

Einfluß hoher Vitamin-D-Dosierungen auf Calcium-, Magnesium- und Phosphatstoffwechsel von Pferden, klinische und pathomorphologische Befunde

Barbara Weisweiler¹, Ruth Twehues³, Annette Kuczka², H. Meyer¹ und J. Harmeyer³

¹ Institut für Tierernährung, ² Institut für Pathologie und

³ Physiologisches Institut, Tierärztliche Hochschule Hannover

Einleitung

Bei Equiden treten nach oraler und/oder parenteraler Verabreichung pharmakologischer Vitamin-D-Dosen immer wieder Intoxikationen auf (Lindt 1968, Bille 1970, Muylle et al. 1974, McClure et al. 1987, Papasteriades et al. 1988, Lijour et al. 1988). Handelsübliche vitaminisierte Mineralfuttermittel für Pferde enthalten bis zu 0,875 mg (35 000 IE) Vitamin D₃/100 g. In flüssigen Zubereitungen für orale Applikationen liegen bis zu 0,125 mg/ml (5000 IE) und in entsprechenden Injektionslösungen bis zu 12,5 mg/ml (500 000 IE) vor.

Die nachstehenden Beobachtungen wurden im Rahmen einer Arbeit über den Vitamin-D-Stoffwechsel des Pferdes, insbesondere über die Hydroxylierung des Vitamins in Leber und Niere (Twehues 1994) gemacht. Sie erlauben weitere Aussagen über die Empfindlichkeit der Pferde gegenüber Vitamin D sowie die Pathogenese und Diagnostik solcher Störungen.

Material und Methoden

Für die Untersuchungen standen 2 Pony-Wallache + 1 Hengst im Alter von 2¹/₂, 4 und 4¹/₂ Jahren mit 132, 240 und 127 kg KM bei Versuchsbeginn zur Verfügung. Die Tiere erhielten zweimal täglich eine aus Wiesenheu (65 %) und Hafer (35 %) bestehende Ration (Trockenmassezuteilung 1,42 kg/100 kg KM · d) (Tab. 1), die mit einer Mineralstoffmischung aus CaCO₃ und NaCl supplementiert wurde. Die Zufuhr entsprach im wesentlichen den Empfehlungen des NRC (1989). Die Ca-Aufnahme lag wie bei

Zusammenfassung

3 Ponys (2 Wallache, 1 Hengst) im Alter von 2¹/₂, 4 und 4¹/₂ Jahren (132, 240 und 127 kg KM) erhielten intramuskulär an 4 aufeinanderfolgenden Tagen 0,25 mg (10 000 IE) Vitamin D₃/kg KM. In dem anschließenden 42- bis 44tägigen Untersuchungszeitraum wurden neben allgemeinen klinischen Parametern scheinbare Verdaulichkeit, renale Ausscheidung sowie die Plasmakonzentration von Calcium, Phosphor und Magnesium ermittelt, post mortem ihre Gehalte in Knochen, Darm, Leber und Nieren. Ferner wurden die Tierkörper pathomorphologisch und verschiedene Gewebe histologisch untersucht. Die Tiere zeigten nach der Vitamin-D-Gabe ein deutlich verschlechtertes Allgemeinbefinden (Inappetenz, allgemeine Schwäche, Temperaturerhöhung). Am 9. Tag traten fibrilläre Muskelzuckungen auf. Später stellte sich eine Tachykardie ein. Unter den Mengenelementen war der Phosphatstoffwechsel am stärksten beeinflusst. Die scheinbare Verdaulichkeit des Phosphats erhöhte sich von 11 auf 58 %, die renale Ausscheidung von 0,7 auf 20,9 mg/kg KM/Tag. Der Plasma-P-Spiegel stieg innerhalb von 2 Tagen p.i. auf das 2,5fache des Kontrollwertes (von 1,3 auf 3,3 mmol/l) und blieb für die Dauer des Versuchs auf diesem Niveau. Die scheinbare Verdaulichkeit und renale Ausscheidung von Calcium und Magnesium wurden kaum beeinflusst. Der Plasma-Ca-Spiegel stieg nur mäßig (von 2,6 auf 3,1 mmol/l) an. Die Mg-Konzentration fiel in 9 Tagen p.i. von 0,6 auf 0,44 mmol/l ab. Die Ca- und P-Gehalte in der Nierenrinde waren im Vergleich zu Literaturdaten erheblich erhöht. Auch verschiedene Abschnitte des Darms wiesen erhöhte Gehalte an Calcium und Phosphor auf. In Leber und Knochen war der Gehalt im Vergleich zu Vergleichswerten aus dem Schrifttum nicht verschieden. Post mortem waren trotz zusätzlicher Mg-Gabe ab dem 9. Tag p. i. großflächige subendokardiale Verkalkungen des Herzens und mediale Verkalkungen an den Wurzeln der großen Gefäße sichtbar. Histologisch nachweisbare miliare Verkalkungen traten vor allem in den Nieren, im Bereich des Myocards und im Duodenum auf. Darüber hinaus war es in der Umgebung der Verkalkungsherde zu Zelldegeneration, Nekrosen und im Knochen zu dystrophisch-fibrosierenden Umbauten gekommen. Trotz des Vorliegens zahlreicher histologisch nachweisbarer Verkalkungsherde in den Nieren waren noch keine Anzeichen einer nennenswerten Beeinträchtigung der Nierenfunktion erkennbar. Die Versuche zeigen, daß bereits eine 2malige Injektion von 10 000 IE Vitamin D₃/kg KM im täglichen Abstand zu Intoxikationserscheinungen beim Pferd führt. Tachykardien und überhöhte Plasma-P-Spiegel sind nach einer akuten oder chronischen Überversorgung mit Vitamin D möglich und differentialdiagnostisch zu beachten.

Effects of large doses of vitamin D on calcium, magnesium and phosphate metabolism in horses; clinical and post mortem findings

Three ponies (2 geldings, 1 stallion) 2¹/₂, 4 and 4¹/₂ years old with body weights of 132, 240 and 127 kg, respectively, were intramuscularly injected on four consecutive days with four doses of 0.5 mg (10,000 IU) of vitamin D₃ per kg body weight. Besides general performance, apparent digestibilities, concentration in plasma and renal excretion of calcium, magnesium and inorganic phosphate (Pi) were examined during 42 to 44 days post injection (p. i.). In addition, post mortem examinations were carried out which included gross pathology, histology and concentration measurements of Ca, Mg and Pi in intestine, liver and kidneys. General performance was markedly depressed after the administration of vitamin D₃. The animals appeared weak and were often lying. Food intake declined by about 85 % at the 9th day p. i. and body temperature increased by 0.4° C. At the 9th day p. i., fibrillar muscle twitching occurred and tachycardia developed at a later stage. Apparent digestibility of Pi raised from 11 % before injection of vitamin D₃ up to 58 %. This increased uptake of Pi was associated with a concomitant increase in phosphate concentration in plasma (increase from 1.3 to 3.3 mmol/l) and an increase in renal phosphate excretion (from 0.017 to 0.52

den meisten praxisüblichen Rationen mit Mineralfutterergänzung über dem Bedarf von 5 g/(100 kg KM·d), (NRC 1989). Wasser stand ad libitum zur Verfügung.

Tab. 1: Tägliche Aufnahmen an verdaulichem Rohprotein (vRp) sowie Mengen- und Spurenelementen (pro 100 kg KM)

vRp	[g]	105,4			
Ca	[g]	9,1	Cu	[mg]	8,4
Mg	[g]	1,9	Zn	[mg]	75,0
P	[g]	4,1	Fe	[mg]	348,0
Na	[g]	2,7	Mn	[mg]	93,9
K	[g]	27,7			
Cl	[g]	15,0	Ca/P		2,2:1

Nach einer vorausgehenden sechstägigen Kontrollperiode mit Erfassung der während der Versuchsphase relevanten Daten (s. u.) wurde den Tieren viermal 0,25 mg (10 000 IE)/kg KM Vitamin D₃ im Abstand von 24 h intramuskulär injiziert.

Während der folgenden zehntägigen Bilanzuntersuchungen wurden Harn und Kot gesammelt und die renale sowie faecale Ca-, P- und Mg-Ausscheidung erfasst, um die scheinbare Verdaulichkeit dieser Elemente zu bestimmen. Parallel wurde die tägliche Wasseraufnahme registriert. Blutentnahmen zur Bestimmung des Gesamtcalciums und des ionisierten Calciums im Plasma sowie von anorganischem Phosphat und Magnesium erfolgten täglich bis zum 11. Tag nach initialer Vitamin-D-Applikation, anschließend in 2- bis 7-tägigen Abständen bis zum Ende des Versuches (42.-44. Tag). Zur klinischen Überprüfung der Leber- und Nierenfunktion wurden γ -GT, GOT, Harnstoff und Creatinin im Plasma gemessen.

