

2 Literaturübersicht

Die Bezeichnung Vitamin A gilt für Verbindungen, die qualitativ die biologische Aktivität von *all-trans*-Retinol, also des Vitamin-A-Alkohols, aufweisen. Der biologische Vitamin-A-Begriff umfasst Retinol und seine Ester. Diese Verbindungen besitzen die Vitamin-A-Wirkung, weil sie metabolisch in Retinal und Retinsäure umgewandelt werden können und alle Symptome eines Vitamin-A-Mangels beseitigen können (Sloop 1983). *Retinoide* ist ein allgemeiner chemischer Oberbegriff, der sowohl die natürlich vorkommenden Verbindungen mit Vitamin-A-Aktivität als auch synthetische Derivate des Retinols mit und ohne Vitamin-A-Aktivität umfasst. Biologisch-medizinisch wird, um Missverständnissen vorzubeugen, der Begriff *Retinoide* als Bezeichnung für alle natürlichen und synthetischen Retinsäure-Derivate gebraucht (Watson *et al.* 1995). Als Endprodukte der Vitamin-A-Stoffwechselkette besitzen Retinoide nicht alle Wirkungen von Vitamin A. So haben Retinoide keinen Einfluss auf die Spermatogenese und den Sehzyklus. Retinsäure kann nicht mehr zu Retinol metabolisiert werden, wodurch die Wirkungen des Retinols verloren gehen.

Aufgrund unterschiedlicher Bewertungen der biologischen Aktivität dieser Verbindungen bestand in der Vergangenheit das Problem der Umrechnung der einzelnen Substanzen ineinander. Die Angabe Internationale Einheit (IE) ist strenggenommen nur zulässig für isolierte Substanzen mit Vitamin-A-Charakter. Die Angabe Retinol-Äquivalent (RE) wird gebraucht, um alle möglichen Quellen von Vitamin A und Carotinoiden in der Nahrung zu erfassen. Hierbei finden auch Interaktionen und exogene Faktoren wie Wärme oder Licht Beachtung. Eine IE Vitamin A entspricht 0,3 µg Retinol (American Heart Association 2002). Nach WHO-Angabe sind ein RE äquivalent zu einem µg Retinol oder sechs µg β-Carotin oder 12 µg anderer als Provitamin A fungierender Carotinoide (Kovanen *et al.* 1981).

2.1 Vorkommen, Struktur, Funktionen und Bedeutung von Vitamin A

2.1.1 Vorkommen von Vitamin A

Vitamin A kommt ausschließlich im tierischen und menschlichen Organismus vor (Meyer und Bronsch 1993). Es wird entweder in Form von Retinol und Retinylestern aus tierischen Produkten oder über die vor allem in Pflanzen anzutreffenden Vorstufen von Vitamin A, den Carotinoiden, aufgenommen. Die Funktionen der Retinoide sind sehr unterschiedlich, obwohl sie chemisch eine ähnliche Struktur aufweisen. Carotinoide stellen unter anderem für Mensch und Tier Provitamine dar. Das Carotinoid mit der höchsten Provitamin-A-Aktivität ist das *all-trans*-β-Carotin (Kolb und Seehawer 2001). Natürliche Quellen an präformiertem Vitamin A sind tierische Produkte, wobei Leber, Butter und Eigelb einen besonders hohen Gehalt aufweisen. Als gute Vitamin-A-Lieferanten sind Milch, Käse, Sahne und auch bestimmte

Fischarten, wie Haifisch, Heilbutt und Makrele zu nennen (Silbernagel 1991). Gesunde Hunde verwerten das aufgenommene Vitamin A zu etwa 80-95 Prozent (Kolb und Seehawer 2001).

2.1.2 Struktur, biochemische Funktionen und Bedeutung wichtiger Vitamin-A-Metabolite

Vitamin A besteht aus einem acyclischen Polyenalkohol, bei dem zwei Isoprenmoleküle zu einem β -Iononring kondensiert sind. Die vier Isoprenoideinheiten besitzen fünf C-Doppelbindungen und eine funktionelle Gruppe am Ende des acyclischen Anteils. Aufgrund dieser mehrfach ungesättigten Polyenstruktur ist Vitamin A sehr empfindlich gegenüber Luftsauerstoff, Licht und Wärme. Die Ester sind stabiler als der Alkohol (Kolb und Seehawer 2001).

Die verschiedenen Vitamin-A-Derivate des Organismus zeigen unterschiedliche funktionelle Wirkungen. Der wichtigste Vertreter ist das Retinol mit einer terminalen Alkoholgruppe. Retinol ist die Transportform von Vitamin A im Organismus. Für die Reproduktion, wie zum Beispiel Spermatogenese, Aufrechterhaltung des Samenleiterepithels, Oogenese, Plazentaentwicklung und Embryonalentwicklung ist Retinol von grundlegender Bedeutung und kann nicht durch Retinsäure ersetzt werden (Goodman 1979). Retinol ist bei den genannten Vorgängen nur wirksam, wenn es über Retinal zur Retinsäure oxidiert werden kann. Die Retinsäure kann die Funktionen von Retinol und Retinal nicht ersetzen, weil es nicht zu Retinol oder Retinal dehydriert werden kann (Meyer und Zentek 1998). Retinal ist ein unverzichtbarer Bestandteil des Sehorgans. Es entsteht durch Oxidation von Retinol, das in der Pigmentepithelzelle sowohl in der *all-trans*- als auch in der *cis*-Form verestert und somit gespeichert werden kann (Goodman 1979).

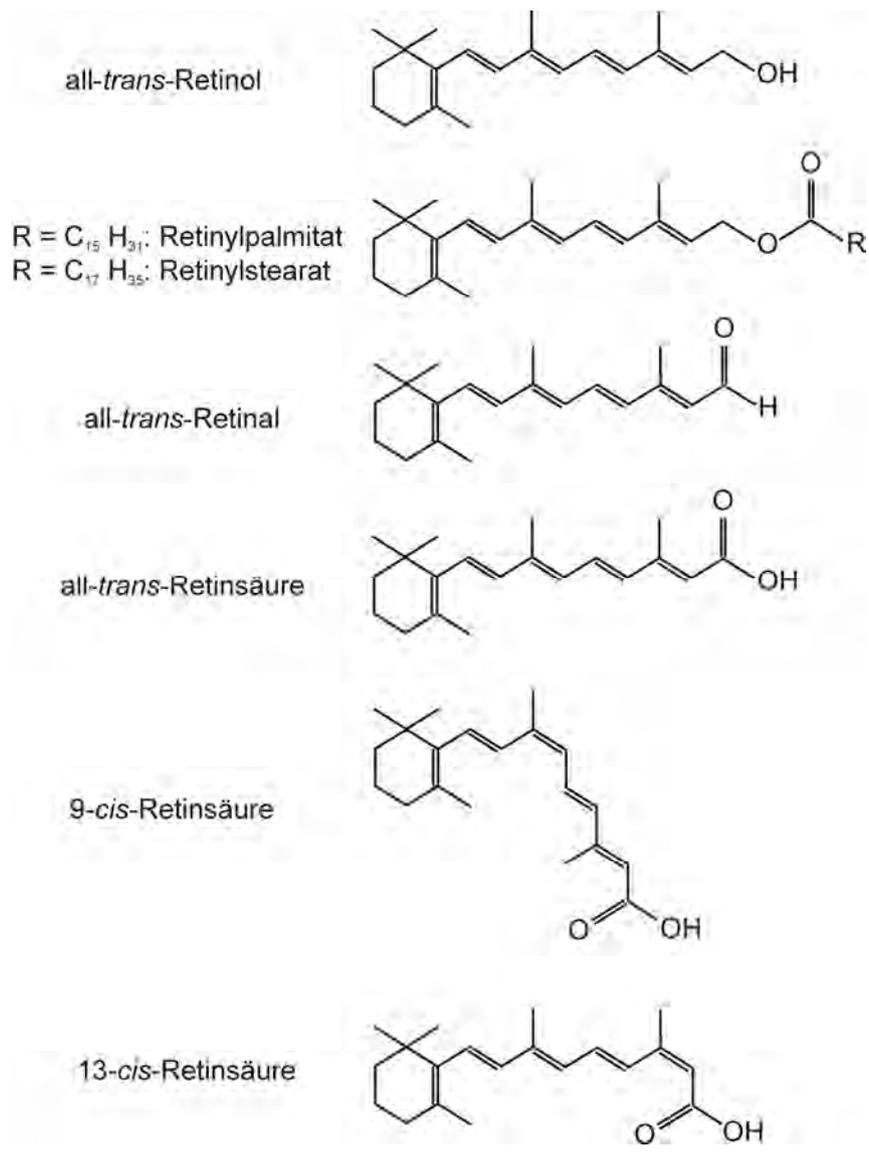


Abb. 2.1: Strukturformeln physiologisch bedeutsamer Vitamin-A-Verbindungen

Retinsäure vermittelt über zwei nukleäre Rezeptorfamilien, abgesehen von den Funktionen im Auge und Hoden, alle anderen Wirkungsmechanismen von Vitamin A (Sommer 1994). In den meisten Zelltypen wird das all-*trans*-Retinal durch eine Dehydrogenase in die all-*trans*-Retinsäure überführt, die durch eine Isomerase in die 9-*cis*-Retinsäure umgewandelt wird. Die Retinsäuren werden an nukleäre Rezeptoren gebunden, bei denen zwei Gruppen unterschieden werden; die all-*trans*-Retinsäurerezeptoren (RAR) und die 9-*cis*-Retinsäurerezeptoren (RXR) mit ihren jeweiligen Subtypen und Isoformen. Die Rezeptoren bilden Doppelmoleküle (Dimere) aus RAR- und RXR-Molekülen, die wegen der Vielzahl von Isoformen in großer Variabilität vorkommen und jeweils an die reaktionsfähigen Abschnitte ganz bestimmter Gene angelagert werden. Dadurch ist die Aktivierung und eine Feinregulation der Transkription von über 500 Genen möglich (Whitley *et al.* 1991). Während

der RAR sowohl durch die *all-trans*- als auch durch die *9-cis*-Retinsäure aktiviert wird, erfolgt eine Aktivierung der RXR ausschließlich durch die *9-cis*-Retinsäure. Der RXR kann seine Wirkung auch durch die Bildung von Dimeren mit anderen nukleären Rezeptoren, wie dem Vitamin-D- oder dem Schilddrüsen-Hormonrezeptor, vermitteln (Kolb und Seehawer 1998).

Die Retinsäure, in *cis-trans*-Form zeigt eine ausgeprägte Wirkung auf die Proliferation und Differenzierung verschiedener Gewebe, z.B. Respirationsepithel, Darmschleimhaut, Haut, Knochengewebe und embryonale Zellen (Sommer 1994). Sehr bedeutend ist ihre regulierende Wirkung auf diverse Tumorzellen. Retinsäure inhibiert die Tumorinduktion und das Wachstum maligner Zellen. In den Hoden wird Retinsäure für die Testosteronsynthese benötigt (Kolb und Seehawer 2001).

Retinylester sind die Speicherform von Vitamin A, vorwiegend als Retinylpalmitat, -stearat und -oleat. Hauptspeicher sind die Leber oder andere funktionell abhängige Organe wie zum Beispiel Niere, Retina, Hoden und Lunge (Kolb und Seehawer 2001). Glucuronidierte Verbindungen bilden eine Form der Ausscheidungsprodukte und haben *in vitro* eine biologische Wirkung auf Wachstums- und Differenzierungsprozessen (Iben 1996). Die chemischen Strukturen bedeutsamer Vitamin-A-Verbindungen sind in Abb. 2.1 dargestellt.

