) Wirkungen von Calcitriol auf die Nebenschilddrüsen:

1,25(OH)₂D₃ unterdrückt sowohl direkt die Synthese von PTH durch Hemmung des PTH Gens über den 1,25(OH)₂D₃/VDR-Komplex (SILVER et al., 1985; RUSSELL et al., 1986; DUSSO et al., 2005), als auch indirekt durch Steigerung der Expression des CaR (BROWN et al., 1996; CANAFF und HENDY, 2002). Durch eine Erhöhung der Konzentration an CaR steigt die Sensitivität der Nebenschilddrüse für extrazelluläres Ca und somit der Ca-Spiegel, was wiederum eine hemmende Wirkung auf die PTH-Sekretion hat.

f) Wirkungen von Calcitriol auf den Darm:

Calcitriol fördert über einen VDR-abhängigen Wirkungsmechanismus die Expression von Npt2b im Darm, was zu einer vermehrten intestinalen P-Resorption führt (SABBAGH et al., 2011). Betont sei hier, dass der zweite Stimulus der Npt2b Expression, nämlich eine geringe alimentäre P Zufuhr, über einen anderen Signalweg erfolgt: Dieser findet VDR- und 1,25(OH)₂D₃-unabhängig über posttranskriptionale Mechanismen statt (SEGAWA et al., 2004; CAPUANO et al., 2005).

g) Wirkungen von FGF23 auf die Nebenschilddrüsen:

FGF23 hemmt in den Nebenschilddrüsen die Synthese und Sekretion von PTH direkt über die Mitogen aktivierte Proteinkinase Kaskade (MAPK) (BEN-DOV et al., 2007; KRAJISNIK et al., 2007; GALITZER et al., 2008). Zudem steigert FGF23, unter normalen physiologischen Bedingungen mit normaler Klotho und FGFR Expression, sowohl die Expression des CaR in den Nebenschilddrüsen, als auch den VDR und es hemmt die Zellproliferation in den Nebenschilddrüsen (BEN-DOV et al., 2007; CANALEJO et al., 2010), was allesamt zu einer indirekten Hemmung von PTH führt. Letztere drei Mechanismen sind unter pathophysiologischen Bedingungen, wie zum Beispiel bei CKD Patienten mit hyperplastischen Nebenschilddrüsen, nicht mehr gegeben (CANALEJO et al., 2010).

h) Wirkungen von FGF23 auf die Nieren:

FGF23 wirkt als phosphaturisches Hormon (WEBER et al., 2003; GOETZ et al., 2010), indem es ähnlich dem PTH die Na/P-Cotransporter (Npt2a und Npt2c) in den Nieren hemmt (MURER et al., 2003; HU et al., 2013) und somit die renale

Rückresorption von P unterbindet. Diese phosphaturische Wirkung ist unabhängig derer von PTH (YUAN et al., 2011).

FGF23 steuert durch drei verschiedenen Mechanismen der Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ entgegen, nämlich neben der Hemmung der PTH Sekretion durch Hemmung der renalen 1α -Hydroxylase über die Reduktion der CYP27B1 Genexpression (SHIMADA et al., 2004) und Induktion der renalen 24-Hydroxylase in den Nieren (LIU et al., 2006; HU et al., 2013). So könnte FGF23 mit seiner phosphaturischen Wirkung als das gegenregulierende Hormon zu Calcitriol angesehen werden (LIU et al., 2006).

i) Wirkungen von FGF23 auf den Darm:

FGF23 reduziert über einen VDR-abhängigen Wirkmechanismus die Expression des Na/P-Cotransporters (Npt2b) im Darm, was zu einer Reduktion der intestinalen P Resorption führt (MIYAMOTO et al., 2005). Allerdings war bei Tieren im chronischem Nierenversagen die intestinale Na^+/P^- -Transportaktivität im Vergleich zu Kontrolltieren trotz hoher FGF23-Spiegel im Plasma nicht reduziert (MIYAMOTO et al., 2005). Szabo et al. (1996) zeigten, dass die intestinale $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Bindungskapazität in urämischen Ratten im Vergleich zu Kontrolltieren deutlich herunter geregelt war (SZABÓ et al., 1996). Weiterhin berichtet eine andere Studie, dass die $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ Resistenz gegenüber dem intestinalen VDR im Nierenversagen teilweise durch einen reduzierten Eintritt des VDR in den Nukleus erklärt werden kann (PATEL et al., 1994b). Demnach könnte sich bei Tieren im chronischen Nierenversagen eine abnormale Funktion des intestinalen VDR auch auf die Regulation des Npt2b Transporter durch FGF23 auswirken (MIYAMOTO et al., 2005).

j) Wirkungen vom Darm auf andere Organe:

Bis jetzt gibt es noch keine Beweise, ob ein intestinaler P-Sensor existiert, der eines der genannten Organe (gestrichelte Linien in Abb. 1) im Falle einer P-Übersversorgung bzw. im Falle eines P-Mangels direkt „warnt“ (TORRES und DE BRAUWERE, 2011).

Mittlerweile wird stark vermutet, dass der Darm über seinen Na/P-Cotransporter (Npt2b) eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der P-Homöostase spielt: Npt2b scheint einen Einfluss auf die hormonelle Regulation der renalen Na/P-

Cotransporter (Npt2a und Npt2c) zu haben, wie Studien an Npt2b(-/-)-Knockout-Mäusen zeigten (SABBAGH et al., 2009; OHI et al., 2011; SCHIAVI et al., 2012). Sabbagh et al. (2009) demonstrierten, dass der Verlust des intestinalen Npt2b bei Knockout-Mäusen zu einem Abfall der FGF23-Konzentration führte, genau dem Hormon das für die phosphaturische Wirkung durch einen Abfall der renalen Expression der Na/P-Cotransporter verantwortlich ist (SABBAGH et al., 2009). Es wird vermutet, dass diese „Kommunikation“ zwischen dem Na/P-Cotransporter im Darm und denen der Nieren über einen „Sensing“-Mechanismus stattfindet (SABBAGH und SCHIAVI, 2014), der wohl auch in der Lage ist Veränderungen extrazellulärer P-Konzentrationen, wie zum Beispiel im Plasma oder Primärharn, zu registrieren (BERGWITZ und JÜPPNER, 2011; BIBER et al., 2013). Allerdings könnten dieser metabolische Sensing Mechanismus (Regulation der P Effekte auf den Zellstoffwechsel) und der endokrine Sensing Mechanismus (Regulation der extrazellulären P Konzentration durch hormonelle Feedbacksysteme) auch verschiedene Signaltransduktionskaskaden benutzen (BERGWITZ und JÜPPNER, 2011). Hierzu bedarf es weiterer Studien.

Solch ein Mechanismus des „P-Sensings“ ist bei Bakterien und Hefen bereits bekannt: Diese simplen Organismen benutzen ein transkriptionales Regulationssystem, Pho-Regulon genannt, um den P-Metabolismus anzupassen (SABBAGH, 2013). Drosophila-Arten zeigen ebenfalls „P-Sensing“-Mechanismen, die an die MAPK-Signalkaskade gekoppelt sind (BERGWITZ et al., 2012). Diese Studien könnten den Grundstein für die Entdeckung solch eines Mechanismus in Säugern (Mensch) darstellen (SABBAGH und SCHIAVI, 2014).

Die in vivo Studie an Ratten von Martin und Mitarbeiter (2005) gibt Hinweise auf die Existenz einer möglichen intestinalen Signalgebung auf andere Organe und die eines „P-Sensing“-Mechanismus in Säugern: Die orale Gabe von Phosphonoformat, ein P-Analogon, das die intestinalen Na/P-Cotransporter hemmt, führte zu einem schnellen Anstieg des PTH Spiegels, obwohl die intestinale aktive P Resorption gehemmt war und es zu keinen Veränderungen des Ca- und P-Spiegels kam (MARTIN et al., 2005).

3. Der Phosphorstoffwechsel – Studien an Hunden

Der Gesamtbestand an P im Körper eines adulten Hundes beträgt 5-8 g/kg KM, wobei sich über 80% davon in anorganischen Verbindungen mit Calcium in Form von Calciumphosphat bzw. Hydroxylapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) im Skelett und in den Zähnen befinden (MEYER und ZENTEK, 2016). Im Weichgewebe liegt P in Konzentrationen von 1-4 g/kg KM vor (MEYER und ZENTEK, 2016) und ist Bestandteil von Nukleinsäuren, Nukleotiden, Phospholipiden (z.B. Lecithin) und vielen Proteinen. Es hat eine zentrale Funktion bei der Aktivierung verschiedener Substrate im Stoffwechsel (Phosphorylierung) und beim zellulären Energiestoffwechsel durch Bildung energiereicher Phosphate, wie zum Beispiel Adenosintriphosphat (ATP) oder Kreatinphosphat im Muskel (MEYER und ZENTEK, 2016). Im Muskelgewebe sind 8,6% des Gesamtphosphors eines adulten Hundes lokalisiert (NRC, 2006). Der Gehalt an anorganischen P im Blut beträgt beim adulten Hund 1,0 -2,0 mmol/l (MEYER und ZENTEK, 2016) und stellt dort als Bestandteil eines komplexen Puffersystems die physiologische Aufrechterhaltung des Säure-Basen-Haushaltes sicher. Die Tatsache, dass P zudem als Bestandteil von DNA/RNA, sowie von Zellmembranen in Form von Phospholipiden vorzufinden ist, zeigt ebenfalls die Wichtigkeit dieses Minerals beim Aufbau und bei der Funktion des Stoffwechsels auf. Tabelle 4 gibt die Empfehlung verschiedener Bedarfsnormen zur P-Versorgung von adulten Hunden wieder.

Tab. 4: Empfehlung für den täglichen Phosphorbruttobedarf eines adulten Hundes

täglicher Phosphorbruttobedarf	Quelle	Beispiel am 15kg Hund
75 mg/kg KM	(GfE, 1989; faktorielle Ableitung)	1125mg
100 mg/kg KM ^{0,75}	(NRC, 2006; recommended intake)	762mg
60 mg/kg KM	(MEYER und ZENTEK, 2016)	900mg

Es ist wenig über die Verteilung der intestinalen P-Transportsysteme des Hundes bekannt. Ungleich zum Menschen scheint der Dickdarm bei der intestinalen P-Resorption beim Hund eine größere Rolle zu spielen. Während diese beim Menschen unter physiologischen Bedingungen vernachlässigbar gering ist, macht die P-Resorption im Dickdarm beim Hund einen nicht unerheblichen Anteil an

der intestinalen Gesamtresorption des P aus. So zeigt eine Fütterungs- und Perfusionsstudie an colon- bzw. ileumfistulierten Hunden, dass P sowohl praecaecal als auch postileal resorbiert wird, wobei die postileale P-Nettoabsorptionsrate zwischen 0 und 88% (bezogen auf den Zufluss) variierte. Die höchsten Werte wurden bei P aus praecaecal hochverdaulichen Eiweißen (Fleisch, Lunge) festgestellt, dahingegen zeigten Rationen mit Sojaextraktionsschrot niedrige Absorptionsraten, die durch die höheren Anteile an Phytat in diesem Futtermittel bedingt gewesen sein könnten (SCHÜNEMANN et al., 1989).

Der P-Stoffwechsel des Hundes scheint ähnlichen Regulationsmechanismen zu unterliegen wie der anderer Spezies. So führt eine hohe alimentäre P-Aufnahme bei inversem Ca/P-Verhältnis zu einer reduzierten Knochenmasse (LAFLAMME und JOWSEY, 1972) wobei Hyperparathyroidismus der Mechanismus zu sein scheint, der die Knochenmasse bei wachsenden Hunden reduziert (LAFLAMME und JOWSEY, 1972; JOWSEY et al., 1974).

Analog zum Menschen und kleinen Nagern (TAM et al., 1982; HOCK und GERA, 1992; NEER et al., 2001) scheint beim Hund der Einfluss von PTH auf den Knochen abhängig vom Grad und der Dauer des Anstiegs des Serum PTH Spiegels zu sein. So führten kontinuierliche Infusionen, die einen persistierend erhöhten Serum PTH Spiegel zur Folge hatten, zu einer stärkeren Aktivität der Osteoklasten (katabole Wirkung), wohingegen täglich intermittierende Injektionen, die nur einen transienten Anstieg des Serum PTH Spiegels bewirkten, zu einer stärkeren Aktivität der Osteoblasten (anabole Wirkung) führten (PODBESEK et al., 1983).

Beim Menschen wird mittlerweile ein hormonelles Netzwerk zwischen Knochen, Nieren und Nebenschilddrüsen angenommen, das den P-, Ca-, und Calcitriolspiegel im Blut reguliert. Hierbei scheint FGF23 der maßgebende regulierende Faktor für P und PTH der für Ca zu sein. Calcitriol hält das Gleichgewicht zwischen diesen beiden Faktoren (GALITZER et al., 2008)

Beim Hund ist erst wenig über die Bedeutung von FGF23 oder anderen Phosphatoninen bekannt (HARDCASTLE und DITTMER, 2015), jedoch scheinen diese auch beim Hund eine Rolle zu spielen. So wurde eine gesteigerte Expression von FGF23 in Weichteilsarkomen festgestellt, die zum Teil

Phosphatonin-exprimierenden mesenchymalen Tumoren bei Menschen ähnelten (HARDCASTLE und DITTMER, 2016). Aufgrund einer früheren Studie, in der ein 6 Wochen alter Welpen nach Injektion eines Tumorextrakts, das eine tumorinduzierte Osteomalazie bei einem humanen Patienten auslöste, Phosphaturie entwickelte, lässt vermuten, dass der Hund ein mit dem Menschen vergleichbares Phosphatonin-System hat (ASCHINBERG et al., 1977; HARDCASTLE und DITTMER, 2015).

Analog zum Menschen ist Calcitriol auch beim Hund für den Ca-Stoffwechsel und der Skelettentwicklung bedeutsam. Hierbei spielt es neben der Mineralisierung des Knochens auch eine Rolle bei der stimulierenden Wirkung des PTH auf die Osteoklasten (MALLUCHE et al., 1986; HAZEWINDEL und TRYFONIDOU, 2002). Ein bedeutender Unterschied zum Menschen besteht darin, dass der Hund Calcitriol nicht in ausreichender Menge unter der Einwirkung von Sonnenlicht in der Haut synthetisieren kann und es deshalb über die Nahrung aufnehmen muss (HOW et al., 1994). Eine Studie über den Calcitriol-Metabolismus bei wachsenden Hunden zeigte, dass eine exzessive Aufnahme von Ca und P niedrige Plasmakonzentrationen an $25(\text{OH})\text{D}_3$ und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zur Folge hatte (HAZEWINDEL und TRYFONIDOU, 2002). Des Weiteren vermuteten die Autoren bei großwüchsigen Hunderassen einen Zusammenhang zwischen niedrigem $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Plasmaspiegel und der Entstehung von Ossifikationsstörungen in der schnellen Wachstumsphase. Kleinwüchsige Hunderassen, die das gleiche Futter aufnahmen, zeigten dagegen höhere $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Plasmawerte als die großwüchsigen Rassen (HAZEWINDEL und TRYFONIDOU, 2002). Beim Menschen wird angenommen, dass ein physiologisches Gleichgewicht zwischen $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bedeutsam für eine optimale Skelettentwicklung und -mineralisierung ist (BOYAN et al., 2001).

4. Pathophysiologische Folgen eines anhaltenden Phosphorexzesses

Dass eine hohe orale P-Aufnahme nephrotoxisches Potential besitzt, ist bereits an Hunden und Nagern klar gezeigt worden (MACKAY und OLIVER, 1935; HAUT et al., 1980; SCHNEIDER et al., 1980a; SCHNEIDER et al., 1980b). Bei Nagern induziert es tubulointerstitielle Fibrose und Tubulusatrophie in gesunden, normalen Tieren, und noch stärker in einseitig nephrektomierten Mäusen, was vermuten lässt, dass der Grad der Nierenschädigung mit der Höhe der P-Exkretion per Nephron korreliert (HAUT et al., 1980).

In vitro Studien zeigten, dass hohe extrazelluläre P-Konzentrationen Auslöser von Zelltod und Verkalkung des Gewebes sein können, wenn P unlösliche Nanokristalle mit Ca formt sobald Ca und P-Konzentrationen die Löslichkeitsgrenze überschritten haben. CaP Nanokristalle sind sehr bioaktiv und können die Entstehung der Verkalkung fördern, indem sie die Synthese von Osteopontin und von knochenmorphogenetischem Protein BMP-2 induzieren (SAGE et al., 2011). Des Weiteren können sie über Endozytose in die Zelle aufgenommen und in Lysosomen aufgelöst werden, was einem Ca-Strom ins Zytosol und somit die Einleitung der Apoptose zur Folge hat. In den renalen proximalen Tubuluszellen induzieren die CaP-Kristalle die Entstehung freier Sauerstoffradikale (ROS) was zu oxidativen Zellschäden führt (AIHARA et al., 2003). Die Studie von Bank et al. (1978) in der die P-Konzentrationen in der tubulären Flüssigkeit über Mikropunktur an Ratten gemessen wurde, gibt Hinweise darauf, dass es zu einer Übersättigung von Ca und P im proximalen Tubulus kommt, sobald die P Exkretion per Nephron angestiegen ist (BANK et al., 1978). CaP-Kristalle verursachen oxidativen Zellschaden und die Synthese von monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in den proximalen Tubuluszellen (KHAN, 2004), was die Infiltration von Leukozyten und die Freisetzung von Entzündungsmediatoren fördert. Falls diese Reaktionskette, hervorgerufen durch eine gesteigerte P-Exkretion per Nephron, auch in vivo stattfindet, könnte dies zur Entstehung einer renalen Fibrose beitragen (HU et al., 2013).

Nicht nur an Nagern und Hunden ist gezeigt worden, dass selbst bei gesunden Tieren eine hohe orale P-Aufnahme zu Nierenschäden führt, sondern auch bei gesunden Menschen kann diese zur akuten Niereninsuffizienz führen: Eine hohe

orale Gabe von Na-P-Lösungen im Rahmen einer Darmreinigung vor einer Koloskopie führte zur akuten Phosphatnephropathie, die später zum Teil in einer CKD mündete (MARKOWITZ et al., 2005; ORI et al., 2008). Somit kann ein akuter und hochgradiger P-Exzess eine Niereninsuffizienz/CKD sowohl bei Tieren als auch bei Menschen auslösen. Ob mittelgradige chronische P-Exzesse ebenfalls eine CKD auslösen oder eine bestehende Insuffizienz verstärken bzw. eine Progression herbeiführen kann, ist derzeit nicht gesichert.

Fakt ist, dass Hyperphosphatämie ein gängiges Phänomen bei CKD –Patienten ist und es einen Einfluss auf die Überlebensdauer, nicht nur beim Menschen (GANESH et al., 2001; TONELLI et al., 2005), sondern auch bei Hund und Katze, hat (GEDDES et al., 2013b). Die maßgebliche Strategie der diätetischen Therapie bei CKD-Patienten ist die Senkung der P-Gabe (eventuell auch unter Verwendung von Phosphatbindern) auf oder unter den Bedarf, die sich positiv auf den Krankheitsverlauf auswirkt (MARTIN und GONZÁLEZ, 2011; GEDDES et al., 2013b).

Neben dem P Serumspiegel scheint bei Katzen auch der FGF23-Spiegel eine Rolle bei CKD-Patienten zu spielen (FINCH et al., 2013; GEDDES et al., 2013a). Beim Mensch (KOH et al., 2001; ASAI et al., 2012) und bei Tiermodellen an Nagern (HARUNA et al., 2007; YU et al., 2010; HU et al., 2011) ist neben einem erhöhten FGF23-Spiegel zudem bei allen CKD-Formen ein Defizit an Klotho festgestellt worden. Ob bei CKD-Hunden diese veränderten Parameter auch gegeben sind, bleibt zu erforschen.

Ein Klothodefizit und weitere Imbalancen im Serumspiegel ($P\uparrow$, $FGF23\uparrow$, $PTH\uparrow$, $1,25(OH)_2D_3\downarrow$) können zumindest beim Menschen schließlich diverse Komplikationen, nicht nur in den Nieren, sondern in verschiedensten Organsystemen zur Folge haben: metabolische Knochenerkrankung, Kardiomyopathien, vaskuläre Verkalkungen, Hyperparathyroidismus (HU et al., 2013). Die in vitro Studie von Shalhoub et al. (2011) lässt vermuten, dass Klotho zwar zusammen mit FGFR1 die FGF23 die Signalübertragung unter physiologischen Bedingungen ermöglicht, aber dass unter pathophysiologischen Bedingungen bei stark erhöhtem FGF23-Spiegel FGF23 direkt, unabhängig von Klotho, auf den Knochen wirken kann (SHALHOUB et al., 2011). Dieses Ergebnis unterstützt die Hypothese, dass ein erhöhter FGF23-Spiegel mit niedrigem Klotho-Spiegel im Blut bei CKD-Patienten zu pathologischen

Veränderungen durch direktes Einwirken auf die Knochen beiträgt (SHALHOUB et al., 2011; HU et al., 2013).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchsplan

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss verschiedener P-Quellen auf die Verdaulichkeit sowie auf ausgewählte Blutparameter bei einer alimentären P-Übersversorgung an acht gesunden, adulten Beagles zu untersuchen.

Hierzu wurden im Vergleich zu einer bedarfsdeckenden und ausgewogenen Ration (Kontrolle KON; 100mg P/kg $KM^{0,75}$; 0,4% P in % der Trockensubstanz (TS)) insgesamt acht Rationen (Tabelle 6) mit Zulage von unterschiedlichen P-Quellen verfüttert. Die Tiere sollten dabei zu einem möglichst identischen Grundfutter aus Pansen, Reis und Casein eine Mineralfutterzulage mit der zu testenden P-Quelle entsprechend dem vierfachen P-Bedarf erhalten, sodass sie insgesamt das Fünffache ihres P-Bedarfs aufnahmen (500 mg P/kg $KM^{0,75}$; 1,8% P in %TS). Bei Bedarf sollte Ca in Form von Calciumcarbonat ($CaCO_3$) derart ergänzt werden, dass ein Ca/P-Verhältnis von 1,3-1,4:1 eingehalten wurde.

Die einzelnen Durchgänge begannen jeweils mit einer Futterumstellung an Tag 1-3, einer Anfütterung an Tag 4-13 (10 Tage) und einer Bilanz an Tag 14-18 (5 Tage). Am 18. Tag erfolgte jeweils eine präprandiale Blutentnahme nach 12-stündiger Nahrungskarenz sowie eine postprandiale Blutentnahme 2h nach Fütterung. Zwischen den einzelnen Versuchen wurde jeweils eine „wash-out“-Phase von 10 Tagen eingehalten, in der alle Tiere die ausgewogene und bedarfsdeckende Ration aus dem Kontrolldurchgang erhielten. Tabelle 5 zeigt den zeitlichen Versuchsablauf und Tabelle 6 eine Übersicht über die einzelnen Versuchsdurchgänge.

In mCaP und mKP war aus verschiedenen Gründen eine Abweichung vom in Tabelle 5 genannten Zeitplan erforderlich. So musste aufgrund einer versuchsunabhängigen Erkrankung (virale und bakterielle Mischinfektion mit gastrointestinalen Symptomen) mehrerer Tiere, Versuchsdurchgang mCaP abgebrochen und eine einmonatige Versuchspause eingelegt werden. Nach vollständiger Genesung aller Hunde wurde im Anschluss zusätzlich noch eine Wartezeit von vierzehn Tagen eingehalten, bis der Versuch mit Durchgang diCaP wieder aufgenommen wurde. Versuchsdurchgang mCaP wurde zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt. Des Weiteren wurde aufgrund einer schlechter werdenden

Akzeptanz des Versuchsfutters in mKP die Anfütterungszeit in diesem Durchgang von zehn auf sieben Tage reduziert.

Tab. 5: Zeitplan

Tag	1-3	4-13	14 - 18	18	19 - 28
Maßnahme	Umstellung auf Versuchsfutter	Anfütterung	Bilanz	Blutentnahme	wash-out

Tab. 6: Übersicht über die Versuchsdurchgänge

Name	P-Quelle
KON	Kontrolle
diCaP	CaHPO ₄
mNaP	NaH ₂ PO ₄
GeflM	Geflügelfleischknochenmehl
NatriP	Na ₅ P ₃ O ₁₀
mCaP	Ca(H ₂ PO ₄) ₂
KnM	Knochenmehl Rd
mKP	KH ₂ PO ₄
KpyrP	K ₄ P ₂ O ₇

2. Versuchsfutter

Die Versuchsfutter und das Kontrollfutter setzten sich aus einem Grundfutter, bestehend aus Pansen, Reis und Casein sowie einem Mineral-Vitamin-Supplement zusammen, was nachfolgend genauer erläutert wird.

2.1. Futterzuteilung

Die Deckung des Nährstoffbedarfs war grundsätzlich in allen Versuchsdurchgängen gegeben. Alle Rationen waren bedarfsdeckend und ausgewogen mit der Ausnahme des P-Exzesses, der allerdings zugleich eine Ca-Übersorgung zur Folge hatte, da stets ein ausgewogenes Ca/P-Verhältnis beibehalten wurde.

Die Zuteilung der Rationen erfolgte nach dem individuellen P- und Energiebedarf basierend auf dem Idealgewicht des jeweiligen Hundes. Das Idealgewicht jeden

Tieres wurde vor Versuchsbeginn durch regelmäßiges Wiegen über 10 Wochen bestimmt (Idealgewicht = das Körpergewicht mit einem Body Condition Score (BCS) 5/9). Nach den Empfehlungen der NRC (2006) wurde ein P-Bedarf von 100mg pro kg metabolischer Körpermasse ($KM^{0,75}$) und ein Basisenergiebedarf von 95 kcal/kg $KM^{0,75}$ veranschlagt. Das Grundfutter (s. 2.2.) wurde so zusammengestellt, dass es zwei Bedingungen erfüllte. Erstens wurde der P-Gehalt des Grundfutters so gewählt, dass für jedes Tier der P-Bedarf allein aus dem Grundfutter gedeckt war. Zweitens wurde der Energiegehalt (metabolisable energy; ME) des Grundfutters so konzipiert, dass dieser dem Energiebedarf des Tieres mit dem niedrigsten ME-Bedarf entsprach. Bei den Tieren, deren Energiebedarf durch die Zuteilung des Grundfutters noch nicht gedeckt war, wurde eine entsprechende Menge an Schweineschmalz zugelegt.

So wurde zum Beispiel für einen 15 kg Hund mit einer metabolischen Körpermasse von 7,62 kg nach den Empfehlungen der NRC (2006) (100 mg P/kg $KM^{0,75}$) ein P-Bedarf von 762 mg veranschlagt. Die Grundfuttermenge wurde dann entsprechend des P-Bedarfs mit 420 g (\cong 798 mg P und 773 kcal ME) zuteilt. Um dem individuell erhöhten Energiebedarf dieses Tieres von 1135 kcal ME gerecht zu werden, erhielt es zur Futtermenge eine Schmalzzulage von 40 g (\cong 364 kcal ME), wodurch die P-Aufnahme nicht verändert wurde.

Sämtliche weiteren Mengen- und Spurenelemente, außer P, sowie Vitamine, deren Bedarfsdeckung nicht durch das Grundfutter erreicht werden konnte, wurden im Rahmen des Mineral-Vitamin-Supplements zugegeben (s. 2.3.).

Somit setzte sich sowohl die Kontrollration als auch die Versuchsrationen stets aus dem Grundfutter, gegebenenfalls mit Zulage von Schweineschmalz, und einem passenden Mineral-Vitamin-Supplement zusammen, wobei das Mineral-Vitamin-Supplement der Kontrollration keine P-Zugabe enthielt. In den Wash-Out Phasen erhielten die Tiere das Futter aus dem Kontrolldurchgang, sodass hier zwischen den Versuchsdurchgängen eine Bedarfsdeckung an P gewährleistet war.

Im Versuchsverlauf (Versuchsdurchgänge und wash-Out Phasen) erfolgte eine regelmäßige Überprüfung der Körpermasse und des BCS mit einer Korrektur der ME-Zuteilung. Die Menge der Grundfuttermenge ist hingegen für jeden Hund über die gesamte Versuchsdauer gleichgeblieben.

Insgesamt wurde darauf geachtet, dass alle Hunde die Versuchsfuttermengen

freiwillig komplett aufnehmen.

2.2. Zusammensetzung und Nährstoffgehalte des Grundfutters

Die Zusammensetzung des Grundfutters aller Versuche außer GeflM ist in Tabelle 7 dargestellt. Die Bestandteile wurden gekocht, der Pansen gekuttert und anschließend zu einer homogenen Masse vermischt. Die Herstellung erfolgte in vier Kochdurchgängen (K1 – K4). Aus technischen Gründen musste jeder Kochdurchgang in mehreren kleineren Mengen (Chargen) weiterverarbeitet werden. In Versuchsdurchgang GeflM wurde Geflügelfleischknochenmehl als P-Quelle verwendet, sodass hier auf Pansen und Casein verzichtet und lediglich Reis eingesetzt wurde. Tabelle 8 zeigt einen Überblick über die Verwendung aller Chargen der Kochdurchgänge. Alle Futterchargen wurden in Portionsbeuteln bei -20°C tiefgefroren und vor dem Verfüttern bei Zimmertemperatur langsam aufgetaut. Tabelle 9 zeigt die Gehalte an Mengenelementen und Tabelle 10 die Rohnährstoff- und Energiegehalte des Grundfutters aller Kochdurchgänge.

Tab. 7: Zusammensetzung des Grundfutters

Bestandteil	Gehalt [%]
Pansen gekocht	63,8
Reis gekocht	31,9
Casein	4,3

Tab. 8: Überblick über die Chargen des Grundfutters

Kochdurchgang	Anzahl Chargen	verwendet für Versuch
K1	8	KON, diCaP
K2	5	mNaP, NatriP
K3	5	mCaP, KnM, mKP
K4	2	KpyrP

Tab. 9: Gehalte an Mengenelementen [mg/100g TS] des Grundfutters aller Kochdurchgänge

	Ca [mg/100g TS]	P [mg/100g TS]	Na [mg/100g TS]	K [mg/100g TS]	Mg [mg/100g TS]	Cl [mg/100g TS]
K1	466 ± 74	497 ± 24	377 ± 15	322 ± 23	80 ± 24	< NWG
K2	383 ± 82	513 ± 30	398 ± 35	408 ± 37	62 ± 18	< NWG
K3	427 ± 46	587 ± 48	405 ± 44	354 ± 39	75 ± 8	< NWG
K4	369 ± 62	510 ± 1	380 ± 28	330 ± 4	110 ± 49	< NWG

NWG = Nachweisgrenze

Tab. 10: Rohrnährstoffgehalte [%TS] und Energiegehalte [MJ ME/100g TS] des Grundfutters aller Kochdurchgänge

	TS [% uS]	Rp [% TS]	Rfe [% TS]	Rfa [% TS]	Ra [% TS]	ME [MJ/100g TS]
K1	37,3 ± 1,7	44,3 ± 2,0	27,9 ± 3,2	1,6 ± 0,3	3,2 ± 0,3	2,2 ± 0,1
K2	37,4 ± 0,5	45,6 ± 0,9	26,5 ± 2,3	1,5 ± 0,1	3,4 ± 0,3	2,2 ± 0,0
K3	36,3 ± 1,0	44,3 ± 2,0	26,4 ± 4,2	1,2 ± 0,1	3,6 ± 0,6	2,3 ± 0,1
K4	35,7 ± 0,1	47,7 ± 2,7	22,3 ± 1,8	1,4 ± 0,0	2,9 ± 0,0	2,2 ± 0,0

2.3. Zusammensetzung der Mineral-Vitamin-Supplemente

Das Mineral-Vitamin-Supplement setzte sich aus einer Mineral-Vitaminmischung, das den Bedarf sämtlicher Mengen- und Spurenelemente außer P sowie Vitaminen deckte, der zu testenden P-Quelle (außer in KON) sowie einer Ca-Zulage (CaCO₃) zusammen. Letztere war nötig (außer in GeflM und KnM), um ein Ca/P-Verhältnis von 1,3-1,4:1 einhalten zu können. Alle drei Komponenten wurden zu einem Mineral-Vitamin-Supplement zusammengemischt, vor Verwendung analysiert (Tabelle 11) und dann pro Mahlzeit separat für jeden Hund in ein Eppendorf-Cup bzw. ein Coultergefäß eingewogen und vor dem Füttern zur entsprechenden Menge Grundfutter hinzugefügt und untergemischt. Lediglich bei GeflM und KnM wurde die P-Quelle separat von der Mineral-Vitaminmischung gegeben (eine CaCO₃-Zulage war in diesen beiden Versuchsdurchgängen nicht nötig). Dabei stellten in GeflM und KnM jeweils a) die ergänzende Mineral-Vitaminmischung und b) den Zusatz der zu testenden P-Quelle dar (Geflügelfleischmehl bzw. Knochenmehl).

Tab. 11: Gehalte an Mengenelementen [mg/100g] der Mineral-Vitamin-Supplemente des Kontroll- und der Versuchsfutter

	Ca	P	Na	K	Mg	Cl	Menge M-V-S* [% TS Gesamtration ohne Schmalz]
	[mg/100g]	[mg/100g]	[mg/100g]	[mg/100g]	[mg/100g]	[mg/100g]	
KON	15080	20	50	27870	1692	22280	1,4 ± 0,2
diCaP	26680	18830	100	4080	496	3760	7,6 ± 0,5
mNaP	16953	33117	25292	2553	239	2140	12,6 ± 0,4
GeflM a)	0	0	0	36560	9	34370	1,0 ± 0,1
GeflM b)	5300	2990	290	310	150	230	63,6 ± 5,4
NatriP	18910	11270	13090	5110	411	3970	6,6 ± 1,0
mCaP	21400	15240	0	3070	461	2850	9,5 ± 1,1
KnM a)	0	0	0	36560	9	34370	0,8 ± 0,1
KnM b)	24870	12450	650	0	448	0	10,8 ± 1,1
mKP	17870	13050	0	17900	210	2120	11,6 ± 1,3
KpyrP	17440	10250	960	25410	6	980	7,4 ± 0,4

* MVS = Mineral-Vitamin-Supplement

2.4. Zusammensetzung und Nährstoffgehalte des Kontroll- und der Versuchsfutter

Die Gehalte an Rohnährstoffen und ME aller Rationen sind in Tabelle 12 angegeben. Der Mengenelementgehalt, die Kationen-Anionen-Bilanz (KAB) sowie das Ca/P-Verhältnis finden sich in Tabelle 13.

In den Versuchsdurchgängen GeflM und KnM konnte ein Ca/P-Verhältnis von 1,3 -1,4 : 1 nicht eingehalten werden, da diese bedingt durch die verwendeten P-Quellen bereits ohne CaCO₃- Zugabe ein höheres Ca/P von 1,7 aufwiesen. Weiterhin konnte in GeflM das Grundfutter aufgrund eines niedrigen P/ME-Verhältnisses des Geflügelmehls nicht verwendet werden. Bei den Versuchen NatriP und KpyrP musste aufgrund von Akzeptanzproblemen die P-Zulage reduziert werden, sodass die Tiere insgesamt nur das Dreifache des P-Bedarfs aufnahmen (300 mg P/kg KM^{0,75}; 1,1% P in %TS).

Tab. 12: Rohnährstoffgehalte [g/100g TS] und Energiegehalte [MJ/100g TS] des Kontroll- und der Versuchsfutter

	TS [% uS]	ME [MJ/100g TS]	Rp [% TS]	Rfe [% TS]	Rfa [% TS]	Ra [% TS]
KON	40,7 ± 3,0	2,3 ± 0,2	39,6 ± 4,7	35,7 ± 7,7	1,4 ± 0,2	3,7 ± 0,4
diCaP	44,1 ± 2,1	2,3 ± 0,1	34,2 ± 2,9	38,4 ± 5,0	1,2 ± 0,1	9,3 ± 0,6
mNaP	44,9 ± 1,5	2,0 ± 0,1	33,2 ± 2,1	34,4 ± 3,6	1,2 ± 0,1	14,5 ± 0,5
GeflM	41,5 ± 2,1	2,0 ± 0,2	42,5 ± 3,6	26,7 ± 6,1	1,2 ± 0,1	11,1 ± 0,9
NatriP	43,8 ± 2,7	2,2 ± 0,2	34,9 ± 3,9	37,2 ± 7,1	1,2 ± 0,1	8,9 ± 1,2
mCaP	46,6 ± 2,2	2,3 ± 0,1	29,0 ± 2,6	42,7 ± 5,3	0,7 ± 0,1	11,4 ± 1,2
KnM	48,2 ± 2,1	2,4 ± 0,1	29,3 ± 2,5	44,8 ± 4,7	0,8 ± 0,1	9,9 ± 1,0
mKP	47,7 ± 2,4	2,3 ± 0,1	27,7 ± 2,7	43,0 ± 5,5	0,7 ± 0,1	13,2 ± 1,4
KpyrP	41,5 ± 1,2	2,1 ± 0,1	37,2 ± 1,9	32,4 ± 3,3	1,1 ± 0,1	9,2 ± 0,4

Tab. 13: Gehalte an Mengenelementen [mg/100g TS] und Kationen-Anionen-Bilanz (KAB) [mmol/100g TS] des Kontroll- und der Versuchsfutter

	Ca [mg/100g TS]	P [mg/100g TS]	Na [mg/100g TS]	K [mg/100g TS]	Mg [mg/100g TS]	Cl [mg/100g TS]	KAB¹ [mmol/100g TS]	Ca/P
KON	610 ± 72	443 ± 53	327 ± 39	675 ± 81	94 ± 11	316 ± 42	22 ± 3	1,4
diCaP	2381 ± 154	1821 ± 119	290 ± 24	553 ± 39	98 ± 7	287 ± 18	19 ± 1	1,3
mNaP	2315 ± 82	1777 ± 68	1422 ± 54	600 ± 27	74 ± 4	258 ± 9	67 ± 2	1,3
GefIM	3405 ± 288	1963 ± 165	185 ± 16	555 ± 49	110 ± 9	482 ± 43	60 ± 5	1,7
NatriP	1529 ± 215	1130 ± 151	1168 ± 160	644 ± 82	75 ± 9	261 ± 39	60 ± 9	1,4
mCaP	2321 ± 258	1826 ± 198	270 ± 24	526 ± 53	93 ± 9	271 ± 31	15 ± 2	1,3
KnM	2953 ± 296	1696 ± 165	322 ± 28	497 ± 46	94 ± 9	263 ± 27	57 ± 6	1,7
mKP	2343 ± 249	1871 ± 196	258 ± 25	2295 ± 245	71 ± 7	245 ± 27	58 ± 6	1,3
KpyrP	1578 ± 74	1154 ± 53	378 ± 18	2148 ± 103	87 ± 4	160 ± 7	69 ± 3	1,4

¹Die KAB wurde mit Hilfe des anhand von Futterwerttabellen abgeschätzten Gehalts an Methionin und Cystein im Futter bestimmt

3. Versuchstiere

Für die Studie wurden insgesamt acht adulte Beagles beiderlei Geschlechts, intakt und kastriert, im Alter von 2-4 Jahren verwendet (Tabelle 14). Ab zehn Wochen vor Versuchsbeginn wurden die Hunde mit einer Ration gefüttert, die den P-Bedarf für die Erhaltung genau abgedeckt hat. In dieser Zeit wurden die Hunde wöchentlich gewogen und das Idealgewicht der Hunde, das dem der Körpermasse bei einem Body Condition Score 5 von 9 entsprach, bestimmt. In dieser zehnwöchigen Vorversuchsphase wurde bei allen Hunden eine parasitologische Kotuntersuchung durchgeführt. Bei positivem Befund wurden die Hunde mit Anthelminthika behandelt. Kurz vor Versuchsbeginn wurden die Hunde nochmals einer Allgemeinuntersuchung inklusive Kot- und Blutuntersuchung unterzogen, wobei zu diesem Zeitpunkt alle Untersuchungen ohne besonderen Befund waren. Alle Tiere waren nach der Impfpflicht der Ständigen Impfkommission Vet. für Hunde geimpft. Die Körpermasse der Tiere zu Versuchsbeginn betrug $12,9 \pm 1,4$ kg (Tabelle 14).

Während der Versuchsdurchgänge wurde das Gewicht der Hunde weiterhin alle sieben Tage mit einer geeichten Waage mit Tierwägeprogramm kontrolliert und protokolliert.

Tab. 14: Daten der Versuchstiere zu Versuchsbeginn

Nr.	Name	geb.	Alter [Jahre]	sex	Kennzeichnung	Idealgewicht (BCS 5/9) [kg]
1	Pumba	24.10.2011	2	m	276098102768978	15,1
2	Lexi	24.10.2011	2	w	276098102770511	12,3
3	Rübe	24.08.2009	4	mk	276098102782230	14,6
4	Möhre	24.08.2009	4	w	276098102782463	13,8
5	Bella	24.08.2009	4	wk	276098102775730	10,3
6	Schoko	23.06.2009	4	w	276096102774758	13,9
7	Holly	23.06.2009	4	w	276098102781400	13,4
8	Peggy Sue	24.08.2009	4	wk	276098102778222	12,6

4. Versuchstechnik

Während der Umstellung, der Anfütterung und der „Wash-out“ - Phasen wurden die Tiere tagsüber im Freien in ihren gewohnten Gruppen im Auslaufzwinger gehalten (8.30 – 15.30Uhr), nachts standen den Tieren Einzelzwinger (6 qm) im Stall mit eingestreuten Schlafplätzen zur Verfügung. Die Zwinger waren durch

Gitterstäbe voneinander getrennt, so dass die Hunde Sichtkontakt untereinander hatten.

Sie hatten jederzeit freien Zugang zu sauberem Trinkwasser, in den Einzelzwingern im Stall in Form von Nippeltränken, in den Außenzwingern in Form von Wassereimern bzw. -wannen. Die Rationen wurden jedem Tier individuell zugeteilt, je Tier und Mahlzeit eingewogen, mit dem Mineral-Vitamin-Supplement und der Schweineschmalzzulage vermengt und in Edelstahlnapfen in den jeweiligen Einzelzwingern verfüttert. Dabei wurde die Ration bis zu einer Stunde angeboten, damit ausreichend Zeit zur Futteraufnahme bestand. Eventuelle Rückwaagen wurden in allen Versuchsphasen protokolliert, um einen Überblick über die Futter- bzw. Nährstoffaufnahme des einzelnen Tieres zu haben. Die Hunde hatten mehrmals täglich Kontakt mit ihren Pflegern, eine ausreichende Bewegung wurde durch das Halten in Gruppen im Auslauf gewährleistet.

In der 5-tägigen Bilanzphase wurden die Tiere nicht mehr in Gruppen, sondern nur in ihren Einzelzwingern gehalten. Die eingestreuten Schlafplätze wurden dabei durch Gummimatten ersetzt, um das Aufsammeln des Kots zu erleichtern. Die Hunde hatten in der Bilanzphase weiterhin mehrmals täglich Kontakt mit ihren Pflegern, der Auslauf im Freien wurde ersetzt durch viermal täglich beaufsichtigten Freigang an der Leine. Das Futter wurde in der Bilanz täglich für eine Stunde zwischen 7.30 Uhr und 8.30 Uhr angeboten. Bei unterdurchschnittlicher Futteraufnahme wurde die zur Verfügung stehende Zeit zur Futteraufnahme individuell verlängert und ggf. das Futter bei Bedarf zweimal täglich angeboten. Aus technischen Gründen war es nicht möglich, die tägliche Trinkwassermenge zu protokollieren. Jedoch wurden besondere Beobachtungen hinsichtlich des Trinkverhaltens wie häufiges Trinken bzw. verlängerte Trinkzeiten notiert. Des Weiteren wurde in der Bilanzphase zweimal täglich versucht, präprandial und 3-4 Stunden postprandial, mit Hilfe eines speziellen Urinauffangbechers (HS Uricollect, Henry Schein®) spontan abgesetzten Urin zu sammeln. Aus technischen Gründen war es nicht möglich, die Gesamttagesurinmenge aufzufangen. Von diesen Urinproben wurde stets zeitnah pH und Dichte gemessen. Der Kot wurde möglichst direkt nach der Defäkation eingesammelt.

5. Probenaufbereitung und angewandte Untersuchungsmethoden

5.1. Futter

Das Futter wurde mittels Weender-Analyse auf die Rohnährstoffe untersucht. Die Analyse erfolgte nach dem Methodenbuch für die chemische Untersuchung von Futtermitteln nach Naumann und Bassler (NAUMANN und BASSLER, 1976).

Zur Bestimmung der Trockensubstanz (TS) bzw. des Rohwassers (Rw) wurde eine Probe jeder Futtercharge in eine Aluminiumschale eingewogen und bei 103°C im Trockenschrank mindestens vier Stunden bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die TS ergibt sich dann nach folgender Formel:

$$TS (\%) = (\text{Auswaage getrocknetes Futter (g)} / \text{Einwaage ursprüngliche Substanz (uS) (g)}) * 100$$

Die getrocknete Futterprobe wurde in einer Haushaltsmühle fein vermahlen. Die Bruttoenergie (Gross Energy, GE) wurde im Bombenkalorimeter (Adiabat C2000, IKA-Werke) bestimmt. Nach Analyse des Versuchsfutters wurde die ME für die Futterzuteilung abgeschätzt (NRC, 2006):

1. Messung der GE im Bombenkalorimeter (siehe oben)
2. Schätzung der scheinbaren Verdaulichkeit (sV) von GE anhand des Rfa-Gehalts/ TS:
$$sV \text{ GE } (\%) = 91,2 - 1,43 \text{ Rfa } (\% \text{ TS})$$
3. Berechnung der DE (MJ):
$$DE \text{ (MJ/100g)} = GE \text{ (MJ)} * sV \text{ GE } (\%)/100$$
4. Abschätzung der ME (Proteinkorrektur):
$$ME \text{ (MJ/100g)} = DE \text{ (MJ)} - 0,00434 \text{ MJ} * R_p \text{ (g/100g)}$$

Das Rohprotein (Rp) wurde im Kjehldahlverfahren mittels Überführung des Stickstoffes (N) in die Ammoniumform gemessen. Dafür wurde die Probe in konzentrierter Schwefelsäure oxidiert (Digestor 2020, Foss). Nach Zugabe von 32%-iger Natronlauge wird Ammoniak freigesetzt, der in vorgelegte 1%-ige Borsäure überdestilliert und titrimetrisch gegen 0,2n HCl erfasst werden kann (Kjeltec 2400, Foss). Da Protein im Mittel 16% N enthält, wurde das im Futter enthaltene Rp mit der Formel $R_p = N * 6,25$ berechnet.

Zur Rohfettbestimmung (Rfe) wurde die Probe zunächst vorentfettet. Hier erfolgte erst die Einwaage der Probe in Zellulosehülsen (Foss, Ref.nr. 15220030), darin die direkte Extraktion der Probe in Petroläther (Siedepunkt 40 – 60°C) im Soxhletapparat (Soxtec Avanti 2050). Nach dem anschließenden Säureaufschluss nach Weibull–Stoldt wurde sie erneut im Soxhletapparat mit Hilfe von Petroläther extrahiert.

Die enthaltene Rohfaser (Rfa) ist definiert als der in verdünnten Säuren und Laugen unlösliche fett- und aschefreie Rückstand. Zur Bestimmung wurde die Futterprobe 30 Minuten in 1,25%-iger Schwefelsäure (H₂SO₄) gekocht, dann mit heißem Wasser gewaschen und in 1,25%-iger Kalilauge (KOH) wieder 30 Minuten gekocht (Fibertec 2010 Hot Extractor). Der mit Aceton gewaschene (Foss Tecator Cold Extractor; Fibertec System 1021) Rückstand wurde getrocknet und verascht (Nabertherm Controller P320). Die enthaltene Rfa ergibt sich aus der Differenz des fettfreien Rückstands und der zurückbehaltenen Asche.

