

2 Literaturübersicht

2.1 Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels

Bei allen Vertebraten unterliegt das lebende Knochengewebe einem ständigen Umbau mit gleichzeitig parallel laufenden Auf- und Abbauvorgängen. Hierfür hat sich der aus dem englischen Sprachgebrauch stammende Begriff „Remodeling“ durchgesetzt (RIGGS, 1991; GARNERO und DELMAS, 1998). Das Remodeling umfasst durch Osteoklasten vermittelte Abbauvorgänge (Knochenresorption) und durch Osteoblasten vermittelte Aufbauvorgänge (Knochenbildung, RIGGS, 1991; GARNERO und DELMAS, 1998) und hat zum Ziel, die Knochenmasse innerhalb definierter Grenzen zu erhalten (DUCY et al., 1996).

Bei einem abnormalen Knochenmetabolismus ist das physiologische Gleichgewicht dieser Abläufe gestört. Wenn die Resorption stärker ist als die Knochenbildung, kommt es zu einem Nettoverlust an Knochenmasse, der sich klinisch beispielsweise in einer Osteoporose zeigt. Bei einem exzessiven Remodeling entstehen die für Morbus Paget typischen Knochenläsionen (SINGER und ROODMAN, 1996).

Als Marker des Knochenstoffwechsels werden im allgemeinen Enzyme aus knochen-spezifischen Zellen oder Matrixkomponenten, die während des Remodelling in die Zirkulation gelangen, eingesetzt (PRICE, 1998). Um Knochenmarker zu messen, reicht eine Urin- oder Blutprobe, d. h. die Untersuchungen können beliebig oft wiederholt werden. Es ist aber zu bedenken, dass die Knochenmarker zwar die Balance des Knochens zwischen Bildung und Resorption widerspiegeln, aber keine Rückschlüsse auf die Skelettmasse und -architektur ermöglichen (PRICE, 1998).

Die Hauptbedingung für den „idealen“ Knochenmarker stellt eine hohe Gewebespezifität dar. Er sollte eine Aufdeckung schneller Veränderungen in der Synthese und dem Abbau der biochemischen Komponenten erlauben, die das Knochengewebe umfassen (RISTELI und RISTELI, 1993A). Im Idealfall sollte ein Marker der Knochenbildung in einer Menge ins Blut sezerniert werden, die proportional zu seiner Inkorporation in den

Knochen ist. Weiterhin sollte die sezernierte Fraktion durch Erkrankungen unbeeinflusst bleiben. Ein idealer Marker der Knochenresorption müsste entweder die metabolische Aktivität der Osteoklasten widerspiegeln, oder es sollte ein Degradationsprodukt eines Matrixbestandteils sein, der in anderen Geweben nicht vorkommt (WITHOLD, 1996).

Beim Pferd haben sich folgende Knochenmarker bewährt: Osteocalcin (LEPAGE und TREMBLAY, 1990; LEPAGE et al., 1991; LEPAGE et al., 1992; LEPAGE et al., 1997), die knochenspezifische alkalische Phosphatase (HANK et al., 1993; PRICE et al., 1995A) sowie die carboxyterminalen, querverbundenen Telopeptide des Typ 1-Kollagen (ICTP) (RISTELI und RISTELI, 1993A; PRICE et al., 1995A; LEPAGE et al., 1998A).

Der Entwicklungsablauf eines osteoblastischen Zellphänotyps umfasst drei aufeinanderfolgende Phasen: die Proliferation, die Reifung der extrazellulären Matrix und die Mineralisation (STEIN et al., 1990). Jede Phase umfasst die Expression charakteristischer Gene und ist ein notwendiger Vorläufer für die folgende Phase (RISTELI und RISTELI, 1993A).

1. Proliferation: Die Produktion von Typ 1-Kollagen ist ein früher Schritt, der während der Proliferation der Osteoblasten-Vorläufer stattfindet. Wenn die Ablagerung der kollagenen Matrix *in vitro* gestört wird, treten die Zellen nicht in die normalerweise folgenden Entwicklungsschritte über (STEIN et al., 1990). Während der Proliferationsphase stellen die Propeptide des Typ 1-Prokollagens einen aussagekräftigen Marker dar (RISTELI und RISTELI, 1993A).
2. Matrixreifung: Die Aktivität der alkalischen Phosphatase setzt unmittelbar nach der Zellproliferation ein, erreicht ihr Maximum während der Phase der Matrixreifung und sinkt, sobald die Matrix-Mineralisation beginnt (STEIN et al., 1990).
3. Mineralisation: Während der Matrix-Mineralisation werden die Gene für die Bildung der Kalzium-bindenden Proteine Osteocalcin und Osteopontin exprimiert (STEIN et al., 1990).

