

# Untersuchungen zum Mineralstoff- und Spurenelementgehalt von Röhrenknochen bei Föten und neugeborenen Fohlen

J. Zentek, B. Ulrich, D. Hebeler und H. Meyer

Institut für Tierernährung der Tierärztlichen Hochschule Hannover

## Zusammenfassung

In vorliegender Arbeit wurden die Konzentrationen an Kalzium, Phosphor sowie Kupfer, Zink und Mangan im Metakarpus (Dia- und Epiphyse) abortierter Pferdefüten (6.–11. Trächtigkeitsmonat, n= 32) bzw. neugeborener Fohlen (n=8) aus Norddeutschland untersucht. Der Ca-, P- und Spurenelementgehalt zeigte im Metakarpus der bis zum 9. Graviditätsmonat abortierten Föten eine erhebliche Variabilität (besonders in der Epiphyse), während sich bei den älteren Föten bzw. den neugeborenen Fohlen enger zusammenliegende Werte sowie eine Annäherung zwischen den beiden untersuchten Lokalisationen abzeichnet. In der Diaphyse waren bei den Neugeborenen rd. 221±18 g Kalzium und 92±9 g Phosphor/kg ffr. TS nachzuweisen, der Cu-Gehalt erreichte 8±2 mg/kg ffr. TS, Zink 124±16 und Mangan 9±3 mg/kg ffr. TS. Die bisherigen Daten zeigen, daß erhebliche Variationen im Verlauf der Mineralisierung von fötalen Pferdeknochen auftreten, die in ihrer klinischen Konsequenz noch nicht eindeutig beurteilt werden können.

**Schlüsselwörter:** Knochen, Mengenelemente, Spurenelemente, fötale Entwicklung

## Investigations on the mineral and trace element content of limb bones in fetuses and newborn foals

Concentrations of Ca, P, Cu, Zn and Mn have been measured in the metacarpal bone (epi- and diaphysis) of aborted (6.–11. gestational month) equine fetuses (32) and newborn foals (8) from North Germany. Concentrations of Ca, P and trace elements varied considerably in the metacarpus of 6–9 month old fetuses, while the ranges approximated in older fetuses and in the newborn foals. Ca and P concentrations were 221±18 and 92±9 g/kg fat free DM in the metacarpal diaphysis in the newborn foals. Cu and Mn contents were low (8±2 and 9±3 mg/kg fat free DM), while Zn amounted to 124±16 mg/kg fat free DM. The data demonstrate a variable time course in the mineralisation of fetal bones, but clinical consequences need to be investigated.

**keywords:** bone, minerals, trace elements, foetal development

## Einleitung

Die Kenntnisse über die Entwicklung des Skeletts während der fötalen Entwicklung und mögliche Variationsursachen in der Gewebszusammensetzung sind beim Pferd gering (Meyer und Ahlswede 1976, Voges et al. 1990). Ossifikationsstörungen treten bei neugeborenen Fohlen oft in Verbindung mit Achsenfehlstellungen auf und verursachen schwerwiegende klinische Störungen (Auer 1986). Ursächlich kommen verschiedene Ätiologien in Frage, u. a. hypothyreotische Zustände (McLaughlin u. Dodge 1982), möglicherweise auch eine Fehlernährung. Neben Kalzium und Phosphor kommt den Spurenelementen in diesem Zusammenhang Bedeutung zu. Kupfer ist für die Lysyloxidase im Bindegewebe essentiell, die wiederum über die Quervernetzung der Kollagenfibrillen die Gewebestabilität von Knorpel und Knochen beeinflusst (Eyre et al. 1984). Zink und Mangan sind an einer Vielzahl von Enzymen als Cofaktoren beteiligt, so an der

alkalischen Phosphatase bzw. an Glykosyltransferasen (Keen u. Graham 1989). Vorliegende Arbeit soll bei Pferdefüten, die zwischen dem 6. und 11. Graviditätsmonat abortiert wurden bzw. bei neugeborenen Fohlen die Entwicklung der Mengen- und Spurenelementeinlagerung in den Metakarpus darstellen.