Die Rohasche (Ra) wurde durch sechsstündige Veraschung im Muffelofen (Heraeus Instruments Thermo Scientific, Thermicon P) bei 550°C bestimmt.

Die stickstofffreien Extraktstoffe (NfE) wurden zuletzt rechnerisch erfasst:

$$\text{NfE} = \text{TS} - (\text{Ra} + \text{Rfe} + \text{Rfa} + \text{Rp})$$

Die Kationen-Anionen-Bilanz (KAB) im Futter wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\text{KAB} [\text{mmol/kg TS}] = 49,9 \cdot \text{Ca} + 82,3 \cdot \text{Mg} + 43,5 \cdot \text{Na} + 25,6 \cdot \text{K} - 64,6 \cdot \text{P} - 13,4 \cdot \text{Met} - 16,6 \cdot \text{Cys} - 28,2 \cdot \text{Cl} \quad (\text{KIENZLE und WILMS-EILERS, 1994})$$

Der zu erwartende Harn-pH-Wert wurde wie folgt abgeschätzt:

$$\text{Harn-pH-Wert} = 6,59 + 0,0019 \cdot \text{KAB} (\text{mmol/kg TS}) \quad (\text{BEHNSEN, 1992})$$

5.2. Kot

In der 5-tägigen Bilanzphase wurde der Kot der Tiere quantitativ gesammelt, in Aluminiumschälchen eingewogen, bei -20°C eingefroren und dann mit einem Lyophilisator im Vakuum gefriergetrocknet. Im Kot verbliebene Nicht-Futter-Bestandteile (wie beispielsweise Holz, Steine, Gummimattenteile) wurden nach der Trocknung entfernt, separat gewogen und von der ursprünglichen Kotmasse (uS) sowie von der lyophilisierten Kotmasse subtrahiert. Die TS ergibt sich dann

nach der Formel:

$$TS (\text{Kot}) = \text{Kot (lyophilisiert)}/\text{Kot (uS)} * 100$$

Anschließend wurde der getrocknete Kot der fünf Tage je Tier zu einer Sammelprobe zusammengefügt, in einer Retschmühle (Retsch GRINDOMIX GM 200) gemahlen und die Rohnährstoffe ebenfalls mit Hilfe der Weender-Analyse (siehe 5.1.) bestimmt.

Aus den im Tierversuch ermittelten Aufnahmen und Ausscheidungen der einzelnen Nährstoffe wurde jeweils die scheinbare Verdaulichkeit (sV) berechnet. Die sV ist die in Prozent der Nährstoffaufnahme angegebene Differenz zwischen der mit dem Futter aufgenommenen und mit dem Kot ausgeschiedenen Nährstoffmenge:

$$sV(\%) = (\text{aufgenommene Nährstoffmenge} - \text{ausgeschiedene Nährstoffmenge})/\text{aufgenommene Nährstoffmenge} * 100$$

5.3. Urin

Jeweils nach Sammeln des prä- und postprandial spontan abgesetzten Urins mittels Urinauffangbecher (HS Uricollect, Henry Schein®) wurde der pH-Wert mit einem pH-Meter (WTW pH 325) und das spezifische Gewicht mittels eines Pyknometers mit definierten Volumina bestimmt. Da sowohl der pH-Wert als auch das spezifische Gewicht der Probe temperaturabhängigen Schwankungen unterliegt, wurden die Proben zunächst im Wasserbad bei 21°C temperiert. Die restlichen Mengen aller Urinproben wurden zur Lagerung bis zur weiteren Analytik bei -20°C eingefroren. In den bei Raumtemperatur schonend aufgetauten Urinproben wurden bei den präprandialen Proben Ca, P, Mg (s. 5.5.) und Kreatinin mittels nasschemischer Jaffé-Methode (MicroVue Creatinine Assay Kit, Quidel Corporation) im Photometer (Sunrise Tecan) bestimmt. In den postprandialen Urinproben erfolgte nur die Bestimmung von P und Kreatinin.

5.4. Blut

Die Blutentnahme erfolgte jeweils am letzten Tag der Bilanzphase (Tag 18) sowohl am nüchternen Tier (> 12h nach letzter Nahrungsaufnahme), als auch zwei Stunden nach Fütterung aus der V. cephalica antebrachii. Dabei wurde der Hund von einem vertrauten Pfleger fixiert, die Vene manuell ohne Stauschlauch gestaut und mit einer 20 Gauge Kanüle punktiert. Pro Versuchsdurchgang und

Blutentnahme wurden je Tier 4ml Blut in Serumröhrchen gefüllt. Zur Bestimmung des fibroblast growth factor 23 (FGF23) wurden die Blutproben zur Serumgewinnung zwei Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen und anschließend bei 1500 Umdrehungen 15 Minuten lang zentrifugiert. Mit einer Mikropipette wurde das Serum jeweils in ein Eppendorf-Cup überführt und bei -80°C eingefroren. Die Bestimmung von FGF23 erfolgte über einen caninen ELISA Test Kit (Cusabio Canine FGF23 ELISA Kit, CSB-E17661c). Die restliche Blutmenge wurde zur Serumgewinnung 30 Minuten stehen gelassen und dann bei 3000 Umdrehungen 10 Minuten lang zentrifugiert. Mit einer Mikropipette wurde dieses Serum in Eppendorf-Cups aliquotiert. Aus einer Probe wurde bei VetMed Labor, IDEXX Laboratories, endogenes Serumkreatinin mittels der Jaffé-Methode und $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mittels eines Radioimmunoassays (RIA) bestimmt. Aus dem anderen Aliquot wurde im institutseigenen Labor Ca, P und Mg (s. 5.5.) sowie die knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP) mittels eines ELISA Immunoassays (MicroVue Bone BAP EIA, Quidel Corporation) bestimmt. Zudem wurden 0,5ml der Serummenge in spezielle, von Labor ALOMED bereitgestellte PTH-Röhrchen überführt und diese an das Labor zur Bestimmung von PTH gesendet. Das eingesetzte Testverfahren für den Nachweis von intaktem caninen PTH ist ein direkter luminometrischer Sandwich-Immunoassay (ILMA), der zwei polyklonale, in der Ziege gewonnene Antikörper gegen unterschiedliche Epitope des intakten humanen PTH verwendet. Antikörper 1 ist gegen das N-terminale Epitop (1-34) gerichtet und dient durch seine Markierung mit Acridinium-Ester als Tracer. Antikörper 2 ist gegen das C-terminale Epitop (39-84) gerichtet und ist Festphasen-gebunden. Bei jedem Testansatz erfolgt die Kalibration mit sekundären PTH-Standards aus Hundeserum, die von einem synthetischen, intakten humanen PTH-Primärstandard abgeleitet sind. Mit diesem Testverfahren wurde an 40 gesunden Hunden der Referenzbereich des intakten PTH von 8-45 pg/ml ermittelt. Übriges Probenmaterial wurde bei -20°C aufbewahrt.

5.5. Bestimmung von Mengenelementen in Kot, Urin, Serum und Futter

In den getrockneten Futterproben wurden sämtliche Mengenelemente (Ca, P, Mg, K, Na und Cl), in den getrockneten Kotproben und präprandial aufgefangenen Urinproben Ca, P und Mg und in den postprandialen Urinproben lediglich P bestimmt. Die Analyse erfolgte nach dem Methodenbuch für die chemische

Untersuchung von Futtermitteln nach Naumann und Bassler (NAUMANN und BASSLER, 1976). Die Proben wurden dazu in 65%-iger Salpetersäure im Mikrowellensystem (MLS-Ethos 1600) nass verascht. Danach wurde aus der mit Reinstwasser verdünnten Säure mit der vollständig in Lösung gegangenen Probe im Flammenphotometer (Eppendorf EFOX 5033) Ca, Na und K bestimmt. P wurde photometrisch modifiziert nach Gericke und Kurmies (GERICKE und KURMIES, 1952) mit einer Molybdat-Vanadat-Lösung bei 366nm gemessen (Thermo Spectronic, Genesys 10uv). Die Bestimmung von Mg erfolgte mittels Atomabsorptionsspektrometrie (Perkin Elmer Analyst 800). Zur Cl-Bestimmung in den getrockneten und gemahlten Futterproben, musste aus diesen Proben zunächst ein wässriges Exktrakt in einem Schüttler hergestellt werden, bevor dann die darin in Lösung gegangenen Cl-Ionen in einem Chloridmeter (Slamed Chloridmeter 50µl) nach dem coulometrischen Verfahren (Impulstitation) mittels Erzeugung von Silberionen bestimmt werden konnten.

5.6. Statistische Methoden

Aus den Werten der Versuchsgruppe aus acht Hunden wurden jeweils Mittelwerte (MW) gebildet und die Standardabweichung (s) berechnet. Die statistische Analyse mehrerer Mittelwerte wurde mittels der SigmaPlot Grafik-Software (Systat Software GmbH, Deutschland) durchgeführt. Bei normalverteilten (Shapiro-Wilk Test) und varianzhomogenen (Levene-Test) Werten wurde eine einfaktorielte Varianzanalyse mit Messwiederholung (one way RM ANOVA) durchgeführt. Alle anderen Werte wurden einem nichtparametrischen Friedman Test (RM ANOVA on ranks) unterzogen. Sämtliche Werte wurden nur gegen den Kontrolldurchgang getestet (Dunnett's Method als post-hoc-Test). Gegebenenfalls wurde die relative Differenz zwischen den Werten des Versuchsdurchgangs und denen des Kontrolldurchgangs (rel. Diff_{KON}) angegeben, die folgendermaßen berechnet wurde:

$$\text{rel. Diff}_{\text{KON}} [\%] =$$

$$(\text{Versuchsdurchgang} - \text{Kontrolldurchgang}) / \text{Kontrolldurchgang} * 100.$$

Um die prä- und postprandialen Werte der Kontroll- bzw. der einzelnen Versuchsdurchgänge untereinander vergleichen zu können, wurde gegebenenfalls die relative Differenz zwischen dem postprandialen und dem präprandialen Wert (rel. Diff_{präprdl}) angegeben, die folgendermaßen berechnet wurde:

rel.Diff_{präprdl} [%] =

(postprandialer Wert – präprandialer Wert)/präprandialer Wert*100.

Die rel. Diff_{KON} bzw. die rel. Diff_{präprdl} wurden ebenfalls einer wie oben beschriebenen statistischen Analyse unterzogen.

In Ergebnistabellen werden nicht normalverteilte Werte als Median mit dessen Interquartilrange (IQR) angegeben [Schreibweise: Median (25%/75%)], normalverteilte Werte als MW ± s. In Ergebnistabellen, die sowohl nicht normalverteilte als auch normalverteilte Werte enthalten, werden der Übersicht halber alle Werte als Median (IQR) angegeben. In den Ergebnistabellen unterscheiden sich MW ± s bzw. Median (IQR), die mit *, **, bzw. *** gekennzeichnet sind, signifikant zur Kontrolle. Dabei werden die Differenzen mit „signifikant“ (* p<0,05), „hoch signifikant“ (** p <0,01) und „höchst signifikant“ (***) p < 0,001) markiert. Um die Beziehung zwischen Parametern zu beschreiben wurde eine lineare bzw. eine exponentielle Regression mittels Excel berechnet.

IV. ERGEBNISSE

1. Gesundheitszustand und Allgemeinbefinden der Versuchstiere

Tier 3 musste im Kontrolldurchgang (KON) wegen Hämatochezie, Durchfall und Anzeichen von Unwohlsein und Übelkeit am 7. Versuchstag für drei Tage mit Sucralfat (20 mg/kg p.o. 3xtgl.) und für zwei Tage mit Spasmovetsan (homöopathisches Arzneimittel mit den Wirkstoffen Chelidonium Dil. D2 50mg, Colocynthis Dil. D2 50mg, Nux vomica Dil. D2 50mg) 2ml 1xtgl. s.c. behandelt werden. Das Tier war nach dreitägiger medikamentöser Behandlung bei Weiterverwendung des Versuchsfutters symptomfrei.

Tier 5, 6 und 7 erhielten am 15. Versuchstag von diCaP (= 2. Bilanztag) eine Zahnreinigung. Die Tiere bekamen daher etwas zeitversetzt, aber an dem geplanten Tag, das übliche Versuchsfutter.

Bei Tier 5 wurde während NatriP eine Hautirritation systemisch und lokal behandelt. Das Allgemeinbefinden des Tieres war dabei ungestört.

In der Wash-Out Phase nach NatriP wurde bei Hund 5 eine Inguinalhernie diagnostiziert und operativ versorgt. Bei dieser Gelegenheit wurde die Hündin kastriert.

Tier 5 zeigte am 4. Versuchstag von KpyrP Schmerzhaftigkeit im Iliosakralbereich, woraufhin das Tier eine Schmerztherapie erhielt. Nach vier Tagen medikamentöser Behandlung war das Tier klinisch unauffällig.

2. Entwicklung der Körpermasse

Tabelle 15 zeigt, dass die Tiere ihr Idealgewicht (Idealgewicht = BCS 5/9) während der Versuchsdurchgänge bis auf geringe Abweichungen gehalten haben.

Tab. 15: Körpermassenentwicklung [kg] der Versuchstiere

	Versuchsbeginn [kg]	Versuchsende [kg]	Zu-/Abnahmen [kg]
KON	13,0 ± 1,4	12,9 ± 1,4	0,0 ± 0,6
diCaP	13,0 ± 1,6	13,2 ± 1,6	0,2 ± 0,2
mNaP	13,5 ± 1,7	13,4 ± 1,5	-0,1 ± 0,4
GeflM	13,5 ± 1,7	13,4 ± 1,6	-0,1 ± 0,3
NatriP	12,6 ± 1,5	12,9 ± 1,4	0,3 ± 0,3
mCaP	12,7 ± 1,5	12,7 ± 1,5	0,0 ± 0,4
KnM	13,0 ± 1,5	13,0 ± 1,6	0,0 ± 0,3
mKP	13,2 ± 1,8	13,5 ± 1,5	0,3 ± 0,5
KpyrP	13,6 ± 1,4	13,7 ± 1,5	0,1 ± 0,3

Angaben in MW±s

3. Futteraufnahme

Die jeweiligen Supplemente hatten einen Effekt auf die Akzeptanz des Futters. In KON und diCaP zeigten alle Tiere Bettelverhalten vor der Fütterung und nahmen das angebotene Futter sofort vollständig auf. In mCaP verlängerte sich bei zwei Hunden die Fresszeit. In mNaP nahm die Akzeptanz des Versuchsfutters deutlich ab: Es zeigten nur noch zwei von acht Tieren Bettelverhalten, vier fraßen das Futter mit verlängerter Fresszeit, und bei zwei Tieren musste zum Teil sogar aus der Hand bzw. mit viel Zuwendung gefüttert werden. Trotz einer einmonatigen Versuchspause nach mNaP sowie dem dazwischenliegenden Versuch GeflM mit einer „organischen“ P-Verbindung, dessen Versuchsfutter von allen Tieren sofort und mit Bettelverhalten aufgefressen wurde, nahmen vier Hunde das Futter in NatriP mit reduzierter Mineralfuttermenge nur langsam und zögerlich auf. Im Versuchsdurchgang KnM mit einer weiteren „organischen“ P-Verbindung zeigte kein Hund Akzeptanzprobleme. Das Futter in mKP verursachte die größten Akzeptanzprobleme. Bereits ab Tag 5 verlängerten sich die Fresszeiten deutlich bzw. es wurde bis zu dreimal täglich angeboten, um vollständig aufgefressen zu werden. In KpyrP, in dem die Mineralfuttermenge analog zu NatriP reduziert wurde, waren die Fresszeiten im Vergleich zum Kontrolldurchgang und der Versuchsdurchgänge GeflM und KnM zwar verlängert, jedoch wurde die Ration bei einmaligem Anbieten des Futters aufgefressen.

In Tabelle 16 sind die TS-Aufnahmen in den jeweiligen Versuchsdurchgängen zu finden. Tabelle 17 zeigt die realisierte Mineralstoffaufnahme im Vergleich zum Bedarf. Der Anteil der Schmalzzugaben an der TS-Aufnahme ist im Anhang

aufgelistet.

Tab. 16: Trockensubstanzaufnahme [g/kg KM/d]

	TS-Aufnahme [g/kg KM/Tag]
KON	12,8 ± 1,3
diCaP	14,4 ± 0,9
mNaP	14,4 ± 0,9
GeflM	13,5 ± 1,5
NatriP	14,6 ± 1,9
mCaP	15,2 ± 1,5
KnM	16,0 ± 1,7
mKP	15,0 ± 1,6
KpyrP	13,4 ± 0,7

Angaben in MW±s

Tab. 17: Realisierte Mineralstoffaufnahme [mg/kg KM^{0,75}/d]

Bedarf*	Ca	P	Na	K	Mg	Cl
[mg/kg KM ^{0,75} /d]	130	100	26,2	140	19,7	40
Aufnahmen	Ca	P	Na	K	Mg	Cl
[mg/kg KM ^{0,75} /d]						
KON	146 ± 5	106 ± 3	78 ± 2	162 ± 8	23 ± 1	76 ± 6
diCaP	649 ± 15	497 ± 10	79 ± 2	151 ± 2	27 ± 0	78 ± 2
mNaP	644 ± 16	494 ± 12	395 ± 9	166 ± 4	21 ± 1	72 ± 2
GeflM	867 ± 22	500 ± 13	47 ± 1	141 ± 4	28 ± 1	123 ± 4
NatriP	415 ± 6	307 ± 5	317 ± 5	175 ± 4	20 ± 1	71 ± 1
mCaP	657 ± 15	517 ± 12	77 ± 3	149 ± 4	26 ± 1	77 ± 2
KnM	886 ± 20	509 ± 11	97 ± 3	149 ± 4	28 ± 1	79 ± 2
mKP	666 ± 14	532 ± 10	73 ± 2	653 ± 15	20 ± 0	70 ± 2
KpyrP	406 ± 11	297 ± 7	97 ± 3	553 ± 15	22 ± 1	41 ± 1

*nach NRC (2006); Angaben in MW±s

4. Wasseraufnahme

Die Gesamttrinkwasseraufnahme konnte aus technischen Gründen nicht protokolliert werden. Subjektiv zeigten die Versuchstiere ein deutlich vermehrtes Trinkverhalten in mNaP und ein geringgradig vermehrtes Trinkverhalten in NatriP.

5. Urinabsatz

Aus technischen Gründen konnte die Gesamttagesurinmenge nicht bestimmt werden. Es wurde lediglich einmal präprandial und 2h postprandial jeweils der Spontanurin mittels eines Urinauffangbechers gesammelt. Aussagen zur Urinmenge können nicht gemacht werden.

6. Kotabsatz

Die Menge der abgesetzten Kot-TS stieg bei P-Excess im Vergleich zu KON signifikant an. Lediglich bei KpyrP war die Menge fäkal ausgeschiedener TS vergleichbar mit KON. Die TS-Kotabsatzmenge war in den Durchgängen mit den „organischen“ Verbindungen (GeflM und KnM) am höchsten, wobei sich diese Durchgänge voneinander nicht signifikant unterschieden. Da in GeflM ein anderes Grundfutter (gekochter Reis anstatt Pansen/Reis/Casein) verfüttert und in NatriP und KpyrP die Mineralfuttersupplementierung mit dreifacher P-Versorgung deutlich niedriger war als bei den anderen Versuchsdurchgängen, ist ein direkter Vergleich nicht möglich.

Tab. 18: Kotabsatz [g/kg KM/Tag]

	Kotabsatz [g TS/kg KM/d]
KON	1,5 ± 0,5
diCaP	2,4 ± 0,5***
mNaP	2,2 ± 0,2***
GeflM	3,3 ± 0,4***
NatriP	2,0 ± 0,3*
mCaP	2,2 ± 0,2***
KnM	2,9 ± 0,4***
mKP	2,3 ± 0,5***
KpyrP	1,9 ± 0,3

Angaben in MW±s; *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * p≤0,05; ** p≤0,01 und *** p≤0,001

7. Scheinbare Verdaulichkeit (sV)

7.1. Scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz (sV TS)

Die sV TS war bei KON mit 88,1 ± 3,2 % am höchsten. In den Versuchen mit den „organischen“ Verbindungen (GeflM und KnM) sowie in diCaP waren sie höchst signifikant und in den Versuchen mit primären Phosphatverbindungen (mNaP und

mKP) signifikant niedriger im Vergleich zu KON. Die sV TS der Durchgänge mit niedriger Mineralstoffsupplementierung (NatriP und KpyrP) sowie mCaP unterschieden sich nicht signifikant von KON (Tabelle 19).

Tab. 19: Trockensubstanzaufnahme, -ausscheidung [g/kg KM/d] und resultierende scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz (sV TS) [%] bei Kontroll- und Versuchsdurchgängen

	TS-Aufnahme [g/kg KM/d]	TS-Ausscheidung [g/kg KM/d]	sV TS [%]
KON	12,8 ± 1,3	1,5 ± 0,5	88,1 ± 3,2
diCaP	14,4 ± 0,9	2,4 ± 0,5	83,3 ± 2,9***
mNaP	14,4 ± 0,9	2,2 ± 0,2	84,7 ± 1,8*
GefIM	13,5 ± 1,5	3,3 ± 0,4	75,5 ± 3,9***
NatriP	14,6 ± 1,9	2,0 ± 0,3	85,8 ± 2,2
mCaP	15,2 ± 1,5	2,2 ± 0,2	85,4 ± 1,6
KnM	16,0 ± 1,7	2,9 ± 0,4	81,6 ± 1,5***
mKP	15,0 ± 1,6	2,3 ± 0,5	84,4 ± 2,5*
KpyrP	13,4 ± 0,7	1,9 ± 0,3	85,6 ± 2,3

Angaben in MW±s; *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * p≤0,05; ** p≤0,01 und *** p≤0,001

7.2. Scheinbare Verdaulichkeit von Calcium (sV Ca)

In KON, in der die Ca-Aufnahme sehr nah am Bedarf lag, ergab sich eine deutlich negative sV Ca (Tabelle 20). Auch bei allen anderen Versuchsdurchgängen war die sV sehr gering, teils negativ und teils positiv. Die niedrigsten Werte der sV Ca wurden bei NatriP und KpyrP gefunden. Die höchsten Werte erzielten mCaP und mKP, die als einzige Versuchsdurchgänge im Mittel positive sV Ca zeigten, welche auch im Vergleich zu KON signifikant höher waren.

Tab. 20: Calciumaufnahme, -ausscheidung [mg/kg KM/d] und resultierende scheinbare Verdaulichkeit von Calcium (sV Ca) [%] bei Kontroll- und Versuchsdurchgängen sowie die Relative Differenz der scheinbaren Verdaulichkeit von Calcium im Vergleich zum Kontrolldurchgang rel.Diff_{KON}(sV Ca) [%]

	Ca-Aufnahme [mg/kg KM/d]	Ca-Ausscheidung [mg/kg KM/d]	sV Ca [%]	rel.Diff _{KON} (sV Ca) [%]
KON	77 (74/81)	106 (73/138)	-29,9 (-75,4/-0,8)	-
diCaP	341 (327/355)***	366 (317/415)***	-5,6 (-20,9/5,0)	-90 (-208/-24)
mNaP	338 (323/353)***	352 (324/379)***	-4,6 (-12,5/4,2)	-83 (-91/168)
GeflM	455 (435/474)***	491 (430/553)***	-5,3 (-15,9/2,1)	-53 (-92/157)
NatriP	219 (215/224)***	237 (210/264)***	-9,0 (-13,7/1,0)	-87 (-214/-12)
mCaP	348 (333/363)***	323 (283/364)***	2,8 (1,4/17,6)*	-104 (-433/93)*
KnM	468 (445/491)***	477 (438/516)***	-2,2 (-3,5/2,8)	-99 (-302/-96)*
mKP	348 (335/361)***	344 (299/390)***	5,0 (-9,8/11,9)*	-93 (-135/-25)*
KpyrP	211 (204/219)***	236 (214/258)***	-14,2 (-18,3/-3,7)	-67 (-105/90)

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

7.3. Scheinbare Verdaulichkeit von Phosphor (sV P)

Bei Verfütterung von KON lag die sV P im Mittel bei 38,7 (23,6/57,4) %. Die sV P in den Versuchsdurchgängen mit den „organischen“ P-Quellen war signifikant niedriger als bei KON. Bei Verwendung von Geflügelmehl als P-Quelle wurde die niedrigste sV P von 8,7 (0,2/13,2) % gemessen (Tabelle 21). Durchgang mKP hatte bei den Hunden dagegen mit 45,2 (36,8/50,3) % die höchste sV P zur Folge. Des Weiteren zeigte der Durchgang mit der P-Quelle NatriP, die nur in einer Menge des dreifachen Bedarfs gefüttert wurde, eine im Vergleich zu KON signifikant niedrigere sV P, wohingegen die sV P des Durchgangs mit entsprechender K-P-Verbindung (KpyrP) nahe dem Wert bei KON lag. Eine Abhängigkeit der Verdaulichkeit von der Aufnahme wurde somit nicht beobachtet. Die sV P aus primären Phosphatverbindungen (Dihydrogenphosphatverbindungen) lag stets höher als die der sekundären (Hydrogenphosphatverbindungen) bzw. tertiären Phosphate (Verbindung ohne Wasserstoffatom) (mCaP > diCaP; mNaP > NatriP; mKP > KpyrP).

Tab. 21: Phosphoraufnahme, -ausscheidung [mg/kg KM/d] und resultierende scheinbare Verdaulichkeit von Phosphor (sV P) [%] bei Kontroll- und Versuchsdurchgängen sowie die Relative Differenz der scheinbaren Verdaulichkeit von Phosphor im Vergleich zum Kontrolldurchgang rel.Diff_{KON}(sV P) [%]

	P-Aufnahme [mg/kg KM/d]	P-Ausscheidung [mg/kg KM/d]	sV P [%]	rel.Diff _{KON} (sV P) [%]
KON	56 (53/59)	34 (24/45)	38,7 (23,6/57,4)	-
diCaP	261 (250/272)***	211 (185/228)*	20,5 (13,8/26,7)*	-55 (-66/-42)*
mNaP	259 (247/270)***	172(148/184)*	32,5 (27,5/46,0)	+11 (-41/57)
GefIM	262 (251/273)***	247 (217/261)*	8,7 (0,2/13,2)*	-80 (-103/-63)*
NatriP	162 (158/167)***	129 (112/139)	18,7 (14,7/31,4)*	-46 (-66/18)*
mCaP	274 (262/286)***	176 (150/193)*	34,6 (32,9/43,0)	-3 (-30/39)
KnM	269 (255/282)***	214 (200/231)*	20,5 (15,5/23,8)*	-47 (-64/-13)*
mKP	278 (268/289)***	152 (140/177)*	45,2 (36,8/50,3)	+37 (-17/82)
KpyrP	155 (149/160)***	107 (101/113)	30,3 (27,2/34,3)	-15 (-41/-6)

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

7.4. Scheinbare Verdaulichkeit von Magnesium (sV Mg)

Die sV Mg war bei Verfütterung der Kontrollration KON mit 24,3 (7,5/41,9) % am höchsten. In den Durchgängen NatriP und mKP war sie negativ, d.h. hier fand eine über die Aufnahme hinausgehende fäkale Mg-Exkretion statt; die Differenzen waren in beiden Fällen signifikant. Lediglich bei Verfütterung von Ration diCaP, mCaP und KpyrP zeigte die sV Mg keinen signifikanten Unterschied zu KON (Tabelle 22).

Tab. 22: Magnesiumaufnahme, -ausscheidung [mg/kg KM/d] und resultierende scheinbare Verdaulichkeit von Magnesium (sV Mg) [%] bei Kontroll- und Versuchsdurchgängen sowie die Relative Differenz der scheinbaren Verdaulichkeit von Magnesium im Vergleich zum Kontrolldurchgang $rel.Diff_{KON}(sV Mg)$ [%]

	Mg-Aufnahme [mg/kg KM/d]	Mg-Ausscheidung [mg/kg KM/d]	sV Mg [%]	rel.Diff _{KON} (sV Mg) [%]
KON	12 (11/12)	9 (7/11)	24,3 (7,5/41,9)	-
diCaP	14 (13/15)***	13 (12/15)***	7,1 (-5,5/13,0)	-92 (-289/-59)*
mNaP	11 (10/11)***	11 (9/12)	2,2 (-9,2/10,6)*	-94 (-123/-72)*
GeflM	15 (14/15)***	14 (12/17)***	3,7 (-8,0/11,9)*	-76 (-96/54)
NatriP	11 (10/11)***	11 (10/13)	-8,4 (-12,9/10,1)*	-107 (-184/-19)*
mCaP	14 (13/15)***	13 (12/15)***	2,4 (-1,5/11,7)	-97 (-148/-61)*
KnM	15 (14/16)***	15 (13/16)***	1,7 (-2,1/7,9)*	-95 (-181/-83)*
mKP	11 (10/11)***	12 (10/15)**	-14,9 (-37,2/3,1)*	-134 (-183/-49)*
KpyrP	12 (11/12)	10 (8/13)	16,1 (0,3/21,6)	-48 (-166/-21)

8. Urinuntersuchungen

8.1. pH-Wert des Urins

Die präprandialen pH-Werte zeigten in keinem Versuchsdurchgang signifikante Unterschiede zu KON, die postprandialen pH-Werte waren bei diCaP und mCaP im Vergleich zu KON signifikant niedriger (Tabelle 23).

Tab. 23: pH-Werte des Urins

	pH-Wert Urin	
	präprandial	postprandial
KON	6,0 (5,9/6,2)	8,0 (7,8/8,1)
diCaP	6,1 (5,8/6,4)	6,1 (6,0/6,3)*
mNaP	6,3 (6,1/6,3)	8,0 (7,8/8,1)
GeflM	6,0 (5,9/6,1)	7,6 (7,0/7,9)
NatriP	6,4 (6,2/6,5)	8,5 (8,4/8,5)
mCaP	5,8 (5,8/5,9)	6,2 (6,0/6,5)*
KnM	6,0 (5,7/6,1)	7,7 (7,4/7,9)
mKP	6,1 (5,7/6,5)	7,8 (7,7/8,0)
KpyrP	6,5 (6,3/6,8)	8,4 (8,3/8,5)

Angaben in Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

8.2. Spezifisches Uringewicht (USG)

Das spezifische Gewicht (USG) der präprandialen Urinproben zeigte keinerlei signifikante Unterschiede zu KON (Tabelle 24). Die Dichte der postprandialen Urinproben von NatriP, mCaP und KnM war im Vergleich zu KON hoch- bzw. höchstsignifikant (KnM) niedriger. Die Werte des spezifischen Gewichts der postprandialen Urinproben von diCaP fehlen aus technischen Gründen.

Tab. 24: Dichte (bzw. Spezifisches Gewicht) des Urins

	Urindichte	
	präprandial	postprandial
KON	1033 ± 7	1035 ± 5
diCaP	1033 ± 6	fehlt
mNaP	1033 ± 6	1035 ± 5
GeflM	1030 ± 5	1032 ± 11
NatriP	1033 ± 7	1023 ± 6**
mCaP	1032 ± 7	1024 ± 5**
KnM	1033 ± 7	1020 ± 8***
mKP	1029 ± 6	1029 ± 8
KpyrP	1031 ± 7	1028 ± 5
Referenzbereich USG: 1030-1045 (maximale Breite: 1001-1065)		

Quelle Referenzbereich: (KRAFT und DÜRR, 2013); Angaben in MW±s; *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

8.3. Kreatininkonzentration im Urin

Die präprandialen Kreatininkonzentrationen im Urin waren einheitlich, lediglich bei GeflM und bei mKP waren die Konzentrationen signifikant geringer im Vergleich zu KON trotz hoher Rp-Aufnahme bei GeflM. Die postprandialen Kreatininkonzentrationen streuten etwas stärker, wobei in NatriP, mKP und KpyrP signifikant geringere Kreatininkonzentrationen im Vergleich zu KON gemessen wurden (Tabelle 25). Die Korrelation zwischen der Kreatininkonzentration und der Dichte des Urins (s. 8.2.) der präprandialen Urinproben zeigte eine stärkere Abhängigkeit dieser beiden Größen ($R^2 = 0,7$; ohne diCaP) voneinander, als die der postprandialen Urinproben ($R^2 = 0,3$; ohne diCaP).

Tab. 25: Kreatininkonzentration im Urin [mmol/l]

	Kreatininkonzentration im Urin [mmol/l]	
	präprandial	postprandial
KON	23,8 (19,8/26,6)	12,4 (10,0/19,1)
diCaP	19,6 (16,3/23,9)	9,9 (8,0/12,2)
mNaP	18,5 (14,0/24,1)	6,7 (5,3/8,3)
GeflM	16,0 (13,5/17,8)*	13,1 (11,2/17,5)
NatriP	19,5 (17,6/25,6)	4,6 (3,4/5,8)*
mCaP	20,7 (18,6/23,8)	7,4 (6,3/11,4)
KnM	20,8 (16,1/27,4)	6,8 (5,8/8,5)
mKP	18,1 (14,3/22,3)*	4,4 (3,3/5,8)*
KpyrP	20,8 (15,9/24,1)	4,4 (3,4/4,8)*

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

8.4. Mengenelemente im Urin

Die Konzentrationen an den Mengenelementen Ca, P und Mg wurden in den präprandial gewonnenen Harnproben gemessen. Aufgrund einer teilweise nur geringen Ausbeute der postprandial entnommenen Urinproben waren hier Messungen nur begrenzt möglich. Deshalb wurde postprandial lediglich das Mengenelement P bestimmt. Für alle Messungen standen keine 24h-Sammelurinproben sondern nur Spontanurinproben zur Verfügung. Um trotz fehlender Angaben zur Gesamttagesurinmenge die Konzentrationen an Mengenelementen im Urin unter den Versuchsdurchgängen miteinander vergleichen zu können, wurde der Gehalt der Mengenelemente ebenfalls in Relation zur Kreatininkonzentration im Harn berechnet. Eine Aussage über die renale Gesamtausscheidung der jeweiligen Mengenelemente kann daher nicht erfolgen. Im Folgenden wird sowohl jeweils auf die absolute Konzentration, als auch auf die jeweilige Relation zu Kreatinin der im Harn bestimmten Mengenelemente eingegangen.

8.4.1. Calciumkonzentration im Urin (präprandial)

Die mediane Urin-Calcium-Konzentration in KON betrug 0,7 (0,5/1,3) mmol/l. Im Vergleich hierzu war die Urin-Calcium-Konzentration bei GeflM, NatriP, mCaP und KnM signifikant höher. Die höchste Calcium-Konzentration wurde bei KnM mit 2,3 (1,7/3,6) mmol/l gemessen. Das Ca/Kreatinin Verhältnis im Urin unterschied sich bis auf die beiden Versuchsdurchgänge mit den primären Na-

bzw- K-P-Verbindungen (mNaP und mKP) stets signifikant zu KON. Dabei zeigten die Durchgänge mit „organischen“ P-Quellen im Exzess die höchsten Ca/Kreatinin Verhältnisse (Tabelle 26). Die präprandialen Ca-Konzentrationen korrelierten nicht mit den präprandialen pH-Werten im Urin.

Tab. 26: Calciumkonzentration [mmol/l] und Calcium/Kreatinin Verhältnis im Urin sowie die relative Differenz des Calcium/Kreatinin Verhältnisses im Vergleich zum Kontrolldurchgang rel.Diff_{KON}(Ca/Krea) [%]

	Ca-Konz. im Urin [mmol/l]	Calcium/Kreatinin im Urin	
		absolut	rel.Diff _{KON} (Ca/Krea) [%]
KON	0,7 (0,5/1,3)	0,04 (0,02/0,05)	-
diCaP	1,3 (1,1/2,2)	0,06 (0,05/0,11)*	+90 (60/120)*
mNaP	1,2 (0,9/1,6)	0,06 (0,04/0,12)	+108 (19/239)
GeflM	1,9 (1,8/2,5)*	0,13 (0,11/0,18)*	+295 (154/529)*
NatriP	2,0 (1,6/2,8)*	0,11 (0,9/0,13)*	+232 (75/421)*
mCaP	1,8 (1,6/2,3)*	0,09 (0,08/0,14)*	+174 (68/356)*
KnM	2,3 (1,7/3,6)*	0,14 (0,06/0,20)*	+264 (67/645)*
mKP	1,1 (0,8/1,6)	0,06 (0,05/0,07)	+92 (39/181)
KpyrP	1,3 (1,1/2,0)	0,06 (0,05/0,14)*	+71 (43/235)*

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * p≤0,05, ** p≤0,01 und *** p≤0,001

8.4.2. Phosphorkonzentration im Urin

Die präprandiale Urin-P-Konzentration bei KON betrug 51,6 (21,2/69,4) mmol/l (Tabelle 27). Die Tiere in den Versuchen diCaP, mNaP, mCaP, KnM und mKP zeigten in den nüchtern entnommenen Proben einen signifikanten Anstieg der renalen P-Ekretion im Vergleich zu KON. Bei Verfütterung von mKP wurde mit 125,7 (98,6/148,4) mmol/l die höchste präprandiale P-Konzentration im Urin gemessen. Die beiden Durchgänge mit „organischen“ P-Quellen (GeflM und KnMRd) wirkten sich unterschiedlich auf die renale P-Konzentration im präprandial gesammelten Urin aus: Während GeflM (GeflM) zu keinem signifikanten Anstieg des P-Gehalts im Urin führte, wurde bei KnM mit einem Wert von 118,8 (107,2/131,4) mmol/l ein zu KON signifikant höherer P-Gehalt im Harn gemessen. Die beiden Rationen mit nur dreifacher P-Menge (NatriP und KpyrP) führten nicht zu einem signifikanten Anstieg von P in den nüchtern aufgefangenen Harnproben. Die Werte des P/Kreatinin Verhältnisses zeigten zu der absoluten P-Konzentration in nüchtern gewonnenen Urinproben analoge Veränderungen: Bei den Durchgängen diCaP, mNaP, mCaP, KnM und mKP

zeigten die P/Kreatinin Verhältnisse einen signifikanten Unterschied zu KON, wobei das von mKP mit einem Wert von 6,7 (5,8/8,6) am höchsten war (Tabelle 28).

Die postprandiale P-Konzentration im Urin bei Verfütterung von KON war mit 23,2 (19,7/25,9) mmol/l deutlich niedriger als die präprandiale P-Konzentration. Die Versuchsdurchgänge mit den anorganischen P-Verbindungen, die in einer P-Konzentration des fünffachen des Bedarfs (diCaP, mNaP, mCaP, mKP) gefüttert wurden, wiesen allesamt im Vergleich zu KON eine signifikant höhere postprandiale P-Konzentration im Urin auf (Tabelle 27).

Das P/Kreatinin Verhältnis der postprandialen Urinproben wies in den Versuchsdurchgängen mit anorganischen P-Quellen deutlich höhere Werte auf als das der präprandialen Urinproben. Die P/Kreatinin Verhältnisse dieser Versuchsdurchgänge unterschieden sich zudem hoch (NatriP) bzw. höchst signifikant (diCaP, mNaP, mCaP, mKP, KpyrP) zu dem von KON. Die relative Differenz der prä- und postprandialen P/Kreatinin Relation ist in mNaP und mKP signifikant am größten (Tabelle 28).

Der prozentuale Unterschied des P/Kreatinin Verhältnis zwischen dem der Versuchsdurchgänge mit anorganischen P-Quellen (diCaP, mNaP, NatriP, mCaP, mKP, KpyrP) und dem von KON war postprandial deutlich größer als präprandial (Tabelle 29).

Tab. 27: Prä- und postprandiale Phosphorkonzentration im Urin [mmol/l]

	P-Konz. im Urin [mmol/l]	
	präprandial	postprandial
KON	51,6 (21,2/69,4)	23,2 (19,7/25,9)
diCaP	108,4 (97,4/127,7)*	90,5 (66,4/109,2)*
mNaP	106,7 (99,8/109,6)*	124,4 (112,2/204,2)*
GeflM	64,9 (58,0/79,5)	19,9 (10,5/28,7)
NatriP	72,1 (68,9/80,1)	28,3 (22,0/49,9)
mCaP	121,0 (98,6/135,3)*	104,4 (87,9/120,1)*
KnM	118,8 (107,2/131,4)*	18,3 (13,1/24,5)
mKP	125,7 (98,6/148,4)*	96,7 (57,9/135,3)*
KpyrP	71,6 (64,3/77,7)	41,1 (35,8/49,8)

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Tab. 28: Prä- und postprandiales Phosphor/Kreatinin Verhältnis im Urin sowie die relative Differenz des postprandialen Phosphor/Kreatinin Verhältnisses im Vergleich zum präprandialen Verhältnis (rel.Diff_{präprndl} (P/Krea) [%])

	Phosphor/Kreatinin Relation im Urin		
	präprandial	postprandial	rel.Diff _{präprndl} (P/Krea) [%]
KON	2,2 (1,0/2,8)	1,8 (1,3/2,2)	-15 (-41/108)
diCaP	6,0 (3,9/7,1)*	9,3 (7,6/10,9)***	+67 (30/134)
mNaP	6,3 (4,3/7,5)*	21,1 (16,4/25,9)***	+293 (133/392)*
GeflM	4,3 (3,6/4,9)	1,5 (0,8/2,2)	-63 (-76/-56)
NatriP	3,4 (3,1/4,2)	7,0 (4,1/9,9)**	+88 (37/199)
mCaP	5,8 (5,4/6,5)*	13,0 (9,0/17,0)***	+135 (88/179)
KnM	5,8 (4,6/6,9)*	2,9 (1,5/4,2)	-49 (-67/-32)
mKP	6,7 (5,8/8,6)*	21,8 (17,1/26,5)***	+207 (179/304)*
KpyrP	3,5 (3,2/4,3)	9,9 (6,7/13,1)***	+188 (130/253)

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsratio und der Kontrolle mit * p≤0,05, ** p≤0,01 und *** p≤0,001

Tab. 29: Relative Differenz des prä- und postprandialen Phosphor/Kreatinin Verhältnisses im Urin im Vergleich zum Kontrolldurchgang (rel.Diff_{KON} (P/Krea))[%]

	rel.Diff _{KON} (P/Krea) [%]	
	präprandial	postprandial
KON	-	-
diCaP	+229 (87/352)*	+441 (306/652)
mNaP	+248 (72/515)*	+1067 (708/1648)*
GeflM	+94 (72/357)	-19 (-38/-3)
NatriP	+56 (12/343)	+352 (179/466)
mCaP	+164 (117/521)*	+758 (429/921)*
KnM	+151 (59/681)*	+69 (-24/187)
mKP	+197 (82/848)*	+1231 (797/1679)*
KpyrP	+75 (18/312)	+572 (384/643)*

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsratio und der Kontrolle mit * p≤0,05, ** p≤0,01 und *** p≤0,001

8.4.3. Magnesiumkonzentration im Urin (präprandial)

Die Urin-Mg-Konzentration lag bei KON bei 8,0 (4,1/11,9) mmol/l. Den höchsten Gehalt an Mg im Urin zeigte der Durchgang mit Knochenmehl im Exzess (KnM), allerdings unterschied sich dieser Wert zu KON nicht signifikant. Alle anderen Durchgänge zeigten eine geringere Mg-Konzentration im Urin als KON, wobei die Werte von diCaP, mNaP, GeflM und mKP hierbei signifikant niedriger als der

von KON waren. Das Mg/Kreatinin Verhältnis war in allen Durchgängen vergleichbar mit KON (Tabelle 30).

Tab. 30: Magnesiumkonzentration [mmol/l] und Magnesium/Kreatinin Verhältnis im Urin sowie die relative Differenz des Magnesium/Kreatinin Verhältnisses im Vergleich zum Kontrolldurchgang (rel.Diff_{KON} (Mg/Krea))[%]

	Mg-Konz. im Urin [mmol/l]	Mg/Kreatinin Relation im Urin	
		absolut	rel.Diff _{KON} (Mg/Krea) [%]
KON	8,0 (4,1/11,9)	0,3 (0,2/0,4)	-
diCaP	5,0 (3,5/6,5)*	0,2 (0,2/0,3)	-31 (-49/31)
mNaP	4,1 (2,7/5,6)*	0,2 (0,2/0,3)	-31 (-58/17)
GefIM	4,7 (3,6/5,9)*	0,3 (0,2/0,4)	+1 (-41/51)
NatriP	7,3 (4,5/10,1)	0,3 (0,3/0,4)	-14 (-30/37)
mCaP	5,7 (3,8/7,7)	0,3 (0,2/0,3)	-16 (-45/41)
KnM	9,1 (6,3/11,9)	0,4 (0,3/0,5)	+16 (-11/139)
mKP	4,4 (2,8/6,1)*	0,2 (0,2/0,4)	-26 (-64/42)
KpyrP	6,6 (3,7/9,4)	0,3 (0,3/0,4)	-7 (-31/47)

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

9. Blutuntersuchungen

9.1. Kreatininkonzentration im Serum

Alle prä- und postprandial gemessenen Werte der Kreatininkonzentration im Serum lagen im Referenzbereich für Hunde. Die präprandiale Serum-Kreatinin-Konzentration lag bei KON bei 61,9 (55,3/61,9) $\mu\text{mol/l}$. Die höchsten präprandialen Gehalte an Kreatinin im Serum zeigten diCaP mit 69,8 (66,5/73,8) $\mu\text{mol/l}$ und KpyrP mit 69,4 (63,0/77,4) $\mu\text{mol/l}$, die sich auch signifikant zu KON unterschieden. Die präprandialen Kreatininkonzentrationen aller anderen Versuchsdurchgänge unterlagen keinen bedeutsamen Veränderungen. Die Werte der Kreatininkonzentration der postprandialen Serumproben lagen stets niedriger als die der präprandialen, außer bei GefIM. Hier lag sowohl der absolute postprandiale Kreatiningehalt als auch die relative Differenz präprandial zu postprandial höchst signifikant über den Werten bei KON. Die postprandiale Kreatininkonzentration bei KpyrP war zwar im Vergleich zur entsprechenden präprandialen Konzentration niedriger, zeigte aber einen signifikanten Unterschied zu KON (Tabellen 31 und 32).

Tab. 31: Kreatininkonzentration im prä- und postprandialen Serum [$\mu\text{mol/l}$] und die relative Differenz der postprandialen Kreatininkonzentration im Serum im Vergleich zur präprandialen Konzentration ($\text{rel.Diff}_{\text{präprdl}}$ (Serum Krea)) [%]

Referenzbereich < 124 $\mu\text{mol/l}$	Serum Kreatinin		
	präprandial [$\mu\text{mol/l}$]	postprandial [$\mu\text{mol/l}$]	$\text{rel.Diff}_{\text{präprdl}}$ (Serum Krea) [%]
KON	61,9 (55,3/61,9)	54,1 (48,5/59,8)	-9 (-17/-2)
diCaP	69,8 (66,5/73,8)*	59,4 (52,3/66,6)	-15 (-23/-7)
mNaP	54,4 (52,0/60,3)	46,8 (40,5/53,1)	-16 (-27/-4)
GeflM	61,0 (57,9/61,7)	75,8 (72,0/79,6)***	+27 (13/42)***
NatriP	65,4 (60,1/68,3)	59,9 (54,0/65,8)	-7 (-15/0)
mCaP	63,2 (59,0/64,5)	50,3 (44,9/55,6)	-18 (-27/-10)
KnM	53,9 (47,7/57,9)	50,3 (46,5/54,0)	-6 (-16/5)
mKP	55,7 (53,9/63,6)	53,9 (48,1/59,8)	-8 (-14/-1)
KpyrP	69,4 (63,0/77,4)*	62,8 (53,1/72,4)*	-11 (-20/-3)

Quelle Referenzbereich: IDEXX Laboratories; Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Tab. 32: Relative Differenz der prä- und postprandialen Kreatininkonzentration im Serum im Vergleich zum Kontrolldurchgang ($\text{rel.Diff}_{\text{KON}}$ (Serum Krea)) [%]

	$\text{rel.Diff}_{\text{KON}}$ (Serum Krea) [%]	
	präprandial	postprandial
KON	-	-
diCaP	+19 (13/23)*	+10 (-3/24)
mNaP	-7 (-15/1)	-12 (-31/7)
GeflM	-1 (-4/5)	+42 (20/63)***
NatriP	+8 (6/12)	+11 (-2/25)
mCaP	+4 (-3/6)	-7 (-17/4)
KnM	-13 (-14/-3)	-6 (-21/9)
mKP	-3 (-13/9)	+1 (-15/16)
KpyrP	+19 (3/35)*	+17 (-4/38)*

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

9.2. Konzentration des Fibroblast growth factor 23 (FGF23) im Serum

FGF23 im Serum wurde mittels eines homologen Tests für Hunde in KON und in den Versuchsdurchgängen diCaP, mNaP, NatriP und mCaP jeweils prä- und postprandial bestimmt. Da alle Messungen unterhalb der Nachweisgrenze waren,

wurde auf die Bestimmung von FGF23 der weiteren Durchgänge aus Kostengründen verzichtet.

