

**Zeitschrift:** Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire  
ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

**Herausgeber:** Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

**Band:** 142 (2000)

**Heft:** 11

**Artikel:** Anwendung von Knochenmarkern in der Veterinärmedizin

**Autor:** Liesegang, A.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-593577>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 11.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**



# Anwendung von Knochenmarkern in der Veterinärmedizin

A. Liesegang

Institut für Tierernährung der Universität Zürich

## Zusammenfassung

Der Knochenumbau wird beim Menschen und mehreren Tierarten in vivo anhand verschiedener Enzyme und anderen Proteinen, die von Osteoblasten oder Osteoklasten beim Aufbau bzw. Abbau gebildet werden, objektiviert. Die Entwicklung von Messmethoden verschiedener Knochenmarker ist von Interesse, da diese die Möglichkeit geben, nicht invasiv und über längere Zeit den Metabolismus des Knochens zu überwachen. Die biochemischen Marker der Knochenbildung, die heute oft eingesetzt werden, sind: die knochenspezifische alkalische Phosphatase, Osteocalcin und verschiedene Propeptide, welche vom N- oder C-terminalen Ende des Typ-I-Prokollagens stammen. Die spezifischsten Knochenresorptionsmarker sind die Abbauprodukte des Typ I Kollagens. Die Bestimmung der Hydroxyprolin-Konzentration im Harn ist die am längsten bekannte Messung eines solchen Abbauproduktes, gilt aber als unspezifisch für den Knochen, da es in allen Kollagentypen und auch in der Nahrung vorkommt. Um die Knochenresorption zu verfolgen, ist die Messung der Kollagen-Brückenproteine, Deoxypyridinolin und Pyridinolin besser geeignet. Deoxypyridinolin und Pyridinolin werden heute in der Humanmedizin zur Diagnose von verschiedenen Knochenkrankheiten und zur Vorhersage des Frakturrisikos und des Knochenverlusts im Alter eingesetzt. Auch das carboxyterminale Telozeptid des Typ-I-Kollagens (ICTP) ist ein vielversprechender Marker, welcher bei verschiedenen Tierarten eingesetzt wird.

Der Artikel gibt einen Überblick über den Einsatz verschiedener Knochenmarker in der Veterinärmedizin und die damit verbundenen Möglichkeiten zur Diagnose bzw. Prophylaxe von Knochenkrankheiten.

**Schlüsselwörter:** Knochenresorption – Knochenbildung – Knochenmarker – Kalziummetabolismus

## The use of biochemical bone markers in veterinary medicine

Bone metabolism can be monitored in humans and several animal species in vivo by measuring enzymes and other protein products released by osteoblasts and osteoclasts, respectively. The biochemical markers of bone formation currently in use include bone isoenzyme of alkaline phosphatase, osteocalcin and propeptides derived from the N or C terminal ends of the type I procollagen molecule. The most useful markers of bone resorption are breakdown products of type I collagen. The oldest established method is the measurement of hydroxyproline in urine, which is not specific for bone, because it can be found in all collagen types and is also derived from diets. The measurement of collagen crosslinks, deoxypyridinoline and pyridinoline, is comparatively more specific to monitor bone resorption. Deoxypyridinoline and pyridinoline are used in human medicine for diagnosis and evaluation of bone diseases and in predicting the occurrence of fractures and rates of bone loss. The carboxyterminal telopeptide of type I collagen, which has been used in several animal species, is also a promising bone marker.

This article reviews the use of different bone markers in veterinary medicine and the possibilities for diagnosing and preventing bone diseases.

**Key words:** bone resorption – bone formation – bone markers – calcium metabolism

## Einleitung

Der Knochen ist ein spezialisiertes Bindegewebe. Die Knochenmasse besteht zu einem Drittel aus

dem organischen, nicht mineralisierten Osteoid (= bindegewebiges Grundgerüst), das wiederum zu 90% aus Typ-I-Kollagen besteht (Branca, 1996), und zu zwei Dritteln aus dem anorganischen, mi-



neralisierten Anteil (Hydroxyapatit-Kristalle). Die Synthese des Typ-I-Kollagens findet in den Osteoblasten statt. Dabei entsteht als erstes das Prokollagen I, welches aus drei Polypeptidketten besteht, die durch Hydroxylierung des Prolins quervernetzt sind und so eine Tripelhelix bilden. Die beiden Enden werden als PINP (= N-terminales Propeptid des Prokollagen I) und PICP (= Carboxyterminales Propeptid des Prokollagen I) bezeichnet. Erst extrazellulär werden die zwei Enden abgetrennt, und die so entstandenen Tropokollagene können sich zusammenlagern. Diese werden durch verschiedene Enzyme modifiziert, und es bilden sich Quervernetzungen durch Deoxypyridinolin (entsteht aus Lysinresten) und Pyridinolin (entsteht aus Lysin- und Hydroxylisinresten). Bei der Kalziummobilisation aus dem Knochen wird auch die bindewebige Matrix abgebaut (Abb.1).

Knochen befindet sich in ständigem Umbau und weist einen sehr aktiven Stoffwechsel auf. Knochen wird durch die Osteoblasten aufgebaut und mittels Osteoklasten abgebaut. Beide Prozesse sind eng miteinander gekoppelt. Die Knochendichte und -masse sind vom Gleichgewicht zwischen Knochenresorption und Knochenbildung abhängig. Mittels invasiver Methoden wie z.B. Knochenbiopsien kann man nützliche Informationen über den Knochenumbau erhalten, aber es gibt einige limitierende Faktoren. Die histomorphometrischen Messungen geben keine dynamische Einsicht in den Knochenmetabolismus, sondern lassen lediglich eine zeitlich auf die Probenentnahme beschränkte Aussage zu und sind zeitaufwendig (Cosman et al., 1995; Demers, 1996; Withold, 1996). Um den Knochenabbau und -aufbau zu charakterisieren und zu messen, wurden bereits mehrere Knochenmarker beschrieben. Es gibt bis heute zwei verschiedene Gruppen: 1. die nichtkollagenen Knochenproteine (z. B. alkalische Phosphatase, Osteocalcin, Osteonectin, Tartrat-resistente saure Phosphatase) und 2. die kollagenen Knochenproteine (z. B. Hydroxyprolin, Deoxypyridinolin, carboxyterminales Telozeptid des Typ-I-Kollagens (ICTP), aminoterminal Telozeptid des Typ-I-Kollagens (INTP), Hydroxylisin) (Epstein, 1988; Demers, 1992). Die Nachteile dieser Knochenmarker sind: sie unterscheiden nicht zwischen a) korti-

kalem und spongiose Knochen, b) den Knochenabbauraten an verschiedenen Stellen des Skeletts, c) intakter und zerstörter Knochenstruktur und d) der Anzahl der knochenbauenden bzw. knochenabbauenden Zellen und deren metabolischen Aktivität (Withold, 1996).

Anhand biochemischer Knochenmarker lässt sich aber der Verlauf des Knochenstoffwechsels während einer bestimmten Zeitperiode verfolgen. Es wird zwischen Markern der Knochenresorption und Markern der Knochenbildung unterschieden. Da diese jedoch auch durch andere Faktoren als nur den Knochenstoffwechsel beeinflusst werden, muss bei der Interpretation dieser Marker auch auf die metabolischen Abbauprozesse (z.B. Clearance in Leber und Niere) oder Herkunft aus anderen bindegewebigen Strukturen geachtet werden.

### Biochemische Marker der Knochenbildung

Osteocalcin (OC, auch bone Gla-protein genannt) ist ein nichtkollagenes Knochenprotein, welches durch Osteoblasten während der Mineralisation der Matrix gebildet wird (Risteli und Risteli, 1993). Die Bildung wird von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D kontrolliert, bei Fehlen dieses Vitamins ist die Bildung des OC vernachlässigbar. Die posttranslationelle Modifikation dieses Proteins durch Carboxylierung ist Vitamin K-abhängig. Das extrazelluläre Protein besitzt nach Modifikation an drei Stellen die Aminosäure gamma-Carboxyglutaminsäure, welche Kalzium binden kann (Seibel et al., 1997b). Bei der Knochenbildung wird OC, welches nicht im Knochen gebunden, ins Blut freigesetzt (Price et al., 1981). In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass OC-Konzentrationen im Blut mit histomorphometrischen Parametern korrelieren (Brown et al., 1984; Delmas et al., 1985). Die genaue Funktion des OC ist noch weitgehend spekulativ. Zwei Hypothesen stehen im Vordergrund: Regulation und Förderung der Mineralisation durch Ablagerung von Kalziumphosphat oder Regulation der Osteoblasten-Reifung und des Knochenmetabolismus (Seibel et al., 1997b).

