

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik
Vorstand Prof. Dr. E. Kienzle

Arbeit angefertigt unter der Leitung von

PD Dr. P. Kölle

**Untersuchung zur Bestimmung des
Vitamin A-, D₃- und E-Gehalts
von Reptilienplasma**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
ASTRID WIEDEMANN
aus
Bad Karlshafen

München 2010

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. J. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. E. Kienzle

Korreferent/en: Prof. Dr. Rambeck

Tag der Promotion: 13. Februar 2010

*Meinen Eltern
und
meinem Freund Karl*

in Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung und Problemstellung.....	1
2 Schrifttum.....	2
2.1 Systematik der untersuchten Tierarten.....	2
2.1.1 Klasse Reptilia.....	2
2.1.2 Ordnung Schildkröten (Testudines, Chelonia).....	4
2.1.3 Ordnung Schuppenkriechtiere (Squamata).....	7
2.2 Vitamin A.....	10
2.2.1 Stoffwechsel.....	14
2.2.2 Funktion.....	16
2.2.3 Hypervitaminose A.....	17
2.2.4 Hypovitaminose A.....	18
2.3 Lutein.....	19
2.4 Vitamin D.....	21
2.4.1 Stoffwechsel.....	23
2.4.2 Funktion.....	28
2.4.3 Hypervitaminose D.....	29
2.4.4 Hypovitaminose D.....	29
2.5 Vitamin E.....	31
2.5.1 Stoffwechsel.....	33
2.5.2 Funktion.....	34
2.5.3 Hypervitaminose E.....	35
2.5.4 Hypovitaminose E.....	35
3 Eigene Untersuchungen.....	37
3.1 Studienziel.....	37
3.2 Material und Methoden.....	37
3.2.1 Untersuchte Tiere, Haltung, Fütterung.....	37
3.2.2 Probengewinnung, -aufbewahrung, und -verarbeitung.....	40
3.2.3 Bestimmung von Vitamin A (Retinol, Retinylester) und Lutein mittels HPLC.....	41
3.2.4 Bestimmung von Vitamin E (α -Tocopherol) mittels HPLC.....	43
3.2.5 Bestimmung von 25-OH-D ₃ , bzw. der 25-OH-D ₃ -äIR mittels EIA.....	44
3.2.6 Statistische Methoden.....	52
4 Ergebnisse.....	53
4.1 Vitamin A-Gehalt des Plasmas.....	53
4.2 Lutein-Gehalt des Plasmas.....	55
4.3 25-OH-D ₃ -äIR im Plasma.....	57
4.4 Vitamin E-Gehalt des Plasmas.....	60
4.5 Standardisierte Fütterung über zehn Tage.....	62
5 Diskussion.....	63
5.1 Kritik der Methodik.....	63
5.1.1 Tiermaterial.....	63
5.1.2 Probenmaterial.....	64
5.1.3 Analysemethoden.....	65
5.2 Besprechung der Ergebnisse.....	67
5.2.1 Vitamin A-Gehalt des Plasmas.....	67
5.2.2 Lutein-Gehalt des Plasmas.....	69
5.2.3 25-OH-D ₃ -äIR im Plasma.....	71
5.2.4 Vitamin E-Gehalt des Plasmas.....	74
5.2.5 Standardisierte Fütterung über zehn Tage.....	77

6 Zusammenfassung / Summary.....	78
7 Einzelergebnisse der Analysen.....	80
8 Literaturverzeichnis.....	85
9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	111
10 Abkürzungsverzeichnis.....	114
11 Danksagungen.....	116

1 Einleitung und Problemstellung

Reptilien erfreuen sich hierzulande immer größerer Beliebtheit. Laut dem Industrieverband Heimtierbedarf (IVH) e.V. (Düsseldorf) lebten 2008 in mehr als einem Drittel aller deutschen Haushalte insgesamt 23,3 Millionen Heimtiere (ohne Zierfische und Terrariantiere). In 1,2% dieser Haushalte waren 0,4 Millionen Terrarien vorhanden. Diese Zahlen beruhen allerdings nur auf Informationen der Zoofachgeschäfte. Sie berücksichtigen nicht die große Anzahl der Reptilien, die über Reptilienbörsen oder private Züchter erworben wurden. Es gibt Schätzungen, die von 4-5 Millionen Reptilien in Deutschlands Haushalten ausgehen (KÖLLE 2009, unveröffentlichtes Material).

Ein Großteil der Erkrankungen der Reptilien ist durch falsche Ernährung und/oder Haltung der Tiere bedingt (KÖLLE 2009). Als ein diagnostisches Mittel zur Erkennung von ernährungsbedingten Krankheiten können Plasma-Vitaminkonzentrationen dienen. Diese Studie stellt einen Beitrag zur Erstellung von Referenzwerten für Plasmakonzentrationen der Vitamine A, D und E bei Reptilien dar.

Daher wurde in dieser Studie vor allem der Zusammenhang zwischen Haltung und Fütterung der Tiere einerseits und den Plasma-Vitaminkonzentrationen andererseits untersucht.

Die meisten Referenzwerte für Reptilien sind oft Analogieschlüsse im Vergleich zu anderen Tierarten. Derartige Analogieschlüsse sind nicht unbedenklich, da es bei Reptilien beispielsweise große Unterschiede im Vitamin D-Stoffwechsel zwischen tag- und nachtaktiven Reptilien zu geben scheint (CARMAN 2000). Auch im Bezug auf die Fähigkeit Vitamin D zu resorbieren gibt es Unterschiede zwischen den Reptilienarten (MARDEN 1999, LAING et al. 2001).

Zudem gibt es Hinweise darauf, dass es in der Verstoffwechselung von Carotinoiden speziespezifische Unterschiede gibt (RAILA und SCHWEIGERT 2002).

Aufgrund der enormen Artenvielfalt der Klasse der Reptilien, ist es nicht möglich, für jede Art gesonderte Referenzwerte zu erstellen. Daher wurden die Tiere dieser Studie in Gruppen eingeteilt (Echsen, Schlangen, Wasser- und Landschildkröten), um Tendenzen innerhalb dieser Gruppen in Bezug auf die Plasma-Vitaminkonzentrationen erkennen zu können.

2 Schrifttum

2.1 Systematik der untersuchten Tierarten

Die folgenden Angaben sind dem Buch „Zootierhaltung, Tiere in menschlicher Obhut, Reptilien und Amphibien“ (ENGELMANN 2006) entnommen. Die Zahlen stammen von der Homepage <http://www.reptile-database.org> (UETZ et al. 2008).

2.1.1 Klasse Reptilia

Die Klasse der Reptilia (lat.: *reptilis* = kriechend) hat sich aus der der Amphibien entwickelt. Es sind lungenatmende Landwirbeltiere, deren Haut stark verhornt und durch Schuppen oder Schilder gekennzeichnet ist.

Sie sind poikilotherm und überwiegend ovipar. Die Entstehung des Amnioten-Eies brachte einen weiteren Vorteil: Drei zusätzliche vom Embryo gebildete Hüllen machten auch die Fortpflanzung vom Wasser unabhängig. Dies ermöglichte es den frühen Reptilien, erstmals das Festland als neuen Lebensraum, völlig unabhängig von Gewässern, zu erschließen.

Bei den Reptilien unterscheidet man verschiedene Schädelformen. Je nach Anzahl und Lage der Schläfenfenster unterscheidet man vier Typen:

- den anapsiden Typ (ohne Schläfenfenster, z.B. Schildkröten)
- den synapsiden Typ (mit einem unteren Schläfenfenster, z.B. ausgestorbene Saurier)
- den euryapsiden Typ (mit einem oberen Schläfenfenster, z.B. verschiedene ausgestorbene Reptiliengruppen)
- den diapsiden Typ (mit zwei untereinander liegenden Schläfenfenstern, z.B. Krokodile und Brückenechsen)

Die Klasse Reptilia beinhaltet circa 8566 bekannte Arten (<http://www.reptile-database.org>, UETZ et al. 2008). Diese sind in vier rezente Ordnungen unterteilt:

- Schildkröten (*Testudines, Chelonia*), 313 Arten
- Krokodile (*Crocodylia*), 23 Arten
- Brückenechsen (*Rhynchocephalia*), 2 Arten
- Schuppenkriechtiere (*Squamata*), 8228 Arten (davon 3149 Schlangen- und 5079 Echsenarten)

Klasse Reptilien (*Reptilia*)

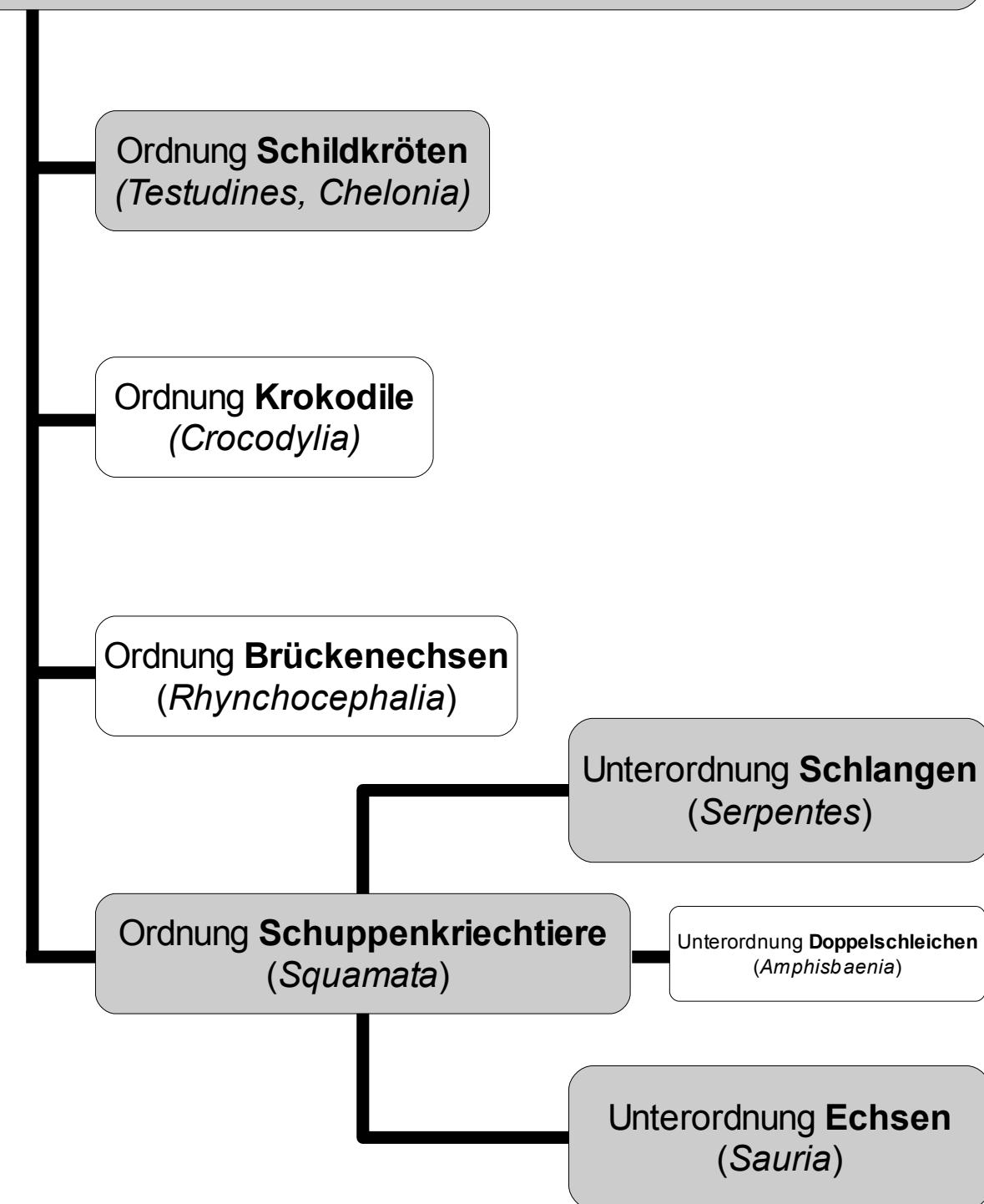


Abbildung 1: Taxonomie der Klasse der Reptilien (Tiere dieser Studie sind grau hinterlegt)

2.1.2 Ordnung Schildkröten (*Testudines, Chelonia*)

Die Ordnung der Schildkröten umfasst 14 Familien mit etwa 300 Arten, die in zwei Unterordnungen eingeteilt werden:

- Unterordnung Halsberger-Schildkröten (*Cryptodira*), ziehen ihren Kopf durch eine senkrechte S-förmige Biegung der Wirbelsäule ein, 11 Familien
- Unterordnung Halswender-Schildkröten (*Pleurodira*), legen Kopf und Hals waagerecht seitlich um, 3 Familien

Zu den untersuchten Tieren zählen:

Halsberger-Schildkröten:

- Familie Neuwelt-Sumpfschildkröten (*Emydidae*)
 - Unterfamilie Schmuckschildkrötenverwandte (*Deirochelyinae*)
 - Gattung Höcker-Schmuckschildkröten (*Graptemys*)
 - Art Mississippi-Höckerschildkröte (*G. pseudogeographica kohnii*)
 - Gattung *Pseudemys*
 - Art Rotbauch-Schmuckschildkröte (*P. rubriventris nelsoni*)
 - Art Fluss-/Hieroglyphen-Schmuckschildkröte (*P. concinna*)
 - Art Peninsula-Schmuckschildkröte (*P. peninsularis*)
 - Gattung *Trachemys*
 - Art Rotwangen-Schmuckschildkröte (*T. scripta elegans*)
 - Art Gelbwangen-Schmuckschildkröte (*T. scripta troostii*)
 - Familie Schnappschildkröten (*Chelydridae*)
 - Gattung *Chelydra*
 - Art Schnappschildkröte (*C. serpentina*)
 - Gattung *Macrochelys*
 - Art Geierschildkröte (*M. temmincki*)
 - Familie Schlammschildkröten (*Kinosternidae*)
 - Unterfamilie *Staurotypinae*
 - Gattung Kreuzbrustschildkröten (*Staurotypus*)
 - Art Große Kreuzbrustschildkröte (*S. triporcatus*)
 - Familie Landschildkröten (*Testudinidae*)
 - Gattung *Chelonoides*
 - Art Köhlerschildkröte (*C. carbonaria*)
 - Gattung Eigentliche Landschildkröten (*Testudo*)
 - Art Griechische Landschildkröte (*T. hermanni*)
 - Art Vierzehen- oder Steppenschildkröte (*T. horsfieldii*)

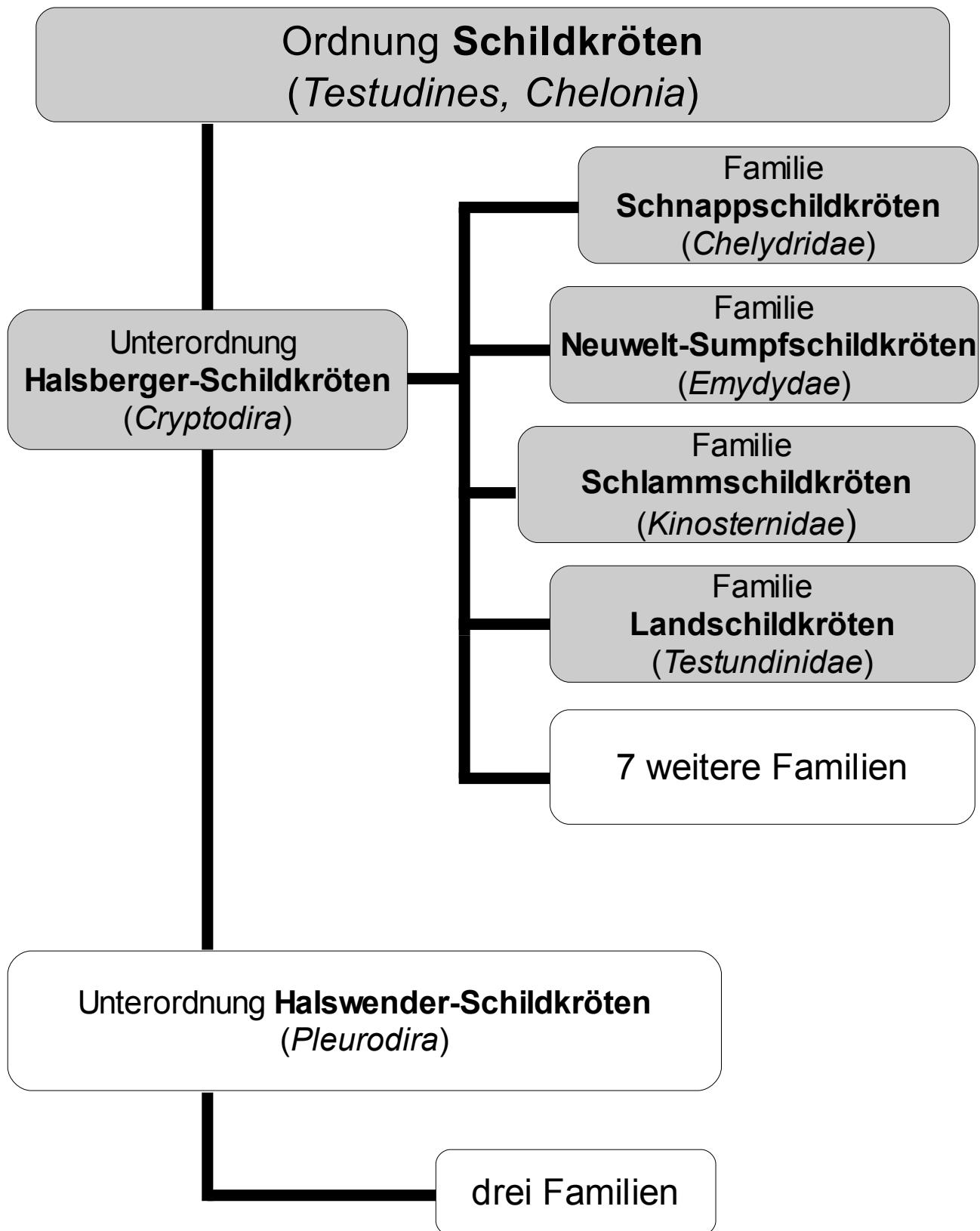


Abbildung 2: Taxonomie der Schildkröten (Tiere der Studie sind grau hinterlegt)

Verbreitung, Lebensweise, Nahrung:

Familie Neuwelt-Sumpfschildkröten (*Emydidae*)

Verbreitung	Nordamerika bis zum nordöstlichen Südamerika sowie Europa, Westasien und Nordafrika (Mannigfaltigkeitszentrum in Nordamerika)
Lebensweise	vorwiegend tagaktiv, bewohnen Flüsse, Bäche, Teiche und Seen, v.a. die Schmuckschildkröten halten sich jedoch gerne längere Zeit außerhalb des Wassers auf (sonnenbaden, usw.), Paarung und Eiablage im Frühjahr, Schlupf der Jungen meist nach 60-80 Tagen
Nahrung	meist omnivor, je nach Art mit mehr oder weniger großen tierischen und pflanzlichen Anteilen

Familie Schnappschildkröten (*Chelydidae*)

Verbreitung	Nord- und Mittelamerika bis zum nordwestlichen Südamerika
Lebensweise	tag- und dämmerungsaktiv, räuberisch, lauern am Grund von Flüssen und Seen, bevorzugt in dicht bewachsenen, schlammigen Gebieten; wenig bewegungsfreudig, Eiablage an Land, bis über 80 Eier pro Gelege
Nahrung	Fische, Frösche, Wasserschlangen, Jungtiere auch Würmer und Schnecken

Familie Schlammschildkröten (*Kinosternidae*)

Verbreitung	Nord-, Mittel- und Südamerika
Lebensweise	dämmerungs- bis nachtaktive Bewohner schlammiger Gewässer, weitgehend wasserlebend, Gelege mit meist nur 1-5 Eiern, Inkubationsdauer 100-200 Tage
Nahrung	hauptsächlich die verschiedensten wasserlebenden Wirbellosen, auch Kleinfische und Lurche sowie Aas, daneben in unterschiedlichem Ausmaß auch Pflanzliches

Familie Landschildkröten (*Testudinidae*)

Verbreitung	in allen Erdteilen, außer Australien
Lebensweise	tagaktiv, meist auf trockenem Land, ausgeprägter Ortssinn und Tagesrhythmus, Eier meist kugelig
Nahrung	in der Regel herbivor

2.1.3 Ordnung Schuppenkriechtiere (**Squamata**)

Die Ordnung der Schuppenkriechtiere beinhaltet 40 Familien mit gegenwärtig etwa 8200 Arten, die üblicherweise noch in 2 Unterordnungen aufgeteilt werden:

- Echsen (*Sauria*), 5079 Arten
- Schlangen (*Serpentes, Ophidia*), 3149 Arten.