9.3. Calcitriolkonzentration im Serum

Calcitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) im Serum wurde in den jeweils prä- und postprandial entnommenen Proben in KON sowie in mNaP, KnM und mKP bestimmt. Alle prä- und postprandiale gemessenen Werte lagen unterhalb des Referenzbereichs für Hunde (Tabelle 33). Da keine Effekte der P-Menge, der P-Quelle oder des Blutentnahmezeitpunkts festgestellt werden konnten, wurde auf eine Bestimmung des Vitamins in den übrigen Durchgängen verzichtet.

Tab. 33: $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Konzentration im prä- und postprandialen Serum [pmol/l]

Serum $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$		
Referenzbereich	präprandial	postprandial
53 - 253 pmol/l	[pmol/l]	[pmol/l]
KON	25,0 (15,6/31,0)	25,7 (15,2/36,2)
mNaP	31,0 (24,3/40,5)	33,5 (22,8/44,3)
KnM	27,6 (18,5/31,1)	27,6 (17,6/37,7)
mKP	33,7 (27,0/37,5)	36,4 (28,2/44,6)

Quelle Referenzbereich: IDEXX Laboratories; Angaben Median (IQR)

9.4. Parathormonkonzentration im Serum

Die präprandialen PTH Werte zeigten keine statistisch signifikanten Differenzen zu KON und lagen alle im Referenzbereich für Hunde. Ein P-Exzess hatte auf den präprandialen PTH-Spiegel also keinen Effekt.

Die postprandialen PTH Werte ergaben dagegen signifikante Erhöhungen des Serum PTH-Spiegels nach einigen der P-Zulagen im Vergleich zu KON. So stieg bei den K- und Na-P-Verbindungen (mNaP, NatriP und mKP, KpyrP) sowie bei der primären Ca-P-Verbindung (mCaP) der postprandiale PTH-Spiegel signifikant an, wobei der höchste Medianwert der postprandialen Serum PTH Konzentration nach Verfütterung von mNaP mit 89,8 (49,9/113,8) pg/ml beobachtet wurde. In mNaP, mKP und KpyrP lagen die medianen postprandialen PTH-Werte im Serum über dem laborspezifischen Referenzbereich von 8 – 45 pg/ml. Auch die Einzelwerte des postprandialen PTH-Spiegels lagen in diesen Versuchsdurchgängen bei über der Hälfte der Tiere außerhalb des Referenzbereichs (mNaP: 7/8 Tiere; mKP: 6/8 Tiere; KpyrP: 7/8 Tiere). Bei

NatriP und mCaP lagen zwar die medianen Werte der postprandialen PTH Serumkonzentration innerhalb des Referenzbereiches, jedoch lagen auch in diesen beiden Durchgängen die Einzelwerte von jeweils drei Tieren über dem oberen Grenwert für die PTH Konzentration im Serum bei Hunden.

Bei allen Durchgängen, deren postprandiale Serum PTH Konzentrationen einen signifikanten Unterschied zu KON zeigten, war auch die $\text{rel.Diff}_{\text{präprdl}}$ (Serum PTH) signifikant höher als die der KON. Den größten postprandialen Anstieg zeigte mNaP: Hier lag die postprandiale Serum PTH Konzentration etwa 300 % (Medianwert) höher als die präprandiale Konzentration (Tabelle 34).

Tab. 34: Parathormonkonzentration im prä- und postprandialen Serum [pg/ml] und die relative Differenz der postprandialen Parathormonkonzentration im Serum im Vergleich zur präprandialen Konzentration ($\text{rel.Diff}_{\text{präprdl}}$ (Serum PTH))[%]

Referenzbereich 8 - 45 pg/ml	Serum PTH		
	präprandial [pg/ml]	postprandial [pg/ml]	$\text{rel.Diff}_{\text{präprdl}}$ (Serum PTH) [%]
KON	21,5 (19,0/23,5)	20,0 (19,3/27,0)	-7 (-18/34)
diCaP	18,0 (16,3/22,5)	27,0 (19,3/35,0)	+37 (11/59)
mNaP	20,3 (19,4/25,8)	89,8 (49,9/113,8)*	+302 (147/468)*
GefIM	22,6 (18,7/38,1)	26,9 (24,6/30,7)	+16 (-25/51)
NatriP	18,4 (16,8/21,0)	43,6 (30,7/74,6)*	+155 (75/304)*
mCaP	19,4 (18,6/21,6)	42,5 (35,0/61,9)*	+142 (84/189)*
KnM	19,9 (17,1/22,8)	23,6 (18,8/31,9)	+21 (-3/50)
mKP	22,0 (19,6/28,2)	65,4 (48,7/104,4)*	+191 (117/371)*
KpyrP	16,2 (13,4/21,2)	64,6 (47,7/100,6)*	+265 (199/500)*

Quelle Referenzbereich: Labor ALOMED; Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Tab. 35: Relative Differenz der prä- und postprandialen Parathormonkonzentration im Serum im Vergleich zum Kontrolldurchgang (rel.Diff_{KON} (Serum PTH)) [%]

	rel.Diff _{KON} (Serum PTH) [%]	
	präprandial	postprandial
KON	-	-
diCaP	-5 (-29/5)	+35 (-2/47)
mNaP	-8 (-13/13)	+291 (101/552)*
GeflM	+15 (-3/46)	+29 (12/36)
NatriP	-8 (-24/15)	+88 (62/273)*
mCaP	-9 (-14/3)	+82 (53/255)*
KnM	-8 (-20/7)	+18 (-5/37)
mKP	+3 (-4/26)	+227 (124/279)*
KpyrP	-30 (-45/9)	+200 (75/422)*

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

9.5. Konzentration der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (BAP) im Serum

Die präprandialen Serumwerte des Knochenresorptionsmarkers, die knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP), waren in allen Durchgängen außer GeflM und NatriP signifikant höher als die Werte von KON, lagen jedoch alle im Referenzbereich. Bei den postprandialen BAP-Konzentrationen zeigten diCaP, mNaP und mKP signifikant höhere Werte im Vergleich zu KON, die aber auch allesamt im Referenzbereich lagen. Im Vergleich zu KON war die Differenz zwischen prä- und postprandialen Werten in GeflM und mCaP signifikant niedriger: Hier war die postprandiale BAP-Konzentration 34% (Medianwert) bzw. etwa 43% (Medianwert) niedriger als die präprandiale Konzentration. Zwischen den prä- und postprandialen BAP-Konzentrationen im Serum aller anderen Versuchsdurchgänge gab es keine bedeutenden Veränderungen (Tabelle 36). Die präprandialen BAP-Konzentrationen aller Versuchsdurchgänge, außer GeflM und NatriP, zeigten einen signifikant prozentualen Unterschied zu KON, bei den postprandialen BAP-Konzentrationen war dies lediglich bei drei Versuchsdurchgängen der Fall (diCaP, mNaP und mKP) (Tabelle 37).

Tab. 36: BAP-Konzentration im prä- und postprandialen Serum [U/l] und die relative Differenz der postprandialen BAP-Konzentration im Serum im Vergleich zur präprandialen Konzentration (rel.Diff_{präprdl} (Serum BAP))[%]

Referenzbereich	Serum BAP		
	präprandial [E/l]	postprandial [E/l]	rel.Diff _{präprdl} (Serum BAP) [%]
6,7 ± 3,6 E/l			
KON	3,1 (2,5/4,3)	3,4 (2,7/4,8)	+11 (4/16)
diCaP	5,5 (4,7/6,8)*	6,1 (5,1/7,3)*	+7 (0/19)
mNaP	6,0 (4,7/7,5)*	6,5 (5,8/8,4)*	+20 (3/29)
GeflM	4,5 (4,1/4,7)	3,0 (2,6/3,2)	-34 (-37/-28)*
NatriP	3,3 (2,3/4,0)	3,4 (2,5/3,9)	-1 (-7/18)
mCaP	7,8 (5,8/11,2)*	4,5 (3,5/5,6)	-43 (-68/0)*
KnM	4,8 (4,2/8,3)*	4,8 (3,9/8,0)	-4 (-11/3)
mKP	5,2 (4,6/8,1)*	6,5 (5,4/9,3)*	+14 (4/16)
KpyrP	4,9 (4,3/5,6)*	5,3 (4,8/6,2)	+5 (-3/13)

Quelle Referenzbereich: (ALLEN et al., 2000); Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * p≤0,05, ** p≤0,01 und *** p≤0,001

Tab. 37: Relative Differenz der prä- und postprandialen BAP-Konzentration im Serum im Vergleich zum Kontrolldurchgang (rel.Diff_{KON} (Serum BAP)) [%]

	rel.Diff _{KON} (Serum BAP) [%]	
	präprandial	postprandial
KON	-	-
diCaP	+84 (36/145)*	+76 (47/121)*
mNaP	+81 (36/139)*	+95 (40/158)*
GeflM	+44 (25/65)	-17 (-27/-3)
NatriP	-2 (-24/24)	-7 (-26/2)
mCaP	+172 (39/307)*	+38 (14/66)
KnM	+64 (30/217)*	+44 (-3/179)
mKP	+57 (38/162)*	+75 (57/137)*
KpyrP	+60 (29/102)*	+44 (24/84)

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * p≤0,05, ** p≤0,01 und *** p≤0,001

9.6. Mengenelemente im Serum

9.6.1. Calciumkonzentration im Serum

Sowohl die Einzelwerte der Tiere als auch die Medianwerte der prä- und postprandialen Ca-Konzentrationen im Serum lagen bei allen Durchgängen im

Referenzbereich (Tabelle 38). Statistisch zeigten die medianen präprandialen Ca-Konzentrationen in GeflM, mCaP, mKP und KpyrP einen signifikanten Unterschied zu KON, der in KpyrP am größten war (Tabelle 39). Bei den postprandialen Serumproben waren alle Versuchsdurchgänge bis auf mKP signifikant bzw. höchst signifikant niedriger als KON. In Durchgang NatriP lag der postprandiale Ca-Spiegel mit 2,4 (2,4/2,5) mmol/l im Serum am niedrigsten, dessen Unterschied zu KON mit -9% am deutlichsten war (Tabelle 39). Dieser Versuchsdurchgang zeigte auch die größte und im Vergleich zu KON höchst signifikante relative Abweichung der postprandialen Ca-Konzentration zur präprandialen Konzentration (Tabelle 38). Allein in KON und mKP zeigten die postprandialen Ca-Konzentrationen höhere Werte im Vergleich zu den präprandialen, bei allen anderen Durchgängen kam es zu einem leichten Abfall des Ca-Gehalts in den postprandialen Serumproben, wie die Werte der relativen Differenz zwischen prä- und postprandial zeigen. Tabelle 40 fasst die Daten zum Ca-Stoffwechsel noch einmal zusammen.

Tab. 38: Calciumkonzentration im prä- und postprandialen Serum [mmol/l] und die relative Differenz der postprandialen Calciumkonzentration im Serum im Vergleich zur präprandialen Konzentration (rel.Diff_{präprdl} (Serum Ca))[%]

Referenzbereich	Serum Calcium		
	präprandial [mmol/l]	postprandial [mmol/l]	rel.Diff _{präprdl} (Serum Ca) [%]
2,3 - 3,0 mmol/l			
KON	2,6 (2,5/2,8)	2,7 (2,6/2,8)	+1 (-2/4)
diCaP	2,6 (2,5/2,7)	2,6 (2,5/2,6)*	-2 (-6/1)
mNaP	2,6 (2,5/2,6)	2,5 (2,4/2,6)***	-2 (-6/3)
GeflM	2,6 (2,5/2,6)*	2,5 (2,4/2,6)***	-2 (-5/1)
NatriP	2,6 (2,5/2,7)	2,4 (2,4/2,5)***	-6 (-8/-4)***
mCaP	2,6 (2,5/2,6)*	2,5 (2,4/2,5)***	-3 (-5/-1)
KnM	2,6 (2,5/2,7)	2,6 (2,5/2,6)*	-1 (-4/2)
mKP	2,6 (2,5/2,6)*	2,6 (2,6/2,7)	+3 (0/5)
KpyrP	2,5 (2,5/2,6)*	2,5 (2,4/2,5)***	-2 (-4/-1)

Quelle Referenzbereich: (KRAFT und DÜRR, 2013); Angaben Median (IQR);

*Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * p≤0,05, ** p≤0,01 und *** p≤0,001

Tab. 39: Relative Differenz der prä- und postprandialen Calciumkonzentration im Serum im Vergleich zum Kontrolldurchgang (rel.Diff_{KON} (Serum Ca)) [%]

	rel.Diff _{KON} (Serum Ca) [%]	
	präprandial	postprandial
KON	-	-
diCaP	-1 (-6/4)	-4 (-9/0)**
mNaP	-3 (-7/1)	-6 (-10/-1)***
GeflM	-3 (-8/1)*	-6 (-10/-2)***
NatriP	-2 (-6/2)	-9 (-12/-6)***
mCaP	-3 (-8/1)*	-7 (-11/-3)***
KnM	-2 (-5/0)	-4 (-8/-1)**
mKP	-3 (-8/1)*	-2 (-5/2)
KpyrP	-4 (-9/0)**	-7 (-11/-3)***

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Tab. 40: Übersicht der Versuchsergebnisse zum Calciumstoffwechsel

	Ca-Aufnahme [mg/kg KM/d]	fäkale Ca-Ausscheidung [mg/kg KM/d]	scheinbar verdautes Ca [mg/kg KM/d]	Ca-Konz. Urin [mmol/l]	Serum Ca präprdl [mmol/l]	Serum Ca postprdl [mmol/l]
KON	77 (74/81)	106 (73/138)	-29 (-60/3)	0,7 (0,5/1,3)	2,6 (2,5/2,8)	2,7 (2,6/2,8)
diCaP	341 (327/355)***	366 (317/415)***	-25 (-68/18)	1,3 (1,1/2,2)	2,6 (2,5/2,7)	2,6 (2,5/2,6)*
mNaP	338 (323/353)***	352 (324/379)***	-14 (-43/15)	1,2 (0,9/1,6)	2,6 (2,5/2,6)	2,5 (2,4/2,6)***
GefIM	455 (435/474)***	491 (430/553)***	-37 (-92/18)	1,9 (1,8/2,5)*	2,6 (2,5/2,6)*	2,5 (2,4/2,6)***
NatriP	219 (215/224)***	237 (210/264)***	-18 (-48/12)	2,0 (1,6/2,8)*	2,6 (2,5/2,7)	2,4 (2,4/2,5)***
mCaP	348 (333/363)***	323 (283/364)***	25 (-5/55)*	1,8 (1,6/2,3)*	2,6 (2,5/2,6)*	2,5 (2,4/2,5)***
KnM	468 (445/491)***	477 (438/516)***	-9 (-34/15)	2,3 (1,7/3,6)*	2,6 (2,5/2,7)	2,6 (2,5/2,6)*
mKP	348 (335/361)***	344 (299/390)***	4 (-41/49)	1,1 (0,8/1,6)	2,6 (2,5/2,6)*	2,6 (2,6/2,7)
KpyrP	211 (204/219)***	236 (214/258)***	-24 (-43/-6)	1,3 (1,1/2,0)	2,5 (2,5/2,6)*	2,5 (2,4/2,5)***

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * p<0,05, ** p<0,01 und *** p<0,001

9.6.2. Phosphorkonzentration im Serum

In den Nüchternblutproben lagen bei allen Durchgängen die Serum P-Konzentration im Referenzbereich und alle bis auf mNaP und mKP waren vergleichbar (Tabellen 41 und 42). In mNaP und mKP waren die präprandialen P-Gehalte signifikant niedriger als in KON. Bei den postprandialen Serumproben sind lediglich bei KON und den beiden „organischen“ P-Quellen (GeflM und KnM) keine erhöhten Serum P-Werte zu erkennen. Im Gegensatz dazu führten alle anorganischen P-Zulagen zu einem hoch signifikanten bzw. höchst signifikanten Anstieg der postprandialen P-Serumspiegel. Besonders massiv war der postprandiale Anstieg des Serum P-Spiegels bei den primären Na- bzw. K-P-Verbindungen (mNaP und mKP). Hier war der Unterschied zwischen präprandialen und postprandialen P-Gehalten im Serum etwa 200% (Medianwert), womit hier die relative Differenz zwischen prä- und postprandial entnommenen Serumproben im Vergleich zu KON höchst signifikant erhöht war. In mNaP wurde die höchste postprandiale Serum P-Konzentration mit 3,1 (2,6/3,6) mmol/l (Medianwert) festgestellt. Insgesamt lagen die Einzelwerte der postprandiale Serum P-Spiegel in vier Versuchsdurchgängen (mNaP, mCaP, mKP, KpyrP) bei 8/8 Tieren, in diCaP bei 6/8 Tieren und in NatriP bei 4/8 Tieren über dem Referenzbereich. In NatriP und KpyrP zeigten diverse Tiere eine Erhöhung des postprandialen Serum P-Spiegels über den Referenzbereich, obwohl in diesen beiden Versuchsdurchgängen die P-Zulage geringer als in den übrigen Durchgängen war. Tabelle 43 fasst die Daten zum P-Stoffwechsel noch einmal zusammen.

Tab. 41: Phosphorkonzentration im prä- und postprandialen Serum [mmol/l] und die relative Differenz der postprandialen Phosphorkonzentration im Serum im Vergleich zur präprandialen Konzentration (rel.Diff_{präprndl} (Serum P))[%]

Referenzbereich 0,7 - 1,6 mmol/l	Serum P		
	präprandial [mmol/l]	postprandial [mmol/l]	rel.Diff _{präprndl} (Serum P) [%]
KON	1,3 (1,1/1,4)	1,2 (0,8/1,5)	-10 (-30/10)
diCaP	1,1 (1,0/1,2)	1,6 (1,5/1,8)**	+55 (31/80)***
mNaP	1,0 (1,0/1,1)*	3,1 (2,6/3,6)***	+199 (145/254)***
GeflM	1,1 (0,9/1,4)	1,2 (1,0/1,3)	+3 (-13/19)
NatriP	1,2 (1,0/1,3)	1,7 (1,3/2,1)**	+40 (2/77)*
mCaP	1,2 (0,9/1,3)	2,0 (1,9/2,2)***	+80 (49/111)***
KnM	1,2 (1,0/1,2)	1,2 (1,1/1,3)	+9 (-23/41)
mKP	0,9 (0,8/1,0)*	2,8 (2,4/3,1)***	+202 (165/239)***
KpyrP	1,2 (1,2/1,3)	2,1 (1,7/2,5)***	+68 (37/99)***

Quelle Referenzbereich: (KRAFT und DÜRR, 2013); Angaben Median (IQR);
*Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Tab. 42: Relative Differenz der prä- und postprandialen Phosphorkonzentration im Serum im Vergleich zum Kontrolldurchgang (rel.Diff_{KON} (Serum P)) [%]

	rel.Diff _{KON} (Serum P) [%]	
	präprandial	postprandial
KON	-	-
diCaP	-19 (-25/-7)	+51 (12/90)*
mNaP	-15 (-30/-9)*	+187 (96/278)***
GeflM	-17 (-30/15)	+6 (-24/37)
NatriP	-8 (-14/5)	+55 (-11/121)*
mCaP	-10 (-31/12)	+87 (36/137)***
KnM	-5 (-28/-3)	+9 (-18/37)
mKP	-27 (-30/-24)*	+153 (80/227)***
KpyrP	-7 (-9/4)	+93 (26/161)***

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Tab. 43: Übersicht der Versuchsergebnisse zum Phosphorstoffwechsel

	P-Aufnahme [mg/kg KM/d]	fäkale P-Ausscheidung [mg/kg KM/d]	scheinbar verdautes P [mg/kg KM/d]	P-Konz. Urin [mmol/l]	Serum P präprdl [mmol/l]	Serum P postprdl [mmol/l]
KON	56 (53/59)	34 (24/45)	21 (11/32)	51,6 (21,2/69,4)	1,3 (1,1/1,4)	1,2 (0,8/1,5)
diCaP	261 (250/272)***	211 (185/228)*	51 (33/70)**	108,4 (97,4/127,7)*	1,1 (1,0/1,2)	1,6 (1,5/1,8)**
mNaP	259 (247/270)***	172 (148/184)*	91 (64/118)***	106,7 (99,8/109,6)*	1,0 (1,0/1,1)*	3,1 (2,6/3,6)***
GeflM	262 (251/273)***	247 (217/261)*	18 (-5/42)	64,9 (58,0/79,5)	1,1 (0,9/1,4)	1,2 (1,0/1,3)
NatriP	162 (158/167)**	129 (112/139)	36 (19/54)	72,1 (68,9/80,1)	1,2 (1,0/1,3)	1,7 (1,3/2,1)**
mCaP	274 (262/286)***	176 (150/193)*	100 (86/115)***	121,0 (98,6/135,3)*	1,2 (0,9/1,3)	2,0 (1,9/2,2)***
KnM	269 (255/282)***	214 (200/231)*	54 (43/65)**	118,8 (107,2/131,4)*	1,2 (1,0/1,2)	1,2 (1,1/1,3)
mKP	278 (268/289)***	152 (140/177)*	125 (102/147)***	125,7 (98,6/148,4)*	0,9 (0,8/1,0)*	2,8 (2,4/3,1)***
KpyrP	155 (149/160)***	107 (101/113)	47 (38/56)*	71,6 (64,3/77,7)	1,2 (1,2/1,3)	2,1 (1,7/2,5)***

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * p≤0,05, ** p≤0,01 und *** p≤0,001

9.6.3. Magnesiumkonzentration im Serum

Sowohl der präprandiale als auch der postprandiale Serum Mg-Spiegel lag in allen Versuchsdurchgängen im Referenzbereich (Tabelle 44). Die Serum-Mg-Konzentration der KON betrug etwa 0,8 mmol/l (Medianwert). In den Durchgängen mit primären Phosphatverbindungen (mNaP und mKP) war sowohl der präprandiale als auch der postprandiale Mg-Spiegel im Vergleich zu KON signifikant (mNaP) bzw. höchst signifikant (mKP) niedriger. In KpyrP war ebenfalls die postprandiale Mg-Konzentration höchst signifikant erniedrigt (Tabelle 45). Alle Versuchsdurchgänge sowie KON zeigten postprandial stets niedrigere Mg-Konzentrationen im Serum als präprandial, wie an den negativen relativen Differenzen zu erkennen ist. Allerdings ist dieser postprandiale Abfall der Mg-Konzentration nur in NatriP und KpyrP signifikant (Tabelle 44). Tabelle 46 fasst die Daten zum Mg-Stoffwechsel noch einmal zusammen.

Tab. 44: Magnesiumkonzentration im prä- und postprandialen Serum [mmol/l] und die relative Differenz der postprandialen Magnesiumkonzentration im Serum im Vergleich zur präprandialen Konzentration (rel.Diff_{präprndl} (Serum Mg)) [%]

Serum Magnesium			
Referenzbereich	präprandial	postprandial	rel.Diff _{präprndl} (Serum Mg)
0,6 - 1,3 mmol/l	[mmol/l]	[mmol/l]	[%]
KON	0,8 (0,8/0,9)	0,8 (0,7/0,9)	-3 (-8/2)
diCaP	0,8 (0,8/0,9)	0,8 (0,7/0,9)	-2 (-7/3)
mNaP	0,8 (0,7/0,9)*	0,7 (0,6/0,9)*	-4 (-11/3)
GeflM	0,8 (0,7/0,9)	0,8 (0,7/0,8)	-3 (-7/1)
NatriP	0,9 (0,8/0,9)	0,8 (0,7/0,8)	-11 (-14/-8)**
mCaP	0,8 (0,7/0,9)	0,7 (0,7/0,8)*	-9 (-12/-5)
KnM	0,8 (0,8/0,8)	0,8 (0,7/0,8)	-6 (-10/-2)
mKP	0,7 (0,7/0,8)***	0,7 (0,6/0,7)***	-7 (-12/-2)
KpyrP	0,8 (0,8/0,9)	0,7 (0,7/0,8)***	-12 (-17/-8)***

Quelle Referenzbereich: (KRAFT und DÜRR, 2013); Angaben Median (IQR);

*Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Tab. 45: Relative Differenz der prä- und postprandialen Magnesiumkonzentration im Serum im Vergleich zum Kontrolldurchgang (rel.Diff_{KON} (Serum Mg)) [%]

	rel.Diff _{KON} (Serum Mg) [%]	
	präprandial	postprandial
KON	-	-
diCaP	-1 (-7/6)	+1 (-3/4)
mNaP	-7 (-11/-3)**	-8 (-15/1)
GeflM	-2 (-8/3)	-3 (-6/1)
NatriP	+3 (-4/10)	-7 (-9/-1)
mCaP	-2 (-7/3)	-6 (-13/-4)*
KnM	-3 (-9/3)	-6 (-12/1)
mKP	-11 (-16/-5)***	-14 (-19/-10)*
KpyrP	-3 (-9/3)	-11 (-16/-6)*

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Tab. 46: Übersicht der Versuchsergebnisse zum Magnesiumstoffwechsel

	Mg-Aufnahme [mg/kg KM/d]	fäkale Mg-Ausscheidung [mg/kg KM/d]	scheinbar verdautes Mg [mg/kg KM/d]	Mg-Konz. Urin [mmol/l]	Serum Mg präprdl [mmol/l]	Serum Mg postprdl [mmol/l]
KON	12 (11/12)	9 (7/11)	3 (1/5)	8,0 (4,1/11,9)	0,8 (0,8/0,9)	0,8 (0,7/0,9)
diCaP	14 (13/15)**	13 (12/15)***	1 (-1/2)	5,0 (3,5/6,5)*	0,8 (0,8/0,9)	0,8 (0,7/0,9)
mNaP	11 (10/11)***	11 (9/12)	0 (-1/1)*	4,1 (2,7/5,6)*	0,8 (0,7/0,9)*	0,7 (0,6/0,9)*
GefIM	15 (14/15)***	14 (12/17)***	0 (-2/2)*	4,7 (3,6/5,9)*	0,8 (0,7/0,9)	0,8 (0,7/0,8)
NatriP	11 (10/11)***	11 (10/13)	0 (-2/1)**	7,3 (4,5/10,1)	0,9 (0,8/0,9)	0,8 (0,7/0,8)
mCaP	14 (13/15)***	13 (12/15)***	1 (-1/2)	5,7 (3,8/7,7)	0,8 (0,7/0,9)	0,7 (0,7/0,8)*
KnM	15 (14/16)***	15 (13/16)***	0 (-1/1)*	9,1 (6,3/11,9)	0,8 (0,8/0,8)	0,8 (0,7/0,8)
mKP	11 (10/11)***	12 (10/15)**	-2 (-5/1)***	4,4 (2,8/6,1)*	0,7 (0,7/0,8)***	0,7 (0,6/0,7)***
KpyrP	12 (11/12)	10 (8/13)	1 (-1/4)	6,6 (3,7/9,4)	0,8 (0,8/0,9)	0,7 (0,7/0,8)***

Angaben Median (IQR); *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * p≤0,05, ** p≤0,01 und *** p≤0,001

V. DISKUSSION

1. Kritik der Methoden

1.1. Versuchskonzept

Da in allen Versuchsdurchgängen stets die gleichen Hunde verwendet wurden, könnte die Länge der wash-out Phase die Bewertung der jeweils nachfolgenden Versuche beeinflussen: Wird sie zu kurz gewählt, könnte ein negativer Effekt auf Blutparameter sowie theoretisch auch auf die Verdaulichkeit in den folgenden Versuchen bestehen. Aus Tierschutzgründen wurde die Versuchsdauer so gering wie möglich gehalten und auf Kontrollblutentnahmen vor Beginn jedes Versuchsdurchgangs verzichtet. Zehn Tage als wash-out Phase wurden als ausreichend erachtet. Nachdem nach einem Durchgang (mNaP) mit signifikanten Effekten auf den Serum P- und Serum PTH-Spiegel ein Durchgang ohne solche Effekte folgte, scheint die Dauer ausreichend gewesen zu sein.

Da es nur einen postprandialen Blutentnahmezeitpunkt gab, ist die Beurteilung der Blutparameter nur eingeschränkt möglich: Eine eventuelle unterschiedliche Dynamik der Blutparameter bei der Regulation der P-Anflutung sowie individuelle Unterschiede hinsichtlich der Regulation konnten hiermit nicht erfasst werden. Dieser Zeitpunkt wurde zudem gewählt, obwohl keine vorherigen Untersuchungen zum optimalen Zeitpunkt der Blutentnahme vorlagen. Eine Studie, die den Effekt eines alimentären P-Exzesses auf die PTH-Sekretion und auf den Knochenstoffwechsel an Hunden untersuchte, zeigte bei einem Zeitpunkt von 2h postprandial einen ersten Anstieg des Serum PTH-Spiegels (Blutentnahmezeitpunkte: nüchtern, 0,5, 1, 2, 4, 6 und 7,5h postprandial) (JOWSEY et al., 1974). An diese Studie orientierend wurde ein einmaliger postprandialer Blutentnahmezeitpunkt von 2h gewählt. Wünschenswert wäre eine mehrmalige Blutentnahme über 24h mit Bestimmung der P und PTH-Werte gewesen, was aber aus Tierschutzgründen nicht durchführbar war. Hier sollte zunächst einmal überprüft werden, ob bei dieser stichprobenartigen Überprüfung Unterschiede aufgedeckt werden können.

1.2. Versuchstiere

Die meisten Hunde stammen aus eigener Zucht und lebten seit ihrer Geburt bzw.

vor Beginn der Vorversuchsphase im Bestand des Instituts. Vor Beginn der Vorversuchsphase wurden die Hunde ausschließlich mit kommerziellem Trockenfutter gefüttert. Die verwendeten Futter enthielten, wie für kommerzielles Hundefutter üblich, mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit ebenfalls ein Vielfaches der empfohlenen P-Zufuhr. Eine bereits eingetretene negative Beeinflussung des P-Stoffwechsels durch die Fütterung vor Versuchsbeginn ist daher nicht auszuschließen. Um diesen Einfluss zu minimieren, wurde vor Versuchsbeginn eine 10-wöchige Vorversuchsphase vorgeschaltet, in der die Hunde eine ausgewogene Ration ohne Nähr- und Mineralstoffexzesse erhielten. Diese bestand aus einem kommerziellen Trockenfutter, einem Gelatinepulver als Protein- und einem Mineralpulver als Mineralstoff - und Vitaminergänzung.

1.3. Futter- und Mineralstoffaufnahme

Durch Zumischung der jeweiligen Mineralfutter kam es zeitweilig zu einer erheblichen Reduktion der Futterakzeptanz. Deshalb wurde in den Versuchsdurchgängen NatriP und KpyrP der P-Exzess auf das Dreifache des Bedarfs gesenkt. Es muss also bei der Beurteilung der Ergebnisse beachtet werden, dass die Effekte auf die Verdaulichkeit und auf Blutparameter der P-Quellen $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ und $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ bei einer P-Aufnahme auftraten, deren Menge unter der der anderen Versuchsdurchgänge lag. Allerdings ging es in vorliegenden Versuchen um den generellen Nachweis der Beeinflussung verschiedener P-Quellen im P-Exzess auf den P Haushalt des Hundes („proof of principle“). Somit wurde hier der qualitative Nachweis als wichtiger eingestuft, als die exakte quantitative Vergleichbarkeit der Effekte. Des Weiteren konnten trotz des Bestrebens nach möglichst identischen Rationen der verschiedenen Versuchsdurchgänge, einige Unterschiede in der Rationszusammensetzung aufgrund der Zugabe der P-Quellen (Proteingehalt, Ca/P-Verhältnis, Na- bzw. K-Exzess) nicht verhindert werden.

1.4. Sammelmethodik

Potenzielle Verluste an Kot und Futter sind die wesentlichste Fehlerquelle bei der Bilanzierung mit Hilfe der Sammelmethode. Auch bei größter Sorgfalt lassen sich geringe Verluste nicht vermeiden. Kotverluste durch zum Beispiel das Hineintreten der Tiere in ihre Faeces oder auch durch Kotfressen kann nicht ausgeschlossen werden. Kotverluste würden zu einer Unterschätzung der sV

führen, d.h. bei entsprechendem Fehler kann die tatsächliche sV der Nährstoffe höher sein. Da aber in allen Durchgängen die gleichen Tiere verwendet wurden, sind die entsprechenden Fehler durch Kotverluste untereinander vergleichbar, da individuelle Einflüsse (Kotfresser, Hineintreten in Faeces) vermutlich bei allen Durchgängen gleich waren. Zudem standen die Tiere während der fünftägigen Bilanzphase 14 Stunden am Tag unter genauester Beobachtung und der Kot wurde stets sofort nach Defäkation aus dem Zwinger entfernt.

Auch bei der Futteraufnahme der Tiere sind, je nach Individuum, kleinere Verluste durch verstreutes Futter beim Fressen nicht ganz zu vermeiden. Um auch hier den Fehler so gering wie möglich zu halten, wurden nach jeder Fütterung der Zwingerboden kontrolliert und herausgefallenes Futter der Rückwaage hinzugefügt.

Bei den Urinproben handelt es sich stets um Spontanurinproben. Wünschenswert wäre eine quantitative Urinsammlung über die gesamte Bilanzphase gewesen, um die Mineralstoffretention berechnen zu können. Dazu hätte allerdings eine Haltung der Tiere in sogenannten Bilanzkäfigen erfolgen müssen. Darauf wurde verzichtet, um die Tiere so gering wie möglich zu belasten.

Zur Gewinnung der Urinproben sind die Tiere zu bestimmten Tageszeiten an der Leine spazieren geführt worden. Bei Einnehmen der Urinierstellung wurde mit Hilfe eines Urinauffangbechers unter größter Sorgfalt der Urinstrahl aufgefangen. Auf dem Urinauffangbecher war ein Messzylinder aufgesteckt, in den der Urinstrahl direkt vom Auffangbecher über einen kleinen Schlitz hineingeleitet wurde. Somit ließ sich das Risiko einer Verunreinigung der Urinprobe, das zu einer eventuellen Verfälschung der Messergebnisse führen könnte, gering halten.

1.5. Messung der Urindichte

Unter Praxisbedingungen wird das spezifische Gewicht von Urin für gewöhnlich mit Hilfe eines Refraktometers bestimmt. Dies liefert jedoch, abhängig von der Genauigkeit der Skala des jeweiligen Messgerätes, nur einen Richtwert und keine genaue Dichtebestimmung der Flüssigkeit. In den vorliegenden Versuchen wurde deshalb die Dichtebestimmung mit dem Pyknometer vorgenommen. Zur Vergleichbarkeit der Messungen bei der Dichtebestimmung von Flüssigkeiten ist es wichtig, dass die Temperatur der Flüssigkeit bei allen Messungen konstant gehalten wird. Zu hohe oder zu niedrige Temperaturen der zu messenden

Flüssigkeit führen zu einer Unter- oder Überschätzung deren Dichte. Um Fehler weitgehend zu vermeiden, wurden alle Gerätschaften und Urinproben vor der täglichen Messung im Wasserbad auf 21°C temperiert.

1.6. Mineralstoffkonzentration im Harn

Die Konzentrationen der analysierten Mengenelemente im Harn (Ca, P und Mg) sind im vorliegenden Versuch nur bedingt zu beurteilen, da eine quantitative Sammlung über die gesamte Bilanz aus Tierschutzgründen nicht durchgeführt wurde. Um dennoch die Urinproben trotz fehlender Angaben zur Gesamttagesurinmenge und Trinkwasseraufnahme untereinander vergleichen zu können, wurde der Gehalt der analysierten Mengenelemente im Urin auch auf die jeweilige Kreatininkonzentration im Urin bezogen. Neben der Trinkwassermenge könnte auch der Zeitpunkt der Probenentnahme eine Rolle spielen: Bei Hunden wird eine hormonbedingte (ADH, Aldosteron) tageszeitliche Schwankung des Harnzeitvolumens angenommen (GORDON und LAVIE, 1985). Bei Menschen konnte ein Anstieg der renalen P-Exkretion im Tagesverlauf unabhängig von der Nahrungsaufnahme festgestellt werden (WESSON, 1964; KEMP et al., 1992). Somit könnte die Mineralstoffkonzentration im Urin je nach Zeitpunkt der Probenentnahme variieren. Um alle Versuchsdurchgänge miteinander vergleichen zu können, wurde in jedem Durchgang stets das gleiche Zeitschema angewendet: Die präprandiale Urinprobe wurde nüchtern um 6 Uhr abgenommen. Beobachtungen aus der Vorversuchsphase zeigten, dass zu dieser Uhrzeit die Hunde zumeist noch kein Trinkwasser aufgenommen und noch nicht in den Zwinger uriniert hatten. Die postprandiale Urinprobe erfolgte im Schnitt 4-5 Stunden nach der Fütterung, wobei hier der Zeitpunkt der Uringewinnung und die zwischenzeitliche Wasseraufnahme der einzelnen Tiere stark variierten.

1.7. Zeitpunkt der Blutentnahme

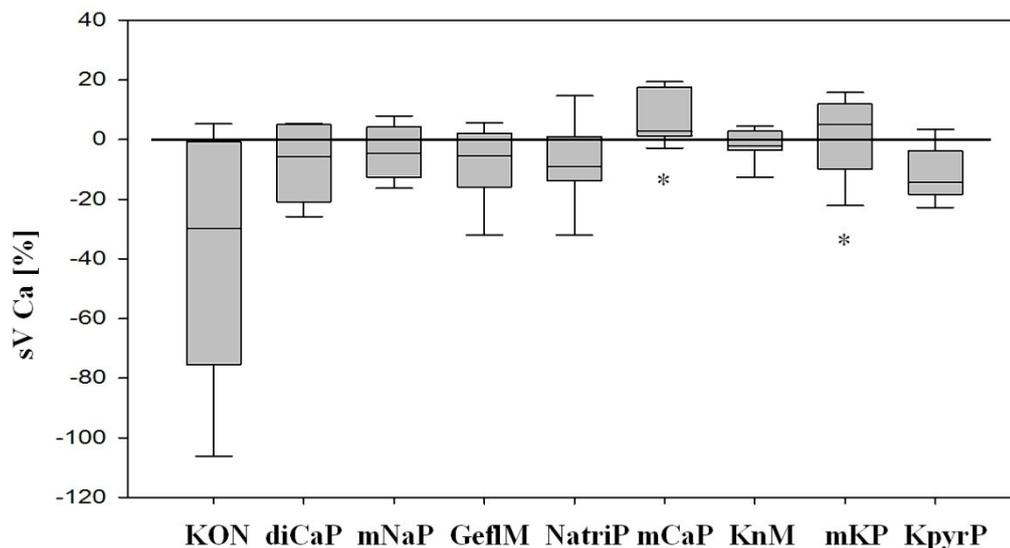
Da die Blutparameter z.T. einer circadianen Rhythmik unterliegen, kann der Zeitpunkt der Blutentnahme auch einen Einfluss auf die Höhe des jeweiligen Serumspiegels wie den P- und FGF23-Serumspiegel haben (PORTALE et al., 1987; KEMP et al., 1992; VERVLOET et al., 2011). Um den Einflussfaktor des Zeitpunkts der Blutentnahme auf die Blutergebnisse so gering wie möglich zu halten, wurde der Zeitpunkt der Probennahmen einheitlich gewählt: Der Beginn der ersten Blutentnahme war in allen Versuchsdurchgängen 7 Uhr morgens, dabei

wurde den Versuchstieren stets in der gleichen Reihenfolge hintereinander Blut abgenommen. Diese Reihenfolge wurde bei der postprandialen Blutentnahme, die stets zwei Stunden nach der Fütterung erfolgte, beibehalten.

2. Ergebnisse der Kotuntersuchungen

2.1. Fäkale Calciumexkretion

In den Versuchsdurchgängen wurde Ca weit über dem Bedarf gefüttert, um trotz des alimentären P-Exzesses ein ausgeglichenes Ca/P zu gewährleisten. Dennoch war die sV Ca in allen Versuchsdurchgängen unabhängig von der verwendeten P-Quelle durchweg niedrig bis negativ, wie die Boxplot Grafik in Abbildung 2 noch einmal verdeutlicht.



*Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Abb. 2: Scheinbare Verdaulichkeit des Calciums [%] in Kontroll- und Versuchsdurchgängen

Eine naheliegende Erklärung für die niedrige Ca-Verdaulichkeit wäre eine negative Beeinflussung der Ca-Verwertung durch den alimentären P-Exzess in den Versuchsdurchgängen. Dieser Zusammenhang wurde bereits an verschiedenen Tierarten wie Pferd (ARGENZIO et al., 1974), Geflügel (HURWITZ und BAR, 1971) und Ratten (MAHONEY und HENDRICKS, 1978) gezeigt.

Allerdings scheint dieser Einfluss des alimentären P-Exzesses auf die Ca-Verwertung nicht beim Hund gegeben zu sein, wie eine Metaanalyse zeigte. Diese Studie konnte keinen systematischen Effekt des Ca/P-Verhältnisses (Ca:P<1; Ca:P 1-2; Ca:P > 2) auf die Beziehung zwischen Ca-Aufnahme und faecaler Ca-Ausscheidung feststellen. Dies lässt vermuten, dass bei Variation des Ca/P-Verhältnisses keine Anpassung der Ca-Verdaulichkeit erfolgt (MACK et al., 2015).

Eine enge Korrelation konnten Mack und Mitarbeiter zwischen der Ca-Aufnahme und der fäkalen Ca-Exkretion feststellen ($y=0,88x+8,63$; $r=0,98$), die in vorliegender Arbeit ebenfalls nachgewiesen werden konnte ($R^2=0,9$; Abb. 3). Abbildung 3 zeigt sowohl die Regressionsgerade der Ergebnisse vorliegender Arbeit (durchgezogene Linie) als auch die nach Mack et al. (2015) erwartete Regressionsgerade (gestrichelte Linie). Es konnte in vorliegender Arbeit eine ähnlich starke Abhängigkeit der fäkalen Ca-Exkretion von der Ca-Aufnahme nachgewiesen werden, allerdings ergaben sich für endogene fäkale Verluste deutlich höhere Werte bei Extrapolation der Regressionsgeraden (44mg Ca/kg metabolischer KM/d versus 8,6 mg Ca/kg metabolischer KM/d). Der in vorliegender Arbeit errechnete Wert für endogene Verluste von 44mg/kg metabolischer KM/d, der einem Wert von 23mg/kg KM/d entspricht, stimmt gut mit den Angaben der GfE (25 mg/kg KM/d; Regressionsberechnung) überein (GFE, 1989). Des Weiteren zeigte die Regressionsgerade der Korrelation zwischen Ca-Aufnahme und fäkaler Ca-Exkretion eine stärkere Abhängigkeit dieser beiden Größen als jene der Korrelation zwischen der P-Aufnahme und der fäkalen P-Exkretion (s. 2.2), was ebenfalls mit der Literaturstudie von Mack et al. (2015) übereinstimmt.

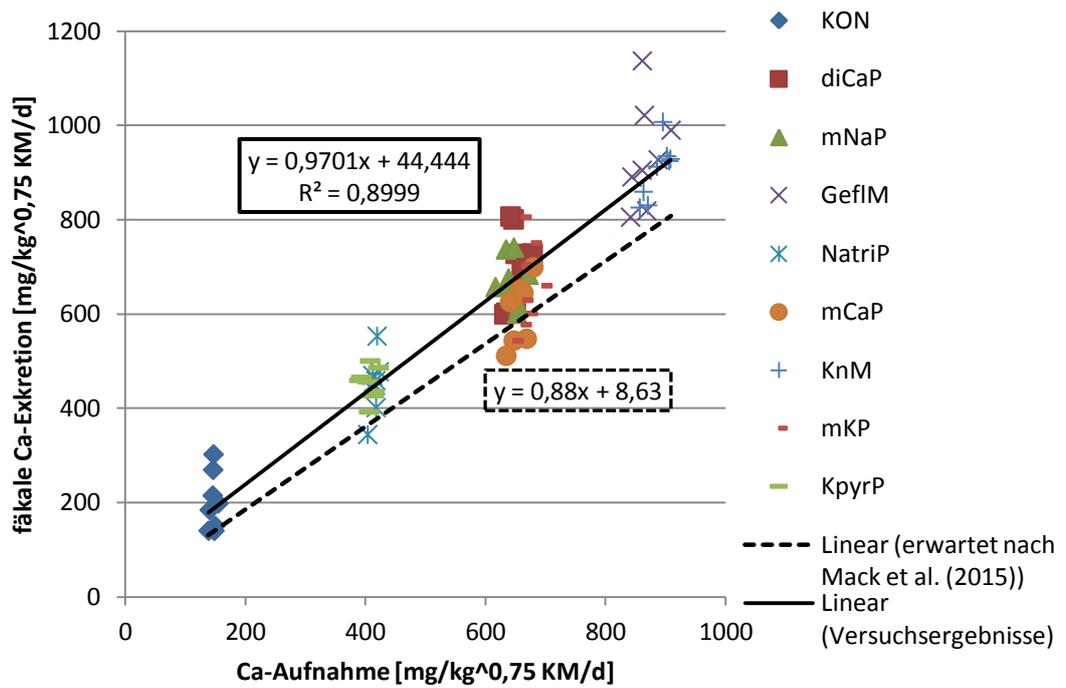


Abb. 3: Fäkale Calciumexkretion [mg/kg metabolischer KM/d] in Abhängigkeit von der Calciumaufnahme [mg/kg metabolischer KM/d]

Des Weiteren besteht, wie bereits an Hunden gezeigt wurde (KIENZLE et al., 2006; KIENZLE et al., 2017), ein Zusammenhang zwischen der fäkalen Ca-Exkretion und der fäkalen TS-Exkretion. Die Abhängigkeit zwischen diesen beiden Größen konnte auch in vorliegender Studie eindrucksvoll nachgewiesen werden. Abbildung 4 zeigt deutlich ($R^2 = 0,8$), dass mit der Höhe der TS-Ausscheidung die fäkale Ca-Exkretion steigt und folglich die sV Ca sinkt.