2.1.1 Marker aus dem Typ 1-Kollagen-Stoffwechsel

Mehr als 90% der organischen Knochenmatrix besteht aus Typ 1-Kollagen, das primär im Knochenmark synthetisiert wird (BURGESON, 1988). Im Hinblick auf den Knochenstoffwechsel können Marker eingesetzt werden, die entweder aus der Synthese oder dem Abbau von Typ 1-Kollagen stammen.

2.1.1.1 Marker aus der Typ 1-Kollagen-Synthese

Die Synthese von Typ 1-Kollagen durch Osteoblasten repräsentiert ein spätes Stadium während der Bildung neuen Knochengewebes. Zunächst wird das grosse Präcursor-Molekül Prokollagen synthetisiert, das eine C- und eine N-terminale Domäne besitzt. Diese Domänen verhindern eine verfrühte Verdrillung der Moleküle in den Prokollagenfibrillen (RISTELI und RISTELI, 1993A).

Das Prokollagen wird in den Extrazellulärraum sezerniert und durch extrazelluläre Proteasen gespalten. Die amino- und carboxyterminale Enden (Propeptide) werden abgespalten und als kleine Peptidfragmente freigesetzt. Die sogenannten PICP (carboxyterminales Propeptid) und PINP (aminoterminal Propeptid) werden als Marker für die Knochenbildung eingesetzt (SIMON et al., 1984; EBELING et al., 1992; CHRISTENSON, 1997).

Das PICP ist ein großes globuläres Protein aus drei Polypeptidketten, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind, und Carbohydratseitenketten des Mannosetyps. PICP wird aus der Zirkulation hauptsächlich durch Mannose-Rezeptoren auf Leberendothelzellen eliminiert (SMEDSROD et al., 1990). Die Serumspiegel von PICP reflektieren die Knochenbildung während des Skelettwachstums und bei metabolischen Knochenerkrankungen (TRIVEDI et al., 1991; ERIKSEN et al., 1993).

PINP ist kleiner als PICP. Das Molekül ist gestreckt durch eine dreifache kollagene Helix im mittleren Bereich. Es enthält keinen Kohlenhydratanteil, ist aber sowohl im Knochen als auch in Fibroblasten phosphoryliert (FISCHER et al., 1987). PINP wird mit

Hilfe eines endothelgebundenen Rezeptors durch die Leber aus dem Blutkreislauf entfernt (RISTELI und RISTELI, 1993A).

2.1.1.2 Marker aus dem Typ 1-Abbau

Der Abbau von Typ 1-Kollagen wird durch Osteoklasten-Proteasen mediiert. Diese sauren Proteasen bauen die querverbundenen Kollagenfibrillen zu Aminosäuren und kleinen Peptidfragmenten ab (EYRE, 1996). Es entsteht ein Gemisch von Peptiden und freien Aminosäuren. Die Typ 1-spezifischen Kollagen-Fragmente können mittels ELISA sowohl im Urin als auch im Blutserum bestimmt werden (BONDE et al., 1994; BONDE et al., 1997). Der ELISA hat sich auch als wertvolles Hilfsmittel zur Verfolgung der antiresorptiven Behandlung bei Patienten mit metabolischen Knochenerkrankungen erwiesen (GARNERO et al., 1994; BONDE et al., 1995).