Alkalische Phosphatase (AP) ist ein Enzym, das sowohl von Zellen der Leber, der Nieren, des Darmtrakts, der Plazenta und des Knochens gebildet wird. Die Isoformen des Knochens und der Leber sind Produkte desselben Gens, unterscheiden sich aber in der posttranslationalen Glykosylierung, welche organspezifisch ist (Sanecki, 1990). Bei Hunden z. B. wurde festgestellt, dass sich die totale AP aus 3 Isoformen zusammensetzt: leberspezifische, knochenspezifische und intestinale Isoform (Syakalima et al., 1997). Die knochenspezifische AP

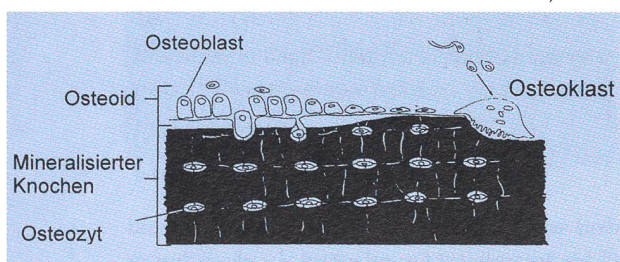


Abbildung 1: Topographische Beziehungen zwischen den Knochenzellen. (Wasserman et al., 1993)



(bAP) wird beim Menschen von den Osteoblasten synthetisiert und es wird vermutet, dass dieses Enzym am Mineralisationsprozess beteiligt ist (Seibel et al., 1997b).

Da das Osteoid des Knochens zu 90% aus Kollagen Typ I besteht, sind auch Produkte, welche während der Kollagensynthese entstehen, als biochemische Marker der Knochenbildung von entscheidender Bedeutung. Das Prokollagen besitzt im Gegensatz zum «reifen» Kollagenmolekül noch amino- und carboxyterminale Verlängerungspeptide, welche vor der Bildung von Kollagenfibrillen durch Endopeptidasen abgespalten werden. Diese Verlängerungspeptide werden als *carboxyterminales oder aminoterminals Propeptid des Typ-I-Prokollagens* (PICP oder PINP) bezeichnet (Trivedi et al., 1992; Smedsrod et al., 1990). Diese Peptide können mittels Radioimmunoassay (RIA) gemessen werden. Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass PICP als zuverlässiger Marker der Knochenbildung eingesetzt werden kann.

### Biochemische Marker der Knochenresorption

*Hydroxyprolin* (HYP) ist eine Aminosäure und entsteht durch posttranslationelle Modifikation aus Prolin. Der Prozess ist von Vitamin C abhängig. HYP wird in der Tripelhelixregion aller Kollagentypen und anderer Proteine gefunden. Beim Kollagenabbau wird HYP in freier oder gebundener Form in die Zirkulation abgegeben (Schönau und Rauch, 1997). Ca. 90 % des HYP wird in der Leber abgebaut, der Rest wird über die Nieren ausgeschieden (Calvo et al. 1996). HYP ist ein oft verwendeter Parameter, um den Abbau von Knochen nachzuweisen, weil es für die Kollagensynthese nicht wieder gebraucht wird (Prockop, 1964; Epstein, 1988).

Allerdings gibt es zahlreiche Einschränkungen: HYP wird schnell in der Leber oxidiert, so dass nur 10 % des tatsächlich katabolisch produzierten HYPs im Urin nachweisbar sind (Uebelhart et al., 1990; Branca, 1996; Calvo et al., 1996), und die Ausscheidungsmenge ist durch die Art der aufgenommenen Nahrung beeinflussbar. Bei vermehrter Aufnahme von Gelatine wird auch vermehrt HYP ausgeschieden (Branca, 1996). Obwohl der Knochen als Hauptquelle von HYP im Urin angesehen werden kann, gibt es dennoch zahlreiche andere Quellen, wie z. B. den Elastin- und Azetylcholinesterase-Metabolismus (Uebelhart et al., 1990; Randall et al., 1996). HYP erscheint im Urin bei extrazellulärem Kollagenabbau (Prockop und Kivirikko, 1967; van Mosel und Corlett, 1990). Im Urin sind 90% des HYP an Peptide gebunden. Deshalb muss der Ana-

lyse ein Hydrolyseschritt vorangehen (Black et al., 1988; Calvo et al., 1996). Interessanterweise stammt bei jungen Ratten 30–50% des ausgeschiedenen HYP aus dem Kollagenaufbau, während bei älteren Ratten das ausgeschiedene HYP nur aus Kollagenabbau stammt (Prockop, 1964; Lindstedt und Prockop, 1961). Ein steigender Abbau des Knochens widerspiegelt sich beim Menschen direkt in steigender Ausscheidung von HYP (Prockop und Kivirikko, 1967; Stépan et al., 1987). HYP korreliert beim Menschen allerdings nur schwach mit histomorphometrischen und kalziumkinetischen Messungen (Delmas, 1990) und korreliert nur dann mit spezifischeren Knochenmarkern, wenn die Knochenumsatzrate sehr hoch ist (Robins, 1982). Beim Menschen kann HYP dennoch ein nützlicher Nachweisparameter sein, wenn die Faktoren genau kontrolliert werden (James et al., 1996), die die HYP-Ausscheidung beeinflussen. Es sind dies vor allem Veränderungen in der Ernährung (gelatinereiche Ernährung erhöht die HYP-Ausscheidung), aber auch Lebererkrankungen können durch verminderte Oxidation in der Leber die Ausscheidung über die Nieren erhöhen (Prockop und Kivirikko, 1967). HYP ist somit ein Knochenmarker, der nicht nur Knochenabbau nachweist.

Die beiden Kollagen-Brückenproteine *Deoxyypyridinolin* (DPD) und *Pyridinolin* (PYD) entstehen bei der Kondensation von Lysin und Hydroxylysin während der extrazellulären Verknüpfung zwischen den Kollagenfibrillen. DPD ist knochenspezifischer als PYD, weil es beinahe ausschliesslich von Knochenkollagen stammt (Rosalki, 1998), während PYD in grösseren Mengen auch im Knorpel, in Sehnen und Bändern sowie im Narbengewebe und in Blutgefässwänden vorkommt (Robins, 1982). Beim Kollagenabbau gelangen diese Knochenmarker zu 40–50% in freier Form in die Blutzirkulation, während die restlichen 50–60% als Peptidbausteine zirkulieren (Schönau und Rauch, 1997). Beide Marker werden nicht im Körper metabolisiert, sondern über die Niere ausgeschieden. Nachdem Kollagen durch Osteoklasten abgebaut wird, werden die Brückenproteine ins Blut freigesetzt und über den Urin ausgeschieden (Hata und Miura, 1994). Es gibt eine enge Korrelation zwischen DPD-Ausscheidung im Urin und der Knochenresorptionsrate, welche durch radioisotopische (Eastell et al., 1990b; Ebeling et al., 1996) und histomorphologische Messungen (Delmas et al., 1991; Seibel et al., 1992a,b; Roux et al., 1995) bestätigt wurde.

Das *carboxyterminale Telozeptid des Typ-I-Kollagens* (ICTP) ist das Peptid, welches durch Hydroxyypyridinium-Brückenproteine verbunden ist. Diese Pyridinolinbrücken verbinden zwei Telozeptid-Regionen eines Kollagenmoleküls mit einem anderen



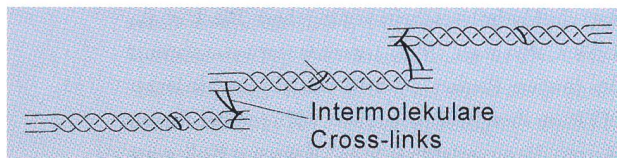


Abbildung 2: Kovalente intermolekulare Crosslinks zwischen den modifizierten Lysin-Seitenketten der Kollagenfibrillen. (Bruce et al., 1994)

Kollagenmolekül (Abb. 2). Beim Abbau von Typ-I-Kollagen wird ICTP in die Zirkulation freigesetzt, wo es im Serum nachgewiesen werden kann (Sharp et al., 1996; Charles, 1994).

