

AR KALCIJU BAGĀTAS BARĪBAS PIEDEVAS PIELIETOŠANA SUŅIEM KAULAUDU VIELMAIŅAI

CALCIUM RICH ADDITIVES USE IN DOGS FOR BONE METABOLISM

Ilga Šematoviča, Arturs Ivanovs

LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija; Faculty of Veterinary Medicine LUA, Latvia
isem@inbox.lv

ABSTRACT

Morphological, biochemical analysis and bone turnover markers (BTM) in blood and urine were performed for six dogs twice, in the start of the research, and in the end after calcium (Ca) rich additives, without phosphorus (P), dosing for one month *per os*. All dogs were clinically healthy at the start and in the end of work. No significant changes were observed regarding to blood morphology. The level of Ca and P in blood before Ca additives dosing was in physiologically reference values in five from six dogs. One dog had hypocalcaemia and hyperphosphatemia in the start of the research. At the end of the research level of Ca was increased for all dogs ($p < 0.05$), while P were decreased in four from six dogs and was also in reference values. Osteocalcin in blood decreased in all dogs ($p < 0.05$) which show us decrease of bone regenerative processes. The dog with expressed hypocalcemia at the start of the research, were with considerably increased marker of bone resorption marker β -CTx at the end. In conclusion whereas all dogs were clinically healthy in the end of the research, changes regarding to BTM in blood are important point to evaluate influence of the treatment with Ca rich additives to bone health. Although, the level of Ca increased in blood, the results of BTM let suggest about negative effect on bone health. The need for P organism compensates with P absorption from their own bones, thus reducing bones quality. Using feed additives for dogs definitely must follow Ca and P proportion.

KEY WORDS: dogs, calcium, bone turnover markers

IEVADS

Pilnvērtīgas barības devas sabalansēšana suņu turētājiem joprojām ir izaicinājums. Viens no aktuāliem jautājumiem ir minerālvielu, īpaši kalcija (Ca), nodrošinājums racionā. Kā vispārzināms, Ca piemīt daudzveidīga loma organisma vielmaiņā, piemēram, tas ir nepieciešams enzīmu un transmembrānu transporta reakcijās, asinsrecē, nervu impulsu pārvadē, muskuļu kontrakcijās, asinsvadu un muskuļšķiedru tonusa nodrošināšanā, hormonu sekrēcijā, glikogēna sintēzē aknās un dažādu organisma šūnu metabolismā kā arī kaulaudu formēšanās un resorbcijas norisēs (Birchard, Sherding, 2006).

Līdz šim tīri empīriski, analizējot barības devu, ņemot vērā suņa šķirnes un vecuma īpatnības, tika pieņemts lēmums par papildus Ca saturošu piedevu izēdināšanu. Fizioloģiski kopējā Ca līmenis asinīs suņiem ir no 2.3 – 3.0 mmol/L (Jemeljanovs *et al.*, 2008; Birchard, Sherding, 2006). Galvenokārt Ca maiņu organismā nodrošina parathormons, D vitamīna metabolīti un kalcitonīns.

Lai pieņemtu lēmumu par papildus Ca piedevu izēdināšanu, nevar ņemt par pamatu tikai hipokalcēmiju asins bioķīmiskajās analizēs, jo Ca līmeni asinīs ietekmē citas, ar Ca daudzumu uzturā nesaistītas saslimšanas un patoloģiski procesi kā nervu, vairogdziedzera patoloģijas, hipoalbuminēmija, eklampsija, u.c. (Willard *et al.*, 1989).

Mazo dzīvnieku medicīnā trūkst konkrētu reprezentējošu kritēriju, pēc kuriem būtu indicēts papildus izēdināt ar Ca bagātas barības piedevas profilaktiskos nolūkos, kā arī nav kritēriju,

pēc kuriem varētu spriest par šo piedevu iedarbību tieši uz kaulaudu veselību. Humānajā medicīnā šis ir plašu pētījumu lauks, aktuāls dažādu saslimšanu un patfizioloģisku procesu gadījumā, piemēram, lai profilaktētu kaulu lūzuma risku, sievietēm post-menopauzes vecumā, pacientiem, kuriem ilgstoši veikta dialīze, u.c. (Civitelli *et al.*, 2009; Tentori *et al.* 2008; Allen *et al.*, 2007).

