

## 6. Zusammenfassung

Der Vitamin-D-Metabolismus und die Wirkung von Vitamin D auf die Calcium- und Phosphat-Homöostase sind beim Pferd bislang kaum untersucht. Während es anscheinend keine Vitamin-D-Mangelkrankheiten beim Pferd gibt, kommt es immer wieder zu Intoxikationen mit Vitamin D. Um weitere Erkenntnisse über die Wirkung von Vitamin D beim Pferd zu erhalten, wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- 1) Sechs Pferden und einem Pony wurden hohe Dosen Vitamin D<sub>3</sub> bzw. Calcidiol verabreicht. Der Verlauf der Plasmakonzentrationen von Calcium, anorganischem Phosphat, Calcidiol, Calcitriol und 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> wurde über fünf Tage gemessen. Die Plasma-Ca-Konzentration betrug vor der Vitamin-D-Gabe  $3,17 \pm 0,18 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  und änderte sich nach Vitamin-D-Applikation nicht signifikant ( $3,03 \pm 0,2 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Der Phosphatspiegel stieg dagegen von  $1,05 \pm 0,17 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  auf  $2,59 \pm 0,55 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  (Tag 4 p.i.) an ( $p < 0,5$ ). Vor Vitamin-D-Gabe lag der Calcidiol-Spiegel bei drei Tieren unter der Nachweisgrenze von ca.  $6,5 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Bei den übrigen Tieren variierten die Werte zwischen 7,5 und  $90 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Nach Vitamin-D-Applikation stiegen die Calcidiol-Konzentration auf maximal 250 bis  $806 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Die Konzentration von 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> stieg bei vier Tieren von Werten unterhalb der Nachweisgrenze ( $< 1 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ), bzw. von 2,2; 7,0 und  $19 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ , vor Vitamin-D-Gabe auf bis zu  $113 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$  nach Vitamin-D-Gabe. Der Gehalt an Calcitriol veränderte sich dagegen nicht signifikant ( $74,4 \pm 19,9$  vs.  $83,1 \pm 29 \text{ pmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ).

Beim Vergleich zwischen einem hier untersuchtem Pony und Werten von drei Ponies aus der Literatur (TWEHUES 1994) sowie den hier untersuchten sechs Pferden konnte kein Unterschied in der Reaktion auf die Vitamin-D-Gabe zwischen Pferd und Pony festgestellt werden.

- 2) Der Einfluß der Fütterung auf die Toxizität einer hohen Dosis Vitamin D wurde näher untersucht. Dazu erhielten zwei Pferde Vitamin-D-Dosen von  $10.000 \text{ IE}\cdot(\text{kg KM}\cdot\text{d})^{-1}$  Vitamin D<sub>3</sub> an vier aufeinanderfolgenden Tagen. Die Tiere wurden dabei mit einer Ca- und P-armen Ration ernährt. Die Plasmakonzentrationen von Calcium, anorganischem Phosphat, Magnesium, Calcidiol, 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, und Calcitriol wurden gemessen. Darüberhinaus wurden zwei je fünftägige Bilanzuntersuchungen durchgeführt. Die Plasma-Ca-Konzentration stieg nach Vitamin-D-Gabe von  $2,9 \pm 0,14 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  auf  $3,09 \pm 0,23 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Die physiologische Grenze von  $3,4 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  wurde jedoch bis auf Ausnahmen während des Beobachtungszeitraumes von 42 Tagen nicht überschritten. Der Gehalt von ionisiertem Ca im Plasma nahm nach den Vitamin-D-Injektionen ab ( $1,72 \pm 0,07$  vs.  $1,59 \pm 0,13 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Die Konzentration von P<sub>i</sub> im Plasma stieg bereits während der Vitamin-D-Gaben stark an und lag mit  $2,16 \pm 0,51 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  über der physiologischen Grenze von  $1,45 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Der Plasma-Mg-Spiegel schwankte während des Beobachtungszeitraumes stark. Er stieg nach Vitamin-D-Applikation zunächst an, fiel dann ab und stieg ca. ab der Mitte des Beobachtungszeitraumes wieder. Insgesamt lag er nach Vitamin-D-Gabe und Mg-Supplementierung mit  $0,68 \pm 0,09 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  etwas höher als in der Kontrollphase ( $0,6 \pm 0,07 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ).

