

## **Einflüsse verschiedener Vitamin-D-Metaboliten auf das Beinschwäche-Syndrom bei Mastputen**

**G. Heim, H. Weiser\* und W. A. Rambeck**

Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München, und

\* Research Department, Hoffmann-La Roche Ltd, Basel

**Zusammenfassung:** In zwei Versuchen mit beinschwachen Truthähnen der Mastlinie „BIG 6“ wurde der Einfluß verschiedener Vitamin-D-Metaboliten nach oraler bzw. intravenöser Verabreichung untersucht. Zwischen kranken und gesunden Tieren wurden bei den Vitamin-D-abhängigen Parametern keine Unterschiede festgestellt. Zusätzliche orale Gaben mittels Schlundsonde von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  in einer Dosierung von 2, 5 bzw. 10 µg pro Tier und Tag sowie von 400 µg  $25(\text{OH})\text{D}_3$  pro Tier und Tag hatten keinen Einfluß auf die Erkrankung. Bei i.v. Applikation von 2 bzw. 5 µg  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  pro Tier und Tag traten keinerlei Anzeichen einer Besserung des Gesundheitszustandes, aber auch keine Hinweise auf eine Hypervitaminose (Erhöhung des Serumcalciumspiegels bzw. Anstieg der Aktivität des Calcium bindenden Proteins) auf. Die untersuchte Form der Beinschwächeerkrankung bei Mastputen ist offensichtlich nicht mit einer Störung des Vitamin-D-Stoffwechsels verbunden.

**Summary.** In two experiments the influence of vitamin D metabolites on leg weakness in turkeys belonging to the Big 6 line was studied. The metabolites were given orally or intravenously in different dosages.

There are no differences in vitamin-D-dependent parameters between healthy turkeys and turkeys with leg weakness. Additional oral application of  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  in dosages of 2, 5 or 10 µg per animal day and of 400 µg  $25(\text{OH})\text{D}_3$  per animal day had no influence on leg weakness. Even after intravenous application of 2 or 5 µg  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  per animal day there were no changes concerning the degree of leg weakness nor were any signs of hypervitaminosis D observed (increase of serum calcium level or increase of the activity of duodenal calcium binding protein). Our results indicate that this form of leg weakness in turkeys is not connected to a disturbance of vitamin D metabolism.

**Schlüsselwörter:** Vitamin-D-Metaboliten, Beinschwäche-Syndrom, Truthühner, Vitamin-D-Hypervitaminose

**Key words:** vitamin D-metabolites, leg weakness, turkeys, vitamin D hypervitaminosis

## Einleitung

Unter dem Begriff „Beinschwäche-Syndrom“ werden bei Mastputen Erkrankungen des Bewegungsapparates zusammengefaßt, die mit dem klinischen Symptom Lahmheit einhergehen. Als mögliche Ursachen werden genetische, haltungs- und ernährungsbedingte sowie funktionell-pathologische Gründe diskutiert (Pierson und Hester, 1982). Durch Zumischung verschiedener Vitamin-D-Metaboliten in die Diät wurde bei Mastbroilern eine deutliche Verringerung der Häufigkeit des Auftretens und des Schweregrades der Tibiadyschondroplasie erreicht (Edwards, 1989). Bei dieser Art der Beinschwäche unterscheiden sich die kranken Tiere in ihrem 25(OH)D- und 1,25(OH)<sub>2</sub>D-Plasmaspiegel nicht von den gesunden. Bei Mastküken, die eine Valgus-Varus-Deformität aufwiesen, wurden jedoch um bis zu 28 % verminderte 1,25(OH)<sub>2</sub>D-Werte festgestellt (Newbrey et al., 1988).

Beim Truthuhn sind ähnliche Untersuchungen bis jetzt nur mit jungen Tieren durchgeführt worden. Vitamin-D-Zumischung in die Diät senkte bei Küken in den ersten zwei Lebenswochen die Sterblichkeitsrate (Stevens et al., 1984) und führte bei rachitischen Tieren zu einer schnelleren Heilung (Bar et al., 1982). Der Metabolit 25(OH)D<sub>3</sub> beschleunigte bei an Field Rickets erkrankten Truthühnern die Knochenmineralisation in den ersten vier Lebenswochen. Dadurch verbesserte sich das klinische Bild dieser Erkrankung (Bar et al., 1987).