Als Marker werden Hydroxyprolin (KIVIRIKKO, 1970), Pyridinolin- und Desoxypyridinolin-Crosslinks (EYRE, 1992; SEIBEL et al., 1992; ROBINS et al., 1996) sowie die querverbundenen carboxyterminalen (ICTP) (RISTELI et al., 1993B) und aminoterminalen (INTP) Telopeptide des Typ 1-Kollagen (HANSON et al., 1992) verwendet. Hydroxyprolin wird bei einer generalisierten oder lokalisierten Knochenresorption vermehrt gebildet (KIVIRIKKO, 1970). Die Pyridin-enthaltenden Kollagenfragmente sind nicht nur für das Kollagen Typ 1 von Knochen und Dentin typisch, sondern auch für das Kollagen Typ 2 des Knorpels. Auf Grund der grossen Menge an Knochenkollagen im Organismus ist eine erhöhte Konzentration der Pyridin-Kollagenfragmente in Urin oder Serum dennoch aussagekräftig im Hinblick auf einen vermehrten Abbau von Typ 1-Kollagen (SEIBEL et al., 1992). Von besonderem Vorteil ist die Spezifität der Pyridinfragmente für fibrilläres Kollagen, d. h. sie können nicht aus dem Abbau frisch synthetisierten Kollagens stammen (KIVIRIKKO, 1970).

INTP enthalten auch die Pyridinolin- und Desoxypyridinolin-Crosslinks (HANSON et al., 1992) und werden in der Humanmedizin zur Diagnose des Morbus Paget eingesetzt (HANSON et al., 1992). Bei Frauen in der frühen postmenopausalen Phase ist die Kon-

zentration an INTP höher als bei prämenopausalen Frauen und als bei Männern (HANSON et al., 1992). Bei metabolischen Knochenerkrankungen korreliert die INTP-Konzentration im Serum sehr gut mit histomorphometrisch ermittelten Resorptionsraten. Dies gilt auch für Osteomalazie und Hyperthyreoidismus (RISTELI und RISTELI, 1993A).

Bei Kleinkindern und Kindern ist die ICTP-Konzentration als Zeichen der Wachstumsrate erhöht (RISTELI und RISTELI, 1993A). Auch bei rein osteolytischen und bei kombiniert osteoblastischen/osteolytischen Läsionen wird vermehrt ICTP gebildet (KYLMÄLÄ et al., 1993).

Bei Pferden sinken die Serum-ICTP-Level mit zunehmendem Alter (PRICE et al., 1995A; LEPAGE et al., 1998A), mit den deutlichsten Änderungen im ersten Lebensjahr (PRICE et al., 1995A). Bei Kaltblütern wurden höhere ICTP-Konzentrationen gemessen als bei Warmblütern. Der ICTP-Level fiel bei Hengsten/Wallachen und Stuten nicht statistisch signifikant unterschiedlich aus (LEPAGE et al., 1998A). Während einer Einjahres-Studie zeigte sich aber bei Vollblutstuten im Frühjahr ein sprunghafter, vorübergehender Anstieg der ICTP-Gehalte, der in Zusammenhang mit dem Einsetzen der Reproduktionsaktivität zu sehen ist (JACKSON et al., 1998).

Wie die übrigen Knochenmarker weist auch die Sezernierung von ICTP circadiane Schwankungen auf. Am höchsten ist die Konzentration morgens, die niedrigsten Werte werden nachts gemessen (BOLLEN et al., 1995; CALVO et al., 1996).

2.1.2 Alkalische Phosphatase

Die alkalische Phosphatase ist ein membrangebundenes Protein mit enzymatischer Aktivität, das von den Zellen verschiedener Gewebe (Leber, Knochen, Darm, Milz, Niere, Plazenta) synthetisiert wird. Zusätzlich exprimieren einige Tumoren makromolekulare Formen der alkalischen Phosphatase, sogenannte Nagao-alkalische Phosphatase (KOYAMA et al., 1985; AKESSON, 1995; NAKAYAMA et al., 1998; JENKINS et al., 1999).

Die alkalische Phosphatase bindet an ein Glycoxyolphosphatidylinositol (GPI) auf der Osteoblasten-Zellmembran, agiert als Exoenzym in situ (FEDDE et al., 1988) und scheint eine Schlüsselfunktion bei der Kalzifikation zu besitzen: Sie spaltet organisches von anorganischem Phosphat und anorganisches Pyrophosphat, einen starken Inhibitor der Mineralisation (PUZAS, 1993; ERIKSEN et al., 1995).