## Material und Methode

Die untersuchten Knochen (Metakarpus) stammten von insgesamt 32 abortierten bzw. 8 innerhalb der ersten 6 Lebensstage verendeten Fohlen, deren Alter, soweit keine exakten Angaben vorlagen, aus der Scheitel-Steißlänge über eine Regressionsgleichung geschätzt wurde (s. auch Hebeler et al. 1996; Tab. 1). Der Metakarpalknochen wurde aus den Vordergliedmaßen freipräpariert, umgehend auf einer Analysen-

Tab. 1: Alter, Geschlecht, Rasse und Herkunft der untersuchten Pferdefüten bzw. -fohlen  
age, sex, breed of the fetuses and foals

| Alter/age                                    | n  |
|--|----|
| 6.-11. Monat a.p./6th-11th month ante partum | 32 |
| 1.-6. Tag p.n./1st-6th day post natum        | 8  |
| Geschlecht/sex                               |    |
| Hengstfohlen/male                            | 22 |
| Stutfohlen/female                            | 17 |
| ohne Angabe/no information                   | 1  |
| Rassen/breed                                 |    |
| Warmblut/warm blooded horse                  | 18 |
| Vollblut/thoroughbred                        | 5  |
| Pony/pony                                    | 4  |
| Traber/trotter                               | 1  |
| Kaltblut/cold blooded horse                  | -  |
| ohne Angabe/no information                   | 12 |

waage gewogen ( $\pm 0,01$  g) und bis zur weiteren Untersuchung eingefroren. Zur Durchführung weiterer Analysen erfolgte eine Zerteilung des Knochens in 2 Abschnitte („Diaphyse“: Segment aus dem Knochenchaft, ausgehend von der Mitte 30 % der Gesamtknochenlänge; „Epiphyse“: Abtrennung auf Höhe der Epiphysenfuge). Der weitere Untersuchungsgang umfaßte eine Trocknung der Knochensegmente (Gefrier-trocknungsanlagen Delta IA bzw. Gamma 1-20, Fa. Christ) und eine Entfettung mittels Petroläther. Die Knochensegmente wurden dann mit Hilfe einer Labormühle vermahlen und zur Bestimmung der Mineralstoffgehalte naß verascht (Mikrowellenaufschluß MLS 1200 Mega, Fa. Milestone). Die Messung der Kalzium- und Spurenelementgehalte (Kupfer, Zink, Mangan) erfolgte atomabsorptionsspektrophotometrisch (Pye Unicam SP9) bzw. im Falle des Phosphors photometrisch (Gericke und Kurmies 1952).  
Statistik: Berechnung von Mittelwerten und Standardabweichungen sowie regressionsanalytische Auswertungen des Datenmaterials (PC Programme Excel 5® bzw. XACT®).

### Ergebnisse und Diskussion

Die Mineralisierung des Metakarpus zeigte deutliche Unterschiede sowohl in Abhängigkeit von der Lokalisation im Knochen als auch vom Alter der Föten. Der Ca-Gehalt der Epiphyse war bei den bis zu 9 Monate alten Föten mit Einzelwerten zwischen 2,5 und 192 g/kg ffr. TS äußerst variabel (Abb. 1). Bei den im 10. und 11. Monat abortierten Föten sowie den neugeborenen Fohlen zeigte sich eine Stabilisierung auf einem

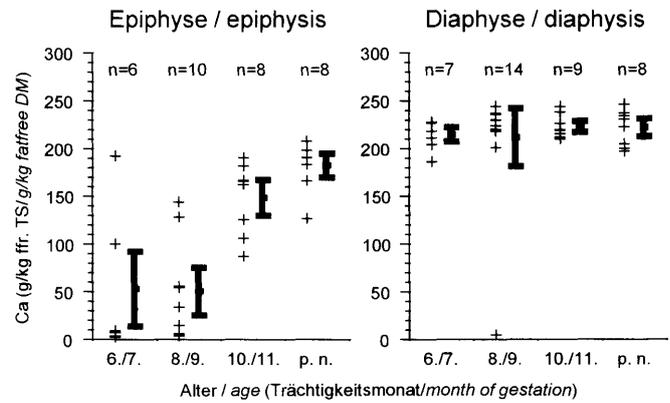


Abb. 1: Ca-Gehalte in der Epi- und Diaphyse von Metakarpalknochen abortierter Pferdefüten sowie neugeborener Fohlen  
Ca-concentrations in the epi- and diaphysis of metacarpal bones of aborted equine fetuses and newborn foals