Auch das aminoterminalen Telepeptid des Typ-I-Kollagens (NTX) eignet sich als Parameter zum Nachweis von Knochenresorption. Beim Abbau von Knochenmatrix wird dieses kleine Peptid freigesetzt und über den Urin ausgeschieden (Schneider et al., 1997).

## Anwendung der Knochenmarker in der Tiermedizin

Um die Knochenmarker in der Diagnostik (Tab. 1) einsetzen zu können, mussten zuerst die Referenz-

werte für gesunde Tiere unterschiedlichen Alters und die tageszeitlichen Schwankungen bestimmt werden. Ausserdem wurden die Knochenmarker auch eingesetzt, um fütterungsbedingte Knochenstoffwechselveränderungen bei Schwein (Carter et al., 1996; Nicodemo et al., 1998), Lamm (Scott et al., 1997) und Hund (Liesegang et al., 1999) frühzeitig nachzuweisen.

## Einsatz beim Schwein

Um den Knochenstoffwechsel zu überwachen, wurden zunächst Serum-Ca- und -P-Konzentrationen gewählt, welche jedoch nur schlechte Indikatoren für den Ca- und P-Status und die Knochenmineralisation sind (Koch und Mahan, 1986). Die AP korrelierte beim wachsenden Schwein mit der Knochenstärke (Boyd et al., 1983), dies war aber beim adulten Tier nicht mehr der Fall (Koch und Mahan, 1986). Carter et al. (1996) testeten OC als Indikator der Knochenbildung bei vier unterschiedlichen Ca- und P-Konzentrationen im Futter. Im Serum wurden die Ca-, P- und Mg-Konzentrationen, die AP, Vit. D und OC bestimmt. Die

Tabelle 1: Biochemische Marker des Knochenmetabolismus (nach Seibel et al., 1997a)

Marker	Herkunftsgewebe	Nachweismethode	Spezifität	Einsatz von Humantests
<b>I) Formation</b>				
<b>Totale alkalische Phosphatase (AP; TAP)</b>	Knochen, Leber Magen-Darm-Trakt, Nieren (Plazenta)	Kolorimetrie	Bei gesunden Menschen beträgt das Verhältnis der Isoenzyme von Leber und Knochen 1:1. Bei gesunden Hunden mittleren Alters beträgt das Verhältnis der Isoenzyme von Leber und Knochen 2:1 (Syakalima et al., 1997).	Hund, Schaf, Schwein, Kuh, Pferd
<b>knochenspezif. alkalische Phosphatase (bAP)</b>	Knochen	ELISA		Hund, Schaf, Ziege, Schwein, Kuh, Pferd
<b>Osteocalcin (OC)</b>	Knochen	RIA	Spezifisches Produkt der Osteoblasten.	Schwein, Schaf, Ziege, Kuh, Pferd
<b>II) Resorption</b>				
<b>Hydroxyprolin (HYP)</b>	Knochen Knorpel Weichteile Haut Blut	Kolorimetrie HPLC	Kommt in allen Kollagentypen, in Elastin und im Komplementfaktor C1q vor. Vorhanden in neugebildetem (unreifem) und reifem Kollagen.	Hund, Schwein, Schaf, Ziege, Kuh, Pferd
<b>Pyridinolin (PYD)</b>	Knochen Knorpel Sehnen Blutgefäße	HPLC ELISA RIA	Kollagen mit höchsten Konzentrationen in Knorpel und Knochen. Nur in reifen Kollagen vorhanden.	Hund, Schwein, Schaf, Ziege, Kuh, Pferd
<b>Deoxypyridinolin (DPD)</b>	Knochen Dentin	HPLC ELISA RIA	Kollagen mit höchsten Konzentrationen in Knochen. Nur in reifem Kollagen vorhanden.	Hund, Schwein, Schaf, Ziege, Kuh, Pferd
<b>Carboxyterminales Telepeptid des Typ-I-Kollagens (ICTP)</b>	Knochen	RIA	Kollagen Typ I, mit dem höchsten Beitrag aus dem Knochen.	Hund, Schwein, Pferd
<b>Aminoterminalen Telepeptid des Typ-I-Kollagens (NTX)</b>	Knochen	EIA	Kollagen Typ I, mit dem höchsten Beitrag aus dem Knochen.	Schwein, wahrscheinlich Hund



Resultate zeigten, dass OC und Vit. D3 besser zur Überwachung des Knochenstoffwechsels geeignet sind als die AP.

Aus der Studie von Pointillart et al. (1997) geht hervor, wie wichtig es ist, den Knochenstoffwechsel anhand mehrerer Marker zu überwachen. Wachsenden Schweinen wurden unterschiedliche Mengen von Ascorbinsäure (AS) verfüttert. Bei allen drei Gruppen waren sowohl die HYP- und DPD-Konzentrationen im Urin als auch die Ca-, P-, und PICP-Konzentrationen im Serum unverändert. Auch die Ca- und P-Gehalte im Knochen blieben in allen Gruppen unverändert. Die OC-Konzentrationen waren jedoch bei den Tieren, die mehr AS erhielten, signifikant erhöht. Als mögliche Erklärung dafür wurde angeführt, dass diese Werte nicht die gesteigerte Osteoblastentätigkeit widerspiegeln, sondern die AS eine isolierte Wirkung auf die OC-Synthese oder -Freisetzung durch die Osteoblasten ausübt.

Bollen et al. erarbeiteten 1997 eine neue Methode, um die tägliche Knochenresorption zu ermitteln. Dies erfolgte mit fünf wenige Monate alten Minipigs, welche einen Monat lang jeden zweiten Tag während 24 Stunden in einem Stoffwechselkäfig gehalten wurden. Auf diese Art wurden Urinproben gesammelt, in welchen NTX nachgewiesen wurde. NTX wird bei der Knochenresorption durch Osteoklasten freigesetzt. Die Skelettmasse wurde anhand der Formel von Elowsson und Carlsten (1997) ermittelt. Die Resultate zeigten, dass durchschnittlich alle 24 Stunden 1,4% der Skelettmasse resorbiert wurden.

Nicodemo et al. (1998) untersuchten die Effekte von verschiedenen Ca- und P-Konzentrationen im Futter auf den OC-Spiegel im Blut und den OC-Gehalt im Knochen sowie auf die Knochenmineralisation beim wachsenden Schwein. Es wurden drei verschiedene Rationen verfüttert, eine mit niedrigem, eine mit mittlerem und eine mit hohem Ca-Gehalt (45, 70 bzw. 100% der empfohlenen Menge). Das Ca:P-Verhältnis wurde konstant gehalten. Nach acht Wochen wurden die Tiere geschlachtet, Femur und Humerus entnommen sowie Blutproben gesammelt. Die Knochen wurden verascht und die OC-, Ca- und P-Gehalte bestimmt. Dieselben Parameter wurden im Blut gemessen. Die Plasma-P-Konzentrationen waren bei der Gruppe mit wenig Ca und P signifikant erniedrigt. Die Ca- und OC-Konzentrationen im Serum unterschieden sich aber nicht. In den Knochen der Gruppe mit wenig Ca und P waren die Gehalte an PYD und DPD erhöht. Die OC-Konzentrationen waren in allen Gruppen gleich. Die Resultate zeigten keinen direkten Zusammenhang zwischen OC und Mineralisationsgrad der Knochen. ICTP-Konzentrationen blieben beim

Schwein unbeeinflusst von Ovariektomie und Ca-Zufuhr (Scholz-Ahrens et al., 1996).