Die skelettale oder knochenspezifische Isoform der alkalischen Phosphatase („bone alkaline phosphatase“, BAP) ist ein tetrameres Glukoprotein, das sich auf der Zelloberfläche von Osteoblasten befindet. Die Funktion der alkalischen Phosphatase ist noch nicht vollständig aufgeklärt, obwohl ihre Rolle bei der skelettalen Mineralisierung bestätigt wurde. Eine Akkumulation der alkalischen Phosphatase wird bei aktivierten Osteoblasten gesehen (DOTY und SCHOFIELD, 1976; AKESSON, 1995). Die Bestimmung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase aus dem Serum als Indikator der osteoblastischen Aktivität erfolgt in der Humanmedizin hauptsächlich auf Grund dreier Indikationen:

1. Management der postmenopausalen Osteoporose und des Morbus Paget.
2. Überwachung der Hormon- oder Biphosphorsäure-Therapie bei postmenopausalen Frauen.
3. Prognose der Skelettantwort auf eine Hormontherapie bei postmenopausalen Frauen.

Bei erniedrigter Aktivität der alkalischen Phosphatase besteht bei postmenopausalen Frauen ein höheres Frakturrisiko auf Grund einer Osteoporose (GARNERO, 2000; ROSS et al., 2000).

Bei Pferden wird eine erhöhte Aktivität der gesamten alkalischen Phosphatase im Serum bei neugeborenen Fohlen gesehen. Sie sinkt aber während der ersten Lebenswochen wieder deutlich ab (DUMAS und SPANO, 1980; SCHMITZ et al., 1982; BAUER et al., 1989). Widersprüchliche Meinungen existieren darüber, welche Isoenzyme an der postnatal gestiegenen AP-Konzentration beteiligt sind: entweder die leberspezifische (DUMAS und SPANO, 1980; GOSSET und FRENCH, 1986) oder die knochenspezifische

sche Isoform (TRUEMAN et al., 1983; ELLISON und JACOBS, 1990; HANK et al., 1993) oder eine Kombination von Leber- und Knochen-AP (THOREN-TOLLING, 1988) oder auch die intestinale Isoform (SCHMITZ et al., 1982).

2.1.3 Osteocalcin

Osteocalcin (im englischen Sprachgebrauch auch „bone Gla-Protein“, BGP) ist ein kleines Vitamin-K abhängiges Protein aus 46 bis 50 Aminosäuren, das im Knochen vorkommt und nur durch Osteoblasten und die Megakaryozyten des Knochenmarks produziert wird (CAMPION et al., 1989; THIEDE et al., 1994; DUCY et al., 1996). Es besitzt ein Molekulargewicht von 5 800 Da und enthält drei Gamma-Carboxyglutaminsäurereste (=GLA), die vermutlich für die Bindung von Kalziumionen und Hydroxylapatit verantwortlich sind (ISMAIL et al., 1986). Die GLA-Reste werden in der posttranslationalen Phase gebildet. Diese Reaktion verläuft analog wie die Bildung von Blutgerinnungsfaktoren und ist abhängig von Vitamin K. Die Osteocalcin-Bildung wird aber auch durch 1,25-Dihydroxy-Vitamin D kontrolliert: Bei der Abwesenheit dieses Vitamins findet die Osteocalcin-Synthese nur in einem sehr geringen Ausmaß statt (RISTELI und RISTELI, 1993A). Die Transkription des Osteocalcin-Gens wird durch Vitamin D₃ und Parathormon sowie Glukokortikoide und verschiedene Wachstumsfaktoren moduliert (COLOMBO et al., 1993).

Das frisch gebildete Osteocalcin wird primär in die Blutbahn sezerniert und ein Rest im Knochenmark inkorporiert (DELMAS, 1995). Bei bestimmten klinischen Experimenten, beispielsweise nach Citrat-Infusionen steigt die Serum-Osteocalcin-Konzentration so rapide an, dass eine de novo-Synthese unwahrscheinlich ist und der Konzentrationsanstieg eher auf einer Freisetzung von gespeichertem Osteocalcin beruht (GUNDBERG et al., 1991)

Im Knochen stellt Osteocalcin 10-20% der Nicht-Kollagen-Proteine. Seine Funktion in vivo ist noch unbekannt (SEIBEL, 2000), durch seine Affinität zu den mineralischen Knochenbestandteilen ist aber eine Rolle bei der Knochenbildung wahrscheinlich

(ISMAIL et al., 1986; DELMAS, 1995). Bei Osteocalcin-defizienten Mäusen war die Mineralisation des Knochens aber ungestört (DUCY et al., 1996). Vermutlich limitiert Osteocalcin die Knochenbildung ohne die Mineralisation und Resorption zu beeinflussen (DUCY et al., 1996).