Niveau zwischen  $148 \pm 35$  und  $182 \pm 24$  g Kalzium/kg ffr. TS, wobei aber auch hier noch eine erhebliche individuelle Variation bestand. Der Ca-Gehalt des diaphysären Knochens lag in allen Phasen deutlich höher und erreichte gegen Ende der Gravidität  $223 \pm 11$  g/kg ffr. TS bzw. bei den neugeborenen Fohlen  $222 \pm 18$  g/kg ffr. TS. Meyer und Ahlswede (1976) fanden im Gesamtkarpus abortierter Fohlen (zwischen 7. und 11. Graviditätsmonat) mit Ca-Gehalten von 235-252 g/kg TS höhere Werte.

Im Gegensatz zur Epiphyse ergab die Untersuchung der Ca-Gehalte in der Diaphyse zwar ein einheitlicheres Bild, wobei in dem vorliegenden Untersuchungsgut in der Gruppe der 6 bzw. 7 Monate sowie bei den 8-9 Monate alten Föten jeweils ein Tier eine auffallend geringe Kalzifizierung des Knochenchaftes aufwies (Abb. 1). Beiden Tieren gemeinsam sind im Vergleich zum jeweiligen Gruppenmittel reduzierte Zn-Gehalte in der Leber ( $82$  mg/kg TS gegenüber Gruppenmittel von  $245$  mg/kg TS für den im 6./7. Monat abortierten Fötus bzw.  $94$  mg/kg TS im Vergleich zu  $141$  mg/kg TS bei dem aus der Altersgruppe 8.-9. Monat stammenden Föten). Ob zwischen diesen Beobachtungen ein ätiologischer Zusammenhang besteht, z. B. aufgrund der Bedeutung von Zink als Koenzym der alkalischen Phosphatase (Keen und Graham 1989), oder ob es sich insgesamt um den Ausdruck einer zurückgebliebenen Entwicklung handelt, muß nach dem z. Zt. vorliegenden Erkenntnisstand spekulativ bleiben. Bei dem früh abortierten Fötus fiel neben einem reduzierten Zn-Gehalt zudem eine stark erhöhte Cu-Konzentration in der Leber auf ( $534$  mg/kg TS, Gruppenmittel  $225$  mg/kg TS).

Ähnlich wie beim Kalzium ergab auch die Untersuchung der ossären P-Konzentrationen Lokalisations- und Alterseffekte, die sich insbesondere in stark variierenden epiphysären Gehalten widerspiegeln (Abb. 2). Ausgehend von teils sehr niedrigen Werten bei den aus dem 6./7. Monat stammenden fötalen Knochen

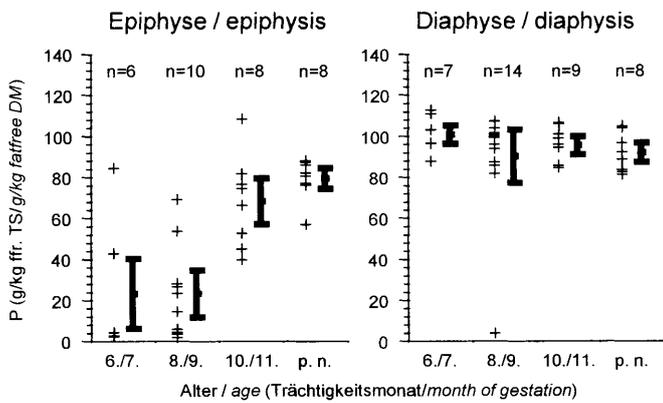


Abb. 2: P-Gehalte in der Epi- und Diaphyse von Metakarpalknochen abortierter Pferdeföten sowie neugeborener Fohlen

P-concentrations in the epi- and diaphysis of metacarpal bones of aborted equine fetuses and newborn foals

(2,4–85 g Phosphor/kg ffr. TS) erreichen die P-Gehalte auch bei den Neugeborenen mit  $80 \pm 9$  g/kg ffr. TS noch nicht das Niveau des diaphysären Knochengewebes, in dem mittlere Konzentrationen von  $92 \pm 9$  g/kg ffr. TS vorlagen.

