

6 Diskussion

6.1 Vergleich der eigenen Ergebnisse der Bestimmungen von Knochenmarkern mit Referenzwerten

In der vorliegenden Untersuchung wurden die Osteocalcin-Konzentration und die Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase als biochemische Marker für Aufbauvorgänge im Knochen, der Gehalt an querverbundenen carboxyterminalen Telo-peptiden (ICTP) im Serum als Marker für Abbauprozesse und die 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Konzentration als Hinweis auf die Homöostase des Kalzium-Phosphor-Stoffwechsels verwendet.

Die Messung der Osteocalcin-Spiegel wird skeptisch betrachtet, da eine hohe Schwankungsbreite der ermittelten Werte auftritt. Besonders in den ersten 48 Lebensmonaten zeigt die Osteocalcin-Konzentration bei Pferden sehr große Variationen, die die gesteigerte Knochenbildungsrate in diesem Lebensabschnitt widerspiegeln (LEPAGE und TREMBLAY, 1990). Bei einer detaillierten Untersuchung von Warmblutfohlen während ihrer ersten 200 Lebenstage konnte jedoch ein kontinuierlicher Abfall der Osteocalcin-Konzentrationen über den Untersuchungszeitraum nachgewiesen werden (WINKELSETT, 2003).

Übereinstimmend wird von einer deutlichen Abnahme der Osteocalcin-Gehalte nach Abschluß des Knochenwachstums berichtet, wie die folgende Tabelle mit Referenzwerten aus der Literatur zeigt.

Auch in der vorliegenden Untersuchung wies der Osteocalcin-Spiegel mit Werten zwischen 20,48 und 71,97 ng/ml eine hohe Variationsbreite auf. Die Werte lagen aber insgesamt in dem Bereich, den andere Autoren für die entsprechende Alterstufe angeben (vgl. Tabelle 6).

Tabelle 6: Osteocalcin-Konzentration bei Pferden
(* Einreitphase, ** Trainingsphase)

Autor/en	Altersangaben	Osteocalcin (ng/ml)
BLACK et al. (1999)	Fohlen	40,6 ± 5,9
	adult	12,8 ± 2,0
DAVICCO et al. (1994)	< 1/5 Jahr	44,3 ± 2,2
	7-14 Jahre	4,9 ± 2,1
HOPE et al. (1993)	adult	13,88 ± 0,96
LEPAGE et al. (1992)	< 6 Monate	52,9 ± 7,6
	6-18 Monate	36,9 ± 6,8
	18-24 Monate	33,6 ± 7,3
	24-36 Monate	25,5 ± 6,4
	36-60 Monate	15,8 ± 4,2
LEPAGE und TREMBLAY (1990)	Fohlen	47,3
	1 1/2 Jahre	35,7
	2 1/2 Jahre	6,7
MÄENPÄÄ et al. (1988A)	Fohlen auf der Weide	etwa 40
	Fohlen nach dem Aufstallen	etwa 30
WINKELSETT (2003)	Warmblutfohlen	
	1-50 Tage	38,8 ± 6,92
	51-100 Tage	34,0 ± 5,85
	101-150 Tage	30,1 ± 5,00
	151-200 Tage	29,0 ± 5,00
Eigene Untersuchung	Vollblutjährlinge	40,9 ± 7,7*
	(15-22 Monate)	41,6 ± 10,**

Wie die Osteocalcin-Konzentration spiegelt auch die Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase den Knochenaufbau junger Pferde wieder. Im ersten Lebensmonat kann die Aktivität Werte bis zu etwa 300 U/l erreichen (PRICE et al., 1995A; HOYT und SICILIANO, 1999), um im dritten Monat auf Werte zwischen 25 und 100 U/l abzusinken. Bei Jährlingen sind Werte um 50 U/l zu verzeichnen (Tabelle 7). Diesen Angaben entsprachen auch die Werte unserer Pferde, die im Alter zwischen 15 bis 22 Monate waren, mit durchschnittlich $48,5 \pm 9,5$ U/l im Aufzuchtstall und $46,8 \pm 12,3$ U/l nach dem Wechsel auf die Rennbahn.

