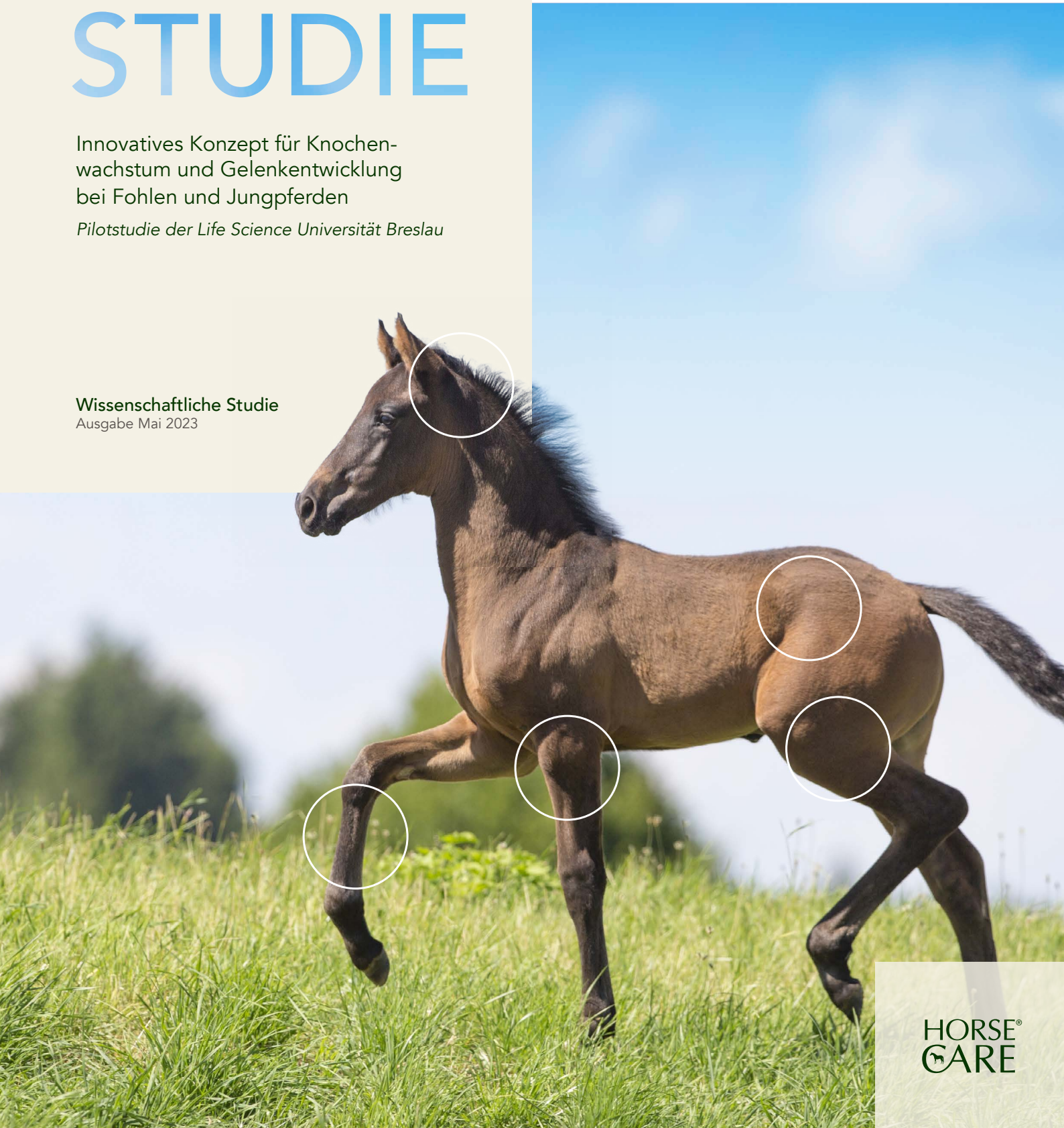
FOHLENGOLD® BONECARE

St Hippolyt® NUTRITION CONCEPTS RESEARCH

STUDIE

Innovatives Konzept für Knochenwachstum und Gelenkentwicklung bei Fohlen und Jungpferden

Pilotstudie der Life Science Universität Breslau



Wissenschaftliche Studie
Ausgabe Mai 2023

HORSE® CARE

Einleitung

Die Entwicklung und das Wachstum des Fohlens, insbesondere von Knochen und Knorpelgewebe, sind empfindliche Prozesse, die entscheidenden Einfluss auf die Entstehung verschiedener Anomalien des Bewegungsapparates haben und sich somit auch auf das zukünftige Potenzial als erfolgreiches Sportpferd lebenslang auswirken.

Bereits während der embryonalen Entwicklung wird das Skelettsystem des Fohlens zum Großteil als unreife, knorpelige Skelettelemente (Wachstumsknorpel) angelegt, die als Platzhalter für die späteren, mineralisierten Knochen dienen.

Etwa ab dem 8. Trächtigkeitsmonat beginnt bereits die Ausbildung des Skelettsystems des Fohlens im Mutterleib (Meyer, 1996). Durch ein weitestgehend ausdifferenziertes Gehirn und einen leistungsfähigen Bewegungsapparat ist das Fluchttier Pferd bereits 20 min nach der Geburt in der Lage zu stehen und kann bereits nach wenigen Stunden beeindruckende Geschwindigkeit aufnehmen.

In den ersten Monaten nach der Geburt wächst das Fohlen mit einer Gewichtszunahme von rund 1,5 kg pro Tag enorm schnell. Ein Prozess, der auch das Knorpel- und Knochengewebe entsprechend fordert und einen wichtigen entwicklungsbiologischen Prozess darstellt.

Jedoch unterscheidet sich die Bildung von Knochen- und Knorpelgewebe in ihrer Komplexität stark. Während an der Bildung des Knorpelgewebes auf zellulärer Ebene lediglich Vorläuferzellen der Knorpelzellen (Chondroblasten) und die Knorpelzellen selbst (Chondrozyten) beteiligt sind, läuft die Bildung des Knochengewebes deutlich komplexer ab.

Hierbei wird zunächst zwischen direkter und indirekter Knochenbildung (Ossifikation) unterschieden, wobei das mehrschrittige Längenwachstum der Röhrenknochen zu Beginn über die direkte Ossifikation und der Hauptanteil nachfolgend über die indirekte Ossifikation entsteht.

Bei der indirekten Ossifikation wird das vorhandene, formgebende Knorpelskelett durch schnelle Differenzierung und Reifung der Knorpelzellen mehrstufig in kalzifizierte Knochensubstanz umgebaut (Abb. 1).

Dabei stellt bei wachsenden Röhrenknochen die sogenannte Epiphysenfuge eine Besonderheit dar. Dieser Bereich liegt zwischen Gelenk und Knochenschaft und ist von großer Bedeutung für die Ausbildung der Gelenke und Extremitäten. Die Epiphysenfuge ist eine knorpelige Gewebsschicht an den Enden der Röhrenknochen, von denen aus die Knochen in die Länge wachsen. Dabei wird das Knorpelgewebe von speziellen knochenaufbauenden Zellen (Osteoblasten) sukzessiv in Knochen umgewandelt (Abb. 1).