Im Zeitraum von 42-44 Tagen nach der ersten Vitamin-D-Injektion wurden die Tiere mit Embutramid/Nebenzonijodid (T 61[®]) euthanasiert. Unmittelbar post mortem erfolgte eine pathologisch-morphologische Untersuchung und Entnahme von Darm-, Leber-, Nieren- und Knochenproben für die Bestimmung der Mineralstoffgehalte. Die Bestimmung der Mineralstoffgehalte in Organen und Knochen erfolgten nach nasser Veraschung und vorheriger Entfettung (Knochen). Für die histologischen Untersuchungen wurden zahlreiche Lokalisationen vom Herzen und aus Blutgefäßen ausgewählt (Tab. 2), weiterhin der Gastrointestinaltrakt (Oesophagus, Fundusdrüsenzzone des Magens, Duodenum, magenähnliche Erweiterung des Colon ascendens), Knochen und Gelenke (Articulatio carpometacarpae der rechten Vordergliedmaße, Kompakta- und Kaputbereich eines Humerus, osteochondraler Bereich einer Rippe) sowie sonstige Organe und Gewebe (Leber, Pankreas, Milz, Niere, Harnblase, Gehirn, Lunge, Trachea, Nebenniere, Lymphknoten, Schilddrüse, Parathyreoidea und Zwerchfell). Die Gewebe wurden in 10%igem Formalin fixiert und in Paraplast eingebettet. Die Knochen- und Knorpelgewebe wurden nach der Fixation mittels Ossa fixona^R entkalkt und anschließend eingebettet. Die Auswertung der Schnitte erfolgte an Hämalaun-Eosin und an Von Kossa gefärbten Präparaten. Darüber hinaus wurde

mmol/kg body mass per day). Apparent digestibilities of calcium and magnesium remained basically unchanged after the injections of vitamin D₃. The concentration of total calcium in plasma raised moderately (from 2.6 up to 3.1 mmol/l), whereas ionized calcium in plasma increased only transiently by about 5 to 6 % (from 1.65 to 1.75 mmol/l). The concentration of magnesium in plasma fell within 9 days p. i. from 0.6 to 0.44 mmol/l). Concentrations of calcium and phosphate in renal cortex and intestine were significantly elevated but those in liver and bone were unaffected compared to concentrations reported in the literature for normal ponies. Post mortem examination revealed massive calcifications of soft tissues, particularly in the subendocardial region of the left and right atrium and the stems of the main arteries. Miliar calcifications were histologically visible in the kidneys, the myocard and the duodenum. The calcium deposits in soft tissues were surrounded by degenerating cells. In bone dystrophic and fibrotic processes were observed in association with bone remodelling. Despite wide spread calcifications of renal tissue a significant impairment of renal handling of phosphate could not be detected. The studies showed that four injections of 10.000 IU of vitamin D₃ per kg body weight at daily intervals induce marked symptoms of toxicity in ponies. Tachycardia and the most marked increase in the concentration of inorganic phosphate in plasma are probably significant indicators of an acute vitamin D₃ toxicoses in horses.

die Beurteilung zahlreicher Präparate anhand von Elastikavan Gieson und PAS-gefärbten Schnitten vorgenommen.

Tab. 2: Untersuchte Lokalisationen des Herzens und der Blutgefäße

Herz (Endokard):	Gefäße:
Atrium (links, rechts)	Herzkranzgefäße
Ventrikel (links, rechts)	Aortenursprung
Valvula bicuspidalis	Aorta thoracica und abdominalis
Valvula tricuspidalis	A. carotis
Valvula trunci pulmonalis	V. jugularis
Valvula aortae	A./V. pulmonalis
	A. mesenterialis
	V. cava caudalis
	V. portae
	V. renalis

Gesamtcalcium und Magnesium wurden mittels Atomabsorptionsspektrographie und ionisiertes Calcium mit einer elektronensensitiven Elektrode bei gleichzeitiger Ph-Wertmessung (ISE-Analyzer 987S, Fa. AVL, Bad Homburg) bestimmt. Phosphat wurde im Plasma colorimetrisch mit Na-Molybdat und in den anderen Proben mit Molybdat-Divanadat nach *Gericke* und *Kurmies* (1952) ermittelt (im Plasma direkt, in den Kot-, Organ- und Knochenproben nach nasser Veraschung, im Knochen nach vorangegangener Entfettung durch Extraktion mit Petrolether). Plasma-Harnstoff (*Berthelot*-Reaktion) und Creatinin (mit Pikrinsäure nach *Jaffe*) wurden photometrisch bestimmt, GOT und γ -GT im Plasma mit Hilfe eines trockenchemischen Verfahrens (Kodak Ektachem DT 60).

Ergebnisse

In vivo

Allgemeine Beobachtungen und klinische Befunde

Alle Tiere zeigten, beginnend etwa 3 Tage nach initialer Vitamin-D-Applikation, ein phasenweise mittel- bis hoch-

gradig gestörtes Allgemeinbefinden mit deutlicher Mattigkeit und häufigem Liegen. Parallel ging die Futtermittelaufnahme zurück, nach 3 Tagen bereits um über 30 %. Nach 9 Tagen wurden durchschnittlich nur 15 % der Tagesration aufgenommen (Abb. 1). Das am stärksten von der Inappetenz betroffene Pony (Tier 3) entwickelte eine Hyperlipidämie (Gesamtlipide 10,4 g/l Plasma). Die Tiere verloren im 42- bis 44-tägigen Beobachtungszeitraum 8 % (Tier 1) bis 14 % (Tier 2 und 3) ihrer Körpermasse. Die Wasseraufnahme war im Vergleich zur Kontrollperiode herabgesetzt, bezogen auf die TM-Aufnahme jedoch leicht erhöht (Tab. 3, Abb. 1). Das Harnvolumen lag, bezogen auf die Wasseraufnahme, signifikant ($p < 0,001$) höher als in der Kontrollperiode, das spezifische Gewicht des Harnes veränderte sich nicht wesentlich (Kontrolle $1,026 \pm 0,0069$; Versuchsphase $1,022 \pm 0,0058$ g/l).

Die Körpertemperatur stieg nach 6 Tagen (um 0,3 bis 0,5°C) und blieb während des Untersuchungszeitraumes auf erhöhtem Niveau. Bei allen Ponys wurde zunehmend eine Tachykardie festgestellt. Vor der Autopsie betrug die Herzfrequenz bis 72 Schläge/min. Bei einem Tier waren dabei die Herztöne unscharf abgesetzt. Die Atemfrequenz lag im physiologischen Bereich.

Bei einem Tier fielen 9 Tage nach initialer Vitamin-D-Applikation ausgeprägte Muskelzuckungen, insbesondere im Bereich der Kruppenmuskulatur, auf. Parallel wurde ein deutlicher Abfall des Plasma-Mg-Spiegels von 0,61 bis 0,44 mmol/l registriert, der auch bei den beiden anderen Tieren erkennbar war. Daraufhin erhielten alle Tiere ab dem 9. Versuchstag täglich 2 g Mg/100 kg KM (oral als MgO).

Tab. 3: Wasseraufnahme und Harnvolumen

	Wasseraufnahme		Harnvolumen	
	l/100 kg KM/d	l/kg Futter-TM	l/(100 kg Km · d)	% der Wasseraufnahme
Kontrollphase nach Vitamin-D-Applikation	$6,59 \pm 0,56$	$4,65 \pm 0,68$	$1,53 \pm 0,65$	$26,7 \pm 9,4$
	$3,47 \pm 1,79$	$5,32 \pm 2,59$	$1,65 \pm 0,54$	$53,5 \pm 22,4^{***}$

($\bar{x} \pm SD$; *** = $p < 0,001$)

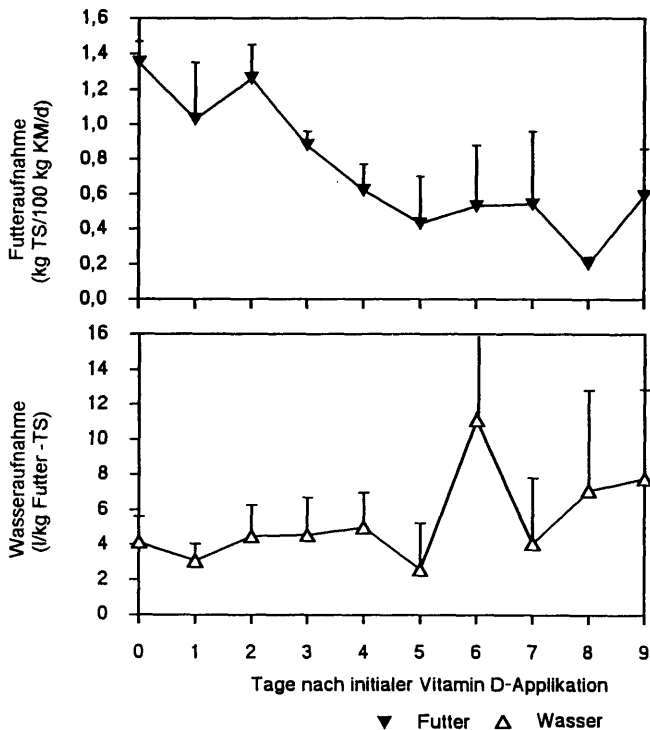


Abb. 1: Verlauf von Futter- (oben) und Wasseraufnahme (unten).