Zu den untersuchten Tieren zählen:

Echsen mit insgesamt 19 Familien

- Familie Leguane (*Iguanidae*)
 - Unterfamilie Eigentliche Leguane (*Iguaninae*)
 - Gattung Grüne Leguane (*Iguana*)
 - Art Grüner Leguan (*I. iguana*)
 - Familie Agamen (*Agamidae*)
 - Gattung Wasseragamen (*Physignatus*)
 - Art Grüne Wasseragame (*P. cocincinus*)
 - Gattung Bartagamen (*Pogona*)
 - Art Kopfstreifen-Bartagame (*P. vitticeps*)

Schlangen mit insgesamt 17 Familien

- Familie Riesenschlangen (*Boidae*)
 - Unterfamilie Pythonverwandte (*Pythoninae*)
 - Gattung Echte Pythons (*Python*)
 - Art Ball- oder Königsschlangen (*P. regius*)
 - Art Netzpython (*P. reticulatus*)
 - Gattung *Morelia*
 - Art Rautenpython (*M. spilota*)
 - Unterfamilie Boaverwandte (*Boinae*)
 - Gattung *Boa*
 - Art Abgottschlange oder Königsboa (*B. constrictor constrictor*)
 - Art Kaiserboa (*B. constrictor imperator*)
 - Gattung Schlankboas (*Epicrates*)
 - Art Regenbogenboa (*E. cenchria*)

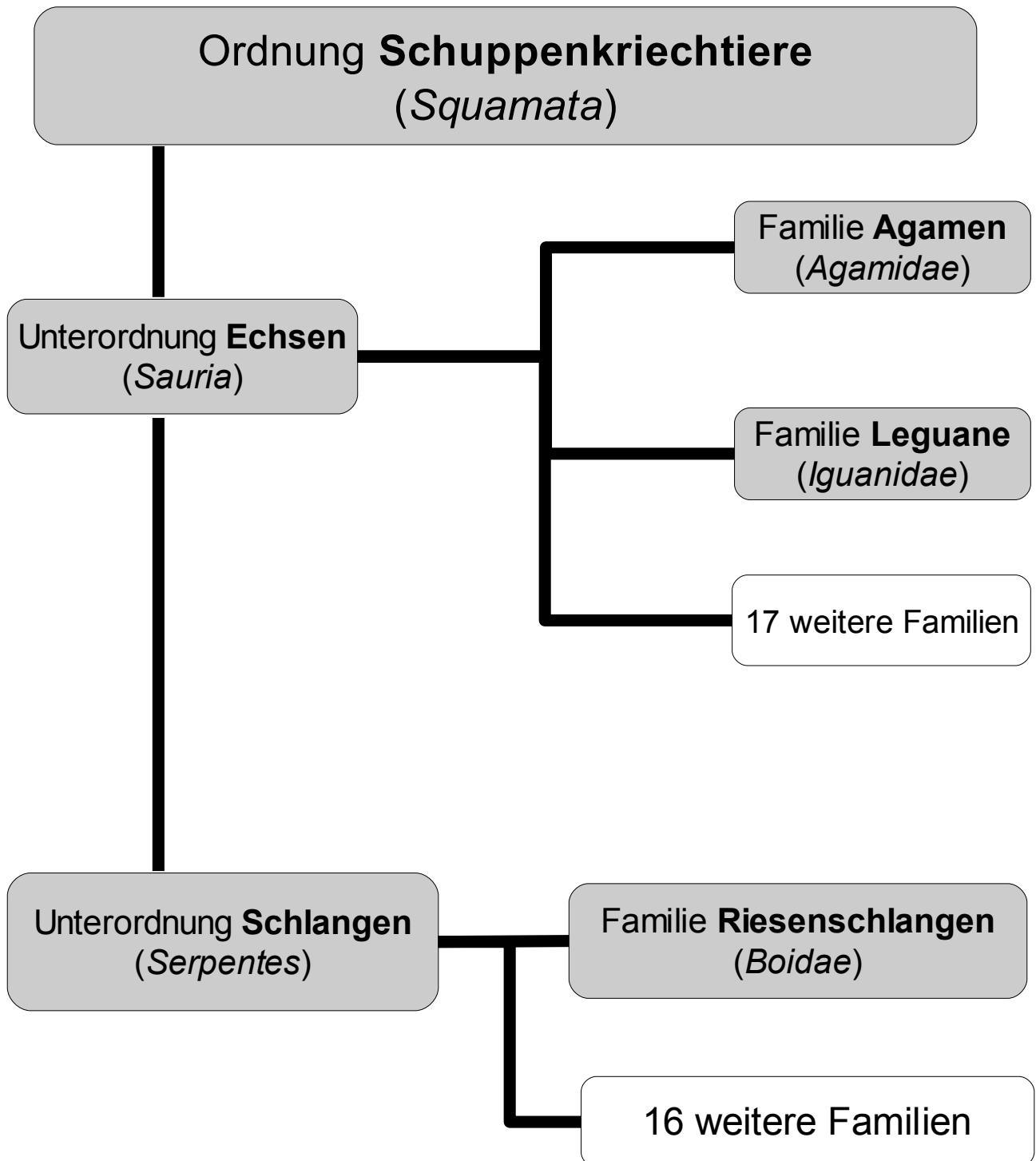


Abbildung 3: Taxonomie der Schuppenkriechtiere (Tiere der Studie sind grau hinterlegt)

Verbreitung, Lebensweise, Nahrung:

Familie Leguane (*Iguanidae*)

Verbreitung	fast ausschließlich in Nord-, Mittel- und Südamerika
Lebensweise	an die verschiedensten Lebensräume angepasst, von der Wüste bis zum tropischen Regenwald; im Boden wühlend, auf Gebüsch und Bäume kletternd, tagaktiv, meist sonnenliebend, eierlegend, keine Brutpflege
Nahrung	von herbivor (<i>Iguana</i> , <i>Cyclura</i>) fließende Übergänge mit steigender Menge tierischer Kost, bis hin zu reinen Insektenfressern

Familie Agamen (*Agamidae*)

Verbreitung	Afrika (außer Madagaskar), Südeuropa, Mittel- und Südasien, Australien
Lebensweise	meist sonnenliebende Tagtiere (runde Pupillen), vor allem in Trockengebieten verbreitet, viele besondere Wärmeregulierungs- (Abplatten, Eingraben) und Sozialverhaltensweisen (Kopfnicken, Kehlsackspreizen, Aufrichten von Kämmen und Stacheln), häufig ausgeprägter Farbwechsel, besonders am Kopf, gutes Seh- und Hörvermögen, mit wenigen Ausnahmen eierlegend
Nahrung	meist Insekten oder andere Gliedertiere, manche Agamen fressen etwa ebenso viel pflanzliche wie tierische Kost (<i>Pogona</i>)

Familie Riesenschlangen (*Boidae*)

Verbreitung	in Tropen und Subtropen aller Erdteile, in Europa eine Art
Lebensweise	bewohnen viele Lebensräume, sowohl am Boden als auch auf Bäume kletternde Arten, meist sehr gute Schwimmer, sehr kräftige Muskulatur, charakteristisches Beutefangverhalten durch Umschlingen und Erdrosseln, ovipare und ovovivipare Arten
Nahrung	hauptsächlich Säugetiere und Vögel

2.2 Vitamin A

Der Ausdruck Vitamin A fasst eine Reihe an natürlichen und synthetischen Verbindungen mit ähnlicher chemischer Struktur, jedoch unterschiedlicher Wirkungsweise zusammen. Bis heute sind, trotz intensiver Forschung, noch nicht alle physiologischen Aspekte bekannt. Insbesondere bezüglich der Speziesunterschiede besteht noch erheblicher Forschungsbedarf.

Vitamin A ist ein fettlösliches Isoprenoideinheit. Es besteht aus vier Isoprenoideinheiten, besitzt fünf C=C-Doppelbindungen und eine funktionelle Gruppe am Ende des azyklischen Anteils (siehe Abbildung 4).

Die wichtigsten Vertreter sind das Retinol (Alkohol), Retinal (Aldehyd), Retinoat (Säure) und die Retinylester (zu den bedeutsamsten zählen Retinyl-Palmitat, -Oleat, und -Stearat).

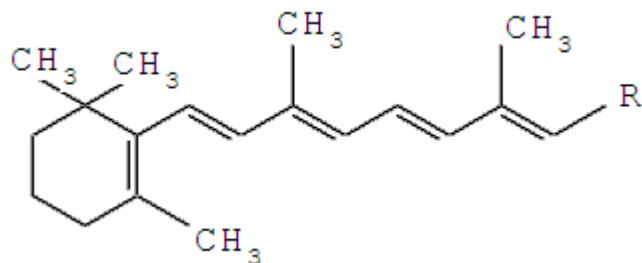


Tabelle 1: Beispiele natürlicher Vorkommen von Vitamin A, bzw. Provitamin A (RE/100g uS)
Quelle: SOUCI et al. 2008

Futtermittel	Retinoläquivalent (µg/100g uS)
Rinderleber	18000
Karotte	1500
Große Brennnessel, Blatt	742
Rukola	233
Paprikaschote	179
Tomate	97
Gurke	62
Apfel	5,7
Löwenzahnblätter	1,3

Die Plasma-Retinolkonzentrationen bleiben unabhängig von der Zufuhr über einen langen Zeitraum konstant. Dies liegt zum einen an der Speicherkapazität der Leber, zum anderen an der peripheren homöostatischen Regulation der Plasmakonzentration (RAICA et al. 1972).

In der Literatur sind diverse Angaben zu den Plasma-Retinolkonzentrationen von Reptilien zu finden. DIERENFELD et al. (1999) haben beispielsweise bei 193 Wasserschildkröten (10 Arten) und bei 345 Landschildkröten (5 Arten) die Retinol-Konzentrationen bestimmt (siehe Tabelle 2). Zwischen Zoo- und Wildtieren fanden sie keine statistisch relevanten Unterschiede der Plasma-Retinolwerte.

Die Werte von Reptilien scheinen allerdings generell unter denen von Säugetieren, wie beispielsweise dem Hund (1,96 µg/ml) oder der Katze (0,96 µg/ml) zu liegen. Das Pferd wiederum weist auch niedrige Werte von 0,21 µg/ml auf (BAKER 1986).

Weitere Werte von Reptilien, die in der Literatur gefunden werden konnten, sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: Plasma-Retinolkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{ml}$) einiger Reptilienarten

Art	n	Retinol ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Quelle
Spaltenschildkröte (<i>Malacochersus tornieri</i>)	17	0,45	RAPHAEL et al. (1994)
Kalifornische Gopherschildkröte (<i>Gopherus (Xerobates) agassizii</i>)	6	0,155	JACOBSON et al. (1991)
Kalifornische Gopherschildkröte (<i>Gopherus agassizii</i>)	91	0,4	DICKINSON et al. (2002)
Wasserschildkröten	193	0,04-0,35	DIERENFELD et al. (1999)
Landschildkröten	345	0,04-0,61	DIERENFELD et al. (1999)
Anakonda (<i>Eunectes murinus</i>)	12	0,03-0,24	CALLE et al. (1994)
Klapperschlangen (<i>Crotalus spp.</i>)	1	0,023	SCHWEIGERT et al. (1991)
Lederschildkröte (<i>Dermochelys coriacea</i>)	12	0,5	DEEM et al. (2006)
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	5	0,052	RAILA et al. (2002)
Aldabra Riesenschildkröte (<i>Geochelone gigantea</i>)	14	0,008-0,179	GHEBREMESKEL et al. (1991)
Komodowaran (<i>Varanus komodoensis</i>)	43	0,29-1,66	GILLESPIE et al. (2000)

Nach PALMER et al. (1984) liegen die physiologischen Vitamin A-Leberwerte bei Schlangen und Echsen um die 1000 IU/g uS. Bei drei Griechischen Landschildkröten (*Testudo hermanni*) wurden Werte von 10, 30 und 80 IU/g uS Leber gemessen. Zum Vergleich enthält beispielsweise die Leber von Rindern 500 IU/g uS (KAMPHUES et al. 2008).

Die Versorgungsempfehlungen für Vitamin A liegen bei den meisten Spezies zwischen 2 und 10 IE/g TS.

Tabelle 3 zeigt einige in der Literatur angegebene Versorgungsempfehlungen für verschiedene Spezies.

Tabelle 3: Versorgungsempfehlungen von Vitamin A für verschiedenen Spezies

Spezies	Vit. A (IE/g TS)	Quelle
Pferd	5	NRC (2007)
Hund	4	NRC (2006)
Katze	2-3	NRC (2006)
Milchkuh	4	NRC (2001)
Legehenne	4-5	KAMPHUES et al. (2008)
Wasserschildkröte	2-8	DONOOGHUE (2006)
Doseschildkröte (<i>Terrepene sp.</i>)	3-6	DONOOGHUE (2006)
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	8	ALLEN (2003)
karnivore Reptilien	5-10	ALLEN (1994)

Die Empfehlungen für Reptilien von DONOGHUE (2006) und ALLEN (1994, 2003) liegen in dem Bereich der Empfehlungen für andere Tierarten. FOWLER (1980) empfiehlt für Landschildkröten 210 IE/kg Körpermasse am Tag. Das würde beispielsweise für eine 2 kg schwere Schildkröte 420 IE am Tag bedeuten. Setzt man die von BAER et al. (1997) beim Grünen Leguan erarbeitete Trockensubstanz-Aufnahmekapazität von 0,7% des Körpergewichts voraus, ergeben sich für diese Schildkröte 14 g TS-Aufnahme am Tag. Daraus ergäben sich 30 IE/g TS. Damit liegt FOWLERs (1980) Empfehlung deutlich über denen von DONOGHUE (2006) und ALLEN (1994, 2003).

Bei artgerechter Ernährung herbivorer Reptilien garantieren die Carotinoide der Grünpflanzen eine ausreichende Vitamin A-Versorgung (DONOGHUE 2006). Dabei ist zu beachten, dass beispielsweise Heu ungefähr die Hälfte der Vitamin A-Aktivität des β -Carotins innerhalb eines Jahres nach der Ernte verliert (DONOGHUE 1998).

Herbi- und omnivore Reptilien scheinen, im Gegensatz zu karnivoren Reptilien, Carotinoide effektiver umwandeln zu können (DONOGHUE 2006). Dies mag daran liegen, dass die Nahrung der Herbi- und Omnivoren größtenteils aus carotin-reichen Pflanzen besteht und diese daher evolutionär an die Verwertung von Carotinoiden besser angepasst sind, während Karnivoren nur sehr geringe Mengen an Carotinoiden über den gefüllten Magen-Darm-Trakt der Beutetiere aufnehmen. Ein erwachsenes Beutetier enthält jedoch viel Retinol (300 IE/g TS Tierkörper adulte Maus, DOUGLAS 1994). Somit ist bei den karnivoren Reptilien die Notwendigkeit einer effektiven Umwandlung von Carotinoiden in Retinol nicht gegeben.

Karnivore Reptilien, wie beispielsweise Schlangen, erhalten mit erwachsenen, gut gefütterten Nagetieren in der Regel ausreichend Vitamin A. DOUGLAS et al. (1994) untersuchten unter anderem den Vitamin A- und E-Gehalt von ganzen Futtertieren (Mäuse und Ratten). Die Vitamin A-Konzentrationen erhöhten sich mit dem Alter der Mäuse und Ratten. So stiegen die Werte von \sim 16,7 IE/g TS (Jungtier) auf \sim 300 IE/g TS (adulte Mäuse). Allerdings können die Vitamin A-Gehalte von Futtertieren je nach Fütterung und Ernährungszustand stark variieren (DIERENFELD 2002).

2.2.1 Stoffwechsel

Eigensynthese

Keine Tierart ist zur de novo Synthese von Vitamin A fähig. Es wird entweder direkt aus tierischer Nahrung aufgenommen (vor allem in Form von Retinylestern), oder die in Pflanzen enthaltenen Vorstufen, die Carotinoide, werden in den Dünndarmzellen von Dioxygenasen zu Vitamin A gespalten oder aber intakt aufgenommen (BLOMHOFF 2005). Mit seinen zwei β -Jononringen hat das β -Carotin die größte Vitamin A-Wirkung. Bei Vertebraten sind zwei Arten der Spaltung beschrieben: die zentrale durch die 15,15'-Dioxygenase und die dezentrale Spaltung, die an der 9',10'-Doppelbindung erfolgt (KIEFER et al. 2001). Aus dieser dezentralen Spaltung gehen Apo-Carotinale hervor, von welchen jenes mit der längeren Kette weiter zu Retinal oxidiert werden kann. Die Konversion hängt von der Versorgungslage des Organismus, der β -Carotin-, Protein- und Fettzufuhr, sowie der Vitamin-E-Versorgung ab (GOODMAN 1984). Die Konversionsrate ist stark speziesabhängig und führt so zur Unterscheidung von Akkumulatoren und Nicht-Akkumulatoren (GOODWIN 1984). Mit einem Verhältnis von 2:1 gehört das Geflügel zu den effektivsten Umwandlern von Carotinoiden in Vitamin A (Rinder 8:1) (ALBERS 2001).