2.2 Allgemeiner Vitamin-A-Stoffwechsel

2.2.1 Absorption, Transport zur Leber und Metabolismus in der Leber

Bevor die Aufnahme in die Mucosazelle im Darm erfolgen kann, müssen die lipophilen Retinylester im Zuge der Fettverdauung enzymatisch umgebaut werden. Die enzymatische Aufschließung der Nahrungsfette ist Voraussetzung für ihre Absorption. Die fettspaltenden Enzyme, die Lipasen, stammen aus den Zungengrunddrüsen und aus dem Pankreassaft. Um den Lipasen eine große Angriffsfläche zu bieten, erfolgt im distalen Magen eine mechanische Emulgierung der Fette. Diese Fettemulsion wird gesteuert durch den Pylorus ins Duodenum abgegeben und dort mit Pankreassaft und Galle versetzt. Eine Vielzahl von Pankreasenzymen, wie z.B. die Cholesterolesterase, sorgt für die Hydrolyse, mit deren Fortschreiten die Fettpartikel immer kleiner werden. Es kommt unter Mitwirkung von Gallensäuren zur Bildung gemischter Micellen, wobei sich die Partikelgröße von der Fettemulsion zur Micelle um den Faktor Hundert verkleinert (Tong *et al.* 1990). Mit ihrer Größe von nur 3-6 nm erlauben die Micellen einen innigen Kontakt der lipophilen Fettspaltprodukte mit der Darmwand und sind notwendige Voraussetzung für eine normale Lipidabsorption (Scott 1985). Die durch die Hydrolyse gebildeten Produkte gelangen in Form gemischter Micellen an die Bürstensaummembran und werden von dort passiv in die Mucosazelle aufgenommen (Kolb und Seehawer 2001). Die Retinylester werden von einer unspezifischen

Pankreaslipase (spaltet besonders kurzkettige Retinylester) und durch eine im Bürstensaum der Enterocyten lokalisierten Retinylester-Hydrolase (spaltet bevorzugt langkettige Retinylester, wie Retinylpalmitat und -stearat) an der Bürstensaummembran zu Retinol hydrolisiert, wobei die Fettsäuren abgespalten werden (Scott 1985). Als Resultat wird freies dann Retinol, zusammen mit anderen lipophilen Nahrungssubstanzen, von den Mucosazellen durch erleichterte Diffusion aufgenommen. Daneben wird jedoch auch die protein-vermittelte Aufnahme von Retinol diskutiert. Studien über die Aufnahme von Retinol an humanen Kolonkrebszelllinien weisen darauf hin, dass Retinol in physiologischen und pharmakologischen Konzentrationen über einen gesättigten, carrier-vermittelten-Prozess und einen ungesättigten, diffusionsabhängigen Prozess aufgenommen werden kann (Scott 1985). Bisher wurde zwar noch kein Protein identifiziert, dass bei der Retinolaufnahme mitwirkt, aber drei bisher gefundene membrangebundene Proteine, die für die Aufnahme von Fettsäuren wichtig sein könnten, wirken möglicherweise auch beim Retinoltransport mit. Eventuell spielen auch noch weitere Proteine eine Rolle (Scott 1985). Die Absorptionsrate kann bis zu 80-90% der aufgenommenen Retinylester betragen (Nelson 1985) und ist abhängig von Art und Menge des zugeführten Fettes sowie von der Gallensekretion (Scott 1985). Die zur Resorption essentiellen Gallensäuren gelangen nach Sekretion in das Darmlumen in das *Ileum*, wo sie teilweise resorbiert und über die *V. portae* zur Leber zurücktransportiert werden. Von dort gelangen sie dann erneut in die Galle und schließen den enterohepatischen Kreislauf.

Das β -Carotin kann durch zwei Prozesse zu Retinol umgewandelt werden. Entweder wird es direkt durch passive Diffusion in die Mucosazellen des Dünndarmepithels resorbiert und kann dann in den Enterozyten durch oxidative Spaltung der zentralen Doppelbindung des Carotinoidmoleküls durch das Enzym β -Carotin-15, 15'-Dioxygenase über die Zwischenstufe Retinal umgewandelt werden oder β -Carotin wird durch exzentrische Spaltung über die Bildung von apo-Carotinalen zu Retinol (Nelson 1985). Eine andere Möglichkeit ist der Einbau der Carotinoide in Chylomikronen und die damit unveränderte Abgabe in die Lymphe. Je besser die Vitamin-A-Versorgung des Organismus ist, desto geringer ist die Resorption von β -Carotin und die Aktivität der Dioxygenase. Retinal wird anschließend durch NADH-abhängige Reduktasen zu Retinol reduziert (Kolb und Seehawer 2001). Die aus der exzentrischen Spaltung hervorgegangenen apo-Carotinale können in verschiedenen Zellen des Organismus' als Quelle zur Retinsäuresynthese dienen (Schweigert 1998).

Es gibt zwei Möglichkeiten das so gebildete Retinol mit Hilfe langkettiger Fettsäuren in der Mucosazelle rückzuverestern. Diese Reaktion wird von zwei mikrosomalen Enzymen vermittelt, der Lecithin:Retinol-Acyltransferase (LRAT) und der Acyl Coenzym A:Retinol-

Acyltransferase (ARAT). Bei physiologischer Zufuhr erfolgt zunächst die Bindung von Retinol an ein spezielles intestinales Protein, dem zellulären Retinol-Bindungsprotein Typ II (CRBP II). CRBP II unterscheidet sich aufgrund seiner spektroskopischen und immunologischen Eigenschaften von dem in verschiedenen Geweben nachgewiesenen zellulären Retinol-Bindungsprotein Typ I (CRBP I) (Bässler 1997). In der Struktur sowie in den genetischen und biochemischen Eigenschaften, sind sich beide Proteine sehr ähnlich und gehören in die Familie der fettsäurebindenden Proteine. Während CRBP I in vielen Geweben vorkommt, ist CRBP II hauptsächlich in den Enterocyten des Dünndarms vorhanden (Hayes 1982, Kolb und Seehawer 2001). Aufgrund der Lokalisation und des reichlichen Vorhandenseins ist anzunehmen, dass CRBP II hauptsächlich für die Retinolabsorption im Darm zuständig ist (Meyer und Bronsch 1993). An CRBP II gebundenes Retinol ist das bevorzugte Substrat der LRAT. Bei Resorption großer Mengen ist auch die direkte Veresterung des Retinol durch die ARAT möglich, sobald die Sättigungsdosis von CRBP II erreicht ist (Meysken 1994). Die entstehenden Retinylester Palmitat, Stearat, Oleat und Linoleat bilden ein Verhältnis von 8:4:2:1. Dieses Verhältnis spiegelt jedoch nicht die Fettsäurezusammensetzung der aufgenommenen Nahrung wider (Terpstra 1985). Eine andere Funktion des CRBP II ist darin zu sehen, dass es durch die Bindungsmöglichkeit die Menge an freiem Retinol in den Membranen der Enterocyten limitiert. Dadurch kommt es zur Regulierung der Wirkung von freiem Retinol, das bei Überschuss die Struktur und Funktion von Membranen zerstören kann (Goodman 1979).

Nach Einbau der Retinylester in Chylomikronen erfolgt die Ausschleusung mit der Darmlymphe über die Lymphbahnen in den Blutkreislauf. Nach der Passage des *Ductus thoracicus* zirkulieren die in den Chylomikronen enthaltenen Retinylester zusammen mit anderen fettlöslichen Substanzen, z.B. Triglyceride, Cholesterol, Carotinoide oder Phospholipide, im peripheren Blut (Smith *et al.* 1985). Chylomikronen sind die Transportform der resorbierten und in den Enterozyten resynthetisierten Nahrungsfette im Blut (Matthews *et al.* 1990). Das Auftreten der Chylomikronen im Blutplasma wird als postprandiale Lipämie bezeichnet (Goodman 1984a, Schweigert und Zucker 1991). Sie werden in charakteristischer Art und Weise gebildet und bestehen aus Triglyceriden (87%), Phospholipiden (6%), Cholesterin (3%), Carotinoiden, Retinylestern und anderen fettlöslichen Vitaminen sowie einigen speziellen Apolipoproteinen (Eckhoff *et al.* 1991, Vaisman *et al.* 1992, Schweigert und Thomann 1993). Apoproteine (z.B. A, B₄₈, B₁₀₀, C, E) weisen eine amphipatische Struktur auf und ermöglichen damit die Vermittlung zwischen lipophilem Kern und hydrophilem Medium. Je nach Apoproteinzusammensetzung ergeben sich verschiedene Transportpartikel, wobei die Apoproteine als Erkennungsmerkmal für spezifische Rezeptoren in den Geweben fungieren (Schweigert 1988, Schweigert und Zucker 1991, Raila 2000).

Alle Retinylester, die sich in den Chylomikronen befinden, bleiben auch in den sich in den Blutkapillaren bildenden kleineren Partikeln, den Chylomikronenresten (Chylomikron-Remnants) erhalten, die das Resultat der Hydrolyse der Triglyceride sind. Vermittelt wird der Abbau durch die Aktivität einer endothelial lokalisierten Lipoproteinlipase (Wilson *et al.* 1987, Schweigert 1988). Sowohl das low-density lipoprotein (LDL) Rezeptor- verwandte Protein (LRP), als auch die Lipoproteinlipase (LPL) können Chylomikronenreste binden und sind an der Aufnahme dieser beteiligt (Mallia *et al.* 1975, Smith und Goodman 1976). Retinylester werden in der postprandialen Phase hauptsächlich von Chylomikronen und Chylomikronenresten transportiert. Die Richtigkeit dieser Annahme wird durch die Befunde unterstützt, dass Retinylester in Chylomikronen bzw. Chylomikronenresten erhalten bleiben und das Retinylester, außer bei Fleischfressern, von der Leber nicht mit VLDL ausgeschieden werden (Reinersdorff *et al.* 1996). Ein kleiner, aber signifikanter Anteil gelangt, wahrscheinlich als freies Retinol, in den Portalkreislauf. Dies ist vermutlich von Bedeutung, wenn durch pathologische Zustände die Sekretion der Chylomikronen beeinflusst wird. Der Transport von freiem Retinol könnte dann ein Regulationsmechanismus für die Erhaltung der Vitamin-A-Homöostase darstellen (Roodenburg 2000).

Obwohl Chylomikronenreste hauptsächlich die Leber passieren, kann auch die extrahepatische Aufnahme eine wichtige Rolle für die Versorgung der extrahepatischen Gewebe mit intensiver Zellproliferation und Differenzierung mit Retinol und Carotinoiden spielen. Solche Gewebe sind zum Beispiel Knochenmark, Milz, Lunge, Fettgewebe, Skelettmuskelgewebe und Nieren. Die Chylomikronenreste werden an Lipoproteinrezeptoren von Zellen angelagert (Watson *et al.* 1995). Freigesetztes Retinylester wird in die Zelle aufgenommen. Hierdurch ist eine Versorgung der Zielzellen mit Vitamin A unabhängig von der gesteuerten Ausschleusung des RBP-TTR (Transthyretin)-Retinolkomplexes aus der Leber möglich (Krasinski *et al.* 1989). Danach erfolgt die Spaltung der Retinylester in Retinol und Fettsäuren. Retinol wird in Retinsäure umgewandelt, die zur Regulation der Transkription eingesetzt werden. Kleine Mengen an Vitamin A können in einigen Organen, wie z.B. in den Nieren, an ein dort gebildetes RBP gebunden und mit diesem in das Blutplasma gelangen. Somit tragen auch extrahepatische Gewebe zur Erhaltung eines konstanten Vitamin-A-Spiegels im Blut bei (Reinersdorff *et al.* 1996, Hadjadj *et al.* 1999).

In der Leber werden fünf Zelltypen unterschieden: Parenchymzellen (Hepatocyten), Endothelzellen der Sinusoide, Kupferzellen, leberassoziierte Killerzellen sowie perisinoidale Stellatumzellen (Fettspeicherzellen, auch Stern- oder Itozellen oder Perizyten genannt). Die Parenchymzellen und perisinoidalen Stellatumzellen spielen eine wichtige Rolle im Vitamin-A-Metabolismus (Reinersdorff *et al.* 1996). Die Chylomikron-Remnants und die

mittransportierten Retinylester werden von den Parenchymzellen der Leber über einen Prozess aufgenommen, der den Abbau der Chylomikron-Remnants im Disse'schen Raum, weitere lipolytische Prozesse sowie die rezeptorvermittelte Aufnahme in die Zelle beinhaltet. Abhängig vom Vitamin-A-Status des Organismus kann nach der Hydrolyse der Retinylester durch eine Retinylester-Hydrolase an der Plasmamembran das sich bildene Retinol entweder in der Parenchymzelle an CRBP gebunden und / oder zu den perisinusoidalen Stellatumzellen der Leber transportiert werden, die etwa sechs Prozent der Leberzellen ausmachen (Collins *et al.* 1992). In verschiedenen Studien wurde nachgewiesen, dass Retinol-Bindungsprotein (RBP) von den Parenchymzellen der Leber synthetisiert und abgegeben wird. Der RBP-Retinol-Komplex steht im Blutplasma für die Versorgung peripherer Gewebe bereit (Blomhoff 1987). Der Mechanismus des Retinol-Transfer von den Hepatocyten wird diskutiert (Blaner 1989). Da bei der Zugabe von Antikörpern gegen RBP der Transfer von den Hepatocyten zu den Fettspeicherzellen blockiert wurde, ist die Annahme berechtigt, dass möglicherweise RBP das Transportprotein ist (Green *et al.* 1985, Green *et al.* 1993). In den Stellatumzellen bildet das Retinol den wichtigsten Vitamin-A-Pool (50-80%) des Körpers. Etwa 80-90 Prozent der Retinylester sind in der Leber in den Stellatumzellen und etwa 10-20 Prozent in den Parenchymzellen enthalten (Reinersdorff *et al.* 1996). Vitamin A wird also vorwiegend in Form von neu synthetisierten Retinylestern, die in intrazytoplasmatischen Lipidtröpfchen nachweisbar sind, gespeichert.

Nach erneuter Hydrolyse der Retinylester wird Retinol im endoplasmatischen Retikulum an RBP gebunden. Für die Mobilisierung von Retinol aus der Leber wird entweder ein Transport in die Parenchymzellen mit anschließender Sekretion oder die direkte Sekretion aus den Sternzellen diskutiert (Le *et al.* 1997, Harrisson und Hussain 2001). An RBP gebunden wird Vitamin A von der Leber zu den peripheren Geweben transportiert (Hadjadj *et al.* 1999). Die Mobilisierung von Vitamin A aus der Leberzelle ist sehr spezifisch und unterliegt unter anderem dem Einfluss der Geschlechts- und der Nebennierenrindenhormone. Sie richtet sich nach dem Bedarf der peripheren Gewebe und verstärkt sich bei abnehmenden Gehalt von Vitamin A im Blutplasma (Wilson *et al.* 1987, Schweigert 1988). Das apo-RBP reflektiert den Retinolverbrauch in den peripheren Geweben und spielt somit eine wichtige Rolle in der Regulation der Plasma-Retinol-Konzentration. Die Zunahme von apo-RBP führt zur Mobilisierung von Vitamin A als Retinol-RBP-Komplex aus der Leber (Melchior *et al.* 1981, Wilson *et al.* 1987).