Der Kot fiel durch eine fest-trockene Konsistenz auf und erreichte TM-Gehalte von durchschnittlich $40,6 \pm 7,9$ % (gegenüber $28,2 \pm 3,7$ % in der Kontrollperiode) bei erheblich reduzierten Mengen. An Haut und Haarkleid konnten grobsinnlich keine Veränderungen festgestellt werden.

Scheinbare Verdaulichkeit der Mengenelemente

Die intestinale Nettoabsorption von Calcium und Magnesium zeigte sich durch die Vitamin-D-Applikation nicht wesentlich beeinflusst, während die des Phosphors um das fünffache anstieg (von $10,7 \pm 2,1$ % auf $58,3 \pm 11,8$ %, Abb. 2).

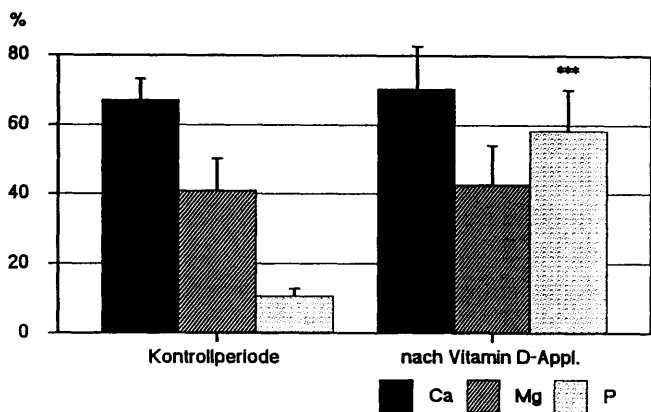


Abb. 2: Scheinbare Verdaulichkeit von Calcium, Magnesium und Phosphor (%).

Renale Exkretion der Mengenelemente

Die renale Ca-Ausscheidung unterlag erheblichen Schwankungen. Sie war jedoch im Mittel gegenüber der Kontrollphase nicht signifikant verschieden (Abb. 3). Eine drastische Zunahme zeigte die renale P-Ausscheidung. Das sich nach 4 Tagen einstellende Plateau machte fast das 30fache der während der Vorperiode ausgeschiedenen P-Mengen aus (Abb. 3). Die Mg-Abgabe stieg nach der Vitamin-D-In-

jektion temporär an, erreichte aber nicht die Größenordnung der Kontrollperiode. Ein zweiter Anstieg der Werte fiel zeitlich mit dem Beginn der oralen Mg-Supplementation zusammen (Abb. 3).

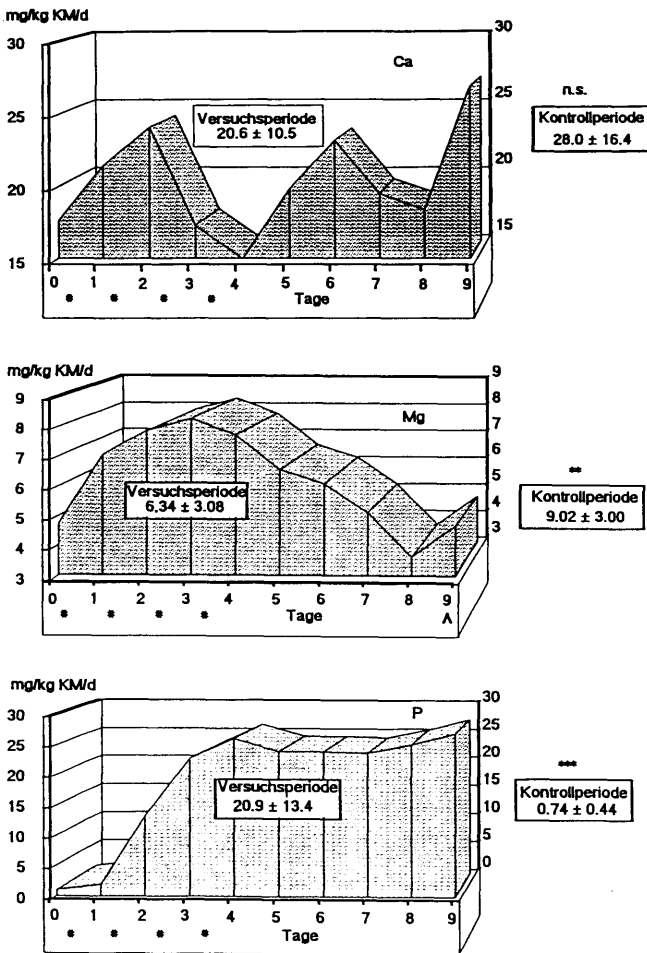


Abb. 3: Renale Exkretion von Calcium (oben), Magnesium (Mitte) und Phosphor (unten) nach intramuskulärer Applikation von viermal 0,25 mg (10 000 IE) Vitamin D₃/(kg KM·d).

Blutparameter

Der Plasma-Ca-Spiegel (Gesamt-Ca) erhöhte sich nach Vitamin-D-Gabe um etwa 0,4 von 2,6 auf 3,02 mmol/l. Die Zunahme der Konzentration ionisierten Calciums war demgegenüber wenig ausgeprägt, so daß sich der prozentuale Anteil der Ca-Ionen am Gesamtcalcium des Plasmas verringerte (Abb. 4).

Der Plasma-Mg-Spiegel fiel nach einem kurzzeitigen Anstieg während der viertägigen Vitamin-D-Gaben steil ab (Minimum 0,44 mmol/l). Er konnte durch tägliche orale Zufuhr ab dem 9. Tag jedoch wieder angehoben werden (Abb. 5).

Ausgehend von altersabhängig physiologischen Plasma-P-Gehalten reagierte der Plasma-P-Spiegel mit einem raschen Anstieg nach 4 Tagen auf das maximal 2,5fache des Ausgangsgehaltes (auf 3,33 ± 0,09 von 1,32 ± 0,15 mmol/l).

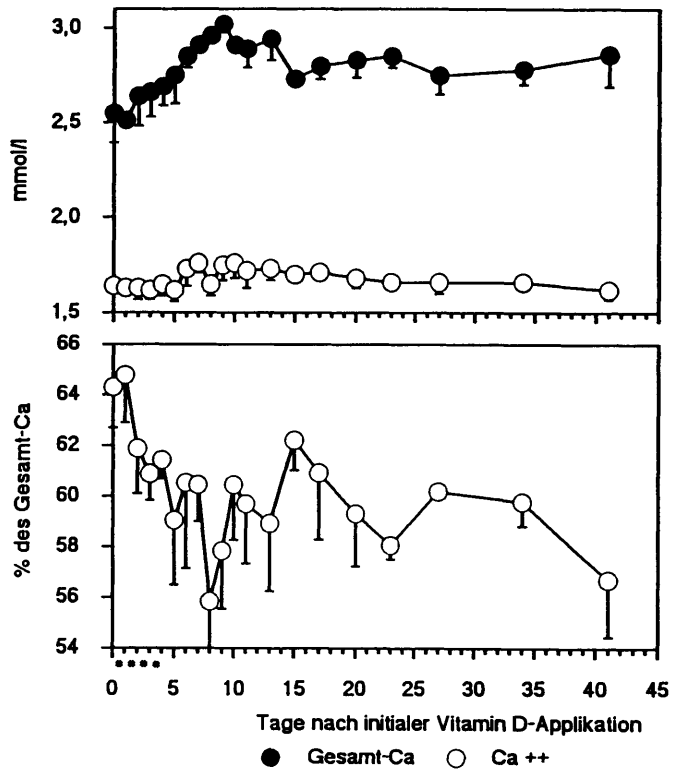


Abb. 4: Gesamtcalcium und ionisiertes Calcium im Plasma (oben) und Anteil der Ca-Ionen am Gesamt-Ca (unten) während und nach Vitamin-D₃-Applikation (mmol/l bzw. %).

Nach einem geringgradigen Absinken der Werte blieb die Konzentration bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes (42.-44. Tag) auf einem erheblich oberhalb der physiologischen Norm liegenden Niveau (Meyer und Lemmer 1973, Abb. 6).