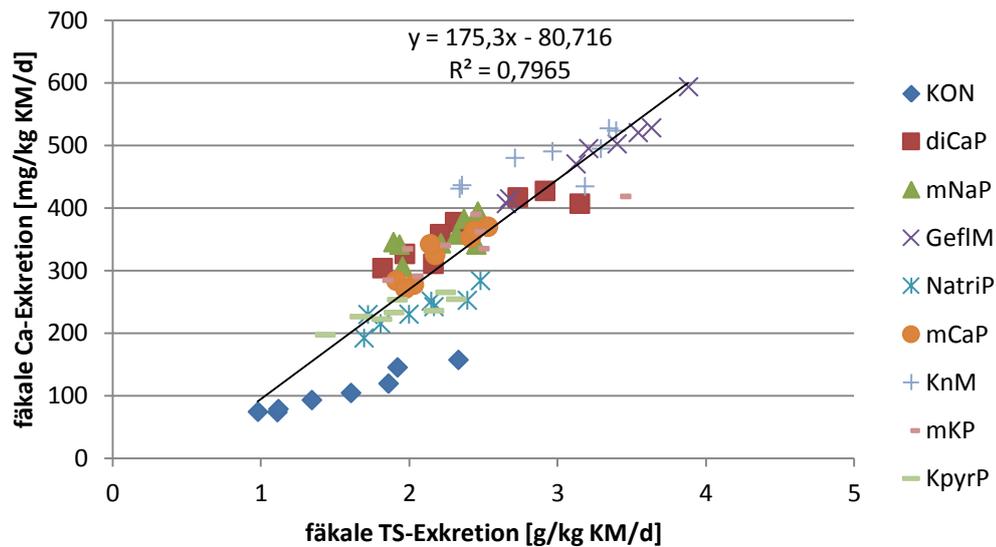
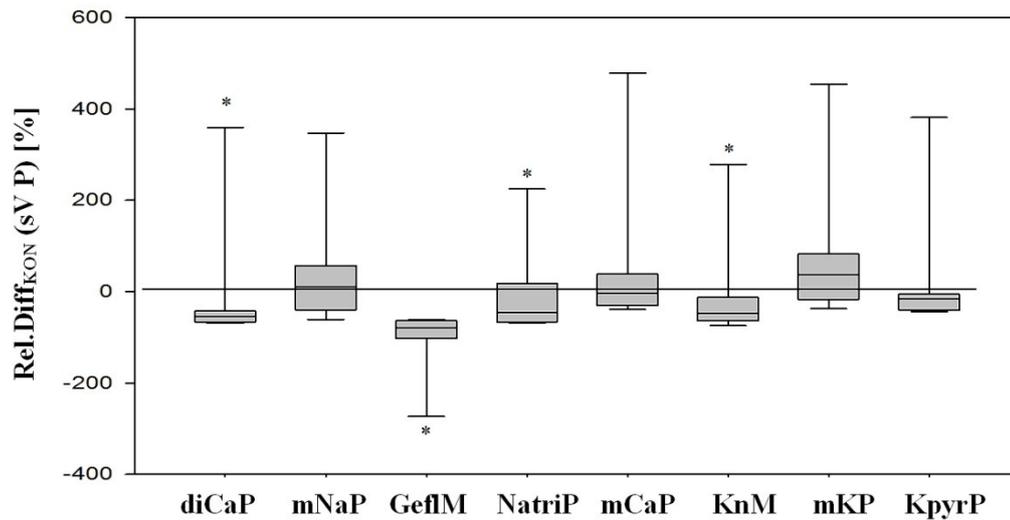


Abb. 4: Fäkale Calciumexkretion [mg/kg KM/d] in Abhängigkeit von der fäkalen Exkretion der Trockensubstanz [g/kg KM/d]

In vorliegender Arbeit war auffallend, dass die sV Ca in der bedarfsdeckenden (130 mg Ca/kg KM^{0,75}/d; NRC (2006)) und ausgewogenen KON-Ration mit -29,9 (-75,4/-0,8) % deutlich negativ war und weit unter der von GfE (1989) angenommenen durchschnittlichen sV Ca zwischen 5-50% lag. Eine andere Studie an Hunden verzeichnete ebenfalls im Kontrolldurchgang bei ausgeglichenem Ca/P und ausgewogener Ration erstaunlich niedrige bis negative Werte der sV Ca.

2.2. Fäkale Phosphorexkretion

Hinsichtlich der sV der verwendeten P-Quellen konnten deutliche Unterschiede festgestellt werden, wobei die scheinbare Verdaulichkeit der "organischen" P-Quelle GeflM am geringsten und die von KH₂PO₄ am höchsten war. Allein die Durchgänge mNaP und mKP zeigten positive Medianwerte der prozentualen Abweichung der sV P von KON (Abbildung 5).



*Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Abb. 5: Prozentuale Abweichung der Scheinbaren Verdaulichkeit des Phosphors der Versuchsdurchgänge vom Kontrolldurchgang [%]

Ein naheliegender Einflussfaktor auf die sV P ist sicherlich die Höhe der P-Aufnahme. Die Korrelation der fäkale P-Exkretion [mg/kg KM/d] mit der P-Aufnahme [mg/kg KM/d] in Abbildung 6 verdeutlicht die Abhängigkeit beider Größen ($R^2=0,7$). Wie erwartet hängt das Ausmaß der fäkalen P-Exkretion und folglich das der P-Resorption grundsätzlich von der Menge der P-Aufnahme ab: In den Versuchsdurchgängen NatriP und KpyrP, in denen die P-Zulage auf das Dreifache des Bedarfs gesenkt wurde, war die fäkale P-Exkretion niedriger als in den Durchgängen mit einer P-Zulage des Fünffachen des Bedarfs (s. mittlere Datenpunktansammlung in Abb. 6). Im Bereich der fünffachen P-Versorgung (s. obere Datenpunktansammlung in Abb. 6) ist eine starke Streuung der Datenpunkte festzustellen, wobei hier die Versuchsdurchgänge diCaP, GeflM und KnM eine überdurchschnittliche fäkale P-Exkretion (Datenpunkte liegen oberhalb der Regressionsgeraden) und die Versuchsdurchgänge mNaP, mCaP und mKP eine unterdurchschnittliche fäkale P-Exkretion (Datenpunkte liegen unterhalb der Regressionsgeraden) aufzeigten. Somit scheint unabhängig von der Höhe der P-Aufnahme eine starke Variabilität in Abhängigkeit von der P-Quelle zu bestehen, und lässt vermuten, dass die verwendeten P-Quellen Unterschiede bezüglich der Bioverfügbarkeit aufwiesen.

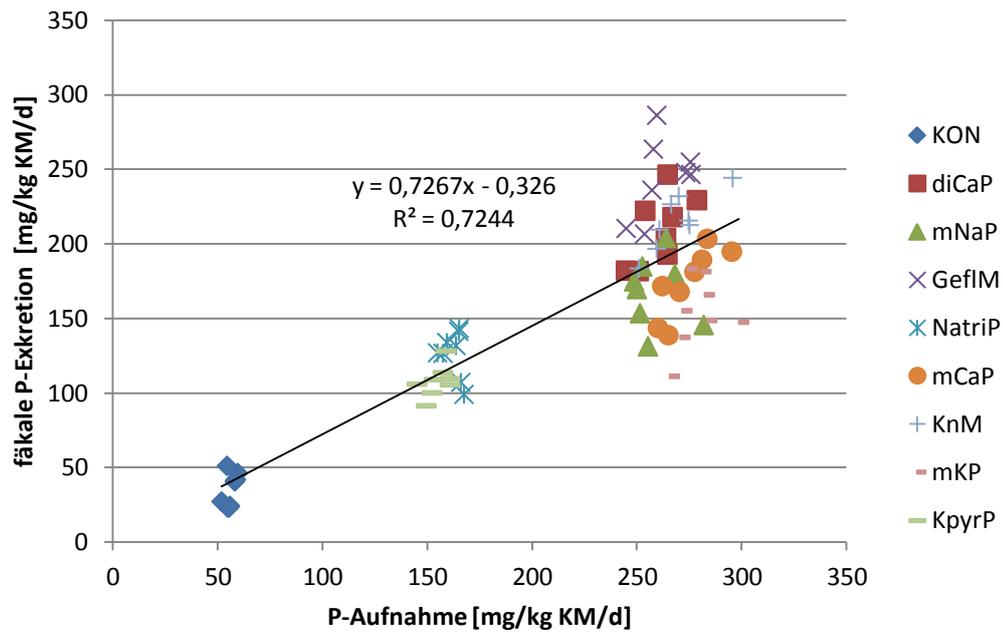


Abb. 6: Fäkale Phosphorexkretion [mg/kg KM/d] in Abhängigkeit von der Phosphoraufnahme [mg/kg KM/d]

Die P-Verdaulichkeit ist im Allgemeinen davon abhängig, wie gut die P-Quelle in ihre resorbierbaren Bestandteile zerlegt werden kann. Um einen möglichen Einfluss der Partikelgröße der P-Quellen auf die P-Resorption auszuschließen, wurde im vorliegenden Versuch stets die gleiche Partikelgröße der P-Quellen von < 1mm verwendet, die der praxisüblichen Größe kommerzieller Futtermittel entspricht.

Organischer P liegt in vivo größtenteils proteingebunden bzw. an andere intrazellulären Kohlenstoff enthaltende Moleküle gebunden vor. P kann im Intestinum allerdings nur in Form von anorganischem P aufgenommen werden. Dies bedeutet, dass der in organischer Form vorliegender P in der Nahrung zuerst in anorganisches P umgewandelt werden muss bevor er als freies Phosphat resorbiert werden kann. Folglich kann der bereits in anorganischer Form vorliegende P in der Nahrung gleich zu Beginn des Dünndarms aufgenommen werden, wohingegen organischer P aufgrund der zuerst nötigen Aufschlüsselung im Darmtrakt (z.B. Proteinverdau) deutlich langsamer resorbiert werden dürfte (URIBARRI, 2007; RITZ et al., 2012; ELMADFA und LEITZMANN, 2015). Eine Fütterungs- und Perfusionsstudie an ileum- bzw. colonfistulierten Hunden zeigte, dass die praecaecale P-Nettoabsorptionsrate unabhängig von der P-Quelle (pflanzliches/tierisches Eiweiß, Mineralstoffe) bei durchschnittlich 30% lag.

Dahingegen variierte die postileale P-Nettoabsorptionsrate zwischen 0 und 88% (bezogen auf den Zufluss), wobei die höchsten Werte hier bei Fütterung von P-Quellen aus praecaecal hochverdaulichen Eiweißen erzielt wurden (SCHÜNEMANN et al., 1989).

Folglich müsste die P-Resorption aus anorganischen P-Quellen, aufgrund der schnelleren Verfügbarkeit des anorganischen P im Darm, höher sein als die aus „organischen“ Quellen. In der Tat wird vermutet, dass beim Menschen anorganischer P aus phosphathaltigen Zusätzen in Lebensmitteln zu > 90% aufgenommen wird, organischer P aus natürlichen Proteinquellen dagegen nur zu 40-60% (KALANTAR-ZADEH et al., 2010). Auch im vorliegenden Versuch an Hunden konnte dieser Unterschied der P-Resorption (bzw. der sV P) zwischen „organischer“ und anorganischer Quellen klar gezeigt werden: Bis auf diCaP zeigten alle Versuchsdurchgänge mit anorganischen P-Quellen (mNaP, NatriP, mCaP, mKP, KpyrP) eine höhere sV P und somit höhere Werte an scheinbar verdauten P als die Versuchsdurchgänge mit Knochen-, bzw. Fleischknochenmehl.

Von den beiden „organischen“ P-Quellen scheint P aus reinem Knochenmehl besser resorbiert worden zu sein als aus Fleischknochenmehl, in dem P sowohl proteingebunden als auch in Form von Hydroxylapatit vorliegen dürfte. Es gibt keinerlei Hinweise in der Literatur, dass der Proteingehalt im Futter einen Einfluss auf die P-Verdaulichkeit haben könnte. Im Gegenteil, eine Metaanalyse erbrachte den Beweis, dass der Proteingehalt im Futter keine Auswirkung auf die Verteilung der Werte der fäkalen P-Exkretion hat (MACK et al., 2015). So dürfte der Proteingehalt in Durchgang GeflM per se nicht die Ursache für die geringe P-Resorption bzw. die geringe sV P gewesen sein, sondern eher die Tatsache, dass hier der P zu 97% aus der „organischen“ P-Quelle GeflM stammte und aufgrund des zuerst nötigen Proteinverdaus im Vergleich zu den anderen verwendeten P-Quellen vermutlich nicht so schnell verfügbar gewesen sein dürfte.

Ein weiterer Unterschied zwischen GeflM und KnM war neben dem Proteingehalt im Futter die fäkale TS-Ausscheidung, die bei GeflM deutlich höher lag. Eine hohe fäkale TS-Ausscheidung senkt die Mineralstoffverdaulichkeit (KIENZLE et al., 2006), wie es in vorliegender Studie bereits an der Verdaulichkeit von Ca gezeigt wurde (s. 2.1.). Abbildung 7 zeigt, dass dieser Zusammenhang für die Verdaulichkeit von P ebenfalls gegeben ist. Somit könnte die höhere fäkale TS-

Exkretion ein Grund dafür sein, warum die "organische" P-Quelle GeflM eine deutlich geringere sV P aufwies als KnM.

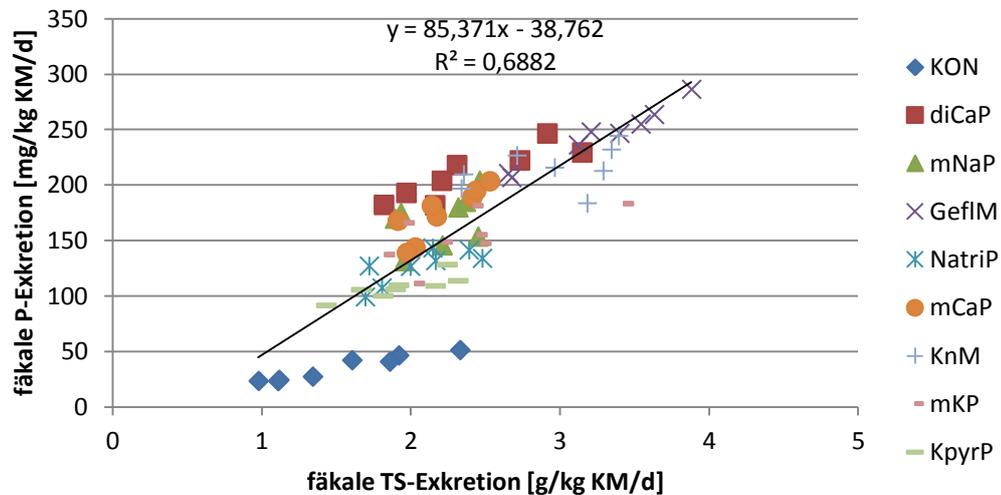


Abb. 7: Korrelation zwischen der fäkalen Exkretion der Trockensubstanz [g/kg KM/d] und der fäkalen Phosphorexkretion [mg/kg KM/d]

Die Unterschiede der sV P zwischen den sechs Versuchsdurchgängen mit den anorganischen P-Quellen (diCaP, mNaP, NatriP, mCaP, mKP, KpyrP) lassen vermuten, dass auch der anorganische P aus den verschiedenen Quellen unterschiedlich gut verfügbar ist. Die verwendeten anorganischen P-Quellen lassen sich weiter in nicht kondensierte, einfache Phosphate [primäre Phosphate (mNaP, mCaP, mKP), sekundäres Phosphat (diCaP)] und kondensierte Polyphosphate [kondensiertes Diphosphat/Pyrophosphat (KpyrP) und lineares Polytriphosphat (NatriP)] differenzieren. Linear kondensierte Polyphosphate müssen, zumindest beim Menschen, im Darm zunächst enzymatisch gespalten (hydrolysiert) werden, bevor sie resorbiert werden können. Dahingegen können nicht kondensierte einfache Phosphate direkt aufgenommen werden (MACHOLZ et al., 2010; MATISSEK et al., 2013; ELMADFA und LEITZMANN, 2015). Somit dürften Letztere schneller und zu Beginn des Dünndarms in resorbierbarer Form vorliegen, wohingegen kondensierte Phosphate langsamer und erst später im Darmtrakt aufgenommen werden können. Das wirkt sich dann vermutlich quantitativ auf die P-Resorption aus (s. oben). In der Tat zeigten die beiden Versuchsdurchgänge mit kondensierten Phosphaten (NatriP und KpyrP) im Vergleich zu denen mit nicht kondensierten Phosphaten (diCaP, mNaP, mCaP, mKP) eine geringere sV P. Auffallend war, dass von den Versuchsdurchgängen

mit nicht kondensierten einfachen Phosphaten diCaP die schlechteste sV P aufwies, was an der niedrigen Löslichkeit des CaHPO₄ liegen könnte: CaHPO₄ besitzt von denen im vorliegenden Versuch verwendeten, die schlechteste Löslichkeit in Wasser. Eine reduzierte Löslichkeit im Chymus hat vermutlich eine reduzierte Resorption im Darm und somit eine geringere Verdaulichkeit von P zur Folge.

Je höher die Ca-Konzentration im Chymus, desto geringer ist die P-Verwertung (HOLLINGER und PATTEE, 1956; JENKINS und PHILLIPS, 1960b; MACK et al., 2015). Somit könnte die höhere Ca-Aufnahme, sprich das höhere Ca/P-Verhältnis in der Ration GeflM, ein Grund für die niedrige sV P sein. Gegen dies als einzigen Grund spricht, dass KnM mit einem ebenfalls weiteren Ca/P von 1,7 :1 eine deutlich höhere sV P im Vergleich zu GeflM zeigte. Zudem zeigten sich auch starke Unterschiede der P-Verdaulichkeit bzw. eine starke Variabilität der Werte der fäkalen P-Exkretion (Abb. 6) zwischen den Versuchsdurchgängen mit anorganischen P-Quellen, bei denen das Ca/P stets gleich (1,3 – 1,4 :1) und die Ca-Konzentration in der Ration vergleichbar war.

Der Zusammenhang, der bereits an Hunden (MACK et al., 2015) und am Menschen (HEANEY, 2000) beschrieben wurde, konnte hier wieder eindrucksvoll nachgewiesen werden: Es besteht eine hochsignifikante Abhängigkeit zwischen der fäkalen Ca- und der fäkalen P-Exkretion (Abb. 8). Dabei stellt beim Hund der Gehalt an Ca, der mit der Fäces ausgeschieden wird, einen größeren Einflussfaktor auf die fäkale P-Exkretion dar, als die P-Aufnahme selbst (s. Abb. 6; $R^2=0,7$).

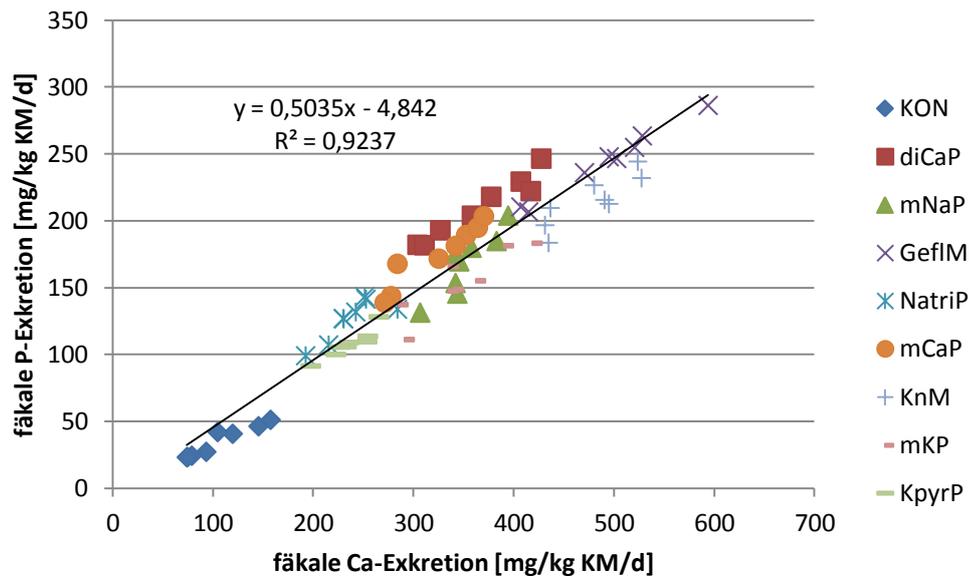


Abb. 8: Fäkale Phosphorexkretion [mg/kg KM/d] in Abhängigkeit von der fäkalen Calciumexkretion [mg/kg KM/d]

Da es sich bei dem aktiven P-Transportmechanismus im Darm um einen Na/P-Cotransport handelt, könnte der Na-Gehalt im Darmlumen einen Einfluss auf die P-Resorption haben. So wiesen zahlreiche *in vitro* Studien an Bürstensaummembranvesikeln eine Abhängigkeit der intestinalen P-Resorptionsrate von der luminalen Na⁺ Konzentration nach (MCHARDY und PARSONS, 1956; TAYLOR, 1974; WALTON und GRAY, 1979; LEE et al., 1986; ETO et al., 2006). Allerdings zeigte Versuchsdurchgang mNaP, in dem eine hohe Na-Konzentration in der Ration (1,4% Na in % TS) vorherrschte, mit 32,5 (27,5/46,0) % eine ähnliche sV P zu KON, in dem kein Na-Exzess vorherrschte. In NatriP, in dessen Ration ebenfalls ein Na-Exzess gegeben war (1,1% Na in % TS), lag die sV P mit 18,7 (14,7/31,4) % sogar signifikant niedriger im Vergleich zu KON. Somit scheint der Na-Gehalt in der Ration keinen Effekt auf die sV P zu haben.

Des Weiteren bestand keine Korrelation zwischen der K-Aufnahme über das Futter und der sV P. Somit ist die relativ hohe sV P in den Versuchsdurchgängen mKP und KpyrP weniger dem K-Exzess, sondern eher der überdurchschnittlich guten Bioverfügbarkeit der in diesen Durchgängen verwendeten P-Quellen (s.o.) zuzuschreiben.

Abbildung 9 verdeutlicht noch einmal, dass nur eine geringe Abhängigkeit zwischen dem scheinbar verdauten P und der Aufnahme der P-Menge ($R^2=0,3$)

besteht. Die starke Streuung der Datenpunkte deutet darauf hin, dass die sV P stärker von der P-Quelle als von der P-Konzentration im Futter abzuhängen scheint, was unterschiedliche Effekte auf die P-Homöostase (wie u.a. Anstieg des P Serumspiegels, s.dort) zur Folge hat. Eine Studie zur in vitro P-Verdaulichkeit zeigte, dass das Messen der P-Löslichkeit im Hundefutter in vitro keine Aussage über die sV P in vivo erlaubt (LINEVA et al., 2017). Jedoch bestand bei der entsprechenden Überprüfung der P-Quellen aus vorliegendem Versuch ein Zusammenhang zwischen der in vitro-Löslichkeit und den postprandial gemessenen Serum P-Werten (s. 4.1.).

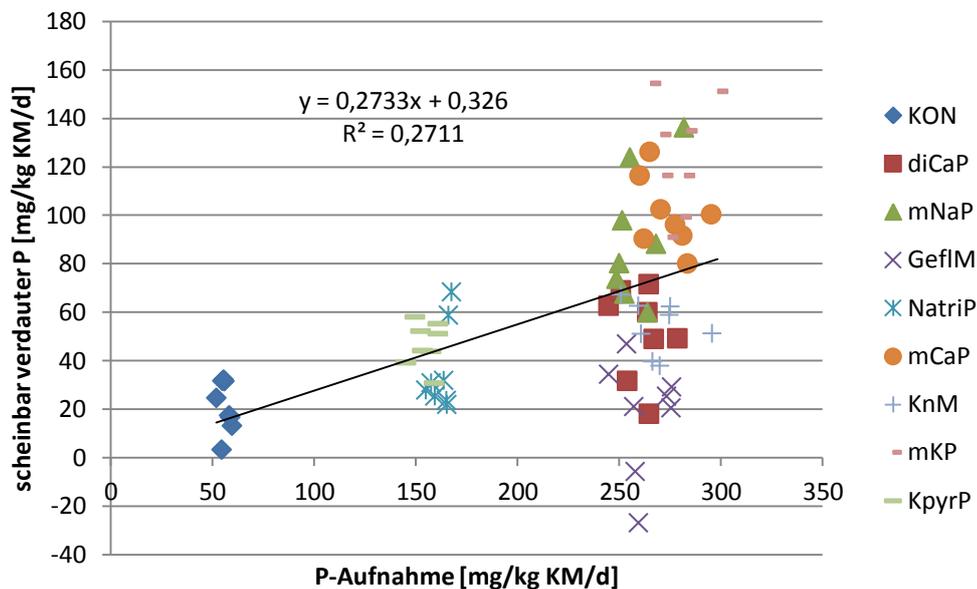


Abb. 9: Scheinbar verdauter Phosphor [mg/kg KM/d] in Abhängigkeit von der Phosphoraufnahme [mg/kg KM/d]

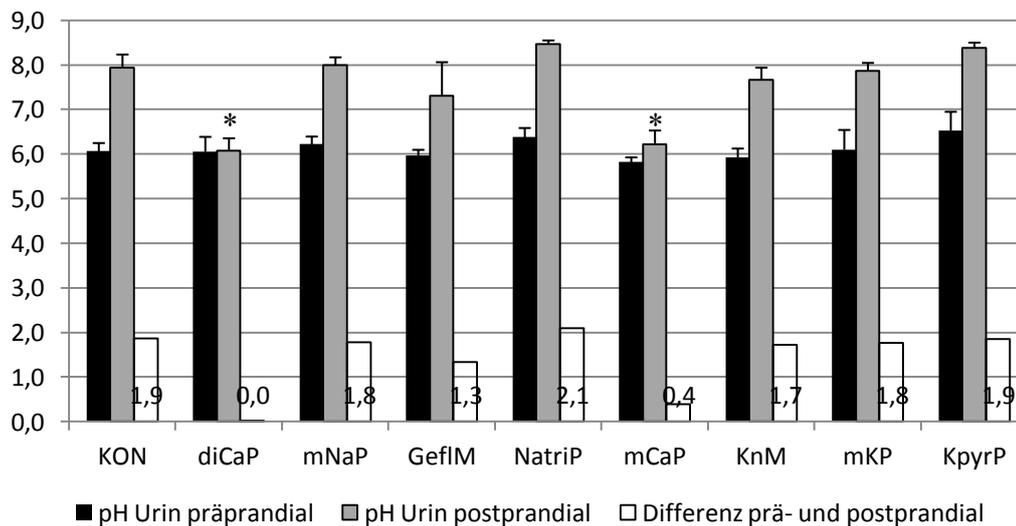
3. Ergebnisse der Urinuntersuchungen

Da aus technischen Gründen die Bestimmung einer Gesamttagesurinmenge nicht möglich war, konnte in der vorliegenden Studie nicht die gesamte renale Exkretion von Ca und P bestimmt werden. Bei allen genannten Urinproben handelt es sich um Einzel- und nicht um Sammelproben. Um dennoch eine gewisse Aussage über den Gehalt an diesen Mineralstoffen im Urin treffen zu können, wurde dieser jeweils mit dem Gehalt an Kreatinin im Urin in Relation gebracht. Dies wird dadurch begründet, dass die Kreatinin-Clearance mit der glomerulären Filtrationsrate gleichgesetzt werden kann aufgrund der Tatsache, dass bei gesunden Hunden Kreatinin in der Niere vollständig glomerulär filtriert

wird, aber nur eine zu vernachlässigende tubuläre Rückresorption des Kreatinins stattfindet (BRAUN et al., 2003). Somit kann unter der Voraussetzung, dass keine Störungen der glomerulären Filtration vorliegen und die Kreatinin-Clearance nicht reduziert ist, die Relation Ca/Kreatinin bzw. P/Kreatinin zur Beurteilung der renalen Exkretion dieser beiden Mineralstoffe herangezogen werden.

3.1. Harn-pH-Wert

Abbildung 10 zeigt die prä- und postprandial gemessenen pH-Werte im Urin, sowie die Differenz beider pH-Werte. Analog zu einer anderen Studie an Hunden (BEHNSEN, 1992) war nach der Fütterung ein Anstieg des pH-Wertes zu beobachten. Eine Ausnahme stellten hier die beiden Versuchsdurchgänge mit den Ca-P-Verbindungen (diCaP und mCaP) dar.



*Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Abb. 10: prä- und postprandiale Harn-pH-Werte im Vergleich sowie deren Differenz

Abbildung 11 zeigt, dass die Abschätzung des Harn-pH-Wertes mittels KAB nach der Formel von Behnsen (1992) für KON eine gute Näherung an die tatsächlich gemessenen Werte (Gesamtmittel aus prä- und postprandial) darstellt (Datenpunkte liegen auf gestrichelten Linie). Dahingegen liegen die gemessenen mittleren Harn-pH-Werte aller Versuchsdurchgänge unterhalb des geschätzten Wertes nach Behnsen (1992), wobei hier die pH-Werte bei Fütterung der Ca-P-Verbindungen und GeflM am stärksten abwichen. Die Harn-pH-Werte der Versuchsdurchgänge mit reduzierter Mineralstoffzulage (NatriP und KpyrP)

kamen denen nach der Formel von Behnsen (1992) abgeschätzten pH-Werte am nächsten. Die Abhängigkeit zwischen den gemessenen Harn-pH-Werten und der KAB im Futter ist in vorliegender Arbeit mit $R^2 = 0,5$ (Abb. 11) auch deutlich geringer als die in der Studie von Behnsen (1992) beschriebene. Allerdings stellen die in Abbildung 11 dargestellten Harn-pH-Werte Mittelwerte aus zwei Urinproben (jeweils einmal prä- und postprandial) dar, wohingegen in der Studie von Behnsen (1992) der mittlere Harn-pH-Wert aus mehreren postprandialen Urinproben über 24h berechnet wurde. Es wäre durchaus möglich, dass die Harn-pH-Werte eine bessere Übereinstimmung mit den nach Behnsen (1992) anhand der KAB im Futter vorhergesagten pH-Werten zeigen würden, wenn sie aus einer Sammelurinprobe über 24h gemessen worden wären. Die beiden Geraden in Abbildung 11 zeigen eine nahezu identische Steigung. Die Abweichungen zwischen vorliegenden Ergebnissen und denen von Behnsen (1992) dürfte vor allem aus der unterschiedlichen Anzahl postprandial genommener Urinproben resultieren. So dürfte der mittlere Harn-pH-Wert niedriger sein, wenn im Verhältnis weniger postprandiale Urinproben genommen wurden.

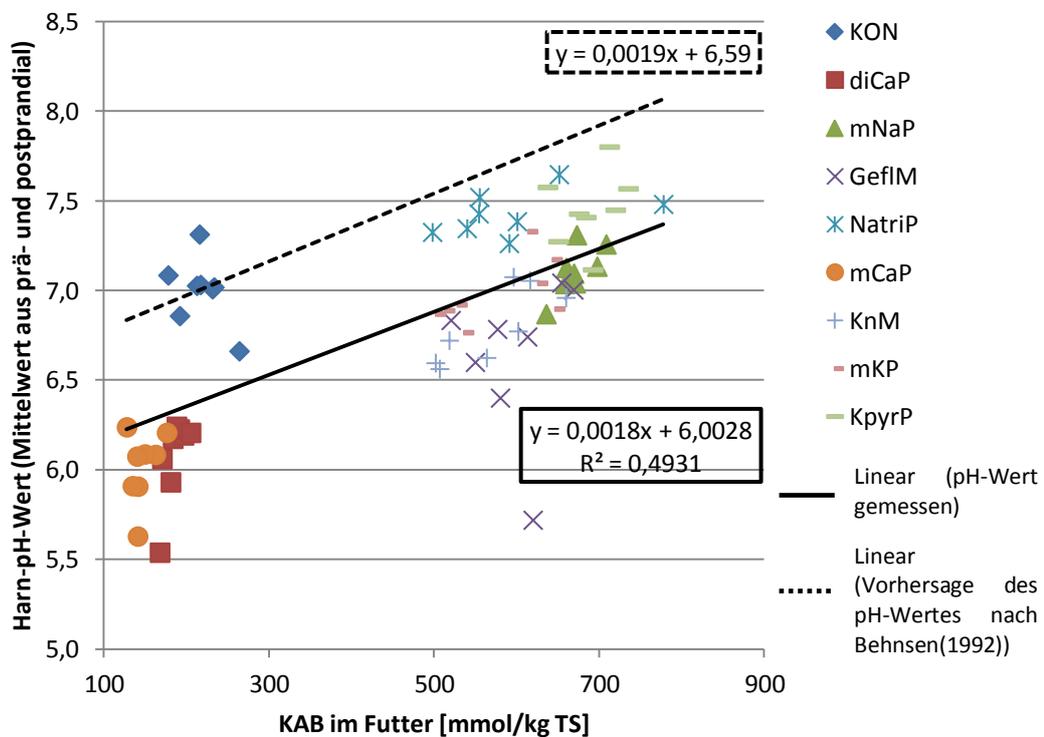


Abb. 11: Harn-pH-Wert (Mittel aus der prä- und postprandialen Urinprobe) in Abhängigkeit von der Kationen-Anionen-Bilanz (KAB) im Futter [mmol/kg TS]

3.2. Calciumkonzentration im Urin

Es sei noch einmal betont, dass lediglich die präprandialen Urinproben auf Ca untersucht wurden d.h. der Urin wurde im postabsorptiven Zustand (> 16h postprandial) produziert. Es wäre durchaus möglich, dass die Ca-Konzentrationen postprandialer Urinproben ein anderes Bild wiedergeben würden.

Wie in einer Studie an Hunden bereits gezeigt (BEHNSEN, 1992), bestand auch in vorliegender Arbeit keine Korrelation zwischen der Ca-Aufnahme und der Ca-Konzentration im Urin ($R^2= 0,1$; Grafik nicht abgebildet). Des Weiteren konnte kein Zusammenhang zwischen dem präprandialen pH-Wert und der präprandialen Ca/Kreatinin Relation im Urin festgestellt werden ($R^2=0,1$; Grafik nicht abgebildet).

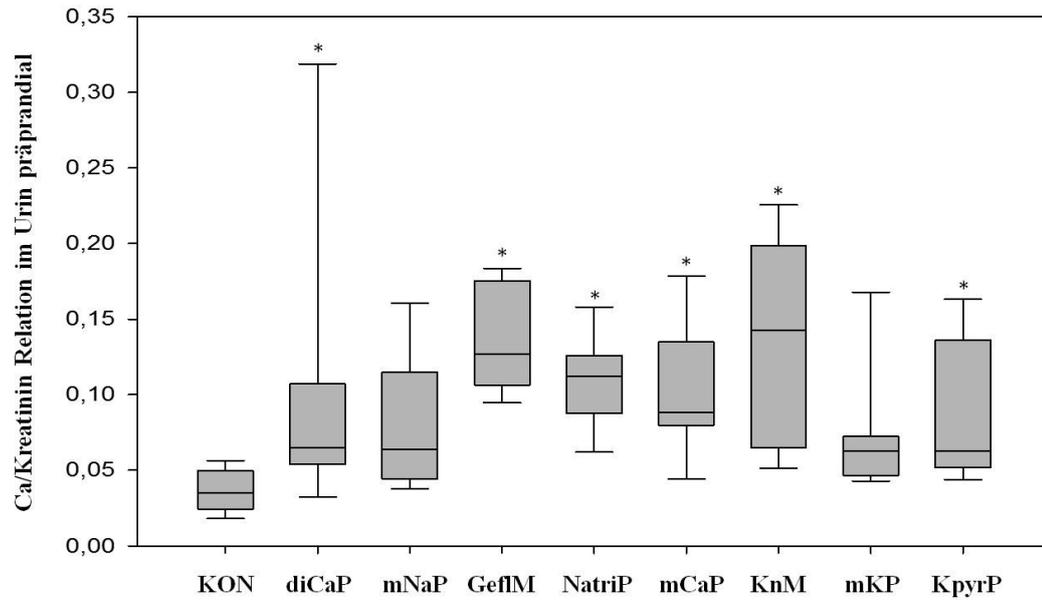
Im Vergleich zu KON war ein signifikanter Anstieg der renalen Ca-Ausscheidung aller Versuchsdurchgänge außer mNaP und mKP gegeben, wie Abbildung 12 zeigt. Dies ist bemerkenswert, da man davon ausgeht, dass der Hund unter üblichen Bedingungen nur geringe Ca-Mengen über die Nieren ausscheidet (10-15 mg Ca/kg KM/d) (GFE, 1989). Auch KnM zeigte im Vergleich zu KON eine signifikant erhöhte renale Ca-Ausscheidung, was nicht im Einklang mit einer Studie an Katzen steht, in der die Auswirkungen von alimentärem Ca (drei Rationen mit einem Ca/P-Verhältnis von 0,8:1; 1,1:1; und 1,3:1; Ca Konzentrationen: 12,2, 18,5 und 27,0 g/kg TS) auf die Urinzusammensetzung und den Urin-pH untersucht wurde (PASSLACK und ZENTEK, 2013). Nach genannter Studie scheint die renale Ca-Ausscheidung bei der Katze unabhängig von der Ca-Aufnahme (Ca-Quelle: Karkassen und Knochenmehl vom Geflügel) zu sein: Eine gesteigerte orale Aufnahme von Knochenmehl und somit eine gesteigerte orale Ca-Aufnahme führte zu keiner Veränderung der renalen Ca-Ausscheidung. Jedoch ergaben in vorliegender Arbeit sowohl der Versuchsdurchgang mit reinem Knochenmehl, als auch der mit Fleischknochenmehl als P-Zulage bei einem Ca/P Verhältnis von 1,7:1 (Ca Konzentrationen: 29,5 (KnM) bzw. 34,1 (GeflM) g/kg TS) einen deutlichen Anstieg der Ca-Konzentration im Urin. Ob die Ursache der erhöhten renalen Ca-Ausscheidung in vorliegendem Versuch der Fütterung eines höheren Ca-Gehaltes bzw. eines höheren Ca/P Verhältnisses geschuldet ist oder dies aber ein Indiz dafür ist, dass die renale Ca-Ausscheidung der Katze einer anderen Regulation unterliegt als die des Hundes kann nicht gesagt werden. Bei einer anderen Studie

an Katzen veränderte sich unter gleichzeitiger Ca- und P-Übersorgung trotz signifikant erhöhter Ca-Zufuhr die renale Ca-Ausscheidung im Vergleich zur Kontrollgruppe ebenfalls nicht (DEMMELE, 2011).

Fernerhin ist zu bedenken, dass die renale Exkretion tageszeitlichen Schwankungen unterliegt (ROELFSEMA et al., 1980; BEHNSEN, 1992). Die Bestimmung der Ca-Konzentration im Urin bei den Studien an Katzen von Passlack und Zentek (2013) bzw. von Demmel (2011) erfolgte aus Sammelurinproben, wohingegen in vorliegender Arbeit die Bestimmung anhand einer einzelnen präprandialen Spontanurinprobe erfolgte, womit der Zeitpunkt der Uringewinnung ebenfalls die Ursache für die Diskrepanz vorliegender Ergebnisse mit denen oben genannter Studien sein könnte.

Des Weiteren ist zu berücksichtigen, dass die Ca-Ausscheidung in vorliegender Arbeit ins Verhältnis zu Kreatinin gesetzt wurde. Eine verminderte Kreatininausscheidung könnte die Ca-Ausscheidung ebenfalls höher erscheinen lassen. So war die Kreatininkonzentration in der präprandialen Urinprobe bei Fütterung von GeflM im Vergleich zu KON signifikant niedriger. Dahingegen waren die absoluten Ca-Konzentrationen in der präprandialen Urinprobe sowohl bei GeflM als auch bei KnM im Vergleich zu KON signifikant höher.

Eine erhöhte renale Ca-Ausscheidung, wie sie in vorliegender Arbeit in manchen Versuchsdurchgängen beobachtet werden konnte, kann sich auf Dauer negativ auf die Nierengesundheit auswirken, indem sie das Risiko der Bildung von calciumhaltigen Harnsteinen (Calciumoxalatsteinen) steigert (STEVENSON et al., 2004).

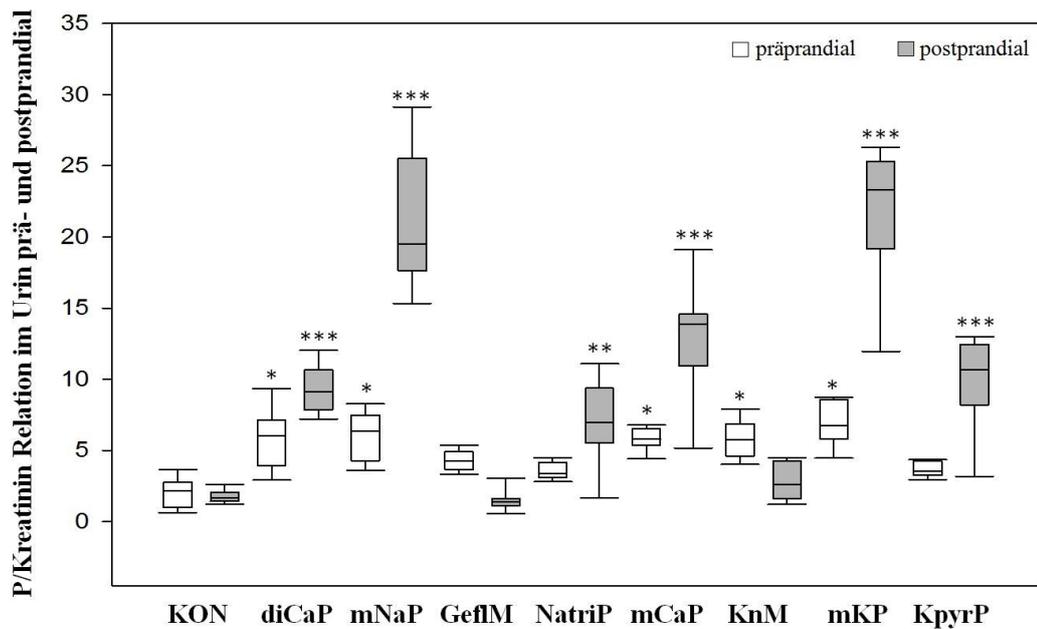


*Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Abb. 12: Vergleich der Calcium/Kreatinin Relationen im Urin zwischen Kontroll- und Versuchsdurchgängen

3.3. Phosphorkonzentration im Urin

Vorliegende Ergebnisse lassen vermuten, dass die renale P-Exkretion zum einen von der Höhe der P-Aufnahme und zum anderen von der P-Quelle selbst abhängig ist. So war die postprandiale renale P-Exkretion bei Fütterung anorganischer Quellen mit einem Dreifachen des P-Bedarfs (NatriP, KpyrP) zwar geringer als bei denen mit dem Fünffachen des Bedarfs (diCaP, mNaP, mCaP, mKP), jedoch war sie höher als in den Versuchsdurchgängen mit „organischen“ P-Quellen in einer Höhe des Fünffachen des Bedarfs (GeflM, KnM) (Abbildung 13).



*Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Abb. 13: Phosphor/Kreatinin Relation im prä- und postprandialen Urin

Abbildung 14 zeigt die Korrelation zwischen der präprandialen P/Kreatinin Relation im Urin und der P-Aufnahme und bestätigt eine Abhängigkeit der präprandialen renale P-Exkretion von der Höhe der P-Versorgung ($R^2=0,5$), die allerdings nicht bei der postprandialen renale P-Exkretion ($R^2=0,2$; Abb. 14) gegeben ist. Die Tatsache, dass Abbildung 15 weitere Streuungen aufweist als Abbildung 14, lässt vermuten, dass die postprandiale P-Konzentration im Urin stärker von der P-Quelle abzuhängen scheint als die präprandiale P-Konzentration im Urin. Dabei scheint der P bei den Versuchsdurchgängen mNaP, mCaP und mKP postprandial eher überdurchschnittlich renal ausgeschieden worden zu sein (Datenpunkte liegen oberhalb der Regressionsgeraden), und bei diCaP, GeflM und KnM eher unterdurchschnittlich. Bei den Versuchsdurchgängen mit nur Dreifachen des P-Bedarfs wurde der P der K-P-Verbindung über- und der der Na-P-Verbindung eher unterdurchschnittlich ausgeschieden.

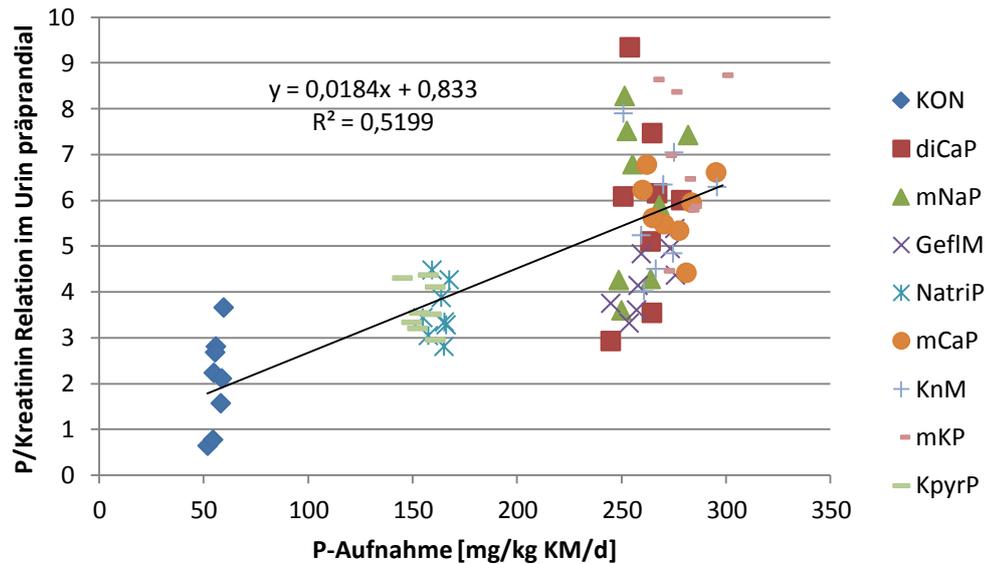


Abb. 14: Beziehung zwischen der Phosphoraufnahme [mg/kg KM/d] und der Phosphor/Kreatinin Relation im präprandialen Urin

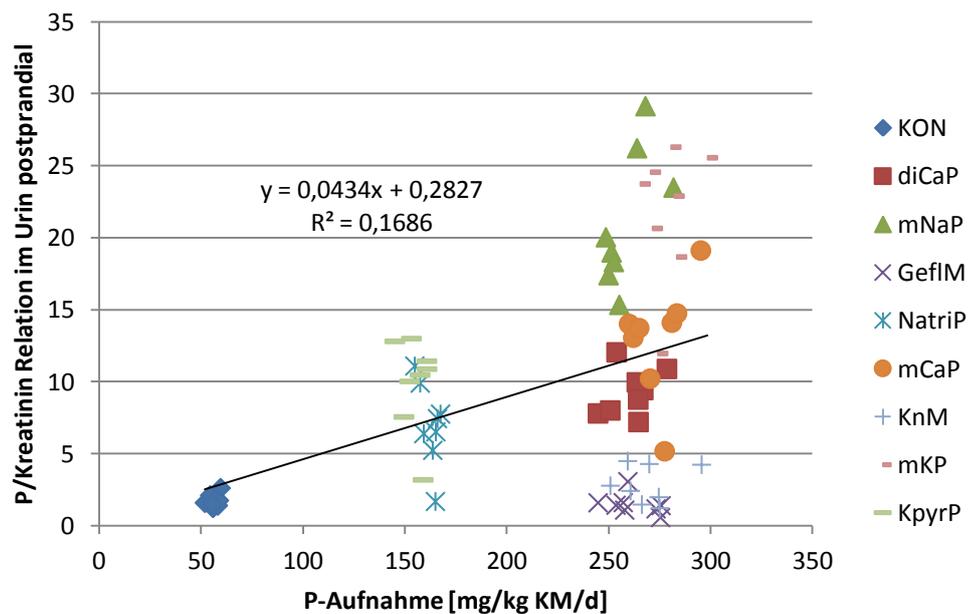


Abb. 15: Beziehung zwischen der Phosphoraufnahme [mg/kg KM/d] und der Phosphor/Kreatinin Relation im postprandialen Urin

Die Abhängigkeit der postprandialen renalen P-Exkretion von der aufgenommenen P-Quelle wird durch Korrelation der P/Kreatinin Relation im Urin mit dem scheinbar verdauten P noch eindrucksvoller deutlich: Demnach scheint ein Zusammenhang zwischen dem P/Kreatinin Verhältnis im Urin und dem scheinbar verdauten P nur postprandial ($R^2=0,6$), jedoch nicht präprandial gegeben ($R^2=0,3$) (Grafiken nicht abgebildet).