Das durch die oxidative Spaltung entstandene Retinal kann durch Reduktion zu Retinol bzw. durch Oxidation zu Retinoat umgewandelt werden.

Katzen können vermutlich aufgrund der fehlenden Aktivität einer intestinalen und hepatischen 15,15'-Dioxygenase β -Carotin nicht als Vitamin A-Vorstufe nutzen (RAILA und SCHWEIGERT 2002).

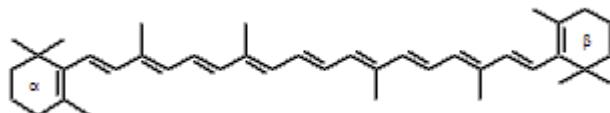


Abbildung 5: Strukturformel des β -Carotins

Absorption

Die pflanzlichen Carotinoide werden mit Hilfe der passiven Diffusion im Dünndarm resorbiert. Es gibt jedoch speziespezifische Unterschiede (RAILA et al. 2002, SLIFKA et al. 1999, PARKER 1996). Ein Teil passiert die Darmwand unverändert und gelangt über die Pfortader in die Leber. Ein anderer Teil wird in der Mukosazelle durch Dioxygenasen gespalten. Jedes Carotinoid scheint einen individuellen Metabolismus in Bezug auf Absorption und Plasmatransport zu haben. Dies liegt hauptsächlich an der unterschiedlichen Isomerisation und Struktur der Moleküle. Die meisten Carotinoide in der Nahrung besitzen aufgrund ihrer konjugierten Struktur und festen Bindung an Makromoleküle eine schlechte Verfügbarkeit (PARKER 1996).

Mit der Nahrung aufgenommene Retinylester werden im Darmlumen enzymatisch durch verschiedene Retinylester-Hydrolasen zu Retinol und Fettsäuren gespalten und über carrier-medierte Prozesse in die Enterozyten aufgenommen (BLOMHOFF 2005). Hier wird Retinol an ein spezifisches Protein gebunden (cellular retinol-binding protein type II, CRBP II). Dieses CRBP II spielt eine wichtige Rolle bei der Veresterung des Retinols. Diese Veresterung wird durch das Enzym Lecithin Retinol Acyl Transferase (LRAT) katalysiert (HERR und ONG 1992). Die Veresterung findet mit langkettigen Fettsäuren, meist Palmitat, statt.

Transport

Bei Mensch und Tier werden Carotinoide im Plasma ausschließlich an Lipoproteine gebunden transportiert (PARKER 1996). Der Transport vom Darm in den Blutkreislauf erfolgt über die Lymphe in Chylomikronen.

Retinylester werden in Chylomikronen eingebaut und mit der Darmlymphe über den Ductus thoracicus in den Blutkreislauf abgegeben, ein Großteil wird jedoch auch als nicht-verestertes Retinol in den Portalkreislauf eingeschleust (HARRISON 2005).

Auf diesen Wegen gelangen die Chylomikronen schließlich in die Leber, wo sie in den Hepatozyten erneut hydrolysiert werden. Hier wird Retinol spezifisch an das Retinolbindeprotein (RBP) gebunden und in das Plasma abgegeben. Dort wird ein Großteil des Retinol-RBP-Komplexes reversibel an Transthyretin (TTR) gebunden und im Blut transportiert. Durch diese Bindung entzieht sich der Komplex der glomerulären Filtration.

Die genauen Mechanismen der Freisetzung des Retinols aus der Leber sind noch nicht im Detail geklärt. RBP scheint jedoch eine große Rolle zu spielen (QUADRO et al. 1999).

Der Vitamin A-Plasmaspiegel unterliegt einer homöostatischen Regulation, diese beruht hauptsächlich auf der Speicherung von Retinylestern in der Leber, die bei Bedarf mobilisiert werden können. Zudem ist die Konzentration von RBP im Plasma, trotz täglicher Schwankungen in der Aufnahme von Vitamin A mit der Nahrung, streng reguliert.

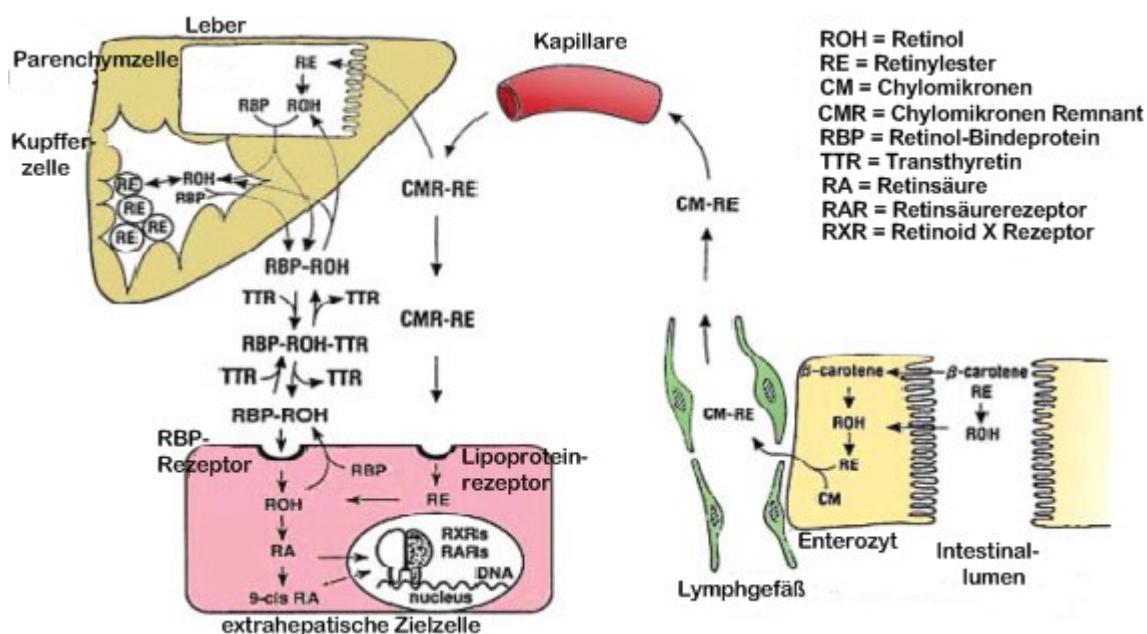


Abbildung 6: Vitamin A-Stoffwechselwege (nach Blomhoff 2005)

In die Zielzellen wird vor allem das all-trans Retinol aufgenommen, ebenso wie Lipoproteine, die Retinylester, Retinol und Carotinoide enthalten.

Erst in der Zelle werden aktive Vitamin A-Metaboliten synthetisiert. All-trans Retinoat ist der Hauptmetabolit und entsteht aus all-trans Retinol in einer Zwei-Schritt-Reaktion. Den ersten und limitierenden Schritt stellt die Oxidation von Retinol zu Retinal dar, der zweite Schritt besteht in der Oxidation von Retinal zu Retinoat. Retinoate regulieren die Genexpression des Wachstumshormons

(BEDO et al. 1989).

Ein anderer wichtiger Metabolit ist das 11-cis-Retinal, welches als essentieller Bestandteil des Rhodopsins beim Sehprozess eine Rolle spielt (WALD 1968).

Im Vitamin A-Stoffwechsel gibt es tierartliche Unterschiede. Die Hauskatze zum Beispiel kann zwar β -Carotin aufnehmen, jedoch nicht in Vitamin A umwandeln (SCHWEIGERT et al. 2002). Herbivore Reptilien können β -Carotin effektiver umwandeln als karnivore (DONOGHUE 2006).

Karnivore Säugetiere transportieren Vitamin A im Blut nicht nur als Retinol, sondern vorwiegend als Retinylester (RAILA und SCHWEIGERT 2002). Bei einer von SCHWEIGERT et al. (1991) untersuchten Klapperschlange (*Crotalus spp.*) wurden keine Retinylester gefunden.

RAILA et al. (2002) machten Versuche zu den speziesspezifischen Unterschieden bei der Resorption von intakten Carotinoiden. So zeigte sich, dass bei Grünen Leguanen (*Iguana iguana*) trotz β -Carotin-Supplementierung (80 mg/kg Futter) kein β -Carotin im Plasma nachgewiesen werden konnte. Dies weist darauf hin, dass Grüne Leguane (*Iguana iguana*) nicht in der Lage sind, β -Carotin im Darm zu absorbieren. Auch hatten β -Carotin oder Canthaxanthin keinen Effekt auf die Plasma-Retinolkonzentrationen. Dagegen fanden sie ungewöhnlich hohe Lutein-Konzentrationen im Plasma (183 bis 535 ng/ml). Diese Studie legt nahe, dass Grüne Leguane selektive Akkumulatoren von polaren Xanthophyllen (v.a. Lutein) zu sein scheinen.

2.2.2 Funktion

Vitamin A („Wachstumsvitamin“, „Epithelschutzzitamin“) ist ein niedermolekularer Stoff, der für den menschlichen und tierischen Organismus essentiell ist. So spielt es eine wichtige Rolle beim Sehvorgang, für das Wachstum, für die Zelldifferenzierung, die embryonale Entwicklung, die Reproduktion und für das Immunsystem. Retinsäure ist direkt und indirekt für die Expression von über 500 Genen verantwortlich (BLOMHOFF 2005).

Retinal ist ein essentieller Bestandteil des Rhodopsins und damit am Sehvorgang beteiligt. Rhodopsin setzt sich aus dem Protein Opsin und der prosthetischen Gruppe 11-cis-Retinal zusammen. Trifft Licht auf die Stäbchen, wird es zu all-trans-Retinal umgelagert. Das nun aktive Rhodopsin bindet an ein G-Protein, was letztlich zur Hyperpolarisierung führt. Postsynaptische Neuronen werden so desinhibiert, das heißt erregt (WALD 1968).

Der Einfluss auf die Zelldifferenzierung wird hauptsächlich auf nukleäre Effekte zurückgeführt. Grundlage dieser Vorstellung ist die Existenz spezifischer Bindungsproteine im Cytosol, die Retinol, bzw. Retinsäure binden und zum Zellkern transportieren, wo sie spezifisch an nukleäre Retinsäurerezeptoren binden (PIETRZIK 2008). Durch Beeinflussung der Genexpression steuert Retinsäure beispielsweise die Synthese von Enzymen (PETKOVICH et al. 1987).

Alle höheren Tiere benötigen zur Fortpflanzung Retinol. FERGUSON et al. (1996) untersuchten in einer Studie unter anderem den Effekt von Vitamin A auf die Fortpflanzung von Chamäleons (*Furcifer pardalis*). Sie stellten fest, dass eine unzureichende Vitamin A-Versorgung negative Effekte auf die Fortpflanzung beider Geschlechter hat. So war beispielsweise die Schlupfrate erniedrigt oder die Kopulationsbereitschaft der Männchen reduziert.

2.2.3 Hypervitaminose A

Bei Reptilien handelt es sich in den meisten Fällen um eine iatrogen bedingte Hypervitaminose.

Der normale Vitamin A-Metabolismus beinhaltet Mechanismen zum Schutz vor Intoxikationen. Einer dieser Mechanismen besteht in der Konversion der unterschiedlichen mit der Nahrung aufgenommenen Vitamin A-Formen zu stabilen, weniger toxisch wirkenden Ester-Formen, meist Retinyl-Palmitat. Schlangen scheinen diesen Mechanismus nicht zu besitzen, da weder in dieser, noch in früheren Studien Retinylester bei Schlangen nachgewiesen werden konnten (SCHWEIGERT et al. 1991). Dies könnte ihre Anfälligkeit gegenüber Intoxikationen erklären. Einen weiteren Schutz stellt der Transport zur Leber dar, der in Form von lipoprotein-gebundenem Vitamin A stattfindet. Die enorme Speicherkapazität der Leber schützt sowohl vor Mangel, als auch vor Intoxikationen. Hier wird das Vitamin A in Ester-Form gespeichert, um das Lebergewebe zu schützen. Die Leber der Landschildkröten scheint keine sehr große Speicherkapazität zu besitzen. Dies macht sie empfänglicher für Intoxikationen. Die kontrollierte Freisetzung des Alkohols (Retinol) aus der Leber durch Hydrolyse der Ester und die darauf folgende Bindung des Retinols an das Retinolbindeprotein ist ein weiterer Schutz vor Intoxikation. Zu einer Vergiftung kommt es, wenn einer oder mehrere dieser Mechanismen überfordert sind (NRC 1987). Die toxischen Effekte kommen zustande, wenn Gewebe mit freiem Retinol, das nicht an das Retinolbindeprotein gebunden ist, in Kontakt kommt (SMITH und GOODMAN 1976). Freies Retinol führt zu unspezifischen Schäden an den Zellmembranen (GOODMAN 1984).

Obwohl die oben beschriebenen Mechanismen an nur wenigen Spezies intensiv untersucht wurden, nimmt man an, dass diese auf die meisten Spezies zutreffen (NRC 1987). Bei Reptilien scheint es diesbezüglich jedoch Unterschiede zu geben.

Beim Menschen wird diskutiert, ob Retinylester-Serumkonzentrationen, die mehr als 10% der gesamten Vitamin A-Konzentration ausmachen, als Indikator einer potentiellen Hypervitaminose, bzw. Toxizität angesehen werden können (BALLEW et al. 2001). Beim Fleischfresser werden Retinylester allerdings physiologischerweise an Lipoproteine gebunden im Blut transportiert (RAILA und SCHWEIGERT 2002).

Bei Reptilien (insbesondere Landschildkröten) zeigt sich eine Hypervitaminose A durch Hautepithelablösungen bis hin zum Tod (PALMER et al., 1984), bei Schlangen in einer übermäßig frequenten Häutung (KÖLLE 2002). Schon eine einmalige Injektion (i.m.) von 10.000 IE/kg kann schwere Symptome hervorrufen (FRYE 1991).

Histologisch ist früh eine Abflachung des Stratum corneum und des Stratum germanitivum zu erkennen. Das Stratum corneum löst sich vom Stratum germanitivum, subkorneale Akantholyse und interzelluläre Ödeme sind zu beobachten (PALMER 1984, FRYE 1989). Die Läsionen brechen auf und legen feuchtes, rotes Gewebe frei.

Bei einer Studie von PALMER et al. (1984) verursachte bei Landschildkröten (*Testudo hermanni*) in die Oberschenkelmuskulatur injiziertes wasserlösliches Vitamin A derartige Läsionen innerhalb von 10-15 Tagen. Während Tiere, die ein fettlösliches Präparat injiziert bekamen keine Symptome zeigten. Allerdings endete der Versuch am Tag 15, so dass offen blieb, ob fettlösliches Vitamin A tatsächlich weniger toxisch ist als wasserlösliches Vitamin A. Oder ob die Resorption aus dem Gewebe nur langsamer, bzw. gar nicht erfolgt. Hinweise darauf geben Sektionsbefunde von Schildkröten, bei denen vor mehreren Tagen subkutan verabreichte ölige Lösungen noch unresorbiert vorzufinden waren (KÖLLE, unveröffentlichtes Material).

Kumulative toxische Dosen von parenteral verabreichtem wasserlöslichem Vitamin A werden bei Reptilien auf 50.000-100.000 IU/kg geschätzt (PALMER et al. 1984, BOYER 1991).

Die Therapie einer Hypervitaminose A ist ähnlich der von Verbrennungen und kann nur symptomatisch erfolgen (KÖLLE 2002).

Die Prognose hängt stark von der verabreichten Dosis an Vitamin A ab. Auch der Gesundheitsstatus (v.a. der Retinol-Plasmaspiegel) vor der Vitamingabe und die Intensität der Behandlung spielen eine Rolle. So ist die Prognose meist zweifelhaft. Hohe Dosen können letal sein.

2.2.4 Hypovitaminose A

Hypovitaminose A ist häufig bei jungen Wasser- und Sumpfschildkröten zu diagnostizieren. Deren Vitamin-A-Vorrat im Dottersack, der vom Schlupf noch vorhanden ist, ist ausreichend für bis zu sechs Monate (FRYE 2003). Der Mangel kommt durch eine unzureichende, einseitige Diät zustande, beispielsweise Trockenfutter mit inadäquatem Vitamin-A-Gehalt, wie beispielsweise getrocknete Insekten.

Erst wenn die Vitamin-A-Speicher der Leber völlig erschöpft sind, kommt es zu einem Abfall der Retinol-Konzentrationen im Blut. Es erkranken vorwiegend Jungtiere, die durch eine Vitamin A-arme Fütterung noch keine Vitamin A-Speicher in der Leber besitzen. Die Leber der erwachsenen Tiere kann genügend Vitamin A speichern, so dass es selten zu einer Hypovitaminose kommt.

Die Pathologie wurde bereits 1967 von ELKAN und ZWART beschrieben.

Das auffälligste Symptom sind geschwollene Augenlider. Die Harderschen Drüsen schwollen an, zellulärer Detritus sammelt sich unter der Augenlidern und im Konjunktivalsack, verursacht durch squämöse Metaplasie und Hyperkeratose der Epithelien.

Am schlimmsten betroffen sind die Epithelien des Respirationstrakts, der Augen, des Endokriniums, des Magendarmtrakts und des Urogenitaltrakts (in genannter Reihenfolge) (FRYE 1984). Gänge im Pankreas, den Nieren und den Tränendrüsen werden durch Detritus verstopft (ELKAN und ZWART 1967).

Frühe Veränderungen zeigen sich in epithelialer Nekrose und Atrophie.

Andere Symptome können Lethargie, Anorexie, Gewichtsverlust und Nasen- oder Augenausfluss (häufig mit Pneumonie vergesellschaftet) sein. Auch die Schlupfrate ist erniedrigt (BOYER 2006).

Durch eine gründliche Anamnese (insbesondere der Fütterung), Symptomatik und diagnostische Therapie mit Vitamin A lässt sich der Verdacht einer Hypovitaminose A erhärten. Diesen kann man theoretisch durch eine Leberbiopsie oder einen Bluttest bestätigen. Da jedoch meist kleine Wasserschildkröten betroffen sind, sind diese diagnostischen Maßnahmen aufgrund der geringen Körpergröße nicht durchführbar.

Auffallend ist, dass die Plasma-Retinolwerte aller Schildkröten physiologischerweise unter 0,2 µg/ml zu liegen scheinen (NRC 1987). Landschildkröten sind durch die mit der Nahrung aufgenommenen Carotinoide weniger empfindlich gegenüber einer nutritiv bedingten Hypovitaminose A. Werden diese jedoch ausschließlich mit einer Diät aus carotinarmem Futter wie Gurke, ausgebliebenem Heu, Nudeln oder Haferflocken gefüttert, kommt es auch bei Landschildkröten zu einer Hypovitaminose A (KÖLLE 2009).