Der Gehalt an Kupfer erreichte in der Epiphyse mittlere Werte zwischen  $6,2 \pm 2,5$  (6./7. Monat) und  $8,6 \pm 2,1$  mg/kg ffr. TS in der Gruppe der Neugeborenen, wobei allerdings kein gerichteter Alterseinfluß erkennbar war. Auch in der Knochendiaphyse zeigten sich für Kupfer bei mittleren Gehalten zwischen  $7,1 \pm 1,0$  (6./7. Trächtigkeitsmonat) und  $8,4 \pm 1,3$  mg/kg ffr. TS (10./11. Monat) keine Veränderungen im Zusammenhang mit dem Trächtigkeitsstadium (Abb. 3). Die bei neugeborenen Fohlen im Knochenschaft ermittelten Cu-Gehalte lagen mit durchschnittlich  $8,3 \pm 2,4$  mg/kg ffr. TS in vergleichbarer Größenordnung und stimmen gut mit früheren Angaben von Fohlen bzw. Jährlingen (Voges et al. 1990; Meyer 1994) überein.

Die Zinkkonzentrationen zeigten eine weite Streuung, wobei ein Tier im 6./7. Trächtigkeitsmonat mit 445

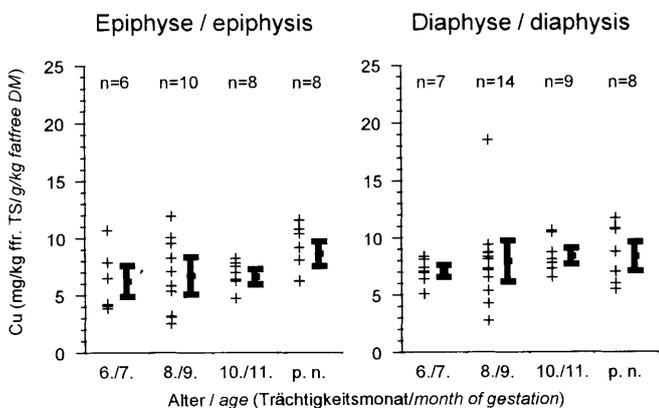


Abb. 3: Cu-Gehalte in der Epi- und Diaphyse von Metakarpalknochen abortierter Pferdeföten sowie neugeborener Fohlen

Cu-concentrations in the epi- and diaphysis of metacarpal bones of aborted equine fetuses and newborn foals

mg/kg ffr. TS in der Epiphyse einen stark erhöhten Gehalt aufwies, der sich in ähnlicher Größenordnung auch in der Diaphyse widerspiegelte (Abb. 4). Neben

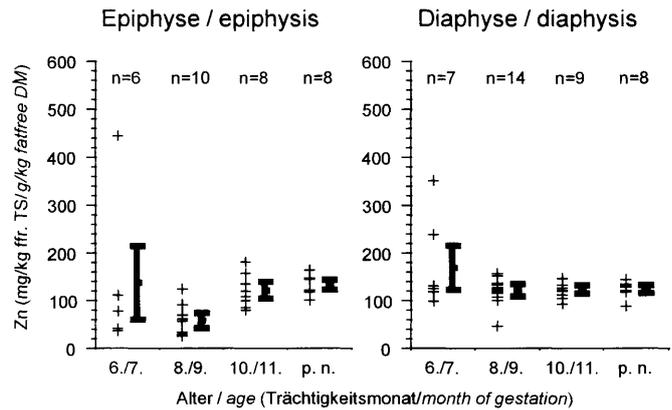


Abb. 4: Zn-Gehalte in der Epi- und Diaphyse von Metakarpalknochen abortierter Pferdeföten sowie neugeborener Fohlen