Der resorbierte P führt zu einer Anflutung von P im Blut und somit zu einer Erhöhung des Serum-P-Spiegels. Wie bereits bekannt, hat die P Konzentration im Blut einen Einfluss auf die renale P-Exkretion (KEMP et al., 1992). Dieser Zusammenhang zwischen der renaler P-Exkretion und dem Serum-P-Spiegel im Blut wurde in vorliegender Studie ebenfalls eindrucksvoll nachgewiesen ($R^2=0,7$; Abbildung 16). Diese Abhängigkeit ist zwischen dem präprandialen P/Kreatinin Verhältnis und dem präprandialen P-Serumspiegel nicht gegeben ($R^2=0,1$; Grafik nicht abgebildet).

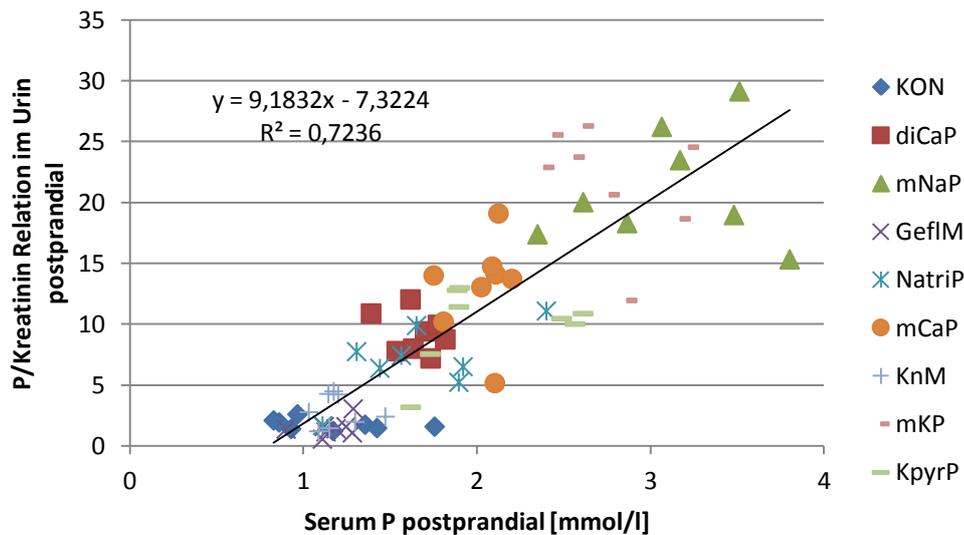
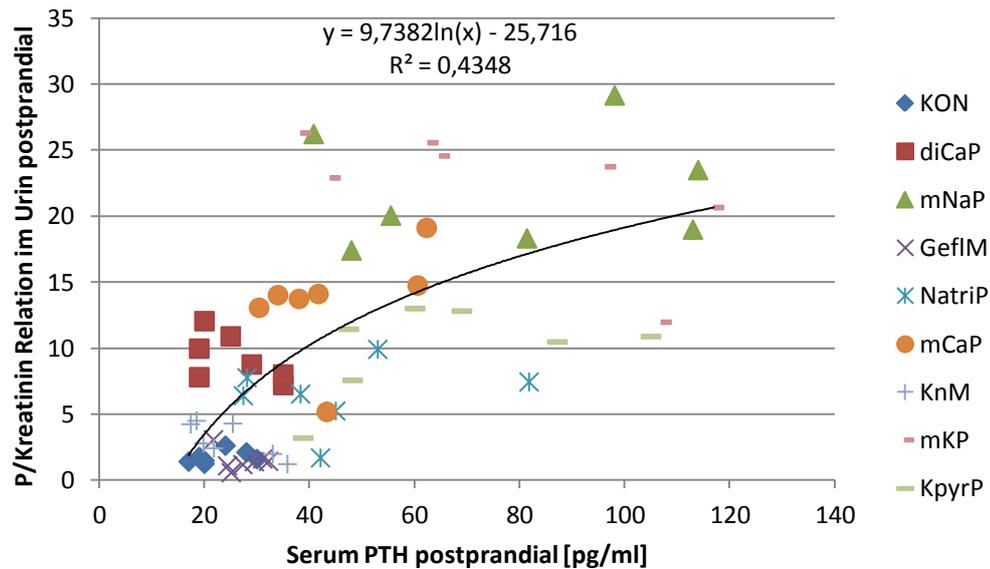


Abb. 16: Beziehung zwischen postprandialem Phosphorspiegel im Serum [mmol/l] und der P/Kreatinin Relation im postprandialen Urin

Der Körper reagiert bei einem Anstieg der P-Serumwerte über dem Normbereich, wie es in einigen Versuchsdurchgängen der Fall war (s. 4.1.), mit einer Gegenregulation, indem er die renale P-Exkretion, u.a. durch PTH vermittelt, steigert. Im vorliegenden Versuch konnte eine Abhängigkeit zwischen der postprandialen renalen P-Exkretion und dem postprandialen Serum-PTH-Spiegel im Blut festgestellt werden, die allerdings nicht sehr eng war ($R^2=0,4$; Abbildung 17). Jedoch kann die nur mäßige Abhängigkeit zwischen dem postprandialen P/Kreatinin Verhältnis und dem postprandialen Serumspiegel von PTH im Blut auch der Tatsache geschuldet sein, dass es sich bei den Urinproben nicht um Gesamttagesurinmengen handelt, sondern nur um einzelne Spontanurinproben, die etwa vier Stunden nach Fütterung gewonnen wurden. Es könnte sein, dass die P Konzentration in Urinproben, die zu einem früheren Zeitpunkt (zum Beispiel 2h postprandial analog zur Blutentnahme) gewonnen worden wären, einen größeren

Zusammenhang zwischen der postprandialen P-Exkretion und des PTH-Serumspiegels beschrieben hätte.

Des Weiteren unterliegt die P-Konzentration im Urin mahlzeitunabhängigen tageszeitlichen Schwankungen (KEMP et al., 1992; BIBER et al., 2009), worüber aufgrund des Vorliegens von nur zweier Spontanurinproben (jeweils prä- und postprandial je Tier) ebenfalls keine Aussage gemacht werden kann.



Tier 3 wurde aus abgebildeter Grafik aufgrund stark abweichender Werte herausgenommen

Abb. 17: Beziehung zwischen postprandialem Parathormonspiegel im Serum [pg/ml] und der P/Kreatinin Relation im postprandialem Urin

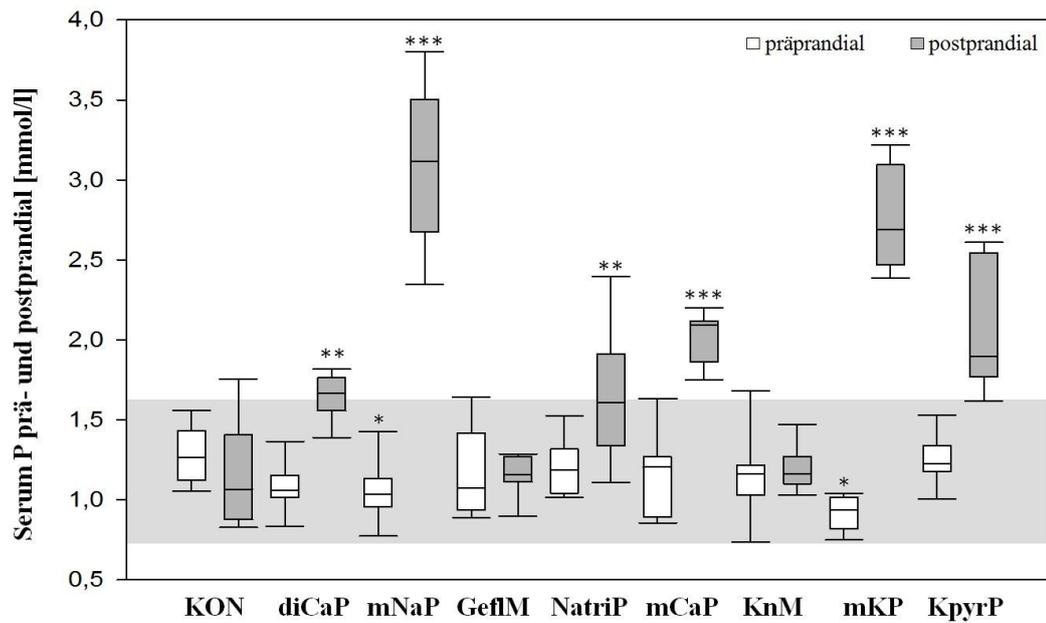
Anhand zweier Spontanurinproben konnte in vorliegender Studie gezeigt werden, dass die renale P-Exkretion prä- und postprandial jeweils einer unterschiedlichen Regulation unterliegt. Letztere wird durch bestimmte Blutparameter (Serum P, PTH), die an der P-Homöostase beteiligt sind, gesteuert. Auffallend war, dass bei Fütterung „organischer“ Quellen im Exzess solche Anpassung der renalen P-Exkretion durch die Blutparameter des P Stoffwechsels nicht nötig war, womit eine geringere Belastung für den Körper bei Fütterung „organische“ P Quellen suggeriert werden könnte. Des Weiteren sei angemerkt, dass die Höhe der renalen P-Exkretion wohl nicht an der sV P festgemacht werden kann. So war bei allen Versuchsdurchgängen, außer mKP, die sV P ähnlich (mNaP, mCaP, KpyrP) bzw. sogar signifikant niedriger (diCaP, GeflM, NatriP, KnM) im Vergleich zu KON.

4. Ergebnisse der Blutuntersuchungen

4.1. Phosphorkonzentration im Serum

Die präprandialen P-Serumkonzentrationen wichen nur gering voneinander ab und lagen allesamt im Referenzbereich. Somit scheinen die Höhe der P-Aufnahme und die P-Quelle, zumindest im getesteten Rahmen, keinen Einfluss auf die Nüchternblutwerte zu haben und folglich ist eine Aussage über die Relation zwischen Höhe der P-Aufnahme und -Quelle und der präprandialen P-Serumkonzentration hier nicht möglich. Dahingegen spiegelten die postprandialen P-Serumkonzentrationen ein ganz anderes Bild wider:

Die Zulage der verschiedenen anorganischen P-Quellen über den Bedarf der Tiere hinaus, führte zu einem signifikanten Anstieg der P-Serumwerte 2h postprandial im Vergleich zu KON. Zum Teil war hierbei sogar ein Anstieg über den Referenzbereich für den Serum-P-Wert beim Hund (0,7 – 1,6mmol/l) feststellbar. Die P-Konzentration im Blut lag nach Verfütterung von NaH_2PO_4 mit 3,1 (2,6/3,6) mmol/l am höchsten (alle Tiere waren hier außerhalb des Referenzbereichs). Es sind zahlreiche Studien an Ratten und Menschen publiziert, in denen nach alimentärem P-Exzess aus Na- bzw. K-P-Verbindungen ebenfalls ein deutlicher Anstieg des Serum P-Spiegels beobachtet werden konnte (MARTIN et al., 2005; NISHIDA et al., 2006; ISAKOVA et al., 2008; GIRAL et al., 2009). Die postprandialen Serum-P-Spiegel der Versuchsdurchgänge mit einem P-Exzess aus „organischen“ Quellen (GeflM und KnM) zeigten hingegen keinen Unterschied zu KON. Abbildung 18 stellt die prä- und postprandialen P-Serumkonzentrationen im Vergleich dar und veranschaulicht die Abhängigkeit des Grads des Anstiegs des postprandialen Serum-P-Spiegels von der P-Quelle.



*Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Abb. 18: Prä- und postprandiale Phosphorspiegel im Serum [mmol/l] der Hunde in Kontroll- und Versuchsdurchgängen mit P-Exzess

Die erkennbaren Unterschiede hinsichtlich der Reaktion des P-Serumspiegels auf einen alimentären P-Exzess in Abhängigkeit der P-Quellen im vorliegenden Versuch kann mit einer unterschiedlichen Bioverfügbarkeit der P-Quellen, d.h. einer unterschiedlichen intestinalen P-Resorption, erklärt werden. Wie bereits in Kapitel 2.2. dargestellt, war P aus den verschiedenen verwendeten P-Quellen unterschiedlich gut verfügbar. Je besser verfügbar die P-Quelle ist, desto zügiger kann P resorbiert werden und in die Blutbahn übertreten, was einen Anstieg des P-Serumspiegels zur Folge hat (RAZZAQUE, 2011; RITZ et al., 2012). Der Zusammenhang zwischen guter Bioverfügbarkeit der P-Quelle und Anstieg des postprandialen P-Serumspiegels konnte auch in vorliegender Studie gezeigt werden: So führten mNaP, mCaP und mKP, bei denen ein höchst signifikant höherer Wert des scheinbar verdauten P im Vergleich zu KON bestand, zu einem höchst signifikanten Anstieg des postprandialen Serum-P-Spiegels. Allerdings basierten nicht alle Versuchsdurchgänge, die einen signifikanten Anstieg des Serum-P-Spiegels zur Folge hatten auf einem signifikanten Anstieg des scheinbar verdauten P und umgekehrt. So zeigten NatriP und KpyrP zwar einen hoch signifikanten bzw. höchst signifikanten Anstieg des Serum-P-Spiegels, allerdings keinen bzw. nur einen einfach signifikanten Anstieg des scheinbar verdauten P.

Dahingegen führte ein hoch signifikanter Anstieg des scheinbar verdauten P bei KnM zu keiner Beeinflussung des postprandialen Serum-P-Spiegels. Abbildung 19, die den Zusammenhang zwischen scheinbar verdautem P und dem Anstieg des postprandialen P-Serumspiegels grafisch darstellt, zeigt, dass diese Abhängigkeit nur moderat ist ($R^2 = 0,47$).

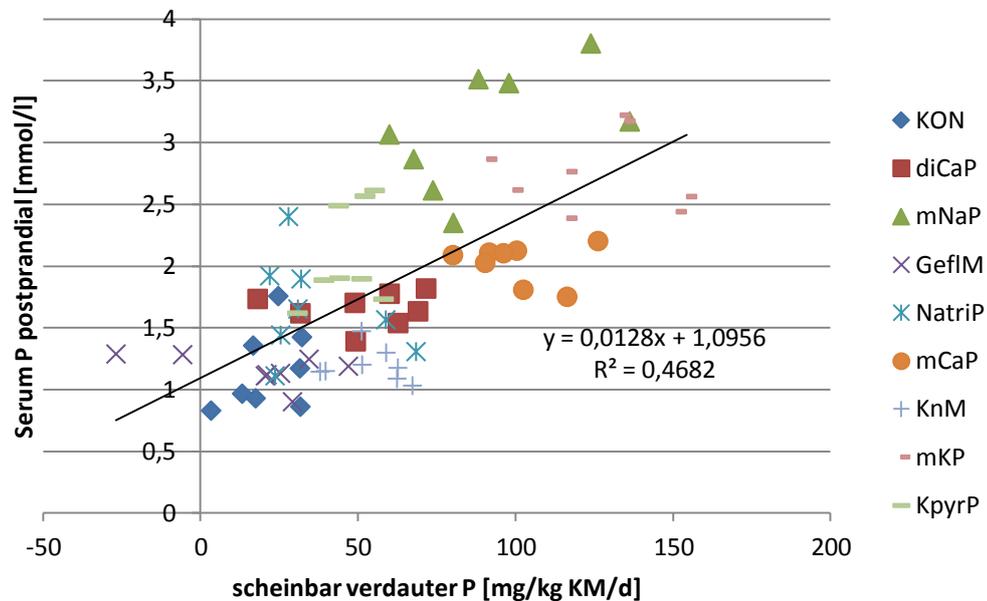


Abb. 19: Korrelation des scheinbar verdauten Phosphors zum postprandialen Phosphorspiegel im Serum

Daraus lässt sich folgern, dass neben der Bioverfügbarkeit der P-Quelle noch weitere Einflussfaktoren auf den postprandialen Serum-P-Spiegel bestehen müssen, oder aber dass der Versuchsaufbau vorliegender Studie nicht gut geeignet war den Zusammenhang zwischen sV P und postprandialen Serum-P-Spiegel adäquat zu beschreiben. So wurde im vorliegenden Versuch nur ein postprandialer Blutentnahmezeitpunkt gewählt, womit weder die Dynamik der Blutparameter ausreichend beschrieben werden dürfte, noch Aussagen über den zeitlichen Verlauf der P-Serumkonzentration getroffen werden können. Aber insbesondere der zeitliche Verlauf dürfte einen Einfluss auf den Serum-P-Spiegel gehabt haben: So führen gut wasser- bzw. säurelösliche P-Quellen zu einer sehr zügigen Resorption nach Ingestion, wohingegen schwerer lösliche P-Quellen erst zu einer späteren Aufnahme aus dem Darm (s. Kapitel 2.2.) und daher zu einem späteren Zeitpunkt zu einer Anflutung von P im Blut führen dürfte. Auch bei der renalen P Exkretion kann Zeit als ein Effektor betrachtet werden. Es könnte zum Beispiel bereits zu einem früheren Zeitpunkt (vor 2h postprandial) zu einem Peak des P-

Serum-Spiegels gekommen sein, zu welchem die Tiere bereits mit einer erhöhten renalen P-Exkretion reagiert haben, was eine bereits wieder abgesenkte P-Konzentration im Blut zum Zeitpunkt der postprandialen Blutentnahme zur Folge gehabt haben könnte.

Es kann nicht gesagt werden, ob mit der einmaligen Blutentnahme 2h nach Fütterung die postabsorptive P-Höchstkonzentration im Serum erfasst wurde oder ob zu einem späteren Zeitpunkt eventuell höhere P-Serumspiegel hätten festgestellt werden können.

Es wäre möglich, dass der Serum-P-Spiegel zu einem späteren Zeitpunkt einen stärkeren Zusammenhang mit dem scheinbar verdauten P zeigt. Um dies zu bestätigen, wäre eine Wiederholung vorliegenden Versuches mit mehreren postprandialen Blutentnahmezeitpunkten und der Bestimmung der Bioverfügbarkeit der P-Quellen mittels Berechnung der „area under the curve“ nötig. Trotz Allem gibt bereits die einmalige postprandiale Blutentnahme einen Hinweis darauf, dass der Körper des Hundes bei einem P-Exzess aus anorganischen P-Quellen mit einem Anstieg der Serum P-Konzentration reagiert, nicht jedoch, zumindest nicht 2h postprandial, bei Fütterung eines P-Exzesses aus „organischen“ Quellen. Dabei scheint der Grad des Anstieges der Serum-P-Konzentration nach Zulage anorganischer Quellen je nach verwendeter P-Quelle zu variieren.

Bei der Hälfte der Versuchsdurchgänge (mNaP, mCaP, mKP, KpyrP) waren die postprandialen Serum-P-Werte im Mittel im Vergleich zu KON signifikant erhöht, wobei hier alle Einzelwerte der Tiere über dem Referenzbereich (0,7 – 1,6 mmol/l) lagen. In NatriP lag die postprandiale Serum-P-Konzentration im Mittel um 4% und in mNaP im Mittel sogar um 94% über dem oberen Grenzwert des Referenzbereiches für die P-Serumkonzentration bei Hunden.

Hohe Serum-P-Spiegel und somit hohe extrazelluläre P-Konzentrationen können auf Dauer ein bedeutendes Gesundheitsrisiko für den Körper darstellen: Hohe extrazelluläre P-Konzentrationen können unlösliche Nanokristalle mit Ca formen sobald die Ca- und P-Konzentrationen die Löslichkeitsgrenze überschritten haben. Dies kann nicht nur zu einer Präzipitation der Ca/P-Kristalle im Knochen, sondern auch zu Weichteilverkalkungen u.a. in den Nieren und Gefäßen (CALVO und URIBARRI, 2013) bis hin zur Entstehung von Tumoren und beschleunigten

Alterungsprozessen des Gewebes führen (RAZZAQUE, 2011). Dies zeigt die Wichtigkeit eines gut funktionierenden Feedbacksystems, das den Serum-P-Spiegel eng reguliert. Ein Anstieg des Serum-P-Spiegels führt in der Regel zu einem Abfall des Ca-Spiegels im Blut aufgrund der Bildung von Ca/P-Komplexen (RAZZAQUE, 2011). Der Körper reagiert bei einem Abfall des Ca-Spiegels mit einer gesteigerten Sekretion der Hormone PTH und FGF23, die beide eine phosphaturische Wirkung haben, um der P-Anflutung im Körper bzw. dem Abfall des Ca-Serumspiegels entgegen wirken zu können (RAZZAQUE, 2011).

Eine gesteigerte P –Aufnahme bzw. ein Anstieg des Serum-P-Spiegels führt somit stets zur Notwendigkeit einer Regulation des Ca/P Haushaltes. Die Höhe der P-Konzentration im Futter hat einen Einfluss auf den PTH-Spiegel, der nötig ist, um den Blut Ca-Spiegel im Referenzbereich zu halten. So zeigte eine Studie an gesunden Ratten, dass die Tiere bei Fütterung einer Ration mit niedrigem P-Gehalt im Vergleich zu Tieren mit einem alimentären P-Exzess eine niedrigere PTH-Konzentration benötigen, um den Ca-Spiegel im Blut im physiologischen Bereich halten zu können (FELSENFELD und RODRIGUEZ, 1999). Des Weiteren ist ein hoher PTH-Spiegel bei Hyperphosphatämie für erhöhte FGF23 Spiegel im frühen Stadium der CKD verantwortlich (LAVI-MOSHAYOFF et al., 2010). Bei Patienten mit CKD, einem Krankheitsbild das bei Ratten (MACKAY und OLIVER, 1935), Hunden (SCHNEIDER et al., 1980a; SCHNEIDER et al., 1980b) und Menschen (MARKOWITZ et al., 2005; ORI et al., 2008; RITZ et al., 2012) auch durch eine erhöhte P-Aufnahme an gesunden Patienten ausgelöst werden kann, ist eine Hemmung der PTH-Spiegel in der Nebenschilddrüse durch FGF23 nicht mehr gegeben (CANALEJO et al., 2010).

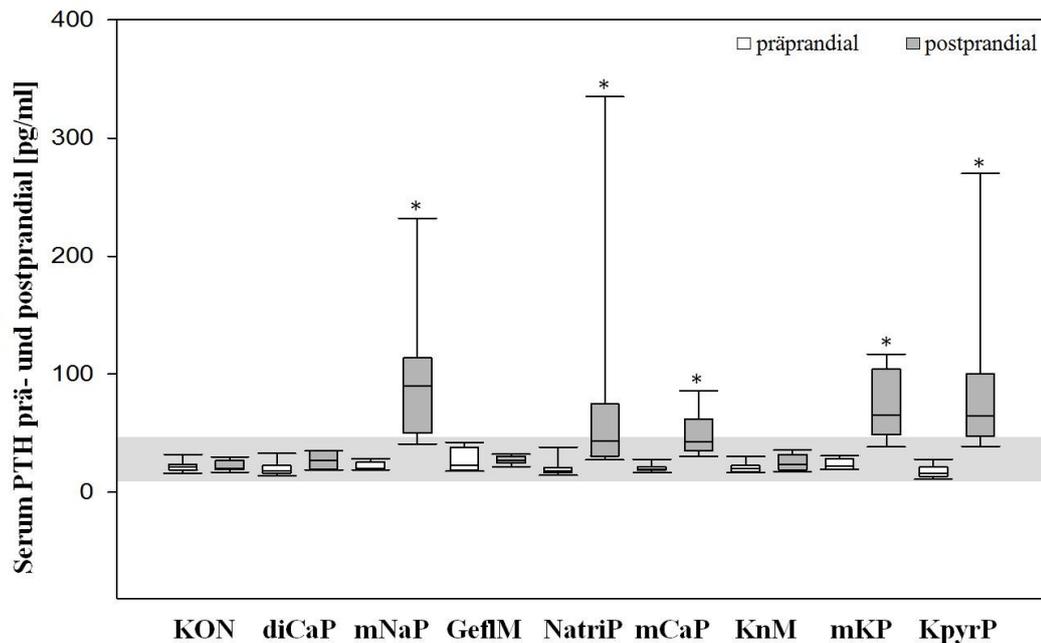
Dies zeigt, dass der Regulation des Serum-P-Spiegels durch die beiden phosphaturisch wirkenden Hormone irgendwann Grenzen gesetzt sind und es bei länger andauerndem Zustand einer P-Anflutung im Körper wohl zu einer verringerten Sensitivität des Körpers gegenüber den beiden genannten Hormone kommen kann. Dieses Phänomen bei länger andauerndem erhöhtem Serum-P-Spiegel ist funktionell vielleicht sogar mit dem bei dauerhaft erhöhtem Blutglukosespiegel vergleichbar, aus dem sich eine Insulinsresistenz entwickeln kann. Bei mNaP, mCaP, mKP und KpyrP waren die Hunde nicht in der Lage, den Serum-P-Spiegel 2h nach Fütterung trotz erhöhter PTH-Spiegel in den Normbereich zu regulieren. Allerdings spricht die Tatsache, dass im vorliegenden

Versuch alle präprandialen P-Serumspiegel stets im Referenzbereich lagen, dafür, dass die Tiere innerhalb von 24 Stunden (= Zeitspanne zwischen der Blutentnahme nüchtern und der letzten Fütterung am Vortag) bei einer Versuchsdauer von 18d in der Lage waren, ihren P-Serumspiegel in den Normbereich zu regulieren. Ob diese anpassende Regulation des Serum-P-Spiegels auch bei längerer Versuchsdauer noch gegeben wäre, kann mithilfe der Ergebnisse dieses Versuches nicht gesagt werden. Jedoch kann unabhängig von der Reaktion der präprandialen Serumwerte auf den P-Exzess bereits eine kurze Exposition erhöhter Serum-P-Werte für den Körper ein mögliches Gesundheitsrisiko darstellen, wie neuere Studien an gesunden Menschen zeigen: Eine kurzzeitige Exposition hoher P-Spiegel im Blut aufgrund der Aufnahme eines alimentären P-Exzesses war bereits ausreichend, um eine endotheliale Dysfunktion (Abfall der endothelabhängigen Vasodilatation) zu verursachen, was auf Dauer zu einem bedeutenden Risiko von kardiovaskulären Erkrankungen führt (SHUTO et al., 2009). Diese Studie zeigt, dass ein kurzer deutlicher Anstieg des postprandialen Serum-P-Spiegels trotz vorheriger normaler präprandialer Serumwerte nach oraler Aufnahme eines P-Exzesses nicht zu unterschätzen ist. Somit kann wohl allein die Erhöhung der postprandialen Serum-P-Spiegel zum Teil weit über den Referenzbereich auch für Hunde als Belastung der hormonellen Regulation der P-Homöostase vermutet werden. Um die Belastung eines P-Exzesses auf den Körper aufgrund der Veränderung bestimmter Blutparameter besser einschätzen zu können, sind weitergehende Untersuchungen an Hunden mit Fütterung eines P-Exzesses nötig, wobei sowohl nüchterne Blutentnahmen als auch solche zu verschiedenen postprandialen Zeitpunkten hierbei als sinnvoll zu erachten sind. Des Weiteren wäre auch eine Variation in der Dauer der Fütterung eines P-Exzesses angebracht, um eine Aussage über den etwaigen Einfluss der oralen Gabe eines P-Exzesses auf bestimmte Blutparameter nach längerer Fütterung treffen zu können.

4.2. Parathormonkonzentration im Serum

Die präprandialen PTH-Serumkonzentrationen zeigten in keinem der Versuchsdurchgänge einen signifikanten Unterschied zu KON. Dahingegen stieg der postprandiale PTH-Serumspiegel in allen Durchgängen an (Tendenz: diCaP, GeflM, KnM; signifikant zu KON: mNaP, NatriP, mCaP, mKP, KpyrP). Die Serumspiegel mit der größten Differenz zu KON war in den Durchgängen mit den

Na- und K-P-Verbindungen gegeben; hier lagen die PTH-Werte im Serum weit über dem Referenzbereich von 8 – 45 pg/ml. Studien an Ratten und Menschen zeigten ebenfalls einen deutlichen Anstieg der PTH-Konzentration im Serum nach Gabe von Na-P-Verbindungen (REISS et al., 1970; CALVO und HEATH, 1988; MARTIN et al., 2005; NISHIDA et al., 2006). Abbildung 20 zeigt die prä- und postprandialen PTH-Serumkonzentrationen im Vergleich.



*Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$

Abb. 20: Prä- und postprandiale PTH Serumkonzentrationen [pg/ml] bei Hunden der Kontroll- und der Versuchsgruppen

Wie erwartet wurde ein Zusammenhang zwischen postprandialem PTH-Spiegel und postprandialem Serum-P-Spiegel nachgewiesen. Alle Versuchsdurchgänge, die postprandial einen hoch bzw. höchst signifikant erhöhten Serum-P-Spiegel im Vergleich zu KON aufwiesen, außer diCaP, zeigten auch bei den postprandialem PTH-Spiegeln einen signifikanten Anstieg. Allerdings waren bei mNaP, NatriP, mCaP, mKP und KpyrP trotz erhöhter PTH-Spiegel die postprandialem Serum-P-Spiegel oberhalb des Referenzbereiches. Dies deutet darauf hin, dass die Tiere 2h nach Gabe des P-Exzesses (= Zeitpunkt der postprandialem Blutentnahme) noch nicht in der Lage waren, ihren Serum-P-Spiegel durch eine gesteigerte PTH-Ausschüttung zu regulieren. Die Ursache für das Ausbleiben eines Anstiegs des PTH-Spiegels in diCaP trotz hoch signifikanter Erhöhung des Serum-P-Spiegels könnte in der Höhe der postprandialem Serum-P-Konzentration liegen. Die

Einzelwerte der postprandialen Serum-P-Konzentrationen der Hälfte der Tiere lagen in diesem Versuchsdurchgang unterhalb des maximalen Referenzwerts von 1,6 mmol/l. Es scheint folglich so, dass eine biologische Relevanz für einen postprandialen PTH-Anstieg im Serum nicht gegeben war und geringere PTH-Konzentrationen ausreichend waren. Denkbar wäre auch die Existenz eines Schwellenwerts für die P-Serumkonzentration, nach dessen Überschreiten es erst zu einem Anstieg der PTH-Konzentration im Blut kommt. In GeflM und KnM, in denen es zu keinem Anstieg der postprandialen Serum-P-Spiegel kam, blieb auch eine Veränderung des postprandialen PTH-Spiegels aus.

Um das Ausmaß der Abhängigkeit des PTH-Spiegels vom Serum P-Spiegel näher zu beleuchten, wurde die Korrelation zwischen diesen beiden Größen überprüft (Abbildung 21). Eine Abhängigkeit war nachweisbar ($R^2 = 0,6$), scheint aber im vorliegenden Versuch nur moderat. Besonders drei Datenpunkte (1 Hund in den Versuchsdurchgängen mNaP, NatriP, KpyrP) weichen ab. Hier lagen hohe PTH-Konzentrationen im Serum vor, obwohl die P-Werte nur moderat gestiegen waren. Da es nur einen Blutentnahmezeitpunkt gab, ist die Beurteilung hier eingeschränkt. Eine mögliche unterschiedliche Dynamik bei der Regulation der P-Anflutung sowie individuelle Unterschiede hinsichtlich der Regulation (siehe Ausreißer von Tier 3 in Abb. 21) konnte somit nicht erfasst werden. Wünschenswert wäre eine mehrmalige Blutentnahme über mehrere Stunden mit Bestimmung der P- und PTH-Werte. Nachdem ein Zusammenhang in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden konnte, sind weiterführende Untersuchungen sinnvoll, um detailliertere Aussagen treffen zu können.

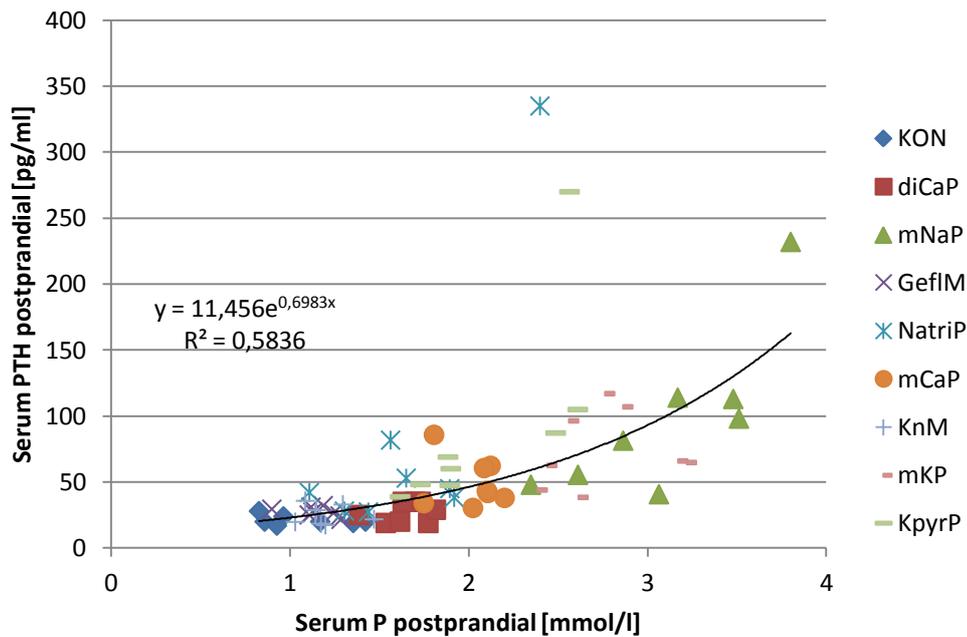


Abb. 21: Korrelation des Parathormon [pg/ml]- und des Phosphorspiegels [mmol/l] im Serum 2h postprandial bei Hunden nach bedarfsdeckender und P-Exzessfütterung

Die moderate Abhängigkeit des PTH-Serumspiegels vom P-Serumspiegel 2h postprandial weist auf weitere Einflussfaktoren auf den PTH – Spiegel hin. Martin et al. (2005) beschäftigten sich ebenfalls mit der Fragestellung nach dem Grund eines deutlichen PTH-Anstieges nach oraler Gabe eines P-Exzesses. Ihre Studie an Ratten zeigte nicht nur die schnelle Antwort der Parathyreoidea auf Fütterung eines P-Exzesses (Anstieg von PTH innerhalb weniger Minuten) sondern auch, dass der P-Serumspiegel nicht die alleinige Ursache für den PTH-Anstieg sein kann: Die Gabe von Phosphonoameisensäure, ein P-Analogon und Inhibitor der Na/P-Cotransporter, führte ebenfalls zu einem Anstieg der PTH-Konzentration. Dies ist bemerkenswert, da man davon ausgehen kann, dass dieses P-Analogon so gut wie nicht vom Darm resorbiert wurde. Der nachgewiesene Anstieg der PTH-Konzentration war zudem nicht vergesellschaftet mit Veränderungen des P- oder Ca-Serumspiegels (MARTIN et al., 2005). Als weitere Ursache für den PTH-Anstieg machen die Autoren noch nicht verifizierte „P-Sensing Faktoren“ im Darm verantwortlich. Nishida et al. (2006) konnten nach oraler Gabe eines P-Exzesses an Menschen eine zeitlich abhängige zweiphasige Kurve der PTH-Konzentration feststellen: Ein erster Peak wurde 1h nach Aufnahme eines P-Exzesses beobachtet, ein zweiter nach 6h. Die Autoren vermuten als Ursache des

ersten Peaks, die in der Studie von Martin et al. (2005) genannten unbekanntem „P-Sensing Faktoren“ im Darm, und als Ursache des zweiten Peaks wahrscheinlich den Anstieg des P-Serumspiegels.

Da im vorliegenden Versuch nur einmal postprandial (2h nach Fütterung) eine Blutentnahme erfolgte, kann über einen möglichen späteren Anstieg der PTH-Konzentration keine Aussage gemacht werden.

4.3. Calcitriolkonzentration im Serum

Nachdem bei einer Auswahl an Proben aus drei Versuchsdurchgängen (mNaP, KnM und mKP) keine systematischen Unterschiede beim $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegel festgestellt wurden, wurde aus Kostengründen auf die Analyse sämtlicher Proben verzichtet. In vorliegender Studie zeigten weder die präprandialen noch die postprandialen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Serumkonzentrationen der untersuchten Versuchsdurchgänge einen signifikanten Unterschied zu KON. Alle $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Serumproben der untersuchten Versuchsdurchgänge lagen durchweg innerhalb des Referenzbereichs. Dies könnte bedeuten, dass die Fütterung eines P-Exzesses in vorliegender Arbeit und die daraus resultierenden Anstiege des Serum-P- und PTH-Spiegels entweder keinen Einfluss auf den $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Serumspiegel gehabt haben oder aber, dass bedingt durch den Versuchsaufbau (Dauer der oralen P-Exzess-Gabe, Blutentnahmezeitpunkt) ein etwaiger Einfluss auf den $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Serumspiegel nicht erfasst werden konnte.

Erstere Begründung scheint zunächst nicht im Einklang mit zahlreichen Studien zu stehen, die zeigen, dass ein erhöhter PTH-Spiegel über Stimulation der renalen $1\text{-}\alpha$ -Hydroxylase zu einem Anstieg des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegels führt (GARABEDIAN et al., 1972; FRASER und KODICEK, 1973; HENRY, 1979; TANAKA und DELUCA, 1984). Zudem wurde auch gezeigt, dass eine alimentäre P-Anflutung den $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Serumspiegel durch Veränderung seiner renalen Produktionsrate senken kann (PORTALE et al., 1986; PORTALE et al., 1989). Allerdings war allen genannten in vivo Studien, in denen es zu einer Veränderung des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegels kam, gemeinsam, dass die Probanden bzw. Versuchstiere entweder erniedrigte Ca-Serumspiegel hatten oder die verabreichte Diät ein inverses Ca/P Verhältnis bzw. einen Vitamin D Mangel beinhaltete. Studien, deren Versuchsanordnung vergleichbar mit vorliegender Arbeit (Gabe eines P- und Ca-Exzesses; ausgeglichenes Ca/P; keine Mangel-Diät)

war und die dabei den Status des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Serum überprüften, sind nicht bekannt. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ist vorrangig ein calcämisches Hormon, das die Ca-Resorption aus dem Darm, die Ca-Freisetzung aus den Knochen sowie die Ca-Reabsorption in den Nieren bewirkt (HAUSSLER et al., 2012). Somit könnte ein Ca-Exzess im Futter sowie physiologische Serum Ca-Spiegel der Tiere in vorliegender Arbeit Gründe für das Ausbleiben einer Veränderung des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegels sein.

Allerdings ist bekannt, dass die Anpassung der Enzyme, die den $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegel regulieren (1α -Hydroxylase versus $24,25$ -Hydroxylase), wesentlich langsamer erfolgt, als die Veränderungen des Serum Ca und P-Spiegels, wie die in vivo Studie von Tanaka und DeLuca (1984) zeigte: Die Nebenschilddrüsenektomie an Vitamin D-defizienten Ratten hatte eine Reduktion der 1α -Hydroxylase-Aktivität zur Folge. Die Enzymaktivität konnte aber in diesen Tieren durch eine Gabe von PTH wiederhergestellt werden. Sowohl die Unterdrückung als auch die Steigerung der 1α -Hydroxylase-Aktivität, benötigten mehrere Stunden (18-24h) unabhängig von schnellen Veränderungen des Serum-Ca- und -P-Spiegels, die aus der Manipulation des PTH-Status der Tiere resultierten (TANAKA und DELUCA, 1984). In vorliegender Arbeit wurde nur ein Blutentnahmezeitpunkt zwei Stunden nach Fütterung gewählt. Ob zu einem späteren Zeitpunkt nach Fütterung (mehrere Stunden) eine Veränderung der Aktivität der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -regulierenden Enzyme stattgefunden hat, kann nicht gesagt werden. Folglich kann nicht ausgeschlossen werden, dass es in vorliegender Arbeit trotz physiologischer Ca-Spiegel der Tiere zu einem späteren Zeitpunkt aufgrund eines erhöhten PTH-Spiegels zu einem Anstieg des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegels gekommen ist.

Des Weiteren wird mittlerweile angenommen, dass jene von Portale et al. (1986) beschriebene Regulation des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Serumspiegels durch orale Aufnahme hoher Mengen an P (oben bereits erwähnt) zumindest teilweise aus Veränderungen des zirkulierenden FGF23 resultiert (ANTONIUCCI et al., 2006), indem FGF23 die Genexpression von 1α -Hydroxylase unterdrückt (PERWAD und PORTALE, 2011). Im vorliegenden Versuch konnte keine Veränderung des FGF23-Spiegels im Blut festgestellt werden, wobei hierfür die Versuchsdauer eine mögliche Ursache sein könnte (s. 4.4.). Ob es nun bei längerer Versuchsdauer zu einem Anstieg des FGF23-Spiegels gekommen wäre und ob dadurch folglich

auch eine Veränderung des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegels hätte festgestellt werden können, kann hier nicht gesagt werden.

4.4. Konzentration des Fibroblast growth factor 23 (FGF23) im Serum

Die prä- und postprandialen Serumproben von KON und von vier Versuchsdurchgängen (diCaP, mNaP, NatriP, mCaP) wurden auf canines FGF23 getestet. In diesen Durchgängen konnte keine Veränderung von FGF23 im Serum festgestellt werden, obwohl der postprandiale Serum-P-Spiegel (diCaP, mNaP, NatriP, mCaP) und zum Teil der postprandiale Serum-PTH-Spiegel (mNaP, NatriP, mCaP) signifikant zu KON angestiegen waren.

Bezüglich der Beziehung zwischen diätetischem P, P-Serumspiegel und FGF23-Serumspiegel gibt es bei Nagern widersprüchliche Ergebnisse: Bei Mäusen führte die Fütterung eines P-Exzesses über fünf Tage zu einem Anstieg des FGF23-Spiegels im Blut, vergesellschaftet mit einem Anstieg des Serum-P-Spiegels (PERWAD et al., 2005). Dahingegen korrelierte der Anstieg des FGF23-Serumspiegels bei Ratten nach Fütterung eines P-Exzesses über 14 Tage nicht mit einem Anstieg der Serum-P-Konzentration (SOMMER et al., 2007). Auch bei Menschen gibt es diesbezüglich unterschiedliche Versuchsergebnisse: Eine mehrmalige orale Aufnahme eines P-Exzesses über mehrere Tage führte bei gesunden Menschen zu einer Steigerung der FGF23-Konzentration im Serum, wobei der Serum-P-Spiegel unbeeinflusst blieb (FERRARI et al., 2005; BURNETT et al., 2006). Bei gesunden Probanden führte ein akuter diätetischer P-Exzess nicht zu einem Anstieg von FGF23 (LARSSON et al., 2003), eine kurzzeitige P-Infusion mit Anstieg des Serum-P-Spiegels ebenfalls nicht (ITO et al., 2007). Bei Katzen wiederum scheint ein erhöhter Serum-P-Spiegel einen Einfluss auf den FGF23-Spiegel zu haben: Chronisch nierenkranke Katzen mit Hyperphosphatämie zeigten höhere FGF23-Plasma-Konzentrationen im Vergleich zu normophosphatämischen Patienten, unabhängig vom Grad der Niereninsuffizienz und trotz ähnlicher Plasma Kreatinin-Konzentrationen (GEDDES et al., 2013a). Als Erklärung der Diskrepanzen oben genannter Studien wird die unterschiedliche Dauer, in der die Blutparameter verändert waren, vermutet: FGF23 steigt demnach eher als Antwort auf Langzeiteffekte eines erhöhten P-Serum-Spiegels an und weniger bei kurzzeitigen Erhöhungen (LARSSON et al., 2003). Somit könnte die Versuchsdauer in vorliegendem Versuch eine Erklärung dafür sein, warum der FGF23-Spiegel trotz erhöhter

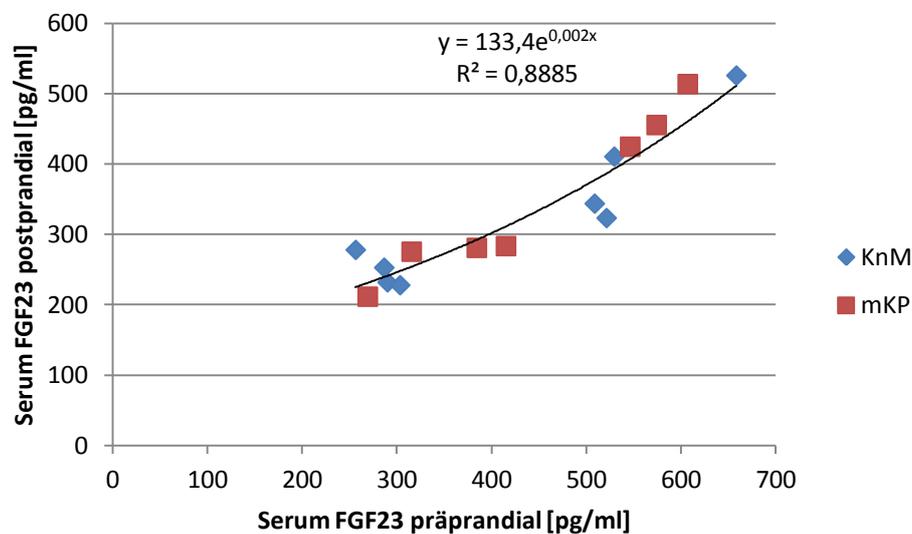
Serum-P-Spiegel unverändert blieb.

Andererseits gilt es mittlerweile als bewiesen, zumindest bei Nagern, dass PTH direkt die FGF23-Sekretion stimuliert (LAVI-MOSHAYOFF et al., 2010; RHEE et al., 2011). Neueste Studien an Ratten lassen vermuten, dass dies über den Nurr1 (nuclear receptor-related 1 protein) Rezeptor vonstattengeht (MEIR et al., 2014). In vorliegendem Versuch allerdings schienen erhöhte PTH-Spiegel keinen Einfluss auf den FGF23-Spiegel zu haben. Auch hierfür wäre eine Erklärung, dass die Versuchsdauer von 18d zu kurz gewesen sein könnte, um Effekte erhöhter PTH-Serumspiegel auf den FGF23-Spiegel zu erfassen.

Allerdings sei betont, dass für die Bestimmung der Konzentration an FGF23 im Serum auch die Wahl des Tests ausschlaggebend ist: Die Konzentration von FGF23 kann über das intakte Molekül (iFGF23) und über das carboxylterminale Fragment (cFGF23) bestimmt werden. Die Studie von Burnett et al. (2006) demonstrierte, dass eine Messung von iFGF23 die Effekte des diätetischen P viel deutlicher aufzeigt als die Messung, die auch biologisch inaktive Fragmente (cFGF23) berücksichtigt (BURNETT et al., 2006). Der in vorliegender Studie verwendete Test (Cusabio Canine FGF23 ELISA Kit, CSB-E17661c) ist zwar für iFGF23 konzipiert, aber eine Mitbestimmung des FGF23 c-Fragments kann neben dem intakten FGF23-Molekül seitens des Herstellers nicht ausgeschlossen werden. Weiterhin stellten Vervloet und Mitarbeiter (2011) bei Messung von FGF23 bei Menschen fest, dass FGF23 einer circadianen Rhythmik unterliegt, die für iFGF23 und cFGF23 jeweils verschieden ist. Erstgenannter zeigt seinen Peak morgens, während letzterer einen Peak am späten Nachmittag hat (VERVLOET et al., 2011).