Langfristig muss auf eine bedarfsgerechte Ernährung geachtet werden. Das heißt bei Sumpf- und Wasserschildkröten ganze Fische mitsamt Eingeweiden, Pflanzen wie Wasserlinsen ad libitum, sowie ab und an die Verfütterung von Leber (KÖLLE 2009).

2.3 *Lutein*

Auch das Lutein gehört zu den gut 650 bekannten Carotinoiden, genauer zu den polaren Xanthophyllen. Im Unterschied zu den Carotinen (beispielsweise β -Carotin) besitzen Xanthophylle ein bis sechs Hydroxylgruppen.

Das Lutein setzt sich aus 40 Kohlenstoffatomen in linearer Anordnung zusammen und enthält elf konjugierte Doppelbindungen. An beiden Enden befindet sich je eine Ringstruktur und eine Hydroxylgruppe (siehe Abbildung 7).

Sowohl in Tieren als auch in Pflanzen kommt Lutein meist gemeinsam mit Zeaxanthin, einem Stereoisomer des Luteins, vor.

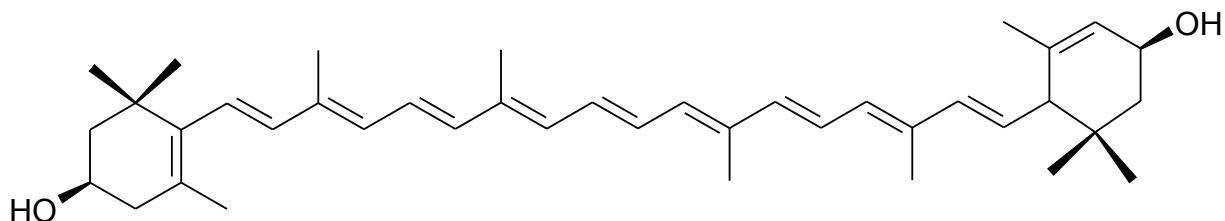


Abbildung 7: Strukturformel des Luteins

Lutein kommt vorwiegend in grünen und gelben Gemüsen wie Brokkoli, Spinat, Kopfsalat oder Kohl vor (siehe Tabelle 4). Im Plasma verursacht es eine Gelbfärbung.

Tabelle 4: Lutein/Zeaxanthin-Gehalte verschiedener Gemüsesorten (mg/100g TS)
Quelle: LAKSHMINARAYANA et al. 2007

Gemüse	Lutein/Zeaxanthin (mg/100g TS)
Kopfsalat	87,12
Spinat	77,5
Brokkoli	54,5

Bei Säugetieren wird in der Nahrung enthaltenes Lutein von den Enterozyten des Duodenums absorbiert. In den Zellen wird es in Chylomikronen verpackt und über das Lymphsystem in den Blutkreislauf abgegeben. In den Hepatozyten wird das Lutein in Lipoproteine eingebaut und zu den Zielgeweben transportiert.

Tabelle 5: Plasma-Luteinkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{ml}$) einiger Tierarten

Art	n	Lutein ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Quelle
Meerschweinchen (<i>Cavia porcellus</i>)	3	0,018	SCHÄFFER et al. (2008)
Legehenne	o.A.	19,8	HAQ et al. (1995)
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	5	0,535	RAILA et al. (2002)
Galapagos-Landleguan (<i>Conolophus subcritatus</i>)	179	7,15	COSTANTINI et al. (2005)

Spezies mit carotinoid-bedingter Färbung weisen höhere Konzentrationen von Carotinoiden im Plasma auf, als Spezies, die nach außen hin keine Färbung aufweisen (TRAMS 1969, HILL 1995).

Dafür gibt es zwei mögliche Erklärungen. Zum einen variiert die artspezifische Aufnahme von Carotinoiden über die Nahrung, zum anderen gibt es speziesspezifische Unterschiede in der Assimilation von Carotinoiden.

GOODWIN (1984) teilte verschiedene Tierarten, im Hinblick auf ihre Fähigkeit Carotinoide zu assimilieren, in unterschiedliche Gruppen ein. So gibt es Carotinoid-Akkumulatoren, wie Primaten und Nicht-Akkumulatoren, wie Schweine, Meerschweinchen und Kaninchen. Zudem gibt es Zwischenformen. Zu diesen Zwischenformen zählen selektive Akkumulatoren wie der Grüne Leguan (*Iguana iguana*, SCHWEIGERT et al. 2002), die ausschließlich Xanthophylle akkumulieren. Ebenso zählen Hühner zu diesen selektiven Akkumulatoren. Sie weisen nur geringe Gehalte von β -Carotin in Plasma und Eigelb auf (SURAI et al. 2001).

Tiere mit gelbem Fettgewebe, wie beispielsweise Rinder, können Carotinoide sehr effektiv akkumulieren. Wohingegen Tiere mit weißem Fettgewebe, wie Kaninchen oder Schweine, keine Carotinoide in ihrem Fettgewebe speichern (vanVLIET 1996, WILLIAMS 1992). Diese Nicht-Akkumulatoren absorbieren zwar β -Carotin, es wird jedoch vor der Speicherung zum größten Teil in Retinol umgewandelt (SLIFKA et al. 1999).

In frühen Studien an Hühnern zeigten PALMER (1915) und PALMER und KEMPSTER (1919), dass der Xanthophyll-Gehalt der Speichergewebe und der des Eigelbs die Carotinoid-Zusammensetzung der Nahrung widerspiegelt. DUA et al. (1967) fanden in ihrer Studie eine hoch signifikante Korrelation zwischen der Xanthophyll-Zusammensetzung des Futters, der Haut und des Plasmas bei Hühnern.

Lutein hat sehr vielfältige Funktionen. So dient es beispielsweise als farbgebendes Pigment in der Tier- und Pflanzenwelt. Die Färbung zahlreicher Vögel und Reptilien ist auf die Einlagerung von Lutein zurückzuführen (VERSHININ 1998). Auch in der Nahrungsmittelindustrie wird Lutein als Farbstoff eingesetzt (E161b). Darüber hinaus wird es unter anderem Geflügelfutter beigesetzt und dient so als indirekter Farbstoff für Eidotter, Haut und Muskelfleisch.

Zudem ist Lutein ein sehr wirkungsvolles Antioxidans. Durch sein System aus konjugierten Doppelbindungen kann es als Reduktionsmittel fungieren und somit andere Moleküle vor Oxidation schützen. Als Farbstoff absorbiert es mit Hilfe dieses Systems aus konjugierten Doppelbindungen UV-Strahlen und schützt so die Haut vor Schäden durch oxidative Prozesse (SORG et al. 2002).

2.4 Vitamin D

Vitamin D wird aus historischen Gründen als Vitamin bezeichnet. Aufgrund seiner endogenen Synthese und der Tatsache, dass seine Wirkung neben dem Syntheseort auch andere Gewebe betrifft, müsste Vitamin D jedoch als Prohormon bezeichnet werden.

Die D-Vitamine oder Calciferole leiten sich von den Steroiden ab. Ergocalciferol (Vitamin D₂) und Cholecalciferol (Vitamin D₃) entstehen aus den entsprechenden Provitaminen, dem pflanzlichen Ergosterol bzw. dem tierischen 7-Dehydrocholesterol.

Cholesterin ist ein 3'-OH-Isoprengerivat (3'-Alkohol) aus der Leber.
Das Cyclo-Pentano-Perhydro-Phenanthren (früher Steran) ist das Grundgerüst der Steroide (siehe Abbildung 8).
Steroide sind lipophil und können somit in die Zellen eindringen.

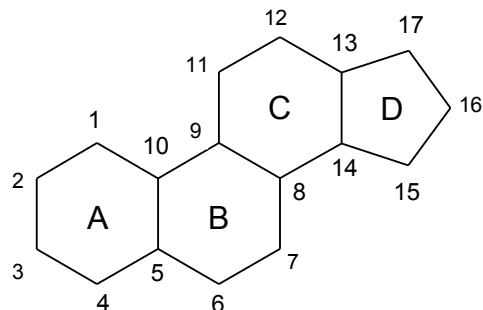


Abbildung 8: Strukturformel des Cyclo-Pentano-Perhydro-Phenanthrens

Cholesterin ist ein Bestandteil der Biomembranen, der ständig erneuert wird. Der Abfall wird zu 7-Dehydrocholesterol oder Gallensäuren abgebaut.

Vitamin D kommt vor allen Dingen in stark fetthaltigen Fischen, Innereien, Pilzen, Eiern und in begrenztem Maße auch in Milchprodukten vor. Tabelle 6 zeigt einige Beispiele ausgewählter Lebensmittel und deren Vitamin D-Gehalt. Die niedrigen Gehalte zeigen die meist geringe Rolle der Vitamin D-Versorgung über die Nahrung.

Tabelle 6: Vitamin D-Gehalte verschiedener Futtermittel ($\mu\text{g}/100\text{g uS}$)
 Quelle: SOUCI et al. 2008

Futtermittel	Vitamin D ($\mu\text{g}/100\text{g uS}$)
Hering (Atlantik)	27
Hühnerei	13
Rinderleber	1,7
Kuhmilch (Rohmilch)	0,074

Erläuterung: 1 μg entspricht 40 IE

Die Vitamin D-Versorgung lässt sich anhand der 25-OH-D₃-Plasmakonzentrationen abschätzen. Die Konzentrationen variieren jedoch stark innerhalb und zwischen den jeweiligen Spezies (siehe Tabelle 7 und 35).

In der Literatur finden sich folgende Angaben über Plasmakonzentrationen von 25-OH-D₃ bei verschiedenen Reptilienarten:

Tabelle 7: 25-OH-D₃-Plasmakonzentrationen (nmol/l) einiger Reptilienarten

Art	n	25-OH-D ₃ (nmol/l)	Quelle
Fidschi-Leguan (<i>Brachylophus spp.</i>)	o.A.	78	LAING et.al. (2001)
Nashornleguan (<i>Cyclura cornuta corn.</i>)	7	332	RAMER et al. (2005)
Rotwangen-Schmuckschildkröte (<i>Trachemys scripta elegans</i>)	6	71,7	ACIERNO et al. (2006)
Landschildkröte (<i>Testudo spp.</i>)	56	28,41	EATWELL (2008)
Bartagame (<i>Pogona barbata</i>)	26	105	LAING et al. (1999)
Kornnatter (<i>Elaphe guttata</i>)	6	196	ACIERNO et al. (2008)
Komodowaran (<i>Varanus komodoensis</i>)	54	4-324	GILLESPIE et al. (2000)
Madagaskar-Taggecko (<i>Phelsuma madagascariensis</i>)	3	40	ALLEN et al. (1995)
Leopard-Gecko (<i>Eublepharis macularius</i>)	4	25,3	ALLEN et al. (1995)
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	24	353-1280	ALLEN et al. (1995)
Chuckwalla (<i>Sauromalus obesus</i>)	9	211	AUCONE et al. (2003)
Pantherchamäleon (<i>Furcifer pardalis</i>)	26	225-1508	FERGUSON et al. (2003)

In Tabelle 8 sind einige Versorgungsempfehlungen von Vitamin D für verschiedenen Spezies zusammengestellt.

Die Größenordnung ist bei allen genannten Spezies ähnlich, jedoch hängt der Bedarf beispielsweise stark von der Eigensynthese über die Haut ab. Hunde und Katzen scheinen diese Fähigkeit der Eigensynthese nicht zu besitzen (HOW et al. 1994). Somit müssen diese ihren gesamten Bedarf über die Nahrung decken.

Tabelle 8: Versorgungsempfehlungen von Vitamin D für verschiedenen Spezies

Spezies	Vit. D ₃ (IE/kg TS)	Quelle
Pferd	500-1000	KAMPHUES et al. (2008)
Hund	400	NRC (2006)
Katze	200	NRC (2006)
Legehenne	250-450	KAMPHUES et al. (2008)
Reptilien	200-2000	DONOGHUE (2006)
karnivore Reptilien	500-1000	ALLEN (1994)

2.4.1 Stoffwechsel

Eigensynthese

Vitamin D₃ entsteht bei der Einwirkung von UVB-Licht (290-320 nm) auf die Haut. WEBB et al. (1988) fanden in einem in vitro-Versuch erstmals heraus, dass eine UVB-Bestrahlung von mindestens 20 mJ/cm² nötig ist, um 7-Dehydrocholesterol (7-DHC) in Prävitamin D₃ umzuwandeln. Diese in vitro-Studie wurde von MATSUOKA et al. (1989) mit einer in vivo Studie am Menschen bestätigt. Sie fanden eine Schwelle von 18 mJ/cm².

7-Dehydrocholesterol (Provitamin D₃) wird in die Unterhaut (Subkutis) transportiert. Die höchsten Konzentrationen finden sich im Stratum spinosum und Stratum basale. Dort spaltet das UVB-Licht den B-Ring, es entsteht Präcalciferol (Prävitamin D₃). Das so aktivierte Molekül kann in seinen Grundzustand zurückkehren und/oder mindestens sechs verschiedene Produkte generieren. Die vier Steroide, die keine gebrochene 9,10-Kohlenstoffbrücke aufweisen (7-DHC, Pyrocalciferol, Lumisterol und Isopyrocalciferol) repräsentieren vier Diastereoisomere mit entweder einer α- oder β-Orientierung der Methylgruppe am C-10-Atom und dem Wasserstoff am C-9-Atom. Die drei Secosteroid-Produkte haben alle eine gebrochene 9,10-Kohlenstoffbrücke mit einer variierenden Position der drei konjugierten Doppelbindungen; zu ihnen gehören Prävitamin D₃ (Präcalciferol), Vitamin D₃ und Tachysterol (NORMAN 1998).

In der Haut entsteht hauptsächlich Prävitamin D₃, welches dann einen 1,7-sigmatrophen Wasserstofftransfer vom C-19-Atom zum C-9-Atom durchläuft (durch Thermoisomerisierung), das Vitamin D₃ (Cholecalciferol) hervorbringend.

Es ist unerheblich, wie lange die menschliche Haut, ungeachtet des Grades der Pigmentierung, dem Sonnenlicht ausgesetzt ist, es werden nicht mehr als 15% des 7-Dehydrocholesterols in Prävitamin D₃ umgewandelt (DFFEY 1991).

Verbleibt das Präcalciferol in der Haut, und ist dort weiterhin dem Sonnenlicht ausgesetzt, so zerfällt es in zwei inaktive Produkte: Lumisterol und Tachysterol (WEBB et al. 1988). Auch das

entstandene Vitamin D₃ ist photolabil. Kann es nicht schnell genug im Blut abtransportiert werden, entstehen aus ihm durch UVB- und UVA-Strahlung (bis zu 345 nm) mindestens drei weitere, unwirksame Produkte: Suprasterol-1 und -2 und 5,6-Transvitamin D₃.

Dieses System stellt einen guten Schutz vor einer Hypervitaminose D dar. Ist der Speicher an Prävitamin D₃ aufgebraucht, können Lumisterol und Tachysterol wieder in Prävitamin D₃ umgewandelt werden, und dienen somit als Speicherform (HOLICK et al. 1981).

Da die frühen, landlebenden Vertebraten poikilotherm waren, bestand die Gefahr einer Hypovitaminose D. Denn die Umwandlung von Präcalciferol in Calciferol geschieht durch Thermoisomerisierung. HOLICK et al. (1995) verglichen die Isomerisationsraten von Prävitamin D₃ zu Vitamin D₃ in der isolierten Haut von Leguanen (*Iguana iguana*) bei Temperaturen von 5°C und 25°C mit der jeweiligen Isomerisationsrate in Hexan. Sie beobachteten eine Steigerung von 1100% bei 25°C, bzw. 1700% bei 5°C. Eine mögliche Erklärung sahen sie in der Membranassoziation des Prävitamin D₃. Diese verhindert eine Konformationsänderung des Prävitamin D₃ von der s-cis,s-cis in die s-trans,s-cis-Konformation, welche den Prozess der Isomerisation normalerweise stark verlangsamt.

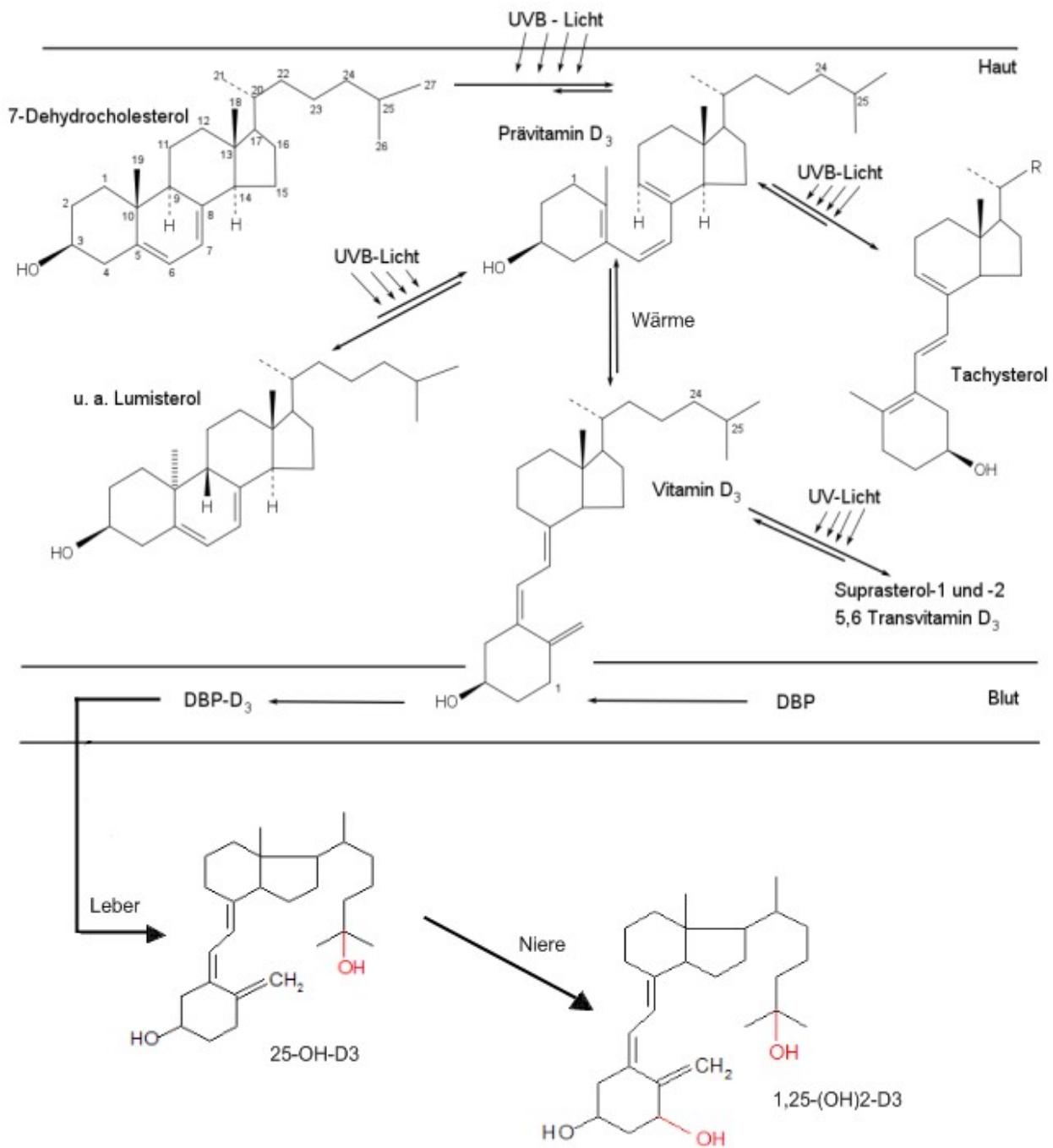


Abbildung 9: Biosynthese von 1,25(OH)₂-D₃ aus 7-Dehydrcholesterol (vereinfacht und ergänzt nach Holick (1995) und Norman (1998))