Die Calcidiol-Konzentration im Plasma betrug vor Vitamin-D-Gabe bei diesen Tieren  $6,2$  und  $< 4,7 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Sie stieg nach Vitamin-D-Applikation bei einem Tier an 16. Tag p.i. auf 996 und bei dem anderen Tier auf  $552 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Der Gehalt an 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> stieg ebenfalls.

Die Plasma-Calcitriol-Konzentration stieg infolge der Vitamin-D-Zufuhr geringfügig von  $54 \pm 1$  auf  $68,6 \pm 10,0$  pmol·l<sup>-1</sup>.

Die Calcium-Bilanz der Tiere war vor und auch nach Vitamin-D-Applikation negativ. Die scheinbare Ca-Verdaulichkeit sank von 9%, bzw. -8,2%, auf -28,1%, bzw. -61%, während die renale Exkretion um das ca. 2,5-fache auf  $0,578$  mmol·(kg KM·d)<sup>-1</sup> stieg. Dadurch stiegen die Ca-Verluste nach Vitamin-D-Gabe von -10 auf -29 mg·(kg KM·d)<sup>-1</sup>. Die Bilanz von Phosphat war ebenfalls negativ. Obwohl die scheinbare Verdaulichkeit von ca. -60% auf ca. +32% stieg, blieb die P-Bilanz aufgrund der stark gesteigerten renalen Exkretion (um das 25-fache) negativ. Der P-Verlust stieg von -6,7 auf -16,2 mg·(kg KM·d)<sup>-1</sup>. Sowohl Ca als auch P müssen demzufolge durch die Vitamin-D-Zufuhr endogen mobilisiert worden sein.

Die Intoxikations-Erscheinungen fielen bei beiden Tieren relativ mild aus. In der abschließenden Sektion konnten auch nur geringgradige Weichgewebsverkalkungen gefunden werden. Die tragende Stute war insgesamt stärker betroffen.

- 3) Im dritten Abschnitt der vorliegenden Arbeit wurden Blutproben von 100 privat gehaltenen Pferden genommen und die Plasmaspiegel von Ca und P, gemessen. Außerdem wurden Daten über die Fütterung und Haltung dieser Pferde erhoben. Es konnte keine Beziehung zwischen dem Rfa-, Ca- oder P-Gehalt im Futter und den Plasmaspiegeln dieser Mineralien festgestellt werden. Bei 12 dieser Pferde wurde außerdem die Konzentration von Vitamin-D-Metaboliten bestimmt. Auch hier konnte keine Abhängigkeit zwischen den untersuchten Parametern gesehen werden. Unter Einbezug der Plasmawerte der anderen im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Tiere konnte jedoch eine geringgradige, aber nicht signifikante, Korrelation zwischen dem Gehalt von Calcidiol und  $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  im Plasma festgestellt werden ( $y = 0,1309x + 3,7686$ ;  $r = 0,32$ ). Dieser Bezug nahm nach Vitamin-D-Applikation zu ( $y = 0,099x + 16,03$ ;  $r = 0,59$ ,  $p < 0,05$ ).

## 7. Summary

Seliger, Heike

The Ca- and P-homeostasis of horses with vitamin-D-intoxication

There is hardly any research about the metabolism and effects of vitamin D according to the Ca- and P-homeostasis of the horse. Typical disease of vitamin-D-deficiency, such as rickets or osteomalacy, are not known with horses, whereas intoxications are common.

Several different approaches were done to archive more knowledge of the physiological role of vitamin D in horses.

- 1) Six horses and one pony were treated with highly dosed injections of vitamin D<sub>3</sub> or Calcidiol, respectively. Plasma concentration of calcium, inorganic phosphate, calcidiol, calcitriol and 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> were measured over a period of five days.