Ob die Diskrepanz zwischen den vorliegenden Ergebnissen bezüglich FGF23 und denen anderer Studien nun ein Indiz dafür ist, dass das FGF23 System des Hundes nicht mit dem der oben genannten Spezies vergleichbar ist oder ob dies nur ein Resultat des Versuchsaufbaus ist (Dauer der oralen Gabe des P-Exzesses, Blutentnahmezeitpunkt, Wahl des Messverfahrens für FGF23), kann nicht beurteilt werden. Es gibt allerdings Hinweise darauf, dass nichthomologe Tests (felina FGF23 Sandwich ELISA Kainos Laboratories, Inc., Tokyo, Japan) sogar bessere Ergebnisse liefern als bei Verwendung des homologen Tests (persönliche Information). Aufgrund dieser Information wurde nachträglich bei ausgewählten Versuchsdurchgängen (KnM und mKP) die FGF23-Konzentration im Serum mit

oben genannten feline Testkit stichprobenartig bestimmt (Ergebnisse nicht aufgeführt). In der Tat lieferte der feline Test im Gegensatz zum caninen Testkit messbare Werte. Diese unterlagen allerdings einer starken Streuung und systematische Effekte konnten nicht ermittelt werden. So gab es zwar signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsdurchgängen, wobei hier auffallend starke individuelle Unterschiede zwischen den getesteten Durchgängen festzustellen waren, die nicht immer den signifikanten Unterschieden der Mittelwerte entsprachen. Die Regressionsberechnung ergab einen exponentiellen Zusammenhang zwischen den prä- und den postprandialen FGF23-Serumkonzentrationen ($R^2 = 0,9$; Abbildung 22).



Tier 4 wurde bei mKP aus abgebildeter Grafik aufgrund nicht mehr messbarer Werte über der Nachweisgrenze von 800 pg/ml herausgenommen

Abb. 22: Korrelation zwischen der prä- und der postprandialen FGF23-Konzentration im Serum [pg/ml] (feline Testkit)

Aufgrund des geringen verbliebenen Probenmaterials war es nicht möglich die Bestimmung der FGF23-Konzentration nachträglich in allen Serumproben der Versuchsdurchgänge mit dem feline Testkit zu wiederholen. Die vorliegenden Ergebnisse der verfügbaren Analysen scheinen für eine systematische Auswertung nicht ausreichend gewesen zu sein und folglich wurden die Werte des feline Testkit als ungeeignet befunden, diese für eine Beurteilung der Reaktion des FGF23-Spiegels auf einen alimentären P-Exzesses heranzuziehen. Allerdings erscheint die Verwendung des Testsystems für Katzen für den Einsatz beim Hund sinnvoller als die Verwendung des homologen Tests.

4.5. Konzentration der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (BAP) im Serum

Bei der knochenspezifischen Isoform der alkalischen Phosphatase (BAP) handelt es sich um ein Glykoprotein, das auf der Zelloberfläche von Osteoblasten zu finden ist (PRICE, 1993). Knochen unterliegen einem als Knochengeweberemodellierung bezeichneten Stoffwechselfvorgang. Dazu gehören eine durch Osteoklasten bewirkte Knochenresorption (Abbauvorgang) und eine durch Osteoblasten bewirkte Knochenformation (Aufbauvorgang) (RIGGS, 1991). Die Remodellierung ist zum Erhalt der Gesamtintegrität des Knochens erforderlich und beruht auf einer genau abgestimmten Kopplung, d.h. Resorptions- und Formationsvorgänge stehen in einem Gleichgewicht zueinander. Bei einer Störung des Knochenstoffwechsels tritt dieser Prozess aus dem Gleichgewicht, sodass es bei einem Übergewicht an Knochenresorption gegenüber Knochenformation zu einem Gesamtverlust an Knochenmatrix kommt (RIGGS, 1991; GARNERO und DELMAS, 1999). BAP wirkt bei der Skelettmineralisation mit und fungiert als Knochenresorptionsmarker (DRESNER-POLLAK et al., 1996; GARNERO und DELMAS, 1999). Beim Menschen sind erhöhte BAP-Serumkonzentrationen bei medizinischen Situationen zu beobachten, die durch exzessiven Knochenumsatz gekennzeichnet sind, wie z.B. Osteoporose, Hyperparathyroidismus, Hyperthyreose und metastasierende Tumore und sind mit einem Knochensubstanzverlust assoziiert (ROSS und KNOWLTON, 1998). Eine Studie an Hunden zeigte, dass die Fütterung eines P-Exzesses über zehn Monate (P-Quelle: Hyper-Phos-K; vier Monate 2,8g P/Tier/d; dann sechs Monate 3,1g P/Tier/d) zu Knochenabbau und zur Kalzifikation des Weichteilgewebes führt (LAFLAMME und JOWSEY, 1972). Um zu prüfen, ob Anzeichen eines erhöhten Knochenumsatzes bereits nach 18d Versuchsdauer nachzuweisen sind, wurde BAP im Serum mit Hilfe des für Hunde validierten, humanen ELISA Testkit von MicroVue™ Quidel® BAP Enzym-Immunoassay (TECOmedical AG, 4450 Sissach, Schweiz) bestimmt.

Im vorliegenden Versuch zeigten die Ergebnisse der Doppelbestimmung für BAP zum Teil eine hohe Varianz. Die Werte aller Versuchsdurchgänge lagen im Referenzbereich für adulte Hunde ($6,7 \pm 3,6$ U/l (ALLEN et al., 2000)). So konnten in vorliegender Studie in keinem Versuchsdurchgang Anzeichen eines Knochenabbaus anhand der BAP-Bestimmung nach 18d Versuchsdauer

($3,5 \pm 0,3$ g/Tier/d bzw. $2,1 \pm 0,2$ g/Tier/d bei NatriP und KpyrP) nachgewiesen werden.

Eine mögliche Erklärung für das Ausbleiben des Nachweises eines Knochenabbaus in vorliegender Arbeit könnte neben der deutlich kürzer gewählten Versuchsdauer das Ca/P Verhältnis sein. Die Futtrationen der Versuchsdurchgänge enthielten zwar mit der Studie von Laflamme und Jowsey (1972) vergleichbare Mengen an P (zwei der verwendeten P-Quellen waren sogar ebenfalls K-P-Verbindungen), allerdings mit einem ausgeglichenen Ca/P Verhältnis von 1,3-1,4:1 bzw. 1,7:1 bei Fütterung von GeflM und KnM, wohingegen die Ration aus oben genannter Studie ein inverses Ca/P (0,4:1) aufwies. Ob nun das ausgeglichene Ca/P Verhältnis der Versuchsfutter in vorliegender Studie der Grund für das Ausbleiben von Anzeichen eines Knochenabbaus ist, kann mit vorliegender Arbeit nicht gesagt werden. Hierzu sind weiterführende Studien nötig. Zudem ist es möglich, dass die Bestimmung von BAP aus einer einmaligen prä- bzw. postprandialen Serumprobe keinen geeigneten Parameter darstellt um ein direktes Abbild der Auf- und Abbauvorgänge des Knochens wiederzugeben. Letzteres war ebenfalls die Vermutung der Autoren einer Studie, die verschiedene Messtechniken von BAP im Hundeserum überprüfte (ALLEN et al., 2000).

Zusätzliche Untersuchungen wie radiologische Knochendichtemessung könnten helfen, den Zusammenhang zwischen der BAP-Konzentration im Serum und Knochenabbauvorgängen besser beurteilen zu können (ALLEN et al., 2000). Derartige Messungen sowie die Untersuchung der Tiere auf etwaige Weichteilverkalkungen, wie sie in der Studie von Laflamme an Hunden festgestellt werden konnte, wurden in vorliegender Studie nicht durchgeführt.

5. Fazit

Die P-Aufnahme spielt besonders in der Diätetik bei chronischer Niereninsuffizienz eine Rolle, gerät aber aufgrund des Verdachtes gesundheitsschädliche Effekte zu haben, immer stärker in den Fokus medizinischer Forschung. Hierbei wird in erster Linie über die Höhe der Aufnahme diskutiert. Um nähere Aussagen zu Effekten einer P-Aufnahme aus unterschiedlichen Quellen auf ausgewählte Parameter des P-Stoffwechsels machen zu können, wurden Hunden über einen Zeitraum von 18 Tagen verschiedene P Quellen im Exzess in der Höhe des Drei- bis Fünffachen des Bedarfs im Vergleich zu einer ausgewogenen Kontrollration gefüttert. Hierbei handelt es sich um praxisübliche P-Tagesaufnahmen, wobei in kommerziellen Futtermitteln die Anteile einiger der überprüften P-Quellen geringer sein dürfte. Grund dafür ist, dass es sich bei einigen der verwendeten P-Verbindungen um Zusatzstoffe handelt, die in der Industrie in geringeren Mengen aus technologischen Gründen zugesetzt werden. Andererseits kann es bei der Herstellung solcher Futtermittel zu einer Addition verschiedener anorganischer P-Zusätze kommen. Phosphathaltige Zusätze werden aus unterschiedlichen Gründen zugegeben wie zum Beispiel als Konservierungsmittel, Säureregulator, Emulgator, Wasserbinder oder Akzeptanzförderer, was womöglich einen beträchtlichen Anteil an anorganischem P im Hundefutter ausmachen kann. Mit Sicherheit kann dies derzeit nicht gesagt werden, da eine Deklarationspflicht weder bzgl. des absoluten P-Gehaltes noch dessen Anteilen aus verschiedenen P-Quellen besteht.

Daten aus der Literatur zum Thema sind sehr spärlich. Systematische Vergleiche der Verwertung sowie der Blutwerte an P, PTH und anderer Parameter vor und nach Verfütterung verschiedener P-Quellen bei Hunden sind aus der Literatur nicht bekannt. Vorliegende Studie erbrachte an Hunden somit erstmals den experimentellen Nachweis, dass Einflüsse auf den P-Haushalt durch alimentären P-Exzess bei ausgeglichenem Ca/P-Verhältnis von der P-Quelle abhängig sind. Schon ein drei- bzw. fünffacher P-Exzess ausgewählter P-Quellen hatte auch unabhängig von der ermittelten scheinbaren Verdaulichkeit des Elementes bereits nach kurzer Exposition (18d) einen erheblichen Effekt auf einzelne Parameter wie die Serumgehalte an P und PTH. Diese Erkenntnis dürfte auf die diätetische Therapie bei Niereninsuffizienz großen Einfluss haben, eventuell auch

hinsichtlich der nutritiven Prävention von Niereninsuffizienzen, Weichgewebeverkalkungen und Arteriosklerose sowie erhöhter Knochenresorption. Die Ergebnisse vorliegender Arbeit geben Anlass zu weiterführenden Untersuchungen. Da zunächst nur ein Untersuchungszeitpunkt postprandial gewählt wurde, können durch die vorliegende Studie nur begrenzte Aussagen zur Kinetik der verschiedenen P-Quellen gemacht werden. Es ist nicht auszuschließen, dass Ort und Geschwindigkeit der Resorption verschiedener P-Quellen aus dem Gastrointestinaltrakt zu einer unterschiedlichen Anflutung von P im Serum und somit einer unterschiedlichen reaktiven Veränderung anderer Blutwerte wie PTH führt. Auch können zu diesem Zeitpunkt keine Aussagen zu möglicherweise bestehenden Langzeiteffekten getroffen werden.

In den geltenden Bedarfsnormen (NRC, 2006; FEDIAF, 2016) werden keine Obergrenzen, sogenannte Safe Upper Limits oder SULs, für die P-Zufuhr bei Hunden und Katzen angegeben. Die Einführung eines solchen Maximums der täglichen P-Zufuhr, wie auch die Arbeiten von Pastoor (1995) und Demmel (2011) an Katzen nahelegen, greift nach den hier gewonnenen Erkenntnissen allerdings zu kurz. Neben einer Begrenzung der Aufnahme an P sollte die Verfügbarkeit und Anflutung an P, also letztendlich die P-Quelle, mit in die Beurteilung einbezogen werden. Offensichtlich ist P aus Knochen, Knorpel bzw. Protein anders zu bewerten als P aus mineralischen Zusätzen wie Na- und K-Phosphaten. Dies ist allerdings derzeit aufgrund der Informationslage bzw. aufgrund der eingeschränkten Deklarationsanforderungen unmöglich. Nicht alle P-Zusätze müssen deklariert werden, so dass es folglich Angaben bezüglich der P-Menge und P-Quelle nicht gibt. Das Fehlen jeglicher Angaben des Herstellers zu phosphathaltigen Zusätzen schließt jedoch ihre Verwendung nicht aus. Fleisch/Knochen- bzw. Karkassenmehle haben in der Regel sehr weite Ca/P Verhältnisse bis über 2/1. Selbst durch Zusatz von Getreide und anderen Komponenten sinkt das Ca/P Verhältnis nur mäßig ab; vergleiche dazu auch die Versuchsrationen GeflM und KnM mit einem Ca/P von 1,7/1. Sehr viele kommerzielle Produkte haben eher niedrige Ca/P Verhältnisse zwischen 1,3 bis 1/1, teilweise sogar darunter. Dies könnte ein Indiz dafür sein, dass phosphathaltige Zusatzstoffe z.T. in nicht unerheblichen Mengen eingesetzt werden. Persönliche Informationen aus der Futtermittelindustrie legen nahe, dass verschiedene anorganische P-Verbindungen einen relevanten Anteil von bis zu

20% am Gesamt-P-Gehalt im Hunde- bzw. Katzenfutter ausmachen können.

Die Tatsache, dass es Hinweise auf gesundheitliche Schäden bei Verwendung von Futtermitteln mit P-Zusätzen wie Na- und K-Phosphaten gibt, sollte für die Futtermittelindustrie Anlass genug sein, die Unbedenklichkeit von phosphathaltigen Zusätzen nachzuweisen oder auf die Verwendung zu verzichten. Weiterhin sollte eine bessere Transparenz für den Kunden bindend sein. Auch im Humanbereich wird das Problem der Undurchsichtigkeit bei Verwendung phosphathaltiger Zusätze in Lebensmitteln debattiert. Dort wird ebenfalls eine Kennzeichnungspflicht für Nahrungsmittel, denen Phosphat zugesetzt wurde, gefordert (URIBARRI und CALVO, 2003; RITZ et al., 2012; HAHN et al., 2013). Die Analytik des P ist zwar heutzutage mit Standardmethoden möglich, jedoch erlaubt dieser keinen Rückschluss auf den Anteil verwendeter anorganischer P-Quellen. Alternativ wäre also auch die Etablierung eines Nachweisverfahrens hochverfügbarer P-Quellen bzw. eine in vitro Methode zur Abschätzung der Verfügbarkeit von P ein Schritt in die richtige Richtung.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die tägliche Zufuhr an Phosphat (P) und dessen Effekte sind vermutlich nicht nur bei nierenkranken Patienten sondern auch bei Gesunden relevant, da P-Exzesse mit für die Entstehung definierter Erkrankungen des Skeletts, des kardiovaskulären Systems und der Nieren verantwortlich gemacht werden.

Die vorliegende Arbeit hat den Einfluss einer Zulage verschiedener P-Quellen im Exzess (1,1 bzw. 1,8% P/TS; Ca/P = 1,3-1,4/1 bzw. 1,7/1) auf ausgewählte Parameter des P-Stoffwechsels im Vergleich zu einer ausgewogenen Kontrollration bei acht gesunden, adulten Hunden überprüft. Nach Verfütterung der Kontrollration folgten acht identisch aufgebaute Durchgänge mit Zulage der P-Verbindungen $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaHPO_4 , NaH_2PO_4 , $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, Fleischknochenmehl Geflügel, Knochenmehl Rind, KH_2PO_4 und $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ resultierend in einer Gesamtaufnahme von 300 bzw. 500mg P/kg $\text{KM}^{0,75}$ für je 18 Tage. Die fäkale Exkretion wurde anhand von Kotsammelproben über 5 Tage, die renale Exkretion anhand zweimal täglich gewonnener Spontanurinproben (prä- und postprandial) über 5 Tage bestimmt. Am 18. Tag jedes Versuchsdurchgangs erfolgte prä- und 2h postprandial jeweils eine Blutentnahme. Im Blut wurden u.a. die Serumkonzentration an P, Parathormon (PTH) und eines Knochenresorptionsmarkers (BAP) bestimmt (Tabelle 47).

Tab. 47: Ausgewählte Parameter nach Verfütterung von Kontroll- bzw. Versuchsrationen mit Phosphorexzess aus unterschiedlichen Phosphorquellen an acht gesunde Hunde

Parameter	sV P	Serum P pprdl	PTH pprdl	BAP pprdl	P/Kreatinin
	[%]	[mmol/l]	[pg/ml]	[U/l]	Urin pprdl
Referenzbereich		0,7-1,6	8-45	6,7±3,6	
Kontrolle	38,3±19,5	1,2±0,3	22,3±4,6	3,7±1,1	1,8±0,4
CaHPO_4	19,8±7,4*	1,6±0,1**	27,1±7,3	6,2±1,1*	9,3±1,7***
NaH_2PO_4	35,0±9,5	3,1±0,5***	97,9±61,3*	6,9±1,5*	21,1±4,7***
Geflügelmehl	6,9±9,2*	1,2±0,1	27,2±3,6	3,0±0,7	1,5±0,7
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	22,1±10,2*	1,7±0,4**	81,3±103,9*	3,2±0,8	7,0±2,9**
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	36,8±6,4	2,0±0,2***	49,5±18,7*	4,9±1,8	13,0±4,0***
Knochenmehl	20,1±4,5*	1,2±0,1	25,1±6,9	6,4±4,5	2,9±1,3
KH_2PO_4	44,8±8,3	2,8±0,3***	74,5±29,0*	7,3±2,9*	21,8±4,7***
$\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$	30,3±5,9	2,1±0,4***	90,7±75,7*	5,3±0,8	9,9±3,2***

Angaben in MW ± s; *Markieren signifikante Differenzen zwischen der jeweiligen Versuchsration und der Kontrolle mit * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ und *** $p \leq 0,001$; sV = scheinbare Verdaulichkeit; pprdl=postprandial

Vorliegende Studie zeigte erstmalig an Hunden, dass die sV P stärker von der P-Quelle als von der P-Konzentration im Futter abhängig ist. Die P-Quelle hat zudem signifikante Effekte auf maßgebliche Parameter des P-Stoffwechsels wie den Serum-P-Gehalt und den PTH-Spiegel. Aufgrund der potentiell gesundheitsschädlichen Effekte erhöhter P- und PTH-Serumspiegel auf verschiedene Organsysteme sollte vorliegende Arbeit Anlass dazu geben, weiterführende Untersuchungen durchzuführen, um mögliche Risiken für die Tiergesundheit zu verifizieren. Da nach vorliegenden Ergebnissen gesundheitsgefährdende Effekte bestimmter phosphathaltiger Verbindungen nicht ausgeschlossen werden können, sollte auf ihre Verwendung im Tierfutter bis zum Nachweis der Unbedenklichkeit verzichtet werden. Zumindest aber legen die Ergebnisse die Forderung nach einer genaueren Deklaration sprich besserer Transparenz hinsichtlich des Einsatzes von phosphathaltigen Zusätzen nahe.

VII. SUMMARY

The daily phosphate (P) intake and its effects are probably not only relevant to patients with kidney disease but also to healthy subjects as P excesses are held responsible for the genesis of definite diseases of bone, cardiovascular system and kidneys.

The present study reviewed the influence of administration of different P sources on excess (1.1 or rather 1.8% P/DM; Ca/P =1.3-1.4/1 or rather 1.7/1) to selected parameters of P metabolism compared to a balanced control diet on eight healthy adult dogs. After feeding the control diet, eight identical constructed trials with administration of the P sources $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaHPO_4 , NaH_2PO_4 , $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, poultry meal, bone meal (cattle), KH_2PO_4 and $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ which resulted in a total P intake of 300 or rather 500mg P/kg BW^{0.75} are followed each for 18d. The fecal excretion was determined by collected fecal samples over 5d, the renal excretion by spontaneously voided urine samples twice a day (pre- and 2h postprandially) over 5d. At d18 of each trial blood samples were taken pre- and 2h postprandially. In blood samples for example concentration of P, parathyroid hormone (PTH) and marker of bone formation (BAP) in serum were determined (table 48).

Tab. 48: Selected parameters after feeding of the control and high phosphorus diets of different phosphorus sources to eight healthy dogs

Parameter	aD P	Serum P pprdl	PTH pprdl	BAP pprdl	P/creatinine urine pprdl
	[%]	[mmol/l]	[pg/ml]	[U/l]	
reference range		0.7-1.6	8-45	6.7±3.6	
control	38.3±19.5	1.2±0.3	22.3±4.6	3.7±1.1	1.8±0.4
CaHPO_4	19.8±7.4*	1.6±0.1**	27.1±7.3	6.2±1.1*	9.3±1.7***
NaH_2PO_4	35.0±9.5	3.1±0.5***	97.9±61.3*	6.9±1.5*	21.1±4.7***
poultry meal	6.9±9.2*	1.2±0.1	27.2±3.6	3.0±0.7	1.5±0.7
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	22.1±10.2*	1.7±0.4**	81.3±103.9*	3.2±0.8	7.0±2.9**
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	36.8±6.4	2.0±0.2***	49.5±18.7*	4.9±1.8	13.0±4.0***
bone meal	20.1±4.5*	1.2±0.1	25.1±6.9	6.4±4.5	2.9±1.3
KH_2PO_4	44.8±8.3	2.8±0.3***	74.5±29.0*	7.3±2.9*	21.8±4.7***
$\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$	30.3±5.9	2.1±0.4***	90.7±75.7*	5.3±0.8	9.9±3.2***

Mean±standard deviation; *marks significant differences between each trial and the control with * p≤0,05, ** p≤0,01 und *** p≤0,001; aD = apparent digestibility; pprdl=postprandial

The present study showed on dogs for the first time, that the aD P depends much more on the P source than on the P concentration in food. In addition the P source has significant effects on leading parameters of the P metabolism like the amount

of P and PTH in serum. Because of potential harmful effects to health of elevated P and PTH blood levels on different organic systems, present work should give reason to further research work to verify possible risks for animal health. As harmful effects to health of definite phosphate ingredients can not be excluded, their use in petfood should be given up until their safety is proven. At least the results suggest the demand on more detailed declaration and therefore a better transparency in regard to the use of phosphate additives.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

ABOU-SAMRA A.B., JUPPNER H., FORCE T., FREEMAN M.W., KONG X.F., SCHIPANI E., URENA P., RICHARDS J., BONVENTRE J.V., POTTS J.T., JR., ET AL. (1992): "Expression cloning of a common receptor for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide from rat osteoblast-like cells: a single receptor stimulates intracellular accumulation of both cAMP and inositol trisphosphates and increases intracellular free calcium" *P Natl Acad Sci USA* 89 (7): 2732-6.

AIHARA K., BYER K.J., KHAN S.R. (2003): "Calcium phosphate-induced renal epithelial injury and stone formation: involvement of reactive oxygen species" *Kidney Int* 64 (4): 1283-91.

ALLEN L.C., ALLEN M.J., BREUR G.J., HOFFMANN W.E., RICHARDSON D.C. (2000): "A comparison of two techniques for the determination of serum bone-specific alkaline phosphatase activity in dogs" *Res Vet Sci* 68 (3): 231-5.

ALMADEN Y., CANALEJO A., HERNANDEZ A., BALLESTEROS E., GARCIA-NAVARRO S., TORRES A., RODRIGUEZ M., RODRIGUEZ M. (1996): "Direct effect of phosphorus on PTH secretion from whole rat parathyroid glands in vitro" *J Bone Miner Res* 11 (7): 970-6.

ANDERSON J.J., GARNER S.C. (1995): "Calcium and phosphorus in health and disease". CRC Press, New York London Tokyo

ANONYMUS (2016): "Hundefutter: Von sehr gut bis mangelhaft - Trockenfutter im Test" *Stiftung Warentest* test 06/2016

ANTONIUCCI D.M., YAMASHITA T., PORTALE A.A. (2006): "Dietary phosphorus regulates serum fibroblast growth factor-23 concentrations in healthy men" *J Clin Endocr Metab* 91 (8): 3144-9.

ARAYA K., FUKUMOTO S., BACKENROTH R., TAKEUCHI Y., NAKAYAMA K., ITO N., YOSHII N., YAMAZAKI Y., YAMASHITA T., SILVER J., IGARASHI T., FUJITA T. (2005): "A Novel Mutation in Fibroblast Growth Factor 23 Gene as a Cause of Tumoral Calcinosis" *J Clin Endocr Metab* 90 (10): 5523-7.

ARGENZIO R.A., LOWE J.E., HINTZ H.F., SCHRYVER H.F. (1974): "Calcium and Phosphorus Homeostasis in Horses" *J Nutr* 104 (1): 18-27.

ARIMA K., HINES E.R., KIELA P.R., DREES J.B., COLLINS J.F., GHISHAN F.K. (2002): "Glucocorticoid regulation and glycosylation of mouse intestinal type IIb Na-Pi cotransporter during ontogeny" *Am J Physiol-Gastr L* 283 (2): G426-G34.

ASAI O., NAKATANI K., TANAKA T., SAKAN H., IMURA A., YOSHIMOTO S., SAMEJIMA K., YAMAGUCHI Y., MATSUI M., AKAI Y., KONISHI N., IWANO M., NABESHIMA Y., SAITO Y. (2012): "Decreased renal alpha-Klotho expression in early diabetic nephropathy in humans and mice and its possible role in urinary calcium excretion" *Kidney Int* 81 (6): 539-47.

ASCHINBERG L.C., SOLOMON L.M., ZEIS P.M., JUSTICE P., ROSENTHAL I.M. (1977): "Vitamin D-resistant rickets associated with epidermal nevus syndrome: demonstration of a phosphaturic substance in the dermal lesions" *J Pediatr* 91 (1): 56-60.

BACIC D., LEHIR M., BIBER J., KAISLING B., MURER H., WAGNER C.A. (2006): "The renal Na⁺/phosphate cotransporter NaPi-IIa is internalized via the receptor-mediated endocytic route in response to parathyroid hormone" *Kidney Int* 69 (3): 495-503.

BAI L., COLLINS J.F., GHISHAN F.K. (2000): "Cloning and characterization of a type III Na-dependent phosphate cotransporter from mouse intestine" *Am J Physiol-Cell Ph* 279 (4): C1135-C43.

BALDA M.S., GONZALEZ-MARISCAL L., MATTER K., CERREIJO M., ANDERSON J.M. (1993): "Assembly of the tight junction: the role of diacylglycerol" *J Cell Biol* 123 (2): 293-302.

BANK N., SU W.S., AYNEDJIAN H.S. (1978): "A micropuncture study of renal phosphate transport in rats with chronic renal failure and secondary hyperparathyroidism" *J Clin Invest* 61 (4): 884-94.

BARTHEL T.K., MATHERN D.R., WHITFIELD G.K., HAUSSLER C.A., HOPPER IV H.A., HSIEH J.-C., SLATER S.A., HSIEH G., KACZMARSKA M., JURUTKA P.W., KOLEK O.I., GHISHAN F.K., HAUSSLER M.R. (2007): "1,25-Dihydroxyvitamin D₃/VDR-mediated induction of FGF23 as well as transcriptional control of other bone anabolic and catabolic genes that orchestrate the regulation of phosphate and calcium mineral metabolism" *J Steroid Biochem* 103 (3–5): 381-8.

BEHNSEN K. (1992): "Einfluss der Fütterung auf pH-Wert und spezifisches Gewicht im Harn des Hundes" Dissertation vet. med., TiHo Hannover.

BEN-DOV I.Z., GALITZER H., LAVI-MOSHAYOFF V., GOETZ R., KURO-O M., MOHAMMADI M., SIRKIS R., NAVEH-MANY T., SILVER J. (2007): "The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats" *J Clin Invest* 117 (12): 4003-8.

BENAIS-PONT G., PUNN A., FLORES-MALDONADO C., ECKERT J., RAPOSO G., FLEMING T.P., CERREIJO M., BALDA M.S., MATTER K. (2003): "Identification of a tight junction-associated guanine nucleotide exchange factor that activates Rho and regulates paracellular permeability" *J Cell Biol* 160 (5): 729-40.

BERGWITZ C., BANERJEE S., ABU-ZAHRA H., KAJI H., MIYAUCHI A., SUGIMOTO T., JUPPNER H. (2009): "Defective O-glycosylation due to a novel homozygous S129P mutation is associated with lack of fibroblast growth factor 23 secretion and tumoral calcinosis" *J Clin Endocr Metab* 94 (11): 4267-74.

BERGWITZ C., JÜPPNER H. (2011): "Phosphate Sensing" *Adv Chronic Kidney D* 18 (2): 132-44.

BERGWITZ C., JUPPNER H. (2010): "Regulation of phosphate homeostasis by PTH, vitamin D, and FGF23" *Annu Rev Med* 61: 91-104.

BERGWITZ C., RASMUSSEN M.D., DEROBERTIS C., WEE M.J., SINHA S., CHEN H.H., HUANG J., PERRIMON N. (2012): "Roles of major facilitator superfamily transporters in phosphate response in *Drosophila*" *PLoS ONE* 7 (2): e31730.

BERNDT T., THOMAS L.F., CRAIG T.A., SOMMER S., LI X., BERGSTRALH E.J., KUMAR R. (2007): "Evidence for a signaling axis by which intestinal phosphate rapidly modulates renal phosphate reabsorption" *P Natl Acad Sci USA* 104 (26): 11085-90.

BIBER J., HERNANDO N., FORSTER I. (2013): "Phosphate transporters and their function" *Annu Rev Physiol* 75: 535-50.

BIBER J., HERNANDO N., FORSTER I., MURER H. (2009): "Regulation of phosphate transport in proximal tubules" *Pflug Arch Eur J Phy* 458 (1): 39-52.

BLAND R., WALKER E.A., HUGHES S.V., STEWART P.M., HEWISON M. (1999): "Constitutive expression of 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in a transformed human proximal tubule cell line: evidence for direct regulation of vitamin D metabolism by calcium" *Endocrinology* 140 (5): 2027-34.

BOHN L., MEYER A.S., RASMUSSEN S.K. (2008): "Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding" *J Zhejiang Univ Sc B* 9 (3): 165-91.

BOROWITZ S.M., GHISHAN F.K. (1985): "Maturation of Jejunal Phosphate Transport by Rat Brush Border Membrane Vesicles" *Pediatr Res* 19 (12): 1308-12.

BOROWITZ S.M., GHISHAN F.K. (1989): "Phosphate transport in human jejunal brush-border membrane vesicles" *Gastroenterology* 96 (1): 4-10.

BOROWITZ S.M., GRANRUD G.S. (1992): "Glucocorticoids Inhibit Intestinal Phosphate Absorption in Developing Rabbits" *J Nutr* 122 (6): 1273-9.

BOS M.P., VAN DER MEER J.M., FEYEN J.H.M., HERRMANN-ERLEE M.P.M. (1996): "Expression of the parathyroid hormone receptor and correlation with other osteoblastic parameters in fetal rat osteoblasts" *Calcified Tissue Int* 58 (2): 95-100.

BOYAN B.D., SYLVIA V.L., DEAN D.D., SCHWARTZ Z. (2001): "24,25-(OH)₂D₃ regulates cartilage and bone via autocrine and endocrine mechanisms" *Steroids* 66 (3): 363-74.

BOYAN B.D., DEAN D.D., SYLVIA V.L., SCHWARTZ Z. (2003): "Steroid Hormone Action in Musculoskeletal Cells Involves Membrane Receptor and Nuclear Receptor Mechanisms" *Connect Tissue Res* 44 (1): 130-5.

BRAUN J.P., LEFEBVRE H.P., WATSON A.D.J. (2003): "Creatinine in the Dog: A Review" *Vet Clin Path* 32 (4): 162-79.

BRENZA H.L., KIMMEL-JEHAN C., JEHAN F., SHINKI T., WAKINO S., ANAZAWA H., SUDA T., DELUCA H.F. (1998): "Parathyroid hormone activation of the 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase gene promoter" *P Natl Acad Sci USA* 95 (4): 1387-91.

BREUSEGEM S.Y., TAKAHASHI H., GIRAL-ARNAL H., WANG X., JIANG T., VERLANDER J.W., WILSON P., MIYAZAKI-ANZAI S., SUTHERLAND E., CALDAS Y., BLAINE J.T., SEGAWA H., MIYAMOTO K.-I., BARRY N.P., LEVI M. (2009): "Differential regulation of the renal sodium-phosphate cotransporters NaPi-IIa, NaPi-IIc, and PiT-2 in dietary potassium deficiency" *Am J Physiol-Renal* 297 (2): F350-F61.

BROWN A.J., DUSSO A., SLATOPOLSKY E. (1999): "Vitamin D" *Am J Physiol-Renal* 277 (2): F157-F75.

BROWN A.J., ZHONG M., FINCH J., RITTER C., MCCRACKEN R., MORRISSEY J., SLATOPOLSKY E. (1996): "Rat calcium-sensing receptor is regulated by vitamin D but not by calcium" *Am J Physiol-Renal* 270 (3): F454-60.

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 Ca²⁺-sensing receptor from bovine parathyroid" *Nature* 366 (6455): 575-80.

BURNETT S.-A.M., GUNAWARDENE S.C., BRINGHURST F.R., JÜPPNER H., LEE H., FINKELSTEIN J.S. (2006): "Regulation of C-Terminal and Intact FGF-23 by Dietary Phosphate in Men and Women" *J Bone Miner Res* 21 (8): 1187-96.

BVL (2017): "Liste der für Futtermittel zugelassene Zusatzstoffe" http://www.bvl.bund.de/DE/02_Futtermittel/03_AntragstellerUnternehmen/05_Zusatzstoffe_FM/03_Liste_zugelassene_Zusatzstoffe/fm_liste_zugelassener_zusatzstoffe_node.html, zugegriffen am 27. Juli 2017.

CALVO M.S., HEATH H. (1988): "Acute effects of oral phosphate-salt ingestion on serum phosphorus, serum ionized calcium, and parathyroid hormone in young adults" *Am J Clin Nutr* 47 (6): 1025-9.

CALVO M.S., URIBARRI J. (2013): "Public health impact of dietary phosphorus excess on bone and cardiovascular health in the general population" *Am J Clin Nutr* 98 (1): 6-15.

CANAFF L., HENDY G.N. (2002): "Human calcium-sensing receptor gene. Vitamin D response elements in promoters P1 and P2 confer transcriptional responsiveness to 1,25-dihydroxyvitamin D" *J Biol Chem* 277 (33): 30337-50.

CANALEJO R., CANALEJO A., MARTINEZ-MORENO J.M., RODRIGUEZ-ORTIZ M.E., ESTEPA J.C., MENDOZA F.J., MUNOZ-CASTANEDA J.R., SHALHOUB V., ALMADEN Y., RODRIGUEZ M. (2010): "FGF23 Fails to Inhibit Uremic Parathyroid Glands" *J Am Soc Nephrol* 21 (7): 1125-35.

CAPUANO P., RADANOVIC T., WAGNER C.A., BACIC D., KATO S., UCHIYAMA Y., ST.-ARNOUD R., MURER H., BIBER J. (2005): "Intestinal and renal adaptation to a low-Pi diet of type II NaPi cotransporters in vitamin D receptor- and 1 α OHase-deficient mice" *Am J Physiol-Cell Ph* 288 (2): C429-C34.

CAVERZASIO J., BONJOUR J.P. (1996): "Characteristics and regulation of Pi transport in osteogenic cells for bone metabolism" *Kidney Int* 49 (4): 975-80.

CECIL D.L., ROSE D.M., TERKELTAUB R., LIU-BRYAN R. (2005): "Role of interleukin-8 in PiT-1 expression and CXCR1-mediated inorganic phosphate uptake in chondrocytes" *Arthritis Rheum* 52 (1): 144-54.

CHANG Q., HOEFS S., VAN DER KEMP A.W., TOPALA C.N., BINDELS R.J., HOENDEROP J.G. (2005): "The β -Glucuronidase Klotho Hydrolyzes and Activates the TRPV5 Channel" *Science* 310 (5747): 490-3.

CHEFETZ I., KOHNO K., IZUMI H., UITTO J., RICHARD G., SPRECHER E. (2009): "GALNT3, a gene associated with hyperphosphatemic familial tumoral calcinosis, is transcriptionally regulated by extracellular phosphate and modulates matrix metalloproteinase activity" *Biochim Biophys Acta* 1792 (1): 61-7.

CRAMER C.F. (1961): "Progress and rate of absorption of radiophosphorus through the intestinal tract of rats" *Can J Biochem Phys* 39 (3): 499-503.

CROSS H.S., DEBIEC H., PETERLIK M. (1990): "Mechanism and regulation of intestinal phosphate absorption" *Miner Electrol Metab* 16 (2-3): 115-24.

DANISI G., MURER H. (2011): "Inorganic phosphate absorption in small intestine" *Compr Physiol*: 323-36.

DANISI G., STRAUB R.W. (1980): "Unidirectional influx of phosphate across the mucosal membrane of rabbit small intestine" *Pflügers Archiv* 385 (2): 117-22.

DANISI G., VAN OS C.H., STRAUB R.W. (1984): "Phosphate transport across brush border and basolateral membrane vesicles of small intestine" *Prog Clin Biol Res* 168: 229-34.

DE BORST M.H., VERVLOET M.G., TER WEE P.M., NAVIS G. (2011): "Cross Talk Between the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Vitamin D-FGF-23-klotho in Chronic Kidney Disease" *J Am Soc Nephrol* 22 (9): 1603-9.

DEMMELE A. (2011): "Der Einfluss der alimentären Phosphorversorgung auf ausgewählte Nierenfunktionsparameter bei Katzen" *Dissertation vet. med., Ludwig-Maximilians-Universität, München.*

DIEVERBRAUCHERINITIATIVE (2017): "Informationen zu Lebensmittelzusatzstoffen" <http://www.zusatzstoffe-online.de>, zugegriffen am 25. März 2017.

DINUR M., KILAV R., SELA-BROWN A., JACQUEMIN-SABLON H., NAVEH-MANY T. (2006): "In vitro evidence that upstream of N-ras participates in the regulation of parathyroid hormone messenger ribonucleic acid stability" *Mol Endocrinol* 20 (7): 1652-60.

DOBENECKER B., HERTEL-BÖHNKE P., KIENZLE E. (2013): "Does a variation of the phosphorus source alter the effects of a phosphorus excess on renal function in cats?" Congress Proceedings of the 17th European Society of Veterinary and Comparative Nutrition Congress (ESVCN). Ghent, Belgium

DOBENECKER B., HERTEL-BÖHNKE P., KIENZLE E. (2014): "Effect of monocalciumphosphate versus monosodiumphosphate in high phosphorus diets with a balanced Ca/P ratio on phosphorus balance and parameters of renal health in cats" Congress Proceedings of the 18th European Society of Veterinary and Comparative Nutrition Congress (ESVCN). Utrecht, Netherlands

DRESNER-POLLAK R., PARKER A.R., POKU M., THOMPSON J., SEIBEL J.M., GREENSPAN L.S. (1996): "Biochemical Markers of Bone Turnover Reflect Femoral Bone Loss in Elderly Women" *Calcified Tissue Int* 59 (5): 328-33.

DUSSO A.S., BROWN A.J., SLATOPOLSKY E. (2005): "Vitamin D" *Am J Physiol-Renal* 289 (1): F8-F28.

EBERT R., SCHÜTZE N., ADAMSKI J., JAKOB F. (2006): "Vitamin D signaling is modulated on multiple levels in health and disease" *Mol Cell Endocrinol* 248 (1-2): 149-59.

ELMADFA I., LEITZMANN C. (2015): "Ernährung des Menschen". Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 5.Auflage

EMAMI-NEMINI A.D. (2012): "Differential parathyroid hormone receptor signaling directed by adaptor proteins -Steuerung differenzieller Signalgebung des Parathormon Rezeptors durch Adapterproteine" Dissertation rer. nat., Julius-Maximilians-Universität, Würzburg.

ERBEN R.G., SOEGIARTO D.W., WEBER K., ZEITZ U., LIEBERHERR M., GNIADECKI R., MÖLLER G., ADAMSKI J., BALLING R. (2002): "Deletion of Deoxyribonucleic Acid Binding Domain of the Vitamin D Receptor Abrogates Genomic and Nongenomic Functions of Vitamin D" *Molecular Endocrinology* 16 (7): 1524-37.

ETO N., TOMITA M., HAYASHI M. (2006): "NaPi-mediated Transcellular Permeation is the Dominant Route in Intestinal Inorganic Phosphate Absorption in Rats" *Drug Metab Pharmacok* 21 (3): 217-21.

EVANS R.M. (1988): "The steroid and thyroid hormone receptor superfamily" *Science* 240 (4854): 889-95.

FAROQUI S., LEVI M., SOLEIMANI M., AMLAL H. (2008): "Estrogen downregulates the proximal tubule type IIa sodium phosphate cotransporter causing phosphate wasting and hypophosphatemia" *Kidney Int* 73 (10): 1141-50.

FARRINGTON K., MOHAMMED M.N., NEWMAN S.P., VARGHESE Z., MOORHEAD J.F. (1981): "Comparison of Radioisotope Methods for the Measurement of Phosphate Absorption in Normal Subjects and in Patients with Chronic Renal Failure" *Clin Sci* 60 (1): 55-63.

FEDIAF (2016): "Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs". FEDIAF - European Pet Food Industry Federation, Brussels

FELSENFELD A.J., RODRIGUEZ M. (1999): "Phosphorus, Regulation of Plasma Calcium, and Secondary Hyperparathyroidism: A Hypothesis to Integrate a Historical and Modern Perspective" *J Am Soc Nephrol* 10 (4): 878-90.

FERNANDES I., BÉLIVEAU R., FRIEDLANDER G., SILVE C. (1999): "NaPO₄ cotransport type III (PiT1) expression in human embryonic kidney cells and regulation by PTH" *Am J Physiol-Renal* 277 (4): F543-F51.

FERRARI S.L., BONJOUR J.-P., RIZZOLI R. (2005): "Fibroblast Growth Factor-23 Relationship to Dietary Phosphate and Renal Phosphate Handling in Healthy Young Men" *J Clin Endocr Metab* 90 (3): 1519-24.

FINCH N.C., GEDDES R.F., SYME H.M., ELLIOTT J. (2013): "Fibroblast Growth Factor 23 (FGF-23) Concentrations in Cats with Early Nonazotemic Chronic Kidney Disease (CKD) and in Healthy Geriatric Cats" *J Vet Intern Med* 27 (2): 227-33.

FORSTER I.C., BIBER J., MURER H. (2000): "Proton-Sensitive Transitions of Renal Type II Na⁺-Coupled Phosphate Cotransporter Kinetics" *Biophys J* 79 (1): 215-30.

FORSTER R.E., JURUTKA P.W., HSIEH J.-C., HAUSSLER C.A., LOWMILLER C.L., KANEKO I., HAUSSLER M.R., KERR WHITFIELD G. (2011): "Vitamin D receptor controls expression of the anti-aging klotho gene in mouse and human renal cells" *Biochem Bioph Res Co* 414 (3): 557-62.

FRASER D., KODICEK E. (1973): "Regulation of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase activity in kidney by parathyroid hormone" *Nature New Biology* 241 (110): 163-6.

FRISHBERG Y., ITO N., RINAT C., YAMAZAKI Y., FEINSTEIN S., URAKAWA I., NAVON-ELKAN P., BECKER-COHEN R., YAMASHITA T., ARAYA K., IGARASHI T., FUJITA T., FUKUMOTO S. (2007): "Hyperostosis-hyperphosphatemia syndrome: a congenital disorder of O-glycosylation associated with augmented processing of fibroblast growth factor 23" *J Bone Miner Res* 22 (2): 235-42.

GAFTER U., EDELSTEIN S., HIRSH J., LEVI J. (1986): "Metabolic acidosis enhances 1,25(OH)₂D₃-induced intestinal absorption of calcium and phosphorus in rats" *Miner Electrol Metab* 12 (4): 213-7.

GAGNÉ J.W., WAKSHLAG J.J., CENTER S.A., RUTZKE M.A., GLAHN R.P. (2013): "Evaluation of calcium, phosphorus, and selected trace mineral status in commercially available dry foods formulated for dogs" *JAVMA* 243 (5): 658-66.

GALITZER H., BEN-DOV I., LAVI-MOSHAYOFF V., NAVEH-MANY T., SILVER J. (2008): "Fibroblast growth factor 23 acts on the parathyroid to decrease parathyroid hormone secretion" *Curr Opin Nephrol Hy* 17 (4): 363-7.

GANESH S.K., STACK A.G., LEVIN N.W., HULBERT-SHEARON T., PORT F.K. (2001): "Association of Elevated Serum PO₄, Ca × PO₄ Product, and Parathyroid Hormone with Cardiac Mortality Risk in Chronic Hemodialysis Patients" *J Am Soc Nephrol* 12 (10): 2131-8.

GARABEDIAN M., HOLICK M.F., DELUCA H.F., BOYLE I.T. (1972): "Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands" *P Natl Acad Sci USA* 69 (7): 1673-6.

GARNERO P., DELMAS P.D. (1999): "Biochemical markers of bone turnover : clinical usefulness in osteoporosis" *Ann Biol Clin-Paris* 57 (2): 137-48.

GEDDES R.F., FINCH N.C., ELLIOTT J., SYME H.M. (2013a): "Fibroblast Growth Factor 23 in Feline Chronic Kidney Disease" *J Vet Intern Med* 27 (2): 234-41.

GEDDES R.F., FINCH N.C., SYME H.M., ELLIOTT J. (2013b): "The role of phosphorus in the pathophysiology of chronic kidney disease" *J Vet Emerg Crit Car* 23 (2): 122-33.

GERICKE S., KURMIES B. (1952): "Colorimetrische Bestimmung der Phosphorsäure mit Vanadat-Molybdat" *Fresen Z Anal Chem* 137 (1): 15-22.

GFE (Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie) (1989): "Energie- und Nährstoffbedarf: Nr. 5 Hunde (Energy and nutrient requirements: no. 5 dogs)". DLG Verlag, Frankfurt am Main

GIRAL H., CALDAS Y., SUTHERLAND E., WILSON P., BREUSEGEM S., BARRY N., BLAINE J., JIANG T., WANG X.X., LEVI M. (2009): "Regulation of rat intestinal Na-dependent phosphate transporters by dietary phosphate" *Am J Physiol-Renal* 297 (5): F1466-F75.

GOETZ R., NAKADA Y., HU M.C., KUROSU H., WANG L., NAKATANI T., SHI M., ELISEENKOVA A.V., RAZZAQUE M.S., MOE O.W., KURO-O M., MOHAMMADI M. (2010): "Isolated C-terminal tail of FGF23 alleviates hypophosphatemia by inhibiting FGF23-FGFR-Klotho complex formation" *P Natl Acad Sci USA* 107 (1): 407-12.

GONZÁLEZ-MARISCAL L., BETANZOS A., NAVA P., JARAMILLO B.E. (2003): "Tight junction proteins" *Prog Biophys Mol Bio* 81 (1): 1-44.

GORDON C.R., LAVIE P. (1985): "Day-night variations in urine excretions and hormones in dogs: Role of autonomic innervation" *Physiol Behav* 35 (2): 175-81.

GROSSKOPF I., GRAFF E., CHARACH G., BINYAMIN G., SPINRAD S., BLUM I. (1991): "Hyperphosphataemia and Hypocalcaemia Induced by Hypertonic Phosphate Enema - An Experimental Study and Review of the Literature" *Hum Exp Toxicol* 10 (5): 351-5.