## Einsatz beim Hund

Um die Referenzwerte der Knochenmarker beim Hund zu ermitteln, setzten Allen et al. (1998) gesunde Beagle-Hunde im Alter zwischen fünf Monaten und sieben Jahren ein. Jede Gruppe umfasste gleich viel männliche wie weibliche Hunde. Es wurden die Knochenmarker OC, bAP, ICTP sowie PICP und PINP nachgewiesen. Wie erwartet waren die höchsten Werte aller Marker bei den unter zwölf Monate alten Hunden zu finden. Die OC- und ICTP-Konzentrationen sanken mit dem Alter und waren bei den über achtjährigen Tieren am niedrigsten. Die bAP erniedrigte sich ebenfalls mit zunehmendem Alter, stieg aber im Alter von acht Jahren wieder an. Mit altersabhängigen Veränderungen der Knochenmarker (OC und AP) beim gesunden Beagle beschäftigten sich auch Fukuda und Iida (1994). Sie beobachteten 90 Hunde (46 männliche, 44 weibliche) im Alter von 3, 6, 9, 12 und 24 Monaten. Im Serum wurden OC und AP nachgewiesen. Es bestanden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede, ausser bei der AP, die im Alter von zwölf Monaten bei den männlichen Tieren höher war. Sowohl die AP- als auch OC-Werte sanken von 3 bis 24 Monaten ab.

Beim Hund konnte gezeigt werden, dass die Aktivitäten der AP und der bAP wichtige prognostische Faktoren bei der Beurteilung von Osteosarkom-Erkrankungen darstellen (Ehrhart et al., 1998). Durch eine retrospektive Studie mit 75 an Osteosarkom erkrankten Hunden konnten Ehrhart et al. (1998) zeigen, dass die AP und die bAP als Indikatoren für die Prognose gebraucht werden können. Die mittlere Überlebenszeit für Hunde, die an einem Osteosarkom erkrankten und chirurgisch und chemotherapeutisch behandelt wurden, betrug 442 Tage und das mittlere krankheitsfreie Intervall lag bei 292 Tagen. Beide Werte korrelierten mit der Aktivität der präoperativ gemessenen AP und bAP. Präoperative AP-Aktivität > 110 U/L waren mit einer kürzeren Überlebenszeit assoziiert. Hunde mit einer AP-Aktivitäten < 100 U/L hatten eine mittlere Überlebenszeit von 495 Tagen, während Tiere mit Werten über 110 U/L nur eine mittlere Überlebenszeit von 177 Tagen erreichten. Dasselbe Ergebnis zeigte sich bei den mittleren krankheitsfreien Intervallen. Hunde mit AP-Aktivität von > 110 U/L hatten ein mittleres krankheitsfreies Intervall von 170 Tagen, während es bei Tieren mit AP-Aktivitäten < 110 U/L bei 366 Tagen lag. Auch die Aktivität der präoperativ bestimmten bAP war mit der Überlebenszeit und dem krankheitsfreien



Intervall assoziiert. Die bAP wurde auch postoperativ bestimmt. Die Tiere, bei denen sie während der ersten 40 Tage abnahm, hatten eine längere Überlebenszeit als Hunde, bei denen die Aktivität nach der Operation wieder zunahm. Die Aktivitäten der AP und der bAP stellen wichtige prognostische Faktoren bei der Beurteilung einer Osteosarkom-Erkrankung beim Hund dar.

OC-Konzentrationen wurden für die Diagnostik von Osteoarthritis, rheumatoider Arthritis, Ruptur und Überdehnung des vorderen Kreuzbandes (Arican et al., 1996) im Serum getestet. Die Ergebnisse zeigten signifikant erhöhte OC-Werte im Serum der Hunde mit den oben erwähnten Krankheiten. Die Autoren begründeten die erhöhten OC-Konzentrationen bei den erwähnten Gelenkserkrankungen mit einem vermehrten Knochenumbau und -aufbau bei der Osteophytenbildung. Auch Nap (1994) zeigte, dass OC ein vielversprechender Parameter bei der Verfolgung des Knochenmetabolismus nach Osteotomie und während der Knochenheilung ist. Giannobile et al. (1994) testeten OC und ICTP als Vorhersagemarker für Alveolarknochenabbau. Dazu dienten ihnen zwei Beaglehunde, denen durch Seidenligaturen in den Sulci der einen Kieferseite künstlich eine Periodontitis zugefügt wurde. Die andere Seite diente als Kontrolle (36 Testzahnflächen, 36 Kontrollzahnflächen). Der Versuch dauerte sechs Monate. In zweiwöchigen Intervallen wurden in der Sulkusflüssigkeit OC- und ICTP-Konzentrationen gemessen. Bei der künstlich induzierten Periodontitis stiegen die OC- und ICTP-Werte bereits vier Wochen vor dem röntgenologischen Nachweis an.

Der Versuch von Hanssen et al. (1998), ICTP, OC, DPD und den insulinähnlichen Wachstumsfaktori als Indikatoren für zwergwüchsige Irish Setter zu nutzen, misslang. Es wurden dazu zwei Paarungen durchgeführt: zwergwüchsige Hündin  $\times$  normalwüchsiger Rüde (der zuvor mit einer normalwüchsigen Hündin zwergwüchsige Welpen hatte); zwergwüchsige Hündin  $\times$  zwergwüchsiger Rüde. Die Welpen wurden regelmässig gewogen, vermessen und eine Röntgenuntersuchung durchgeführt. Blut- und Harnproben wurden entnommen. Die Knochenmarker-Konzentrationen unterschieden sich bei den zwergwüchsigen Welpen nicht von den normalwüchsigen.

Liesegang et al. (1999a) untersuchten die tageszeitlichen Schwankungen der Knochenmarkerkonzentrationen. Dafür verwendeten sie ovariektomierte Beagle-Hündinnen im Alter von drei bis vier Jahren. Blut- und Urinproben wurden am Morgen vor der Fütterung und anschliessend alle zwei Stunden während 24 Stunden gesammelt. HYP, PYD, DPD, ICTP und OC wurden gemessen. HYP stieg bis acht Stunden nach der Fütterung

signifikant an und sank anschliessend wieder auf Werte wie vor der Fütterung. Die DPD- und PYD-Konzentrationen sanken vor der Fütterung bis 14.00 h und stiegen bis 20.00 h wieder an. Die gemessenen ICTP-Werte nahmen bis 16.00 h ab und stiegen danach wieder auf Werte wie vor der Fütterung an. Im Verlaufe des Tages sanken die OC-Konzentrationen und erreichten später wieder Werte wie vor der Fütterung. Für die Anwendung der Knochenmarker in der Klinik bedeutet dies, dass die Blut- und Harnentnahme am nüchternen Tier erfolgen sollte sowie jeweils zur selben Tageszeit. In einer nachfolgenden Arbeit beschäftigten sich Liesegang et al. (1999b) mit der Frage, welchen Einfluss Rationen mit variierendem Kalzium- und Energiegehalt auf den Knochenstoffwechsel und somit auf die Knochenmarker haben. Zehn gesunde kastrierte Beagle-Hündinnen wurden in vier Gruppen unterteilt. Es wurden eine Ca-arme (LCa), eine Ca-reiche (HCa), eine energiereiche (E) Ration und ein Kontrollfutter (N) verabreicht. In den Urinproben wurden HYP, DPD und PYD nachgewiesen, ICTP, OC, AP wurden im Serum gemessen. Die mittleren HYP-, DPD- und PYD-Konzentrationen zeigten keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Die mittleren ICTP-Konzentrationen waren nicht signifikant erniedrigt. Die mittlere OC-Konzentrationen und AP-Aktivitäten waren in der LCa-Gruppe gegenüber der N-Gruppe signifikant erniedrigt. Zusammenfassend wurde daraus geschlossen, dass die verschiedenen Fütterungsarten nur einen geringen Einfluss auf den Knochenmetabolismus hatten. Einzig die Knochenbildung war bei der LCa-Gruppe signifikant erniedrigt. Die kurzen Fütterungsperioden wurden als mögliche Erklärung angegeben, weshalb keine signifikanten Einflüsse auf den Knochenstoffwechsel nachgewiesen werden konnte. Phillipov et al. (1995) zeigten in ihrer Studie, dass bei experimentell induzierter Osteomyelitis die Knochenmarker bAP, OC und ICTP signifikant erhöht waren. Sie schlossen daraus, dass man diese Marker auch zur frühen Diagnose von postoperativer posttraumatischer Osteomyelitis einsetzen könnte.