Pētījuma mērķis bija pielietot humānajā medicīnā plaši pielietotu ar Ca bagātu barības piedevu pieaugušiem suņiem un novērtēt tās ietekmi uz kaulaudu veselību.

MATERĀLS UN METODIKA

Pētījums veikts 2014.gada jūlija mēnesī, tajā iekļaujot sešus klīniski veselus 2-7 gadus vecus dažādu šķirņu un turēšanas veida suņus. No tiem četri kastrēti, visi vakcinēti un regulāri attārpoti.

Asins paraugi, pētījumu uzsākot un noslēdzot, tika ņemti no *v.jugularis* vai *v.saphena* sterilos vienreizējas lietošanas "Sarstedt Monovette" vakutaineros – asins morfoloģiskajai novērtēšanai ar EDTA 1.2 ml, kā arī bioķīmiskai izmeklēšanai serumam Z/2.7 ml vakutaineros. Izmeklējumi veikti sertificētās (akreditācijas apliecība LATAK-M-434-00-2011) SIA „Centrālā laboratorija” (reģ. Nr. 215/L 430-C) laboratorijās, kur analīžu izpilde atbilst LVS EN ISO 15189:2008 standarta prasībām, kā arī SIA „E. Gulbja laboratorija” kur tika noteikti kaulaudu marķieri (β -CTx, osteokalcīns, P1NP, BALP), parathormons, D3 vitamīns atbilstoši starptautiskam standartam LVS EN ISO/IEC 17025, kopš 2007.gada 8.oktobra - LVS EN ISO 15189:2007 un kopš 2008.gada 17. decembra - LVS EN ISO 15189:2008.

Pētījumā izvērtētie asins morfoloģiskie un bioķīmiskie parametri raksturo dzīvnieku vispārējo veselību, kā arī reprezentē nieru veselības stāvokli. Kā kaulaudu veselību raksturojošie parametri tika noteikti daži bioķīmiskie kaulu vielmaiņas rādītāji, sekojot humānajā medicīnā ieteiktajiem (Civitelli *et al.*, 2009; Allen *et al.*, 2007):

- kaulveides marķieri – kaulaudu fosfatāzes sārmainā frakcija (BALP), osteokalcīns, 1 tipa prokolagēna N-propeptīds (P1NP);
- kaulaudu resorbcijas marķieri – 1 tipa kolagēna karboksi-termināla šķērssaites telopeptīds (CTX), deoksipiridinolīns (DPD) urīnā.

Pēc pirmreizējās analīžu noņemšanas un dzīvnieku nosvēršanas, suņiem vienu mēnesi tika izēdinātas individuālas Ca saturošas barības piedevas saskaņā ar ieteicamajām Ca diennakts profilaktiskajām devām (Birchard, Sherding, 2006; Ettinger, 1995). Pētījumā pielietotās barības piedevas sastāvs ir identisks, kādu izmanto humānajā hipokalcēmijas profilaksē un šīs konkrētās piedevas sastāvā ir Ca, Mg, K, F, D3.

Datu statistiskā apstrāde veikta izmantojot SPSS *One sample t-test*, *descriptive statistics* un *Wilcoxon test* divu saistītu paraugkopu salīdzināšanai, kā arī veikta korelāciju analīze kopsakarību atrašanai (Paura un Arhipova, 2002).

REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Pirms rezultātu interpretācijas jāpiebilst, ka 2014.gada jūlijs, kad tika veikta Ca piedevas izēdināšana, bija īpaši saulains un vidējā gaisa temperatūra dienā bija virs 30 °C. Tā kā dihidroksikalCIFerola daudzums, kā iepriekš minēts, ietekmē Ca vielmaiņu, atkarīgs no uzņemtā D₃ provitamīna un no saules staru daudzuma, tas varētu ietekmēt pētījuma rezultātu, palielinot D vitamīna līmeni asinīs (Shikino *et al.*, 2014).

Pētījumu uzsākot visi suņi bija klīniski veseli. Asins morfoloģiskie parametri visiem suņiem kā uzsākot, tā noslēdzot pētījumu bija normas robežās, būtiskas izmaiņas nenovērojām, līdzīgi citu autoru pētījumos humānajā medicīnā (Mitchell *et al.*, 2014).