2.2.2 Transport und Aufnahme von Vitamin A in die Organe

2.2.2.1 Das spezifische Transportsystem mittels RBP

Das spezifische Transportsystem für Vitamin A besteht aus zwei Proteinen, dem RBP und Präalbumin, auch als Transthyretin (TTR) bezeichnet. Seit der Erstisolierung des humanen RBP von Kanai (1968) haben viele Studien zu einem enormen Wissenszuwachs über die Struktur, den Metabolismus und die biologische Rolle des RBP und des Präalbumins geführt. Ob RBP neben den Parenchymzellen der Leber auch von den Sternzellen synthetisiert wird, ist noch nicht eindeutig geklärt (Berr 1992). Auch in extrahepatischen Geweben wurde mRNA für RBP gefunden, was die Annahme zulässt, dass RBP auch dort synthetisiert werden kann (Ishihara 1976).

RBP gehört zu den Lipocalinen, die kleine hydrophobe Moleküle binden können. Neben *all-trans*-Retinol können auch andere Vitamin-A-Metabolite, wie Retinsäuren, Retinal, sowie die 9-*cis*-, 11-*cis*-, und 13-*cis*-Isomere von Retinol, mit gleicher Affinität gebunden werden, während langkettige Retinylester und andere Fette (Cholesterol, Fettsäuren) nicht mit RBP in Verbindung treten (Sivaprasadarao und Findlay 1994). RBP bindet ein Molekül Retinol in Form eines 1:1 molaren Komplexes (holo-RBP). Die Molmasse des Komplexes beträgt 21.000 Dalton. Durch die Interaktion mit TTR mit einer Molmasse von 55.000 im endoplasmatischen Retikulum der Hepatozyten zirkuliert im Plasma ein 1:1 molarer holo-RBP-TTR-Komplex (Smith und Goodman 1976). Durch die Bindung an TTR und die Erhöhung der Molmasse auf 76.000 Dalton wird die glomeruläre Filtration von Retinol in der Niere weitgehend eingeschränkt (Kanai *et al.* 1968; Wilson *et al.* 1987). Der Komplex kann aber in die Zellen aufgenommen werden. Die Interaktion von Retinol mit RBP scheint den RBP-TTR-Komplex zu stabilisieren (Goodman 1984b). Es gibt auch die Annahme, dass TTR eine direkte Rolle im Vitamin-A-Metabolismus spielen könnte. Kato *et al.* (1984) schließen dies aus Experimenten, die sie mit radioaktiv gekennzeichnetem Retinol durchgeführt haben. Dabei wurde etwa doppelt so viel Retinol in Leberzellen befördert, wenn es im TTR-Retinol-RBP-Komplex gebunden war, verglichen mit dem Retinol-RBP Komplex. Vielleicht wirkt TTR über einen spezifischen Rezeptor an der Zelloberfläche. Nach übermäßiger Zugabe von TTR kam es zur Hemmung der zellulären Vitamin-A-Aufnahme vom Retinol-RBP-TTR Komplex (Kato *et al.* 1984). Ca. 95% des RBP im Plasma liegt in Verbindung mit TTR vor (Goodman 1984b). Die restlichen 5% von RBP sind nicht an TTR gebunden, werden aufgrund der geringen Molmasse glomerulär filtriert und im proximalen Tubulus rückresorbiert (Grenn *et al.* 1985). Daher ist RBP bei physiologischer Nierenfunktion im Harn nicht nachweisbar (Soprano *et al.* 1988).

Im gesunden Tier bilden die Retinsäuren nur einen sehr kleinen Anteil an der Gesamt-Vitamin-A-Konzentration. Sie entsteht durch Oxidation von Retinaldehyd im Darm, das sich

vom β -Carotin abspaltet. Durch das Portalvenensystem erfolgt die Absorption. Eine Akkumulation in der Leber und anderen Geweben findet kaum statt. Sie wird sehr schnell metabolisiert, besonders zu polaren Vitamin-A-Metaboliten. Die Ausscheidung erfolgt über Urin und Galle, mit der teilweise ein enterohepatischen Kreislauf besteht. Retinsäuren werden im Gegensatz zu Retinol im Blut nicht an RBP, sondern an Albumin gebunden transportiert (Goodman 1979).

In der Zielzelle wird der RBP-Retinol-TTR-Komplex an einen spezifischen Zelloberflächenrezeptor gebunden und Retinol aus dem Komplex gelöst. Andererseits wäre es auch denkbar, dass der gesamte Retinol-RBP-Komplex in die Zelle gelangt und das Retinol erst dort abgegeben wird (Hadjadj *et al.* 1999). Der übriggebliebene RBP-TTR-Komplex zerfällt und RBP wird in der Niere, aufgrund der dann wieder geringeren Molmasse, glomerulär filtriert und tubulär abgebaut (Wilson *et al.* 1987, Watson *et al.* 1995). Das in die Zielzelle aufgenommene Retinol wird von dort zum größten Teil dem Plasma erneut zugeführt und an das dort vorliegende RBP gebunden (Berr und Kern 1984, Le *et al.* 1997, Hadjadj *et al.* 1999, Koutsari *et al.* 2000). Es steht zur Diskussion, dass unter physiologischen Bedingungen die Niere sowohl eine effektive Rückresorption von RBP aus dem Primärfiltrat als auch eine RBP-Neusynthese im proximalen Nierentubulus gewährleistet (Hadjadj *et al.* 1999).

Am Rezeptor der Zielzelle wird Retinol nach endständiger Decarboxylierung des RBP an ein zelluläres Carrierprotein abgegeben (Karpe *et al.* 1995). Vier spezielle Bindungsproteine für Retinol und Retinsäure (zelluläres Retinol-Bindungsprotein Typ I + II und zelluläres Retinsäure-Bindungsprotein Typ I + II) sind bisher isoliert worden (Schneemann *et al.* 1993). Studien über die Verteilung haben ergeben, dass CRBP I und CRABP I die vorherrschenden intrazellulären Bindungsproteine in den meisten Geweben sind. CRBP I ist besonders konzentriert in der Leber, Lunge, Niere, Haut und Hoden; CRABP I besonders in Hoden, Haut und Augen (Hadjadj *et al.* 1999). CRBP II und CRABP II ist in wesentlich seltener vorhanden. Darmepithelzellen enthalten hohe Konzentrationen von CRBP II. Auch in Leber und Niere embryonaler Ratten wurde es gefunden. CRABP II ist hauptsächlich in der Haut lokalisiert (Wilson *et al.* 1987, Barrie *et al.* 1993). Ein drittes zelluläres Retinol-Bindungsprotein, CRBP III, wurde aus Fischaugen isoliert (Berr 1992, Le *et al.* 1997, Hadjadj *et al.* 1999, Koutsari *et al.* 2000). Ein weiteres zelluläres Bindungsprotein ist das in den Zellen der Retina vorkommende zelluläre Retinal-Bindungsprotein (*cellular retinaldehyde-binding protein*, CRALBP) (Barrie *et al.* 1993). Retinal ist unverzichtbarer Bestandteil des Sehvorganges. CRALBP besitzt keine Ähnlichkeit zu anderen retinoidbindenden Proteinen (Lawrie *et al.* 1941, Schweigert *et al.* 1991, Raila 2000, Schweigert und Bok 2000).

2.2.2.2 Das unspezifische Transportsystem mittels Lipoproteine

Neben dem spezifischen Trägerprotein RBP besteht die zweite Möglichkeit des Transportes von Vitamin A durch die Lipoproteine des Blutes. Dieser unspezifische Transport von Vitamin A spielt unter physiologischen Bedingungen nur während der postprandialen Lipämie eine Rolle. Als Folge einer akuten oder chronischen Vitamin-A-Übersorgung ist bei Mensch und Ratte ein deutlicher Anstieg von Vitamin A im Blut aufgrund einer Erhöhung des Vitamin-A-Esteranteils auf bis zu 60% der gesamten Vitamin-A-Konzentration im Blut zu beobachten. Diese unspezifisch gebundenen Vitamin-A-Ester werden für die Symptome einer Vitamin-A-Vergiftung verantwortlich gemacht, da sie eine unkontrollierte Aufnahme von Vitamin A in die Zelle ermöglichen, wo Vitamin A dann seine membranolytische Wirkung, mit Zerstörung von Lipiddoppelschichten und Freisetzung lysosomaler Enzyme, entfalten kann (Mallia *et al.* 1975; Smith und Goodman 1976). Deshalb ist das Risiko für eine Vitamin-A-Intoxikation bei Personen mit Hyperlipoproteinämie erhöht (Ellis *et al.* 1986). Da die Retinylester nicht an RBP, sondern an Lipoproteine gebunden sind, entfällt die homöostatische Kontrolle von RBP. Nur an RBP gebunden kann Retinol kontrolliert von der Zielzelle aufgenommen und genutzt werden. Freies Retinol oder an Albumin gebundenes Retinol wirkt dagegen toxisch (Mallia *et al.* 1975).

2.2.3 Ausscheidung von Vitamin A mit dem Urin

Unter physiologischen Bedingungen wird Vitamin A beim Menschen über den Urin nur in Form von wasserlöslichen Metaboliten ausgeschieden (Varma und Beaton 1972, Lambert und De Leenheer 1985). Nur unter pathologischen Bedingungen, wie Leber- und Nierenerkrankungen, Infektionskrankheiten, Tumoren und anderen Erkrankungen (Lambert und De Leenheer 1985, Sass *et al.* 1995), sowie physiologisch während der Schwangerschaft und bei Säuglingen wird eine Vitamin-A-Ausscheidung mit dem Harn beobachtet (Stephensen *et al.* 1994, Alvarez *et al.* 1995). Die Ursachen dieser pathologischen und physiologischen Vitamin-A-Ausscheidung scheinen vielfältig zu sein und sind im Einzelnen noch nicht geklärt.

2.3 Besonderheiten des Vitamin A-Stoffwechsels der Carnivoren

2.3.1 Besonderheiten bei Absorption, Transport und Gewebespeicherung

Bereits 1949 wurde von Maddock *et al.* in einer Studie beobachtet, dass Hunde einerseits wesentlich unempfindlicher auf eine hohe Vitamin-A-Versorgung reagieren und andererseits keinen so streng regulierten Vitamin-A-Blutspiegel besitzen wie der Mensch oder die Ratte. Im Gegensatz zum Menschen und den meisten anderen Tierarten transportieren Hunde und andere Carnivoren Vitamin A im Blut nicht nur in Form von Retinol, sondern vorwiegend als Retinylester, die an Lipoproteine gebunden sind (Wilson *et al.* 1987, Schweigert 1988,

Schweigert *et al.* 1990). Eine steigende Aufnahme von Vitamin A im Futter führt zu einer Zunahme des Gehaltes an Retinylestern (Retinylpalmitat, -stearat) in den Lipoproteinen des Blutplasmas (Schweigert und Bok 2000). Symptome einer Vitamin-A-Intoxikation sind bei Hunden jedoch nicht zu beobachten (Schweigert *et al.* 1990; Hong und Chia 1998). Ein besonders hoher Anteil an Retinylestern kann innerhalb der Ordnung Carnivora bei Caniden und Musteliden festgestellt werden. Die Vitamin-A-Konzentrationen im Blut dieser Tiere liegen, bedingt durch den großen Anteil an Vitamin-A-Estern, um ein Vielfaches über den Werten, wie sie bisher für Menschen, Primaten, Nager und Herbivoren beschrieben sind (Schweigert *et al.* 1990, Ribaya-Mercado *et al.* 1994). Vergleichbar hohe Vitamin-A-Konzentrationen werden beim Menschen und bei der Ratte nur im Zusammenhang mit der Symptomatik einer Vitamin-A-Intoxikation festgestellt (Mallia *et al.* 1975, Smith und Goodman 1976). Alle bisher untersuchten Carnivoren zeigen aber weder klinische noch klinisch-chemische Anzeichen einer Vitamin-A-Übersorgung (Schweigert 1988, Schweigert 1990, Schweigert und Bok 2000).

Das zeigen auch Studien von Schweigert und Bok (1999) und von Cline *et al.* (1997), in welchen der Einfluß hoch dosierter Vitamin-A-Konzentrationen über das Futter auf den Knochenstoffwechsel untersucht wurde. Hierbei konnten keine Anzeichen einer Vitamin-A-Intoxikation festgestellt werden. Die Untersuchungen von Schweigert und Thomann (1993) zeigen, dass nach Auftrennung der Lipoproteine mittels Ultrazentrifugation und selektiver Ausfällung mit Dextransulfat unter Anwesenheit zweiwertiger Kationen etwa 70-90% der Vitamin-A-Ester an die Fraktion der VLDL/LDL assoziiert vorliegen (Schweigert und Thomann 1993). Damit wurden die Ergebnisse von Wilson *et al.* (1987) bestätigt, die zeigen, dass die Leber des Hundes retinylesterhaltige Lipoproteine, mit einer Dichte von 1,006 – 1,063 g/ml, freisetzt (Wilson *et al.* 1987). Ergebnisse, die mittels Ultrazentrifugation ermittelt wurden, zeigten, dass der prozentuale Anteil von Retinylstearat prozentual höher war als derjenige von Retinylpalmitat. Die Konzentration von Retinol im Blutplasma entsprach der des Menschen sowie der anderer Tiere (Eckhoff *et al.* 1991, Schweigert und Thomann 1993).