## Einsatz bei der Katze

Der Effekt eines Hyperthyreoidismus bei Katzen auf Metaboliten des Knochenstoffwechsels konnte in der Studie von Archer und Taylor (1996) gezeigt werden. Als Indikatoren der Knochenbildung verwendeten sie OC und bAP. Dabei zeigten alle hyperthyreoten Katzen einen erhöhten bAP-Serumspiegel, während OC nur bei 44% der Tiere erhöht war. Hyperthyreote Katzen zeigen einen ver-



änderten Knochenmetabolismus. Dieser ist aber normalerweise klinisch unauffällig. Der erhöhte Knochenmetabolismus ist auf die direkte Wirkung von  $T_3$  und  $T_4$  auf die Knochenresorption durch Osteoklasten sowie auf die Knochenbildung durch die Osteoblasten zurückzuführen.

## Einsatz beim Pferd

Um den Knochenmarker OC klinisch nutzen zu können, untersuchten Lepage et al. (1991) die tageszeitlichen Schwankungen dieses Parameters. Neun gesunden Warmblutpferden im Alter zwischen 2 und 17 Jahren wurden stündlich Blutproben während einer Zeitspanne von 24 Stunden entnommen. OC zeigte einen biphasischen Verlauf. Die Werte waren während des Tages konstant und zeigten in der Nacht signifikante Schwankungen. Der Tiefpunkt wurde um 20.00 h erreicht, das Maximum um 05.00 h. Daraus wurde geschlossen, die Proben während des Tages zu entnehmen.

Eine Studie über den Verlauf von OC und AP bei 50 gesunden Warmblutstuten im Alter von vier Monaten bis 20 Jahren (Lepage et al., 1990) zeigte, dass die OC-Konzentration mit dem Alter abnimmt. Dies wurde als signifikante Verlangsamung der Knochenbildung interpretiert. Die Tiere wurden in drei Gruppen unterteilt: Gruppe 1 umfasste acht Fohlen jünger als ein Jahr, Gruppe 2 bestand aus neun Fohlen im Alter zwischen 1,5 bis 2,5 Jahren und Gruppe 3 enthielt 33 Pferde im Alter zwischen 3,5 und 20 Jahren. Zwischen der Gruppe 1 und der Gruppe 2 bestand kein signifikanter Unterschied, aber beide Gruppen hatten gegenüber der Gruppe 3 signifikant erhöhte OC-Werte. Die AP sank ebenfalls mit dem Alter vor allem im ersten Lebensjahr. Die Werte der ersten Gruppe waren signifikant höher gegenüber den anderen beiden Gruppen. Auch Chiappe et al. (1999) untersuchten den Einfluss von Alter und Geschlecht auf die OC-Konzentrationen bei Vollblutpferden. Sie zeigten, dass sich OC-Konzentrationen zwischen männlichen und weiblichen Tieren erst nach der Geschlechtsreife signifikant unterscheiden und konnten auch nachweisen, dass OC-Konzentrationen mit steigendem Alter abnehmen.

Lepage et al. (1997) untersuchten die Variabilität von OC-Konzentrationen bei verschiedenen Pferderassen. Die erste Gruppe umfasste Rassen vom Kaltbluttyp (Freiberger, Ardenner), die zweite Gruppe Rassen vom Warmbluttyp (Schweizer und Belgisches Warmblut). Alle Tiere einer Rasse absolvierten während des Versuchs ein bestimmtes Training. Die Freiberger wurden zwei Wochen vor Versuchsbeginn eine Stunde pro Tag trainiert, die Schweizer und Belgischen Warmblüter während

des Versuchs täglich eine Stunde bewegt. Die Ardenner verbrachten vier Monate auf der Weide. Die Kaltblutpferde hatten signifikant niedrigere OC-Werte als die Warmblutpferde. Auch variierten die Werte in der Gruppe 1 weniger stark. Die Autoren vermuteten ein eventuelles morphologisches und physiologisches Charakteristikum dieses Pferdetyps in einer niedrigeren Knochenumbaurate. Unterschiedliche Trainingsintensität beeinflusste ebenfalls die OC-Werte. Dies würde die Unterschiede zwischen den Warm- und Kaltblütern erklären, doch hätten ebenfalls unterschiedliche Werte zwischen den Ardennern und den Freibergern bestehen müssen. Als möglicher Grund für den fehlenden Unterschied der OC-Werte zwischen diesen beiden Rassen wurde angegeben, dass OC erst eine gewisse Zeit (mehr als zwei Wochen) nach erfolgreichem Training ansteigen würde. Nielsen et al. (1998) untersuchten den Effekt vom Trainingsbeginn bei jungen Rennpferden auf den Knochenstoffwechsel. Sie konnten verminderte OC-Konzentrationen bis zu 42 Tagen nach Trainingsbeginn messen, danach wieder einen deutlichen Anstieg der OC-Konzentrationen bis 112 Tage nach Trainingsbeginn zeigen. In einer weiteren Untersuchung beschrieben Lepage et al. (1998) den Verlauf von OC und ICTP bei hundert gesunden Pferden. Auch hier wurden die Tiere in eine Gruppe mit Warmblütern und eine mit Kaltblütern eingeteilt. Die Resultate zeigten, dass sowohl OC als auch ICTP altersabhängig sind. Das Geschlecht hatte bei beiden Markern keinen Einfluss. Die OC-Werte waren bei den Kaltblutpferden signifikant niedriger als bei den Warmblutpferden. Hingegen waren die ICTP-Werte bei den Kaltblütern signifikant erhöht. Für die bessere Beurteilung des Knochenmetabolismus wurde das Verhältnis von OC:ICTP berechnet. Dies scheint ein besserer Indikator für subklinische pathologische Vorgänge zu sein, da das Verhältnis unabhängig vom Alter und Geschlecht ist. Das Verhältnis war in Warmblutpferden höher, was auf eine positive Knochenremodellierung schliessen liess. Dies wurde mit der Adaption des Skeletts an die vermehrte tägliche Arbeit erklärt. Zusammenfassend lässt sich beim Einsatz für die Pferde Folgendes sagen: Das Interesse für den Einsatz solcher Knochenmarker ist gross, da der Einsatz einfach und nicht invasiv ist. Es existieren aber noch keine pferdespezifischen Tests mit standardisierter Auswertung (Price, 1998).

## Einsatz beim Wiederkäuer

Im Gegensatz zum Hund und Pferd konnten beim Rind keine tageszeitlichen Schwankungen der DPD- und HYP-Werte festgestellt werden (Liesegang, 1997).



Mit der Arbeit über die Bestimmung von Knochenmarkern bei Milchkühen, die an Gebärpapese erkrankt waren, konnten Liesegang et al. (1998a, b) zeigen, dass die Ursache für die Erkrankung an Gebärpapese nicht eine verminderte Kalziummobilisation aus dem Knochen ist, sondern dass eine mangelhafte Kalziumresorption im Darm stattfindet. In dieser Studie wurden 18 festliegenden und 19 gesunden Kühen mit normal verlaufender Geburt Blut und Harn entnommen. HYP, DPD und ICTP sowie die Ca-, P- und Mg-Blutkonzentrationen wurden bestimmt. Die DPD- und die ICTP-Konzentrationen stiegen bei beiden Versuchsgruppen bis neun Tage nach der Geburt an, wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen den zwei Gruppen festgestellt werden konnten. Das bedeutet, dass die festliegenden Kühe im Zeitraum der Geburt einen ähnlichen Anstieg der Knochenresorptionsmarker zeigten, wie die gesunden Tiere. In einer weiterführenden Untersuchung (Liesegang et al., 1999c) konnte bei gesunden Kühen gezeigt werden, dass die OC-Konzentrationen im Serum nach der Geburt signifikant erniedrigt sind. In einer anderen Studie (Davico et al., 1990) erwies sich OC als vielversprechender Marker der Knochenbildung bei Kühen.

HYP bewährte sich als guter Indikator der Knochenresorption, wobei der Effekt der postpartalen Involution des Uterus auf die HYP-Ausscheidung im Urin nicht berücksichtigt wurde (van Mosel und Corlett, 1990).