Die Osteocalcin-Konzentration im Serum korreliert gut mit der histomorphometrisch bestimmten Knochenbildungsrate (DELMAS et al., 1985; CARPENTER et al., 1992)

Es wurden altersabhängigen Konzentrationsänderungen gefunden. Bei Fohlen wurde dreimal so viel Osteocalcin nachgewiesen wie bei erwachsenen Pferden (BLACK et al., 1999). Auch in anderen Studien wird von höheren Werten bei jungen Pferden berichtet (MÄENPÄÄ et al., 1988A; LEPAGE und TREMBLAY, 1990; LEPAGE et al., 1992; DAVICCO et al., 1994). Während der Pubertät kommt es zu einem vorübergehenden Peak (EASTELL et al., 1992; CALVO et al., 1996), und erst ab etwa fünf Jahren bleibt der Osteocalcin-Gehalt konstant (LEPAGE und TREMBLAY, 1990).

In zwei Studien wird von diurnalen Schwankungen der Osteocalcin-Konzentration mit einem nächtlichen Peak und einem Nadir um die Mittagszeit berichtet (LEPAGE et al., 1991; BLACK et al., 1999), die andere Autoren nicht nachvollziehen können (HOPE et al., 1993; GEOR et al., 1995). Möglicherweise beruhen diese Differenzen darauf, dass die letztgenannten Autorengruppen Pferde verschiedener Altersgruppen in ihren Studien subsumieren (BLACK et al., 1999). Es können jedoch auch andere Einflussfaktoren wie beispielsweise die Lichteinstrahlung eine Rolle spielen, denn es wurde von sinkenden Osteocalcin-Konzentrationen beim Übergang von der Weide- zur Stallhaltung berichtet (MÄENPÄÄ et al., 1988A).

Im Gegensatz zum Menschen scheinen bei Pferden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bezüglich der Osteocalcin-Konzentration zu bestehen (LEPAGE et al., 1992; LEPAGE et al., 1998A). Vereinzelt wurde solche Unterschiede dennoch beschrieben: Bei Hengstfohlen war im Alter von vier Monaten die Serum-Osteocalcin-Konzentration höher als bei gleichaltrigen Stutfohlen (FLETCHER et al., 1998). Auch bei Pferden, die älter als 24 Monate waren, wurden unterschiedliche Osteocalcin-Gehalte in Abhängigkeit vom Geschlecht beobachtet (CHIAPPE et al., 1999). Bei Vollblutstuten sank wäh-

rend der Gravidität und Laktation die Korrelation zwischen Alter und Osteocalcin-Konzentration (CHIAPPE et al., 1999).

Der Abbau von Osteocalcin findet hauptsächlich in den Nieren und der Leber statt. (FARRUGIA und MELICK, 1986).

2.1.4 Vitamin D

Der Begriff „Vitamin D“ kennzeichnet eine Gruppe strukturell verwandter, aber biologisch unterschiedlich stark wirksamer Verbindungen, die sich alle von Sterinen ableiten. Für die Stoffwechselfunktion am bedeutsamsten ist das Vitamin D₃ (1,25-Dihydroxycholecalciferol, Calcitriol, „Vitamin D-Hormon“). Die Beurteilung des Vitamin D-Haushaltes erfolgt sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin über die Bestimmung dieses stoffwechselwirksamen Vitamin D-Metaboliten (HOLLICK, 1985). Dies gilt allerdings nur mit Einschränkungen für Pferde (s. S. 18) (TWEHUES, 1994; BREIDENBACH et al., 1998).