Die enzymatische Umwandlung von β -Carotin zu Vitamin A findet größtenteils in der Darmschleimhaut statt und die Effektivität der Umwandlung unterscheidet sich unter den verschiedenen Tierarten (Ribaya-Mercado *et al.* 1989). Beim Hund werden die meisten Carotine, nachdem sie über Mizellen in die Epithelzellen aufgenommen worden sind, zur Bildung von Vitamin A verwertet, während nur wenig β -Carotin aus den Zellen direkt abtransportiert wird (Chew 1998). Katzen benötigen Vitamin A in ihrer Nahrung, da sie nicht in der Lage sind, β -Carotin in Vitamin A umzuwandeln. Sie besitzen dazu nicht das notwendige intestinale Enzym (Smith und Goodman 1976). Ein Vitamin-A-Defizit kann deshalb nicht durch

orale oder intravenöse Gabe von β -Carotin ausgeglichen werden (Rindler *et al.* 1990). Im Widerspruch zu diesen Veröffentlichungen kommen neuere Untersuchungen zu dem Schluß, dass Katzen β -Carotin durch die Darmschleimhaut absorbieren können. Aufgrund von Ähnlichkeiten zwischen Mensch und Katze beim β -Carotinstoffwechsel kann die Hauskatze ein Modell zur Untersuchung von Absorption und Metabolismus von β -Carotin beim Menschen darstellen (Chew 2000).

Die Organverteilung von Vitamin A zeigt bei Carnivoren einige Besonderheiten. Sehr hohe Vitamin-A-Konzentrationen in der Leber fanden sich bei Hund und Robbe, während Silberfuchse und Marderhunde im Vergleich nur geringe Werte aufwiesen (Schweigert und Thomann 1993). Noch höhere Vitamin-A-Konzentrationen werden in der Leber von Katzen gefunden (Raila *et al.* 2001). Auch Eisbären besitzen, da sie sich besonders von Robben ernähren, hohe Vitamin-A-Werte in der Leber (Nelson 1985). Auffällig sind für die genannten Tierarten, ausgenommen bei der Robbe, die hohen Werte für Vitamin A in der Niere. Dagegen übersteigen die Nierenwerte bei Fuchs und Marderhund die Leberwerte um ein Vielfaches. Dabei liegt die Konzentration von Vitamin A in der Nierenrinde deutlich höher als im Nierenmark. Beim Fuchs waren trotz extrem niedriger Leberwerte (8 $\mu\text{g/g}$) nicht nur die höchsten Nierenwerte (1259 $\mu\text{g/g}$), sondern auch noch ein hoher Anteil von Retinylestern im Plasma nachzuweisen. Da die Leberwerte nur sehr gering sind, ist in diesem Zusammenhang auszuschließen, dass der lipoproteingebundene Retinylestertransport bei Caniden die Folge einer Vitamin-A-Intoxikation darstellt (Schweigert und Thomann 1993).

Eine Beurteilung des Vitamin-A-Status von Fleischfressern anhand der Vitamin-A-Konzentration in der Leber kann nur bei Vorliegen entsprechender physiologischer Grunddaten erfolgen. Die Vitamin-A-Reserven in der Leber sind daher bei Caniden nicht als Indikator für den Vitamin-A-Versorgungsstatus geeignet (Raila und Schweigert 2001a). Im Gegensatz zum Blut liegt Vitamin A in den Geweben besonders als Retinylpalmitat vor. Daraus lässt sich die wichtige Schlussfolgerung ziehen, dass eine Vitamin-A-Speicherung bzw. -Mobilisierung mit einer Umveresterung einhergehen muss (Schweigert und Thomann 1993).

Auch bei Katzen ist, genauso wie bei anderen Tierarten, die Leber das primäre Speicherorgan, aber die Nieren enthalten eine höhere Vitamin A-Konzentration als zum Beispiel bei Hunden, Schweinen, Kaninchen, Schafen, Rindern und Ziegen (Moore 1963, Chew 2000). Die Angaben über die Vitamin-A-Konzentration der Niere bei der Katze sind verschieden, was auf eine unterschiedliche Versorgung mit Vitamin A zurückzuführen sein

könnte. Entgegen früherer Untersuchungen wurde nun festgestellt, dass die Konzentration von Vitamin A in der Leber um ein Vielfaches höher liegt als in den Nieren (Raila *et al.* 2001).

Vergleichswerte zeigen, dass der Mensch im Vergleich zum Hund deutlich niedrigere Vitamin-A-Konzentrationen in Leber und Niere aufweist (Berr 1992). Die Vitamin-A-Gehalte in den anderen Organen und Geweben waren dagegen mit denjenigen des Menschen vergleichbar (Reinersdorff *et al.* 1996, Hadjadj *et al.* 1999). Beim Fuchs und Marderhund sind die Leberwerte so niedrig, dass beim Menschen Symptome einer Hypovitaminose auftreten würden (Olson 1984, Schweigert und Thomann 1993). Diese treten beim Menschen aber relativ spät auf. Erst wenn die Speicherkapazität der Leber fast völlig erschöpft ist, kommt es zu einem Abfall der Retinolkonzentration im Blut. Insofern erlauben die Angaben der Blutspiegel wegen der hohen Speicherkapazität der Leber und der peripheren, homöostatischen Regulation des Vitamin-A-Spiegels keine zuverlässige Diagnose einer Hypovitaminose (Raila 2000).

2.3.2 Einfluss der Fütterung auf die Vitamin-A-Plasmakonzentration

Weitere Besonderheiten im Vitamin-A-Stoffwechsel von Hunden sind im Einfluss der Fütterung auf die Vitamin-A-Konzentrationen im Blutplasma zu sehen. Bereits 1990 konnte Schweigert *et al.* in einem Versuch feststellen, dass entgegen der aktuellen Erkenntnisse bei anderen Tierarten, der Vitamin-A-Spiegel eindeutig von der täglichen Vitamin-A-Aufnahme und der Zusammensetzung des Futters beeinflusst wird (Schweigert *et al.* 1990). In einem Langzeitversuch von 67 Wochen wurde an männlichen Hunden der Rassen Deutscher Schäferhund und Belgischer Schäferhund der Einfluss einer unterschiedlichen Vitamin-A-Versorgung über das Futter auf die Vitamin-A-Konzentration im Blut untersucht (Schweigert und Bok 2000). Die Vitamin-A-Dosierungen im Futter variierten zwischen 25 IE/kg Körpergewicht (KG), was unter dem vom National Research Council (NRC) empfohlenen Mindestbedarf von 75 IE/kg KG liegt, und 2400 IE/kg KG. Mit Hilfe der ermittelten Konzentration an Vitamin-A-Estern (Retinylpalmitat/-oleat und Retinylstearat) im Blut konnte ein signifikanter Einfluss der Vitamin-A-Zufuhr mit dem Futter auf die Konzentration an Retinylestern im Blut festgestellt werden. Die Befunde zeigen, dass eine zunehmende Aufnahme von Vitamin A den Gehalt an Retinylestern im Blutplasma stark erhöht. Die Konzentration an Retinol wird dagegen nicht von der Fütterung beeinflusst. So dass davon ausgegangen werden kann, dass die Retinolkonzentration im Blutplasma von Hunden, wie bei anderen Tierarten und dem Menschen, streng homöostatisch durch das RBP reguliert wird (Raila *et al.* 2000). Bei einer Vitamin-A-Zufuhr, die unterhalb der NRC-Empfehlung lag, sind noch Retinylester im Blut nachweisbar. Trotz zeitweise bestehender Senkung der Vitamin-A-Zufuhr stieg der Gehalt an Retinylestern im Blut weiter an. Zu erklären

ist dies wahrscheinlich dadurch, dass bei sehr hoher Dosierung Vitamin-A-Speicher angelegt wurden (Bok 1998).

Bei Mangel an Eiweiß ist die Bildung des RBP vermindert und der Gehalt an dem Vitamin-A-RBP-Komplex im Blutplasma nimmt ab. Bei Mangel an Vitamin A besteht in den Hepatocysten der Leber eine Anreicherung des RBP. Bei Aufnahme einer größeren Dosis von Vitamin A durch ungenügend versorgte Hunde steigt vorübergehend der Gehalt am Retinol-RBP-Komplex im Blutplasma an (Kolb und Seehawer 2001).

Vitamin A und die Retinylester werden anscheinend, wie bei anderen Tierarten, nur im beschränkten Umfang in die Feten überführt. Unmittelbar nach der Geburt ist daher bei den Welpen der Gehalt an Retinol und an Retinylestern im Blutplasma und in der Leber klein (Lorente und Miller 1977, Schweigert *et al.* 1998a). Nach Aufnahme von Milch steigt der Gehalt an und nimmt im Verlaufe der Säugeperiode beträchtlich zu. Bereits im Alter von vier Wochen werden im Blut Konzentrationen wie bei adulten Hunden gemessen. In der Leber steigt der Gesamtgehalt an Vitamin A plus Retinylestern von der Geburt bis zum siebten Monat danach um das 400fache an (Schweigert *et al.* 1998).

2.3.3 Besonderheiten der Nierenphysiologie und Vitamin-A-Ausscheidung im Urin

Mit Aufklärung des physiologisch unspezifischen Vitamin-A-Transportes im Blut von Fleischfressern wurde auch die Besonderheit der Ausscheidung fettlöslicher Vitamin-A-Verbindungen im Harn von Hunden wiederentdeckt. Schon 1941 wurde in einer Studie von Lawrie *et al.* festgestellt, dass Hunde unter physiologischen Bedingungen Vitamin A mit dem Urin ausscheiden, jedoch war keine Aussage darüber möglich, in welcher Form dies geschieht. Schweigert *et al.* (1991) konnten sowohl Retinol als auch Retinylester nicht nur im Harn von Hunden, sondern erstmals auch im Harn von Füchsen und Marderhunden nachweisen. Während im Plasma die dominante Form von Vitamin A Retinylstearat ist, war im Urin besonders Retinylpalmitat/oleat vorhanden (Schweigert *et al.* 1991). Eine Ausscheidung von Retinylestern im Harn von Carnivoren konnte auch in Folgearbeiten bestätigt werden und scheint von der Fütterung abhängig zu sein (Cline 1997, Schweigert *et al.* 1998, Raila 1999). Zu dem Zeitpunkt, in dem die Hunde mit einem Futter versorgt wurden, dessen Vitamin-A-Gehalt unter dem täglichen Bedarf lag bzw. diesem entsprach (75 IE/kg KG), war Vitamin A nur noch in Spuren oder nicht mehr nachzuweisen. Nachdem das Futter von einer Vitamin-A-Diät, die unter der NRC-Empfehlung lag, auf ein Vitamin-A-reiches Futter umgestellt wurde, konnten bei den Hunden substantielle Konzentrationen von Retinol und Retinolester im Urin festgestellt werden. Die Ausscheidung von Vitamin A kann 15 bis 63% der täglichen Vitamin-A-Aufnahme betragen (Schweigert und Thomann 1993). Somit nimmt die Ausscheidung von

Vitamin A, besonders von Retinylpalmitat, mit steigender Vitamin-A-Aufnahme zu. Im Harn von Rindern, Schafen, Pferden, Ratten, Nerz und Katzen konnte kein Vitamin A nachgewiesen werden (Schweigert *et al.* 1991, Buchholz *et al.* 1993). Die physiologische Ausscheidung von fettlöslichen Vitamin-A-Verbindungen mit dem Harn stellt deshalb möglicherweise eine Besonderheit der Caniden innerhalb der Ordnung Carnivora da (Schweigert *et al.* 1991). In neueren Untersuchungen konnte jedoch bei der Hälfte der untersuchten Hauskatzen Vitamin A im Urin gefunden werden (Raila *et al.* 2001).

Retinol und Retinylester müssen als fettlösliche Verbindungen im wässrigem Milieu des Harnes an ein oder mehrere Trägerproteine gebunden vorliegen. RBP konnte nach Western Blotting als Bindungsprotein für Vitamin A im Harn ausgeschlossen werden (Raila und Schweigert 2001b). Thomann konnte 1989 zeigen, dass sowohl Retinol als auch Retinylester im Harn von Hunden nach Ultrazentrifugation bei einer Dichte von 1,21 g/ml flotieren und mittels hochmolekularem Dextransulfat (MM 1 Mio kDa) und CaCl_2 vollständig ausfällbar sind. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, dass sich das Protein wie ein Lipoprotein des Blutplasmas verhält (Schweigert *et al.* 1991). 1997 wurde durch Raila und Schweigert mittels Gelfiltration-Chromatographie erstmals eine Aussage zur Größe des Vitamin-A-Proteinkomplexes erbracht, die bei ca. 2000 kDa liegt (Schweigert *et al.* 1998b). Unter nativen Elektrophoresebedingungen ist die holo-Form des Vitamin-A-Trägerproteins als fluoreszierende Proteinbande nachweisbar. Unter denaturierten und reduzierten Bedingungen kann das apo-Protein als Einzelbande mit einem Molekulargewicht von 100 kDa isoliert werden. Nachdem die Peptidzusammensetzung und die partielle Aminosäurefrequenz massenspektrometrisch analysiert, und die Aminosäuresequenzen mit bekannten Proteinen in einer Datenbank verglichen wurden, konnte das isolierte 100-kDa-Trägerprotein für Vitamin A als Tamm-Horsfall-Glycoprotein identifiziert werden (Schweigert *et al.* 1998, Raila und Schweigert 1999).