Scott et al. (1993) untersuchten den Zusammenhang zwischen DPD-, PYD- und OC-Konzentrationen und den Längenveränderungen des Metatarsus von wachsenden Lämmern. Die Tiere wurden im Alter von 1 bis 22 Wochen gewogen und wöchentlich am Metatarsus Röntgenuntersuchungen durchgeführt. In regelmässigen Intervallen wurden Urin und Blut gesammelt. Die OC-Werte korrelierten während zwölf Wochen mit der Knochenwachstumsrate. Keine Korrelation bestand zwischen der PYD- und DPD- Ausscheidung und dem linearen Knochenwachstum. Hingegen konnte eine Korrelation zwischen der PYD- und DPD-Ausscheidung und der Wachstumshormonkonzentration sowie der Gewichtsentwicklung gezeigt werden. Im Anschluss an diese Studie untersuchten Scott et al. (1994) den Einfluss einer P-armen Fütterung auf die Knochenresorption und -formation. Die Knochenresorption wurde durch die Fütterung nicht beeinflusst, die Knochenbildung war dagegen signifikant erniedrigt.

Dass sich Knochenmarker gut für die Diagnose von fütterungsbedingten Knochenstoffwechselstörungen bei Lämmern eignen, bewies die Studie von Scott et al. (1997). Sie fütterten wachsende Tiere mit vier verschiedenen Rationen: die erste mit nie-

drigem Stickstoff- und P-Gehalt (LNLP), die zweite mit niedrigem Stickstoff- und hohem P-Gehalt (LNHP), die dritte enthielt viel Stickstoff und wenig P (HNLP) und die vierte enthielt viel Stickstoff und P (HNHP). Bei den Lämmern, die beide Rationen mit wenig Phosphor (HNLP; LNLP) erhielten, war das OC erniedrigt und die bAP war erhöht. Ausserdem waren diese Tiere bei der Schlachtung leichter und auch die Mineralisation und das Knochengewicht waren verringert. Die Reduktion des Futterstickstoffgehaltes schien keinen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel zu haben. Auch Corlett und Care (1988) konnten nach P-armen Fütterung erniedrigte OC-Konzentrationen feststellen.

## Schlussfolgerungen

Die verschiedenen Knochenmarker werden bisher in der Veterinärmedizin aus verschiedenen Gründen nicht routinemässig eingesetzt. Zum einem sind die Nachweismethoden sehr teuer und zum anderen sind viele Knochenmarker speziespezifisch und kommerziell nicht erhältlich. Dennoch sollten die diagnostischen Möglichkeiten, welche mittels dieser Parameter zur Verfügung stehen, nicht unterschätzt werden. Der Einsatz der verschiedenen biochemischen Knochenmarker in der Forschung sollte weiterhin gefördert werden, sodass diese in der Zukunft allen TierärztInnen als diagnostisches Mittel zur Verfügung stehen können. Die einzelnen Nachweismethoden müssen jedoch standardisiert und die Normalwerte für die verschiedenen Spezies und Altersklassen etabliert werden. Erst dann können diese Parameter sinnvoll interpretiert werden.

## Literatur

- Allen M. J., Hoffmann W. E., Richardson D. C., Breur G. J.: Serum markers of bone metabolism in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1998, 59, 250–254.
- Archer F. J., Taylor S. M.: Alkaline phosphatase bone isoenzyme and osteocalcin in the serum of hyperthyroid cats. *Can. Vet. J.* 1996, 37, 735–739.
- Arican M., Carter S. D., Bennett D.: Osteocalcin in canine joint diseases. *Br. Vet. J.* 1996, 152, 411.
- Aurbach G. D., Marx S. J., Spiegel A. M.: Mineral metabolism. Parathyroid Hormone, Calcitonin, and the Calciferols. In: *Williams Textbook of Endocrinology*. Eds. Wilson J. D., Foster D. W., W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1992, 1397–1517.
- Black D., Duncan A., Robins S. P.: Quantitative analysis of the pyridinium cross-links of collagen in urine using ion-paired reversed phase high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.* 1988, 169, 197–203.
- Bollen A.-M., McCulloch K. J., Herring S. W.: Whole body bone resorption in the growing pig. *Growth, Development & Aging* 1997, 61, 181–189.



### Utilisation des marqueurs du métabolisme osseux en médecine vétérinaire

Le remodelage osseux et objectif in vivo chez l'homme et chez plusieurs espèces animales à l'aide de plusieurs enzymes et protéines qui sont synthétisées par les ostéoblastes et les ostéoclastes au cours de la formation et de la résorption osseuse. Le développement de techniques pour la détermination de plusieurs marqueurs osseux est d'un intérêt primordial puisque ces marqueurs peuvent d'une manière non invasive et en suivi rendre compte du métabolisme osseux. Les marqueurs biochimiques de la formation osseuse qui sont aujourd'hui couramment utilisés sont: la phosphatase alcaline spécifique pour l'os, l'ostéocalcine et plusieurs peptides qui proviennent du terminus N ou C du procollagène de type I. Les marqueurs spécifiques de la résorption osseuses sont des produits de dégradation du collagène de type I. La détermination de la concentration de l'hydroxyproline dans l'urine est une technique connue depuis longtemps. Cette détermination n'est cependant pas spécifique pour l'os puisque l'hydroxyproline est présente dans tous les tissus et dans la nourriture. Afin de suivre la résorption osseuse, la détermination des anneaux de liaison des protéines de collagène, déoxypyridinoline et pyridinoline, sont plus appropriés. La deoxypridinoline et la pyridinoline sont employés en médecine humaine pour le diagnostic de plusieurs maladies osseuses et pour la prédiction des risques de fractures et de la perte de la masse osseuse à un âge avancé. Aussi le télopeptide carboxyterminal du collagène de type I (ICTP) est un marqueur prometteur qui pourra être utilisé chez plusieurs espèces animales. Ce travail donne un aperçu sur l'emploi de plusieurs marqueurs du métabolisme osseux en médecine vétérinaire et des possibilités de diagnostic et de prophylaxie de maladies osseuses.

### Impiego di marker delle ossa nella medicina veterinaria

Nell'uomo e in diversi animali il processo di trasformazione delle ossa viene oggettivato in vivo tramite diversi enzimi et altre proteine formate da osteoblasti ed osteoclasti durante la formazione e la decomposizione delle ossa. Lo sviluppo di metodi di misurazione di diversi marker delle ossa è interessante perché i marker rendono possibile il controllo del metabolismo delle ossa in maniera non invasiva ed a lungo termine. I marker biochimici della formazione delle ossa attualmente spesso utilizzati sono: la fosfatasi alcalina specifica per le ossa, l'osteocalcina e diversi propeptidi, i quali derivano dal terminale N o C del procollagene di tipo I. I marker per l'osteolisi sono i prodotti della decomposizione del collagene di tipo I. La determinazione della concentrazione di idrossiprolina nell'urina è il metodo di misurazione di questi prodotti di decomposizione conosciuto da più tempo, viene però considerato non specifico per le ossa perché è presente in tutti i tipi di collagene e negli alimenti. Per osservare l'osteolisi è più adatta la misurazione delle proteine-ponte di collagene e della desossi-piridinolina e della piridinolina. Nella medicina umana oggi giorno la desossi-piridinolina e la piridinolina vengono impiegate per diagnosi di diverse malattie delle ossa e per la previsione del rischio di fratture e della perdita di tessuto osseo in vecchiaia. Anche il carbossi-terminale telopeptide del collagene di tipo I (ICTP) è un marker molto promettente che viene già utilizzato in diversi animali. L'articolo fornisce una visione d'insieme sull'impiego di diversi marker delle ossa nella medicina veterinaria e di conseguenza sulle possibilità esistenti per la diagnosi e la profilassi delle malattie delle ossa.

Boyd R. D., Hall D., Wu J. F.: Plasma alkaline phosphatase as a criterion for determining biological availability of phosphorus for swine. *J. Anim. Sci.* 1983, 57, 396.

Branca F.: Biochemical markers of skeletal growth in children. In: *Nutrition in pregnancy and growth*. Eds. M. Porcini, P. Walter. *Bibl. Nutr. Dieta*, 1996, 53, 90–102.