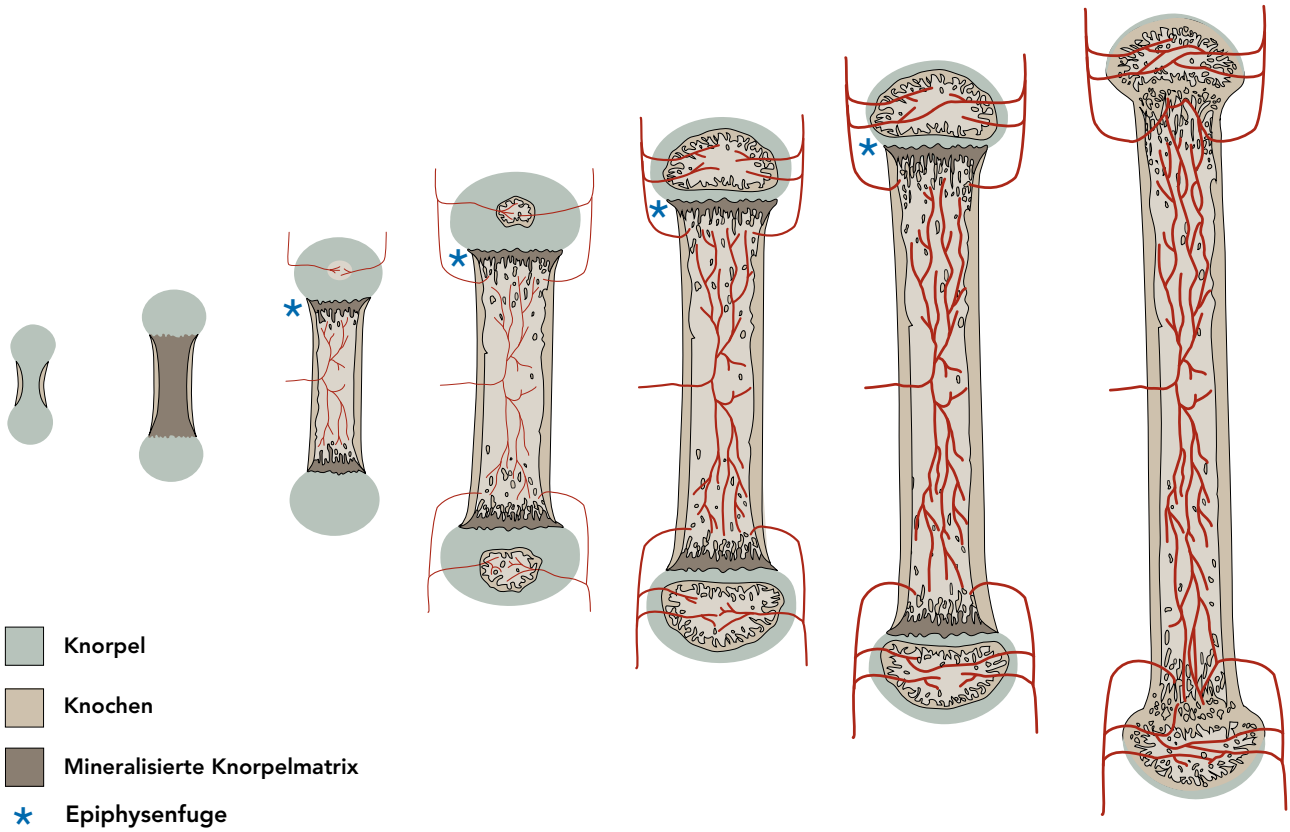


Abb.1: Schematische Darstellung des Wachstums langer Röhrenknochen (nach Bourebaba *et al.*, 2019)

Die Epiphysenfuge besteht aus vier verschiedenen Zonen, die fließend ineinander übergehen (Abb. 2):

1. Reservezone: ruhender Knorpel, kein Wachstum, Blutgefäßversorgung des Knorpels während des Wachstums
2. Wachstumszone: für Längenwachstum entscheidende Zellteilung der Knorpelzellen (Säulenknorpel)
3. Knorpel-Umbauzone: Volumenzunahme der Knorpelzellen zugunsten des Längenwachstums, Synthese von Mucopolysacchariden und Kollagen (Blasenknorpel)
4. Verknöcherungszone: Knorpelzellen gehen zugrunde, eindringen von Blutgefäßen und Stammzellen in Knorpelhöhlen, Reifung knochenaufbauender Zellen und Verknöcherung der Knorpelmatrix

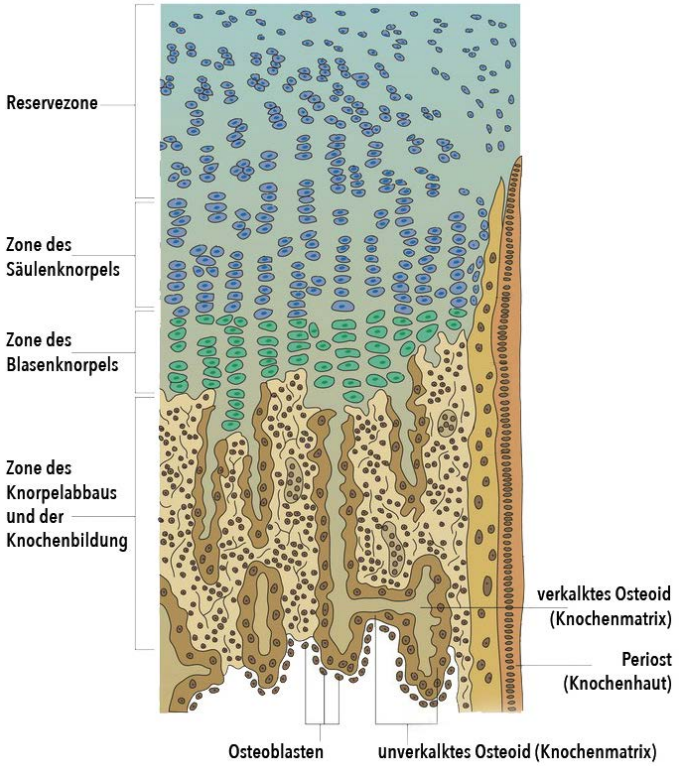


Abb. 2: Histologischer Aufbau der Epiphysenfuge (aus Kurzlehrbuch Anatomie und Embryologie, 3. Auflage, Thieme Verlag)

Aufgrund der unvollständigen Verknöcherung ist die Epiphysenfuge während des Wachstums besonders empfindlich und Verletzungen in diesem Bereich können das Wachstum des Knochens negativ beeinflussen. Ist die knorpelige Substanz vollständig verknöchert, ist das Längenwachstum abgeschlossen (Kurth und Lange, 2018). Nach Epiphysenfugenschluss sind Fehlstellungen, verursacht durch Störungen innerhalb dieses sensiblen Bereichs, kaum noch zu beeinflussen.

Am ausgewachsenen Röhrenknochen bleibt lediglich hyaliner Knorpel an den Gelenkflächen zurück.

Der Gelenkknorpel gewährleistet die reibungsarme Beweglichkeit der Gelenke und dient zugleich der Druckfestigkeit und Elastizität. Diese Eigenschaften beruhen auf der Fähigkeit bestimmter Kohlenhydratkomplexe (Glykosaminoglykane, GAG), große Mengen an Flüssigkeit schwammartig zu binden und somit eine stoßdämpfende Matrix mit gelartiger Konsistenz zu bilden.