Die im Rahmen der klinischen Überprüfung im Plasma gemessenen Harnstoff- und Creatinergehalte stiegen nach der Vitamin-D-Injektion temporär an und erreichten nach jeweils 6 Tagen Maximalwerte, die oberhalb der physiologischen Norm lagen (Eikmeier 1982) (Harnstoff

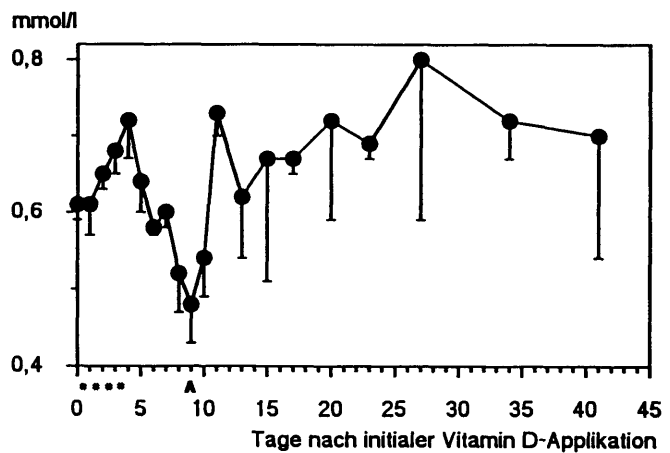


Abb. 5: Verlauf des Plasma-Mg-Spiegels während und nach Vitamin-D₃-Applikation (mmol/l); ab 9. Versuchstag wurde die Ration mit Mg supplementiert.

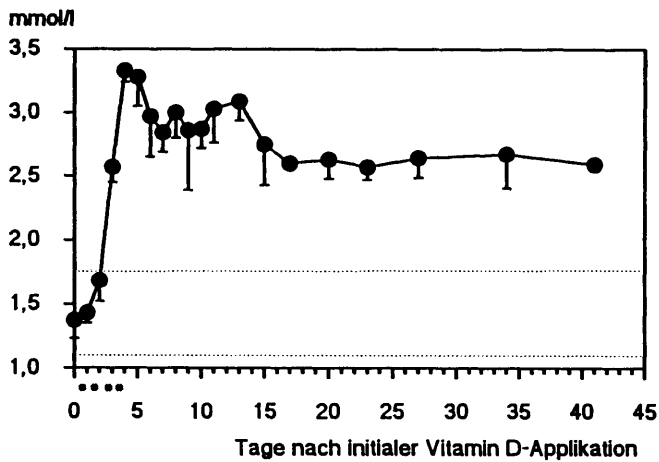


Abb. 6: Verlauf des Plasma-P-Spiegels während und nach Vitamin-D₃-Gabe (mmol/l, ... altersabhängig physiologischer Bereich).

8,7 ± 1,2 mmol/l, Creatinin 0,21 ± 0,098 mmol/l). Am 10. Tag p.i. bewegten sich die Werte wieder innerhalb des physiologischen Bereiches und sanken im weiteren Verlauf auf das Ausgangsniveau (Abb. 7).

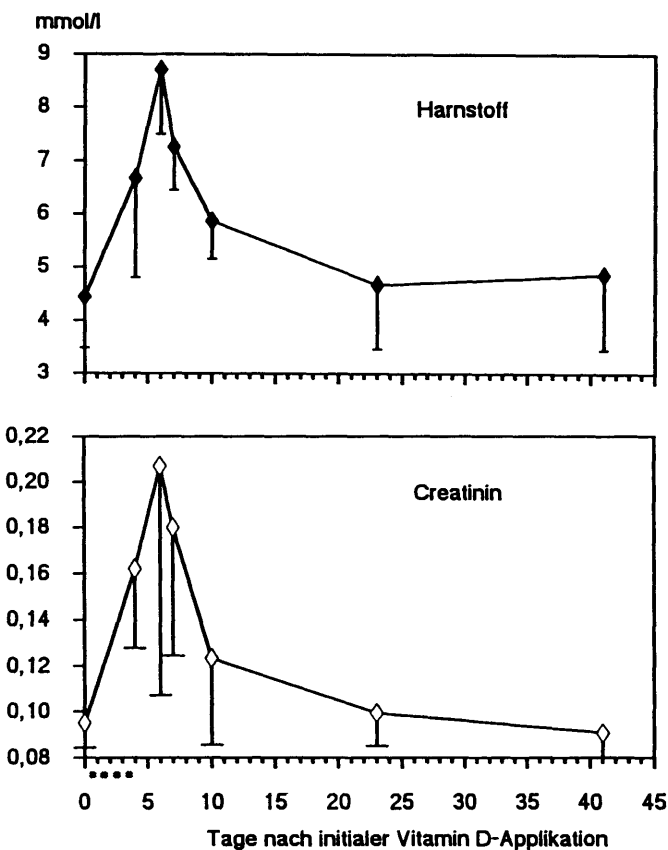


Abb. 7: Plasma-Harnstoff- und Creatininspiegel während und nach Vitamin-D₃-Gabe (mmol/l).

Die Leberenzyme im Plasma lagen im oberen Grenzbereich (GOT) bzw. temporär oberhalb der physiologischen Norm (γ -GT, Abb. 8). Tier 3 zeigte die stärksten Abweichungen.

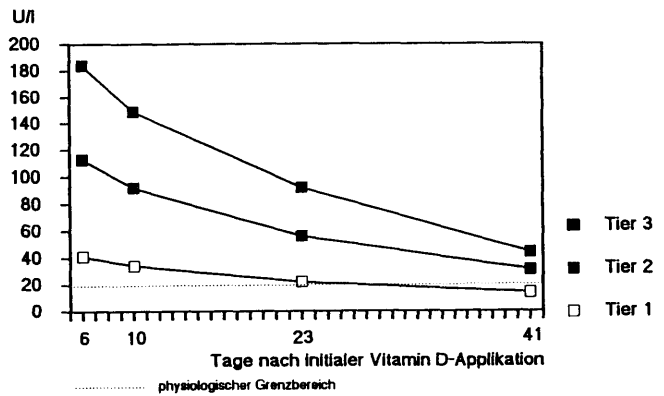


Abb. 8: Verlauf der γ -Glutamyltransferase-Konzentration im Plasma (U/l) nach Vitamin-D₃-Gabe

Post-mortem-Befunde

Pathomorphologische und histologische Befunde

Der Ernährungszustand der Tiere war am Ende des Versuchs als mäßig bis noch gut zu bezeichnen. Alle Ponys zeigten bei der Sektion ähnliche Veränderungen, die graduell etwas variierten. Die auffallendsten, schon makroskopisch erkennbaren Befunde, waren im Bereich des Herzens sowie der großen Gefäße lokalisiert. Das linke Atrium wies bei allen Tieren hochgradige flächenhafte subendokardiale Verkalkungen auf (Abb. 9). In einem Fall war auch das linke Ventrikelendokard multifokal betroffen. Die zumeist großflächigen und plaqueartigen subendokardialen Verkalkungen betrafen in allen Fällen auch das Klappenendokard der Valvula bicuspidalis sowie bei zwei Tieren auch das der Aortenklappen. Eine auffallende Übereinstimmung bei den drei Tieren war im Verteilungsmuster der Gefäßverkalkungen zu erkennen. Besonders ausgeprägte Kalkeinlagerungen waren im Bereich der Herzkranzgefäße, der Arteria pulmonalis und der Vena cava caudalis nachweisbar. Die Kalkeinlagerungen waren im Herzen generell subendokardial und in den Gefäßen stets im Bereich der Media lokalisiert. Perifokal der verkalkten Areale wurde histologisch regelmäßig ein deutlich ödematisiertes und hyalin verquollenes Stroma nachgewiesen. Häufig fanden sich Hämosiderinablagerungen in Makrophagen als Ausdruck von Blutabbau im Gewebe und mononukleäre Zellinfiltrationen. Die Wände kleinerer Gefäße in diesen Bereichen erschienen häufig stark verquollen und hyalinisiert. In einigen Lokalisationen war eine geringgradige bindegewebige Demarkation der Verkalkungen nachweisbar. Neben den zumeist schon makroskopisch erkennbaren grobscholligen Verkalkungsmustern stellten sich in Bereichen mit geringerer Kalkeinlagerung diese als feingranuläre, sehr häufig parallel zueinander und zur Oberfläche angeordnete strichförmige Strukturen dar. In diesen Arealen waren selektiv die elastischen Fasern betroffen.

Im Bereich des Myokards fand sich histologisch bei den drei Ponys eine multifokale akute gering- bis mittelgradige Herzmuskeldegeneration mit geringgradiger zellulärer Reaktion und Myopathie.

Die Nieren zeigten zahlreiche diffus verteilte miliare weiße Stippchen in Rinde und Mark (Abb. 10). Histologisch wurden hochgradige Verkalkungen der Tubulusepithelien, ins-

besondere der proximalen Tubuli, mit ausgeprägten Zellnekrosen nachgewiesen. Die Glomerulumschlingen waren deutlich verquollen. Es wurden zahlreiche intratubuläre hyaline Zylinder und bei zwei Ponys auch eine geringgradige Ausscheidungsnephritis nachgewiesen. Bei einem Tier lag eine hochgradige diffuse Verkalkung der tubulären Basalmembranen sowie der Bowmannschen Kapseln vor.

In der Leber der Tiere wurde eine geringgradige Gallengangproliferation diagnostiziert. Bei zwei Tieren fanden sich diffus verteilt zahlreiche Einzelzellnekrosen.