Transport

Das in der Haut gebildete Cholecalciferol wird ins Blut abgegeben und an das Vitamin D-Bindungsprotein (DBP) gebunden zur Leber transportiert (BOUILLON et al. 1978). In der Leber wird Cholecalciferol am C₂₅-Atom durch eine Monohydroxylase hydroxyliert (PONCHON et al. 1969). Auch dient die Leber bei allen Vertebraten als Speicher für 25-OH-D₃. Jedoch gibt es Hinweise, dass die Speicherkapazität bei Reptilien eher gering ist (ULLREY 1999). Beim Komodowaran scheint eine Kurzzeit-Speicherung möglich (GYIMESI 2002). Anschließend wird dieses Calcidiol in der Niere am C₁-Atom zu 1,25(OH)₂-D₃ (Calcitriol), dem biologisch wirksamsten Metaboliten, hydroxyliert (FRASER und KODICEK 1970). Im Gegensatz zur 25-Hydroxylase ist die Aktivität der 1 α -Hydroxylase streng reguliert. Die wichtigsten Faktoren, die seine Aktivierung direkt fördern sind unabhängig voneinander ein erhöhtes Parathormon, ein verminderter Kalziumspiegel und ein niedriger Phosphatspiegel im Blut. 1,25(OH)₂-D₃ selber hemmt die 1 α -Hydroxylase und aktiviert die 24-Hydroxylase. Indirekt, zumeist über das Parathormon beeinflussen unter anderem Kalzium, Östrogen, Glucocorticoide, Calcitonin, Somatotropin und Prolaktin die Calcitriolbildung. Fehlen die stimulierenden Signale, so wird Calcidiol am C₂₄-Atom zu 24,25-(OH)₂-D₃ hydroxyliert (FRASER 1980). Die Funktion dieses Metaboliten ist noch weitgehend ungeklärt.

Es ist noch nicht genau erforscht, ob Reptilien artspezifische Transport- und Aktivierungsmechanismen besitzen. LICHT (1994) fand heraus, dass Vitamin D im Plasma von Wasserschildkröten (*Trachemys scripta*) durch ein duales Bindeprotein für Thyroxin und Vitamin D transportiert wird. Dies weist eine hohe strukturelle Ähnlichkeit zum Vitamin D-Bindungsprotein der Säugetiere auf. Folglich können bei Reptilien Interaktionen zwischen dem Schilddrüsen- und dem Vitamin D-Status entstehen.

BERNARD et al. (1996) setzten einen Leguan mit Hypovitaminose D täglich 12 Stunden unter eine UVB-Lampe (Sylvania 2096[®]). Dieser produzierte so viel Prävitamin D₃, dass sich die Forscher fragten, ob die normalen Feedback-Mechanismen auf Leguane zutreffen.

Mit der Nahrung aufgenommenes Vitamin D wird im Dünndarm durch passive Diffusion resorbiert und über die Lymphe, assoziiert mit Chylomikronen, an den Blutkreislauf abgegeben. Es gibt jedoch Hinweise darauf, dass Leguane Vitamin D aus dem Futter nicht resorbieren können (MARDEN 1999, LAING et al. 2001).

Hunde und Katzen sind nicht in der Lage, das in der Haut vorhandene 7-Dehydrocholesterol in Vitamin D₃ umzuwandeln (HOW et al. 1994). In ihrer Studie bestimmten HOW et al. (1994) zuerst den Gehalt an 7-Dehydrocholesterol und Vitamin D₃ in der Haut von Hunden und Katzen. Dann setzten sie die Haut genau definierter UVB-Strahlung aus. Sie konnten keine Erhöhung der Vitamin D₃-Konzentration feststellen. Somit können Hunde und Katzen, im Gegensatz zu herbivoren und omnivoren Spezies, keine Vitamin D₃ über die Haut bilden. Das bedeutet, dass sie von einer Vitamin D₃-Supplementierung über das Futter abhängig sind.

Vitamin D und UV-Licht in der Reptilienhaltung

Reptilien sind, wie alle anderen Tierarten auch, auf Vitamin D angewiesen. Werden sie unter künstlichen Bedingungen in Terrarien gehalten, so muss darauf geachtet werden, dass die Versorgung mit Vitamin D sichergestellt ist, entweder über das Futter oder entsprechende UVB-Lichtquellen.

MANNING (1997) fand heraus, dass das Sonnenbaden für Wasserschildkröten (*Emydura signata*) keinen thermoregulierenden Effekt hat. Er vermutete, dass das Sonnenbaden entweder dazu dient, den Befall von Bakterien und Pilzen auf der Haut zu reduzieren, oder aber die Produktion von Vitamin D über die Haut zu fördern. In diese Richtung weisen auch die Studien über Chamäleons (*Furcifer pardalis*) (FERGUSON 2002, 2003), die ihren Vitamin D-Haushalt über das Sonnenbaden regulieren.

FERGUSON et al. (2003) fanden heraus, dass Chamäleons (*Furcifer pardalis*) ihre Besonnungsdauer je nach Vitamin D-Gehalt des Futters anpassten. Enthielt die Ration viel Vitamin D, sonnten sich die Tiere kürzere Zeit, enthielt die Ration wenig Vitamin D, stieg die Dauer der Besonnungszeit an.

In einer weiteren Studie von FERGUSON et al. (1996) stellte sich heraus, dass UVB-Licht auch bei der Fortpflanzung der Chamäleons (*Furcifer pardalis*) eine wichtige Funktion besitzt. Sie beobachteten signifikant höhere Schlupfraten der Eier von Tieren mit UVB-Exposition, gegenüber Tieren mit hohem Vitamin D-Gehalt im Futter, jedoch ohne UVB-Bestrahlung.

Erst in den 80er Jahren begannen ALLEN (1989) und BERNARD (1995) zu erforschen, wie wichtig Vitamin D und UVB-Licht für die Gesundheit von Reptilien ist. Besonderes Augenmerk legten sie auf den Kalzium-Metabolismus und den Knochenaufbau. Diese Studien trugen maßgeblich zur Entwicklung der heute erhältlichen Terrarien-Lampen bei.

Die im Handel erhältlichen Lampen emittieren ein sehr unterschiedliches Spektrum an UV-Strahlung. So strahlen spezielle UV-Lampen wie die ReptiSun™ 5.0 UVB, bzw. die Iguana Light™ 5.0 UVB von Zoo Med (Zoo Med Laboratories Inc., San Luis, CA) ungefähr 33% UVA- und 6% UVB-Licht ab. Eine normale Halogen- oder Glühlampe strahlt dagegen nur sichtbares Licht und Licht im infraroten Bereich ab.

Da sich das Lichtspektrum einer Lampe ab einer gewissen Leuchtdauer technologisch bedingt ändert, empfehlen viele Hersteller einen Austausch der Lampen alle sechs, spätestens alle 12 Monate. So emittiert beispielsweise die Lucky Reptile „Bright Sun UV desert 70W“ nach 2000 Betriebsstunden nur noch 50% ihres UVB-Anteils.

Außerdem ist der Abstand der Lampe vom Tier von großer Bedeutung. So hat beispielsweise die „Bright Sun UV desert 70W“ laut Firmenangaben (Lucky Reptile, Waldkirch) in 30 cm Abstand eine UVB-Strahlung von $90 \mu\text{W}/\text{cm}^2$, und in einem Abstand von 50 cm sind es nur noch $35 \mu\text{W}/\text{cm}^2$. Bei der Osram „Ultra-Vitalux 300W“ verhält es sich ähnlich (50 cm: $375 \mu\text{W}/\text{cm}^2$, 100 cm: $130 \mu\text{W}/\text{cm}^2$).

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist, dass das UV-Licht dem Reptil ungefiltert zur Verfügung steht. BURGER (2007) testete 14 Materialien auf ihre UVB-Durchlässigkeit. Die Strahlung wurde mit zwei verschiedenen Radiometern gemessen und das Potential zur Bildung von Vitamin D₃ wurde mit Hilfe eines in vitro Modells ermittelt. Bei UV-durchlässigem Acryl stellte er eine Diskrepanz zwischen gemessener Strahlung und synthetisiertem Vitamin D₃ fest. So würde durch die gemessene Strahlung der Filtereffekt unterschätzt. Im Gegensatz dazu korrelierte die gemessene Strahlung bei luftdurchlässigen Materialien gut mit der Vitamin D₃-Synthese.

Auch ist die Durchlässigkeit verschiedener Materialien hinsichtlich der UVA- und UVB-Strahlung sehr unterschiedlich. So lässt normales Fensterglas 78% der UVA-Strahlung durch, jedoch nur 4% der UVB-Strahlung. UV-T Plexiglas mit einer Dicke von 0,635cm (Rohm und Haas Co) lässt

beispielsweise 89% UVA- und 64% UVB-Strahlung durch. Verzinktes Gitter (1,270 cm Maschenweite) lässt zu jeweils circa 80% UVA- und UVB-Strahlung durch (GEHRMANN 2004). Allerdings nimmt die UV-Durchlässigkeit von UV-durchlässigem Plastik (z.B. Solacryl™ UVT, Polycast Technology Co., Stamford, CT) mit der Zeit ab. Im Zoo von San Diego wurde die Durchlässigkeit einer älteren Version von Polycast (New Polycast SUVT, 0,64 mm Dicke) im Verlauf von zwei Jahren gemessen. Ließ das Dach anfangs noch rund 80% UVB-Strahlung durch, waren es zwei Jahre später nur noch 59% (ALLEN 2003).

Einfluss von Nieren- und Lebererkrankungen auf den Vitamin D-Metabolismus

Viele in Menschenobhut gehaltene Reptilien weisen haltungs-, bzw. fütterungsbedingte Erkrankungen auf. Bei einer retrospektiven Studie zeigte sich, dass Erkrankungen der Leber (48%) und des Harnapparates (64%) zu den häufigsten Erkrankungen der sezierten Reptilien zählten (SINN 2004).

Die häufigste Krankheits- und Todesursache bei Schildkröten sind Nierenerkrankungen. Herbivore Schildkröten sind deutlich häufiger betroffen als omni- oder karnivore. So zeigten sich bei pathologischen Untersuchungen bei 79% der Landschildkröten und 57% der Wasserschildkröten Veränderungen an den Nieren (KÖLLE 2009).

Eine Nierenerkrankung kann die Hydroxylierung von Calcidiol zu Calcitriol beeinflussen. Dadurch wird die Konzentration des aktiven Metaboliten 1,25-(OH)₂-D₃ gesenkt und somit die Synthese des Kalzium-Bindeproteins beeinträchtigt. Die intestinale Kalziumaufnahme wird hierdurch reduziert. Auch das zirkulierende Parathormon und Calcitonin, die Aktivität von Osteoblasten und Osteoklasten, die Mobilisation von Kalzium aus den Knochen, sowie die Knochenmineralisation werden durch eine Nierenerkrankung verändert.

Ebenso häufig zu beobachten bei Reptilien sind Lebererkrankungen. Besonders betroffen sind Wasserschildkröten (KÖLLE 2009). Häufig handelt es sich um eine hepatische Lipidose. Durch die Verfettung der Leber könnte auch die Hydroxylierung des Cholecalciferols zu 25-Hydroxycholecalciferol gestört werden. Bei den erkrankten Tieren wären dann erniedrigte Plasmakonzentrationen von 25-OH-D₃ zu erwarten.

2.4.2 Funktion

Vitamin D spielt eine große Rolle im Kalzium- und Phosphatstoffwechsel (antirachitisches Vitamin). Als Steroid beeinflusst es auch die Genexpression (BOUILLON et al. 1998).

Die Forschung der letzten 10-20 Jahre konnte jedoch zeigen, dass das Vitamin D darüber hinaus noch viele andere, im wesentlichen autokrine Funktionen, erfüllt. So hat man erkannt, dass beim Menschen subklinischer Vitamin D-Mangel ein Risikofaktor für Autoimmun- und Krebserkrankungen sein kann (HOLICK 1995).

Vitamin D ist ein lipophiles Steroid und kann somit in die Zellen eindringen. Dort bindet es an einen nukleären Rezeptor. Die Affinität des Rezeptors für 1,25(OH)₂-D₃ ist ungefähr dreimal höher als für andere Vitamin D-Metaboliten (HOLICK 1995). Das Andocken an den Rezeptor führt über RNA-Synthese dazu, dass Transportkanäle für Kalzium (Calbindin) in den Mukosazellen des proximalen Duodenum eingebaut werden. Die Kalziumresorption aus der Nahrung, sowie die Rückresorption von Kalzium in der Niere, als auch die Mobilisierung von Kalzium aus den Knochen wird stimuliert (HOLICK 1995).

Die verschiedenen Vitamin D-Metaboliten besitzen unterschiedliche Bedeutung für den Stoffwechsel. So wird das 25-OH-D₃ als die Speicherform des Vitamin D angesehen. Beim Menschen hat es eine Plasma-Halbwertszeit von 15-21 Tagen (HOLICK 1989) und spiegelt so die längerfristige Vitamin D-Versorgung der letzten 3-4 Monate wider. Das 1,25(OH)₂-D₃ ist die metabolisch aktivste Form, hat jedoch nur eine Halbwertszeit von 4-6 Stunden (GRAY et al. 1978). Die Funktion des 24,25(OH)₂-D₃ ist noch weitgehend unbekannt.

2.4.3 Hypervitaminose D

Zu einer Hypervitaminose D kommt es bei Reptilien entweder iatrogen, durch Injektion eines Vitamin D-Präparates, oder durch übermäßige Gabe von Vitamin D-reichen Ergänzungsfuttermitteln durch den Besitzer. Auch Rodentizide, die Cholecalciferol enthalten, stellen eine Gefahrenquelle für Reptilien dar (DONOGHUE 2006).

Klinisch wird eine Hypervitaminose D selten beobachtet. Vor allem kann sie bei Grünen Leguanen (*Iguana iguana*) vorkommen, die übermäßig mit einer Vitamin D-reichen Multivitaminpaste gefüttert werden. Diese Tiere riechen bei der Vorstellung häufig „fruchtig“ (KÖLLE 2009). Überschüssige fettlösliche Vitamine können im Gegensatz zu wasserlöslichen Vitaminen nicht über den Urin ausgeschieden werden.

WALLACH (1966) beschrieb den Fall von zwei Grünen Leguanen (*Iguana iguana*), die aufgrund zu hoher Supplementierung von Vitamin D (225.000 IU Vitamin D₂, 86.000 IU Vitamin D₃/500g), Kalzium (28%) und Phosphat (5%) über einen Zeitraum von vier Jahren makro- und mikroskopische Veränderungen aufwiesen. Diese Veränderungen zeigten sich vor allem in einer massiven Verkalkung der Tunica media der Arterien und einer ausgeprägten Nephritis.

Der toxische Effekt von Vitamin D beruht auf einer Hyperkalzämie.

Vitamin D stimuliert die intestinale Resorption von Kalzium und, in geringerem Maße, auch die von Phosphat. Zudem erhöht es die Mobilisation von Kalzium und Phosphat aus den Knochen, sowie deren Rückresorption in den Nieren. Somit kommt es bei einer Hypervitaminose D zu einem Anstieg des Serumkalziumspiegels und damit zu einer Reduktion des Parathormons und der Sekretion von Calcitonin.

Eine länger andauernde Hyperkalzämie verursacht eine dystrophische Verkalkung von Gewebe des Gastrointestinaltrakts, der Nieren (Nephrokalzinose), Lunge, Blutgefäße (Aortenverkalkung) und der Gelenke. Die Kalzifikationen der Weichteile sind irreversibel (FITZGERALD und VERA 2006).

2.4.4 Hypovitaminose D

Hypovitaminose D ist ein sehr häufiges Problem in der Reptilienhaltung.

Hierbei kommt es zum Bild der metabolischen Knochenerkrankung (Metabolic Bone Disease, „MBD“). Sie wird sehr häufig bei Land- und Wasserschildkröten, aber auch bei Echsen diagnostiziert (KÖLLE 2009). Bei Schlangen wurde sie noch nicht beschrieben.

In vielen Fällen ist die MBD multifaktoriell bedingt. Sie stellt kein einheitliches Krankheitsbild dar, sondern man versteht darunter alle Erkrankungen, die die Beschaffenheit und Funktion der Knochen betreffen. Dazu zählen beispielsweise Rachitis oder der ernährungsbedingte sekundäre

Hyperparathyreoidismus (Nutritional Secondary Hyperparathyroidism, „NSHP“).

Zu dem Krankheitsbild des NSHP kommt es durch Kalzium-, bzw. Vitamin D-Mangel (durch fehlendes UVB-Licht und/oder zu wenig Vitamin D₃ in der Nahrung). Gelegentlich ist auch ein inverses Ca:P-Verhältnis die Ursache. Die Nahrung wildlebender Schildkröten weist ein Ca:P-Verhältnis von mindestens 4:1 auf (HIGHFIELD 1996). Empfohlen wird ein Verhältnis von mindestens 1,5-2:1 (SCOTT 1996, KÖLLE 2009).

Zu einem Kalziummangel kommt es oft bei karnivoren Reptilien, die ausschließlich mit schierem Muskelfleisch, Babymäusen und/oder Eintagsküken gefüttert werden. Auch die Fütterung von Insekten oder Obst/Gemüse ohne entsprechende Supplementierung führt zu Mänglerscheinungen (DONOGHUE 2006).

Die Kalziumabsorption beim Menschen wird beispielsweise durch Phytate (vor allem in Getreide), Oxalate (Spinat, Tomaten), oder hohen Fettgehalt in der Nahrung negativ beeinflusst (HAMBIDGE 2005, HEANEY und WEAVER 1989).

Zu geringe Aufnahme von Kalzium (direkt oder durch Vitamin D-Mangel) stimuliert die Sekretion von Parathormon. Dieses hemmt die Phosphatrückresorption in den Nieren und fördert den Kalziumrücktransport. Es stimuliert in der Niere die 25-OH-D₃-1- α -Hydroxylase und mobilisiert Kalzium und Phosphat aus den Knochen.