Durch das Einschwemmen zentraler Signalmoleküle und lebensnotwendiger Nährstoffe aus der Gelenkflüssigkeit wird die Nährstoffversorgung des Knorpels garantiert. Da der juvenile Knorpel, im Gegensatz zum Knochen, nur ein gering durchblutetes Gewebe ist (adultes Knorpelgewebe ist gänzlich frei von Blutgefäßen), zeigt sich oft ein schwaches Regenerationspotential und daher ist er auf die Nährstoffversorgung durch die Gelenkflüssigkeit angewiesen (Bötsch, 2007; König und Liebich, 2014).

Die komplexe Entwicklung des Bewegungsapparates unterliegt verschiedensten dynamischen Regulationsmechanismen, an denen unter anderem Vitamine, körpereigene Schlüsselhormone und weitere Mediatoren (z. B. Schilddrüsenhormone, Vitamin A bzw. D3, regulatorische Proteine wie RUNX2 (Runt-related transcription factor 2)) beteiligt sind (Bourebaba *et al.*, 2002; Deutzmann und Bruckner, 2014). Über nachgeschaltete Signalkaskaden werden zudem weitere Faktoren aktiviert. Über sogenannte Wachstumsfaktoren bzw. Differenzierungsfaktoren wird sowohl die Bildung und Mineralisierung des Knorpel- und Knochengewebes sowie die Reparatur und Regeneration stimuliert.

Für ein kontrolliertes Knochenwachstum ist daher die Balance zwischen den einzelnen Signalproteinen entscheidend. Ist das Gleichgewicht der beteiligten Signalproteine gestört, z. B. durch oxidativen Stress oder durch Mangel an essentiellen Nährstoffen, kann dies ungünstige Auswirkungen auf Wachstum und Mineralisierung haben. So haben beispielsweise Studien gezeigt, dass reaktive Sauerstoffradikale sogar in der Lage sind, in verschiedene Signalkaskaden einzugreifen und so durch eine gesteigerte Aktivität der knochenabbauenden Zellen eine Veränderung der Knochenmatrix zu induzieren (Brownlee, 2001; Garrett *et al.*, 1990).

Ferner spielt das Aufzuchtmanagement eine ganz entscheidende Rolle. So beeinflussen neben der Genetik auch Faktoren wie Haltung, biomechanische Belastungen sowie Bewegungs- und Trainingsintensität über entsprechende Motorik und Belastungsreize die Entwicklung des Bewegungsapparates (Coenen und Vervuert, 2019). Aber auch eine bedarfsgerechte Versorgung mit Vitaminen, Mineralstoffen (darunter hervorzuheben die Spurenelemente) sowie eine ausreichende Zufuhr biologisch hochwertiger Proteine mit ausbalanciertem Aminosäureprofil sind hier essentiell.

Epigenetik

SPANNENDE AKTIVIERUNGSMUSTER IN DER INDIVIDUALENTWICKLUNG

Wie alle Prozesse im Körper muss auch das Wachstum des Knochen- und Knorpelgewebes in Form von Zellteilung, Zellwachstum und Zellreifung, koordiniert werden. Auch im Falle einer Verletzung des Gewebes muss der Organismus eine strukturierte, nach Plan ablaufende Heilung gewährleisten. Diese Aufgabe übernehmen unterschiedlichste Gene, die über ihre Aktivität die verschiedenen Abschnitte der Zellteilung und Differenzierung einleiten und sich zudem auch gegenseitig beeinflussen können.

So sind beispielsweise genetisch festgelegte Signalproteine wie BMPs (bone morphogenetic proteins) und das regulatorische Protein RUNX2 an der Zellteilung, an der Zellreifung der Knorpelzellen und der Reifung von knochenaufbauenden Zellen beteiligt (Bourebaba *et al.*, 2019). Neben den genetisch regulierten Mechanismen wird auch den epigenetischen Einflüssen, also den DNA-unabhängigen Effekten, eine große Rolle in der Entwicklung des Bewegungsapparates zugesprochen (Reynard und Loughlin, 2012). Unter Epigenetik versteht man eine z. B. durch Erfahrungen oder Umwelteinflüsse induzierte molekulare Veränderung der Genaktivität, etwa durch ein DNA-Methylierungsmuster, ohne jedoch den genetischen Code umzuschreiben. Das heißt, dass sich beispielsweise Umweltfaktoren und Ernährung (Nutri-Epigenetik) auf die Genfunktion bzw. Aktivität auswirken können und somit auch die Plastizität des Erbguts bedeutend erhöhen.

Es besteht also eine Wechselwirkung zwischen Genaktivität und Umweltfaktoren wie z. B. Schadstoffen, Nährstoffmangel bzw. Nährstoffüberfluss (Gille und Vergéres, 2016). Es wurde sogar gezeigt, dass sich epigenetische Einflüsse während der Schwangerschaft teilweise noch auf die Gesundheit der Kinder und Kindeskinder auswirken können, ohne dass Veränderungen des Erbguts auftreten und diese individuell gesetzten epigenetischen Marker weitergegeben werden (Dahlhoff *et al.*, 2008; Kegel, 2013).

Exkurs OCD

MAUS, CHIP ODER DOCH ISOLIERTE VERSCHATTUNG?

Oft fallen in der Literatur oder bei Ankaufsuntersuchungen Begriffe wie Chip (Stashak, 1989), Sequester, Dissektat (Hertsch, 1991a,b) Gelenkmaus (Edwards, 1984), Gelenkkörper (Stöckli und Ueltschi, 1992), isolierte Verschattung (Kroll, 1999) oder auch Gelenkstein (Hertsch und Höppner, 1999). Dabei umschreiben all diese Synonyme das gleiche Krankheitsbild: Osteochondrosis dissecans (OCD).

Bei OCD handelt es sich um eine entwicklungsbedingte Gelenkerkrankung, bei der sich Knochen-Knorpelfragmente (osteochondrale Fragmente) vom Knochen lösen und sich dadurch sogenannte freie Gelenkkörper bilden. Diese freien osteochondralen Gelenkkörper können im späteren Verlauf zu Funktionsstörungen des Gelenks und zur Schädigung des umliegenden Gewebes (Knorpel, Sehnen) führen, was sich klinisch durch Schmerz, Lahmheit und Leistungseinbußen ausdrücken kann.

Hauptsächlich sind dabei die gewichttragenden Gelenke der Gliedmaße betroffen; hier insbesondere das Sprunggelenk, gefolgt von den Fessel- und Kniegelenken (Jeffcot, 1991; Nixon, 1993).

WAS STECKT HINTER OCD?

Bei Osteochondrose dissecans (osteo = Knochen, chondro = Knorpel) handelt es sich um eine degenerative Erkrankung des Knochen- und Knorpelgewebes. Genauer gesagt, handelt es sich dabei um eine nichtentzündliche Veränderung des Gelenkknorpels sowie des subchondralen Knochengewebes. Röntgenologische Studien haben ergeben, dass 25 % der europäischen Warm- und Vollblutpopulation an OCD erkrankt sind (van Weeren, 2006).
Das Fundament für die Entstehung von OCD wird bereits im Fohlenalter gelegt, denn OCD ist eine multifaktorielle Störung des Knochenwachstums. Das bedeutet, dass mehrere Faktoren an der Entstehung dieser entwicklungsbedingten Skeletterkrankung beteiligt sein können.
So beeinflussen Faktoren wie Haltung und biomechanische Belastungsreize die Entwicklung des wachsenden Bewegungsapparates (Coenen und Vervuert, 2019). Zusätzlich spielen Faktoren wie genetische Prädisposition, Wachstumsgeschwindigkeit, genetisch vorherbestimmtes Endmaß aber auch diätische Faktoren (z. B. Überversorgung bzw. Unterversorgung), hormonelle Entgleisungen und Stoffwechselstörungen (oftmals als Folge einer fütterungsbedingten Imbalance) eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung von OCD (Distl, 2013; Wilke, 2003). Auch scheinen Faktoren wie Geschlecht und Geburtsmonat eine Rolle zu spielen.
So soll laut Arnan und Hertsch (2005) bei Stutfohlen öfter das Fesselgelenk und bei Hengstfohlen öfter das Sprunggelenk betroffen sein. Verschiedene Studien zeigten zudem, dass Fohlen die vor dem 1. April geboren werden auffallend häufiger OCD entwickeln (Wilke, 2003). Allerdings sind sich Experten einig, dass eine genetische Prädisposition zweifelsohne an der Entstehung einer OCD beteiligt ist, jedoch das Aufzuchtmanagement sowohl bei der Entstehung als auch Vorbeugung eine entscheidende Rolle spielt.