Immunhistologische Studien an Hundenieren zeigen, dass das THP Vitamin-A-unabhängig in den Nieren im dicken aufsteigenden Abschnitt der Henle-Schleife synthetisiert und physiologischerweise in den Urin abgegeben wird (Raila 1999). Aufgrund dieser Erkenntnis wurde eine Hypothese zu den renalen Vitamin-A-Ausscheidungsmechanismen aufgestellt. Danach könnte THP an der basalen Membran eine LDL-Rezeptorfunktion ausüben und dadurch die Lipoprotein-gebundenen Retinylester vom Blut her in die Epithelzelle des dicken aufsteigenden Astes der Henle-Schleife aufnehmen (Raila 1999). Ungeklärt ist, ob die renale Vitamin-A-Ausscheidung einen Schutzmechanismus gegen die toxischen Eigenschaften unspezifisch gebundenen Vitamin-A-Ester im Blut darstellt. Aufgrund hoher renaler Vitamin-A-Speicher sowie der physiologischen Ausscheidung von Vitamin-A-Verbindungen mit dem

Harn besitzen die Nieren von Hunden und anderen Caniden eine besondere Funktion in der Regulation des Vitamin A-Stoffwechsels (Raila *et al.* 2000).

Die besondere Funktion der Nieren ist auch im Einfluss des Alters auf die renalen Vitamin-A-Speicher sowie in der Essentialität von Vitamin A während der embryonalen Nierenentwicklung zu sehen (Merlet-Benichou *et al.* 1999). Im Gegensatz zum Vitamin-A-Gehalt des Plasmas und der Leber, wo die maximale Konzentration an Vitamin A nach sechs Monaten erreicht wird, steigt die Vitamin-A-Konzentration der Niere kontinuierlich bis zum 18. Lebensmonat (Schweigert *et al.* 1998). Weiterhin sind die Nieren in den Stoffwechsel des RBP involviert, indem unter physiologischen Bedingungen sowohl eine effektive Rückresorption von RBP aus dem Primärfiltrat als auch eine RBP-Neusynthese im proximalen Nierentubulus gewährleistet wird (Soprano und Blaner 1994). Das RBP, aber auch das Vitamin-D-Bindungsprotein und Transcobalamin II, werden glomerulär filtriert und mit ihren Liganden in die Epithelzellen des proximalen Tubulus effektiv rückresorbiert (Christensen und Willnow 1999). Bei gestörter tubulärer Rückresorption werden größere Mengen an RBP ausgeschieden. Umgekehrt sind bei einer chronischen Niereninsuffizienz die glomeruläre Filtration und der Abbau von RBP verzögert, so dass die Plasmaspiegel an apo- und holo-RBP ansteigen (Bässler 1997).

Für die tubuläre Resorption des RBP und die Rückgewinnung von Retinol spielt Megalin eine wichtige Rolle. Megalin, ein multifunktionaler Universalrezeptor aus der LDL-Rezeptor-Superfamilie, ist ein großes Membranprotein von ca. 600 kDa, das die Endocytosevorgänge im proximalen Tubulus, aber auch in den Epithelien anderer Organe, vermittelt (Christensen und Willnow 1999, Christensen *et al.* 1999, Raila und Schweigert 2001). Während das Megalin, nachdem in den Endosomen die Dissoziation des rückresorbierten RBP vom Megalin erfolgte, zur apikalen Plasmamembran rücktransportiert wird und zur erneuten Ligandenbindung bereit steht, wird das RBP, wie auch andere oben genannte Vitamin-Transportproteine, in den Lysosomen enzymatisch abgebaut (Christensen 1998, Raila und Schweigert 2001).

Ungeklärt bleibt der weitere Stoffwechselweg des rückresorbierten Retinols. Aufgrund der höheren Vitamin-A-Konzentration in der Nierenrinde ist in den proximalen Tubuluszellen eine Vitamin A-Speicherung bzw. die Rückführung über die basolaterale Membran des proximalen Tubulus in den systemischen Kreislauf, anzunehmen. Hinweise darauf geben Untersuchungen an Ratten, bei denen in den Stellatum-Zellen der Nierenrinde eine erhöhte Vitamin A-Speicherung nach oraler Vitamin-A-Applikation nachgewiesen wurde (Nagy *et al.* 1997). Die Nieren scheinen auch eine wichtige Rolle bei der Rückgewinnung von Vitamin A zu

spielen (Green *et al.* 1985). Eine Diskussion um die Neusynthese von Vitamin-Transportproteinen in der Niere wird derzeit geführt (Raila und Schweigert 2001).

2.4 Lipoprotein-Stoffwechsel des Hundes

Der Transport lipophiler Substanzen im wässrigen Milieu wie Blut oder Lymphe ist an die Bildung von Partikeln mit hydrophiler Oberfläche gebunden. Diese Aufgabe übernehmen Apoproteine, die eine amphipathische Struktur aufweisen und somit die Vermittlung zwischen lipophilem Kern der Partikel und hydrophilem Medium ermöglichen. Während freie Fettsäuren an Albumin gebunden transportiert werden, bilden Phospholipide, Cholesterol und Triglyceride nur in Verbindung mit dem Apoprotein wasserlösliche Makromoleküle, die Lipoproteine. Die Apoproteine werden im endoplasmatischen Retikulum der Darmmukosazellen synthetisiert. Zusammen mit polaren Lipiden (Cholesterol, Phospholipide) bilden sie die hydrophile „Schale“ der Lipoproteine. Je nach Apoproteinzusammensetzung ergeben sich verschiedene Transportpartikel, wobei die Apoproteine als Erkennungsmerkmal für spezifische Rezeptoren in den Geweben fungieren. Auch der Angriff von Enzymen am Partikel wird durch die Apoproteine bestimmt. Die so gebildeten Lipoproteine lassen sich aufgrund unterschiedlicher Lipid- und Proteingehalte nach ihrer Dichte unterscheiden. Im Serum gesunder Hunde unterscheidet man fünf verschiedene Lipoproteintypen:

1. Chylomikronen
2. Very Low Density Lipoprotein (VLDL)
3. Low Density Lipoprotein (LDL)
4. High Density Lipoprotein-1 (HDL-1)
5. High Density Lipoprotein-2 (HDL-2).

Die Klassifikation der verschiedenen Lipoproteinfraktionen erfolgt nach Größe, Dichte (bestimmt mittels Ultrazentrifugation) und Elektrophorese. Die Größe ist direkt und die Dichte ist umgekehrt proportional zum Triglyceridgehalt. Der Proteingehalt und parallel die Dichte der Lipoproteine steigt in der Reihenfolge Chylomikronen, VLDL, LDL, HDL. Gleichzeitig nimmt die Partikelgröße von den Chylomikronen (bis zu 600 nm nach hoher Lipidresorption) zu den HDL (ca. 10 nm) ab (Maley und Weisgraber 1974; Olejniczak *et al* 1986).

Tab. 2.1: Anteil der einzelnen Lipoproteinfraktionen des Hundes an den Gesamtproteingehalt (nach Olejniczak *et al.*, 1986).

	Konzentration	
	mg pro 100 ml Plasma (Range)	%
VLDL	10 (7-12)	1,5 (0,8-1,8)
LDL	8 (4-17)	1,2 (0,6-2,3)
HDL₁	22 (6-25)	3,2 (1,0-3,7)
HDL₂	645 (600-1102)	94,2 (92,2-96,3)
Gesamt	685 (623-1145)	100

2.4.1 Chylomikronen

Chylomikronen bestehen zum größten Teil aus Lipiden und haben daher eine Dichte $< 0,95$ g/ml. Sie sind die größten Lipoproteine und besitzen die geringste Dichte. Aus den Enterocyten freigesetzt, gelangen sie über die Lymphbahnen in die *Vena cava*. Bereits auf diesem Weg erfolgen Interaktionen mit anderen Lipoproteinen, Austausch von Fettsäuren und Aufnahme weiterer Apoproteine. Kurzkettige Fettsäuren sind relativ gut wasserlöslich und können deshalb ungebunden über die Pfortader zur Leber gelangen. Demgegenüber benötigen langkettige Fettsäuren und Monoglyceride, die hydrophoben Produkte der Fettverdauung, ein Transportvehikel, nachdem sie im glatten endoplasmatischen Retikulum der Darmmukosa wieder zu wasserunlöslichen Triglyceriden umgewandelt wurden. Im Golgi-Apparat werden diese dann in die Chylomikronen eingebaut. Während der Fettabsorption ist somit die Konzentration der Chylomikronen erhöht. Sie bestehen zu 80-95% aus Triglyceriden, 2-7% Cholesterol, 3-6% Phospholipide und nur 1-2% Protein. Chylomikronen werden im Serum von Hunden 12 Stunden nach Fastenbeginn nicht mehr vorgefunden (Mahley 1974). Aufgrund ihrer Größe und dem geringen Apoproteingehalt wandern Chylomikronen nicht im elektrophoretischen Agarosegel (Ishihara *et al.*, 1976).

Bei gesunden erwachsenen Menschen kann der Chylomikronenstoffwechsel hauptsächlich von vier Mechanismen eingeschränkt werden: dem Blutfluss der Leber, der sinusoidalen Fenestration der Partikel, der Verfügbarkeit von apoE als Ligand für die Leberrezeptoren und der Sättigung der rezeptorabhängigen hepatozellulären Aufnahmemechanismen. Da die Durchmesser der sinusoidalen Fenestren ca. 80-225 nm betragen, und die Chylomikronengröße ca. 30-160 nm entspricht, scheint ein Siebmechanismus für den Eintritt der Chylomikronen in den Disse'schen Raum nicht in Frage zu kommen. Auch ist apoE wahrscheinlich unbegrenzt vorhanden und der Blutfluss der Leber wirkt nicht limitierend. Es ist anzunehmen, dass die

Aufnahme von Chylomikronenremnants durch die Leber dosisabhängig ist und bei einer Fettaufnahme von 70-100g gesättigt ist. Für den physiologischen Stoffwechsel der Chylomikronenreste in der Leber ist beim gesunden Menschen eine übliche Lipidaufnahme ausreichend. Die postprandiale Lipidämie scheint eine Form der Ausschwemmung der Chylomikronenreste ins Blut zu sein, die einige Stunden nach der Aufnahme von Nahrungsfetten anhält (Berr 1992).

Ein fehlerhafter Chylomikronenstoffwechsel führt zu einer verlängerten postprandialen Lipidämie und kann die Ursache für eine steigende Triglyceridkonzentration sein. Solche Defekte können eine Erklärung sein für das Auftreten der Hypertriglyceridämie von Hunden bei Diabetes mellitus, Hyperthyroidismus, Hyperadrenokortizismus, dem Nephrotischen Syndrom und bei der idiopathischen Hyperlipämie der Zwergschnauzer. Die idiopathische Hyperchylomikronämie bei Katzen wurde ebenfalls von mehreren Autoren beschrieben (Watson *et al.* 1995, Iben 1996).

2.4.2 Very Low Density Lipoprotein (VLDL)

Lipoproteine mit einer Dichte von 0,95 bis 1,006 g/ml werden als VLDL- Fraktion angesehen. Sie weisen ein Lipid/Protein-Verhältnis von 90/10 auf. Die Größe beträgt 26 bis 90 nm. Damit bilden sie die zweitgrößte Fraktion der Lipoproteine. Die VLDL werden größtenteils in der Leber, zu einem geringen Anteil in der Darmschleimhaut gebildet und in das Blut abgegeben (Maley und Weisgraber). Die Leber kann so ihre synthetisierten bzw. recycelten lipophilen Produkte durch VLDL transportieren. Die Hauptfunktion besteht wie auch die der Chylomikronen im Triglyceridtransport. Die Triglyceride bilden mit ca. 59-69% den Hauptanteil, gefolgt von ca. 12-16% Phospholipiden und 10-12% Protein sowie ca. 6,5-15% Cholesterol (Olejniczak *et al.* 1986). Aus den VLDL entstehen in den Kapillaren durch Abspaltung von Fettstoffen und Fettsäuren die LDL. In der Elektrophorese bildet VLDL die prä-Beta Bande, die zwischen der Alpha- und Beta-Lipoproteinfraktion liegt (Ishihara *et al.*, 1976).