Sākotnējās asins bioķīmiskajās analīzēs atklājās, ka diviem suņiem ir nedaudz paaugstināts kopējā proteīna līmenis. To varētu izskaidrot ar nelielu dehidratāciju (Jemeljanovs *et al.*, 2008; Birchard, Sherding, 2006; Ettinger, 1995), ko varēja radīt divu faktoru kombinācija -

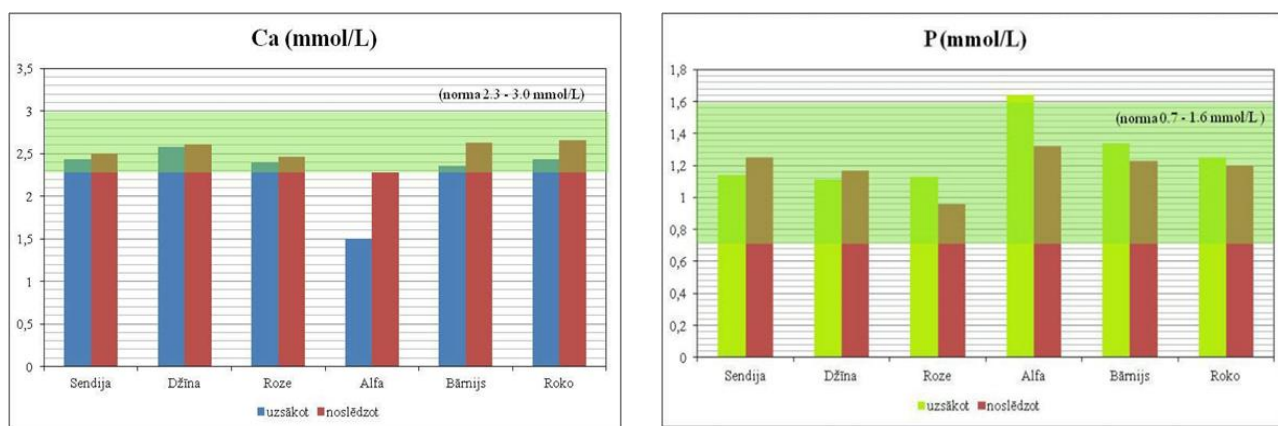
karstais laiks un ceļojums uz klīniku. Vienam sunim (Alfai) pētījumu uzsākot tika konstatēts samazināts albumīnu daudzums asinīs, hiperkalēmija, hipokalcēmija un viegla hiperfosfatēmija. Turpmāk šo dzīvnieku nosacīti sauksim par „hipokalcēmisko” suni. Šajā gadījumā būtu nepieciešama sīkāka dzīvnieka veselības stāvokļa izvērtēšana un papildus analīzes. Tā kā Ca metabolisms ir cieši saistīts ar albumīnu daudzumu, tad būtu jāizvērtē iespējamie hipoalbuminēmijas cēloņi (hroniskas aknu slimības, parazitāras slimības, maldigestija, ilgstoša proteīnūrija nieru slimību dēļ, smagas eksudatīvas slimības u.c.) (Jemeljanovs *et al.*, 2008). Hiperkalēmiju varēja radīt artefakts saistībā ar asins parauga noņemšanas un uzglabāšanas procedūru eritrolīzes dēļ, kā arī to var novērot pie akūtas un hroniskas nieru mazspējas, postrenālas urēmijas, audu bojājumiem, acidozes, hiperadrenokorticisma un jatrogēni. Savukārt hroniska hipokalcēmija suņiem var būt pie primāra hipoparatiroidisma, hiperkalcitonisma, malabsorbcijas, anoreksijas, nieru mazspējas, D hipovitaminozes (Ettinger, 1995). Tā kā konkrētajam sunim pārējie asins bioķīmiskie parametri bija normas robežās, parathormonu un D vitamīnu ieskaitot, tas jutās labi un īpašniekam nebija sūdzību par suņa veselību, tika nolemts to tomēr iekļaut pētījumā.