DAS A UND O IN DER PRÄVENTION: BEDARFSGERECHTE FÜTTERUNG UND AUSREICHEND BEWEGUNG

Eine unausgeglichene Fütterung bereits in den ersten Lebensmonaten kann die Entstehung von OCD begünstigen. Entwicklungsstörungen des Skeletts werden durch zu intensive Fütterung und daraus resultierender Energie-Überversorgung, besonders von leicht verdaulichen Kohlenhydraten, gefördert (Borchers, 2002). Die Überfütterung fördert zusätzlich das rasche Wachstum des Fohlens, wodurch das unausgereifte und noch nicht vollständig kalzifizierte Skelettsystem des zu schnell wachsenden Fohlens einer erhöhten, abnormalen Gewichtsbelastung ausgesetzt ist.
Zusätzlich zeigten Studien von Henson *et al*. (1997) eine Korrelation zwischen der Entwicklung von OCD und dem Insulin-Metabolismus unter Beteiligung von Insulin und des insulin-like growth factors (IGF). Sie bewiesen, dass Insulin durch Modifikation der Schilddrüsenhormone die Differenzierung equiner Knorpelzellen (Chondrozyten) unterdrücken kann und somit an der Pathogenese von OCD beteiligt ist. Es wird daher angenommen, dass durch die Fütterung von Futtermitteln mit hohem glykämischen Index, beispielsweise durch hohe Anteile an Hafer, und daraus resultierender Hyperinsulinämie bzw. Hyperglykämie, die Wahrscheinlichkeit der Entstehung von OCD erhöht wird. Zudem geht man davon aus, dass eine Hyperinsulinämie, folglich eine Insulinresistenz, sowie weitere metabolische Ungleichgewichte folgenschwere Auswirkungen auf den Matrixmetabolismus und somit auf die Knochenmineralisierung des Fohlens zur Folge haben kann (Bourebaba *et al*., 2019; Pagan *et al*., 2001). Aber auch Unterversorgung oder Fehlernährung des Fohlens stellen wichtige Einflussfaktoren dar. Hier ist besonders auf eine bedarfsgerechte Versorgung mit Calcium, Phosphor, Magnesium, Kupfer, Zink, Selen, Mangan und den Vitaminen D und K zu achten.
Ferner wurde gezeigt, dass eine Fehlernährung des Fohlens in Kombination mit einer verminderten Knochendichte eine entscheidende Komponente im Verlauf von OCD darstellen kann (Firth *et al*., 1999). Um eine pathologische Entwicklung des Fohlens zu vermeiden, sollte die Futterration entsprechend der Wachstumsrate angepasst werden.
Studien zeigten zudem, dass für die Entwicklung des Bewegungsapparates, natürlich innerhalb physiologischer Grenzen, die Einwirkung von Zug- und Druckkräften essentiell sind (Wilke, 2003). Daher fördert eine frühzeitige und natürliche Bewegung des Fohlens die Skelettentwicklung und aktiviert zusätzlich den Stoffwechsel. Dabei sind jedoch Faktoren wie Auslaufdauer, Frequenz, Geländetyp und Bodenbeschaffenheit stets zu berücksichtigen.

Wertvoll ergänzen, gezielt unterstützen: Fohlengold® BoneCare

- Wertvolle Nukleotide
- Schützende Antioxidantien
- Strukturgebende Glykosaminoglykane

OPTIMALE FÜTTERUNG WÄHREND DER AUFZUCHT UND IN DER WACHSTUMSPHASE

Das juvenile Knochenwachstum ist ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Faktoren, unterliegt feinregulierten Prozessen mit einer weitverzweigten molekularen Organisation und steht im wachsenden Organismus mit vielen weiteren Vorgängen in Konkurrenz um die essentiellen Nährstoffe, hier vor allem bei der Zellteilung. Fohlengold® BoneCare enthält wertvolle Nukleotide, liefert somit stets benötigte Bausteine für Zellteilung, Energieübertragung und Signalweiterleitung. Der Einsatz essentieller Antioxidantien schützt empfindliche Zellbestandteile, Gewebe, Proteinstrukturen, DNA sowie RNA vor freien Radikalen, gewährleistet antioxidative Abwehr, wirkt so radikalinduzierten Gewebeschäden entgegen und verbessert so die Widerstandsfähigkeit der Zellen gegen oxidative Stressoren. Durch Fütterung speziell aufbereiteter komplexer Naturstoffe (GAG) aus der Neuseeländischen Grünlippmuschel werden dem Fohlen gezielt strukturgebende Grundbausteine für den heranwachsende Bewegungsapparat zur Verfügung gestellt.

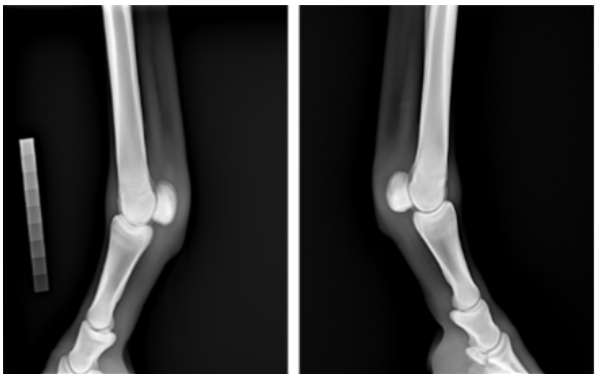
KLINISCHE UNTERSUCHUNG MIT FOHLENGOLD® BONECARE

Für die Untersuchung wurden insgesamt 22 Jährlinge auf entwicklungsbedingte Störungen des Knochenwachstums hin radiologisch untersucht. Bei insgesamt sechs der 22 Jährlinge zeigten zwei voneinander unabhängige radiologische Untersuchungen Auffälligkeiten. Aus beiden Befundgruppen, Jährlinge ohne Auffälligkeit und Jährlinge mit Auffälligkeit, wurden nach dem Zufallsprinzip je sechs Tiere ausgewählt und zwei Gruppen gebildet: Kontrollgruppe (n=6) ohne Auffälligkeit und Fütterungsgruppe (n = 6) mit Auffälligkeit. Beide Gruppen erhielten täglich gleiche Mengen einer Standarddiät inklusive Raufutter. Zudem erhielt die Fütterungsgruppe über einen Zeitraum von 90 Tagen zusätzlich eine Ergänzung von 50 g Fohlengold® BoneCare. Vor und nach der Fütterungsperiode wurden jeweils die Knochendichte sowie die Blutplasmakonzentration und Expression wichtiger Schlüsselgene und Mediatoren des Knorpel- und Knochenwachstums untersucht.