Tabelle 7: Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase bei Pferden
(* Einreitphase, ** Trainingsphase)

Autor/en	Altersangaben (Monate)	knochenspezifische alkalische Phosphatase (U/l)
HOYT und SICILIANO (1999)	0,5	241,3 ± 9,8
	2,0	294,5 ± 9,0
	3,5	102,7 ± 7,8
	24	48,4 ± 0,8
PRICE et al. (1995A)	< 1	134,0-288,0
	1-2	32,7-125,0
	3-4	25,1- 70,0
	5-20	13,0- 46,9
eigene Untersuchung	15-22	48,4 ± 10,7*
		44,1 ± 16,0**

Erwartungsgemäß weist auch die Konzentration der querverbundenen carboxyterminalen Telopeptide als Marker für Abbauprozesse im Knochen eine deutliche Altersabhängigkeit auf. PRICE et al. (1995A) geben für Fohlen einen Bereich von 10618-20693pM, für Ein-/Zweijährige von 6123-17670pM, für Drei-/Vierjährige von 4340-11858pM und für ältere Pferde von 0-7053pM an. Vergleichbare Werte gibt auch die Arbeitsgruppe LEPAGE für Pferde ab vier Jahren an (Tabelle 8). In der eigenen Untersuchung an Vollblutjährlingen im Alter zwischen 15 und 22 Monaten lag die Spannweite der Werte von 2240-11800pM deutlich unter derjenigen der Arbeitsgruppe PRICE für gleichaltrige Pferde. Eine Erklärung hierfür könnte einerseits sein, dass unterschiedliche Nachweissysteme verwendet wurden. Andererseits wurde in der vorliegenden Untersuchung gezielt der Zeitraum Einreitphase/beginnendes Training in einer homogenen Vollblütergruppe etwa gleichen Alters analysiert, während in der Untersuchung von PRICE lediglich das Alter als Einflussfaktor interessierte und demzufolge als Eingangsvoraussetzung weder Rasse noch Trainingszustand, sondern lediglich das Fehlen einer orthopädischen Erkrankung gewählt wurde.

Tabelle 8: Querverbundene carboxyterminale Telopeptide (pM ICTP) bei Pferden (* Einreitphase, ** Trainingsphase, *** Werte nach Umrechnung von µg/l in pM)

	LEPAGE et al. (1998A)***	PRICE et al. (1995A)***	eigene Untersuchung
< 1 Jahr	-	10618-20693	-
1-2 Jahre	-	6123-17670	2240-8590* 2490-11800**
3-4 Jahre	4178-10850	4340-11858	-
> 5 Jahre	2503-9765	0-7053	-

Auch bezüglich des 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Gehaltes scheint eine Altersabhängigkeit zu bestehen. Bei neun Monate alten Pferden betrug die mittlere Konzentration $6,4 \pm 3,84$ ng/ml, bei 21 Monate alten Pferden dagegen $5,0 \pm 2,74$ ng/ml (MÄENPÄÄ et al., 1987). In der vorliegenden Untersuchung wurden für Vollblutjährlinge im Aufzuchtstall im Mittel $6,3 \pm 2,3$ ng/ml und nach dem Wechsel auf die Rennbahn $6,1 \pm 2,2$ ng/ml ermittelt.

Tabelle 9: 1,25-Dihydroxycholecalciferol bei Pferden (* Einreitphase, ** Trainingsphase)

Autor/en	Altersangaben	1,25-Dihydroxycholecalciferol (ng/ml)
MÄENPÄÄ et al. (1987)	neun Monate	$6,4 \pm 3,84$
	21 Monate	$5,0 \pm 2,74$
eigene Untersuchung	15-22 Monate	$6,3 \pm 2,3^*$
		$6,1 \pm 2,2^{**}$

Zusammenfassend lagen die für den Knochenstoffwechsel relevanten biochemischen Parameter im Referenzbereich, den andere Autoren angeben, und fielen auch durch den Trainingsbeginn nicht aus diesem Rahmen. Im Folgenden soll jedoch den durch den Wechsel auf die Rennbahn eingetretenen Veränderungen nachgegangen werden.