GUICHEUX J., PALMER G., SHUKUNAMI C., HIRAKI Y., BONJOUR J.P., CAVERZASIO J. (2000): "A novel in vitro culture system for analysis of functional role of phosphate transport in endochondral ossification" *Bone* 27 (1): 69-74.

HAHN K., KUHLMANN M.K., RITZ E. (2013): "Phosphat und Nahrung" *Der Nephrologe* 8 (1): 37-42.

HAND M.S., THATCHER C.D., REMILLARD R.L., ROUDEBUSH P., NOVOTNY B.J. (2010): "Small Animal Clinical Nutrition". Mark Morris Institute, Topeka, USA 5th edition

HARDCASTLE M.R., DITTMER K.E. (2015): "Fibroblast Growth Factor 23: A New Dimension to Diseases of Calcium-Phosphorus Metabolism" *Vet Pathol* 52 (5): 770-84.

HARDCASTLE M.R., DITTMER K.E. (2016): "Expression of fibroblast growth factor 23 by canine soft tissue sarcomas" *Vet Comp Oncol* 14 (3): 306-17.

HARUNA Y., KASHIHARA N., SATOH M., TOMITA N., NAMIKOSHI T., SASAKI T., FUJIMORI T., XIE P., KANWAR Y.S. (2007): "Amelioration of progressive renal injury by genetic manipulation of Klotho gene" *P Natl Acad Sci USA* 104 (7): 2331-6.

HATTENHAUER O., TRAEBERT M., MURER H., BIBER J. (1999): "Regulation of small intestinal Na-Pi type IIb cotransporter by dietary phosphate intake" *Am J Physiol-Gastr L* 277 (4): G756-G62.

HAUSSLER M., WHITFIELD G.K., KANEKO I., FORSTER R., SAINI R., HSIEH J.-C., HAUSSLER C., JURUTKA P. (2012): "The role of vitamin D in the FGF23, klotho, and phosphate bone-kidney endocrine axis" *Rev Endocr Metab Dis* 13 (1): 57-69.

HAUT L.L., ALFREY A.C., GUGGENHEIM S., BUDDINGTON B., SCHRIER N. (1980): "Renal toxicity of phosphate in rats" *Kidney Int* 17 (6): 722-31.

HAZEWINKEL H.A.W., TRYFONIDOU M.A. (2002): "Vitamin D3 metabolism in dogs" *Mol Cell Endocrinol* 197 (1-2): 23-33.

HEANEY R.P. (2000): "Dietary protein and phosphorus do not affect calcium absorption" *Am J Clin Nutr* 72 (3): 758-61.

HENRY H.L. (1979): "Regulation of the hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D3 in vivo and in primary cultures of chick kidney cells" *J Biol Chem* 254 (8): 2722-9.

HERNANDEZ A., CONCEPCION M.T., RODRIGUEZ M., SALIDO E., TORRES A. (1996): "High phosphorus diet increases preproPTH mRNA independent of calcium and calcitriol in normal rats" *Kidney Int* 50 (6): 1872-8.

HERTEL-BÖHNKE P., KIENZLE E., DOBENECKER B. (2012): "A high phosphorus diet with a Ca/P ratio of 0.9/1 affects renal parameters in healthy cats" *Congress Proceedings of the 16th European Society of Veterinary and Comparative Nutrition Congress (ESVCN)*. Bydgoszcz, Poland

HILFIKER H., HATTENHAUER O., TRAEBERT M., FORSTER I., MURER H., BIBER J. (1998): "Characterization of a murine type II sodium-phosphate cotransporter expressed in mammalian small intestine" *P Natl Acad Sci USA* 95 (24): 14564-9.

HILL R.C., BURROWS C.F., ELLISON G.W., BAUER J.E. (2001): "The effect of texturized vegetable protein from soy on nutrient digestibility compared to beef in cannulated dogs" *J Anim Sci* 79 (8): 2162-71.

HOCK J.M., GERA I. (1992): "Effects of continuous and intermittent administration and inhibition of resorption on the anabolic response of bone to parathyroid hormone" *J Bone Miner Res* 7 (1): 65-72.

HOFF-JØRGENSEN E. (1946): "The influence of phytic acid on the absorption of calcium and phosphorus" *Biochem J* 40 (2): 189-92.

HOLLINGER H.Z., PATTEE C.J. (1956): "A Review of Normal Calcium and Phosphorus Metabolism" *Can Med Assoc J* 74 (11): 912-21.

HOW K.L., HAZEWINKEL H.A.W., MOL J.A. (1994): "Dietary Vitamin D Dependence of Cat and Dog Due to Inadequate Cutaneous Synthesis of Vitamin D" *Gen Comp Endocr* 96 (1): 12-8.

HU M.C., SHI M., ZHANG J., PASTOR J., NAKATANI T., LANSKE B., RAZZAQUE M.S., ROSENBLATT K.P., BAUM M.G., KURO-O M., MOE O.W. (2010): "Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule" *FASEB J* 24 (9): 3438-50.

HU M.C., SHI M., ZHANG J., QUIÑONES H., GRIFFITH C., KURO-O M., MOE O.W. (2011): "Klotho Deficiency Causes Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease" *J Am Soc Nephrol* 22 (1): 124-36.

HU M.C., SHIIZAKI K., KURO-O M., MOE O.W. (2013): "Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism" *Annu Rev Physiol* 75: 503-33.

HU M.S., KAYNE L.H., JAMGOTCHIAN N., WARD H.J., LEE D.B. (1997): "Paracellular phosphate absorption in rat colon: a mechanism for enema-induced hyperphosphatemia" *Miner Electrol Metab* 23 (1): 7-12.

HUANG J.C., SAKATA T., PFLEGER L.L., BENCSIK M., HALLORAN B.P., BIKLE D.D., NISSENSON R.A. (2004): "PTH differentially regulates expression of RANKL and OPG" *J Bone Miner Res* 19 (2): 235-44.

HUGHES M., BRUMBAUGH P., HUSSLER M., WERGEDAL J., BAYLINK D. (1975): "Regulation of serum 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 by calcium and phosphate in the rat" *Science* 190 (4214): 578-80.

HURWITZ S., BAR A. (1971): "Calcium and Phosphorus Interrelationships in the Intestine of the Fowl" *J Nutr* 101 (5): 677-85.

ICHIKAWA S., SORENSON A.H., AUSTIN A.M., MACKENZIE D.S., FRITZ T.A., MOH A., HUI S.L., ECONS M.J. (2009): "Ablation of the Galnt3 gene leads to low-circulating intact fibroblast growth factor 23 (Fgf23) concentrations and hyperphosphatemia despite increased Fgf23 expression" *Endocrinology* 150 (6): 2543-50.

IMURA A., TSUJI Y., MURATA M., MAEDA R., KUBOTA K., IWANO A., OBUSE C., TOGASHI K., TOMINAGA M., KITA N., TOMIYAMA K.-I., IJIMA J., NABESHIMA Y., FUJIOKA M., ASATO R., TANAKA S., KOJIMA K., ITO J., NOZAKI K., HASHIMOTO N., ITO T., NISHIO T., UCHIYAMA T., FUJIMORI T., NABESHIMA Y.-I. (2007): " α -Klotho as a Regulator of Calcium Homeostasis" *Science* 316 (5831): 1615-8.

ISAKOVA T., GUTIERREZ O., SHAH A., CASTALDO L., HOLMES J., LEE H., WOLF M. (2008): "Postprandial Mineral Metabolism and Secondary Hyperparathyroidism in Early CKD" *J Am Soc Nephrol* 19 (3): 615-23.

ITO N., FUKUMOTO S., TAKEUCHI Y., TAKEDA S., SUZUKI H., YAMASHITA T., FUJITA T. (2007): "Effect of acute changes of serum phosphate on fibroblast growth factor (FGF)23 levels in humans" *J Bone Miner Metab* 25 (6): 419-22.

JENKINS K.J., PHILLIPS P.H. (1960a): "The Mineral Requirements of the Dog: I. Phosphorus Requirement and Availability" *J Nutr* 70 (2): 235-40.

JENKINS K.J., PHILLIPS P.H. (1960b): "The Mineral Requirements of the Dog: II. The Relation of Calcium, Phosphorus and Fat Levels to Minimal Calcium and Phosphorus Requirements" *J Nutr* 70 (2): 241-6.

JONO S., MCKEE M.D., MURRY C.E., SHIOI A., NISHIZAWA Y., MORI K., MORII H., GIACHELLI C.M. (2000): "Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification" *Circ Res* 87 (7): E10-7.

JOWSEY J., REISS E., CANTERBURY J.M. (1974): "Long-Term Effects of High Phosphate Intake on Parathyroid Hormone Levels and Bone Metabolism" *Acta Orthop Scand* 45 (6): 801-8.

KALANTAR-ZADEH K., GUTEKUNST L., MEHROTRA R., KOVESDY C.P., BROSS R., SHINABERGER C.S., NOORI N., HIRSCHBERG R., BENNER D., NISSENSON A.R., KOPPLE J.D. (2010): "Understanding Sources of Dietary Phosphorus in the Treatment of Patients with Chronic Kidney Disease" *Clin J Am Soc Nephro* 5 (3): 519-30.

KARIM-JIMENEZ Z., HERNANDO N., BIBER J., MURER H. (2000): "A dibasic motif involved in parathyroid hormone-induced down-regulation of the type IIa NaPi cotransporter" *P Natl Acad Sci USA* 97 (23): 12896-901.

KATAI K., MIYAMOTO K., KISHIDA S., SEGAWA H., NII T., TANAKA H., TANI Y., ARAI H., TATSUMI S., MORITA K., TAKETANI Y., TAKEDA E. (1999): "Regulation of intestinal Na⁺-dependent phosphate co-transporters by a low-phosphate diet and 1,25-dihydroxyvitamin D₃" *Biochem J* 343 (3): 705-12.

KAYNE L.H., D'ARGENIO D.Z., MEYER J.H., HU M.S., JAMGOTCHIAN N., LEE D.B. (1993): "Analysis of segmental phosphate absorption in intact rats. A compartmental analysis approach" *J Clin Invest* 91 (3): 915-22.

KEMP G.J., BLUMSOHN A., MORRIS B.W. (1992): "Circadian changes in plasma phosphate concentration, urinary phosphate excretion, and cellular phosphate shifts" *Clin Chem* 38 (3): 400-2.

KEUSCH I., TRAEBERT M., LOTSCHER M., KAISLING B., MURER H., BIBER J. (1998): "Parathyroid hormone and dietary phosphate provoke a lysosomal routing of the proximal tubular Na/Pi-cotransporter type II" *Kidney Int* 54 (4): 1224-32.

KHADEER M.A., TANG Z., TENENHOUSE H.S., EIDEN M.V., MURER H., HERNANDO N., WEINMAN E.J., CHELLAIAH M.A., GUPTA A. (2003): "Na⁺-dependent phosphate transporters in the murine osteoclast: cellular distribution and protein interactions" *Am J Physiol-Cell Ph* 284 (6): C1633-44.

KHAN S.R. (2004): "Crystal-induced inflammation of the kidneys: results from human studies, animal models, and tissue-culture studies" *Clin Exp Nephrol* 8 (2): 75-88.

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" *J Nutr Sci* 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" *J Nutr* 136 (7): 2001S-3S.

KIENZLE E., WILMS-EILERS S. (1994): "Struvite Diet in Cats: Effect of Ammonium Chloride and Carbonates on Acid Base Balance of Cats" *J Nutr* 124 (12): 2652S.

KITAZAWA S., KAJIMOTO K., KONDO T., KITAZAWA R. (2003): "Vitamin D3 supports osteoclastogenesis via functional vitamin D response element of human RANKL gene promoter" *J Cell Biochem* 89 (4): 771-7.

KOH N., FUJIMORI T., NISHIGUCHI S., TAMORI A., SHIOMI S., NAKATANI T., SUGIMURA K., KISHIMOTO T., KINOSHITA S., KUROKI T., NABESHIMA Y. (2001): "Severely reduced production of klotho in human chronic renal failure kidney" *Biochem Biophys Res Co* 280 (4): 1015-20.

KOLEK O.I., HINES E.R., JONES M.D., LESUEUR L.K., LIPKO M.A., KIELA P.R., COLLINS J.F., HAUSSLER M.R., GHISHAN F.K. (2005): "1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 upregulates FGF23 gene expression in bone: the final link in a renal-gastrointestinal-skeletal axis that controls phosphate transport" *Am J Physiol-Gastr L* 289 (6): G1036-42.

KONDO T., KITAZAWA R., MAEDA S., KITAZAWA S. (2004): "1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 Rapidly Regulates the Mouse Osteoprotegerin Gene Through Dual Pathways" *J Bone Miner Res* 19 (9): 1411-9.

KRAFT W., DÜRR U.M. (2013): "Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin". Schattauer Verlag, Stuttgart, 7.Auflage

KRAJISNIK T., BJÖRKLUND P., MARSELL R., LJUNGGREN Ö., ÅKERSTRÖM G., JONSSON K.B., WESTIN G., LARSSON T.E. (2007): "Fibroblast growth factor-23 regulates parathyroid hormone and 1 α -hydroxylase expression in cultured bovine parathyroid cells" *J Endocrinol* 195 (1): 125-31.

KRAUSE G., WINKLER L., MUELLER S.L., HASELOFF R.F., PIONTEK J., BLASIG I.E. (2008): "Structure and function of claudins" *BBA-Biomembranes* 1778 (3): 631-45.

KUMAR R. (2009): "Pin1 regulates parathyroid hormone mRNA stability" *J Clin Invest* 119 (10): 2887-91.

KURO-O M. (2012): "Klotho in health and disease" *Curr Opin Nephrol Hy* 21 (4): 362-8.

KURO-O M., MATSUMURA Y., AIZAWA H., KAWAGUCHI H., SUGA T., UTSUGI T., OHYAMA Y., KURABAYASHI M., KANAME T., KUME E., IWASAKI H., IIDA A., SHIRAKI-IIDA T., NISHIKAWA S., NAGAI R., NABESHIMA Y.I. (1997): "Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing" *Nature* 390 (6655): 45-51.

KUROSU H., OGAWA Y., MIYOSHI M., YAMAMOTO M., NANDI A., ROSENBLATT K.P., BAUM M.G., SCHIAVI S., HU M.C., MOE O.W., KURO-O M. (2006): "Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho" *J Biol Chem* 281 (10): 6120-3.

KUROSU H., YAMAMOTO M., CLARK J.D., PASTOR J.V., NANDI A., GURNANI P., MCGUINNESS O.P., CHIKUDA H., YAMAGUCHI M., KAWAGUCHI H., SHIMOMURA I., TAKAYAMA Y., HERZ J., KAHN C.R., ROSENBLATT K.P., KURO-O M. (2005): "Suppression of aging in mice by the hormone Klotho" *Science* 309 (5742): 1829-33.

LAFLAMME G.H., JOWSEY J. (1972): "Bone and soft tissue changes with oral phosphate supplements" *J Clin Invest* 51 (11): 2834-40.

LARSSON T., NISBETH U.L.F., LJUNGGREN Ö., JÜPPNER H., JONSSON K.B. (2003): "Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers" *Kidney Int* 64 (6): 2272-9.

LAVI-MOSHAYOFF V., WASSERMAN G., MEIR T., SILVER J., NAVEH-MANY T. (2010): "PTH increases FGF23 gene expression and mediates the high-FGF23 levels of experimental kidney failure: a bone parathyroid feedback loop" *Am J Physiol-Renal* 299 (4): F882-F9.

LEE D.B., WALLING M.W., CORRY D.B. (1986): "Phosphate transport across rat jejunum: influence of sodium, pH, and 1,25-dihydroxyvitamin D₃" *Am J Physiol-Gastr L* 251 (1): G90-G5.

LEE D.B.N., WALLING M.W., GAFTER U., SILIS V., COBURN J.W. (1980): "Calcium and Inorganic Phosphate Transport in Rat Colon: DISSOCIATED RESPONSE TO 1,25-DIHYDROXYVITAMIN D₃" *J Clin Invest* 65 (6): 1326-31.

LEVI M., KEMPSON S.A., LÖTSCHER M., BIBER J., MURER H. (1996): "Molecular Regulation of Renal Phosphate Transport" *J Membrane Biol* 154 (1): 1-9.

LEVINE B.S., HO L.D., PASIECZNIK K., COBURN J.W. (1986): "Renal adaptation to phosphorus deprivation: Characterization of early events" *J Bone Miner Res* 1 (1): 33-40.

LI X., YANG H.Y., GIACHELLI C.M. (2006): "Role of the sodium-dependent phosphate cotransporter, Pit-1, in vascular smooth muscle cell calcification" *Circ Res* 98 (7): 905-12.

LINEVA A., KIENZLE E., DOBENECKER B. (2017): "Investigations on dietary phosphorus solubility in water and acid medium from foods and mineral sources used for dog and cat nutrition" Congress Proceedings of the 21st European Society of Veterinary and Comparative Nutrition Congress (ESVCN). Cirencester, UK

LIU S., TANG W., ZHOU J., STUBBS J.R., LUO Q., PI M., QUARLES L.D. (2006): "Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D" *J Am Soc Nephrol* 17 (5): 1305-15.

LOPEZ I., RODRIGUEZ-ORTIZ M.E., ALMADEN Y., GUERRERO F., OCA A.M.D., PINEDA C., SHALHOUB V., RODRIGUEZ M., AGUILERA-TEJERO E. (2011): "Direct and indirect effects of parathyroid hormone on circulating levels of fibroblast growth factor 23 in vivo" *Kidney Int* 80 (5): 475-82.

LUNDQUIST P., MURER H., BIBER J. (2007): "Type II Na⁺-Pi cotransporters in osteoblast mineral formation: regulation by inorganic phosphate" *Cell Physiol Biochem* 19 (1-4): 43-56.

MACHOLZ R., BENZ H., LEWERENZ H.J. (2010): "Lebensmitteltoxikologie" In: Taschenbuch für Lebensmittelchemiker, Frede W, Berlin Heidelberg, Springer Verlag 2010, 1167-82.

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" *J Anim Physiol An N* 99 (5): 801-9.

MACKAY E.M., OLIVER J. (1935): "RENAL DAMAGE FOLLOWING THE INGESTION OF A DIET CONTAINING AN EXCESS OF INORGANIC PHOSPHATE" *J Exp Med* 61 (3): 319-34.

MADJDPOUR C., BACIC D., KAISLING B., MURER H., BIBER J. (2004): "Segment-specific expression of sodium-phosphate cotransporters NaPi-IIa and -IIc and interacting proteins in mouse renal proximal tubules" *Pflug Arch* 448 (4): 402-10.

MAGAGNIN S., WERNER A., MARKOVICH D., SORRIBAS V., STANGE G., BIBER J., MURER H. (1993): "Expression cloning of human and rat renal cortex Na/Pi cotransport" *P Natl Acad Sci USA* 90 (13): 5979-83.

MAHONEY A.W., HENDRICKS D.G. (1978): "SOME EFFECTS OF DIFFERENT PHOSPHATE COMPOUNDS ON IRON AND CALCIUM ABSORPTION" *J Food Sci* 43 (5): 1473-6.

MALLUCHE H.H., MATTHEWS C., FAUGERE M.C., FANTI P., ENDRES D.B., FRIEDLER R.M. (1986): "1,25-Dihydroxyvitamin D maintains bone cell activity, and parathyroid hormone modulates bone cell number in dogs" *Endocrinology* 119 (3):1298-304.

MARKOWITZ G.S., STOKES M.B., RADHAKRISHNAN J., D'AGATI V.D. (2005): "Acute Phosphate Nephropathy following Oral Sodium Phosphate Bowel Purgative: An Underrecognized Cause of Chronic Renal Failure" *J Am Soc Nephrol* 16 (11): 3389-96.

MARKS J., CHURCHILL L.J., DEBNAM E.S., UNWIN R.J. (2008): "Matrix Extracellular Phosphoglycoprotein Inhibits Phosphate Transport" *J Am Soc Nephrol* 19 (12): 2313-20.

MARKS J., DEBNAM E.S., UNWIN R.J. (2010): "Phosphate homeostasis and the renal-gastrointestinal axis" *Am J Physiol-Renal* 299 (2): F285-F96.

MARKS J., SRAI S.K., BIBER J., MURER H., UNWIN R.J., DEBNAM E.S. (2006): "Intestinal phosphate absorption and the effect of vitamin D: a comparison of rats with mice" *Exp Physiol* 91 (3): 531-7.

MARRAFFA J.M., HUI A., STORK C.M. (2004): "Severe hyperphosphatemia and hypocalcemia following the rectal administration of a phosphate-containing Fleet pediatric enema" *Pediatr Emerg Care* 20 (7): 453-6.

MARTIN A., LIU S., DAVID V., LI H., KARYDIS A., FENG J.Q., QUARLES L.D. (2011): "Bone proteins PHEX and DMP1 regulate fibroblastic growth factor Fgf23 expression in osteocytes through a common pathway involving FGF receptor (FGFR) signaling" *FASEB J* 25 (8): 2551-62.

MARTIN D.R., RITTER C.S., SLATOPOLSKY E., BROWN A.J. (2005): "Acute regulation of parathyroid hormone by dietary phosphate" *Am J Physiol-Endoc M* 289 (4): E729-E34.

MARTIN K.J., GONZÁLEZ E.A. (2011): "Prevention and Control of Phosphate Retention/Hyperphosphatemia in CKD-MBD: What Is Normal, When to Start, and How to Treat?" *Clin J Am Soc Nephro* 6 (2): 440-6.

MARTIN R.R., LISEHORA G.R., BRAXTON M., JR, BARCIA P.J. (1987): "Fatal poisoning from sodium phosphate enema: Case report and experimental study" *JAMA* 257 (16): 2190-2.

MASUYAMA R., STOCKMANS I., TORREKENS S., VAN LOOVEREN R., MAES C., CARMELIET P., BOUILLON R., CARMELIET G. (2006): "Vitamin D receptor in chondrocytes promotes osteoclastogenesis and regulates FGF23 production in osteoblasts" *J Clin Invest* 116 (12): 3150-9.

MASUYAMA R., UEHARA M., SUZUKI K. (2000): "High P Diet Induces Acute Secretion of Parathyroidhormone without Alteration of Serum Calcium Levels in Rats" *Biosci Biotech Bioch* 64 (11): 2316-9.

MATISSEK R., STEINER G., FISCHER M. (2013): "Lebensmittelanalytik". Springer Verlag, Berlin Heidelberg 5.Auflage

MCHARDY G.J.R., PARSONS D.S. (1956): "THE ABSORPTION OF INORGANIC PHOSPHATE FROM THE SMALL INTESTINE OF THE RAT" *Q J Exp Physiol CMS* 41 (4): 398-409.

MEIR T., DURLACHER K., PAN Z., AMIR G., RICHARDS W.G., SILVER J., NAVEH-MANY T. (2014): "Parathyroid hormone activates the orphan nuclear receptor Nurr1 to induce FGF23 transcription" *Kidney Int* 86 (6): 1106-15.

MEYER H., ZENTEK J. (2016): "Ernährung des Hundes: Grundlagen-Fütterung-Diätetik". Enke Verlag, Berlin 8.Auflage

MITOBE M., YOSHIDA T., SUGIURA H., SHIROTA S., TSUCHIYA K., NIHEI H. (2005): "Oxidative stress decreases klotho expression in a mouse kidney cell line" *Nephron Exp Nephrol* 101 (2): e67-74.

MIYAMOTO K.-I., HAITO-SUGINO S., KUWAHARA S., OHI A., NOMURA K., ITO M., KUWAHATA M., KIDO S., TATSUMI S., KANEKO I., SEGAWA H. (2011): "Sodium-Dependent Phosphate Cotransporters: Lessons from Gene Knockout and Mutation Studies" *J Pharm Sci* 100 (9): 3719-30.

MIYAMOTO K.-I., ITO M., KUWAHATA M., KATO S., SEGAWA H. (2005): "Inhibition of Intestinal Sodium-dependent Inorganic Phosphate Transport by Fibroblast Growth Factor 23" *Ther Apher Dial* 9 (4): 331-5.

MIZOBUCHI M., OGATA H., HATAMURA I., KOIWA F., SAJI F., SHIIZAKI K., NEGI S., KINUGASA E., OOSHIMA A., KOSHIKAWA S., AKIZAWA T. (2006): "Up-regulation of Cbfa1 and Pit-1 in calcified artery of uraemic rats with severe hyperphosphataemia and secondary hyperparathyroidism" *Nephrol Dial Transpl* 21 (4): 911-6.

MOALLEM E., KILAV R., SILVER J., NAVEH-MANY T. (1998): "RNA-Protein binding and post-transcriptional regulation of parathyroid hormone gene expression by calcium and phosphate" *J Biol Chem* 273 (9): 5253-9.

MULRONEY S.E., WODA C.B., HALAIHEL N., LOUIE B., MCDONNELL K., SCHULKIN J., HARAMATI A., LEVI M. (2004): "Central control of renal sodium-phosphate (NaPi-2) transporters" *Am J Physiol-Renal* 286 (4): F647-52.

MURAYAMA A., TAKEYAMA K., KITANAKA S., KODERA Y., HOSOYA T., KATO S. (1998): "The promoter of the human 25-hydroxyvitamin D3 1 alpha-hydroxylase gene confers positive and negative responsiveness to PTH, calcitonin, and 1 alpha,25(OH)2D3" *Biochem Bioph Res Co* 249 (1): 11-6.

MURER H., HERNANDO N., FORSTER I., BIBER J. (2003): "Regulation of Na/Pi transporter in the proximal tubule" *Annu Rev Physiol* 65: 531-42.

MURER H., HERNANDO N., FORSTER L., BIBER J. (2001): "Molecular mechanisms in proximal tubular and small intestinal phosphate reabsorption (plenary lecture)" *Mol Membr Biol* 18 (1): 3-11.

NABESHIMA Y. (2008): "The discovery of α -Klotho and FGF23 unveiled new insight into calcium and phosphate homeostasis" *Cell Mol Life Sci* 65 (20): 3218-30.

NAKAGAWA N., KINOSAKI M., YAMAGUCHI K., SHIMA N., YASUDA H., YANO K., MORINAGA T., HIGASHIO K. (1998): "RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis" *Biochem Bioph Res Co* 253 (2): 395-400.

NAUMANN K., BASSLER R. (1976): "Handbuch der Landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik: Methodenbuch Band III". VDLUFA-Verlag, Darmstadt 3.Auflage, 4.Ergänzungslieferung

NAVEH-MANY T., RAHAMIMOV R., LIVNI N., SILVER J. (1995): "Parathyroid cell proliferation in normal and chronic renal failure rats. The effects of calcium, phosphate, and vitamin D" *J Clin Invest* 96 (4): 1786-93.

NECHAMA M., BEN-DOV I.Z., BRIATA P., GHERZI R., NAVEH-MANY T. (2008): "The mRNA decay promoting factor K-homology splicing regulator protein post-transcriptionally determines parathyroid hormone mRNA levels" *FASEB J* 22 (10): 3458-68.

NECHAMA M., UCHIDA T., MOR YOSEF-LEVI I., SILVER J., NAVEH-MANY T. (2009): "The peptidyl-prolyl isomerase Pin1 determines parathyroid hormone mRNA levels and stability in rat models of secondary hyperparathyroidism" *J Clin Invest* 119 (10): 3102-14.

NEER R.M., ARNAUD C.D., ZANCHETTA J.R., PRINCE R., GAICH G.A., REGINSTER J.Y., HODSMAN A.B., ERIKSEN E.F., ISH-SHALOM S., GENANT H.K., WANG O., MITLAK B.H. (2001): "Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis" *New Engl J Med* 344 (19): 1434-41.

NEMERE I., FARACH-CARSON M.C., ROHE B., STERLING T.M., NORMAN A.W., BOYAN B.D., SAFFORD S.E. (2004): "Ribozyme knockdown functionally links a 1,25(OH)2D3 membrane binding protein (1,25D3-MARRS) and phosphate uptake in intestinal cells" *P Natl Acad Sci USA* 101 (19): 7392-7.

NISHI H., NII-KONO T., NAKANISHI S., YAMAZAKI Y., YAMASHITA T., FUKUMOTO S., IKEDA K., FUJIMORI A., FUKAGAWA M. (2005): "Intravenous calcitriol therapy increases serum concentrations of fibroblast growth factor-23 in dialysis patients with secondary hyperparathyroidism" *Nephron Clin Pract* 101 (2): c94-9.

NISHIDA Y., TAKETANI Y., YAMANAKA-OKUMURA H., IMAMURA F., TANIGUCHI A., SATO T., SHUTO E., NASHIKI K., ARAI H., YAMAMOTO H., TAKEDA E. (2006): "Acute effect of oral phosphate loading on serum fibroblast growth factor 23 levels in healthy men" *Kidney Int* 70 (12): 2141-7.

NORDIN B.E.C. (1976): "Calcium, Phosphate, and Magnesium Metabolism: Clinical Physiology and Diagnostic Procedures". Churchill Livingstone

NRC (National Research Council) (2006): "Nutrient Requirements of Dogs and Cats". The National Academies Press, Washington D.C.

OHI A., HANABUSA E., UEDA O., SEGAWA H., HORIBA N., KANEKO I., KUWAHARA S., MUKAI T., SASAKI S., TOMINAGA R., FURUTANI J., ARANAMI F., OHTOMO S., OIKAWA Y., KAWASE Y., WADA N.A., TACHIBE T., KAKEFUDA M., TATEISHI H., MATSUMOTO K., TATSUMI S., KIDO S., FUKUSHIMA N., JISHAGE K., MIYAMOTO K. (2011): "Inorganic phosphate homeostasis in sodium-dependent phosphate cotransporter Npt2b(+)/(-) mice" *Am J Physiol-Renal* 301 (5): F1105-13.

ORI Y.M., HERMAN M.M., TOBAR A.M., CHERNIN G.M., GAFTER U.Z.I.M.D.P., CHAGNAC A.M., IZHAK O.B.M., KORZETS A.M.B. (2008): "Acute Phosphate Nephropathy-An Emerging Threat" *Am J Med Sci* 336 (4): 309-14.

PALMER G., ZHAO J., BONJOUR J., HOFSTETTER W., CAVERZASIO J. (1999): "In vivo expression of transcripts encoding the Glvr-1 phosphate transporter/retrovirus receptor during bone development" *Bone* 24 (1): 1-7.

PASSLACK N., ZENTEK J. (2013): "Urinary Calcium and Oxalate Excretion in Healthy Adult Cats Are Not Affected by Increasing Dietary Levels of Bone Meal in a Canned Diet" *PLoS ONE* 8 (8): e70530.

PASTOOR F.J.H., VAN 'T KLOOSTER A.T., MATHOT J.N.J.J., BEYNEN A.C. (1995): "Increasing Phosphorus Intake Reduces Urinary Concentrations of Magnesium and Calcium in Adult Ovariectomized Cats Fed Purified Diets" *J Nutr* 125 (5): 1334-41.

PATEL S.R., KE H.Q., HSU C.H. (1994a): "Regulation of calcitriol receptor and its mRNA in normal and renal failure rats" *Kidney Int* 45 (4): 1020-7.

PATEL S.R., QIONG KE H., VANHOLDER R., HSU C.H. (1994b): "Inhibition of nuclear uptake of calcitriol receptor by uremic ultrafiltrate" *Kidney Int* 46 (1): 129-33.

PERWAD F., AZAM N., ZHANG M.Y.H., YAMASHITA T., TENENHOUSE H.S., PORTALE A.A. (2005): "Dietary and Serum Phosphorus Regulate Fibroblast Growth Factor 23 Expression and 1,25-Dihydroxyvitamin D Metabolism in Mice" *Endocrinology* 146 (12): 5358-64.

PERWAD F., PORTALE A.A. (2011): "Vitamin D metabolism in the kidney: regulation by phosphorus and fibroblast growth factor 23" *Mol Cell Endocrinol* 347 (1-2): 17-24.

PETERLIK M., WASSERMAN R. (1978): "Effect of vitamin D on transepithelial phosphate transport in chick intestine" *Am J Physiol-Gastr L* 234 (4): G379-G88.

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): 1000-6.

PORTALE A.A., HALLORAN B.P., MORRIS R.C., JR. (1987): "Dietary intake of phosphorus modulates the circadian rhythm in serum concentration of phosphorus. Implications for the renal production of 1,25-dihydroxyvitamin D" *J Clin Invest* 80 (4): 1147-54.

PORTALE A.A., HALLORAN B.P., MORRIS R.C., JR. (1989): "Physiologic regulation of the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D by phosphorus in normal men" *J Clin Invest* 83 (5): 1494-9.

PORTALE A.A., HALLORAN B.P., MURPHY M.M., MORRIS R.C., JR. (1986): "Oral intake of phosphorus can determine the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D by determining its production rate in humans" *J Clin Invest* 77 (1): 7-12.

PRICE C.P. (1993): "Multiple forms of human serum alkaline phosphatase: detection and quantitation" *Ann Clin Biochem* 30 (4): 355-72.

RADANOVIC T., WAGNER C.A., MURER H., BIBER J. (2005): "Regulation of Intestinal Phosphate Transport I. Segmental expression and adaptation to low- P_i diet of the type IIb Na^+P_i cotransporter in mouse small intestine" *Am J Physiol-Gastr L* 288 (3): G496-G500.

RAVERA S., VIRKKI L.V., MURER H., FORSTER I.C. (2007): "Deciphering P_i T transport kinetics and substrate specificity using electrophysiology and flux measurements" *Am J Physiol-Cell Ph* 293 (2): C606-20.

RAZZAQUE M.S. (2011): "Phosphate toxicity: new insights into an old problem" *Clin Sci* 120 (3): 91-7.

REISS E., CANTERBURY J.M., BERCOVITZ M.A., KAPLAN E.L. (1970): "The role of phosphate in the secretion of parathyroid hormone in man" *J Clin Invest* 49 (11): 2146-9.

RHEE Y., BIVI N., FARROW E., LEZCANO V., PLOTKIN L.I., WHITE K.E., BELLIDO T. (2011): "Parathyroid hormone receptor signaling in osteocytes increases the expression of fibroblast growth factor-23 in vitro and in vivo" *Bone* 49 (4): 636-43.

RICHARDS J., WEDEKIND K. (2012): "Avoiding mineral excesses for optimal pet nutrition" <http://www.petfoodindustry.com/articles/2806-avoiding-mineral-excesses-for-optimal-pet-nutrition>, zugegriffen am 17. August 2016.

RIGGS B.L. (1991): "Overview of Osteoporosis" *West J Med* 154 (1): 63-77.

RITTHALER T., TRAEBERT M., LOTSCHER M., BIBER J., MURER H., KAISSLING B. (1999): "Effects of phosphate intake on distribution of type II Na/Pi cotransporter mRNA in rat kidney" *Kidney Int* 55 (3): 976-83.

RITZ E., HAHN K., KETTELER M., KUHLMANN M.K., MANN J. (2012): "Gesundheitsrisiko durch Phosphatzusätze in Nahrungsmitteln" *Dtsch Arztebl Int* 109 (4): 49-55.

RODRIGUES P., HEARD J.M. (1999): "Modulation of Phosphate Uptake and Amphotropic Murine Leukemia Virus Entry by Posttranslational Modifications of PIT-2" *J Virol* 73 (5): 3789-99.

RODRIGUEZ-ORTIZ M.E., LOPEZ I., MUÑOZ-CASTAÑEDA J.R., MARTINEZ-MORENO J.M., RAMÍREZ A.P., PINEDA C., CANALEJO A., JAEGER P., AGUILERA-TEJERO E., RODRIGUEZ M., FELSENFELD A., ALMADEN Y. (2012): "Calcium Deficiency Reduces Circulating Levels of FGF23" *J Am Soc Nephrol* 23 (7): 1190-7.

ROELFSEMA F., VAN DER HEIDE D., SMEENK D. (1980): "Circadian rhythms of urinary electrolyte excretion in freely moving rats" *Life Sci* 27 (24): 2303-9.

ROSS P.D., KNOWLTON W. (1998): "Rapid bone loss is associated with increased levels of biochemical markers" *J Bone Miner Res* 13 (2): 297-302.

RUSSELL J., LETTIERI D., SHERWOOD L.M. (1986): "SUPPRESSION BY 1,25(OH)₂D₃ OF TRANSCRIPTION OF THE PRE-PROPARATHYROID HORMONE GENE" *Endocrinology* 119 (6): 2864-6.

SABBAGH Y. (2013): "Phosphate as a sensor and signaling molecule" *Clin Nephrol* 79 (1): 57-65.

SABBAGH Y., GIRAL H., CALDAS Y., LEVI M., SCHIAVI S.C. (2011): "Intestinal Phosphate Transport" *Adv Chronic Kidney D* 18 (2): 85-90.

SABBAGH Y., O'BRIEN S.P., SONG W., BOULANGER J.H., STOCKMANN A., ARBEENY C., SCHIAVI S.C. (2009): "Intestinal Npt2b Plays a Major Role in Phosphate Absorption and Homeostasis" *J Am Soc Nephrol* 20 (11): 2348-58.

SABBAGH Y., SCHIAVI S.C. (2014): "Role of NPT2b in health and chronic kidney disease" *Curr Opin Nephrol Hy* 23 (4): 377-84.

SAGE A.P., LU J., TINTUT Y., DEMER L.L. (2011): "Hyperphosphatemia-induced nanocrystals upregulate the expression of bone morphogenetic protein-2 and osteopontin genes in mouse smooth muscle cells in vitro" *Kidney Int* 79 (4): 414-22.

SALAÜN C., GYAN E., RODRIGUES P., HEARD J.M. (2002): "Pit2 Assemblies at the Cell Surface Are Modulated by Extracellular Inorganic Phosphate Concentration" *J Virol* 76 (9): 4304-11.

SCHASCHL C., KIENZLE E., DOBENECKER B. (2015): "Effect of high phosphorus intake from bonemeal on parameters of renal health in cats" *Congress Proceedings of the 19th European Society of Veterinary and Comparative Nutrition Congress (ESVCN)*. Toulouse, France

SCHIAVI S.C., KUMAR R. (2004): "The phosphatonin pathway: new insights in phosphate homeostasis" *Kidney Int* 65 (1): 1-14.

SCHIAVI S.C., TANG W., BRACKEN C., O'BRIEN S.P., SONG W., BOULANGER J., RYAN S., PHILLIPS L., LIU S., ARBEENY C., LEDBETTER S., SABBAGH Y. (2012): "Npt2b deletion attenuates hyperphosphatemia associated with CKD" *J Am Soc Nephrol* 23 (10): 1691-700.

SCHNEIDER P., MULLER-PEDDINGHAUS R., PAPPRITZ G., TRIEB G., TRAUTWEIN G., UEBERBERG H. (1980a): "Die Kaliumhydrogenphosphat-induzierte Nephropathie des Hundes. II. Glomeruläre Veränderungen [Potassium hydrogen phosphate induced nephropathy in the dog. II. Glomerular alterations - author's trans.]" *Vet Pathol* 17 (6): 720-37.

SCHNEIDER P., PAPPRITZ G., MULLER-PEDDINGHAUS R., BAUER M., LEHMANN H., UEBERBERG H., TRAUTWEIN G. (1980b): "Die Kaliumhydrogenphosphat-induzierte Nephropathie des Hundes. I. Pathogenese der Tubulusatrophie [Potassium hydrogen phosphate induced nephropathy in the dog. I. Pathogenesis of tubular atrophy - author's trans.]" *Vet Pathol* 17 (6): 699-719.

SCHÜNEMANN C., LASS N., MEYER H. (1989): "Intestinaler Stoffwechsel von Calcium, Magnesium und Phosphor beim Hund" *J Anim Physiol An N* 61 (1-5): 193-205.

SEGAWA H., KANEKO I., TAKAHASHI A., KUWAHATA M., ITO M., OHKIDO I., TATSUMI S., MIYAMOTO K. (2002): "Growth-related Renal Type II Na/P_i Cotransporter" *J Biol Chem* 277 (22): 19665-72.

SEGAWA H., KANEKO I., YAMANAKA S., ITO M., KUWAHATA M., INOUE Y., KATO S., MIYAMOTO K.-I. (2004): "Intestinal Na-P_i cotransporter adaptation to dietary P_i content in vitamin D receptor null mice" *Am J Physiol-Renal* 287 (1): F39-F47.

SEGAWA H., YAMANAKA S., ITO M., KUWAHATA M., SHONO M., YAMAMOTO T., MIYAMOTO K.-I. (2005): "Internalization of renal type IIc Na-P_i cotransporter in response to a high-phosphate diet" *Am J Physiol-Renal* 288 (3): F587-F96.

SEGAWA H., YAMANAKA S., ONITSUKA A., TOMOE Y., KUWAHATA M., ITO M., TAKETANI Y., MIYAMOTO K. (2007): "Parathyroid hormone-dependent endocytosis of renal type IIc Na-P_i Cotransporter" *Am J Physiol-Renal* 292 (1): F395-403.

SHALHOUB V., WARD S.C., SUN B., STEVENS J., RENSHAW L., HAWKINS N., RICHARDS W.G. (2011): "Fibroblast Growth Factor 23 (FGF23) and Alpha-Klotho Stimulate Osteoblastic MC3T3.E1 Cell Proliferation and Inhibit Mineralization" *Calcified Tissue Int* 89 (2): 140-50.

SHEFFY B.E., WILLIAMS A.J., ZIMMER J.F., RYAN G.D. (1985): "Nutrition and metabolism of the geriatric dog" *Cornell Vet* 75 (2): 324-47.

SHIMADA T., HASEGAWA H., YAMAZAKI Y., MUTO T., HINO R., TAKEUCHI Y., FUJITA T., NAKAHARA K., FUKUMOTO S., YAMASHITA T. (2004): "FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis" *J Bone Miner Res* 19 (3): 429-35.

SHUTO E., TAKETANI Y., TANAKA R., HARADA N., ISSHIKI M., SATO M., NASHIKI K., AMO K., YAMAMOTO H., HIGASHI Y., NAKAYA Y., TAKEDA E. (2009): "Dietary Phosphorus Acutely Impairs Endothelial Function" *J Am Soc Nephrol* 20 (7): 1504-12.

SILVER J., RUSSELL J., SHERWOOD L.M. (1985): "Regulation by vitamin D metabolites of messenger ribonucleic acid for preproparathyroid hormone in isolated bovine parathyroid cells" *P Natl Acad Sci USA* 82 (12): 4270-3.

SIMONET W.S., LACEY D.L., DUNSTAN C.R., KELLEY M., CHANG M.S., LUTHY R., NGUYEN H.Q., WOODEN S., BENNETT L., BOONE T., SHIMAMOTO G., DEROSE M., ELLIOTT R., COLOMBERO A., TAN H.L., TRAIL G., SULLIVAN J., DAVY E., BUCAY N., RENSHAW-GEGG L., HUGHES T.M., HILL D., PATTISON W., CAMPBELL P., SANDER S., VAN G., TARPLEY J., DERBY P., LEE R., BOYLE W.J. (1997): "Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density" *Cell* 89 (2): 309-19.

SKADHAUGE E., THOMAS D.H. (1979): "Transepithelial Transport of K^+ , NH_4^+ , Inorganic Phosphate and Water by Hen (*Gallus domesticus*) Lower Intestine (Colon and Coprodeum) Perfused Luminally in vivo" *Pflug Arch* 379 (3): 237-43.

SOMMER S., BERNDT T., CRAIG T., KUMAR R. (2007): "The phosphatonins and the regulation of phosphate transport and vitamin D metabolism" *J Steroid Biochem* 103 (3-5): 497-503.

STAUBER A., RADANOVIC T., STANGE G., MURER H., WAGNER C.A., BIBER J. (2005): "Regulation of Intestinal Phosphate Transport II. Metabolic acidosis stimulates Na^+ -dependent phosphate absorption and expression of the Na^+ - P_i cotransporter NaPi-IIb in small intestine" *Am J Physiol-Gastr L* 288 (3): G501-G6.

STEVENSON A.E., BLACKBURN J.M., MARKWELL P.J., ROBERTSON W.G. (2004): "Nutrient intake and urine composition in calcium oxalate stone-forming dogs: comparison with healthy dogs and impact of dietary modification" *Vet Ther* 5 (3): 218-31.

STREIFF E.L., ZWISCHENBERGER B., BUTTERWICK R.F., WAGNER E., IBEN C., BAUER J.E. (2002): "A Comparison of the Nutritional Adequacy of Home-Prepared and Commercial Diets for Dogs" *J Nutr* 132 (6): 1698S-700S.

SUGIURA H., YOSHIDA T., TSUCHIYA K., MITOBE M., NISHIMURA S., SHIROTA S., AKIBA T., NIHEI H. (2005): "Klotho reduces apoptosis in experimental ischaemic acute renal failure" *Nephrol Dial Transpl* 20 (12): 2636-45.

SUZUKI A., GHAYOR C., GUICHEUX J., MAGNE D., QUILLARD S., KAKITA A., ONO Y., MIURA Y., OISO Y., ITOH M., CAVERZASIO J. (2006): "Enhanced expression of the inorganic phosphate transporter Pit-1 is involved in BMP-2-induced matrix mineralization in osteoblast-like cells" *J Bone Miner Res* 21 (5): 674-83.

SZABÓ A., RITZ E., SCHMIDT-GAYK H., REICHEL H. (1996): "Abnormal expression and regulation of vitamin D receptor in experimental uremia" *Nephron* 73 (4): 619-28.

SZABÓ A., SCHMUTZ A., PESIAN S., SCHMIDT-GAYK H., RITZ E., REICHEL H. (1998): "Regulation of intestinal vitamin D receptor expression in experimental uraemia: effects of parathyroidectomy and administration of PTH" *Nephrol Dial Transpl* 13 (2): 340-9.

TAM C.S., HEERSCHE J.N., MURRAY T.M., PARSONS J.A. (1982): "Parathyroid hormone stimulates the bone apposition rate independently of its resorptive action: differential effects of intermittent and continuous administration" *Endocrinology* 110 (2): 506-12.

TANAKA Y., DELUCA H.F. (1973): "The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus" *Arch Biochem Biophys* 154 (2): 566-74.

TANAKA Y., DELUCA H.F. (1984): "Rat renal 25-hydroxyvitamin D₃ 1- and 24-hydroxylases: their in vivo regulation" *Am J Physiol* 246 (2 Pt 1): E168-73.

TATSUMI S., SEGAWA H., MORITA K., HAGA H., KOUDA T., YAMAMOTO H., INOUE Y., NII T., KATAI K., TAKETANI Y., MIYAMOTO K., TAKEDA E. (1998): "Molecular Cloning and Hormonal Regulation of PiT-1, a Sodium-Dependent Phosphate Cotransporter from Rat Parathyroid Glands" *Endocrinology* 139 (4): 1692-9.

TAYLOR A.N. (1974): "In vitro Phosphate Transport in Chick Ileum: Effect of Cholecalciferol, Calcium, Sodium and Metabolic Inhibitors" *J Nutr* 104 (4): 489-94.

TENENHOUSE H.S., GAUTHIER C., MARTEL J., GESEK F.A., COUTERMARSH B.A., FRIEDMAN P.A. (1998a): "Na⁺-Phosphate Cotransport in Mouse Distal Convoluted Tubule Cells: Evidence for Glvr-1 and Ram-1 Gene Expression" *J Bone Miner Res* 13 (4): 590-7.

TENENHOUSE H.S., ROY S., MARTEL J., GAUTHIER C. (1998b): "Differential expression, abundance, and regulation of Na⁺-phosphate cotransporter genes in murine kidney" *Am J Physiol-Renal* 275 (4): F527-F34.

TONELLI M., SACKS F., PFEFFER M., GAO Z., CURHAN G., CHOLESTEROL F.T., INVESTIGATORS R.E.T. (2005): "Relation Between Serum Phosphate Level and Cardiovascular Event Rate in People With Coronary Disease" *Circulation* 112 (17): 2627-33.