Auffällige Befunde waren auch am Magen-Darm-Trakt nachweisbar. Zwei Ponys hatten eine geringgradige erosive bis ulzerative Gastritis im Bereich des Margo plicatus. Histologisch lagen in der Drüsen Schleimhaut hochgradige grob- bis feingranuläre Verkalkungen und Nekrosen der Mukosaepithelzellen mit geringer perifokaler Entzündungszellreaktion vor. Zwei Tiere wiesen im Duodenum hochgradige Verkalkungen der kleinen Gefäße im Bereich der Brunnerschen Drüsen auf. Bei einem Pferd waren Kalk-einlagerungen in einzelnen Epithelzellen der Brunnerschen Drüsen nachweisbar. Im Bereich des Colons waren bis auf eine starke Versandung der magenähnlichen Erweiterung bei einem Tier keine besonderen Befunde zu erheben.

An Pankreas, Oesophagus, Gehirn, Trachea, Nebenniere sowie Harnblase waren keine pathologischen Veränderungen nachweisbar.

Lediglich geringgradige bis inkonstante Befunde waren an Lunge und Zwerchfell zu erheben. Ein Pony wies im Diaphragma herdförmig geringgradige feinstaubige subpleurale Verkalkungen auf. In der Lunge wurden bei einem Tier geringgradige Verkalkungen einzelner Bronchialepithelzellen und glatter Muskelzellen beobachtet. Zwei Ponys wiesen geringgradige Verkalkungen von Bronchialknorpeln auf.

Die untersuchten lymphatischen Organe (Milz, Lnn. tracheobronchiales, Lnn. iliaci) wiesen einheitlich eine ausgeprägte folliculäre Hyperplasie auf. Die Kopf- und Halslymphknoten aller Tiere waren geringgradig vergrößert und ödematisiert.

Bei einem Tier wiesen die Schilddrüsen hochgradige Verkalkungen der tubulären Basalmembranen sowie mittelgradige Wandverkalkungen kleinerer Gefäße auf. Darüber hinaus lagen bei diesem Tier zahlreiche nekrotische und verkalkte Follikel Epithelzellen vor. Bei den beiden anderen Ponys waren auch mit Hilfe der Von Kossa-Färbung keine Kalkeinlagerungen nachweisbar.

Die Nebenschilddrüsen waren bei allen Tieren von normaler Größe und Struktur. Histologisch fanden sich nur bei einem Tier Veränderungen in Form von zahlreichen hochgradigen Gefäßverkalkungen.

Im Bereich der Knochen und Gelenke wurden bei allen Tieren und an allen Lokalisationen deutlich ausgeprägte pathologische Veränderungen nachgewiesen. Im Spongiosabereich, besonders der Epiphysen, lag eine mittel- bis hochgradige Rarefizierung und irreguläre Formung sowie eine deutlich unregelmäßige und verminderte Verkalkung der Spongiosabälkchen vor. Das Knochenmark wies eine mittelgradige bis herdförmig hochgradige Myelofibrose auf, die vorwiegend kompaktanah und peritrabekulär loka-

lisiert war. Multifokal wurden ausgedehnte Osteoidnekrosen und irreguläre Kavernenbildungen beobachtet. Die Kompakta war irregulär breit und erschien abschnittsweise sehr dünn. Zwischen ihr und der Spongiosa war eine fokal sehr breite Schicht kollagenfaserreichen Bindegewebes eingelagert, das multifokal geringgradige feingranuläre Verkalkungen und Kollagenfasernekrosen aufwies. Eine solche Fibroseschicht fand sich abschnittsweise auch subperiostal. Fokal waren Herde mit zahlreichen Osteoklasten im Bereich der Kompaktinnenfläche nachweisbar. Die untersuchten Gelenkflächen wiesen oberflächlich herdförmig Übergänge von regulärem hyalinen Knorpel zu irregulären fibrösen Knorpelstrukturen auf. Letztere zeigten multiple Nekrosen sowie einzelne Areale mit Verkalkungen.

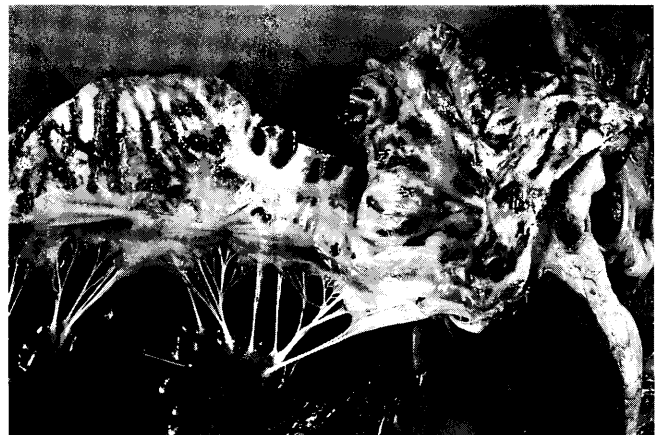


Abb. 9: Linkes Atrium mit hochgradigen flächenhaften subendokardialen Verkalkungen.

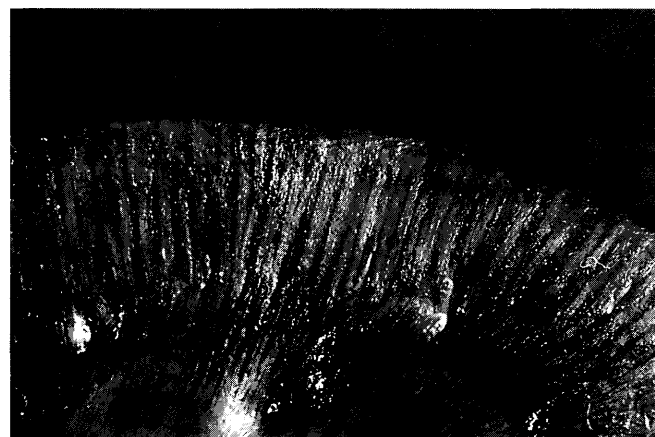


Abb. 10: Niere mit miliaren weißen herdförmigen Verkalkungen in Rinde und Mark.

Mineralstoffgehalte im Gewebe

Die post mortem ermittelten Gehalte an Calcium, Phosphor und Magnesium in Organen und Knochen sind in Tab. 4 bis 6 zusammengefaßt, ergänzt durch Werte gesunder Tiere nach Literaturdaten.

Tab. 4: Calcium-, Phosphor- und Magnesium-Gehalte in Leber und Niere (bezogen auf TM)

	Leber		Niere ¹		Nierenrinde	Nierenmark
	Exp. ²	Vgl. ³	Exp. ²	Vgl. ³	Exp. ²	Exp. ²
Ca [g/kg]	0,3 ± 0,1	0,1– 0,4 ^{4,5}	34,6 ± 27,2	0,7–1,6 ⁵	43,4 ± 32,0	16,9 ± 13,0
P [g/kg]	10,5 ± 0,7	9,3–10,6 ^{4,5}	20,5 ± 13,8	14,2 ⁵	34,2 ± 17,7	17,2 ± 5,9
Mg [g/kg]	0,6 ± 0,0	0,7 ^{4,5}	1,7 ± 0,7	0,8 ⁵	2,0 ± 0,8	1,1 ± 0,2

¹ Gesamthomogenisat² Experimentell im Rahmen vorliegender Untersuchung erhoben³ Vergleichswerte aus dem Schrifttum⁴ nach SCHRYVER et al. 1974 (Pferde; bezogen auf ffr. TS)⁵ nach HARRINGTON 1975 (Pferde; berechnet auf Basis folgender TS-Gehalte: Leber 30 %, Nieren 21 %: GÜRER 1985)**Tab. 5:** Calcium-, Phosphor- und Magnesium-Gehalte im Darmgewebe verschiedener Lokalisationen (bezogen auf TM)¹

	Duodenum		Caecum		Colon dorsale	
	Exp. ²	Vgl. ³	Exp. ²	Vgl. ³	Exp. ²	Vgl. ³
Ca [g/kg]	2,3 ± 1,6	0,7–1,2	0,7 ± 0,1	1,2–3,1	0,6 ± 0,3	1,8 ± 4,8
P [g/kg]	10,3 ± 1,0	8,9–9,2	6,7 ± 0,9	7,6–8,5	7,1 ± 1,3	7,7 ± 11,6
Mg [g/kg]	0,8 ± 0,1	0,7–0,8	0,5 ± 0,1	0,6–0,8	0,6 ± 0,1	0,7– 1,3

¹ freigespült von Chymusresten² Experimentell im Rahmen vorliegender Untersuchung erhoben³ Vergleichswerte nach NEHRING 1991 Pferde (n = 6) mechanische Entfernung von Chymuspartikeln)**Tab. 6:** Rohasche-, Calcium-, Phosphor- und Magnesium-Gehalte sowie das Ca/N-Verhältnis im Knochengewebe (bezogen auf fettfreie TM)