Brown J. P., Delmas P. D., Malaval L., Edouard M. C., Chapuy M. C., Meunier P. J.: Serum bone gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 8386, 1984, 1091–1093. *Lancet* 1 (8386).

Bruce A., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. D.: Cell Junctions, Cell Adhesions, and the Extracellular Matrix. In: *Molecular biology of the cell*, Eds. R. Adams, M. Robertson. Garland Publishing, New York, 1994, 978–1193.

Calvo M. S., Eyre D. R., Gundberg C. M.: Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endocr. Rev.* 1996, 17, 333–368.

Carter S. D., Cromwell G. L., Combs T. R., Colombo G., Fanti P.: The determination of serum concentrations of osteocalcin in growing pigs and its relationship to endmeasures of bone mineralisation. *J. Anim. Sci.* 1996, 74, 2719–2729.

Charles P., Mosekilde L., Risteli L., Risteli J., Eriksen E. F.: Assessment of bone remodeling using biochemical indicators of type I collagen synthesis and degradation: relation to calcium kinetics. *Bone and Miner.* 1994, 24, 81–94.

Chiappe A., Gonzalez G., Fradinger E., Iorio G., Ferretti J. L., Zanchetta J.: Influence of age and sex in serum osteocalcin levels in thoroughbred horses. *Arch. Physiol. Biochem.* 1999, 107, 50–54.



- Corlett S. C., Care A. D.: The effects of reduced dietary phosphate intake on plasma osteocalcin levels in sheep. *Quart. J. Exp. Physiol.* 1988, 73, 443–445.
- Cosman F., Nieves J., Wilkinson C., Schnering D., Shen V., Lindsay R.: Bone density change and biochemical indices of skeletal turnover. *Calcif. Tissue Int.* 1995, 58, 236–243.
- Davico M.-J., Coxam V., Roux R., Barlet J.-P.: Plasma osteocalcin concentrations in cattle under various pathophysiological conditions. *Bone and Miner.* 1990, 10, 131–137.
- Delmas P. D.: Clinical use of biochemical markers of bone remodelling in osteoporosis. In: *Osteoporosis 1990*. Eds. C. Christiansen, K. Overgaard, Osteopress ApS, Copenhagen, 1990, 450–458.
- Delmas P. D., Malaval L., Arlot M. E., Meunier P. J.: Serum bone Gla-protein compared to histomorphometry in endocrine diseases. *Bone* 1985, 6, 339–341.
- Delmas P. D., Schlemmer A., Gineyts E., Riis B., Christiansen C.: Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac biopsy in patients with vertebral osteoporosis. *J. Bone Miner. Res.* 1991, 6, 639–644.
- Demers L. M.: New biochemical marker for bone disease: Is it a breakthrough? *Clin. Chem.* 1992, 38, 1269–1270.
- Demers L. M.: Clinical usefulness of markers of bone degradation and formation. 6th Bergmeyer Conference, Biochemical markers for bone diseases – Current status and future trends. Tutzing, Germany, 25–27 November, 1–17, 1996.
- Eastell R., Hampton L., Colwell A.: Urinary collagen crosslinks are highly correlated with radioisotopic measurements of bone resorption. In: *Osteoporosis 1990*. Eds. C. Christiansen, K. Overgaard, Osteopress ApS, Copenhagen, 1990, 469–470.
- Ebeling P. R., Atley L. M., Guthrie J. R., Burger H. G., Dennerstein L., Hopper J. L., Wark J. D.: Bone turnover markers and bone density across the menopausal transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996, 81, 3366–3371.
- Elowsson P., Carlsten J.: Body composition of the 12-week-old pig studied by dissection. *Lab. Anim. Sci.* 1997, 47, 200–202.
- Epstein S.: Serum and urinary markers of bone remodeling: Assessment of bone turnover. *Endocr. Rev.* 1988, 9, 437–449.
- Ehrhart N., Dernel W. S., Hoffmann W. E., Weigel R. M., Powers B. E., Withrow S. J.: Prognostic importance of alkaline phosphatase activity in serum from dogs with appendicular osteosarcoma: 75 cases (1990–1996). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1998, 213, 1002–1006.
- Fukuda S., Iida H.: Changes in histomorphometric values of iliac trabecular bone and serum biochemical constituents related to bone metabolism in Beagle dogs during growth. *Exp. Anim.* 1994, 43, 159–165.
- Giannobile W. V., Lynch S. E., Denmark R. G.: Crevicular fluid osteocalcin and pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) as markers of rapid bone turnover in periodontitis. *J. Clin. Periodont.* 1995, 22, 903–910.
- Hanssen I., Falck G., Grammetveldt A. T., Haug E., Isaksen C. V.: Hypochondroplastic dwarfism in the Irish setter. *J. Small Anim. Pract.* 1998, 39, 10–14.
- Hata K., Miura M.: Evaluation of an immunoassay method for the determination of urinary collagen crosslink excretion. *Ann. Clin. Biochem.* 1994, 31, 374–375.
- James I. T., Walne A. J., Perett D.: The measurement of pyridinium crosslinks: a methodological overview. *Ann. Clin. Biochem.* 1996, 33, 397–420.
- Koch M. E., Mahan D. C.: Biological characteristics for assessing low phosphorus intake in finishing swine. *J. Anim. Sci.* 1986, 62, 163.
- Lepage O. M., Des Coteaux L., Marcoux M., Tremblay A.: Circadian rhythms of osteocalcin in equine serum. Correlation with alkaline phosphatase, calcium, phosphate and total protein levels. *Can. J. Vet. Res.* 1991, 55, 5–10.
- Lepage O. M., Eicher R., Uebelhart B., Tschudi P.: Influence of type and breed of horse on serum osteocalcin concentration, and evaluation of the applicability of a bovine radioimmunoassay and a human immunoradiometric assay to measure the hormone. *Am. J. Vet. Res.* 1997, 58, 574.
- Lepage O. M., Hartmann D. J., Eicher R., Uebelhart B., Tschudi P., Uebelhart D.: Biochemical markers of bone metabolism in draught and warmblood horses. *Vet. J.* 1998, 156, 169–175.
- Lepage O. M., Marcoux M., Tremblay A.: Serum Osteocalcin or Bone Gla-protein, a biochemical marker for bone metabolism in horses: differences in serum levels with age. *Am. J. Vet. Res.* 1990, 54, 223–226.
- Liesegang A.: Deoxypyridinolin im Harn und carboxyterminales Telopeptid des Typ I Kollagens (ICTP) im Serum im Vergleich zu Hydroxyprolin im Harn als Knochenmarker bei der Hypokalzämie der Milchkuh. 1997, Diss. Zürich.
- Liesegang A., Eicher R., Kraenzlin M., Rüsch P., Wanner M., Riond J.-L.: Bestimmung von Knochenmarkern bei Milchkühen mit Gebärpause. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1998a, 140, 405–411.
- Liesegang A., Reutter R., Sassi M.-L., Risteli J., Kraenzlin M., Riond J.-L., Wanner M.: Diurnal variation in concentration of various markers of bone metabolism in beagle dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1999a, 60, 8, 949–953.
- Liesegang A., Sassi M.-L., Risteli J., Eicher R., Wanner M., Riond J.-L.: Comparison of bone resorption markers during hypocalcemia in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1998b, 81, 2614–2622.
- Liesegang A., Sassi M.-L., Risteli J., Kraenzlin M., Riond J.-L., Wanner M.: Influence in low calcium, high calcium and energy-rich diets on bone markers in ovariectomized Beagle dogs. *J. Anim. Phys. Anim. Nutr.* 1999b, 81, 223–231.
- Liesegang A., Sassi M.-L., Risteli J., Kraenzlin M., Riond J.-L., Wanner M.: Markers of bone formation and resorption during lactation in dairy cows. In: *Calcium Metabolism: Comparative Endocrinology*, BioScientifica Ltd., Bristol, 1999c, 165–168.
- Lindstedt S., Prockop D. J.: Isotopic studies on urinary hydroxyproline as evidence for rapidly catabolized forms of collagen in the young rat. *J. Biol. Chem.* 1961, 236, 1399–1403.
- Nap R.: Osteocalcin: a biochemical marker for bone turnover in the dog. *Proc. ECVS meeting*, Riccione, 1994, 27–28.
- Nicodemo M. L. F., Scott D., Buchan W., Duncan A., Robins S. P.: Effects of variations in dietary calcium and phosphorus supply on plasma and bone osteocalcin concentrations and bone mineralization in growing pigs. *Exp. Physiol.* 1998, 83, 659–665.
- Nielsen B. D., Potter G. D., Green L. W., Morris E. L., Murray-Gerzik M., Smith W. B., Martin M. T.: Characterization of changes related to mineral balance and bone metabolism in the young racing quarter horse. *J. Equin. Vet. Sci.* 1998, 18, 190–200.
- Pointillart A., Denis I., Colin C., Lacroix H.: Vitamin C supplementation does not modify bone mineral content or mineral absorption in growing pigs. *J. Nutr.* 1997, 127, 1514–1518.
- Phillipov J. P., Pascalev M. D., Aminikov B. Y., Grosev C. D.: Changes in serum carboxyterminal telopeptid of type I collagen in an experimental model of canine osteomyelitis. *Calcif. Tissue Int.* 1994, 57, 152–154.
- Price J. S.: Biochemical markers of bone metabolism in horses: potentials and limitation? *Vet. J.* 1998, 156, 163–165.
- Price P. A., Williamson M. K., Lothinger J. W.: Origin of vitamin K-dependent bone protein found in plasma and its clea-