6.2 Verlauf der biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels während der Untersuchungsperiode

Zahlreiche Untersuchungen beim Menschen haben die Zusammenhänge zwischen körperlichem Training und dem Knochenstoffwechsel untersucht (NISHIYAMA et al., 1988; MALM et al., 1993; SALVESEN et al., 1994; KRISTOFFERSON et al., 1995; BRAHM et al., 1996; THORSEN et al., 1996; BRAHM et al., 1997; ELIAKIM et al., 1997; RUDBERG et al., 2000). Körperliches Training führt zu einer Vergrößerung der Knochendichte und –masse beziehungsweise verhindert den Abbau von Knochenmasse bei älteren Menschen beiderlei Geschlechts. Der größte Trainingseffekt ist bei jungen Erwachsenen zu beobachten, es zeigen sich aber positive Auswirkungen in jedem Alter (BRAHM et al., 1997; ELIAKIM et al., 1997).

Die Entwicklung eines adäquaten Skelettsystems stellt eine der Hauptvoraussetzungen für ein für den Rennsport vorgesehenes Pferd dar. Der Beginn des Trainings und der Teilnahme an Rennen setzt das Knochensystem – besonders der Gliedmaßen – ersten mechanischen Belastungen aus und bei jungen Rennpferden treten häufig im Alter von 18-24 Monaten Lahmheiten auf (EL SHORAFI et al., 1979). Bei 70% der jungen Vollblutrennpferde sollen während der Trainingsphase Ermüdungsfrakturen des Os metacarpale III auftreten (NUNAMAKER et al., 1990). Ursache hierfür ist, dass das Skelettsystem zu Beginn der Trainings- und Rennbelastung noch unreif ist (JEFFCOTT et al., 1982; ROSSDALE et al., 1985), denn die Wachstumsfugen der langen Röhrenknochen sind bei Pferden erst im Alter von drei Jahren geschlossen (PRICE et al., 1995B). Möglicherweise sind viele Trainingsprogramme unzureichend, zumindest aber nicht optimal, um die Bildung der erforderlichen Skelettmasse und –stärke anzuregen und zu erhalten (PRICE et al., 1995B).

In der vorliegenden Untersuchung ließ sich nach dem Wechsel der Jährlinge auf die Rennbahn ein transientes Absinken der Osteocalcin-Konzentrationen über die ersten zwei Wochen nachweisen, anschließend zeigte sich ein Ansteigen der Osteocalcin-Konzentrationen bis auf Werte über die Ausgangskonzentrationen im Aufzuchtstall. In einer vergleichbaren Studie kam es bei untrainierten Quarter Horse-Wallachen nach

Aufnahme ins Renntraining zu einem Absinken der Osteocalcin-Konzentration bis zum 42. Trainingstag, gefolgt von einem allmählichen Wiederanstieg (NIELSEN et al., 1998). Auch nach dem Trainingsbeginn bei Zweijährigen, welches zusätzliche Belastungen durch Stufentests aufwies, zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Osteocalcin-Konzentrationen (WEDEMEYER, 2000). Dagegen führte eine geringe Belastung durch täglich 20minütiges Longieren zu keinen Veränderungen der Osteocalcin-Konzentration bei Quarter Horse-Jährlingen (FENTON et al., 1999). Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die alleinige Osteocalcin-Bestimmung keinen verlässlichen Hinweis auf eine angemessene oder zu starke Trainingsbelastung des Pferdes liefert. Es ist aber nicht auszuschließen, dass Verlaufskontrollen einzelner Pferde Rückschlüsse hierauf zulassen.