Der Vitamin-D-Metabolit 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> induzierte bei Hühnerküken und japanischen Wachteln eine Erhöhung des Serumcalciumspiegels und eine Steigerung der Aktivität des duodenalen Calcium bindenden Proteins. Bei gleichzeitiger Gabe von 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> und verschiedenen trihydroxylierten Metaboliten treten synergistische Effekte auf (Rambeck und Zukker, 1985; Rambeck et al., 1988).

In dieser Arbeit wurde der Einfluß verschiedener Vitamin-D<sub>3</sub>-Metaboliten nach oraler bzw. intravenöser Verabreichung auf Vitamin-D-abhängige Stoffwechselparameter bei gesunden und erkrankten Truthähnern untersucht und der Krankheitsverlauf beobachtet.

## Material und Methoden

Es wurden männliche Truthühner (*Meleagris gallopavo* L. var. *domesticus*) der Mastlinie „BIG 6“ untersucht, die unmittelbar vor Beginn der Experimente an Beinschwäche-Syndrom erkrankten. Die Tiere waren bei Versuchsbeginn 10–16 Wochen alt. Die Haltung erfolgte in einer gemeinsamen Herde auf Stroheinstreu. Futter und Wasser wurden ad libitum angeboten. In der Diät waren 4000 IU Vitamin D<sub>3</sub> pro kg enthalten.

Alle 48 Stunden wurden den Tieren die in Propandiol/Äthanol (9:1) gelösten Metaboliten oral mittels Schlundsonde oder intravenös in die Vena jugularis dextra verabreicht. Nach einer Versuchsdauer von 42 Tagen wurden die Puten geschlachtet und Darm- und Knochenproben zur weiteren Analyse entnommen. Während des Versuchs wurde den Tieren dreimal Blut entnommen.

Es wurden die Parameter Calcium, Phosphat, Aktivität der Alkalischen Phosphatase und 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-Gehalt in Serum, relativer Aschegehalt der Phalanx II der rechten Mittelzehe und Bindungsaktivität des duodenalen Calcium bindenden Proteins (CaBP) sowie Gewichtszunahme und klinische Beurteilung der Beinschwächesymptome analysiert.

Die CaBP-Bestimmung wurde nach der Methode von Wasserman und Taylor (1966) durchgeführt; der  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Gehalt im Serum wurde mit einem Radiorezeptortest bestimmt (Mallon et al., 1980). Die klinische Beurteilung erfolgte mittels einer 4-Punkte-Skala, wobei gesunde Tiere mit 1 und hochgradig erkrankte Tiere mit 4 beurteilt wurden.

Im ersten Versuch wurde je eine Gruppe von 6 Tieren oral mit 2, 5 und 10  $\mu\text{g}$   $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  sowie eine Gruppe mit 400  $\mu\text{g}$   $25(\text{OH})\text{D}_3$  pro Tier und Tag behandelt. Zusätzlich erhielten gesunde und andere erkrankte Tiere Placebo.

Im zweiten Versuch wurde neben Placebo an je eine Gruppe 2 bzw. 5  $\mu\text{g}$   $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  pro Tier und Tag intravenös verabreicht.

## Ergebnisse

Die kranken Truthähne unterschieden sich in den Vitamin-D-abhängigen Parametern Serumcalcium und Serumphosphat, dem Gehalt an relativer Knochenasche und der Aktivität des duodenalen CaBP nicht signifikant von gesunden Tieren. Lediglich die Aktivität der alkalischen Phosphatase war bei den Tieren mit Beinschwäche etwas erhöht. Diese nimmt aber ebenso wie bei den gesunden Tieren mit zunehmendem Alter ab. Die erkrankten Tiere wiesen im Vergleich zu den gesunden Kontrolltieren in der Tendenz sogar einen etwas höheren Calciumgehalt im Serum auf (siehe Tab. 1).