2.4.3 Low Density Lipoprotein (LDL)

Lipoproteine mit einer Dichte von 1,019 bis 1,063 g/ml bilden das LDL. Da die LDL-Partikel primär die Transportform von Cholesterol darstellen, ist deren gesteuerte Aufnahme in die Zelle von essentieller Bedeutung (Biesalski 1999). Dieses Lipoprotein hat eine Größe von 15-25 nm und ein Lipid/Protein-Verhältnis von 78/22. LDL werden aus VLDL durch Hydrolyse mit Hilfe einer Lipoproteinlipase (LPL) gebildet. Canines LDL besteht aus ca. 21-23% Protein, 30-36% Triglyceriden und ca. 21-24% Phospholipiden sowie 21-22% Cholesterol (Olejniczak *et al.*, 1986). Im Gegensatz dazu enthält das menschliche LDL nur sehr wenig Triglyceride,

besteht aber zu ca. 50 Prozent aus Cholesterol. Es wird deshalb auch im Zusammenhang mit Arteriosklerose genannt. LDL wird über Rezeptoren in zahlreiche Zelltypen aufgenommen und tragen bei Fleischfressern zu deren Versorgung mit Retinylestern bei (Kolb und Seehawer 2001). Bei der Elektrophorese bildet LDL die Beta-Bande (Olejniczak *et al.*, 1986).

2.4.4 High Density Lipoprotein (HDL)

Die wesentlichste Funktion von HDL ist der Rücktransport von Cholesterol und Triglyceriden aus peripheren Geweben zur Leber, die daraus vorwiegend Gallensäuren produziert (Biesalski 1999). Eine Besonderheit des Hundes ist es, dass bei der Elektrophorese der Lipoproteine des Dichtebereichs 1,006-1,063 g/ml neben der üblichen Beta- Bande, die den LDL entspricht, eine zweite Bande auftritt, die zwischen der prä-Beta und der Alpha-Bande liegt (Olejniczak 1986). Maley und Weisgraber (1974) bezeichneten diese Lipoproteinfraktion aufgrund ihres Apoproteinmusters als HDL₁ (Mahley und Weisgraber 1974). HDL₁ entspricht der Größe von LDL (10-35 nm). Die Dichten der LDL- und HDL₁- Fraktionen überlappen sich, so dass eine Trennung beider Fraktionen durch Ultrazentrifugation auch bei feinen Abstufungen der Dichten der Suspensionsmedien nicht möglich ist. LDL und HDL₁ unterscheiden sich im Proteingehalt (21% und 24%) nicht wesentlich voneinander. Dagegen unterscheiden sie sich sehr im Lipidmuster. In den LDL dominieren die Triglyceride mit einem Anteil von 30-36%, während in den HDL₁ die Cholesterinester mit 31-35% und die Phospholipide mit 31-40% die beiden wichtigsten Lipidfraktionen darstellen (Olejniczak 1986).

Das beim Hund dominierende HDL₂ ist das kleinste Lipoprotein (5,5-8,5 nm) mit der höchsten Dichte (> 1,063–1,210 g/ml). HDL₂ enthält 1% Triglyceride, 36% Phospholipide, 42% Protein und 20% Cholesterol und transportiert den größten Anteil von Cholesterol beim gesunden Hund. Wegen der hohen Konzentration von Apolipoprotein A bildet es bei der Elektrophorese die Alpha-Bande. Nach Ishihara *et al.* besteht HDL₂ aus ca. 50% Apolipoprotein und bildet mit 65 bis 89% den weitaus größten Anteil an den Gesamtlipoproteinen (Ishihara K. *et al.* 1976). Olejniczak nennt ebenfalls als dominierenden Bestandteil die Proteine mit 47%. Die am meisten vertretenen Lipide sind die Phospholipide mit 32%, gefolgt vom Cholesterol mit ca. 20%. Triglyceride machen nur 0,4% aus (Olejniczak 1986).

Zwei zusätzliche Lipoproteine sind bei Hunden mit Hyperlipidämie beobachtet worden. Hunde, die mit einer cholesterolreichen Diät gefüttert wurden, produzierten das HDL-Cholesterol (HDL_C). Man denkt sich dieses Lipoprotein als mit Cholesterol überladenes HDL₂. Es enthält im Unterschied zu HDL₂ als Hauptbestandteil Apolipoprotein E und nicht Apolipoprotein A. Während der erhöhten Fütterung von Cholesterol sammelt sich ein großer Teil des intestiniellen HDL in der Peripherie für den Rücktransport in die Leber. Es ist wahrscheinlich, dass sich

eine weitere Umwandlung unmittelbar nach Eintritt in das Plasma ereignet und das HDL der Lecithin:Cholesterol-Acyltransferase ausgesetzt wird. Dies führt möglicherweise zur Bildung des HDL_c (Sloop 1983). Auch das bei cholesterolreicher Fütterung beobachtete VLDL enthält Apoprotein E und zeigt normalen Dichtecharakter. Es wird als Beta-VLDL bezeichnet, bildet elektrophoretisch eine Beta-Bande und ist möglicherweise reich an Triglyceriden und Phospholipiden.

2.5 Triglyceride

Triglyceride sind Ester des Glycerins, eines dreiwertigen Alkohols, mit drei Fettsäuren und stellen die Hauptenergiereserve des Körpers dar. Sie stammen entweder aus der Nahrung, wo sie ungefähr 90% der Fettaufnahme ausmachen oder aus der Leber, wo sie in den Hepatocyten im endoplasmatischen Retikulum synthetisiert werden. Triglyceride werden im Blutplasma in Chylomikronen und VLDL transportiert und durch die Lipoprotein-Lipase freigesetzt. Die Lipoprotein-Lipase, die sich im Endothel der Kapillaren von Skelett- und Herzmuskulatur sowie im Fettgewebe befindet, wird vom Apolipoprotein-C-II aktiviert. Dieses befindet sich auf der Oberfläche von Chylomikronen und setzt Fettsäuren frei, die als Energiereserve genutzt oder zur Speicherung revereestert werden (Watson *et al.* 1995). Bei dieser Lipolyse verlieren die Chylomikronen auch das Apolipoprotein-C-II. Die entstandenen Chylomikronen-Remnants werden von Hepatocyten erkannt (ApoE-Rezeptor), aufgenommen und metabolisiert (Biesalski 1999).

Nach der Aufnahme einer fetthaltigen Mahlzeit steigt beim Hund mit dem Erscheinen der Chylomikronen die Plasmatriglyceridkonzentration und fällt wieder nach 8-12 Stunden (Watson *et al.* 1995). Eine Reihe von Stoffwechselkrankheiten kann zur Entgleisung des Triglyceridstoffwechsels führen. In der Regel wird die Reduktion der Fettaufnahme empfohlen, um Koronarherzerkrankungen vorzubeugen. Das Risiko wird aber durch den Austausch von Fetten mit Kohlenhydraten nicht reduziert, denn kohlenhydratreiche Nahrung lässt die Plasmakonzentration von Triglyceriden ansteigen und verringert die HDL-Cholesterolkonzentration. Damit erhöht sich eher das Risiko, als es gesenkt wird (Koutsari *et al.* 2000).

2.6 Cholesterol

Das Cholesterol besitzt wie alle Steroide einen Viererring mit einer sekundären Hydroxylgruppe in der C-3-Stellung. Es ist ein wesentlicher Bestandteil von Zellmembranen und Ausgangsprodukt für Gallensäuren und Steroidhormone sowie die Muttersubstanz für die Bildung von Vitamin D₃. Es ist in tierischen Geweben weit verbreitet und besonders reichlich im Nervensystem vorkommend. Vor allem in der Leber, aber auch im Darm und in der Haut erfolgt eine gesteuerte Eigensynthese, die für den menschlichen Organismus den Bedarf

deckt. Bei verschiedenen Arten werden große Unterschiede der Cholesterolkonzentration im Blut beobachtet (Hernandez *et al.* 1999).

Obwohl der Mechanismus der Cholesterolabsorption im Darm noch nicht völlig geklärt ist, wird allgemein akzeptiert, dass Cholesterol in Form von Micellen, die durch Gallensäuren gebildet werden, über einen spezifischen Carrier in die intestinale Schleimhaut des Jejunum absorbiert wird (Hernandez 1999). Aufgenommene Cholesterolester werden durch die unspezifische Pankreaslipase in Cholesterol umgewandelt. Nachdem diese von den Enterocyten aufgenommen wurden, kommt es zur teilweisen Veresterung von Cholesterol durch die Acyl-Coenzym:A-Cholesterol-Acyltransferase (ACAT). Es werden sowohl Cholesterol als auch Cholesterolester in den Chylomikronen eingebaut und in die Lymphbahnen abgegeben (Hernandez *et al.* 1999). Nach deren Umwandlung zu Chylomikronresten gelangen diese in die Leber, wo saure Lipasen Cholesterolester wieder zu Cholesterol spalten. Cholesterol kann entweder mit der Galle ausgeschieden werden, wird zur Bildung der primären Gallensäuren benötigt oder kann in Lipoproteine eingebaut werden (Hernandez *et al.* 1999).

Bei einem hohen LDL-Cholesterol-Wert (> 160 mg/dl) besteht beim Menschen ein erhöhtes Herzerkrankungsrisiko. Wenn zuviel LDL-Cholesterol im Blut zirkuliert, wird es langsam durch LDL-Oberflächenrezeptoren in Arterien eingebaut, die Herz und Gehirn versorgen und kann schließlich zusammen mit anderen Substanzen zur Arteriosklerose führen. Es wird angenommen, dass HDL-Cholesterol von den Arterien zurück zur Leber transportiert wird. Damit kann ein HDL-Cholesterol-Wert unter 40 mg/dl ein größeres Risiko für eine Herzerkrankung darstellen. Ein erhöhter Triglyceridwert im Blutplasma und ein erhöhter HDL-Cholesterolwert werden oft in Verbindung mit einem erhöhten LDL- und Gesamtcholesterolwert gefunden (American Heart Association 2002). Da die Leber des Hundes für die metabolische Regulation empfindsame LDL-Rezeptoren enthält, kann die medikamentenbedingte Erhöhung der Aktivität dieser Rezeptoren einen Beitrag dazu leisten, den Plasmawert des LDL-Cholesterol zu senken (Kovanen *et al.* 1981).

2.7 Vitamin-A-Bedarf und Einflussfaktoren auf die Aufnahme und Verwertung beim Hund

In der Literatur gibt es unterschiedliche Angaben zum Vitamin-A-Bedarf, die entweder in Milligramm oder als IE erfolgen. Nach Veröffentlichungen des Nationalen Forschungsrates der USA, dem National Research Council (NRC), benötigt ein adulter Hund 3667 IE Vitamin A/kg Futter-Trockenmasse (TM). Die Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung (AWT) empfiehlt 8000-12.000 IE/kg TM. Fertigfutter für wachsende Hunde enthält 15000-20 000 IE/kg und solches für Rennhunde 20.000-25.000 IE/kg. Der Bedarf adulter Katzen wird

vom NRC mit 6000 IE/kg TM und von der AWT mit 24 000-36 000 IE/kg TM angegeben. Dabei entspricht ein mg Vitamin A 3333 IE. Die Empfehlungen zur täglichen Aufnahme liegen bei Pferd, Rind und Schwein bei ca. 50-160 IE/kg Lebendmasse (LM), beim Hund 100-200 IE/kg LM und bei der Katze bei ca. 600 IE/kg LM (Meyer und Bronsch 1993).

Der physiologische Gehalt an Vitamin A im Blutplasma schwankt bei unterschiedlicher Versorgung beträchtlich. Ein Mangel an Vitamin A ist bei Hund und Katze wegen des hohen Gehalts im Fertigfutter und in fast allen tierischen Futtermitteln sowie wegen der großen Speicherfähigkeit der Leber sehr selten. Die Bedingungen, bei der eine mangelnde Verwertung des Vitamins A und anderer fettlöslicher Vitamine vorliegt, wurden von Kolb (2001) unter den folgenden Punkten zusammengefasst:

1. Bei mangelnder Sekretion der Galle. In der Galle sind die Phospholipide, die Gallensäuren und das Cholesterin zur Bildung der Micellen notwendig, über die die fettlöslichen Vitamine und die Fettsäuren an die Oberfläche der Epithelzellen herangeführt und in diese aufgenommen werden. Bei mangelnder Sekretion der Galle sind die Emulgierung der Fette, ihre Zerlegung sowie die Bildung von Mizellen herabgesetzt. Die Verwertung der Fette nimmt von normal etwa 95% auf 50% und weniger ab.
2. Bei mangelnder Bildung von Pankreassekret, z.B. bei chronischer Atrophie. Infolge der geringen Aktivität der Lipase ist die Lipolyse im Dünndarm vermindert bzw. die Bildung von Mizellen herabgesetzt.
3. Bei Enteropathie. Beim Hund führen bakterielle Infektionen des Dünndarms, Virusinfektionen, Allergie gegen Futterproteine (z.B. eine glutensensitive Enteropathie), eine lymphozytär-plasmazytäre Enteritis sowie eine eosinophile Enteritis (z.B. infolge des Eindringens von Larven von *Toxocara canis* in die Darmmukosa) zu einer Abnahme der Verwertung der Nährstoffe und der Vitamine der Nahrung.
4. Bei Störung der Resorption, so z.B. bei degenerativen Veränderungen am Bürstensaum und bei Zottenatrophie.

Bei längerem Bestehen einer Erkrankung, die die Verwertung von Vitamin A stark vermindert, können nach etwa zwei Monaten Symptome eines Mangels auftreten (Kolb und Seehawer 2001).

2.8 Bedeutung von Vitamin A für die tierärztliche Praxis

2.8.1 Vitamin-A-Mangel (Vitamin-A-Hypovitaminose)

Zwar war schon vor langer Zeit bekannt, dass Leberverzehr sich positiv auf unterschiedliche Augenerkrankungen auswirken kann, doch konnte erst seit der Entdeckung des Vitamin A durch McCollum und Davis (1913) die Funktion von Vitamin A und seine Bedeutungen wissenschaftlich erforscht werden. Die Aufklärung der molekularen Mechanismen des Sehzyklus bildete lange Zeit den Schwerpunkt der Vitamin-A-Forschung.