	Metacarpus		Rippe	
	Exp. ¹	Vgl. ²	Exp. ¹	Vgl. ²
Ra [%]	67,9 ± 0,5	66,5 ± 1,7	60,9 ± 1,6	58,5 ± 2,1
Ca [g/kg]	248,5 ± 9,6	273,8 ± 12,7	230,9 ± 4,1	233,8 ± 14,1
P [g/kg]	109,1 ± 1,3	118,3 ± 9,4	98,0 ± 2,9	104,5 ± 7,0
Mg [g/kg]	2,9 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,3
Ca/N	5,4	6,2	4,1	4,3
Ca/P	2,3	2,3	2,4	2,3
Ca/Mg	86,3	94,5	87,1	98,5

¹ Experimentell im Rahmen vorliegender Untersuchung erhoben² Vergleichswerte nach VOGES 1988 (Pferde entsprechenden Alters, n = 11)

Diskussion

Bereits nach zweimaliger Injektion von jeweils 10 000 IE Vitamin D₃/kg KM traten in den vorliegenden Versuchen ähnliche klinische Symptome auf (Inappetenz, allgemeine Schwäche), wie bei Spontanfällen (Lindt 1968; Muylle et al. 1974; McClure 1987; Lijour et al. 1988) sowie nach experimenteller Überdosierung (Harrington 1982) beschrieben. Die schon nach drei Tagen auftretenden Symptome sind mit Sicherheit nicht auf die Metaboliten des Vitamin D₃ und ihre unter physiologischen Bedingungen bekannten Effekte auf Rezeptoren an verschiedenen Organen zurückzuführen. Abgesehen von dem zeitlichen Ablauf spricht beim Pferd gegen diese Vorstellung schon die sehr geringe

Umwandlung des Vitamin D₃ in seine hydroxylierten wirksamen Zwischenstufen (Harmeyer et al. 1992). Man muß vielmehr annehmen, daß das im Vergleich zu seinen Metaboliten wesentlich unpolare Vitamin D₃ eine hohe Membranlöslichkeit besitzt und daher direkt zellschädigend wirkt. Für eine solche Wirkungsweise sprechen neben den anfänglichen eher unspezifischen Symptomen der rasche Anstieg von Creatinin, verschiedener Leberenzyme und auch des Harnstoffspiegels im Plasma sowie ihre Normalisierung 10 bis 20 Tage p.i. Der Anstieg von Creatinin und Harnstoff im Plasma war offenbar nicht die Folge einer Funktionsstörung der Niere (s. u.). Dafür spricht auch der kaum beeinflusste Wasserstoffwechsel. Die tempo-

räre Erhöhung des Harnstoffspiegels könnte auf einem erhöhten Proteinkatabolismus infolge der abnehmenden Energieaufnahme beruhen, doch fielen die Werte trotz Fortbestehen der Energieunterversorgung nach 10 Tagen wieder auf das normale Niveau ab. Außerdem ist bei einem Energiedefizit zunächst eine Fettmobilisation zu erwarten, die tatsächlich bei einem Tier so ausgeprägt war, daß es zu einer Hyperlipidämie kam. Die trotz erhöhter Wasseraufnahme nach 3 bis 5 Tagen einsetzende temporäre Urämie dürfte somit vorrangig auf einer Proteinfreisetzung durch Zellschädigung beruhen. Ob die 6 Tage p.i. einsetzende Hyperthermie, die bis zum Versuchsende bestehen blieb, zunächst ebenfalls mit einem stärkeren Zelluntergang und später mit den induzierten Weichgewebsverkalkungen im Zusammenhang stand, bleibt unklar. Die fibrillären Muskelzuckungen zwischen dem 8. und 9. Tag p.i., über die auch von anderen Autoren berichtet wird (Lindt 1968), sind vermutlich auf die Hypomagnesämie (Abfall von 0,60 auf 0,36 mmol/l) zurückzuführen. Für diesen Zusammenhang spricht auch das Verschwinden dieses Krankheitssymptoms nach der Mg-Zulage ab dem 9. Tag, begleitet von einem Anstieg des Plasma-Mg-Spiegels. Ob durch die Mg-Zulage auch der Grad der Gewebsverkalkung vermindert wurde, kann aus diesen Versuchen nicht abgeleitet werden. Beobachtungen anderer Autoren beim Pferd (Harrington 1975), beim Rind (Meyer et al. 1970) und Ratten (Britton und Stockstad 1970) sprechen jedoch dafür, daß im physiologischen Bereich liegende Blut-Mg-Spiegel während D-Hypervitaminosen eine derartige Wirkung haben können. Die starke Erhöhung der Kot-TS ist einerseits als Folge der geringeren Futtermittelaufnahme zu deuten, andererseits bei der dadurch dokumentierten hohen Wasserresorption im Dickdarm ein Hinweis auf eine verzögerte Chymuspassage, die im Extrem zu Obstipationen führen könnte. Pathognomonisch für die chronischen Folgen einer Vitamin-D-Intoxikation ist die sich allmählich steigende Tachykardie der Versuchstiere, die auch von Harrington und Page (1983) u. a. beobachtet wurde. Sie ist offenbar durch die endokardiale Verkalkung und Störungen in der Reizleitung zu erklären und wurde vermutlich wegen der fortschreitenden Verkalkung der Gefäße erst in der späten Phase des Versuchsablaufes klinisch apparent.

Stoffwechsel der Mineralstoffe

Aus den bei diesen Versuchen erhobenen Daten war ein Effekt der Vitamin-D-Gabe auf die Nettocalciumabsorption nicht erkennbar. Die Messung der Nettocalciumabsorption war bei den Versuchen jedoch mit einem größeren methodischen Fehler (relativ höherer Anteil an endogenen faekalen Calcium bei geringerer Ca-Aufnahme) behaftet als die vom Phosphat. Der Plasma-Ca-Spiegel zeigte nach der Injektion nur eine geringe Reaktion. Plasma-Ca-Werte von 3 mmol/l liegen beim Pferd noch im physiologischen Bereich, der je nach Ca-Aufnahme und postprandialen Stadium mit 2,8 - 3,3 mmol/l angesetzt werden kann (Meyer 1992). Auch in den Fällen von Eagle et al. (1982) sowie McClure et al. (1987) blieb der Plasma-Ca-Spiegel unbeeinflusst, während Muylle et al. (1974) mäßige

Hypercalcämien (bis 3,7 mmol/l) bei Vitamin-D-Intoxikationen beobachteten. Lijour et al. (1988) sahen dagegen nach Gabe von 1300 IE Vitamin D₃ parenteral bei einem Connemara-Pony einen extremen Anstieg des Plasma-Ca-Spiegels (bis 5 mmol/l). Diese unterschiedlichen Reaktionen könnten auf individuelle, evtl. sogar genetische Unterschiede im Stoffwechsel des Vitamin D hindeuten. Die in diesen Untersuchungen fehlenden Reaktionen des Plasma-Ca-Spiegels sind angesichts der unveränderten Ca-Absorption, vor allem aber auch aufgrund der Beobachtungen von Harmeyer et al. (1992) über eine geringe Umwandlung des Vitamin D in seine aktive Form nicht überraschend.

Die nach den Vitamin-D-Injektionen beobachtete Hypomagnesämie wurde auch beim Rind beobachtet (Meyer et al. 1970). Für diese Reaktion kann neben der geringen Mg-Aufnahme (aufgrund der Futtermitteldepression) auch ein vermehrter Einstrom von Magnesium in das intrazelluläre Volumen (der sich auch bei der Analyse der Niere andeutet; Tab. 4) verantwortlich sein.

Augenfällig und von anderen Spezies in diesem Umfang nicht bekannt, doch beim Pferd auch von Muylle et al. (1974), Harrington (1982), Harrington und Page (1983), Eagle et al. (1982), Lijour et al. (1988) beschrieben ist der starke „Response“ des Plasma-P-Wertes (Anstieg von 1,3 auf 3,4 mmol/l, Abb. 6). Zweifellos stammt die beachtliche Menge an zusätzlich im Plasma zirkulierendem Phosphat aus der verstärkten intestinalen Absorption (s. Abb. 2), die auch von Hintz et al. (1973) nach hohen Vitamin-D-Gaben beschrieben wurde. Nach Untersuchungen von Schryver et al. (1972) wird beim Pferd Phosphat vorwiegend im Dickdarm absorbiert. Ob der Anstieg der intestinalen P-Absorption infolge der Vitamin-D-Zufuhr ebenfalls im Dickdarm lokalisiert ist und passive Mechanismen, ausgelöst durch Vitamin-D-abhängige Permeabilitätsänderungen, eine Rolle gespielt haben, kann angesichts der hohen Konzentrationsgradienten für Phosphat zwischen dem Chymus in diesem Darmabschnitt (ca. 60 mmol/l) und dem Blut (1,5 - 3,5 mmol/l; Meyer et al. 1993) nicht ausgeschlossen werden. Vitamin-D-Hormon induziert jedoch bei anderen bisher untersuchten Tierspezies im Darm, unabhängig von dem aktiven Ca-Transport, auch einen aktiven P-Transport (Jungbluth und Binswanger 1989, Radde et al. 1980). Es wäre interessant, den intestinalen Ursachen der Hyperphosphatämie beim Pferd nach hohen Vitamin D-Gaben weiter nachzugehen. Normalerweise findet beim Pferd, insbesondere bei Rauhfuttermittelgabe, der größte Teil der Phosphatabsorption im Dickdarm statt, und es besteht weitgehend ein Gleichgewicht zwischen P-Sekretion und P-Resorption. Nur eine geringe P-Menge wird renal ausgeschieden (Meyer et al. 1990).