Vitamin D wird zu einem kleinen Teil mit der Nahrung aufgenommen, der grössere Anteil wird im Unterhautfettgewebe aus 7-Dehydro-Cholesterin unter dem Einfluss ultravioletten Lichts synthetisiert. Es gelangt proteingebunden zur Leber und wird dort hydroxyliert. Eine weitere, streng regulierte Hydroxylierung in der Niere lässt das aktive 1,25-Dihydroxycholecalciferol oder das inaktive 24, 25- Dihydroxycholecalciferol entstehen (DELMAS et al., 1983). Die alternative Bildung der aktiven oder der inaktiven Form unterliegt strengen Regulationsmechanismen. Beispielsweise wird die Entstehung von 1,25-Dihydroxycholecalciferol durch Parathormon, niedrige Serumspiegel von Kalzium und Phosphat, Östrogene sowie Wachstumshormone gefördert (CASTILLO et al., 1977; HENRY und NORMAN, 1984), durch zu hohe Phosphatkonzentrationen und Calcitonin, 25-Hydroxycholecalciferol sowie Cortison gehemmt (KANN, 1994).

1,25-Dihydroxycholecalciferol selbst hat die Aufgabe, die Kalzium-Homöostase im Organismus zu regulieren. Bei einem Abfall der Plasma-Kalzium-Konzentration stimu-

liert es die intestinale Kalzium-Absorption und zusammen mit Parathormon die Knochenresorption (MASON, 1985).

Ein Mangel an Vitamin D stört die Kalziumbilanz und wird als „subklinischer Vitamin D-Mangel“ an erniedrigten Knochendichtewerten erkennbar (VILLAREAL et al., 1991). Erst bei einem ausgeprägten Mangel kommt es bei Kindern zur Entstehung einer Rachitis, bei Erwachsenen zu einer Osteomalazie. Bei der Osteoporose-Entstehung ist ein Vitamin D-Mangel sekundär: Auf der Basis eines Östrogenmangels kommt es zu einer vermehrten Knochenresorption und steigenden Plasma-Kalzium-Spiegeln. In der Folge wird die Sekretion von Parathormon unterdrückt und hierdurch zu wenig 1,25-Dihydroxycholecalciferol synthetisiert (GALLAGHER et al., 1980; KANN, 1994).

Ein Vitamin D-Mangel stört die Osteoblasten-Differenzierung. Das resultierende Ungleichgewicht zwischen Knochenresorption und -bildung zeigt sich auch in einem gleichzeitigen Anstieg der alkalischen Phosphatase. Zusätzlich stagniert die Vitamin D induzierte Osteocalcinbildung (DERNIAUX et al., 1992; BIKLE, 1997).

Bei Pferden gibt es Hinweise dafür, dass Vitamin D in der Homöostase des Kalzium-/Phosphor-Stoffwechsels keine Schlüsselrolle spielt (TWEHUES, 1994; BREIDENBACH et al., 1998). Die 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Konzentrationen sind bei Pferden viel niedriger als bei anderen Säugern, Menschen und Vögeln (SMITH und WRIGHT, 1984; MÄENPÄÄ et al., 1988B; ENBERGS et al., 1996; BREIDENBACH et al., 1998). Reihenuntersuchungen an finnischen Pferden mit Hilfe von Radiorezeptorassays ergaben im Winter Konzentrationen von 2-5 ng/ml, im Sommer von 2,5-6 ng/ml (MÄENPÄÄ et al., 1988B). In einer weiteren Studie wurden – ebenfalls mittels Radiorezeptorassay – zwischen 42 und 85 pmol/l 1,25-Dihydroxycholecalciferol nachgewiesen (TWEHUES, 1994). Bei anderen Untersuchungen, die weniger empfindliche Nachweismethoden verwendeten, konnte kein 1,25-Dihydroxycholecalciferol identifiziert werden (HARRINGTON und PAGE, 1983; SMITH und WRIGHT, 1984). Dies ist besonders erwähnenswert, weil die 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Konzentration bei anderen Spezies einschließlich des Menschen als sensitiver Indikator des Vitamin-D-Status angesehen wird (MAWER et al., 1985). Die niedrigen 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Konzentrationen liegen bei Pferden

in einem Bereich, der bei anderen Säugern als Rachitis-auslösend gilt. Dennoch gibt es die spontane Entstehung einer Rachitis oder Osteomalazie bei Pferden – wenn überhaupt – nur sehr selten (BREIDENBACH et al., 1998).

Gleichzeitig zu den niedrigen 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Konzentrationen liegen die Kalzium-Konzentrationen bei Pferden mit 2,75-3,25 mmol/l in einem Bereich, der bei anderen Spezies bereits als hypercalcämisch angesehen wird (KEENAN, 1979; GEISER und FAULK, 1989). Begleitend sind die Phosphor-Konzentrationen mit durchschnittlich 0,7-1,7 mmol/l aussergewöhnlich niedrig (BOYD, 1984; WEISWEILER et al., 1993).