Klinische Anzeichen sind Frakturen und Deformationen (aufgetriebene Mandibeln, „Rubber Jaw“, weiche Panzer, Rachitis, bzw. Osteomalazie, und Skoliosen), verursacht durch Demineralisation. Auch Krämpfe und Muskelzittern durch Hypokalzämie sind häufige Symptome, vor allem bei Chamäleons. Bei jungen Grünen Leguanen (*Iguana iguana*) ist oft ein Prolaps des Darms oder der Kloake zu beobachten (MADER 2006).

Es gibt jedoch auch Studien, die ein eher der Hypervitaminose D zugeordnetes Krankheitsbild beschreiben. So fanden ALLEN et al. (1995) und RICHMAN et al. (1995) bei Grünen Leguanen eine hochgradige Verkalkung der Weichgewebe. Die Werte an zirkulierendem 25-OH-D₃ waren jedoch extrem niedrig. Zusätzlich hatten diese Tiere pathologische Frakturen der langen Röhrenknochen und demineralisierte Knochen. Obwohl die Pathogenese der Gewebsverkalkung noch nicht voll verstanden ist, weisen diese Daten darauf hin, dass das Syndrom der Verkalkung bei Grünen Leguanen eher auf eine Hypovitaminose D als auf eine Hypervitaminose D hinweist.

Die Prognose ist abhängig von der Schwere der Symptome. Die Deformationen sind, je nach Alter des Tieres, irreversibel.

2.5 Vitamin E

Der Begriff Vitamin E fasst alle Tocol- und Tocotrienol-Derivate zusammen, die qualitativ die biologische Aktivität von RRR- α -Tocopherol besitzen.

Die Gruppe der pflanzlichen Vitamin E-Verbindungen besteht aus acht fettlöslichen Antioxidantien (α -, β -, γ - und δ -Tocopherol sowie die entsprechenden α -, β -, γ - und δ -Tocotrienole). Sie setzen sich aus einem mit Methylgruppen substituierten Chromanring und einer Phytylseitenkette zusammen. Die Verbindungen unterscheiden sich in Anzahl und Position der Methylgruppen am aromatischen Ring.

Der Name „Tocopherol“ leitet sich von den altgriechischen Wörtern: $\tau\acute{o}koc/tókos$ "Geburt" und $\phi\acute{e}peiv/phérein$ "tragen", bzw. "bringen" ab. Mit der Silbe "ol" wird auf die Hydroxylgruppe des Moleküls hingewiesen.

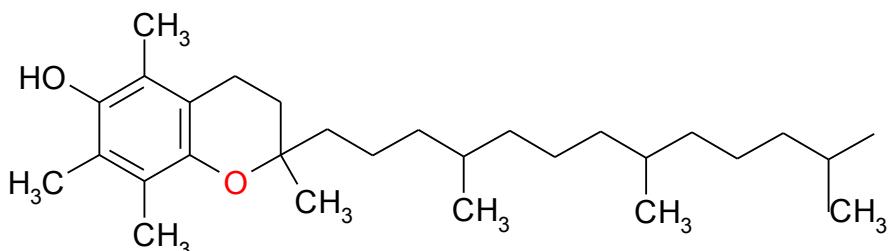


Abbildung 10: Chromanring mit isoprenoider Seitenkette

Tocopherole werden ausschließlich im Pflanzenreich aus Homogentisinsäure synthetisiert, und müssen daher mit der Nahrung zugeführt werden. Sie können reversibel in Tocochinone umgewandelt werden und dienen so als Redoxsystem (PIETRTIK et al. 2008).

Tabelle 9 führt einige Futtermittel und deren Gehalt an α -Tocopherol auf.

Tabelle 9: α -Tocopherol-Gehalte verschiedener Futtermittel ($\mu\text{g}/100\text{g uS}$)
Quelle: SOUCI et al. 2008

Futtermittel	α -Tocopherol ($\mu\text{g}/100\text{g uS}$)
Löwenzahnblätter	2500
Paprikaschote	2500
Rinderleber	743
Kopfsalat	567
Karotte	440
Gurke	57

GALLO-TORRES (1980) stellte fest, dass die Plasma-Vitamin E-Konzentrationen (gemessen als α -Tocopherol) gut mit denen in der Nahrung zur Verfügung stehenden Konzentrationen übereinstimmen.

In der Literatur finden sich die in Tabelle 10 zusammengefassten Angaben über die Plasma- α -Tocopherolkonzentrationen einiger Reptilienarten. Karnivore Schildkröten scheinen viel höhere Werte an α -Tocopherol als herbivore aufzuweisen (DIERENFELD 1989).

Tabelle 10: α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{ml}$) einiger Reptilienarten

Art	n	α -Tocopherol ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Quelle
Kalifornische Gopherschildkröte (<i>Gopherus (Xerobates) agassizii</i>)	6	3,1	JACOBSON et al. (1991)
Kalifornische Gopherschildkröte (<i>Gopherus agassizii</i> ♂)	90	4,3	DICKINSON et al. (2002)
Spaltenschildkröte (<i>Malacochersus tornieri</i>)	17	2,6	RAPHAEL et al. (1994)
Aldabra Riesenschildkröte (<i>Geochelone gigantea</i>)	14	0,015-1,32	GHEBREMESKEL et al. (1991)
Unechte Karettschildkröte (<i>Caretta caretta</i>)	3	4,96	DIERENFELD (1989)
Östliche Zierschildkröte (<i>Chrysemys picta picta</i>)	22	5,57	DIERENFELD (1989)
Klapperschlangen (<i>Crotalus spp.</i>)	1	8,44	SCHWEIGERT et al. (1991)
Anaconda (<i>Eunectes murinus</i>)	12	5,9-23,7	CALLE et al. (1994)
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	5	3,48	RAILA et al. (2002)
Komodowaran (<i>Varanus komodoensis</i>)	53	0,086-0,99	GILLESPIE et al. (2000)

DOUGLAS et al. (1994) untersuchten die Vitamin E-Gehalte ganzer Futtertiere, wie Mäuse und Ratten. Bei Mäusen betrugen die Konzentrationen der verschiedenen Altersstufen im Mittel 43,8 IE/kg TS. Die Konzentrationen in Ratten waren unabhängig vom Alter und betrugen im Mittel 138 IE/kg TS.

Für die meisten Tierarten werden vom NRC (1987) Versorgungsempfehlungen von 5-50 IE/kg Futter angegeben.

Mit der Annahme, dass nichtdomestizierte Tiere einen höheren Bedarf an Vitamin E als domestizierte Tiere haben (FOWLER 1986), empfiehlt ALLEN (2003) einen Vitamin E-Gehalt des Futters für Grüne Leguane von 150 IE/kg. Weitere Versorgungsempfehlungen sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Diese Werte wurden sowohl anhand von Vergleichen mit anderen, besser erforschten Tierarten, als auch mit Hilfe von Fütterungsexperimenten erstellt.

Tabelle 11: Versorgungsempfehlungen von Vitamin E für verschiedenen Spezies

Spezies	Vit. E (IE/kg TS)	Quelle
Pferd	5	NRC (2007)
Katze	30	NRC (2006)
Hund	24	NRC (2006)
Legehenne	6	KAMPHUES et al. (2008)
Grüner Leguan	150	ALLEN (2003)
karnivore Reptilien	100	ALLEN (1994)

2.5.1 Stoffwechsel

Die meisten Spezies hydrolisieren die mit der Nahrung aufgenommenen Tocopheryl-Ester (häufigste Form der Supplementierung) in der Bürstensaummembran der Mukosazellen des Dünndarms. Vitamin E wird als freier Alkohol in Form von Tocopherol absorbiert. (NRC 1987). Das fettlösliche Vitamin E an sich ist unlöslich in der wässrigen Umgebung des Dünndarmlumens. Somit ist die Absorption abhängig von Art und Menge der vorhandenen Nahrungsfette sowie der Anwesenheit von Gallensäuren und Pankreasesterasen (PIETRZIK 2008).

Die Absorption erfolgt über die von Gallensäuren gebildeten Mischmizellen. Diese besitzen eine hydrophile Hülle und einen hydrophoben Kern. Die Aufnahme in die Enterozyten erfolgt durch passive Diffusion. Die Effizienz der Absorption der Tocopherole ist relativ gering und liegt bei 20-40% (GALLO-TORRES 1980). Mittelkettige Triglyceride erhöhen die Absorption, große Mengen an Linolsäure verringern sie.

Bei Säugetieren werden die Tocopherole in Chylomikronen verpackt und via Lymphe in die Leber verbracht. Dort bindet ein spezifisches Protein (α -Tocopherol-Transfer-Protein, α -TTP) mit hoher Affinität das α -Tocopherol. Dieses Protein überträgt es dann auf Lipoproteine sehr geringer Dichte (very low density lipoprotein, VLDL). Die Lipoproteine werden an das Blut abgegeben, und so gelangt das Vitamin E zu seinen Zielgeweben. Bei Fischen und Vögeln gelangen absorbierte Fette über die Portalvene in die Leber (NRC 1987).

Die Leber und alle anderen extrahepatischen Gewebe nehmen Vitamin E durch Endozytose der VLDL auf. Im Gewebe kommt es als freier Alkohol vor. α -Tocopherol ist in fast allen Geweben nachweisbar. Die meisten Spezies weisen Plasma- α -Tocopherolkonzentrationen von 1-5 μ g/ml auf (NRC 1987). Obwohl das Tocopherol mit der Lipid-Phase der Zellen assoziiert ist, stehen die Tocopherol- und Fett-Konzentrationen der Gewebe in keiner direkten Relation zueinander. Die Grundlagen für die Unterschiede der verschiedenen Gewebskonzentrationen sind noch nicht genau verstanden. Nichtsdestoweniger zeigen alle Gewebe mit zunehmender Aufnahme von α -Tocopherol einen linearen Anstieg der α -Tocopherol-Konzentrationen (NRC 1987).

2.5.2 Funktion

Die bekannteste Rolle von Vitamin E besteht in seiner Funktion als kettenbrechendes Antioxidans, welches als Schutzfaktor gegen die Lipidperoxidation mehrfach ungesättigter Fettsäuren in den Zellmembranen angesehen wird (SIES 1989).

Die Autoxidation von Polyensäuren verläuft in einem autokatalytischen Prozess, bei dessen Initiation durch chemische oder physikalische Einwirkungen ein Wasserstoffatom aus der labilen Methylengruppe abgespalten wird. Es entsteht ein freies Radikal, welches mit Sauerstoff unter Bildung eines Peroxyradikals reagiert. Mit Beteiligung eines weiteren Polyensäuremoleküls geht dieses in das Hydroperoxid über, wobei ein neues freies Radikal entsteht. So entsteht eine Kettenreaktion, die vom Tocopherol unterbrochen werden kann. Dies geschieht, indem es ein phenolisches Wasserstoffatom an das Lipidperoxyradikal abgibt und dabei selbst über ein reaktionsträges Semichinonradikal in das stabile Tocopheryl-Chinon übergeht (McCAY und KING 1980).

Die Regeneration von Vitamin E erfolgt einerseits durch Vitamin C, andererseits durch das Glutathionsystem. Die Tatsache, dass Glutathionperoxidase ein selenhaltiges Enzym ist (ROTRUCK et al. 1973), erklärt den Synergismus zwischen Vitamin E und Selen.

Neben seiner antioxidativen Wirkung hat Vitamin E auch prooxidative Effekte.

Sowohl *in vitro* als auch *in vivo* konnte gezeigt werden, dass die Lipidperoxidation von low-density-Proteinen bei Anwesenheit von α -Tocopherol schneller verläuft (STOCKER 1999, UPSTON et al. 1999). Bei einem erhöhten α -Tocopherol-Gehalt und darauf folgenden oxidativem Stress kommen vermehrt α -Tocopherol-Radikale vor, die ihrerseits Lipid-Peroxidation auslösen können (RIETJENS et al. 2002). Im Regelfall wird dieser prooxidative Effekt durch andere Antioxidantien (z.B. Vitamin C) ausgeglichen.

Des Weiteren hat Vitamin E neuroprotektive, antiinflammatorische, antithrombotische und antiatherogene sowie immunmodulatorische Eigenschaften (BRIGELIUS-FLOHE et al. 2002).

AZZI et al. (1998) entdeckten, dass eine Reihe von Genen, die möglicherweise an der Zellproliferation und neuronalen Signalübertragung beteiligt sind, bei der Abwesenheit von α -Tocopherol verändert wurden.

Regulationen auf der Ebene der Transkription finden in Abhängigkeit der α -Tocopherol-Konzentration im Rahmen einer Modulation der Genexpression des α -Tocopherol-Transfer-Proteins (KIM et al. 1998), der Kollagenase (MPP-1) (RICCIARELLI et al. 1999), des Leberkollagens α 1 und des α -Tropomyosins (ARATRI et al. 1999) statt. Darüber hinaus wird unter anderem das in Makrophagen und glatten Muskelzellen befindliche CD36 Scavenger-Rezeptorgen (RICCIARELLI et al. 2000) herunterreguliert. Auch die Enzyme der Arachidonsäurekaskade und der Signaltransduktionswege werden beeinflusst (PENTLAND et al. 1992).

2.5.3 Hypervitaminose E

Vitamin E wurde immer als eines der am wenigsten toxischen Vitamine angesehen. Dessen ungeachtet gibt es zahlreiche Studien bei Mensch und Tier, die bei sehr hohen Dosen gegenteilige Effekte darlegen. Beim Reptil wurde eine Hypervitaminose E noch nicht beschrieben.

MURPHY et al. (1981) fanden in einer Studie an Hühnern heraus, dass Vitamin E ab einer Dosierung von 10.000 IU/kg Futter die Plasmakonzentrationen von Kalzium und Phosphat reduzierte. Auch die Rohasche der Tibia war erniedrigt.

SÜNDER et al. (1999) fütterten in ihrer Studie Legehennen 20 Wochen lang mit unterschiedlich supplementiertem Futter (0, 100, 1000, 10.000, 20.000 mg/kg Futter Vitamin E). Keine der Dosierungen beeinflusste die Gesundheit und Legeleistung der Hennen. Der Vitamin E-Gehalt der Eier stieg von 1 mg/kg auf bis zu 51 mg/kg pro Ei an. Bei einer Supplementierung von 10.000 und 20.000 mg/kg Futter zeigte sich jedoch eine verringerte Schlupfrate der Küken.

Eine langfristige Vitamin E-Überversorgung kann die Aufnahme anderer fettlöslicher Vitamine wie Vitamin A und K vermindern und durch Wechselwirkungen mit dem Vitamin K-Stoffwechsel zu erhöhter Blutungsneigung führen (JENKINS und MITCHELL 1975, YANG und DESAI 1977).

2.5.4 Hypovitaminose E

Wasserlebende piscivore Reptilien (Wasser-, Sumpfschildkröten und Panzerechsen) sind besonders anfällig für Vitamin E-Mangel. Dies liegt an dem hohen Gehalt von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in fetten Futterfischen. Daher ist der Bedarf an Vitamin E bei diesen Tieren erhöht.

ZHOU et al. (2004) untersuchten die Antistresswirkung von Vitamin E. Sie verfütterten an junge Wasserschildkröten (*Pelodiskus sinensis*) Diäten mit unterschiedlich hoher Supplementierung von Vitamin E (0-5000 mg/kg Futter) und setzten sie dann 24 Stunden unter Säurestress, indem sie den ph-Wert des Wassers mit Salzsäure von 7,9 auf 5 absenkten. Dabei stellten sie fest, dass die Phagozytoserate der Blutzellen der Kontrollgruppe (0 mg Vitamin E) signifikant sank, während die der anderen Gruppen (50-5000 mg Vitamin E) keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zu den Phagozytoseraten vor Stresseinwirkung zeigten. Die Ergebnisse dieser Studie lassen vermuten, dass Säurestress die Aktivität des Immunsystems senkt und die Plasmakortisolspiegel ansteigen lässt, während Vitamin E diese negativen Auswirkungen mindert.

Klinische Erscheinungen einer Hypovitaminose E sind kaum vorhanden. Unter anderem kann es zu Anorexie und schmerhaft geschwollenen Knoten unter der Haut kommen. Bei Krokodilen und anderen aquatischen Arten kann auch Steatitis vorgefunden werden (DONOGHUE 2006). Die durch Myokarddegeneration hervorgerufene Herzinsuffizienz verursacht Ödeme. Differenzialdiagnostisch müssen Herzinsuffizienzen anderer Genese abgeklärt werden (KÖLLE 2009).

FARNSWORTH et al. (1986) beschrieben den Fall eines Grünen Leguans (*Iguana iguana*). Das Tier war unter anderem lethargisch und hatte Muskel- und Gelenksbeschwerden. Röntgenologisch war es jedoch unauffällig und reagierte nicht auf Kalziumgaben. Nach einer Injektion mit einem Vitamin E/Selen-Präparat zeigte das Tier jedoch deutliche Besserung. Anamnestisch auffallend war die Fütterung. Es wurde unter anderem ein kommerzielles Nerzfutter verfüttert, welches sehr reich an mehrfach ungesättigten Fettsäuren war, die schnell rancig werden können.

Bei der Fütterung ist darauf zu achten, dass das Futter frisch und nicht rancig ist. Es sollten verschiedene Sorten Fisch gefüttert werden. Auf eine ausschließliche Fütterung mit fettem Fisch sollte verzichtet werden. Auch auf eine ausreichende Versorgung mit Selen ist zu achten. Eine mit Selen- und Vitamin E-Mangel zusammenhängende Muskelfunktionsstörung wurde bei Echsen (FRYE 1981, ROST und YOUNG 1984, FARNTHWORTH et al. 1986), Schlangen und Wasserschildkröten (FRYE 1981) beschrieben. Die Prognose ist je nach Stadium günstig bis infaust.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Studienziel

In dieser Studie wurden Untersuchungen zur Bestimmung des Vitamin A-, D₃- und E-Gehalts im Plasma von Reptilien durchgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse wurden als Beitrag zur Erarbeitung von Referenzwerten ausgewertet.

Unterschiede bezüglich Haltung, Art, Ernährungsweise und Geschlecht wurden dargestellt und verglichen zu anderen Tierarten gezogen.

Die gewonnenen Daten sollen Grundlage für weitere Studien zum Thema Reptilienhaltung und -fütterung sein, um diese zu optimieren.

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Untersuchte Tiere, Haltung, Fütterung

Insgesamt wurden über einen Zeitraum von circa 20 Monaten 162 Plasmaproben von verschiedenen Reptilienarten gesammelt und analysiert. Davon stammten 33 von Echsen, 30 von Schlangen und insgesamt 99 von Schildkröten (58 Land- und 41 Wasserschildkröten).