Nach oraler Gabe von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  in ansteigenden Dosierungen bis zu 10  $\mu\text{g}$  pro Tier und Tag veränderte sich das klinische Bild der Erkrankung nicht. Die Gewichtszunahmen konnten durch die Behandlung mit Vitamin-D-Metaboliten nicht verbessert werden. Ein Einfluß auf Calcium, Phosphat und die Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Serum, den Knochenaschegehalt und die Aktivität des duodenalen CaBP war nicht vorhanden (Tab. 2). Bei gesunden Tieren, bei kranken placebobehandelten und bei mit 10  $\mu\text{g}$   $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  pro Tier und Tag behandelten Tieren wurde der  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Spiegel im Serum bestimmt. Kranke und gesunde Puten unterschieden sich hierin nicht (gesunde Tiere: 112 pg/ml; kranke Tiere: 123 pg/ml). Nach oraler Gabe von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  in der Dosis von 10  $\mu\text{g}$  pro Tier und Tag erhöhte sich die Konzentration dieses Metaboliten im Serum nicht (102 pg/ml).

Auch nach intravenöser Applikation von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  erfolgte keine Veränderung der Vitamin-D-abhängigen Parameter und der klinischen Symptome (Tab. 3). Die Konzentration dieses Metaboliten im Serum stieg

Tab. 1. Vitamin-D-abhängige Parameter bei gesunden und beinschwachen Truthähnen.

Parameter	gesund (n = 24)	beinschwach (n = 30)
ALP (Tag 0): IU/l	$562 \pm 161$	$620 \pm 215$
ALP (Tag 42): IU/l	$474 \pm 170$	$512 \pm 164$
Serumcalcium mmol/l	$2,3 \pm 0,34$	$2,5 \pm 0,26$
Serumphosphat mmol/l	$1,7 \pm 0,40$	$1,8 \pm 0,35$
rel. Knochenasche (%)	$56,6 \pm 0,98$	$55,8 \pm 1,04$
duodenales CaBP	$2,7 \pm 1,0$	$2,5 \pm 1,1$

Tab. 2. Einfluß von Vitamin-D-Metaboliten bei oraler Applikation (n = 6).

Behandlung pro Tier und Tag	Gewichtszunahme kg	Klinische Beurteilung Tag 0	ALP IU/l Tag 42	P (mmol/l)	Ca (mmol/l)	rel. Knochen- asche %	CaBP
Placebo	5,8 ± 0,8	2,8	560 ± 117	1,8 ± 0,4	2,6 ± 0,1	53,7 ± 1,5	4,5 ± 2,6
2 µg 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	5,9 ± 0,8	2,4	500 ± 143	1,6 ± 0,2	2,5 ± 0,1	55,9 ± 1,2	5,1 ± 1,5
5 µg 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	5,7 ± 0,4	2,4	550 ± 87	1,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1	55,0 ± 1,1	5,8 ± 1,4
10 µg 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	5,6 ± 0,9	2,6	432 ± 65	1,8 ± 0,2	2,2 ± 0,2	55,0 ± 1,1	n.b.
400 µg 25(OH)D <sub>3</sub>	5,9 ± 0,5	2,5	532 ± 114	1,9 ± 0,2	2,4 ± 0,1	57,4 ± 0,3	5,8 ± 1,8

(n. b. = nicht bestimmt)

Tab. 3. Einfluß von 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> bei intravenöser Applikation (n = 6).

Behandlung pro Tier und Tag	Gewichtszunahme kg	Klinische Beurteilung Tag 0	ALP IU/l Tag 42	P (mmol/l)	Ca (mmol/l)	rel. Knochen- asche %	CaBP
Placebo	6,4 ± 0,5	2,5	735 ± 112	1,9 ± 0,1	2,4 ± 0,2	60,4 ± 0,6	3,6 ± 1,2
2 µg 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	6,3 ± 0,5	2,7	739 ± 115	1,8 ± 0,2	2,3 ± 0,2	55,9 ± 0,6	4,4 ± 0,4
5 µg 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	6,1 ± 0,7	2,7	650 ± 84	1,6 ± 0,1	2,1 ± 0,3	55,0 ± 0,9	5,8 ± 1,0

Tab. 4. Gehalt an 1,25(OH)<sub>2</sub>D im Serum nach i.v. Applikation von 10 µg 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>\*.