Atkārtotajās bioķīmisko parametru analīzēs, pētījumu nobeidzot, tikai sunim, kuram pirmajā reizē bija samazināts albumīnu un Ca līmenis, kā arī paaugstināts K un P līmenis asinīs, joprojām palika samazināts albumīna daudzums asinīs, bet Ca daudzums pieauga līdz minimālajai normas vērtībai, savukārt P un K daudzums samazinājās līdz normas vērtībai.

Kopumā Ca daudzums pētījumu uzsākot visu suņu asins serumā bija normas robežās, tas ir 2.4 ± 0.08 mmol/L (izslēdzot „hipokalcēmisko” suni kā t.s. izlecošos datus), bet pielietojot *One sample t-test* SPSS izrādījās, ka šis rādītājs bija statistiski nozīmīgi zemāks par vidējo references vērtību 2.65 mmol/L ($p < 0.05$). Mūsu pētījumā pēc ar Ca bagātu preparāta pielietošanas Ca līmenis pieauga visiem dzīvniekiem (*Wilcoxon test 2* saistītām paraugkopām, $p < 0.05$), un vidēji tas bija 2.5 ± 0.14 , kas vairs būtiski neatšķīrās no vidējās pieļaujamās vērtības ($p > 0.05$), (1.attēls).

Kaut gan Ca līmenis suņu asinīs iekļāvās normas robežās, pētījumā konstatējām, ka pat neliela tendence uz Ca deficītu var tikt kompensēta, pielietojot ar Ca bagātas barības piedevas uzturā.

P daudzums visiem suņiem, izņemot vienu („hipokalcēmiskais suns”), bija normas vērtību ietvaros, kā uzsākot (1.3 ± 0.20), tā arī noslēdzot pētījumu (1.2 ± 0.12) un būtiski neatšķīrās no vidējās pieļaujamās vērtības ($p > 0.05$), (1.attēls).



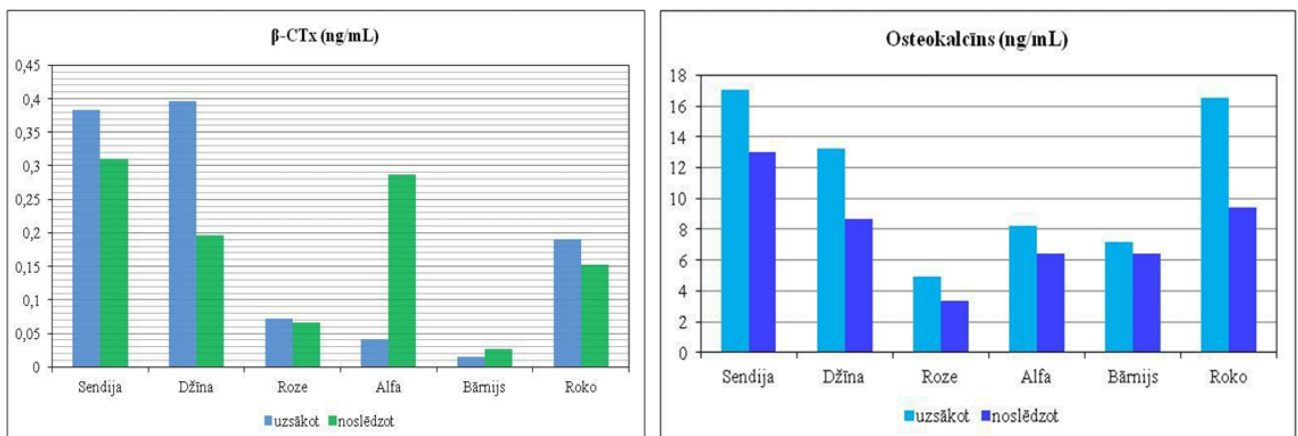
1.attēls. Ca un P līmenis suņu asinīs pirms un pēc viena mēneša Ca piedevu kursa *per os*.
Figure 1. Ca and P levels in the blood of dogs before and after one month dosing of the Ca additive *per os*.

Jāatzīmē, ka četriem no sešiem suņiem P līmenis kaut arī statistiski nenozīmīgi ($p > 0.05$), tomēr pazeminājās pēc mēnesi ilgas ar Ca bagātas piedevas pielietošanas (1.attēls). Ca un P savstarpējo attiecību izmaiņas metabolismā apstiprina ciešā pozitīvā negatīvā korelācija ($r = -0.79$; $p < 0.05$).