Tendenziell zeigte sich fünf Wochen nach Trainingsbeginn parallel zu den steigenden Osteocalcin-Konzentrationen auch eine höhere Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase bei einem Abnehmen der ICTP-Spiegel. PRICE et al. (1995B) beobachteten den Verlauf der ICTP-Gehalte im Serum bei zweijährigen Vollblütern über ein Jahr. Die Pferde absolvierten dreimal wöchentlich ein Laufbandprogramm und trainierten an den übrigen Tagen an der Laufmaschine. Verglichen mit einer Kontrollgruppe ohne Training waren bei den trainierten Pferden nach zwei und vier Monaten die knochenspezifische alkalische Phosphatase-Aktivität, sowie nach zwei und zehn Monaten zusätzlich die ICTP-Konzentration erhöht. Eine Erklärung hierfür geben die Autoren nicht, sondern interpretieren ihre Resultate lediglich als Ausdruck eines belastungsinduzierten verstärkten Remodelling des Knochens. Diese Ergebnisse überraschen, da mit einer gegenläufigen Entwicklung beider Parameter zu rechnen war. Einen solch gegenläufigen Verlauf konnten wir in der vorliegenden Untersuchung nachweisen, indem nach dem Wechsel der Jährlinge auf die Rennbahn die ICTP-Konzentration als Marker des Knochenabbaus tendenziell abnahm, während die Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase und die Osteocalcin-Konzentration als Marker des Knochenaufbaus einen ansteigenden Trend zeigten.

Bei regelmäßiger täglicher Arbeit überwiegen die Aufbauvorgänge im Knochensystem und reflektieren eine Adaptation des Skelettsystems an trainings- oder arbeitsinduzierte

mechanische Belastung (LEPAGE et al., 1998A). Darauf weisen auch die in der vorliegenden Untersuchung erzielten Ergebnisse hin.

6.3 Zusammenhänge zwischen den Verläufen der getesteten Parameter des Knochenstoffwechsels

Die statistische Prüfung der Zusammenhänge zwischen den Verläufen der Knochenmarker spiegelt die physiologischen Vorgänge des Remodelling wieder, bei dem auf- und abbauende Prozesse parallel ablaufen, um die Knochenmasse innerhalb physiologischer Grenzen zu halten (RIGGS, 1991; DUCY et al., 1996; GARNERO und DELMAS, 1998). In der vorliegenden Untersuchung wurden als Marker für den Knochenaufbau die Osteocalcin-Konzentration und die Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase gewählt, als Marker für die Knochenresorption der Gehalt an querverbundenen carboxyterminalen Telopeptiden (ICTP) im Serum. Im Einzelnen erreicht die Aktivität der alkalischen Phosphatase ihr Maximum während der Matrixreifung, das Kalzium-bindende Osteocalcin besitzt im Rahmen der Matrixmineralisation eine wesentliche Rolle (STEIN et al., 1990). Die ICTP entstehen während des Abbaus von Typ 1-Kollagen. Da sie für fibrilläres Kollagen spezifisch sind, können sie auch nicht aus frisch synthetisiertem Kollagen stammen (KIVIRIKKO, 1970; SEIBEL et al., 1992; RISTELI et al., 1993B; SEIBEL, 2000). In der vorliegenden Untersuchung ergaben sich signifikante Zusammenhänge zwischen den Markern des Knochenaufbaus, d. h. die Osteocalcin-Konzentration war mit der Aktivität der alkalischen Phosphatase positiv korreliert, während der Gehalt an ICTP als Marker der Knochenresorption negativ mit Osteocalcin und alkalischer Phosphatase korreliert war. Hiermit entsprachen die Korrelationen den erwarteten Zusammenhängen zwischen den Knochenmarkern. Zusätzlich wird die Eignung der – bisher selten verwendeten – querverbundenen carboxyterminalen Telopeptide ICTP als Marker der Knochenresorption bestätigt. Auch LEPAGE et al. (1998A) berichten von einer guten Korrelation zwischen Osteocalcin und ICTP sowie PRICE et al. (1995A) von einer Wechselbeziehung zwischen ICTP und alkalischer Phosphatase.

Eine positive Korrelation zwischen Osteocalcin und alkalischer Phosphatase wurde ebenfalls von RISTELI und RISTELI (1993A) nachgewiesen, obwohl beide Parameter verschiedene Aspekte der Osteoblasten-Differenzierung und -Funktion widerspiegeln.