Die Reptilien stammten von:

- zwei Großhändlern
- der Reptilienauffangstation e.V. in München
- sowie einigen Privatpersonen

Von jedem Tier wurde ein standardisiertes Protokoll (siehe Abbildung 11) angefertigt.

Die ein- bis zweimalige Blutentnahme wurde als Tierversuch angezeigt und ist unter dem Aktenzeichen 55.2-1-54-2531.3-40-07 bei der Regierung von Oberbayern registriert.

Die klinische Untersuchung der Tiere erfolgte nach folgendem allgemeinen Schema:

- a) Körperhaltung, Verhalten
- b) Ernährungszustand, Kondition
- c) Panzer: Festigkeit, Verfärbungen
- d) Haut: Häutung, Verletzungen, Parasiten
- e) Kopf: Augen, Nase, Mundhöhle und Rachen
- f) Kloake: Verschmutzung, Kotverschmutzung

Waren alle genannten Punkte unauffällig, wurden die Tiere als klinisch gesund eingestuft.

Nur solche Tiere wurden in die Untersuchung einbezogen. Besondere Befunde (beispielsweise eine bekannte Nierenerkrankung) wurden im Protokoll vermerkt. Auf eine blutchemische Untersuchung, um genauere Aussagen über den Gesundheitsstatus der Tiere machen zu können, musste aufgrund des zu geringen Probenvolumens verzichtet werden.

Eigene Untersuchungen

Protokoll (Vit. A/D/E)

Datum:
Nr.

Tierart: _____

Wissenschaftlicher Name: _____

Alter: _____

Geschlecht (kastriert?): _____

Gewicht: _____ Ernährungszustand: _____

Wildfang? _____ Nachzucht? _____ klin. Untersuchung: _____

Haltung (Freiland, Aqua-/Terrarium, Teich, Temperatur,)

Sommer: _____

Winter: _____

Beleuchtung

Womit? _____

Wie lange? _____

Jahreszeitlicher Rhythmus? _____

UV-Licht

Womit? _____

Abstand Lampe/Tier: _____

Wie alt? _____

Wie lange? _____

Wie oft? _____

Glas o.ä. zwischen Tier und Lampe? _____

Fütterung

Was? _____

Wie viel? _____

Wie oft? _____

Zusatzfuttermittel (Vitamine, Mineralien)

Was? _____

Wie oft? _____

Evtl. Erkrankungen (Niere, Leber,...)

Medikamente (Was? Wie oft?)

Halter

Name _____

Adresse _____

Telefon _____

Abbildung 11: Protokoll der in diese Studie einbezogenen Reptilien

Haltung, Fütterung

Die untersuchten Tiere dieser Studie wurden sehr unterschiedlich gehalten und gefüttert. Der Großteil der Tiere wurde in Terrarien gehalten, die sehr verschieden eingerichtet waren. So waren die meisten Terrarien mit UV-Lampen (PowerSun® 100W von ZooMed, Osram Ultra-Vitalux® 300W, usw.) ausgestattet. Die Beleuchtungsdauer betrug meist circa 10 Stunden täglich. Der Abstand zwischen Lampe und Tier lag zwischen 3-200 cm.

Insbesondere die Wasserschildkröten der Auffangstation e.V. (München) wurden in den Sommermonaten im Freien gehalten, so dass sie direktem Sonnenlicht ausgesetzt waren. Gefüttert wurden spezielle Wasserschildkrötenpellets (Aquasticks®, Interquell, Wehringen), Futterpflanzen wie beispielsweise Salat oder Löwenzahn und alle zwei Wochen bekamen die Tiere zusätzlich Fische oder Mäuse.

Bei den Großhändlern wurden vor allem die Schlangen ohne UVB-Licht gehalten. Bei einem Großhändler waren sie in Behältern mit einem Lichtschlauch ohne UVB-Anteil untergebracht. Gefüttert wurden ganze Mäuse, bzw. Ratten.

Die Landschildkröten und Echsen der Firma Lucky Reptile (Waldkirch) wurden unter einem zu 80% UV-durchlässigem Plastikdach gehalten.

Die Köhlerschildkröten (*Geochelone carbonaria*) dieses Großhändlers wurden mit Grünfutter von der Wiese, Salat, Obst (Äpfeln, Bananen), Gemüse (Karotten, Zucchini), Dosen-Nassfutter (Box Turtle Food, ZooMenu® ZooMed Europe, Ekeren, Belgien) und Insekten gefüttert. Auch wurden Vitamine, Mineralstoffe (NEKTON®-MSA, Günter Enderle, Pforzheim) und Sepiaschale zugesetzt.

Die Bartagamen (*Pogona vitticeps*) desselben Großhändlers bekamen Insekten, Grünfutter, Gemüse (Karotten, Paprika), Sepiaschale und ein Mineralfutter (Reptivite with D3™, ZooMed Europe, Ekeren, Belgien). Die Zuchttiere bekamen zusätzlich Mäuse.

Über einen weiteren Großhändler kamen Farmzuchten (*T. hermanni*, *T. horsfieldii*) aus Osteuropa (Dalmatien), die im Freien unter naturnahen Bedingungen aufgewachsen sind. Die Fütterung bestand aus Gras und Heu ohne Vitaminzusätze. Die Tiere waren erst wenige Tage beim Händler untergebracht.

Standardisierte Fütterung über zehn Tage

Hierzu wurden im Juli 2008 zehn Wasserschildkröten (*Pseudemys spp*, *Trachemys spp.*) zehn Tage lang separat gehalten und gefüttert. Vor der Blutentnahme wurden sie gewogen und klinisch untersucht. Unter den Tieren waren vier männlichen und sechs weiblichen Geschlechts. Bevor der Versuch stattfand, wurden die Tiere im Freien unter einem UV-durchlässigen Dach gehalten. Gefüttert wurden sie mit Aquasticks® der Firma Interquell GmbH (Wehringen). Diesen wurde laut Packungsaufschrift 12.000 IE/kg Vitamin A, 1200 IE/kg Vitamin D₃ und 80 mg/kg Vitamin E (α-Tocopherolacetat) zugesetzt. Diese Angaben beziehen sich auf die ursprüngliche Substanz. Bei einem Wassergehalt von 8% (d.h. 92% Trockensubstanz) ergeben sich die Werte, die der Tabelle 12 zu entnehmen sind.

Zusätzlich wurden Grünfutter (Löwenzahn, Salat) und alle zwei Wochen außerdem Fische oder Mäuse verfüttert.

Tabelle 12: Vergleich der Vitamin-Gehalte der verfütterten Leber und der Aquasticks® (IE/kg TS)

Vitamin	Rinderleber	Aquasticks®
Vitamin D ₃	<500 IE/kg TS	1104 IE/kg TS
Vitamin A (Retinol)	49.302 IE/kg TS	110.400 IE/kg TS
Vitamin E (α-Tocopherolacetat)	<1,0 mg/kg TS	73,6 mg/kg TS

Erläuterung: Das Zeichen „<“ bedeutet, der betreffende Stoff ist bei nebenstehender Nachweisgrenze nicht nachzuweisen.

Für die Dauer des Versuchs wurden die Schildkröten separiert und je drei, bzw. vier Tiere in je einer Plastikwanne untergebracht. Die Wannen waren mit Wasser gefüllt und enthielten einen Unterschlupf, bzw. einen Landteil. Die Tiere waren während des gesamten Versuchs direkter Sonneneinstrahlung ausgesetzt und wurden ausschließlich mit frischer Rinderleber aus einer Futterspende gefüttert (ca. 5g/Tier/Tag). Die verfütterte Leber enthielt laut Analyse der LUFA-ITL GmbH (Kiel) 166.000 IE/kg Vitamin A, <500 IE/kg Vitamin D₃ und 1,10 mg/kg Vitamin E (d,l-α-Tocopherolacetat). Zur besseren Vergleichbarkeit sind die Vitamingehalte der verfütterten Sticks und der Leber in Tabelle 12 gegenübergestellt (in IE/kg TS). Für die Leber wurde eine Trockensubstanz von 29,7% zugrunde gelegt (SOUICI et al. 2008). So zeigte sich, dass die Leber deutlich weniger Vitamin A, D₃ und E als die vorher verfütterten Sticks enthielt.

Am Tag neun des Versuchs wurde den Tieren erneut Blut abgenommen.

3.2.2 Probengewinnung, -aufbewahrung, und -verarbeitung

Blutentnahmestellen

In der Literatur sind unterschiedliche Punktionsstellen zur Blutentnahme bei Reptilien beschrieben (SAMOUR et al. 1984, GÖBEL und SPÖRLE 1992, HERNANDEZ-DIVERS 2006). Im Rahmen dieser Studie wurden folgende Stellen punktiert:

- Schlangen und Echsen: Vena coccygealis ventralis; dabei ist darauf zu achten, dass bei Männchen die paarigen Hemipenes nicht verletzt werden.
- Schildkröten: Vena coccygealis dorsalis; die genaue Position, Größe und sogar das Vorhandensein dieses Gefäßes variiert zwischen den Spezies.

Material

- Feindosierungsspritzen 1ml, Omnipix®-F, Fa. B.Braun Melsungen AG, Melsungen
- Einmal-Kanülen, 21Gx5/8, Fa. Terumo (Dt.) GmbH, Frankfurt a.M.
- Einmal-Kanülen, 21Gx11/2, Fa. Henke Sass Wolf GmbH, Tuttlingen
- Präpariertes Mikro-Probengefäß mit PE-Softstopfen, Lithium-Heparin, 1,3 ml, Fa. Sarstedt AG&Co., Nürmbrecht
- Natrium-Heparin, Fa. Carl Roth GmbH&Co.KG, Karlsruhe
- Zentrifugen: „StatSpin MP Multi-Purpose centrifuge“ und „miniSpin plus“, Fa. Eppendorf AG, Hamburg
- Reagiergefäße für Mikroliter-Systeme, 1,5ml, aus Polypropylen, Fa. Sarstedt AG&Co., Nürmbrecht

Blutentnahme, und -aufbewahrung

Zuerst wurden die Spritzen mit aufgesetzter Kanüle mit Natrium-Heparin gespült. Das Blut wurde dann durch Punktion der oben genannten Gefäße entnommen und in Lithium-Heparin-Röhrchen überführt und leicht geschwenkt.

Nach spätestens einer Stunde wurden die Proben vier Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert, anschließend in die Probengefäße pipettiert und kühl und lichtgeschützt aufbewahrt. Bis zur Analyse wurden die Proben bei -20°C gelagert.

3.2.3 Bestimmung von Vitamin A (Retinol, Retinylester) und Lutein mittels HPLC

Der Gehalt der Plasmaproben an Vitamin A und Retinylestern wurde mittels HPLC mit UV-Detektor bestimmt. Die Aufbereitung wurde in Anlehnung an die Methode nach VUILLEUMIER et al. (1983) durchgeführt.

Prinzip

Das im Plasma enthaltene Vitamin A und die Retinylester wurden nach dem Ausfällen der Plasmaproteine mit Ethanol unter Verwendung des Lösungsmittels n-Hexan extrahiert. Dieses wurde anschließend durch Abdampfen unter Stickstoffeinleitung wieder entfernt und das trockene Vitamin A, bzw. die Retinylester in Methanol aufgenommen. Die Analyse erfolgte chromatographisch mittels HPLC.

Reagenzien und Material

- Ethanol absolut, unvergällt, Fa. Merck KGaA, Darmstadt
- n-Hexan, Fa. Merck KGaA, Darmstadt
- Methanol, Fa. Carl Roth GmbH&Co. KG, Karlsruhe
- Reinstwasser, hauseigene Herstellung (Anlage Fa. SG Wasseraufbereitung und Regenerierstation GmbH, Barsbüttel)
- Retinol, Retinyl-Palmitat, -Acetat, Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
- HPLC-Fläschchen ND8, 1,5 ml, 32x11,5 mm, braun, Fa. Zefa-Laborservice GmbH, Harthausen
- Mikro-Einsätze für HPLC-Fläschchen, 0,10 ml, 30,5x5mm, Klarglas, Fa. Zefa-Laborservice GmbH, Harthausen
- Schraubkappen mit Loch für ND8-Fläschchen, schwarz mit Dichtung Silicon-weiß/PTFErot, Fa. Zefa-Laborservice GmbH, Harthausen

Apparate

- Zentrifuge Eppendorf Centifuge 5702R, Fa. Eppendorf AG, Hamburg
- Vortex-Schüttler, MS2 Minishaker, Fa. IKA® Werke GmbH&Co. KG, Staufen
- HPLC-Anlage „Elite LaChrom“, Merck Hitachi, Fa. Merck KGaA, Darmstadt
 - Autosampler L-2200
 - Pumpe L-2100
 - Chromatographiesäule, EC Nucleosil 100-5 C18, 250*4 mm, Fa. Macherey-Nagel GmbH&Co KG, Düren
 - FL-Detektor L-2480, bzw. UV-Detektor L-2400
 - Software „EZChrom Elite Version 3.1.3“, Agilent Technologies Deutschland GmbH, Böblingen

Bestimmung

Zu Beginn wurden die Proben bei Raumtemperatur und lichtgeschützt aufgetaut. Dann

wurden je 200 µl Plasma in ein Glaszentrifugenrörchen pipettiert und mit je 200 µl Reinstwasser verdünnt. Anschließend erfolgte die Ausfällung der Proteine durch Zugabe von je 750 µl Ethanol und Schütteln auf dem Vortex-Schüttler. Zur Extraktion wurden je 1 ml n-Hexan zugegeben und 30 Sekunden geschüttelt. Die so vorbereiteten Proben wurden dann 5 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert.

Im Anschluss an das quantitative Abpipettieren der organischen Hexanphase in ein zweites Gläsröhrchen erfolgte eine zweite Extraktion nach dem gleichen Schema. Die beiden Überstände wurden vereinigt und unter Stickstoffeinleitung bis zur Trockene bei 30-35°C abgedampft.

Der Rückstand wurde in je 200 µl Methanol aufgenommen, geschüttelt und in ein HPLC-Fläschchen mit Einsatz überführt.

Die weitere Analyse erfolgte mittels HPLC, wobei Standardlösungen mit bekanntem Retinol, bzw. Retinyl-Palmitat und -Acetat-Gehalt ins Verhältnis zu den gemessenen Peaks gesetzt wurden. Diese Standardlösungen wurden durch das Lösen von Retinol, bzw. Retinyl-Palmitat und -Acetat, in Methanol hergestellt. Ihre Extinktion wurde photometrisch gegen einen Methanol-Blindwert bei 313 nm gemessen. Die Berechnung der Konzentration erfolgte anhand der gemessenen Extinktion. Die Lösung wurde anschließend soweit mit Methanol verdünnt, bis ein dem im Reptilienplasma zu erwartender Gehalt erreicht wurde. Die Standardlösung für Vitamin A lag, je nach Ansatz, zwischen 1,4 und 3,5 µg/ml.

Als mobile Phase diente Methanol. Die Elution erfolgte bei einer Flussrate von 1 ml/Minute. Die Aufnahme der Chromatogramme erfolgte mit Hilfe eines UV-Detektors bei einer Wellenlänge von 313 nm.

Die Retentionszeiten betrugen dabei unter den genannten Bedingungen für Retinol circa 3,6 min., für Retinyl-Acetat circa 4,6 min. und für Retinyl-Palmitat circa 21,7 min.

Bei Anwendung dieser Methode erschien bei einem Großteil der Proben ein unbekannter Peak kurz vor der Retentionszeit des Retinyl-Acetats. Um diesen Peak genauer bestimmen zu können, wurden einige Proben an das Labor der Universität Potsdam (Lehrstuhl für Physiologie und Pathophysiologie der Ernährung, Prof. Dr. F.J. Schweigert) eingeschickt. Dort wurden die Proben nochmals mittels HPLC analysiert.

Die Trennung erfolgte hier auf einer YMC™ C30 Säule (Dimension 250*3 mm). Die Flussrate betrug 0,22 ml/min bei 20°C. Die Todzeit wurde mit 6,3 min angesetzt. Die zwei Eluenten wurden graduiert gefahren. Eluent A bestand aus 90% Methanol und 10% Ammoniumacetat-0,4 g/l in Wasser, Eluent B bestand aus 90% tert. Methyl-Butylether, 8% Methanol und 2% Ammoniumacetat-0,1 g/l in Wasser. Der Gradient ist der Abbildung 12 zu entnehmen.

Gradient	% A	% B
	95	5
1 min	93	7
2 min	85	15
3 min	80	20
11 min	75	25
21 min	45	55
29 min	13	87
32 min	7	93
33 min	1	99
47 min	1	99
47,1 min	95	5
60 min	Stopp	

Abbildung 12: Gradient der Eluenten A und B der HPLC-Methode aus Berlin

Die Detektion erfolgte mittels Photo Diode Array (PDA) bei 200-550 nm.

Mit Hilfe oben beschriebener Methode wurden auch α -Tocopherol und Carotinoide bestimmt. Dabei stellte sich heraus, dass der unbekannte Peak größtenteils aus Lutein bestand. Die Luteinstandardlösung wurde analog zu denen von Vitamin A und E hergestellt und betrug zwischen 0,2 und 0,3 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Die obere Bestimmungsgrenze lag so bei 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Höher konzentrierte Proben mussten entsprechend verdünnt werden.

Da bei den Untersuchungen zum Vitamin A-Gehalt im eigenen Labor kein Luteinstandard mitgeführt wurde, konnte der Lutein-Gehalt nur abgeschätzt werden. Zu diesem Zweck wurden die Peakflächen der Proben, welche auch in Berlin gemessen wurden, zu den Konzentrationen ins Verhältnis gesetzt.

3.2.4 Bestimmung von Vitamin E (α -Tocopherol) mittels HPLC

Die Aufbereitung der Proben zur Bestimmung des α -Tocopherol-Gehalts erfolgte nach dem selben Schema, wie oben für die Bestimmung von Retinol und Retinylestern beschrieben.

Die Standardlösung für α -Tocopherol (Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) wurde analog zu der Retinol-Standardlösung hergestellt und die Konzentration berechnet. Diese lag, je nach Ansatz, zwischen 9,3 und 11,7 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Da mit diesem HPLC-System der simultane Nachweis von Retinol, Retinylestern und α -Tocopherol möglich ist, konnten mit einem Lauf alle Analyten bestimmt werden.

Die Detektion von α -Tocopherol erfolgte durch einen Fluoreszenzdetektor bei einer Extinktion von 295 nm und einer Emission von 330 nm. Die Retentionszeit betrug circa 8,2 min.