Ergebnisse

KNOCHENDICHTE

A



B

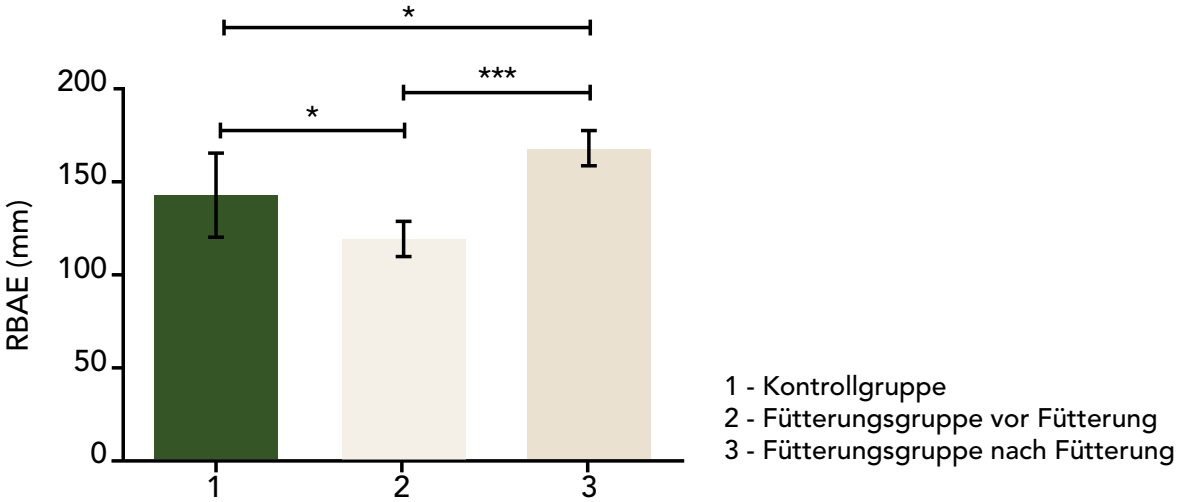


Abb. 3: Repräsentative Röntgenbilder und Berechnung der Knochendichte
A) Röntgenaufnahme der Fütterungsgruppe vor der Fütterung (links) und nach der Fütterung (rechts).
B) Ermittelte Knochendichte der Fütterungsgruppe vor und nach der Fütterung im Vergleich zu der Kontrollgruppe.
Die Ergebnisse werden als Mittelwert ± S.D. ausgedrückt. * $p < 0{,}05$; *** $p < 0{,}001$.
(**RBAE**= Radiographic Bone Aluminium Equivalent; nicht-invasive Methode zur Bewertung der Knochenmineraldichte)

Zur Bestimmung der Knochendichte wurden Röntgenaufnahmen der Fütterungsgruppe vor (links) und nach der Fütterungsperiode (rechts) angefertigt (Abb. 3A). Die Abbildung 3B vergleicht die ermittelte Knochendichte der Kontrollgruppe mit der Fütterungsgruppe vor und nach der Fütterungsperiode. Vor der Fütterungsperiode zeigt die Fütterungsgruppe (118,83 mm) im Vergleich zu der Kontrollgruppe (142,37 mm) eine verringerte Knochendichte. Nach der Fütterung von Fohlengold® BoneCare konnte ein hoch signifikanter Anstieg der Knochendichte von +40,65 % (Mittelwert) innerhalb der Fütterungsgruppe beobachtet werden, wodurch die Knochendichte nach der Fütterung von Fohlengold® BoneCare auf das Level der befundfreien Kontrollgruppe angehoben wurde.

Mediatoren des Knorpel- und Knochenwachstums

SERUMKONZENTRATION KNOCHENWACHSTUMSFAKTOR BMP-2

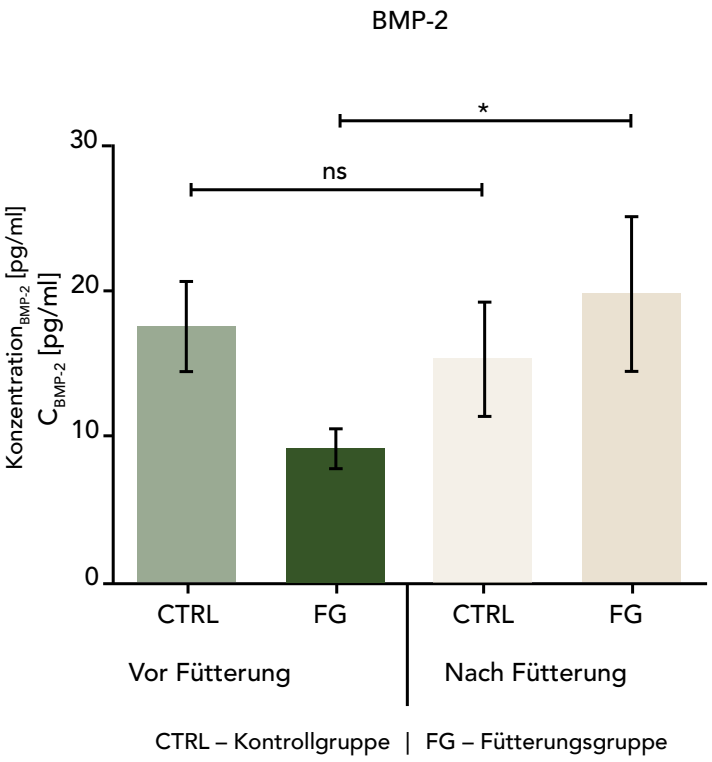


Abb. 4: Serumkonzentration des Knochenwachstumsfaktor BMP-2.
Die Ergebnisse werden als Mittelwert ± S.D. ausgedrückt. * $p < 0{,}05$.

Die Blutserumkonzentration des Knochenwachstumsfaktors BMP-2 (**B**one **M**orphogenetic **P**rotein 2) wurde vor und nach der 90-tägigen Fütterungsperiode sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Fütterungsgruppe kontrolliert (Abb. 4). BMP-2 ist ein knochenspezifisches Protein mit großer Bedeutung für die Entwicklung und Regeneration des Knochen- und Knorpelgewebes (Ortlepp, 2006). Die Studie zeigt, dass die Fütterungsgruppe vor der Supplementierung im Vergleich zu der Kontrollgruppe eine sichtbar verminderte Blutserumkonzentration an BMP-2 aufwies. Nach einer 90-tägigen Fütterungsperiode mit Fohlengold® BoneCare stieg die Blutserumkonzentration des knochenbildenden Proteins BMP-2 innerhalb der Fütterungsgruppe signifikant an, während die Kontrollgruppe einen konstanten Blutserumspiegel zeigte.

GENEXPRESSION DES TRANSFORMIERENDEN WACHSTUMSFAKTORS β

Proteine der transformierenden Wachstumsfaktor-beta-Familie (TGF-β) spielen als Signalmolekül eine Schlüsselrolle bei der Neubildung, dem Umbau und der Reparatur des Knorpels und Knochengewebes und sind von zentraler Bedeutung für Differenzierung und Entwicklungsprozesse verschiedener Zelltypen.