Im Sommer jeweils leicht höhere Werte deuten darauf hin, dass auch bei Pferden die UV-Bestrahlung zu einer Vitamin D-Synthese in der Haut anregt (MÄENPÄÄ et al., 1988B). Bei der Umstellung von Vollblutjährlingen von der Weide- zur Rennstallperiode waren signifikant steigende Hydroxycholecalciferol-Gehalte zu verzeichnen (KARP, 1989; ENBERGS et al., 1996). Hierfür sind mehrere Ursachen zu diskutieren: 1. Eine zeitlich verzögerte Reaktion der 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Spiegel auf die bei Sonneneinstrahlung synthetisierten Vitamin D₃-Gehalte (GEMEINER et al., 1978; MÄENPÄÄ et al., 1988B; ENBERGS et al., 1996). 2. Ein Einfluss des Alters (ENBERGS et al., 1996). 3. Eine verbesserte Supplementation über ein vitaminisiertes Mineralfutter (ENBERGS et al., 1996).

2.2 Nichtinvasive biometrische Untersuchung der Knochenqualität

Die Knochenqualität beim Pferd – speziell beim Rennpferd – beinhaltet die maximale Kraftentfaltung bei möglichst minimaler Knochenmasse (JEFFCOTT et al., 1986). Als Parameter der Beurteilung dieser Qualität können die Steifheit bzw. Elastizität, die Dichte und die geometrische Konfiguration herangezogen werden (JEFFCOTT et al., 1986). Eine Übersicht über die unterschiedlichen Verfahren gibt die folgende Zusammenstellung:

Tabelle 1: Methoden zur Beurteilung der Knochenqualität bei Pferden

Parameter	Methoden	Autoren
Knochen-mineral-gehalt	<i>Dual-Energy-X-ray-Absorptiometry (DXA)</i> <i>Single-Energy-X-ray-Absorptiometry (SXA)</i> <i>Radiographic Absorptiometry (RA)</i>	LAWRENCE und OTT, 1985 JEFFCOTT und McCARTNEY, 1985 MEAKIM et al., 1981
Knochen-mineral-dichte	Quantitative Computertomographie (QCT) Quantitative Ultrasonographie (QUS) <i>Multi-site QUS-along axis</i> Photonenabsorptiometrie	RIGGS, 1999 PRATT, 1980 LEPAGE et al., 1998B LEPAGE et al., 2001
Optische Dichte	Radiographische Photodensitometrie	HOECKSTRA et al., 1999

Die radiologischen Methoden zur Beurteilung des Knochenmineralgehalts beruhen auf dem Prinzip, dass die Knochen die Photonen der Röntgenstrahlen proportional zu ihrer Kalziumdichte absorbieren. Bei dem modernsten Verfahren, der DXA, wird ein hochenergetischer und ein niederenergetischer Röntgenstrahl eingesetzt. Dieses Verfahren, das in der Humanmedizin heute sehr weit verbreitet ist, wurde unseres Wissens bei Pferden erst im Rahmen von ex vivo-Studien eingesetzt (CARSTANJEN et al., 2000). Jedoch ist allen genannten radiologischen Methoden gemeinsam, dass sie nur eine Schätzung der Knochendichte ermöglichen. Als Ergänzung hierzu existieren Verfahren zur quantitativen Messung der Knochenmineraldichte, die die Architektur des Knochens, d. h. das dreidimensionale Arrangement des Gewebes, seine Porosität und seine Anisotropie, nutzen. Beispielsweise wendet man bei der quantitativen Ultrasonographie das Prinzip an, dass die Ultraschallwellen beim Durchdringen eines Transportmediums (hier: des Knochens) ihre Geschwindigkeit und Amplitude ändern (LEPAGE et al., 2001).

Auch die in der vorliegenden Untersuchung eingesetzte Densitometrie erlaubt eine quantitative Einschätzung der Knochendichte, in dem die Schwärzung des Röntgenfilms mit der definierten Skala eines Standardobjekts mit bekannter optischer Dichte verglichen wird.