„Hipokalcēmiskajam” sunim novēroja ne vien izteiktāko Ca līmeņa palielināšanos, bet arī intensīvāko P daudzuma asinīs samazināšanos. Pie kam šim sunim sākotnēji bija arī pazemināts parathormona līmenis (8.0 pg/ml), bet atkārtotajās analizēs tas bija paaugstinājies (22.3 pg/ml) un iekļāvās normas robežās (15 – 150 pg/ml, *TECOmedical Group*, 2009). Viens no iespējamajiem iemesliem ir parathormona funkcija palielināt Ca līmeni asinīs, sekmēt P ekskrēciju un Ca reabsorbciju nierēs, kā arī Ca uzsūkšanos no gremošanas trakta (Jemeljanovs *et al.*, 2008). Pielietotajā preparātā praktiski nav P, bet Ca un P attiecība uzturā arī ir viens no parathormona stimulētājiem (Li *et al.*, 2014; Aberberga-Augškalne *et al.*, 1986). Interesanti, ka pētījuma laikā parathormona līmenis pārējiem suņiem praktiski nemainījās vai nebūtiski svārstījās normas robežās (15-150 pg/ml, *TECOmedical Group*, 2009) izņemot „hipokalcēmisko” suni, kuram, kā minēts iepriekš, tā līmenis palielinājās.

Mg un D vitamīns asinīs visiem suņiem gan pirms, gan pēc Ca piedevas pielietošanas bija normas vērtībās un tika novērotas nebūtiskas svārstības. Tos šķiet neietekmēja preparāta pielietošana.

Kaulaudu reģenerācijas marķieri raksturo osteoblastu aktivitāti (Vesper, 2005). Mūsu pētījumā izrādījās, ka kaulveides marķieri BALP un P1NP nebija izmantojami kā raksturīgi parametri, jo humānās medicīnas laboratorijas sniegtais rezultāts visiem suņiem pētījumu uzsākot bija vienāds (BALP < 1.5 µg/L un P1NP < 5.0 ng/ml) tādēļ tos pētījuma noslēgumā neatkārtojām. Iespējamais iemesls ir specifika analīžu metodikā, jo pasaules literatūrā ir pieejamas references vērtības (*TECOmedical Group*, 2009). Savukārt osteokalcīns pētījumu uzsākot bija individuāls katram dzīvniekam un pētījuma noslēgumā visiem suņiem tā līmenis asins serumā pazeminājās ($p < 0.05$), liecinot par kaulaudu reģeneratīvo procesu samazināšanos, lai gan samazināšanās notika normas vērtību ietvaros, bet tendence ir spilgti izteikta (2–19 ng/ml, Elsevier, 2012), bez tam interesanti, ka sunim, kam bija izteikta hipokalcēmija, intensīvi pieauga kaulaudu resorbciju raksturojošais marķieris β -CTx (norma 0.11–2.85 ng/ml, Elsevier, 2012), (2.attēls). Tika konstatēta vidēja pozitīva korelācija starp β -CTx un osteokalcīna līmeni asinīs ($r = 0.7$, $p < 0.05$), kas liecina par kaulaudu vielmaiņas komponentu savstarpējo aktivitāti.



2.attēls. Osteokalcīna un β -CTx līmenis suņu asinīs pirms un pēc viena mēneša Ca piedevu kursa *per os*.

Figure 2. Levels of osteocalcin and β -CTx in the blood of dogs before and after one month dosing of the Ca additive *per os*.

Kaulaudu deģenerācijas marķieri raksturo osteoklastu aktivitāti, - jo augstāka osteoklastu aktivitāte, jo lielāks kaulaudu deģenerācijas marķiera rādītājs (Vesper, 2005).

DPD urīnā rezultāti bija variabli un katram sunim individuāli. Tā daudzums pētījuma laikā nebūtiski svārstījās. Diviem no sešiem nebūtiski pieauga, bez tam tika konstatēta vidēja negatīva statistiski nozīmīga korelācija starp DPD urīnā un osteokalcīnu asinīs ($r = - 0.59$, $p < 0.05$), kas prezentē reģeneratīvo un kaulaudu atjaunošanās procesu pretējo dabu.