Plasma-Ca-concentration changed from  $3.17 \pm 0.18 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  before the treatment to  $3.03 \pm 0.2 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  afterwards. This change was insignificant. The levels of phosphate raised from  $1.05 \pm 0.17$  to  $2.59 \pm 0.55 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  (day 4 p.i.) ( $p < 0.05$ ). Calcidiol concentrations in the plasma varied individually from 7.5 to 90  $\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}$  before the injections. In three cases it was impossible to detect any calcidiol with the test used ( $< 6.5 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). After the treatment the levels in all animals increased, reaching maximum concentrations of 250 to 806  $\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Levels of 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> were undetectable in four horses ( $< 1 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) and 2.2, 7.0 and 19  $\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ , respectively, before the injections and raised up to a maximum of 113  $\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}$  afterwards. Plasma concentration of calcitriol did not changed significantly ( $74.4 \pm 19.9$  vs.  $83.1 \pm 29 \text{ pmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). The present results combined with data from TWEHUES (1994) proofs no difference in the effect of a vitamin-D-treatment on horses or ponies

- 2) To investigate the influence of the nutrition on a vitamin-D-toxication, two horses were treated with highly dosed injections of vitamin D ( $10.000 \text{ IU}\cdot(\text{kg BW}\cdot\text{d})^{-1}$ ) receiving a Ca- and P-deficient ration. Plasma concentrations of calcium, inorganic phosphate, magnesium, calcidiol, 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and calcitriol were measured. The retention of the mineral elements before and after treatment was also investigated over a period of five consecutive days.

Plasma concentration of Ca increased from  $2.9 \pm 0.14$  to  $3.09 \pm 0.23 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Within the 42 days the concentration hardly ever raised to an unphysiological range ( $> 3.4$ ). Concentration of Ca<sup>2+</sup> dropped from  $1.72 \pm 0.07$  to  $1.59 \pm 0.13 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . The level of P, already started to raise during the treatment and stayed above the physiological range ( $2.16 \pm 0.51 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Concentrations of Mg varied during the experiment. The levels raised after the injections, followed by a drop and another increase about three weeks after the initial treatment. Plasma concentration of Mg were  $0.60 \pm 0.07 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  before and  $0.68 \pm 0.09 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$  after the injections. Plasma levels of calcidiol were low ( $6.2 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) to undetectable ( $< 4.7 \text{ nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) and increased after the treatment with a maximum concentration of 996 and 552  $\text{nmol}\cdot\text{l}^{-1}$ , respectively, at the 16. day p.i. There was also a remarkable increase of 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in the plasma. The levels of calcitriol merely changed from  $54 \pm 1$  to  $68.6 \pm 10.0 \text{ pmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . The Ca-retention of both horses was negative before and after treatment. The intestinal absorption decreased from 9, resp. -8.2%, to -28.1, resp. -61%. There was a 2-fold raise of renal excretion to  $0.578 \text{ mmol}\cdot(\text{kg BW}\cdot\text{d})^{-1}$ . Both phenomena led to a loss of calcium of  $29 \text{ mg}\cdot(\text{kg BW}\cdot\text{d})^{-1}$  after the treatment compared to  $10 \text{ mg}\cdot(\text{kg BW}\cdot\text{d})^{-1}$  before. The retention of P was also negative. Despite a raise of the intestinal ab-

sorption (-60 to +32%) there was an increase loss of P (-6.7 to -16.2 mg·(kg BW·d)<sup>-1</sup>) due to a 25-fold higher renal excretion. These results indicate an endogenous mobilisation of phosphate and calcium caused by vitamin-D-injections.

The horses only showed mild symptoms of a vitamin-D-intoxication during the experiment. Calcification of the soft tissues scarcely occurred. The pregnant mare was more affected than the other.

- 3) To investigate the influence of the nutrition and conditions of keeping the horses on the Ca- and P-levels in the plasma, bloodsamples of 100 horses were taken and analysed. There was no significant relationship between the fibre-, Ca- or P-content of the food and the Ca- and P-plasma-concentrations. The vitamin-D-metabolites of 12 of these samples were measured, but there was also no significant relationship on the parameters mentioned above. Nevertheless there was a little, but insignificant correlation between the concentration of calcidiol and 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ( $y = 0.1309x + 3.769$ ,  $r = 0.32$ ) considering the samples of all the horses tested in these experiments. This relation became significant after a vitamin-D-treatment ( $y = 0.099x + 16.03$ ,  $r = 0.59$ ,  $p < 0.05$ ).