Zn-concentrations in the epi- and diaphysis of metacarpal bones of aborted equine fetuses and newborn foals

einem stark erhöhten Zinkgehalt in den beiden untersuchten Knochenlokalisationen fiel bei diesem Tier ein Zinkgehalt in der Leber von 437 mg/kg TS auf, während die Meßwerte der übrigen Föten aus dieser Altersgruppe zwischen 82 und 348 mg Zink/kg TS lagen (im Mittel  $178 \pm 92$  mg/kg TS). Der Cu-Gehalt der Leber war mit 310 mg/kg TS unauffällig ( $269 \pm 156$  mg/kg TS bei 5 weiteren Föten aus dieser Altersgruppe). Abgesehen von der durch diesen erheblichen individuellen Einfluß verursachten Streuung im 6./7. Monat war im epiphysären Abschnitt des Metakarpus eine Zunahme der Zn-Gehalte von  $58 \pm 30$  mg/kg ffr. TS im 8./9. Trächtigkeitsmonat bis auf  $133 \pm 19$  mg/kg ffr. TS bei den Neugeborenen zu verzeichnen. In der Diaphyse zeigt sich dagegen eine weitgehende Konstanz des Zn-Gehaltes mit mittleren Konzentrationen um 120 mg/kg ffr. TS, wobei jedoch eine Spanne der Einzeldaten zwischen 47 und 158 mg/kg ffr. TS auffiel.

Zwischen den Zinkgehalten in Knochen und Leber der Föten bzw. der Neugeborenen bestand eine statistisch abzuschließende Beziehung nur für die Epiphyse, während sich für die Diaphyse ein entsprechender Zusammenhang nicht herstellen ließ (Abb. 5).

Die Mn-Konzentrationen zeigten keine deutlichen altersabhängigen Effekte, aber Unterschiede innerhalb der beiden untersuchten Knochenabschnitte. Der epiphysäre Mn-Gehalt in der Gruppe der frühabortierten Fohlen (bis 9. Monat) lag im Mittel unter 6 mg/kg ffr. TS, während bei den im 10./11. Monat abortierten Föten Mn-Gehalte von  $7,6 \pm 1,9$  erreicht wurden (Abb. 6). Bei den neugeborenen Fohlen zeigte sich im Vergleich zu den in den beiden letzten Monaten der Gravidität abortierten Föten kein Unterschied. In der Diaphyse des Metakarpus lagen die Mn-Gehalte mit 7–10

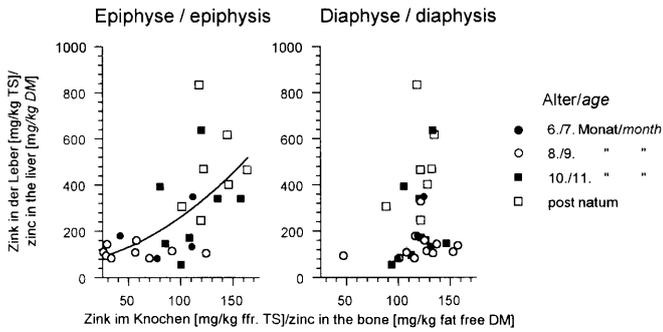


Abb. 5: Beziehung zwischen dem Zinkgehalt im Metakarpalknochen und dem Zinkgehalt der Leber (Epiphyse:  $r=0,61$ ;  $y=66,8+0,69x+0,013x^2$ ;  $p<0,01$ ;  $n=27$ ; 2 Extremwerte nicht berücksichtigt; Diaphyse: n. s.)

Relation between zinc concentration in the metacarpal bone and zinc concentration in the liver (epiphysis:  $r=0.61$ ;  $y=66.8+0.69x+0.013x^2$ ;  $p<0,01$ ;  $n=27$ ; 2 extremes not regarded; diaphysis: n. s.)