Paradokss, ka sekojot humānajā lietošanā plaši pielietotā preparāta anotācijai solījumam panākt labāku kaulaudu veselību, stiprus kaulus, pielietojot šo ar Ca bagātu barības piedevu, kurā nav P, asinīs gan panākam Ca līmeņa palielināšanos, bet kaulaudu marķieru analīžu rezultāti liek domāt par negatīvu ietekmi uz kaulaudiem. Domājams, ka organisms kompensējot P vajadzību to absorbē no saviem kaulaudiem, tādējādi samazinot kaulaudu kvalitāti. Spilgts piemērs tam ir fakts, ka sunim ar izteiktu hronisku hipokalcēmiju novērojām spilgtāko Ca pieaugumu, visizteiktāko kaulu resorbcijas rādītāja palielināšanos līdztekus kaulaudu reģenerācijas marķiera samazinājumam. Nomierinošs ir fakts, ka visu barības piedevu anotācijās ir norādīts, ka ar tām nedrīkst aizstāt pilnvērtīgu uzturu. Iespējams, tīri instinktīvi cilvēks uzturā var sajūst vajadzību racionā ietvert fosforu saturošus produktus, piemēram, zivis. Mūsu draugiem suņiem nav šādas iespējas, tie ir pilnībā atkarīgi no īpašnieka piedāvātā uztura, tādēļ sekas ir konstatējamas tik uzskatāmi.

Tā kā visi pētījumā iekļautie suņi pētījuma noslēgumā bija klīniski veseli, dzīvespriecīgi un ar labu apetīti, jādomā, ka asinīs konstatētās izmaiņas ir agrīni kaulu vielmaiņas signālparametri. Trūkst vispārpieņemtu, plaši pieejamu references vērtību kaulaudu veselības novērtēšanai. Arī humānajā medicīnā tiek atzīmēts, ka kaulaudu marķieru vērtības atsevišķiem indivīdiem ir visai variablas, tādēļ tie vairāk noder ne tik daudz kā Ca preparātu pielietošanas indikācijām, bet gan kā ārstēšanas kursa novērtēšanas parametri (Civitelli *et.al.*, 2009).

Lai precīzāk izpētītu kaulaudu veselību ietekmējošos parametrus suņiem, būtu nepieciešams turpināt pētījumus, kuros būtu precīzāk izvērtējami ietekmējošie faktori kā suņu šķirnes, vecums, dzimums, ēdināšanas un turēšanas veids. Lai veiktu korektu pētījumu, būtu nepieciešama kontrolgrupa, taču dēļ references vērtību variabilitātes, pētāmajām grupām jābūt pietiekami lielām, piemēram, Allen *et. al.*(2008) veikuši pētījumu uz 108 sieviešu kārtas 1.3 ± 0.2 gadus vecām bīgla šķirnes kucēm. Lai veiktu kaulaudu densimetriju, ir nepieciešams ilgāks laika periods. Ca:P attiecībai pieaugušu suņu uzturā jābūt **1.2:1** pretējā gadījumā, pieaugušajiem suņiem varēs novērot osteoporozi, jaundzīvniekiem – rahītu.

SECINĀJUMI

1. Ar Ca bagātas barības piedevas pielietošana profilaktiskajās devās vienu mēnesi būtiski neietekmēja nespecifiskos dzīvnieku vispārējās veselības rādītājus.
2. Pielietojot ar Ca bagātu barības piedevu, kas nesatur P, asinīs pieauga Ca, bet samazinājās P līmenis, tomēr šo parametru ir par maz, lai spriestu par preparāta noderīgumu vispārējai veselībai, jo ir jākontrolē arī šo preparātu ietekme uz kaulaudu veselību.
3. Pielietojot ar Ca bagātu barības piedevu, kas nesatur P, visiem pētījumā iekļautajiem suņiem samazinājās osteokalcīna līmenis ($p < 0.05$), kas liecina par kaulaudu reģeneratīvo jeb atjaunošanās procesu samazināšanos. Sunim ar izteiktu hipokalcēmiju, ne tikai samazinājās osteokalcīna līmenis, bet arī palielinājās beta-CTx, kas liecina par izteiktu kaulaudu deģeneratīvo procesu aktivizēšanos.
4. Suņiem nedrīkst pielietot Ca saturošus preparātus, kuros nav ievērota tiem fizioloģiski nepieciešamā Ca:P attiecība, jo šajā gadījumā domājams, P vajadzības kompensēšanai organisms to absorbē no saviem kaulaudiem, tādējādi mazinot kaulaudu kvalitāti. Iespējams, šādā gadījumā Ca:P attiecības nodrošināšanas labad ir jāpārskata viss