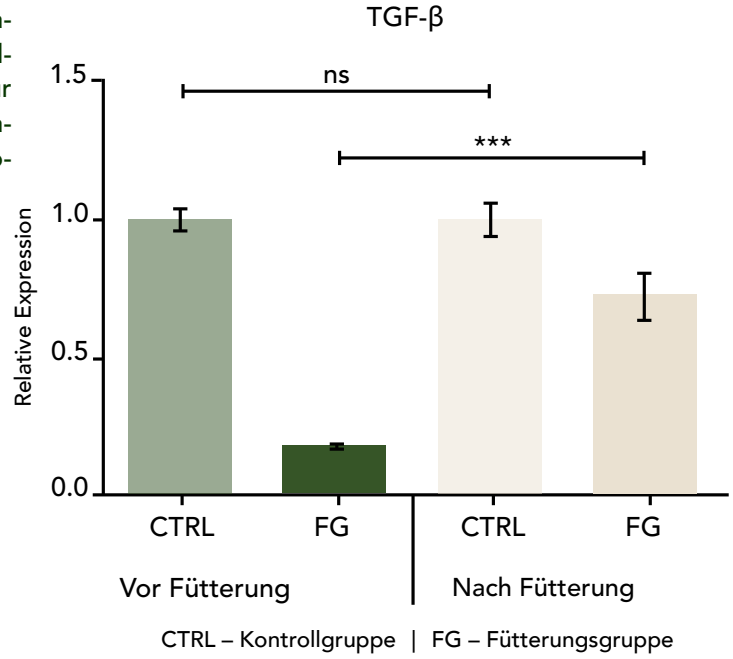


Abb. 5: Relative Genexpression des transformierenden Wachstumsfaktors β
Die Ergebnisse werden als Mittelwert ± S.D.
ausgedrückt. *** $p < 0{,}001$.

Vor und nach einer 90-tägigen Fütterungsperiode mit Fohlengold® BoneCare wurde die relative Genexpression des transformierenden Wachstumsfaktors β (TGF-β) sowohl in der Fütterungsgruppe, als auch der Kontrollgruppe untersucht (Abb. 5).
Unter physiologischen Bedingungen wird TGF-β während Entwicklung und Wachstum des Knochengewebes sowohl von knochenaufbauenden Zellen als auch an der Knochenoberfläche und in der Knochenmatrix in signifikanten Mengen exprimiert (Dodds *et al.*, 1994). TGF-β stimuliert die Reifung und Zellteilung von Osteoblasten und regt zudem die Synthese wichtiger Komponenten der Knochen- und Knorpelmatrix (Kollagen I-III, Osteopontin, Fibronektin, Proteoglykane und alkalische Phosphatase) an (Massague, 1990. Rosier *et al.*, 1998). Im Vergleich zu der Kontrollgruppe zeigte die Fütterungsgruppe vor der Fütterungsperiode ein bedeutsam geringeres Genexpressionslevel von TGF-β. Hingegen zeigt die Untersuchung nach der Fütterung mit Fohlengold® BoneCare einen hoch signifikanten Anstieg der relativen Genexpression von TGF-β innerhalb der Fütterungsgruppe. Die Kontrollgruppe hingegen zeigt über die Zeit eine konstante Genexpression des Wachstumsfaktors β.

GENEXPRESSION DES REGULATORISCHEN PROTEINS RUNX2

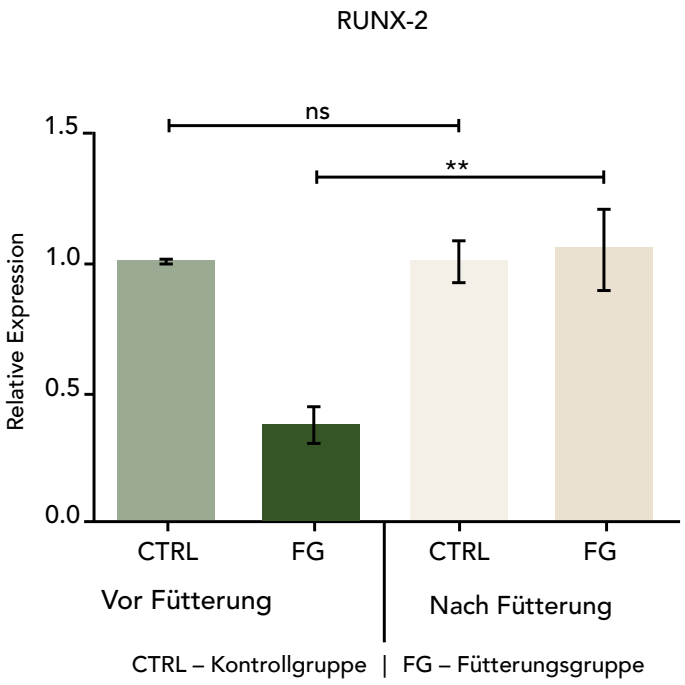


Abb. 6: Relative Genexpression von RUNX2
Die Ergebnisse werden als Mittelwert ± S.D. ausgedrückt.
* $p < 0{,}05$; ** $p < 0{,}01$

Die relative Genexpression des regulatorischen Proteins RUNX2 (Runt-related transcription factor 2) wurde jeweils vor und nach der 90-tägigen Fütterungsperiode sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Fütterungsgruppe kontrolliert (Abb. 6). RUNX2 ist als regulatorisches Protein (Transkriptionsfaktor) ein zentraler und essentieller Faktor bei der Reifung und Spezialisierung der knochenaufbauenden Zellen sowie der Entwicklung und Formation des Knorpels. Durch eine gesteigerte Expression bestimmter Gene beschleunigt RUNX2 die Differenzierung des Knorpelgewebes und orchestriert zusätzlich die Ausbildung von Blutgefäßen im wachsenden Knochengewebe (Komori, 2003; Yoshida *et al.*, 2004). Die Regulation des Runx2-Gens unterliegt komplexen Mechanismen, die wesentlich unter dem Einfluss von verschiedenen Wachstumsfaktoren der Gruppen TGF-β und BMPs stehen (Phimphilai *et al.*, 2006). Im Vergleich zu der Kontrollgruppe zeigte die Fütterungsgruppe vor der Fütterungsperiode ein deutlich geringeres Genexpressionslevel von RUNX2. Nach 90-tägiger Zufütterung von Fohlengold® BoneCare zeigte die Fütterungsgruppe ein signifikant erhöhtes Genexpressionslevel, wobei die Kontrollgruppe ein konstantes Genexpressionslevel von RUNX2 aufwies. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die Fütterung von Fohlengold® BoneCare eine moderate Genexpression des zentralen Regulators RUNX2 und somit Knochenwachstum und Entwicklung unterstützt.

Alles unter Kontrolle: Epigenetik

EPIGENETISCHE REGULATION DER GENAKTIVITÄT

Mit Hilfe verschiedener DNA-unabhängiger Prozesse kann die Aktivität eines spezifischen Gens und somit die Expression eines bestimmten Proteins sowohl unterdrückt als auch verstärkt werden. Hierbei spricht man auch von der epigenetischen Expressionskontrolle, z. B. über eine chemische Markierung (Blockade) des Erbguts (Methylierung) (Biel *et al.*, 2005). Dabei wird das Gen, ähnlich einem Lichtschalter, entweder an- oder ausgeknipst. Hierbei gibt es immer zwei Gegenspieler. Der „Bleistift" platziert die chemische Markierung und schaltet das Gen dadurch aus (Methylierung). Der „Radierer" kann diese Markierung wieder entfernen, schaltet das Gen somit wieder an (Demethylierung). Durch solche Markierungen wird die Aktivität eines Gens in einem bestimmten Teil des Körpers DNA-unabhängig kontrolliert. Diese dynamischen Modifikationen haben immer Auswirkungen auf nachgeschaltete Prozesse und sind ein wichtiger und komplexer biologischer Prozess, besonders während der Entwicklung von Säugetieren z. B. während der Zellspezialisierung.