In der Retina befinden sich lichtempfindliche Rezeptoren (Stäbchen und Zapfen). Während die Zapfen für das farbige Sehen und damit für die Darstellung von Einzelheiten bei heller Beleuchtung verantwortlich sind, ermöglichen die Stäbchen das schwarz-weiße Sehen bei schlechter Beleuchtung, das Dämmerungssehen. In den Zapfen und Stäbchen sind die sogenannten Sehfärbstoffe enthalten. Sie sind die Mittler bei der Transduktion des Lichtreizes in eine elektrische Erregung der Rezeptoren (Silbernagel 1991). Der Sehfärbstoff der Stäbchen, das Rhodopsin, und die drei Sehfärbstoffe der drei Zapfentypen bestehen aus dem Aldehyd des Alkohols Retinol, dem 11-*cis*-Retinal und einem unterschiedlichem Opsinanteil. Jedes Stäbchen enthält etwa 1000 Bläschen mit jeweils etwa 105 Rhodopsinmolekülen. Bei Einwirkung von Licht wird ein Teil dieser Moleküle in das Opsin und das *all-trans*-Retinal zerlegt. Die Reaktion, die der Lichtabsorption folgt, beinhaltet immer eine *cis-trans*-Isomerisation. Dadurch werden eine Aktivierung von Enzymen (Transducin, Phosphodiesterase) und eine Zerlegung von cGMP ausgelöst. Die Senkung des Gehaltes an cGMP bewirkt in der Membran einen zeitweisen Verschluss von Ionenkanälen und eine Hyperpolarisation, die in den benachbarten Nervenzellen zur Bildung eines elektrischen Signals führt. In den Zapfen ist *cis*-Retinal Bestandteil von anderen Farbstoffen, den Iodopsinen, die Farbwahrnehmungen vermitteln. Die Verarbeitung der aus der Netzhaut die in die Sehzentren einlaufenden elektrischen Signale ergibt ein Bild von der Umwelt (Kolb und Seehawer 2001).

Chronischer Mangel an Vitamin A bzw. an Carotinoiden mit Provitamin-A-Wirkung führt wegen unzureichender Rhodopsinbildung zur Nachtblindheit, da der Gehalt an *cis*-Retinal und an Farbstoffen in den Fotorezeptoren abnimmt. Bei längerem und ausgeprägtem Mangel degenerieren die Fotorezeptoren (Kolb und Seehawer 2001). Besonders bei unterernährten Kindern der dritten Welt verlaufen die Augenerkrankungen aufgrund Vitamin-A-Mangels dramatischer (Goodman 1979). Bei einem Vitamin-A-Mangel trocknen die Schleimhäute aus und verhornen (Meyer und Zentek 1998). Es kommt zur Xerophthalmie, der Austrocknung des den Augapfel abdeckenden Epithels, die durch metaplastische Veränderungen in den Tränendrüsen bedingt ist und mit einer Verminderung der Sekretion von Tränenflüssigkeit

einhergeht. Durch die auftretende Entzündung und Erweichung der Bindehaut entsteht die Keratomalazie. Es folgen Hornhautulzerationen und Hornhautnarben. Ein Vitamin-A-Defizit, das in Verbindung mit allgemeiner Unterernährung, parasitärem Befall und Durchfallerkrankungen auftritt, stellt hauptsächlich ein Nahrungsproblem bei Vorschulkindern in vielen Gebieten der Welt dar (Goodman 1979). Mindestens 500.000 Kinder erkranken jedes Jahr an der cornealen Xerophthalmie und ca. fünf Millionen Kinder an anderen Formen der Xerophthalmie, die meist Vorstufen der cornealen Xerophthalmie darstellen. Dazu zählen zum Beispiel die Nachtblindheit und Bitot's spots (Sommer 1994).

Bei der Keratokonjunktivitis sicca findet durch Immunreaktion ein gewisser Abbau von Drüsengewebe statt. Dies führt zu einer verminderten Tränenproduktion und damit zur Entzündung der Bindehaut und der Kornea. Therapeutisch werden zusätzlich zum Cyclosporineinsatz 0,1%ige Lösungen von Retinylacetat oder Retinsäure zusammen mit synthetischer Tränenflüssigkeit örtlich appliziert. Auch kann der Nahrung stabilisiertes Vitamin A zugesetzt werden (Whitley *et al.* 1991). Martin (1971) konnte in einer Studie nachweisen, dass die örtliche Gabe von Vitamin A signifikant schneller zur Heilung von Hornhautverletzungen beim Hund führte, als dies für die Gruppen zutraf, die örtlich mit Antibiotika oder Kortikosteroiden behandelt wurden.

Eine Hauptwirkung von Vitamin A besteht in der Anregung der Ausreifung und der Erhaltung der Funktion der Keimdrüsen. Bei Mangel tritt Hodenatrophie auf. Bei weiblichen Tieren ist bei Mangel an Vitamin A die Ausreifung der Tertiärfollikel gehemmt; die Bildung von 17- β -Östradiol nimmt ab (Kolb und Seehawer 1998).

Die Beteiligung an der Synthese von Mucopolysacchariden, die als Gerüst- und Schleimstoffe zum Aufbau, zur Abdeckung und Abdichtung der Epitheloberfläche an der äußeren Haut und den Schleimhäuten des Atmungs- sowie Harn- und Geschlechtsapparates benötigt werden, erklärt u.a. die Bedeutung von Vitamin A für die Infektionsabwehr. Umfangreiche Studien über Vitamin A-Mangel bei Tieren führten zur Annahme, dass sowohl die humorale als auch die zelluläre körpereigene Abwehr beeinträchtigt wird (Sommer 1994). Studien über die spezifischen (Antikörperproduktion) und unspezifischen (Killerzellfunktion) Abwehrmechanismen zeigten eine Beeinträchtigung während eines Vitamin-A-Defizits. Vitamin A scheint ein Co-Faktor der spezifischen Abwehr zu sein und spielt eine große Rolle für die Erhaltung von Lymphocyten und natürlichen Killerzellen (Ross *et al.* 1994). Die Vermehrung von T- und B-Lymphocyten, die Bildung von Interleukinen sowie die Antikörperbildung werden im Falle einer Infektion gefördert; die Phagozytoseaktivität von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten steigt unter ihrem Einfluß an (Kolb und

Seehawer 2001). Ein ausreichender Vitamin-A-Spiegel in der Ernährung ist ein bestimmender Faktor für die Balance des Immunsystems zwischen zellvermittelten und antikörpervermittelten Abwehrmechanismen. Ein Vitamin-A-Mangel stört diese Balance und verringert die Antikörperreaktion (Hayes *et al.* 1994). Infolge der Abnahme der Leistungsfähigkeit des Immunsystems treten Infektionen und Parasitenbefall häufiger auf (Kolb und Seehawer 2001).

Vitamin A spielt aufgrund seiner Bedeutung für Epithelien auch eine wichtige Rolle bei der Differenzierung der Epidermis und der Erhaltung der Integrität der Haut einschließlich ihrer Immunfunktion. Sowohl Mangel als auch Überversorgung führen zu Veränderungen (Keratinisierungsstörungen) der Haut, wobei die durch die erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infektionen verursachten Erscheinungen im Vordergrund stehen. Beide Ursachen, sowohl Mangel als auch Überversorgung, kommen als unmittelbare Ursache von Hautkrankheiten selten vor und können durch eine eingehende Fütterungsanamnese erhoben werden (Iben 1996). Retinsäuren regen die Teilung der Keratinozyten und damit die Ausbildung des Haarkleides an. Bei Mangel entsteht verstärkt Haarausfall; die Sekretion der Talgdrüsen steigt an und das Haarkleid wird glanzlos (Tong *et al.* 1990)

Mehrere Veröffentlichungen liegen über die Vitamin-A-reaktive Dermatose beim Cocker Spaniel (idiopathische Seborrhoe der Cocker Spaniels) vor. Sie geht einher mit der erhöhten Bildung von Talg (Seborrhoe), der Verstopfung von Talgdrüsen mit ranzigem Geruch der Haut, der Hyperkeratose der Haarfollikel sowie mit entzündlichen Veränderungen mit Juckreiz. Nach der täglichen oralen Gabe von je nach Autor 10.000 - 50.000 IE (620-800 IE/kg KG/Tag) über 2-10 Wochen kam es zur meist Rückbildung der Symptome. Bis zur vollständigen Heilung können vier Monate vergehen. Die Behandlung mit Vitamin A ist effektiv, muss aber kontinuierlich fortgesetzt werden, vielleicht sogar lebenslang. Obwohl die Dosis ein Vielfaches des Erhaltungsbedarfes beträgt, wurden bisher keine Nebenwirkungen beschrieben. Es ist wichtig darauf hinzuweisen, dass die Vitamin-A-reaktive Dermatose des Cocker Spaniels kein wirklichen Vitamin-A-Mangel ist. Keine anderen klinischen Symptome, die bei Hypovitaminose A auftreten, wurden beobachtet. Die Hunde wurden in den Versuchen mit normal im Handel erhältlichen Futter mit ausreichendem Vitamin-A-Gehalt gefüttert und Durchfallerkrankungen, Exokrine Pankreasinsuffizienz, Hepatopathien oder Parasitenbefall konnten ausgeschlossen werden. Da Ähnlichkeit zu anderen Hauterkrankungen besteht, kann eine Diagnose nur durch therapeutische Vitamin-A-Gaben erfolgen. Als Ursache sind ein lokales Vitamin-A-Defizit, eine Beeinträchtigung des Vitamin-A-Metabolismus in der Haut, oder auch eine Blockade der Vitamin-A-Aufnahme der Haut anzunehmen. Die unterschiedlichen Wirkungen des Vitamins A, wie zum Beispiel die Rückbildung von

krankhaften Keratinisierungs- und Proliferationsstörungen, die Steuerung verschiedenster neutrophiler und mononuklärer Zellfunktionen, die Störung lysomaler Enzyme, die Steuerung der Biosynthese der Mucopolysaccharide, die Unterdrückung der Talgdrüsensekretion und die Steuerung der Prostaglandinsynthese, sind für die guten Therapiemöglichkeiten verantwortlich (Parker *et al.* 1981, Ihrke und Goldschmidt 1983, Scott 1985, Miller 1989, Iben 1996). Es gibt viele Differenzialdiagnosen, die mit Seborrhoe einhergehen. Zur Zeit ist die Diagnose nur gesichert, wenn nach täglicher Vitamin-A-Gabe von 10.000 IE eine Verbesserung des Krankheitsbildes gesehen wird (Scott 1985).

2.8.2 Vitamin-A-Intoxikation (Vitamin-A-Hypervitaminose)

Der Gebrauch von Vitamin A und seiner Derivate als Therapeutikum beim Hund ist nicht ganz ohne Gefahr. In Nahrungsmitteln tierischer Herkunft werden Vitamin A, Retinylester, Retinal und Retinsäuren aufgenommen, die von gesunden Hunden zu etwa 80-95% verwertet werden. Die Größe der Verwertung nimmt bei Aufnahme weit über den Bedarf hinausgehender Mengen nicht wesentlich ab, so dass eine sehr hohe Dosis eine Intoxikation auslösen kann (Kolb und Seehawer 2001).

Hypervitaminose A und Vergiftungserscheinungen zeigen sich in einer cerebrospinalen Druckerhöhung, Übelkeit, Erbrechen, Anorexie, Gewichtsverlust und Ermüdung. Es kommt zu Dermatitiden, die sich als Erytheme, vermehrte Schuppenbildung und Alopezie zeigen und mit Pruritus einhergehen. Die Schleimhäute trocknen aus und es folgen Rachen- und Zahnfleischentzündungen sowie Entzündungen der Zunge. Es treten Lahmheiten, bedingt durch Knochen- und Gelenkschmerzen, auf. Als weitere Symptome sind Hepatosplenomegalie, Hepatopathien (erhöhte Enzymwerte: ALAT, ASAT, LDH, AP), erhöhte Triglyceridwerte und Blutungen bedingt durch ein Mangel an Prothrombin zu nennen, sowie teratogene Wirkungen. Die Gabe von Vitamin-A-Derivaten ist kontraindiziert bei Diabetis mellitus, Fettleibigkeit, Lebererkrankungen, Koronargefäßerkrankungen und Bauchspeicheldrüsenentzündung (Scott 1985).