Der Anstieg der renalen P-Resorption deutet an, daß ein unter Normalbedingungen vermutlich vorliegender phosphaturischer Effekt von PTH nach Vitamin-D-Zufuhr kaum noch vorhanden war. In der Tat dürfte die PTH-gesteuerte Resorption bei einem Plasma-Ca-Spiegel von 3,1 mmol/l weitgehend zum Erliegen gekommen sein. Die bei diesen Tieren für die Nieren erhobenen Befunde bieten darüber hinaus auch keinen Hinweis auf mögliche direkte

Einwirkungen von Vitamin D oder D-Metaboliten auf die renale Behandlung von Phosphat oder auf andere Parameter der Nierenfunktion.

Verkalkungen der Weichgewebe

Die Pathogenese der Weichgewebsverkalkungen bei Vitamin-D-Intoxikationen ist bisher nicht geklärt. Die Annahme, daß dabei ein erhöhtes Ca-P-Produkt des Plasmas ursächlich beteiligt sei, ist bisher nicht experimentell belegt. Auch in diesen Versuchen fällt die durch die Vitamin-D-Gabe erreichte Steigerung des Plasma-Ca-Spiegels eher mäßig aus, andererseits ist aber der Anstieg des Plasma-P sehr stark (von 1,3 auf 3,3 mmol/l). Trotzdem beweist das nicht, daß ein ursächlicher Zusammenhang zwischen diesen Parametern und den Verkalkungen vorliegt. Weichgewebsverkalkungen als Folge von D-Hypervitaminosen sind keineswegs immer von einem erhöhten Ca-P-Produkt bzw. einer Hypercalcämie begleitet. Z. B. führt eine D-Hypervitaminose bei Kaninchen ebenfalls zu Kalkablagerungen im Weichgewebe, jedoch ohne daß eine Hypercalcämie auftritt (Schäfer 1987; Holmes 1982). Auch bei Menschen sind derartige Fälle beschrieben worden (Holmes 1982, Yendt et al. 1969). Eine andere Ursache für die Verkalkung extraosseärer Gewebe bei Anwesenheit großer Vitamin-D-Mengen im Körper könnte ein durch erhöhte Permeabilität der Membranen bedingter stärkerer Ca- bzw. P-Einstrom in die Zellen sein. Erhöhte P-Konzentrationen im Plasma können metastasierende Kalzifikationen fördern (Bühlmann und Froesch 1989, Nordin 1973). Die Verkalkungen in der Niere führen offenbar zu keinen Funktionsstörungen dieses Organs, wenn auch zum Zeitpunkt der Sektion (42. bis 44. Tag p.i.) sowohl im Bereich der Glomeruli (Zellschwellungen) als auch der proximalen Tubuli (Zellnekrosen, Verkalkungen, erhöhte Ca-Gehalte des Gewebes) histologisch mittel- bis hochgradige Veränderungen vorlagen. So muß man annehmen, daß von den histologisch nachweisbaren Veränderungen nicht alle Nephronen in gleicher Weise betroffen waren. Die Filtrationsleistung noch funktionsfähiger Nephronen kann sich bei partiellem Funktionsausfall von Teilen der Niere im Sinne einer kompensatorischen Regulation verdoppeln. Bei Hunden mit interstitieller Nephritis treten erst nach Ausfall von rund $\frac{2}{3}$ bis $\frac{3}{4}$ der Nephronen urämische Veränderungen im Blut auf (Müller-Peddinghaus et al. 1976). Auch die renale Behandlung von Phosphat liefert keine Anhaltspunkte für eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion. Die tubuläre Resorption von anorganischem Phosphat betrug in der Kontrollperiode über 99 %. Dies ergibt sich aus der Annahme, daß diese Ponys 1) eine GFR von ca. 300 ml/min pro Tier besaßen (Zatzmann et al. 1982, Schnurpel 1991), 2) der gemessenen Plasmaphosphatkonzentration von 1,35 mmol/l und 3) der gemessenen renalen P-Ausscheidung von 4,8 mmol/Tag. Nach den vier Vitamin-D-Gaben sank die tubuläre Resorption auf etwa 85 % des filtrierten Phosphats (Plasma-P 3,0 mmol/l, renale P-Ausscheidung 193 mmol/Tag). Aus diesen Werten geht hervor, daß die Ponys in der Vorperiode etwa 582 mmol Phosphat pro Tag tubulär resorbiert haben (583-0,48 mmol/Tag).

Nach Vitamin D waren es 1103 mmol/Tag (1296 bis 193 mmol/Tag) oder 520 mmol/Tag (1103 bis 583 mmol/Tag) mehr als in der Vorperiode. Die unter der Vitamin-D-Belastung stehenden Nieren waren also in der Lage, die tubuläre P-Resorption noch beachtlich zu erhöhen. Auch dies spricht nicht für eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion. Allerdings sagen diese Versuche nichts darüber, ob bei den Tieren unter Vitamin D das renale Transportmaximum bereits erreicht, schon überschritten oder niedriger war als bei gesunden Ponys. Festgestellt werden kann aber, daß die Nieren der Tiere trotz deutlich sichtbarer histologischer Veränderungen noch fast doppelt so viel Phosphat resorbieren konnten wie vor der Verabreichung von Vitamin D. Auf die Verkalkung im Herzen wurde bereits bei der Besprechung der klinischen Symptome eingegangen (s. o.).

Knochenveränderungen

Die in diesen Versuchen erhobenen histopathologischen Befunde am Knochen liefern wenig Anhaltspunkte, um den Wirkungsmechanismus hoher Vitamin-D-Dosen auf den Knochen aufklären zu können. Dies ist nicht überraschend, da zum einen die primären durch die Vitamin D-Zufuhr ausgelösten Wirkungen auf den Knochen zum Zeitpunkt der Autopsie schon 42 bis 44 Tage zurückliegen und zum anderen die vielfältigen parakrinen Wechselwirkungen zwischen Osteoblasten und Osteoklasten bei der Osteogenese und der Osteolyse (Mundy 1992, Canalis et al. 1989) mit den angewendeten Methoden nicht erfaßt werden können. Die vorliegenden Befunde aber deuten nicht eindeutig darauf hin, daß der Mineralstoffgehalt der fettfreien Knochensubstanz gegenüber Konzentrationen bei normal gehaltenen Tieren vermindert war. Viele der histopathologisch auffälligen Veränderungen weisen aber auf ein gestörtes „bone remodelling“ durch die Vitamin-D-Gaben. Die Osteoidnekrosen, wie auch die nur mäßig erhöhte Plasma-Ca-Konzentration, sprechen darüber hinaus nicht für eine verstärkte Mineralresorption aus dem Knochen sowohl zum Zeitpunkt der Sektion als auch in der Zeit vor der Sektion. Sie sprechen ferner gegen die Annahme, daß die osseären Umbauprozesse direkt oder indirekt durch PTH induziert wurden.

Schlußfolgerungen

Über die Toleranz des Pferdes gegenüber parenteral appliziertem Vitamin D₃ können die vorliegenden Ergebnisse noch keine abschließende Aussage treffen. Bei früher mitgeteilten Vitamin-D-Intoxikationen lagen z. T. parenterale und orale Applikationen vor, die eine eindeutige Bewertung nicht zulassen. Nach vorliegenden Beobachtungen sind mit Sicherheit 2malige Injektionen von 10 000 IE Vit.D₃/kg KM/d toxisch. Lindt (1968) sah nach einmaliger Injektion von rund 40 – 50 000 IE/kg bei einem Zwergeselfohlen schwerste Intoxikationen, Muylle et al. (1974) nach 8maliger Injektion von rund 8000 IE/kg KM (im wöchentlichen Abstand).

Bei Vitamin-D₃-Konzentrationen von bis zu 500 000 IE/ml in injizierbaren Lösungen können daher leicht kritische

Mengen erreicht werden, insbesondere wenn gleichzeitig auch die orale Zufuhr hoch liegt. Orale Gaben sind akut weniger kritisch, doch Mengen von 3000 IE/kg KM/Tag waren langfristig tödlich (Hintz et al. 1973).

Aus klinisch diagnostischer Sicht ist bei Pferden mit einem erhöhten Plasma-P-Spiegel – sofern keine anderen Ursachen, z. B. Nierenerkrankungen vorliegen – sowie bei Tachykardien eine akute oder chronische Vitamin-D-Vergiftung, ggf. (in Süddeutschland, Grabmer 1985) eine vermehrte Aufnahme von Goldhafer (*Trisetum flavescens*), der Vitamin-D-ähnliche Metaboliten enthält, differentialdiagnostisch zu beachten.