Sowohl TET-3 (Tet methylcytosine dioxygenase 3, Mitglied der ten-eleven translocation (TET) Gen-Familie) als auch DNMT-1 (DNA-Methyltransferase 1) sind Modulatoren, die durch entsprechende epigenetische Modifikation ihrer Zielgene die Expression bestimmter Proteine spezifisch beeinflussen. Über unterschiedliche Signalkaskaden können TET-3 und DNMT-1 die Differenzierung knochenaufbauender Zellen, sogenannter Osteoblasten, hemmen.

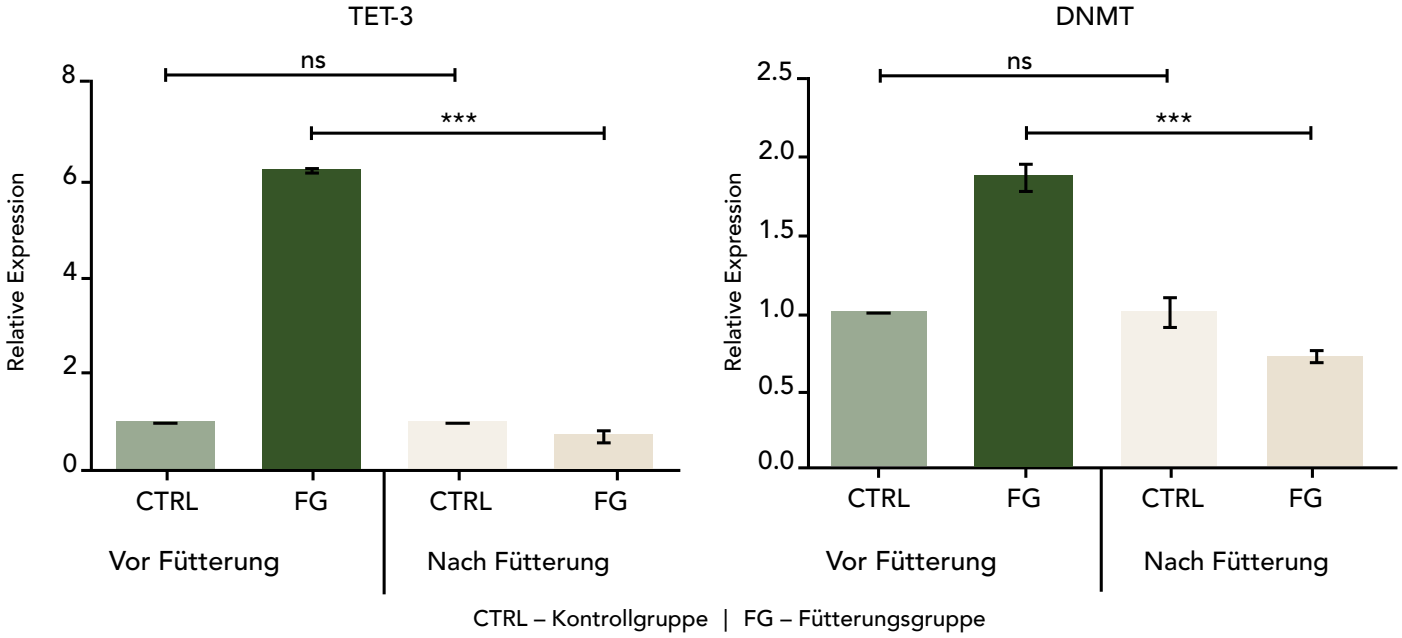


Abb. 7: Relative Expression von TET-3 und DNMT-1
Die Ergebnisse werden als Mittelwert ± S.D. ausgedrückt. *** $p < 0{,}001$.

Die relative Expression von TET-3 und DNMT-1 wurde jeweils vor und nach der 90-tägigen Fütterungsperiode kontrolliert (Abb. 7). Die Auswertung der Fütterungsgruppe zeigt, dass vor der Fütterungsperiode sowohl TET-3 als auch DNMT-1, im Vergleich zu der Kontrollgruppe, deutlich hochreguliert worden sind. Nach der Zufütterung von Fohlengold® BoneCare zeigten beide Proteine hoch signifikant verminderte Genexpressionslevel. Da beide Proteine sich negativ auf die Differenzierung der Osteoblasten auswirken, lässt sich daraus schließen, dass die initial geringere Knochendichte innerhalb der Fütterungsgruppe eine Folge der erhöhten Expression von TET-3 und DNMT-1 war und die Zufütterung von Fohlengold® BoneCare, indirekt über die verminderte Genexpression von TET-3 und DNTM-1, die Knochendichte positiv beeinflusst.