Cline *et al.* (1997) gingen der Hypothese nach, dass bei Fütterung von Futtermitteln mit hohem Vitamin A-Gehalt subklinische Veränderungen der Knochendichte auftreten. Der Versuch an adulten Hunden, der ein Jahr andauerte, ergab keine Hinweise auf eine Veränderung der Knochendichte. Auch die Konzentration der Alkalischen Phosphatase sowie des Kalzium- und Phosphorwertes im Serum änderten sich nicht (Cline *et al.* 1997). Im Gegensatz dazu stellten Cho *et al.* (1975) bei jungen Hunden, denen ab einem Alter von acht Wochen eine hohe Dosis von 300.000 IE /kg KG Vitamin A täglich verabreicht wurde, typische Anzeichen einer Vitamin-A-Hypervitaminose fest. Im Verlaufe von 4-8 Wochen nahm der

Futterverzehr ab; es bildete sich eine Hyperästhesie aus. Die Länge und Dichte der langen Knochen nahm ab. Mit vorzeitigem Epiphysenschluß, Osteoporoseanzeichen, Osteophytenbildung und periostalen Reaktionen an den Diaphysen von Radius, Ulna und Fibula sowie Fettleber und Kalziumeinlagerungen in der Niere folgten weitere Symptome. Degenerative Gefäßveränderungen waren nicht nachweisbar. Die Folgen der Hypervitaminose A traten nicht so deutlich auf, als anstatt von reinem Vitamin A eine Mischung der Vitamine ADE verabreicht wurde (Cho *et al.* 1975). Vitamin E, ein fettlösliches Antioxidans, verhindert den oxidativen Abbau von Vitamin A im Magen-Darm-Trakt und steigert dadurch dessen Speicherung im Gewebe und in der Leber (Bässler 1997).

In einer Studie wurde die Toxizität zweier Retinoide beim Hund untersucht. Ihre Gabe über 12 Monate in unterschiedlicher Dosis bis 120 mg/kg KG täglich führte zu einer Vielzahl akuter und chronischer Symptome. Zusätzlich zu den oben genannten traten auf: steifer Gang, Hodenatrophie, Hemmung der Spermatogenese, Fettleber und Todesfälle. Die Gabe von 25.000 IE/kg KG Retinylpalmiat über zehn Monate ergab keine Vergiftungssymptome (Scott 1985). Dies wird durch verschiedene Autoren bestätigt (Parker *et al.* 1981, Ihrke und Goldschmidt 1983, Scott 1985, Miller 1989, Iben 1996). Toxische Erscheinungen wurden erst bei einer Dosis gefunden, die den täglichen Vitamin A-Bedarf um das Hundertfache überschritt (Scott 1985).

Es war den Eskimos und Arktisreisenden bekannt, dass die Aufnahme von Eisbärleber beim Menschen und beim Hund Krankheitserscheinungen auslöste. Zwei bis vier Stunden nachdem Eisbärleber konsumiert wurde kam es zu Schläfrigkeit, Trägheit und erhöhter Reizbarkeit. Heftige Kopfschmerzen und Erbrechen traten auf. Später folgten die Loslösung von Haut im Gesicht, am Rumpf sowie an den Händen und Füßen. Einige Opfer starben (Nelson 1985). Eisbären ernähren sich bekanntlich besonders von verschiedenen Robbenarten, über deren hohen Vitamin-A-Gehalt in der Leber heute ausführliche Daten vorliegen. Southcott und Chesterfield (1971) konnten bestätigen, dass die Aufnahme von Robbenleber auch bei Huskys schwere Krankheitserscheinungen auslösen kann. Dies unterstützt die These, dass die Erkrankungen der australischen Antarktisexpedition von 1911 bis 1914 durch eine akute Vitamin-A-Hypervitaminose nach Aufnahme von Huskyleber bedingt waren (Southcott und Chesterfield 1971). Vitamin A wirkt bei vielen Tierarten und auch beim Mensch übermäßig verabreicht teratogen (Scott 1985). Im April und Mai nehmen Eisbären wesentlich mehr Nahrung auf, um sich Körperfettreserven für die vier Monate zu schaffen, wo sie sich an Land aufhalten und kaum oder keine Nahrung zu sich nehmen. Dies trifft besonders für die tragende Eisbärin zu. Sie paart sich im Mai, wenngleich sich das befruchtete Ei nicht teilt (Nelson 1985). Dies könnte bedeuten, dass in der Zeit der höchsten

Nahrungs- und damit Vitamin-A-Aufnahme die Entwicklung des befruchteten Eies stagniert. Damit werden möglicherweise teratogene Wirkungen umgangen.

Retinsäuren fördern das Wachstum des Embryos und die Spezialisierung der Gewebe des Nervensystems, insbesondere der Augenanlage. Ein Mangel bzw. ein hoher Überschuss löst Missbildungen aus. Wiersig und Swenson (1967) beobachteten nach Verabreichung von täglich 125 000 IE /kg KG von Vitamin A an Hunde vom 17.-22. Tag der Trächtigkeit eine verminderte Wurfgröße und bei den Welpen ein gehäuftes Auftreten von Missbildungen, wie zum Beispiel Gaumenspalten (Kolb und Seehawer 2001).

Teratogene Effekte werden durch eine übermäßige Vitamin-A-Aufnahme bei schwangeren Frauen, in Folge von Selbstmedikation oder der Verabreichung von Retinoiden in Zusammenhang mit der Therapie von Akne oder squamösen Dermatosen, beobachtet. Als sicher werden bei Schwangeren, vor allem im Zeitraum der frühen Embryonalentwicklung, eine tägliche zusätzliche Zufuhr von höchstens 10.000 IE/ Tag angesehen (Schweigert 1998). Dosierungen über 10.000 IE beinhalten während der Schwangerschaft ein potentielles Risiko. Im Jahre 1990 warnte das Bundesgesundheitsamt Schwangere vor dem regelmäßigen Verzehr von Schweineleber, da unphysiologisch hohe Vitamin-A-Spiegel, aufgrund relativ hoher Vitamin-A-Gehalte im Tierfutter, festgestellt wurden. Da ein Vitamin-A-Mangel jedoch ebenfalls teratogene Folgen haben kann, sollte eine Menge von 5000 bis 10.000 IE/ Tag bei einer Einzeldosis von maximal 3000 IE zugeführt werden (Bässler 1997).

Eine Vitamin-A-Intoxikation wird allgemein bei Katzen nicht beobachtet, kommt aber bei Tieren, die fast ausschließlich mit Leber gefüttert werden, vor. Betroffene Katzen zeigten Muskelempfindlichkeit, Steifheit und Hyperästhesie, besonders entlang des Halses und der Vordergliedmaßen, wo knöcherne Zubildungen (Exostosen) an Halswirbeln, Rippen und den langen Röhrenknochen der Vordergliedmaßen auftraten. Zunehmend waren auch die Brust- und Lendenwirbel betroffen. Die Beweglichkeit ist dadurch sehr eingeschränkt. Es kommt zu Anorexie und Gewichtsverlust. Weiterhin kann die Vitamin-A-Intoxikation zu feuchten Ekzemen, Haarverlust, Bauchwassersucht und schließlich zum Tode führen. Bei mäßiger Hypervitaminose A kommt es nur zur Spondylose der Halswirbel. Mit zunehmender Vitamin-A-Dosis kommen andere Intoxikationserscheinungen dazu. Die Intoxikation führt auch zeitweise zur Infertilität der männlichen, jedoch nicht der weiblichen Katzen. Eine Reaktion auf eine vitamin-A-arme Ernährung erfolgt im allgemeinen schnell. Die Genesung ist, außer bei chronischen Zuständen, zur allgemeinen Befriedigung möglich. Case *et al.* konnten 1997 experimentell durch eine Verabreichung eines Futters mit einem Gehalt an Vitamin A von 17-35 mg/kg KG (= 56.000-116.666 IE/kg KG) eine Hypervitaminose erzeugen (Hayes 1982,

Kolb und Seehawer 2001). 60.000 IE/ kg KG werden bei der Katze als toxisch angegeben (Meyer und Bronsch 1993).

2.8.3 Prophylaktische und therapeutische Anwendungsmöglichkeiten von Vitamin A in der tierärztlichen Praxis

Schon seit einiger Zeit sind die Auswirkungen von Retinoiden auf das Wachstum und die Differenzierung normaler und transformierter Zellen bekannt. Bereits die erste Generation von Retinoiden stellte grundlegende vorbeugende und therapeutische Medikamente gegen Krebs in Aussicht. Die Entwicklung und Testung von Retinoiden mit einem verbesserten Verhältnis zwischen therapeutischem Nutzen und Toxizitätsrisiko muss vor Gebrauch kritisch beleuchtet werden. Um eine optimale Wirkung gegen fortgeschrittenen Krebs zu erreichen, ist es notwendig, Retinoide mit anderen Molekülen oder chemotherapeutischen Verbindungen zu testen (Meysken 1994). Retinoide, Cytokine und auch Vitamin D₃ hemmen die Zellproliferation und Angiogenese und induzieren die Zelldifferenzierung. Diese Wirkungen stellen potentielle Antitumor-Aktivitäten dar, wobei die Kombination dieser drei Komponenten eine wesentlich höhere Wirksamkeit als die Einzelanwendung besitzt. Ausgehend von den experimentellen Daten eröffnet diese Kombination neue interessante klinische chemopreventive und chemotherapeutische Möglichkeiten (Bollag *et al.* 1994). Willet und Hunter (1994) untersuchten durch epidemiologische Studien und Daten, wie sich der Einfluss der Aufnahme von Vitamin A auf das Auftreten der drei hauptsächlichsten Krebsleiden beim Menschen auswirkt. Der Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Vitamin A und Brustkrebs besteht. Noch ist jedoch nicht klar, ob das Vitamin A oder Carotinoide, oder beide eine Wirkung in diesem Zusammenhang ausüben. Die vorhandenen Daten legen nahe, dass Vitamin A einen mässigen schützenden Effekt hat. Das Risiko an Brustkrebs zu erkranken wird vermindert. Die Annahme, dass Vitamin A vor Darmkrebs schützt, finden die Autoren noch nicht überzeugend. Auch Beweise für die Möglichkeit, dass eine höhere Vitamin-A-Aufnahme das Risiko an Prostatakrebs zu erkranken vermindert, müssen erst durch weitere Forschung erbracht werden (Willet und Hunter 1994). Bei der Behandlung von gutartigen Hauttumoren von Hunden wurden durch Anwendung von Retinoiden z.T. gute Erfolge erzielt. So veröffentlichten White *et al.* 1993 Ergebnisse, wonach die Applikation von Isoretinoin bei Hunden mit verhornenden Epitheliomen (wogegen auch Etretnate gut wirksam waren) sowie mit Papillomen und Epidermalzysten z.T. zur Rückbildung der Tumoren um 90% führte. Das Wachstum von kutanen Lymphomen wurde durch Anwendung der genannten Verbindungen z.T. gehemmt. Bei sieben der 24 behandelten Hunde wurden Nebenerscheinungen, wie Keratokonjunktivitis, Polydipsie, Gelenkschmerzen und Hautjucken, festgestellt. Durch Vitamin-A-Gabe war es möglich die verzögerte Wundheilung, auch wenn sie durch

vorangegangene Kortikosteroidgabe bedingt war, voranzubringen (Schweizer und Bartus 1975).

Bei einem Versuch, die Auswirkung von Arterienverkalkung (Arteriosklerose) bei Hunden auf die Glukosetoleranz zu untersuchen, konnte festgestellt werden, dass diese keine verminderte Glukosetoleranz zeigten und das sich nach Zugabe von Vitamin A die Glukosetoleranz vergrößerte (Krause und Brown 1967). Krause *et al.* (1967) untersuchten bei reinrassigen Beageln die Lipidveränderungen die nach Stressinduktion auftraten und wie sich diese nach Vitamin-A-Gabe veränderten. Nach der Stressinduktion (durch ACTH, Thiourazil, fettige Ernährung) konnten folgende Lipidveränderungen festgestellt werden.

- im Serum: Cholesterol erhöht, Gesamtlipide erhöht, Triglyceride erniedrigt;
- in allen Organen: Triglyceride erhöht, Phospholipide erniedrigt;
- in den Arterien: freies Cholesterol erhöht;
- erhöhter Prozentsatz an gesättigten Fettsäuren, die in Verbindung mit veresterten Lipiden stehen.

Nach Gabe von Vitamin A ergaben sich folgende Veränderungen:

- im Serum: alle Lipide erhöht außer freies Cholesterol;
- in allen Organen: Phospholipide erhöht;
- in den Arterien: alle arteriellen Lipide erhöht, außer freies Cholesterol erniedrigt
- reduzierter Prozentsatz an gesättigten Fettsäuren, die in Verbindung mit veresterten Lipiden stehen.

Es scheint, dass Vitamin A die durch Stress erhöhten Lipideinlagerungen senkt und die Cholesteroleinlagerung in den Gefäßen verzögert (Krause *et al* 1967). Es wurde nachgewiesen, das Retinoide als Antioxidants wirken und effektive Radikalfänger sind. Eine höhere Dosis kann erforderlich sein bei Erkrankungen, die mit der Produktion freier Radikale, chemischer Giftstoffe, mit Strahlungsschäden und anderen schädlichen Folgen sowie mit Entzündungszuständen einhergehen (Livrea und Packer 1994).

Viele Forscher haben mit ihren Untersuchungen gezeigt, dass Vitamin A einen guten Marker darstellt, sowohl für die vom Darm stammenden Chylomikronen, als auch für intestinale Lipoproteine während der postprandialen Lipidämie. Nachdem die intestinalen Lipoproteine hydrolisiert werden, verbleibt die Mehrheit der Retinylester bei den Partikeln und können so in der frühen postprandialen Phase als ein Marker für die Lipoproteine genutzt werden, die vom

Verdauungstrakt abstammen. Damit müssen keine radioaktiven Isotope mehr eingesetzt werden (Ruotolo *et al.* 1992, Le *et al.* 1997).