rance by kidney and bone. *J. Biol. Chem.* 1981, 256, 12760–12766.

Prockop D.J.: Isotopic studies on collagen degradation and the urine excretion of hydroxyproline. *J. Clin. Invest.* 1964, 43, 453–460.

Prockop D.J., Kivirikko K. I.: Relationship of hydroxyproline excretion in urine to collagen metabolism. *Ann. Intern. Med.* 1967, 66, 1243–1265.

Randall A. G., Kent G. N., Garcia-Webb P., Bhagat C. I., Pearce D.J., Gutteridge D.H., Prince R. L., Stewart G., Stuckley B., Will R. K., Retallack R.W., Price R. I., Ward L.: Comparison of biochemical markers of bone turnover in Paget disease treated with pamidronate and a proposed model for the relationships between measurements of the different forms of pyridinoline cross-links. *J. Bone Miner. Res.* 1996, 11, 1176–1184.

Risteli L., Risteli J.: Biochemical markers of bone metabolism. *Ann. Med.* 1993, 25, 385–393.

Robins S. P.: Turnover and crosslinking of collagen. In: Weiss J. B., Jayson M. I. V. (eds.), *Collagen in health and disease*, Edinburgh, Churchill-Livingstone, 1982, 160–178.

Rosalki S. B.: Biochemical markers of bone turnover. *Biochem. Invest.* 1998, 52, 255–256.

Roux J. P., Arlot M. E., Gineys E., Meunier P.J., Delmas P. D.: Automated interactive measurement of resorption cavities in transiliac bone biopsies and correlation with deoxypyridinoline. *Bone* 1995, 17, 153–156.

Sanecki R. K., Hoffmann W. E., Dorner J. L.: Purification and comparison of corticosteroid-induced and intestinal isoenzymes of alkaline phosphatase in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1990, 51, 1964.

Schneider D. L., Barrett-Connor E.L.: Urinary N-telopeptide levels discriminate normal, osteopenic, and osteoporotic bone mineral density. *Arch. Intern. Med.* 1997, 157, 1241–1245.

Scholz-Ahrens K. E., Barth C. E., Drescher K., Goralczyk R., Rambeck W. A., Wirner M., Schrezenmeier J.: Modulation von Knochenmarkern in Plasma und Harn durch Nahrungscalcium beim ovariektomierten Göttinger Miniaturschwein. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 1996, 5, 77.

Schönau E., Rauch F.: Markers of bone and collagen metabolism – Problems and perspectives in paediatrics. *Horm. Res.* 48 (suppl. 5), 1997, 50–59.

Scott D., Abu Damir H., Buchan W., Duncan A., Robins S. P.: Factors affecting urinary pyridinoline and deoxypyridinoline excretion in the growing lamb. *Bone* 1993, 14, 807–811.

Scott D., Robins P., Nicol P., Chen X. B., Buchan W.: Effects of low phosphate intake on bone and mineral metabolism and microbial protein synthesis in lambs. *Exp. Physiol.* 1994, 79, 183–187.

Scott D., Loveridge N., Nicodemo M. L. F., Buchan W., Milne J., Duncan A., Nicol P., Robins S. P.: Effect of diets varying in nitrogen or phosphorus content on indicators of bone growth in lambs. *Exp. Physiol.* 1997, 82, 193–202.

Seibel M.J., Gartenberg F., Silverberg S.J., Ratcliffe A., Robins S. P., Bilezikian J. P.: Urinary hydroxypyridinium cross-links of collagen in primary hyperparathyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1992a, 74, 481–486.

Seibel M.J., Robins S. P., Bilezikian J. P.: Urinary pyridinium crosslinks of collagen: Specific markers of bone resorption in metabolic bone disease. *TEM* 1992b, 3, 263–270.

Seibel M.J., Baylink D.J., Farley J. R., Epstein S., Yamauchi M., Eastell R., Pols H. A. P., Raisz L. G., Gundberg C. M.: Basic science and clinical utility of biochemical markers of bone turnover – a congress report. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 1997a, 105, 125–133.

Seibel M.J., Robins S. P., Bilezikian J. P.: Serum undercarboxylated osteocalcin and the risk of hip fracture. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997b, 82, 717–718.

Sharp C.A., Oginni L. M., Worsfold M., Oyelami O.A., Risteli L., Risteli J., Davie M.W.J.: Elevated collagen turnover in Nigerian children with calcium-deficiency rickets. Fifth Bath Conference on Osteoporosis and Bone Mineral Measurement, Bath, U.K., June 24–26, 1996, 1–29.

Smedsrod B., Melko J., Risteli L., Risteli J.: Circulating carboxyterminal propeptide of type I procollagen is cleared mainly via the mannose receptor in liver endothelial cells. *Biochem. J.* 1990, 271, 345–350.

Stépan J.J., Pospichal J., Presl J., Pacowsky V.: Bone loss and biochemical indices of bone remodeling in surgically induced postmenopausal women. *Bone* 1987, 8, 279–284.

Syakalima M., Takiguchi M., Yasuda J., Hashimoto A.: Separation and quantification of corticosteroid-induced, bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in canine serum. *J. Vet. Med. A* 1997, 44:603–610.

Trivedi P., Risteli J., Risteli L., Hindmarsh P. C., Brook C. G. D., Mowat A. P.: Serum concentrations of the type I and type III procollagen propetides as biochemical markers of growth velocity in healthy infants and children and in children with growth disorders. *Pediatrics* 1992, 89, 416–421.

Uebelhart D., Gineys E., Chapuy M.-C., Delmas P. D.: Urinary excretion of pyridinium crosslinks: a new marker of bone resorption in metabolic bone disease. *Bone and Miner.* 1990, 8, 87–96.

van Mosel M., Corlett S. C.: Assessment of bone turnover in the dry period of dairy cows by measurements of plasma bone Gla-protein, total plasma alkaline phosphatase activity and urinary hydroxyproline. *Exp. Physiol.* 1990, 75, 827–837.

Wasserman R. H., Kallfez F.A., Lust G.: Bones, Joints and Synovial Fluid. In: Dukes' Physiology of domestic animals, 11th ed. Swenson M.J., Reece W.O. (eds.). Cornell University, New York, pp. 1993, 536–565.

Withold W.: Monitoring of bone turnover. Biological, analytical and technical criteria in assessment of biochemical markers. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1996, 34, 785–799.

## Korrespondenzadresse

Dr. med. vet. A. Liesegang, Institut für Tierernährung der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 260  
CH-8057 Zürich, Fax. +41-1-635 8932, E-Mail: aliese@vetphys.unizh.ch

Manuskripteingang: 11. Januar 2000

In vorliegender Form angenommen: 9. Juni 2000