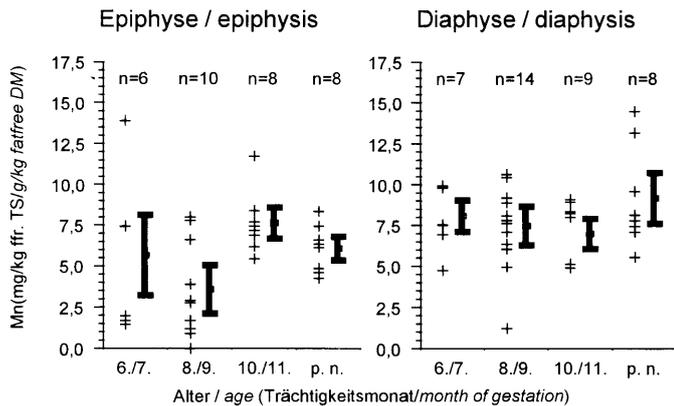


Abb. 6: Mn-Gehalte in der Epi- und Diaphyse von Metakarpalknochen abortierter Pferdeföten sowie neugeborener Fohlen

Mn-concentrations in the epi- and diaphysis of metacarpal bones of aborted equine fetuses and newborn foals

mg/kg ffr. TS höher als im epiphysären Bereich. Bei einem Tier, das im 8./9. Monat abortiert wurde, war mit 1,2 mg/kg ffr. TS der geringste Mn-Gehalt festzustellen, in der Epiphyse wurden hier lediglich 0,9 mg/kg ffr. TS ermittelt.

Die bisherigen Untersuchungsergebnisse zeigen, daß die Einlagerung von Kalzium, Phosphor, Kupfer, Zink und Mangan in den fötalen Knochen erheblichen Variationen unterworfen ist. Die Mineralisierung ist offensichtlich besonders im 6.–9. Graviditätsmonat unein-

heitlich, ohne daß zugrunde liegende Ursachen klar sind. Laufende Untersuchungen sollen die Datenbasis ausweiten und vertiefen.

### Literatur

Auer, J. A. (1986): Zur intrauterinen Ossifikation der Karpal- und Tarsalknochen beim Fohlen und Behandlung von Ossifikationsstörungen. *Pferdeheilkde.* 2, 35–52

Eyre, P., Paz, M. und Gallop, P. (1984): Cross linking in collagen and elastin. *Ann. Rev. Biochem.* 53, 717–748

Gericke, S. und Kurmies, B. (1952): Die kolorimetrische Phosphorsäurebestimmung mit Ammonium-Vanadat-Molybdat und ihre Anwendung in der Pflanzenanalyse. *Z. Pflanzenernähr., Düng. und Bodenkde.* 59, 235–247

Hebeler, D., Tiegs, W. und Meyer, H. (1996): Cu- und Zn-Gehalte in Leber und Niere von Föten und neugeborenen Fohlen. *Pferdeheilkd.* 12, 189–193

Keen, C. L. und Graham, T. W. (1989): Trace elements. in: *Kaneko, J. J. (Hrsg.): Clinical biochemistry of domestic animals.* Academic Press, San Diego, California, 753–795

McLaughlin, B. G. und Dodge, C. E. (1982): A study of ossification of carpal and tarsal bones in normal and hypothyroid foals. *Can. Vet. J.* 23, 164–168

Meyer, H. (1994): Kupferstoffwechsel und Kupferbedarf beim Pferd. *Übers. Tierernährg.* 22, 363–394

Meyer, H. und Ahlswede, L. (1976): Über das intrauterine Wachstum und die Körperzusammensetzung von Fohlen sowie den Nährstoffbedarf tragender Stuten. *Übers. Tierernährg.* 4, 263–292

Voges, F., Kienzle, E. und Meyer, H. (1990): Investigations on the composition of horse bone. *Equine Vet. Sci.* 10, 208–214

Für die großzügige Unterstützung dieser Untersuchungen sei der Fa. Effem GmbH in Verden/Aller herzlich gedankt.

Dr. J. Zentek

Institut für Tierernährung  
Tierärztliche Hochschule Hannover  
Bischofsholer Damm 15  
30173 Hannover