Bibliographie

- **Arnan**, P., & Hertsch, B. (2005). OCD des Fessel-, Sprung-und Kniegelenks im Vergleich vom Fohlen zum Zweijährigen. *Pferdeheilkunde*, *21*(4), 322-326.
- **Biel**, M., Wascholowski, V., & Giannis, A. (2005). Epigenetik–ein Epizentrum der Genregulation: Histone und histonmodifizierende Enzyme. *Angewandte Chemie*, *117*(21), 3248-3280.
- **Bommas-Ebert** U, Teubner P. & Voß R., Hrsg. Kurzlehrbuch Anatomie und Embryologie. 3. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2011.
- **Borchers**, A. (2002). Die Körpergewichts-und Körpergrößenentwicklung des Warmblutfohlens während des ersten Lebenshalbjahres in Bezug zur Energie-und Proteinzufuhr sowie zum Auftreten der Osteochondrose (Doctoral dissertation).
- **Bourebaba**, L., Röcken, M., & Marycz, K. (2019). Osteochondritis dissecans (OCD) in horses–Molecular background of its pathogenesis and perspectives for progenitor stem cell therapy. *Stem Cell Reviews and Reports*, *15*(3), 374-390.
- **Bötsch**, K. (2007). *Funktionelle Anatomie des Gelenkknorpels: eine Literaturstudie* (Doctoral dissertation).
- **Brownlee**, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, *414*(6865), 813-820.
- **Coenen**, M., & Vervuert, I. (2019). *Pferdefütterung*. Hrsg. 6., aktualisierte Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- **Dahlhoff**, C., Fürst, R. W., Ruhlig, K., Sedlmeier, E. M., & Bader, B. L. (2008). Epigenetik und Ernährung. *Ernährung-Wissenschaft und Praxis*, *2*(3), 116-124.
- **Deutzmann**, R., & Bruckner, P. (2014). Knorpel-und Knochengewebe. In *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie* (pp. 952-960). Springer, Berlin, Heidelberg.
- **Distl**, O. (2013). The genetics of equine osteochondrosis. *The Veterinary Journal*, *197*(1), 13-18.
- **Dodds**, R. A., Merry, K., Littlewood, A., & Gowen, M. (1994). Expression of mRNA for IL1 beta, IL6 and TGF beta 1 in developing human bone and cartilage. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, *42*(6), 733-744.
- **Edwards**, G. B. (1984). Interpreting radiographs. 2. The fetlock joint and pastern. *Equine veterinary journal*, *16*(1), 4-10.
- **Firth**, E. C., van Weeren, P. V., Pfeiffer, D. U., Delahunt, J., & Barneveld, A. (1999). Effect of age, exercise and growth rate on bone mineral density (BMD) in third carpal bone and distal radius of Dutch Warmblood foals with osteochondrosis. *Equine Veterinary Journal*, *31*(S31), 74-78.
- **Garrett**, I. R., Boyce, B. F., Oreffo, R. O., Bonewald, L., Poser, J., & Mundy, G. R. (1990). Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *The Journal of clinical investigation*, *85*(3), 632-639.
- **Gille**, D., & Vergères, G. (2016). Nutri-Epigenetik: Der Zusammenhang zwischen Ernährung und Genetik. *Schweizer Zeitschrift für Ernährungsmedizin*, *5*.
- **Henson**, F. M., Davenport, C., Butler, L., Moran, I., Shingleton, W. D., Jeffcott, L. B., & Schofield, P. N. (1997). Effects of insulin and insulin-like growth factors I and II on the growth of equine fetal and neonatal chondrocytes. *Equine veterinary journal*, *29*(6), 441-447.
- **Hertsch**, B. (1991a). Die Arthroskopie des Talokruralgelenkes bei der Osteochondrosis dissecans beim Pferd. *Swiss Vet*, *8*(11a), 67-71.
- **Hertsch**, B. (1991b). Orthopädische Probleme bei Fohlen-angeborene Beugestellungen und DurchtrittigkeitPrakt Tierarzt, Colleg Vet XXI.
- **Hertsch**, B., & Höppner, S. (1999). Gelenkchirurgie beim Pferd-Steine werden aus demWeg geraeumt. *Pferdeheilkunde*, *15*, 159-166.
- **Jeffcott**, L. B. (1991). Osteochondrosis in the horse—searching for the key to pathogenesis. *Equine veterinary journal*, *23*(5), 331-338.
- **Kegel**, B. (2013). *Epigenetik: wie Erfahrungen vererbt werden*. Dumont Buchverlag.
- **Komori**, T. (2003). Requisite roles of Runx2 and Cbfb in skeletal development. *Journal of bone and mineral metabolism*, *21*(4), 193-197.
- **König**, H. E., & Liebich, H. G. (2014). *Anatomie der Haussäugetiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis*. Schattauer Verlag.
- **Kroll**, A. (1999). Zur Osteochondrosis dissecans beim Saugfohlen–eine röntgenologische Studie [Dissertation med. vet]. *Berlin: Freie Univ. Fachbereich Veterinärmed.*
- **Kurth**, A., & Lange, U. (Eds.). (2018). *Fachwissen Osteologie*. Elsevier Health Sciences.
- **Massague**, J. (1990). The transforming growth factor-beta family. *Annual review of cell biology*, *6*(1), 597-641.
- **Meyer**, H. (1996). Das neugeborene Fohlen-alles startklar. *Pferdeheilkunde*, *12*(3), 171-178.
- **Nixon**, A. J. (1993). Die Oberfläche des Gelenkknorpels: Struktur und Funktion. *Pferdeheilkunde*, *9*, 95-100.
- **Ortlepp**, R. (2006). *Expression und Regulation von BMP 2, 4, 5, Osteocalcin, Bone Sialo Protein und Alkalischer Phosphatase in primären Osteoblasten-Zellkulturen und Leukozyten von Patienten mit Hypo-und Hyperphosphatasie* (Doctoral dissertation).
- **Pagan**, J. D., Geor, R. J., Caddel, S. E., Pryor, P. B., & Hoekstra, K. E. (2005). The relationship between glycemic response and the incidence of OCD in Thoroughbred weanlings: A field study. *Advances in Equine Nutrition III*, *3*, 433.
- **Phimphilai**, M., Zhao, Z., Boules, H., Roca, H., & Franceschi, R. T. (2006). BMP signaling is required for RUNX2-dependent induction of the osteoblast phenotype. *Journal of Bone and Mineral Research*, *21*(4), 637-646
- **Reynard**, L. N., & Loughlin, J. (2012). Genetics and epigenetics of osteoarthritis. *Maturitas*, *71*(3), 200-204.
- **Rosier**, R. N., O'Keefe, R. J., & Hicks, D. G. (1998). The potential role of transforming growth factor beta in fracture healing. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*, *355*, S294-S300.
- **Stashak** T. S. (1989). Adam's Lahmheiten bei Pferden, 4. Auflage, Verlag M. & H. Scharper, Hannover
- **Stöckli**, M. & G. Ueltschi (1992): Radiologische Untersuchung am Fesselgelenk klinisch gesunder und lahmer Pferde.Pferdeheilkunde 8 (4): 209-214.
- **van Weeren**, P. R. (2006). Etiology, diagnosis, and treatment of OC (D). *Clinical Techniques in Equine Practice*, *5*(4), 248-258.
- **Wilke**, A. (2003). *Der Einfluss von Aufzucht und Haltung auf das Auftreten von Osteochondrose (OC) beim Reitpferd;* Doctoral dissertation
- **Yoshida**, C. A., Yamamoto, H., Fujita, T., Furuichi, T., Ito, K., Inoue, K. I. & Komori, T. (2004). Runx2 and Runx3 are essential for chondrocyte maturation, and Runx2 regulates limb growth through induction of Indian hedgehog. *Genes & development*, *18*(8), 952-963.
- **Wünschiers**, R. (2019). Erbgut und Umwelt: Epigenetik. In *Gentechnik* (pp. 33-36). Springer Spektrum, Wiesbaden.

Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der vorliegende Studie zeigen den epigenetischen Einfluss von Ernährungsfaktoren auf das Aktivitäts- und Expressionsmuster verschiedener Gene und Signalmoleküle, die am komplexen Wachstumsprozess des equinen Bewegungsapparates beteiligt sind.
Nach der Fütterung von Fohlengold® BoneCare zeigten die Tiere der Fütterungsgruppe eine gesteigerte Blutserumkonzentration sowie Expression wichtiger Mediatoren des Knochen- und Knorpelwachstums. Zeitgleich wurde die Expression verschiedener Modulatoren, die den Wachstumsprozess des Bewegungsapparates hemmen, herunterreguliert. Röntgenologische Aufnahmen der Fütterungsgruppe bestätigen die molekulargenetischen Ergebnisse durch einen hoch signifikanten Anstieg der Knochendichte nach der Fütterung mit Fohlengold® BoneCare.

FAZIT

Fohlen und junge Pferde haben während des Wachstums und der Skelettentwicklung besonders hohe Ansprüche an ihre Ernährung.
Durch eine optimal aufeinander abgestimmte und bedarfsgerechte Versorgung des wachsenden Fohlens mit wichtigen Nähr- und Baustoffen unterstützt und fördert Fohlengold® BoneCare gezielt ein stabiles und kontrolliertes Knochenwachstum. Fohlengold® BoneCare versorgt das wachsende Jungtier mit essentiellen Proteinbausteinen in Form von Nukleotiden, unterstützt die Synthese wichtiger Strukturmoleküle von Knochen- und Knorpelmatrix und verbessert die Widerstandsfähigkeit des wachsenden Gewebes gegen oxidative Stressoren durch schützende Antioxidantien.

St. Hippolyt Mühle Ebert GmbH
Talstraße 27 | D-69234 Dielheim
Telefon +49 (0) 6222 990 100
www.st-hippolyt.de
info@st-hippolyt.de

Klimaneutral
Druckprodukt
ClimatePartner.com/12518-1907-1001

Zur digitalen Studie