TORRES P.A.U., DE BRAUWERE D.P. (2011): "Three feedback loops precisely regulating serum phosphate concentration" *Kidney Int* 80 (5): 443-5.

URAKAWA I., YAMAZAKI Y., SHIMADA T., IJIMA K., HASEGAWA H., OKAWA K., FUJITA T., FUKUMOTO S., YAMASHITA T. (2006): "Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23" *Nature* 444 (7120): 770-4.

URIBARRI J. (2007): "PHOSPHORUS METABOLISM AND MANAGEMENT IN CHRONIC KIDNEY DISEASE: Phosphorus Homeostasis in Normal Health and in Chronic Kidney Disease Patients with Special Emphasis on Dietary Phosphorus Intake" *Semin Dialysis* 20 (4): 295-301.

URIBARRI J., CALVO M.S. (2003): "Hidden Sources of Phosphorus in the Typical American Diet: Does it Matter in Nephrology?" *Semin Dialysis* 16 (3): 186-8.

VERVLOET M.G., VAN ITTERSUM F.J., BÜTTLER R.M., HEIJBOER A.C., BLANKENSTEIN M.A., TER WEE P.M. (2011): "Effects of Dietary Phosphate and Calcium Intake on Fibroblast Growth Factor-23" *Clin J Am Soc Nephro* 6 (2): 383-9.

VILLA-BELLOSTA R., RAVERA S., SORRIBAS V., STANGE G., LEVI M., MURER H., BIBER J., FORSTER I.C. (2009): "The Na^+ - P_i cotransporter PiT-2 (SLC20A2) is expressed in the apical membrane of rat renal proximal tubules and regulated by dietary P_i " *Am J Physiol-Renal* 296 (4): F691-F9.

VIRKKI L.V., BIBER J., MURER H., FORSTER I.C. (2007): "Phosphate transporters: a tale of two solute carrier families" *Am J Physiol-Renal* 293 (3): F643-F54.

VIRKKI L.V., FORSTER I.C., BIBER J., MURER H. (2005): "Substrate interactions in the human type IIa sodium-phosphate cotransporter (NaPi-IIa)" *Am J Physiol-Renal* 288 (5): F969-81.

WALTON J., GRAY T.K. (1979): "Absorption of Inorganic Phosphate in the Human Small Intestine" *Clin Sci* 56 (5): 407-12.

WEBER T.J., LIU S., INDRIDASON O.S., QUARLES L.D. (2003): "Serum FGF23 levels in normal and disordered phosphorus homeostasis" *J Bone Miner Res* 18 (7): 1227-34.

WESSON L.G.J. (1964): "ELECTROLYTE EXCRETION IN RELATION TO DIURNAL CYCLES OF RENAL FUNCTION: PLASMA ELECTROLYTE CONCENTRATIONS AND ALDOSTERONE SECRETION BEFORE AND DURING SALT AND WATER BALANCE CHANGES IN NORMOTENSIVE SUBJECTS" *Medicine* 43 (5): 547-92.

WILL C., FROMM M., MÜLLER D. (2008): "CLAUDIN TIGHT JUNCTION PROTEINS: NOVEL ASPECTS IN PARACELLULAR TRANSPORT" *Periton Dialysis Int* 28 (6): 577-84.

WOLF M. (2010): "Forging Forward with 10 Burning Questions on FGF23 in Kidney Disease" *J Am Soc Nephrol* 21 (9): 1427-35.

XU H., COLLINS J.F., BAI L., KIELA P.R., GHISHAN F.K. (2001): "Regulation of the human sodium-phosphate cotransporter NaPi-IIb gene promoter by epidermal growth factor" *Am J Physiol-Cell Ph* 280 (3): C628-C36.

XU H., INOUE M., HINES E.R., COLLINS J.F., GHISHAN F.K. (2003a): "Transcriptional regulation of the human NaPi-IIb cotransporter by EGF in Caco-2 cells involves c-myc" *Am J Physiol-Cell Ph* 284 (5): C1262-C71.

XU H., UNO J.K., INOUE M., XU L., DREES J.B., COLLINS J.F., GHISHAN F.K. (2003b): "Regulation of intestinal NaPi-IIb cotransporter gene expression by estrogen" *Am J Physiol-Gastr L* 285 (6): G1317-G24.

XUE Y., XIAO Y., LIU J., KARAPLIS A.C., POLLAK M.R., BROWN E.M., MIAO D., GOLTZMAN D. (2012): "The calcium-sensing receptor complements parathyroid hormone-induced bone turnover in discrete skeletal compartments in mice" *Am J Physiol-Endoc M* 302 (7): E841-E51.

YOSHIDA T., FUJIMORI T., NABESHIMA Y.-I. (2002): "Mediation of Unusually High Concentrations of 1,25-Dihydroxyvitamin D in Homozygous *klotho* Mutant Mice by Increased Expression of Renal 1α -Hydroxylase Gene" *Endocrinology* 143 (2): 683-9.

YOSHIKO Y., CANDELIERE G.A., MAEDA N., AUBIN J.E. (2007): "Osteoblast autonomous Pi regulation via Pit1 plays a role in bone mineralization" *Mol Cell Biol* 27 (12): 4465-74.

YU J., DENG M., ZHAO J., HUANG L. (2010): "Decreased expression of klotho gene in uremic atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice" *Biochem Bioph Res Co* 391 (1): 261-6.

YU X., SABBAGH Y., DAVIS S.I., DEMAY M.B., WHITE K.E. (2005): "Genetic dissection of phosphate- and vitamin D-mediated regulation of circulating Fgf23 concentrations" *Bone* 36 (6): 971-7.

YUAN Q., SATO T., DENSMORE M., SAITO H., SCHÜLER C., ERBEN R.G., LANSKE B. (2011): "FGF-23/Klotho signaling is not essential for the phosphaturic and anabolic functions of PTH" *J Bone Miner Res* 26 (9): 2026-35.

ZOUIDIS E., GHIRLANDA-KELLER C., GOSTELI-PETER M., ZAPF J., SCHMID C. (2004): "Regulation of phosphate (Pi) transport and NaPi-III transporter (Pit-1) mRNA in rat osteoblasts" *J Endocrinol* 181 (3): 531-40.

IX. ANHANG

Anh. Tab. I: TS-Aufnahme [g/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	14,1	13,6	13,9	14,8	16,8	16,4	16,6	15,5	14,0
2	11,7	13,8	13,5	12,0	13,2	13,9	14,9	14,1	13,1
3	10,8	15,7	14,6	11,2	10,9	12,3	13,8	13,7	12,7
4	12,2	14,0	15,6	15,3	15,0	14,9	14,5	13,8	14,2
5	13,7	15,1	15,9	14,5	14,6	15,9	17,6	17,1	14,4
6	13,5	15,5	14,1	12,8	15,6	16,9	18,0	16,6	12,4
7	14,4	14,2	14,3	12,7	14,5	15,8	17,8	16,4	13,3
8	11,8	13,2	13,8	14,4	16,1	15,2	14,7	12,9	13,4
MW	12,8	14,4	14,4	13,5	14,6	15,2	16,0	15,0	13,4
s	1,3	0,9	0,9	1,5	1,9	1,5	1,7	1,6	0,7

Anh. Tab. II: Schmalzzulage in % der TS-Aufnahme [%]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	28	19	14	29	30	35	37	32	21
2	0	12	9	10	6	15	21	19	8
3	0	29	23	10	3	16	24	24	17
4	9	16	18	25	23	28	25	21	17
5	16	16	15	20	14	23	28	30	19
6	14	25	19	16	21	31	36	35	13
7	25	19	14	15	16	27	34	33	14
8	7	9	9	21	24	28	24	17	11
MW	12	18	15	18	17	25	29	26	15
s	10	7	5	7	9	7	6	7	4

Anh. Tab. III: Ca-Aufnahme [mg/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	70,7	319,8	322,6	439,7	215,0	330,2	436,4	332,4	204,2
2	78,6	345,0	324,0	445,6	221,4	355,9	475,8	352,3	216,1
3	77,9	351,3	332,8	425,1	213,4	346,4	469,1	357,6	211,6
4	78,2	344,9	351,5	477,7	213,0	333,1	451,5	351,5	219,7
5	80,7	363,5	366,1	478,0	225,3	374,3	512,9	373,2	214,6
6	81,4	331,3	330,8	446,9	222,3	359,6	468,5	339,4	197,5
7	76,2	327,2	329,2	449,6	220,2	351,7	477,4	342,6	208,6
8	73,2	345,4	344,3	473,7	223,7	336,2	452,8	338,3	219,1
MW	77,1	341,1	337,7	454,5	219,3	348,4	468,0	348,4	211,4
s	3,6	14,1	15,1	19,6	4,8	15,0	22,9	13,1	7,7

Anh. Tab. IV: P-Aufnahme [mg/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	51,8	244,7	248,5	253,5	159,2	259,9	250,7	265,5	149,4
2	59,5	264,5	249,8	257,0	164,9	280,9	274,5	282,2	158,9
3	54,8	266,9	255,1	244,7	154,8	270,2	266,2	283,4	152,2
4	55,7	263,7	268,0	275,4	157,4	262,0	259,2	280,6	160,7
5	58,1	278,5	281,7	275,6	167,4	295,1	295,5	298,5	157,4
6	58,6	253,8	251,3	257,7	165,1	283,4	269,8	271,5	145,0
7	54,4	250,7	252,4	259,3	163,6	277,4	274,9	274,1	153,1
8	55,4	264,4	263,8	273,2	165,9	264,8	260,6	270,5	160,7
MW	56,0	260,9	258,8	262,1	162,3	274,2	268,9	278,3	154,7
s	2,6	10,7	11,5	11,4	4,6	12,2	13,5	10,3	5,7

Anh. Tab. V: Mg-Aufnahme [mg/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	10,9	13,2	10,4	14,2	10,5	13,2	13,9	10,1	11,2
2	12,2	14,5	10,6	14,4	11,0	14,5	15,4	10,9	12,2
3	11,9	13,8	10,1	13,6	9,8	13,3	14,3	10,2	10,6
4	12,0	14,2	11,2	15,4	10,4	13,3	14,4	10,6	12,0
5	12,4	15,2	11,7	15,4	11,2	15,1	16,5	11,4	11,9
6	12,5	13,8	10,3	14,4	11,0	14,5	15,0	10,4	11,0
7	11,7	13,6	10,7	14,5	10,9	14,2	15,3	10,5	11,6
8	11,4	14,3	10,9	15,3	11,0	13,5	14,5	10,3	12,2
MW	11,9	14,1	10,7	14,7	10,7	14,0	14,9	10,6	11,6
s	0,5	0,6	0,5	0,7	0,4	0,7	0,8	0,4	0,6

Anh. Tab. VI: Na-Aufnahme [mg/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	38,2	39,0	198,8	23,8	164,3	38,7	47,6	36,7	48,9
2	43,9	43,1	199,9	24,1	169,7	42,9	53,2	40,1	52,8
3	40,4	38,9	204,1	23,0	161,5	36,7	47,5	35,8	47,3
4	41,1	41,7	214,5	25,9	162,6	38,6	49,1	38,5	52,5
5	42,9	45,0	225,4	25,9	172,4	44,6	56,9	41,9	51,8
6	43,2	40,9	201,2	24,2	170,1	42,6	51,8	38,0	47,9
7	40,1	40,5	202,0	24,3	168,5	42,0	52,9	38,5	50,5
8	40,9	42,4	211,1	25,7	171,1	39,7	49,9	37,8	53,0
MW	41,3	41,4	207,1	24,6	167,5	40,7	51,1	38,4	50,6
s	1,9	2,1	9,2	1,1	4,1	2,7	3,2	1,9	2,3

Anh. Tab. VII: K-Aufnahme [mg/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	77,8	74,4	83,9	71,1	90,8	75,0	72,9	325,5	277,9
2	84,6	81,0	85,2	71,3	94,5	81,7	82,0	344,8	293,4
3	88,0	79,1	82,9	69,9	86,7	75,9	75,7	351,0	289,6
4	87,5	80,0	90,7	77,9	89,6	75,4	75,6	344,3	299,0
5	89,8	85,0	95,2	76,3	95,7	85,5	87,6	365,4	291,8
6	90,6	77,4	84,0	72,8	94,4	82,0	79,1	332,3	268,4
7	85,4	76,5	86,1	74,9	93,5	80,4	81,9	335,4	283,6
8	78,8	80,5	88,7	77,9	94,7	76,5	76,7	331,3	297,9
MW	85,3	79,2	87,1	74,0	92,5	79,0	78,9	341,2	287,7
s	4,8	3,2	4,2	3,2	3,1	3,9	4,7	12,9	10,5

Anh. Tab. VIII: Cl-Aufnahme [mg/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	36,1	38,6	35,9	61,8	36,6	38,5	38,2	34,8	20,7
2	37,6	41,4	35,9	61,9	37,4	41,3	43,0	36,7	22,2
3	42,7	43,0	37,5	60,8	37,2	40,9	41,6	37,9	20,7
4	41,8	41,7	39,2	67,7	36,3	38,9	39,8	36,8	22,3
5	42,5	43,7	40,7	66,2	38,2	43,5	45,9	39,0	21,9
6	42,9	39,9	37,1	63,3	37,7	41,8	41,2	35,5	20,2
7	40,8	39,4	36,5	65,3	37,3	40,9	43,1	35,8	21,3
8	35,1	41,6	38,4	67,8	38,0	39,1	40,2	35,4	22,4
MW	39,9	41,2	37,7	64,4	37,3	40,6	41,6	36,5	21,5
s	3,2	1,8	1,7	2,8	0,6	1,7	2,4	1,4	0,8

Anh. Tab. IX: fäkale TS-Exkretion [g/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	1,3	1,8	1,9	2,7	2,5	2,0	3,2	2,0	1,4
2	1,9	2,9	1,9	3,1	2,4	2,4	3,0	2,0	2,2
3	1,1	2,3	2,0	2,7	1,7	1,9	2,7	2,2	1,8
4	1,1	2,2	2,3	3,5	2,0	2,2	2,3	2,4	1,9
5	1,9	3,1	2,2	3,4	1,7	2,4	3,4	2,5	2,3
6	1,6	2,7	2,5	3,6	2,1	2,5	3,3	2,4	1,9
7	2,3	2,2	2,4	3,9	2,2	2,1	3,3	3,4	2,2
8	1,0	2,0	2,5	3,2	1,8	2,0	2,4	1,8	1,7
MW	1,5	2,4	2,2	3,3	2,0	2,2	2,9	2,3	1,9
s	0,5	0,5	0,2	0,4	0,3	0,2	0,4	0,5	0,3

Anh. Tab. X: fäkale Ca-Exkretion [mg/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	93,0	303,8	341,4	414,7	283,8	277,4	434,6	290,9	197,3
2	145,2	427,2	345,4	470,4	252,4	352,3	490,4	334,6	265,2
3	73,7	377,3	306,4	406,9	229,7	283,7	480,0	340,0	222,3
4	78,6	358,1	357,7	520,3	230,2	325,0	430,9	389,8	253,4
5	119,4	406,9	343,5	502,5	192,2	363,9	523,5	334,9	254,2
6	104,4	416,8	341,7	528,0	251,2	370,0	527,2	362,0	232,9
7	157,2	310,7	382,7	593,7	242,2	342,0	494,7	418,4	235,8
8	74,3	326,6	394,3	495,0	215,1	271,0	436,4	284,6	226,4
MW	105,7	365,9	351,6	491,4	237,1	323,2	477,2	344,4	235,9
s	32,3	48,8	27,2	61,2	27,4	40,4	39,2	45,5	21,6

Anh. Tab. XI: fäkale P-Exkretion [mg/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	27,2	182,0	174,8	206,6	133,8	143,6	183,5	111,2	91,4
2	46,3	246,5	169,7	236,0	141,3	189,3	215,6	165,9	128,2
3	23,1	217,9	131,3	210,3	126,9	167,8	226,6	148,6	100,0
4	24,3	203,8	179,8	254,9	126,6	171,7	196,7	181,4	109,6
5	40,7	229,3	145,5	246,5	99,1	194,8	244,3	147,5	113,6
6	42,0	222,2	153,5	263,5	143,2	203,4	231,9	155,1	105,9
7	51,1	181,7	184,9	286,2	131,7	181,3	212,6	183,2	109,0
8	23,3	192,9	203,9	247,9	107,2	138,7	209,6	137,3	105,5
MW	34,7	209,5	167,9	244,0	126,2	173,8	215,1	153,8	107,9
s	11,5	23,4	23,4	26,5	15,6	23,3	19,4	23,7	10,6

Anh. Tab. XII: fäkale Mg-Exkretion [mg/kg KM/Tag]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	8,0	11,6	10,7	11,6	13,2	11,8	13,6	8,3	7,0
2	11,8	15,6	12,6	13,5	11,9	14,7	15,9	11,0	12,4
3	7,0	13,3	8,8	11,7	10,8	11,7	14,2	12,1	8,4
4	6,7	12,7	10,6	15,2	10,0	13,4	13,1	15,0	15,7
5	9,7	14,9	9,5	15,2	8,8	14,9	16,2	12,7	10,0
6	10,0	15,1	9,8	16,0	12,2	15,9	16,3	12,9	9,3
7	12,2	11,8	10,7	18,0	12,4	13,8	14,7	17,9	10,8
8	6,6	11,4	12,1	14,4	9,7	10,6	12,9	9,9	9,5
MW	9,0	13,3	10,6	14,5	11,1	13,3	14,6	12,5	10,4
s	2,3	1,7	1,3	2,2	1,5	1,8	1,4	3,0	2,7

Anh. Tab. XIII: sV TS [%]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	90,5	86,6	86,1	82,0	85,3	87,6	80,9	86,9	89,8
2	83,6	78,8	85,9	73,9	81,9	82,7	80,1	86,1	82,8
3	89,8	85,3	86,7	76,3	84,2	84,5	80,4	83,9	85,8
4	90,8	84,3	85,1	76,8	86,7	85,4	83,9	82,5	86,5
5	86,5	79,2	86,1	76,5	88,4	84,6	80,7	85,6	83,9
6	88,1	82,4	82,6	71,6	86,2	85,1	81,4	85,3	84,7
7	83,8	84,7	83,4	69,5	85,1	86,5	81,5	79,1	83,7
8	91,7	85,1	82,1	77,8	88,8	87,0	84,0	85,9	87,6
MW	88,1	83,3	84,7	75,5	85,8	85,4	81,6	84,4	85,6
s	3,2	2,9	1,8	3,9	2,2	1,6	1,5	2,5	2,3

Anh. Tab. XIV: sV Ca [%]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	-31,5	5,0	-5,9	5,7	-32,0	16,0	0,4	12,5	3,4
2	-84,6	-23,8	-6,6	-5,6	-14,0	1,0	-3,1	5,0	-22,7
3	5,4	-7,4	7,9	4,3	-7,6	18,1	-2,3	4,9	-5,1
4	-0,6	-3,8	-1,8	-8,9	-8,0	2,4	4,6	-10,9	-15,3
5	-47,9	-11,9	6,2	-5,1	14,7	2,8	-2,1	10,3	-18,4
6	-28,2	-25,8	-3,3	-18,2	-13,0	-2,9	-12,5	-6,6	-17,9
7	-106,2	5,0	-16,2	-32,1	-10,0	2,8	-3,6	-22,1	-13,0
8	-1,4	5,4	-14,5	-4,5	3,8	19,4	3,6	15,9	-3,3
MW	-36,9	-7,2	-4,3	-8,0	-8,3	7,4	-1,9	1,1	-11,5
s	40,8	12,6	8,6	12,2	13,6	8,8	5,3	13,1	9,0

Anh. Tab. XV: sV P [%]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	47,5	25,6	29,7	18,5	15,9	44,7	26,8	58,1	38,8
2	22,1	6,8	32,1	8,2	14,3	32,6	21,4	41,2	19,3
3	57,7	18,3	48,5	14,0	18,0	37,9	14,9	47,5	34,3
4	56,5	22,7	32,9	7,4	19,6	34,5	24,1	35,4	31,8
5	29,9	17,7	48,3	10,6	40,8	34,0	17,3	50,6	27,8
6	28,4	12,5	38,9	-2,2	13,3	28,2	14,0	42,9	27,0
7	6,0	27,5	26,8	-10,4	19,5	34,6	22,7	33,2	28,8
8	58,0	27,0	22,7	9,3	35,4	47,6	19,6	49,2	34,3
MW	38,3	19,8	35,0	6,9	22,1	36,8	20,1	44,8	30,3
s	19,5	7,4	9,5	9,2	10,2	6,4	4,5	8,3	5,9

Anh. Tab. XVI: sV Mg [%]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	26,8	12,5	-3,8	17,9	-25,2	11,2	1,9	17,4	38,0
2	3,3	-7,8	-19,2	6,1	-7,5	-1,6	-3,2	-0,8	-1,9
3	40,7	3,7	12,5	13,8	-9,3	11,9	1,0	-18,6	21,3
4	44,3	10,6	5,0	1,2	3,8	-1,0	9,0	-41,5	-30,2
5	21,7	1,7	19,3	1,4	21,5	1,8	1,5	-11,1	16,2
6	20,1	-9,8	4,4	-11,1	-11,2	-9,4	-8,3	-24,2	16,1
7	-4,7	13,2	0,0	-23,6	-13,5	3,1	4,5	-69,7	7,1
8	42,3	20,3	-10,9	6,0	12,3	21,4	11,0	4,3	21,7
MW	24,3	5,5	0,9	1,5	-3,6	4,7	2,2	-18,0	11,0
s	18,2	10,6	12,3	13,4	15,1	9,7	6,2	27,7	20,3

Anh. Tab. XVII: pH-Wert Urin präprandial

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	5,9	6,4	6,3	6,2	6,1	5,8	5,7	5,8	6,6
2	6,1	5,9	6,1	6,1	6,7	6,0	6,2	6,8	6,3
3	6,0	5,8	6,3	6,0	6,4	5,8	6,0	6,0	6,9
4	6,2	6,3	6,3	6,0	6,3	5,8	6,0	6,3	6,6
5	5,9	6,3	6,1	5,9	6,4	5,8	5,9	5,5	6,2
6	6,0	5,5	5,9	5,8	6,6	5,8	5,9	6,1	5,8
7	6,0	5,8	6,3	5,8	6,2	5,6	5,6	5,7	6,4
8	6,5	6,4	6,5	6,0	6,4	5,9	6,2	6,6	7,3
MW	6,1	6,1	6,2	6,0	6,4	5,8	5,9	6,1	6,5
s	0,2	0,3	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,4

Anh. Tab. XVIII: pH-Wert Urin postprandial

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	8,2	5,9	8,3	7,5	8,6	6,7	7,5	8,1	8,5
2	7,9	6,5	8,1	8,0	8,5	6,2	7,9	7,9	8,6
3	7,3	6,3	7,8	8,0	8,5	6,6	7,9	7,8	8,2
4	7,8	6,1	8,0	7,2	8,5	6,0	7,5	7,8	8,3
5	8,1	6,2	8,1	6,9	8,4	6,3	7,4	8,0	8,3
6	8,1	5,5	7,8	7,6	8,5	6,0	7,3	7,6	8,4
7	7,8	6,0	7,8	5,7	8,4	5,7	7,8	8,1	8,4
8	8,2	6,0	8,0	7,6	8,3	6,2	8,0	7,7	8,3
MW	7,9	6,1	8,0	7,3	8,5	6,2	7,7	7,9	8,4
s	0,3	0,3	0,2	0,8	0,1	0,3	0,3	0,2	0,1

Anh. Tab. XIX: spezifisches Gewicht Urin präprandial

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	1032,0	1034,8	1036,4	1032,4	1027,2	1025,6	1028,6	1026,7	1026,0
2	1020,4	1034,6	1038,0	1030,4	1038,2	1029,6	1034,6	1026,0	1029,3
3	1040,0	1033,0	1036,0	1034,4	1040,2	1036,8	1039,0	1033,3	1041,4
4	1041,2	1035,6	1036,8	1027,2	1044,2	1041,2	1041,2	1034,7	1038,6
5	1033,8	1032,8	1027,2	1023,6	1026,4	1032,6	1030,8	1026,3	1024,8
6	1030,4	1029,8	1026,8	1023,4	1026,6	1024,4	1022,8	1018,7	1023,6
7	1027,7	1022,8	1023,8	1029,0	1025,8	1024,8	1025,6	1029,0	1027,0
8	1039,8	1043,8	1041,0	1037,8	1032,8	1043,3	1042,0	1038,3	1038,6
MW	1033,2	1033,4	1033,2	1029,8	1032,7	1032,3	1033,1	1029,1	1031,2
s	7,2	5,9	6,3	5,1	7,3	7,5	7,3	6,2	7,2

Anh. Tab. XX: spezifisches Gewicht Urin postprandial

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	1035,2		1037,8	1031,6	1021,8	1022,6	1015,6	1027,3	1030,0
2	1031,8		1028,4	1036,0	1025,2	1024,4	1027,0	1035,0	1033,2
3	1039,4		1041,2	1048,4	1030,4	1032,0	1021,8	1034,0	1024,0
4	1041,6		1040,0	1027,8	1030,8	1026,0	1018,0	1037,3	1032,6
5	1032,8		1032,2	1010,8	1019,2	1025,2	1021,0	1023,7	1020,4
6	1029,2		1034,8	1025,0	1015,8	1012,4	1011,8	1014,7	1023,2
7	1038,2		1028,3	1034,0	1024,4	1025,3	1013,0	1022,0	1025,4
8	1029,2		1041,2	1042,0	1016,0	1022,0	1034,3	1037,7	1033,0
MW	1034,7		1035,5	1032,0	1023,0	1023,7	1020,3	1029,0	1027,7
s	4,7		5,4	11,4	5,8	5,5	7,5	8,4	5,1

Anh. Tab. XXI: Kreatinin-Konzentration im Urin präprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	22,5	34,4	23,2	18,8	18,0	18,4	16,9	17,5	19,2
2	16,3	17,9	25,9	16,7	24,7	21,2	24,8	16,3	21,4
3	26,8	20,6	18,4	17,9	26,3	23,8	27,6	22,6	24,5
4	25,8	20,6	18,5	15,3	25,9	23,8	26,8	21,5	23,8
5	25,0	18,6	13,8	13,1	17,5	19,3	16,8	13,6	14,8
6	20,6	13,7	13,2	12,1	16,8	16,1	14,5	11,3	14,1
7	19,5	15,8	14,6	14,5	17,7	20,1	15,8	18,6	20,3
8	27,5	25,0	24,4	17,6	21,1	24,4	29,3	24,9	24,2
MW	23,0	20,8	19,0	15,8	21,0	20,9	21,6	18,3	20,3
s	4,0	6,4	5,0	2,4	4,1	3,0	6,1	4,6	4,1

Anh. Tab. XXII: Kreatinin-Konzentration im Urin postprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	12,1	10,2	5,7	14,8	4,5	7,2	7,0	3,5	4,7
2	9,4	12,5	5,2	11,7	4,7	7,7	8,6	4,8	4,6
3	23,8	9,6	10,5	19,4	5,0	12,2	8,3	6,7	4,2
4	20,4	11,4	8,1	11,3	6,0	9,3	6,0	5,3	5,9
5	15,1	8,9	4,8	7,1	3,1	6,1	5,8	3,2	3,8
6	12,5	4,6	7,0	11,1	3,3	3,6	3,7	2,4	2,8
7	12,4	7,8	6,3	14,6	6,1	16,5	6,5	4,0	3,3
8	9,0	13,8	8,3	18,4	3,7	7,0	10,0	6,0	4,8
MW	14,3	9,8	7,0	13,6	4,6	8,7	7,0	4,5	4,3
s	5,3	2,9	1,9	4,1	1,1	4,0	2,0	1,5	1,0

Anh. Tab. XXIII: Ca-Konzentration im Urin präprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	0,4	1,1	1,5	1,8	2,0	1,6	2,5	0,8	1,2
2	0,6	1,4	1,0	1,9	1,5	1,8	1,7	0,8	1,4
3	0,8	1,1	0,8	1,9	3,0	1,1	1,4	1,0	1,1
4	1,4	2,4	3,0	1,8	4,1	4,3	4,7	1,6	3,9
5	1,4	1,2	0,9	1,8	1,5	1,7	3,8	2,3	1,2
6	0,5	4,4	1,7	1,9	2,2	2,3	3,0	0,8	2,2
7	0,5	0,9	1,1	2,6	2,0	2,1	2,2	1,2	1,0
8	1,1	1,6	1,3	3,2	2,0	1,9	1,9	1,6	1,4
MW	0,8	1,8	1,4	2,1	2,3	2,1	2,6	1,2	1,7
s	0,4	1,1	0,7	0,5	0,9	1,0	1,1	0,5	1,0

Anh. Tab. XXIV: P-Konzentration im Urin präprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	14,5	100,7	99,0	62,5	80,4	114,4	133,8	151,5	64,1
2	59,6	133,4	93,1	60,1	69,4	93,7	120,0	94,4	75,2
3	60,0	127,1	125,1	67,3	90,6	130,3	124,1	132,6	78,5
4	72,6	104,9	109,1	82,6	79,1	161,7	140,3	138,9	97,8
5	39,3	111,8	102,2	57,3	74,8	127,7	105,7	118,8	64,8
6	43,6	127,9	109,2	50,1	56,3	95,6	92,2	78,7	60,7
7	15,1	96,3	109,7	70,2	68,8	107,4	111,6	155,4	71,7
8	73,9	88,8	104,4	87,2	69,3	137,0	117,6	111,2	71,5
MW	47,3	111,4	106,5	67,2	73,6	121,0	118,2	122,7	73,0
s	23,4	16,5	9,5	12,6	10,2	22,9	15,3	27,1	11,7

Anh. Tab. XXV: P-Konzentration im Urin postprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	19,2	79,2	113,3	21,1	29,0	100,8	19,5	82,7	35,9
2	24,4	90,2	90,8	18,7	7,9	108,1	17,0	110,7	14,7
3	46,4	90,9	160,5	31,1	55,8	124,3	12,1	125,4	42,3
4	25,3	113,4	237,0	6,4	59,3	121,5	26,8	138,6	67,0
5	21,2	96,5	111,8	9,9	24,2	115,9	24,6	82,2	39,9
6	22,0	55,3	133,3	12,1	21,3	52,9	15,9	49,8	35,8
7	26,1	62,1	115,5	44,7	31,9	85,2	8,0	48,5	42,4
8	13,2	121,2	218,8	21,7	27,7	95,9	24,3	147,0	52,2
MW	24,7	88,6	147,6	20,7	32,2	100,6	18,5	98,1	41,3
s	9,7	22,8	53,6	12,4	17,3	23,4	6,6	38,2	14,9

Anh. Tab. XXVI: Mg-Konzentration im Urin präprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	3,4	4,5	4,4	4,8	11,9	4,4	7,8	6,8	5,1
2	6,6	4,3	7,2	6,9	7,0	5,9	9,8	3,6	6,4
3	8,0	4,6	3,8	3,8	5,0	3,6	7,0	2,4	4,5
4	14,0	7,0	4,2	3,5	11,2	9,9	14,6	3,8	13,2
5	9,4	2,7	2,2	5,0	6,1	6,7	11,0	6,9	4,7
6	6,2	7,1	3,8	3,8	6,0	4,6	5,8	3,2	5,8
7	3,4	4,0	3,7	5,8	4,4	5,4	7,2	4,7	5,3
8	12,6	5,6	3,9	4,4	6,8	5,3	9,4	4,2	7,5
MW	8,0	5,0	4,1	4,7	7,3	5,7	9,1	4,4	6,6
s	3,9	1,5	1,4	1,2	2,8	1,9	2,8	1,7	2,9

Anh. Tab. XXVII Anh. Tab. XXXV: Serum Kreatinin präprandial [$\mu\text{mol/l}$]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	53,0	67,2	58,3	61,9	59,2	62,8	58,3	58,3	76,0
2	61,9	69,8	52,0	59,2	65,4	58,3	53,9	56,6	61,9
3	61,9	74,3	61,0	66,3	72,5	66,3	61,0	71,6	77,8
4	61,9	66,3	50,0	61,0	66,3	63,6	53,0	53,9	74,3
5	53,0	65,4	52,2	52,2	57,5	51,3	46,0	53,9	62,8
6	61,9	69,8	54,8	57,5	62,8	61,0	46,0	53,0	63,6
7	61,9	74,3	63,0	61,0	69,0	64,5	53,9	54,8	64,5
8	61,9	72,5	54,0	61,0	65,4	64,5	56,6	65,4	85,7
MW	59,7	69,9	55,7	60,0	64,8	61,5	53,6	58,5	70,8
s	4,1	3,5	4,6	4,0	4,9	4,8	5,4	6,6	8,8

Anh. Tab. XXXVIII: Serum Kreatinin postprandial [$\mu\text{mol/l}$]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	53,0	55,7	48,6	72,5	59,2	57,5	53,0	60,1	67,2
2	53,0	61,0	42,0	76,0	52,2	47,7	45,1	46,9	53,9
3	53,0	61,9	58,3	77,8	70,7	48,6	55,7	62,8	76,0
4	53,0	46,9	44,0	71,6	61,9	53,0	49,5	48,6	69,0
5	44,2	60,1	53,9	84,0	53,0	46,9	53,9	53,9	56,6
6	53,0	53,9	41,5	74,3	62,8	40,7	46,0	51,3	62,8
7	61,9	68,1	42,0	75,1	57,5	53,9	48,6	49,5	46,9
8	61,9	68,1	44,0	75,1	61,9	53,9	50,4	58,3	69,8
MW	54,1	59,4	46,8	75,8	59,9	50,3	50,3	53,9	62,8
s	5,7	7,2	6,3	3,8	5,9	5,3	3,8	5,9	9,7

Anh. Tab. XXXIV: Serum FGF23 präprandial (homologer Test) [pg/ml]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
2	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
3	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
4	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
5	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
6	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
7	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
8	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
MW									
s									

NWG = Nachweisgrenze

Anh. Tab. XXX: Serum FGF23 postprandial (homologer Test) [pg/ml]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
2	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
3	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
4	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
5	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
6	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
7	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
8	< NWG	< NWG	< NWG		< NWG	< NWG			
MW									
s									

NWG = Nachweisgrenze

Anh. Tab. XXXI: Serum FGF23 präprandial (feliner Testkit) [pg/ml]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1							529,4	574,1	
2							256,3	269,0	
3							521,3	606,9	
4							658,3	> 800	
5							290,0	315,4	
6							286,4	384,2	
7							508,7	546,2	
8							303,3	415,0	
MW							385,0	444,4	
s							127,0	132,6	

Anh. Tab. XXXII: Serum FGF23 postprandial (feliner Testkit) [pg/ml]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	350,9						410,3	455,2	
2	252,4						277,7	211,2	
3	333,7						323,0	513,4	
4	> 800						525,6	> 800	
5	190,7						231,6	275,1	
6	249,0						252,5	280,6	
7	264,2						343,4	424,4	
8	272,7						227,5	283,2	
MW	273,4						295,1	349,0	
s	54,2						67,2	113,6	

Anh. Tab. XXXIII: Serum 1,25(OH)₂D₃ präprandial [pmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	13,7		29,8				17,5	33,1	
2	25,0		32,5				30,2	53,5	
3	20,9		52,1				28,8	33,4	
4	31,0		23,5				31,4	34,8	
5	fehlt		25,9				21,6	25,0	
6	47,5		43,2				26,4	38,4	
7	15,6		32,2				16,1	24,0	
8	25,0		23,8				42,5	34,1	
MW	25,5		32,9				26,8	34,5	
s	11,4		10,0				8,5	9,1	

Anh. Tab. XXXIV: Serum 1,25(OH)₂D₃ postprandial [pmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	14,9		30,5				17,0	30,2	
2	27,4		30,7				29,8	49,0	
3	19,9		58,1				33,6	38,6	
4	33,6		24,0				36,7	39,8	
5	28,8		30,7				18,0	26,4	
6	44,6		38,2				27,4	39,6	
7	<12,00		30,2				15,6	25,4	
8	24,5		25,9				43,0	42,0	
MW	27,7		33,5				27,6	36,4	
s	9,6		10,7				10,1	8,2	

Anh. Tab. XXXV: Serum PTH präprandial [pg/ml]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	22,0	21,0	19,1	20,7	16,2	18,7	16,5	19,4	15,6
2	19,0	23,0	20,6	20,0	21,8	18,6	20,9	19,3	13,1
3	32,0	33,0	28,3	42,1	38,1	27,9	30,4	31,0	16,7
4	22,0	14,0	19,5	33,1	18,4	18,9	21,7	22,9	14,3
5	19,0	18,0	21,7	39,8	18,4	21,8	16,8	24,0	21,9
6	24,0	16,0	19,4	17,8	14,4	20,9	18,9	29,6	11,2
7	16,0	17,0	27,1	18,2	18,4	16,7	23,1	21,0	27,9
8	21,0	18,0	19,9	24,4	18,5	19,8	17,8	20,2	19,0
MW	21,9	20,0	22,0	27,0	20,5	20,4	20,8	23,4	17,5
s	4,8	6,0	3,7	9,9	7,4	3,4	4,6	4,6	5,4

Anh. Tab. XXXVI: Serum PTH postprandial [pg/ml]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	30,0	19,0	55,5	32,2	27,4	34,0	19,8	96,4	48,2
2	24,0	35,0	48,0	31,1	42,1	41,7	33,0	44,0	38,8
3	20,0	35,0	232,0	26,5	335,0	85,8	28,7	66,0	270,0
4	20,0	19,0	98,1	25,1	53,0	30,4	18,5	38,4	47,5
5	17,0	25,0	114,0	29,5	28,1	62,3	17,4	62,6	87,2
6	19,0	20,0	113,0	24,4	38,3	60,6	25,4	117,0	69,0
7	28,0	35,0	81,4	21,7	45,0	43,3	35,8	107,0	60,1
8	20,0	29,0	40,8	27,3	81,8	38,0	21,8	64,8	105,0
MW	22,3	27,1	97,9	27,2	81,3	49,5	25,1	74,5	90,7
s	4,6	7,3	61,3	3,6	103,9	18,7	6,9	29,0	75,7

Anh. Tab. XXXVII: Serum BAP präprandial [U/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	4,7	6,3	6,3	5,6	3,4	6,0	17,0	13,1	7,4
2	3,1	5,2	7,8	4,7	4,1	14,5	5,4	4,8	3,9
3	2,4	4,9	6,8	3,4	2,1	10,1	3,3	3,5	5,2
4	3,0	4,3	3,5	4,4	3,1	11,6	5,0	4,9	5,2
5	3,3	8,4	5,0	4,6	4,2	9,1	4,2	4,5	4,6
6	5,6	5,9	7,7	4,2	3,4	6,5	4,5	6,8	5,7
7	2,2	4,6	4,5	4,0	2,0	5,8	9,3	8,5	4,7
8	2,6	7,0	5,6	4,5	3,0	4,5	4,3	5,5	4,2
MW	3,4	5,8	5,9	4,4	3,2	8,5	6,6	6,4	5,1
s	1,2	1,4	1,5	0,6	0,8	3,4	4,6	3,1	1,1

Anh. Tab. XXXVIII: Serum BAP postprandial [U/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	5,1	7,5	6,3	4,1	4,0	8,7	16,5	13,1	6,5
2	3,5	5,4	9,1	3,3	3,4	4,4	5,0	5,4	4,2
3	2,5	6,0	6,8	1,8	2,4	2,7	2,8	4,0	4,9
4	3,3	5,0	4,5	2,9	2,9	4,4	4,8	5,7	5,3
5	4,0	7,9	6,2	3,0	4,1	5,8	3,7	7,4	5,2
6	5,3	6,1	8,7	3,1	3,3	3,3	4,8	7,6	6,5
7	2,5	5,0	5,7	2,5	1,8	5,1	9,0	9,9	4,7
8	3,0	6,9	7,6	3,0	3,6	4,7	4,5	5,5	5,4
MW	3,7	6,2	6,9	3,0	3,2	4,9	6,4	7,3	5,3
s	1,1	1,1	1,5	0,7	0,8	1,8	4,5	2,9	0,8

Anh. Tab. XXXIX: Serum Ca präprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	2,7	2,5	2,6	2,6	2,6	2,6	2,7	2,6	2,5
2	2,8	2,7	2,6	2,6	2,6	2,6	2,7	2,6	2,6
3	2,4	2,5	2,5	2,5	2,5	2,4	2,4	2,5	2,5
4	2,6	2,8	2,6	2,6	2,7	2,6	2,6	2,5	2,6
5	2,8	2,6	2,6	2,5	2,6	2,4	2,6	2,5	2,4
6	2,6	2,6	2,6	2,5	2,6	2,6	2,5	2,5	2,5
7	2,7	2,6	2,5	2,6	2,6	2,7	2,6	2,6	2,6
8	2,7	2,6	2,6	2,5	2,7	2,7	2,7	2,7	2,6
MW	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,5
s	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Anh. Tab. XL: Serum Ca postprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	2,7	2,6	2,4	2,5	2,5	2,4	2,6	2,6	2,5
2	2,7	2,5	2,5	2,6	2,4	2,6	2,5	2,6	2,5
3	2,5	2,5	2,4	2,5	2,3	2,4	2,5	2,6	2,5
4	2,6	2,6	2,6	2,4	2,5	2,5	2,6	2,6	2,5
5	2,8	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,5	2,7	2,4
6	2,6	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,6	2,5
7	2,7	2,6	2,6	2,6	2,5	2,5	2,5	2,7	2,5
8	2,8	2,7	2,7	2,6	2,5	2,5	2,7	2,7	2,5
MW	2,7	2,6	2,5	2,5	2,4	2,5	2,6	2,6	2,5
s	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0

Anh. Tab. XLI: Serum P präprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	1,6	1,1	1,0	1,1	1,3	0,9	1,0	0,9	1,4
2	1,1	0,8	0,8	1,1	1,0	1,2	0,7	0,8	1,3
3	1,3	1,0	1,1	1,0	1,1	0,9	1,2	0,9	1,2
4	1,1	1,2	0,9	0,9	1,2	1,6	1,0	0,7	1,0
5	1,4	1,1	1,0	0,9	1,0	1,2	1,7	1,0	1,3
6	1,3	1,0	1,1	1,5	1,5	1,2	1,2	1,0	1,2
7	1,2	1,1	1,1	1,6	1,2	1,3	1,2	1,0	1,2
8	1,4	1,4	1,4	1,0	1,2	1,0	1,1	1,0	1,5
MW	1,3	1,1	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2	0,9	1,2
s	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,1	0,2

Anh. Tab. XLII: Serum P postprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	1,8	1,5	2,6	1,2	1,4	1,7	1,0	2,6	1,7
2	1,0	1,7	2,3	1,1	1,1	2,1	1,3	2,4	1,6
3	0,9	1,7	3,8	1,2	2,4	1,8	1,1	3,2	2,6
4	1,2	1,8	3,5	1,1	1,7	2,0	1,2	2,6	1,9
5	0,9	1,4	3,2	0,9	1,3	2,1	1,2	2,4	2,5
6	1,4	1,6	3,5	1,3	1,9	2,1	1,1	2,8	1,9
7	0,8	1,6	2,9	1,3	1,9	2,1	1,1	2,9	1,9
8	1,4	1,8	3,1	1,1	1,6	2,2	1,5	3,2	2,6
MW	1,2	1,6	3,1	1,2	1,7	2,0	1,2	2,8	2,1
s	0,3	0,1	0,5	0,1	0,4	0,2	0,1	0,3	0,4

Anh. Tab. XLIII: Serum Mg präprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
2	0,8	0,7	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,7	0,8
3	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7	0,8
4	0,9	0,9	0,8	0,9	0,9	0,9	0,8	0,8	0,9
5	1,0	0,9	0,9	0,8	0,9	0,9	0,8	0,8	0,8
6	0,8	0,8	0,8	0,8	1,0	0,9	0,8	0,7	0,8
7	0,9	0,9	0,9	0,9	0,8	0,9	0,8	0,7	0,8
8	0,8	0,8	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7	0,8
MW	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,8	0,8	0,7	0,8
s	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1

Anh. Tab. XLIV: Serum Mg postprandial [mmol/l]

Tier	KON	diCaP	mNaP	GeflM	NatriP	mCaP	KnM	mKP	KpyrP
1	0,7	0,7	0,6	0,7	0,7	0,6	0,7	0,6	0,7
2	0,8	0,7	0,6	0,7	0,7	0,7	0,8	0,6	0,6
3	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
4	0,8	0,9	0,9	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
5	0,9	0,9	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7	0,7
6	0,8	0,8	0,7	0,9	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7
7	0,8	0,9	0,9	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7	0,8
8	0,8	0,9	0,7	0,8	0,8	0,7	0,8	0,7	0,7
MW	0,8	0,8	0,7	0,8	0,8	0,7	0,8	0,7	0,7
s	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1

X. DANKSAGUNG

Zunächst möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Kienzle, für die Überlassung dieses interessanten Themas im Bereich der Tierernährung sowie die Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit bedanken. Hierbei gilt mein Dank besonders Frau Dr. Dobenecker, die mir als Betreuerin stets mit einem offenen Ohr, neuen Ideen und viel Rat und Tat zur Seite stand.

Für die Mithilfe bei der Durchführung der praktischen Versuche mit den Hunden bedanke ich mich bei dem gesamten Tierpflegerteam am OWF, besonders bei Steffen, Gabi und Adrian für das Futter kochen, Hunde halten und füttern, sowie bei Steffi für ihre tatkräftige Unterstützung bei den Blutprobenentnahmen. Mein ganz besonderer Dank gilt an dieser Stelle Carmen, die mich während der Bilanzwochen stets tatkräftig unterstützte und so für einen reibungslosen Ablauf sorgte. Danke hierfür und für die stets aufmunternden Worte!

Ein weiterer Dank gilt dem gesamten Team des Labors für die Unterstützung bei den Analysen meiner Proben. Besonders möchte ich mich bei Christian Overdiek und Elke Kleiner bedanken, die mich unermüdlich bei den Analysen meiner zahlreichen Proben und Elisa-Tests unterstützten.

Bei Herrn Dr. Reese bedanke ich mich für das Engagement bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse.

Ich bedanke mich ganz herzlich bei Allen, die mit mir mitfieberten, insbesondere meinen Mitdoktoranden Christian und Franzi, sowie meiner Gastfamilie. Danke Moni, Fred, Bettina und Johanna für Eure immer offenen Ohren und das ein oder andere Feierabendweinchen - Es war eine wunderbare Zeit bei Euch in München!

Vielen Dank an alle fleißigen Korrekturleser, denen ich immer wieder neue Versionen zur Lektüre geben durfte. Hierbei bedanke ich mich besonders bei Thorben und Veronika.

Weiterhin möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Familie bedanken. Es ist schön, euch als Familie zu haben! Danke für die Erholung, aufbauenden Worte und Verpflegung am Wochenende und auch für das Hundesitting, hier ein herzliches Dankeschön an Oma und Opa.

Mein besonderer Dank gilt Carsten, der stets für mich da ist und mich bereits in

zahlreichen Höhen und Tiefen des Lebens begleitet hat. Bei der Anfertigung dieser Arbeit stand er stets hinter mir und hat mich stets geduldig ertragen. Danke für Deine Mithilfe, Geduld und Belastbarkeit!

“Last but not least” gilt mein Dank den acht treuen Vierbeinern für die gute Mitarbeit.



“Wir schenken unseren Hunden ein klein wenig Liebe und Zeit.
Dafür schenken sie uns restlos alles, was sie zu bieten haben.
Es ist zweifellos das beste Geschäft, was der Mensch je gemacht hat.”

[Roger Caras]