izēdināmais racionā, bet šāda uztura sabalansēšana prasa lielu pieredzi un uztura komponentu analīzi.

LITERATŪRA

1. Aberberga-Augškalne L., Āboltiņa-Āboliņa E., Aivars J., Gaile E., Valtneris A. (1986) Cilvēka fizioloģija. „Zvaigzne”, 1986., 455 lpp.
2. Allen M.R., Gineyts E., Leeming D.J., Burr D.B., Delmas P.D. (2007) Bisphosphonates alter trabecular bone collagen cross-linking and isomerization in beagle dog vertebra. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 2008 Mar;19(3):329-37.
3. Arhipova, I., Bāliņa, S. (2003). *Statistika Ekonomikā. Risinājumi ar SPSS un Microsoft Excel.* Rīga: Datorzinību centrs, 352 lpp.
4. Birchard S.J., Sherding R.G. (2006). *Saunders manual of small animal practise.* Third edition, USA, Elsevier, 2008 p.
5. Civitelli R., Armamento-Villareal R., Napoli N. (2009). Bone turnover markers: understanding their value in clinical trials and clinical practise. *Osteoporosis international*, 20:843-852
6. Ettinger S.J. (1995). *Pocket companion to the fourth edition of textbook of veterinary internal medicine.* W.B.Saunders company, 877 p.
7. Jemeljanovs Ļ., Dūrītis I., Beinerts J. (2008). *Dzīvnieku iekšējīgo slimību laboratoriskā diagnostika.* Jelgava, 90 lpp.
8. Li F., Cao X., Zhao L., Wang J., Ding. Z. (2014). Effects of Mineral Additives on Biochar Formation: Carbon Retention, Stability, and Properties. *Environmental science and technology.* Washington DC : American Chemical Society, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25203840>, resurss apskatīts 2014.09.01.
9. Mitchell N.J., Kumi J., Aleser M., Elmore S.E., Rychlik K.A., Zychowski K.E., Romoser A.A., Phillips T.D., Ankras N.A. (2014). Short-Term Safety and Efficacy of Calcium Montmorillonite Clay (UPS-N) in Children. *The American journal of tropical medicine and hygiene.* ISSN: 2014 Aug 18., <http://www.ajtmh.org/content/early/2014/08/14/ajtmh.14-0093.full.pdf+html>, resurss apskatīts 2014.09.01.
10. Shikino K, Ikusaka M, Yamashita T. (2014). Vitamin D-deficient osteomalacia due to excessive self-restrictions for atopic dermatitis. *BMJ case reports.* London : BMJ Pub. Group, 2014 Jul 4;2014.
11. Tentori F., Blayney M.J., Albert J.M., Gillespie B.W., Kerr P.G., Bommer J., Young E.W., Akizawa T., Akiba T., Pisoni R.L., Robinson B.M., Port F.K. (2008). Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus, and PTH: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation.* 52(3):519-30.
12. TECOMedical Group, Switzerland, © 04/2009, http://www.tecomedical.com/download-file?item_file_id=2494&item_file_code=4ab6df96cf&file_key=0, resurss apskatīts 2014.09.01.
13. Vesper H.W. (2005). *Analytical and Preanalytical Issues in Measurement of Biochemical Bone Markers.* USA: Medscape, LabMedecine. 15.07.2014., http://www.medscape.com/viewarticle/509097_2, resurss apskatīts 2014.09.02.
14. Willard M.D., Tvedten H., Turnwald G.H. (1989). *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods.* Saunders company, Philadelphia, 380 p.