Zeit nach der i.v. Applikation in h	1,25(OH) <sub>2</sub> D pg/ml
1	247
6	263
12	661
24	596
48	552

\* Serumproben von je 6 Tieren

erst 12 Stunden nach der i.v. Applikation deutlich an. Nach 24 und 48 Stunden wurden ähnlich hohe Werte von 596 bzw. 552 pg/ml gemessen (Tab. 4).

Die orale Gabe von 400 µg 25(OH)D<sub>3</sub> pro Tier und Tag beeinflußte weder die Vitamin-D-abhängigen Parameter noch das klinische Erscheinungsbild der Beinschwäche (Tab. 2).

## Diskussion

Nach den Befunden der vorliegenden Studie ist das Syndrom „Beinschwäche“ bei Mastputen offensichtlich nicht auf eine Störung des Vitamin-D-Stoffwechsels zurückzuführen. Die positiven Effekte verschiedener Vitamin-D-Metaboliten, die bei Field Rickets junger Truthühner (Bar et al., 1987) und bei Tibiadyschondroplasie von Mastküken (Edwards et al., 1989) beschrieben wurden, konnten bei Mastputen im Alter von 10 bis 16 Wochen nicht bestätigt werden. Bei den von uns untersuchten Tieren wurde die Krankheit durch zusätzliche Gaben von Vitamin-D-Metaboliten nicht positiv beeinflußt. Selbst auf eine intravenöse Verabreichung von 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> reagierten die Puten nicht mit einer Erhöhung des Calciumspiegels im Serum und der Aktivität des duodenalen CaBP. Dies ist um so erstaunlicher, als ein Anstieg des 1,25(OH)<sub>2</sub>D-Gehaltes im Serum nachgewiesen werden konnte. Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, daß Vitamin D und seine Metaboliten eine unterschiedliche Wirksamkeit in bezug auf Beinerkrankungen bei Mastküken und Truthähnen haben.

## Danksagung

Wir danken Frau U. Hennes aus der Abteilung für Stoffwechselerkrankungen der Hoffmann-La Roche AG in Basel für die Durchführung der 1,25(OH)<sub>2</sub>D-Bestimmungen.

## Literatur

Bar A, Edelstein S, Eisner U, Ben-Gal I, Hurwitz S (1982) Cholecalciferol requirements of young turkeys under normal conditions and during recovering from rickets, *J Nutr* 112:1779–1786  
 Bar A, Rosenberg J, Perlman R, Hurwitz S (1987) Field rickets in turkeys: Relationship to vitamin D, *Poultry Sci* 66:68–72

Edwards, HM Jr (1989) Effect of vitamin C, environmental temperature, chlorotetracycline and vitamin D<sub>3</sub> on the development of tibial dyschondroplasia in chickens, *Poultry Sci* 68: 1527-1534

Mallon JP, Hamilton JG, Nauss-Karol C, Karol RJ, Ashley CJ, Matuszewski DS, Tratynek CA, Bryce GF, and Miller ON (1980) An improved competitive protein binding assay for 1,25-dihydroxyvitamin D, *Arch Biochem Biophys* 201:277-285

Newbrey JW, Baksi SN, Dhillon AS, Zimmerman NG, Truitt SG, Riedinger R (1988) Histomorphometry and vitamin D metabolism of valgus-varus deformity in broiler chickens, *Avian Dis* 32:704-712

Pierson FW, Hester PY (1982) Factors influencing leg abnormalities in poultry: A review, *World's Poultry Sci J* 38:5-17

Rambeck WA, Zucker H (1985) Synergistic effects of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> on duodenal CaBP in rachitic chicks and on eggshell weight in Japanese quails, *Biochem Biophys Res Comm* 126:799-804

Rambeck WA, Weiser H, Meier W, Zucker H (1988) Synergistic effects of vitamin D metabolites, *Ann Nutr Metab* 32:108-111

Stevens VI, Blair R, Salmon RE (1984) Effects of vitamin D<sub>3</sub>, calcium and phosphorus on growth and bone development of market turkeys, *Poultry Sci* 63:1571-1585

Wasserman RH, Taylor AN (1966) Vitamin D induced calcium binding protein in chick intestinal mucosa, *Science* 152:791-793

Eingegangen 26. Juli 1990

Für die Verfasser:

Dr. G. Heim, Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der tierärztlichen Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität, 8000 München