Literatur

- Bille, N. (1970): Hypervitaminosis D og calciphylaxis hos husdyr. Nord. Vet.-Med. 22, 218-233.
- Britton, W. M., und Stockstad, F. L. R. (1970): Aorta and other soft tissue calcification in the magnesium deficient rat. J. Nutr. 100, 1501-1506.
- Bühlmann, A. A., und Froesch, E. R. (1989): Pathophysiologie. Springer Verlag.
- Canalis, E., McCarthy, T. L., und Centrella, M. (1989): The role of growth factors in skeleton remodelling. Endocrinol. and Metab. Clin. North Am. 18, 903-918.
- Eagle, M. T., Koch, D. B., Whalen, J. P., Hintz, H. F., und Krook, L. (1982): Mineral metabolism and immobilization osteopenia in ponies treated with 25-Hydroxycholecalciferol. Cornell Vet. 72, 372-393.
- Eikemeier, H. (1982): Arbeitswerte in der Laboratoriumsdiagnostik beim Pferd. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 95, 85-86.
- Gericke, S., und Kurmies, B. (1952): Die kolorimetrische Phosphorsäurebestimmung mit Ammonium-Vandat-Molybdat und ihre Anwendung in der Pflanzenanalyse. Z. Pflanzenernähr., Düngung und Bodenkunde 59, 235-247.
- Grabmer, A. (1985): Enzootische Kalzinose beim Pferd. Tierärztl. Praxis Suppl. 1, 84-93.
- Gürer, C. (1985): Untersuchungen zum Kaliumstoffwechsel des Pferdes bei marginaler Versorgung und zusätzlicher Belastung. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- Harmeyer, J., Twehues, R., Schlumbohm, C., Stadermann, B., und Meyer, H. (1992): The role of vitamin D on calcium metabolism in horses. Pferdeheilkunde, Sonderheft, 81-85.
- Harrington, D. D. (1975): Influence of magnesium deficiency on horse hoal tissue concentrations of magnesium, calcium and phosphorus. Br. J. Nutr. 34, 45-57.
- Harrington, D. D. (1982): Acute vitamin D2 (ergocalciferol) toxicosis in horses. Case report and experimental studies. JAVMA 180, 867-873.
- Harrington, D. D., und Page, E. H. (1983): Acute vitamin D3 toxicosis in horses: Case reports and experimental studies of the comparative toxicity of vitamins D2 and D3. JAVMA 182, 1358-1369.
- Hintz, H., Schryver, H. F., Lowe, J., King, J., und Krook, J. (1973): Effect of Vitamin D on Ca and P metabolism in ponies. J. Anim. Sci. 37, 282.
- Holmes, R. P. (1982): Tissue infiltration of vitamin D and 25-hydroxy vitamin D during hypervitaminosis D. In: Vitamin D, Chemical, Biochemical and Clinical Endocrinology of Calcium Metabolism. Eds. Norman, A.W., Schaefer, K., v. Herrath, D., Grigoleit, H.G., Walter de Gryter Verlag Berlin, 567-569.
- Jungbluth, H., und Binswanger, U. (1989): Unidirectional duodenal and jejunal calcium and phosphorus transport in the rat: Effects of dietary phosphorus depletion, ethane-1-hydroxy-1, 1-diphosphonate and 1,25 dihydroxycholecalciferol. Res. Exper. Med. 189, 439-449.
- Lijour, L., Lapras, M., Betti, E., Faniel, D., und Legeay, Y. (1988): Intoxication par la vitamine D chez une ponette. Point Vét. 20, 241-244.
- Lindt, S. (1968): D-hypervitaminotische Calcinose bei verschiedenen Tieren. Wien. tierärztl. Mschr. 3, 148-164.
- Mäenpää, P.H., Koskinen, T., und Koskinen, E. (1988): Serum profiles of vitamin A, E and D in mares and foals during different seasons. J. Amin. Sci. 66, 1418-1423.
- Meyer, H. (1992): Pferdefütterung. 2. Aufl., Paul Parey, Hamburg und Berlin.
- Meyer, H., Pohlenz, J., De Barros, S., und Krebber, R. (1970): Einfluß der Magnesiumversorgung auf die Toxizität von Vitamin D₃ beim Rind. Dtsch. tierärztl. Wschr. 77, 489-528.
- Meyer, H., und Lemmer, U. (1973): Mineralstoff- und Spurenelementgehalt im Serum des Pferdes. Dtsch. tierärztl. Wschr. 80, 145-169.
- Meyer, H., Heilemann, M., Perez-Noriega, H., und Gomda, Y. (1990): Postprandiale renale Ausscheidung von Ca, Mg und P bei ruhenden und arbeitenden Pferden. In: Meyer, H.: Beiträge zum Wasser- und Mineralstoffhaushalt des Pferdes. Fortschr. Tierphysiol. Tierernährung. 21, 78-88.
- Meyer, H., Stadermann, B., Radicke, S., Kienzle, E., und Nyari, A. (1993): Untersuchungen zum Einfluß der Futterart auf Füllung und Zusammensetzung des Verdauungskanals sowie postprandiale Blut- und Harnparameter. Pferdeheilkunde.
- Müller-Peddinghaus, R., Schäfer, B., Greifenhagen, U., Wirth, W., und Trautwein, G. (1976): Beitrag zur Pathologie, Klinik und Ätiologie der Glomerulonephritis und interstitiellen Nephritis des Hundes. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 89, 7-11.
- Mundy, G.R. (1992): Cytokines and local factors which affect osteoclast function. Int. J. Cell Cloning 10, 215-222.
- Muyllé, E., Oyaert, W., De Roose, P., und Van den Hendé, C. (1974): Hypercalcaemia and mineralisation of non-osseous tissues in horses due to vitamin D-toxicity. Zbl. Vet. Med. A 21, 638-643.
- Nehring, T. (1991): Einfluß der Futterart auf die Nettoabsorption von Calcium sowie Magnesium und Phosphor beim Pferd. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- Nordin, B. E. C. (1973): Metabolic bone and stone disease. Verlag Livingstone, Edingburgh.
- NRC (1989): National Research Council: The nutrient requirement of horses. 5. Aufl., National Academy Press, Washington.
- Papasteriades, A., Argiroudes, S., Leontides, S., Roubies, N., Psihas, B., und Christopoulos, Ch. (1988): Cases of vitamin D intoxication in racehorses. 4th Hellenic Vet. Congress 1987, Athens Abstracts 1988, pp. 135-136.
- Radde, I. C., Davis, I. C., Sheepers, J., und McKercher, H. G. (1980): Bidirectional transmucosal ⁴⁵Ca und ³²P fluxes across the small intestine of the young piglet: Relationship of intestinal Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase activity and postnatal age. In: Pediatric Diseases Related to Calcium. Eds. DeLuca, H.F., and Anast, C.S., Blackwell Scientific Publications, 153-163.
- Schäfer, B. (1987): Vergleichende Calcinogenität verschiedener Vitamin-D-Metaboliten beim Kaninchen. Inaug. Diss. Universität München, Tierärztliche Fakultät.
- Schnurpel, B. (1991): Einfluß von Futterart und Höhe der Ca-Aufnahme auf Ca-Blutspiegel und renale Ca-Exkretion beim Pferd. Diss. Tierärztl. Hochsch. Hannover.
- Schryver, H. F., Hintz, H. F., Craig, P. H., Hogue, D. E., und Lowe, J.E. (1972): Site of phosphorus absorption from the intestine in the horse. J. Nutr. 102, 143-148.
- Schryver, H. F., Hintz, H. F., Lowe, J. E., Hintz, R. L., Harper, R. B., und Reid, J.T. (1974): Mineral composition of the whole body, liver and bone of young horses. J. Nutr. 104, 126-132.
- Voges, F. (1988): Untersuchungen über die Zusammensetzung von Pferdeknochen. Diss. Tierärztl. Hochsch. Hannover.
- Yendt, E. R., DeLuca, H. F., Garcia, D. A., und Cohanin, M. (1969): Clinical aspects of vitamin D. In: The Fat Soluble Vitamins. Eds. DeLuca, H.F. und Suttie, J.W., The University of Wisconsin Press, 125-158.
- Zatzman, M. L., Clarke, L., Ray, W. J., Garner, H. E., und Traver, D. (1982): Renal function of the pony and the horse. Am. J. Vet. Res. 43, 608-612.

Dr. B. Weisweiler, Prof. Dr. H. Meyer
 Institut für Tierernährung
 Dr. A. Kuczka
 Institut für Pathologie
 R. Twehues, Prof. Dr. J. Harmeyer
 Physiologisches Institut
 Tierärztliche Hochschule Hannover
 Bischofsholer Damm 15
 D-30173 Hannover