1,25-Dihydroxycholecalciferol kann nicht als Marker für das Knochenmodellierung angesehen werden. Bei Menschen und Mammaliern reflektiert es den Vitamin D-Status und gibt indirekt Hinweise auf die Homöostase des Kalzium-Phosphor-Stoffwechsels (MAWER et al., 1985). Bei Pferden wird die Schlüsselrolle des Vitamin D im Kalzium-Phosphor-Stoffwechsel jedoch angezweifelt, da die 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Konzentration wesentlich geringer ausfällt (TWEHUES, 1994; BREIDENBACH et al., 1998) und in einer Größenordnung liegt, die bei anderen Spezies (Menschen eingeschlossen) als rachitogen gilt (MAWER et al., 1985). Die hier gemessenen 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Spiegel lagen mit durchschnittlich $6,01 \pm 2,16$ ng/ml in einem Bereich, den auch andere Autoren bei Pferden ermittelten (MÄENPÄÄ et al., 1988B; ENBERGS et al., 1996). Signifikante Korrelationen zu den Knochenmarkern ließen sich nicht nachweisen. Tendenziell deutete sich jedoch eine positive Wechselbeziehung zu den ICTP, eine negative zur alkalischen Phosphatase und zum Osteocalcin an. Da es eine der Aufgaben von 1,25-Dihydroxycholecalciferol ist, zusammen mit Parathormon die Knochenresorption zu stimulieren (MASON, 1985), sind diese Zusammenhänge verständlich. Letztlich bleibt die genaue Funktion des 1,25-Dihydroxycholecalciferol bei Pferden noch ungeklärt und weitergehende Studien sind hierzu wünschenswert.

6.4 Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der Parameter des Knochenstoffwechsels und der röntgenologisch ermittelten Knochendichte

Die röntgenologisch ermittelte Knochendichte nahm an allen Messbereichen, d. h. Spongiosa sowie rechte und linke Kortikalis, nach dem Trainingsbeginn signifikant zu. Die Ursachen hierfür können einerseits belastungsinduziert sein. Histomorphometrische Untersuchungen der dorsalen Kortikalis zeigten bei trainierten im Vergleich mit untrainierten Pferden nur ein minimales Knochen-Remodelling, aber einen extensiven Aufbau

subperiostalen Knochengewebes (McCARTHY und JEFFCOTT, 1992). Auch der Knochenmineralgehalt war bei den trainierten Pferden deutlich höher (MILLIS, 1983; McCARTHY und JEFFCOTT, 1992). Andererseits könnten die beobachtete Zunahme der Knochensubstanz auch mit dem Alter der Pferde zusammenhängen. Die Vollblutjährlinge waren im Alter zwischen 15 und 22 Monaten und befanden sich folglich in der Pubertät. Das Knochenwachstum steigt während der Pubertät stark an. Es ist zu diesem Zeitpunkt weniger vom chronologischen Alter als vom Pubertätsstadium abhängig (GRIMSTON et al., 1992; BLUMSOHN et al., 1994).

Generell bestehen starke Korrelationen zwischen dem Serum-Osteocalcin und der Konzentration anderer Marker des Knochenaufbaus. Eine ähnliche Korrelation scheint auch zwischen der Osteocalcin-Konzentration und der Knochendichte zu bestehen (ALLEN et al., 1998). Auf Grund der bisherigen Beobachtungen war auch im Rahmen der vorliegenden Untersuchung mit Zusammenhängen zwischen den untersuchten Serumparametern und der röntgenologisch ermittelten Knochendichte zu rechnen. Jedoch zeigte keiner der getesteten biochemischen Knochenmarker eine signifikante Korrelation zur Knochendichte. Vermutlich werden hier möglicherweise bestehende Zusammenhänge durch die altersbedingt hohe Streuung der Werte überlagert.

Letztlich zielen die radiologische Untersuchung einerseits, die Bestimmung biochemischer Marker andererseits jedoch auf unterschiedliche Fragestellungen, so dass die fehlende Übereinstimmung beider Ansätze nicht überrascht. Die biochemischen Knochenmarker liefern Hinweise auf die Vorgänge des Remodelling, seien sie ausgelöst durch Krankheit, Therapie, Training oder das Ergebnis eines physiologischen Turnover. Dagegen sagen sie nichts über die Skelettmasse und -architektur aus, die ihrerseits mit Hilfe radiologischer Untersuchungsverfahren beurteilt werden können (LEPAGE et al., 2001).