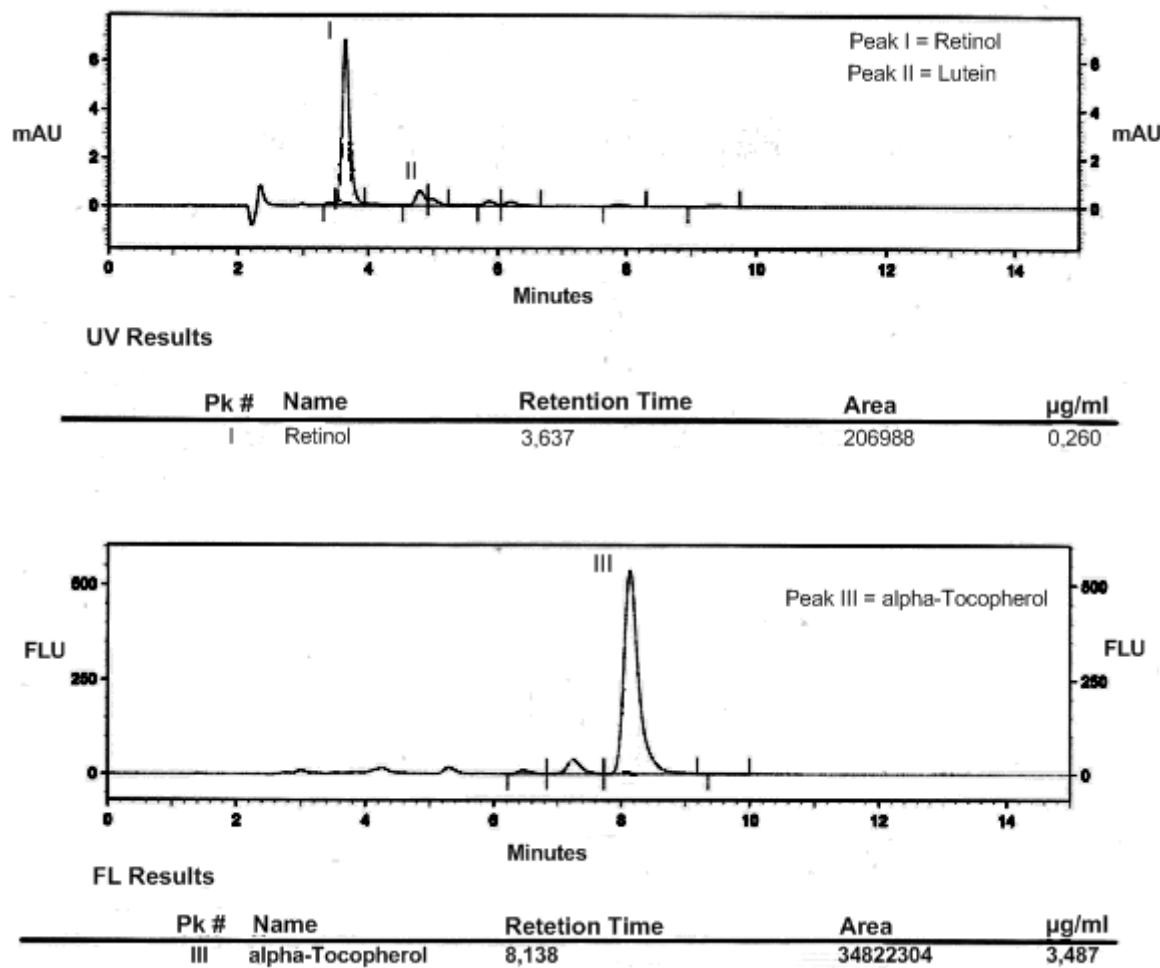


Abbildung 13: Beispiel-Chromatogramm der HPLC-Analyse von Vitamin A und E, sowie Lutein

3.2.5 Bestimmung von 25-OH-D₃, bzw. der 25-OH-D₃-äIR mittels EIA

Die Bestimmung des Vitamin D-Gehalts der Plasmaproben erfolgte mittels eines Enzymimmunoassays (EIA).

Prinzip

Der verwendete EIA arbeitet nach dem Prinzip eines kompetitiven Protein-Bindungs-Assays. Das 25-OH-Vitamin D der Probe konkurriert mit dem Tracer (25-OH-Vitamin D) um die Bindung an das Vitamin D-bindende Protein (VDBP, Gc-Globulin).

Reagenzien und Material

- Test-Kit K2110, 25-OH Vitamin D EIA Kit zur in-vitro Bestimmung von 25-OH Vitamin D in humanem Serum oder Plasma, Fa. Immundiagnostik AG, Bensheim
- Reinstwasser (Anlage Fa. SG Wasseraufbereitung und Regenerierstation GmbH, Barsbüttel)

Apparate

- Zentrifuge, miniSpin, Eppendorf AG, Hamburg
- Vortex-Schüttler, MS2 Minishaker, Fa. IKA® Werke GmbH&Co. KG, Staufen
- Mikrotiterplattenschüttler, Thermomixer comfort, Eppendorf AG, Hamburg
- Mikrotiterplattenreader, Sunrise™ remote, Fa. Tecan Group Ltd., Männedorf, Schweiz
- Software, magellan™ 4.0, Fa. Tecan Group Ltd., Männedorf, Schweiz

Bestimmung

Da in vivo das gesamte zirkulierende 25-OH-Vitamin D an VDBP gebunden vorliegt, mussten die Proben mit Fällungsreagenz präzipitiert werden, um den Analyt freizugeben. Der alkoholische Überstand konnte dann ohne weitere Vorbehandlung im Test eingesetzt werden.

Im ersten Inkubationsschritt wurde die Probe bzw. der Standard und NSB, Vitamin D Bindungsprotein und ein VDBP-spezifischer Antikörper pipettiert. Das 25-OH-Vitamin D der Probe (Standard) kompetetiert mit dem Tracer um die spezifische Bindung an das VDBP. Mit steigender Analyt-Konzentration in der Probe (Standard) wird weniger VDBP über den Tracer auf der Platte immobilisiert. Anschließend wurde gewaschen (ungebundenes VDBP wurde entfernt). Über ein Antikörper-Peroxidase/TMB-System wurde das VDBP schließlich quantifiziert. Nach Zugabe einer Stopplösung wechselte die Farbe von blau nach gelb. Die Farbentwicklung war dabei zur nachgewiesenen Analytmenge (Probe bzw. Standard) umgekehrt proportional. Eine Standardkurve wurde erstellt, aus der die Konzentrationen ermittelt werden konnten.

Eine gegebenenfalls erforderliche Verdünnung der Proben erfolgte mit dem im Kit vorhandenen Waschpuffer.

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe eines Mikrotiterplattenreaders. Bei Einzelwerten der Messung der 25-OH-D₃-äIR unter der Nachweigrenze („min“) wurde die untere Nachweigrenze von 0,01 nmol/l für die statistischen Berechnungen zugrunde gelegt.

Bei Werten über der Bestimmungsgrenze („max“) wurden die Werte auf die obere Nachweigrenze von 250 nmol/l festgelegt.

Validierung

Um das EIA-Test-Kit für Reptilien zu validieren, wurden Versuche mit Verdünnungsreihen, Mehrfachmessungen und mit Standard-gespikten Proben durchgeführt. Alle Proben wurden als Doppelansatz gemessen.

Der Variationskoeffizient der optischen Dichte wurde getrennt für die Doppelproben jedes einzelnen Kits und der jeweiligen Standards und Proben berechnet.

Die durchschnittlichen Variationskoeffizienten lagen unter der tolerierten Grenze von 15%. Einige einzelne Proben und Standards lagen jedoch oberhalb dieser tolerierten Grenze.

Die Tabellen 13 bis 15 stellen die Ergebnisse der einzelnen Messungen der 25-OH-D₃-äIR der Proben dar, die aus logistischen Gründen mehrfach aufgetaut und eingefroren wurden. Dieses wird vom Hersteller ausdrücklich nicht empfohlen. Die Proben des Tests vom 01.04.2008 wurden 1:1 mit Waschpuffer verdünnt und anschließend im Test-Kit gemessen. Die Proben des Tests vom 11.12.2008 wurden 1:4 verdünnt.

Alle Test-Ergebnisse wiesen eine gute mittlere Korrelation zueinander auf. Sie lag zwischen

$r = 0,64$ und $r = 0,99$. Betrachtet man jedoch die einzelnen Wertepaare, ergeben sich erhebliche Diskrepanzen.

Tabelle 13: Plasmakonzentrationen der 25-OH-D₃-äIR (nmol/l) der Proben E1-S9, gemessen am 18.09.2007, 26.09.2007 und dem 17.07.2008

Probennummer	18.09.2007	26.09.2007	17.07.2008
E1	223,1	201,6	250
E2	250	210,6	250
E3	250	174,7	250
E4	250	182,2	250
LSK5	0,01	22,3	0,01
S6	0,01	60,3	0,01
S7	69,0	214,1	250
S8	9,9	179,9	117,2
S9	12,9	129,0	137,8

Tabelle 14: Plasmakonzentrationen der 25-OH-D₃-äIR (nmol/l) der Proben E11-WSK25, gemessen am 18.09.2007, 22.10.2007 und 01.04.2008

Probennummer	18.09.2007	22.10.2007	01.04.2008 (1:1)
E11	250	250	250
E12	213,1	250	250
E13	250	250	250
LSK14	71,1	38,6	66,9
WSK15	0,01	0,01	0,01
WSK16	0,01	0,01	0,01
WSK17	0,01	4,8	0,01
WSK18	0,01	0,01	0,01
WSK19	0,01	0,01	0,01
WSK20	0,01	2,1	0,01
WSK21	0,01	0,01	0,01
WSK22	0,01	0,01	0,01
WSK23	0,01	0,01	0,01
WSK24	0,01	0,01	0,01
WSK25	0,01	0,01	0,01

Tabelle 15: Plasmakonzentrationen der 25-OH-D₃-äIR (nmol/l) der Proben LSK107-E135, gemessen am 11.12.2008 und 08.01.2009

Probennummer	11.12.2008 (1:4)	08.01.2009
LSK107	0,01	0,01
LSK108	0,01	0,01
LSK109	0,01	0,01
LSK110	0,01	0,01
LSK111	0,01	0,01
LSK112	0,01	0,01
LSK113	0,01	0,01
LSK114	0,01	0,01
LSK115	0,01	0,01
LSK116	0,01	0,01
LSK117	0,01	0,01
E118	0,01	37,2
E119	7,8	64,9
S120	41,2	91,6
S121	4,6	0,01
S122	0,01	2,6
S123	0,01	5,3
S124	0,01	1,2
S125	65,8	187,0
S126	14,2	19,4
S127	61,6	183,6
S128	10,6	24,4
S129	29,3	76,1
S130	46,4	63,0
E131	0,01	5,9
E132	0,01	36,5
E133	0,01	4,9
E134	1,7	21,9
E135	0,01	15,6

Es ergab sich eine Korrelation von $r = 0,93$.

Die Proben 136-152 wurden zeitgleich im eigenen Labor und dem der Firma Immundiagnostik AG (Bensheim) gemessen. Die Einzelergebnisse sind der Tabelle 16 zu entnehmen. Es ergab sich eine Korrelation von $r = 0,98$.

Tabelle 16: Vergleich der Plasmakonzentrationen der 25-OH-D₃- α IR (nmol/l) der Proben E136-S152, gemessen im eigenen Labor und dem der Firma Immundiagnostik AG

Probennummer	15.04.2009 (LMU)	17.04.2009 (Immundiagnostik AG)
E136	250	250
LSK137	0,01	1,0
LSK138	0,01	0,01
E139	250	250
E140	250	250
LSK141	0,01	0,01
WSK142	0,01	0,01
WSK143	5,0	10,1
LSK144	0,01	6,5
LSK145	15,9	8,7
S146	63,9	35,3
S147	171,8	146,4
S148	142,4	185,7
S149	104,6	80,9
S150	250	250
S151	58,4	19,4
S152	250	205,1

Ein weiteres Test-Kit wurde für zusätzliche Versuche zur Validierung genutzt. Der Versuchsaufbau und die Ergebnisse sind den Abbildungen 14 bis 16 zu entnehmen. Der Variationskoeffizient der optischen Dichte aller Doppelproben lag unterhalb der tolerierten Grenze von 15%.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NSB		Probe 136 unverdünnt	Probe 139 unverdünnt	Probe 140 + St 2			137		148		
B	St 1		1:1	1:1	Probe 140 + St 4			138		149		
C	St 2		1:2	1:2	Probe 140 + St 6			141		150		
D	St 3		1:3	1:3	Probe 142 + St 2			143		151		
E	St 4		1:4	1:4	Probe 142 + St 4			144		152		
F	St 5		1:5	1:5	Probe 142 + St 6			145		leer		
G	St 6		1:6	1:6		140		146		CTRL 1		
H	leer		1:7	1:7		142		147		CTRL 2		

Abbildung 14: Pipettierschema der Testvalidierung des Vitamin D-EIA-Kits

Erläuterungen: NSB = Non Specific Binding, St = Standard (St 1 = 0 nmol/l, St 2 = 6,4 nmol/l, St 3 = 16 nmol/l, St 4 = 40 nmol/l, St 5 = 100 nmol/l, St 6 = 250 nmol/l), CTRL = Kontrolle (CTRL 1: range: 14-38 nmol/l, CTRL 2: range: 40-92 nmol/l)

Verdünnung	Probe (µl)	Waschpuffer (µl)
1:1	25	25
1:2	20	40
1:3	20	60
1:4	10	40
1:5	10	50
1:6	10	60
1:7	10	70

Abbildung 15: Schema der Verdünnung der Proben 140 und 142 mit Waschpuffer

Für die Spike-Versuche wurden zu jeweils 30 µl Probe je 20 µl Standard (St.2: 6,4 nmol/l, St.4: 40 nmol/l und St.6: 250 nmol/l) zugegeben und direkt im Test verwendet.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	max		max		max		max		min		142,4	
B	1,9		max		max		max		min		50,5	
C	2,8		max		max		max		min		max	
D	16,0		max		128,9		min		5,0		58,4	
E	52,6		71,6		68,9		9,9		min		max	
F	84,3		48,9		48,0		61,1		15,9		leer	
G	247,3		43,3		39,9		max		63,9		39,0	
H	leer		22,5		48,5		min		171,8		20,3	

Abbildung 16: Ergebnisse der Validierung des Vitamin D-EIA-Kits, Mittelwerte der Doppelproben (nmol/l)

Erläuterungen: max = über der Nachweisgrenze von 250 nmol/l, min = unter der Nachweisgrenze von 0,01 nmol/l, die Konzentrationen der Standards sind von der Eichkurve ausgehend rückgerechnet

Die Ergebnisse der Verdünnungsreihen zeigten keine Linearität.

Die Wiederfindungsrate der mit Standard gespikten Proben konnte im Fall der Probe 140 nicht interpretiert werden, da die Probe über der Nachweisgrenze von 250 nmol/l lag. Die Probe 142 lag unterhalb der Nachweisgrenze von 0,01 nmol/l. Bei der Zugabe von Standard 2 (6,4 nmol/l) lag sie noch immer unterhalb der Nachweisgrenze. Erst bei Zugabe von Standard 4 und 6 (40 nmol/l, bzw. 250 nmol/l) ergaben sich Werte von 9,9 nmol/l, bzw. 61,1 nmol/l.

Zusätzlich wurden an die Firma Immundiagnostik AG die Proben 153 bis 156 geschickt. Diese Proben wurden kurz vor Einsendung entnommen und nur im Fremdlabor mit Hilfe der HPLC auf ihren Gehalt an 25-OH-D₂ und 25-OH-D₃ untersucht. Im eigenen Labor wurden sie nicht analysiert.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 17 zusammengefasst.

Tabelle 17: Ergebnisse der HPLC-Analyse 25-OH-Vitamin D₂ und -D₃ (nmol/l) der Firma Immundiagnostik AG

Probennummer	Tierart	25-OH-Vitamin D ₂	25-OH-Vitamin D ₃
153	Grüner Leguan	473,3	595,6
154	LSK	n.n.	7,6
155	Schlange	n.n.	28,5
156	WSK	448,5	237,3

Da das Test-Kit durch diese Vorversuche noch nicht ausreichend validiert werden konnte, ist nicht gesichert, ob tatsächlich das 25-Hydroxyvitamin D₃ gemessen wurde. Das Test-Kit besitzt, bezogen auf die 25-OH-D₃-Reaktivität, eine 100%ige Kreuzreaktivität mit 24,25-(OH)₂-D₃ und 25-OH-D₂. Daher wird im Folgenden nur von einer 25-OH-Vitamin D₃-ähnlichen Immunoreaktivität (25-OH-D₃-äIR) gesprochen. Zudem wurden die Messergebnisse in Kategorien eingeteilt. Die Einteilung erfolgte in einen niedrigen Bereich von 0-25 nmol/l, einen mittleren Bereich von 26-100 nmol/l, einen hohen Bereich von 101-200 nmol/l und einen sehr hohen Bereich mit Werten über 200 nmol/l.

Als mögliche Gründe für das Scheitern der Validierung kommen verschiedene Ursachen in Frage, unter anderem eine unvollständige Proteinfällung. Daher wurde der gefällte Überstand mit Hilfe der Biuret-Methode auf seinen Eiweißgehalt hin untersucht.

Mit dem im Test-Kit vorhandenen Fällungsreagenz wurde eine Methanol-Propanol-Fällung durchgeführt. Beim Säuger bleiben hier circa 1% der Proteine erhalten.

Um festzustellen, ob im Reptiliplasma mehr Protein erhalten blieb und den Testverlauf eventuell hätte stören können, wurde ein Proteinnachweis nach der Biuret-Methode (BIOQUANT®, Fa. Merck, Darmstadt) durchgeführt. Die Methode beruht darauf, dass Proteine in alkalischer, tartrathaltiger Kupfersulfatlösung (Biuret-Reagenz) einen blauvioletten Farbkomplex bilden. Die Extinktion wird üblicherweise bei 546 nm gemessen. Durch Kalibration mit Hilfe von Proteinstandardlösungen wird der Proteingehalt in den Proben bestimmt.

Um den Proteingehalt des Methanol-Propanol-gefällten Überstandes bestimmen zu können, wurde nach Testanweisung gefällt und der Überstand für den Biuret-Test verwendet.

Da geringe Proteinmengen (<0,5 g/l) zu erwarten waren, wurde die Probe zusätzlich mit Tricloressigsäurelösung (TCA) gefällt. Der Niederschlag wurde anschließend in einem definierten Volumen bidestillierten Wassers wieder aufgenommen und für den Test verwendet.

Es konnten jedoch nur minimale Mengen an Protein nachgewiesen werden (0,003 g/l).

3.2.6 Statistische Methoden

Die statistische Aufarbeitung des Datenmaterials erfolgte mit Hilfe des Programms „SigmaStat 3.0“ (Systat Software GmbH, San José, USA). Zur tabellarischen Auflistung der Messergebnisse und zur Erstellung der Graphiken wurde „OpenOffice.org Calc3.0“ (Sun Microsystems Inc., Santa Clara CA, USA) verwendet.

Für alle Fragestellungen wurde die Grenze für die Irrtumswahrscheinlichkeit auf 5% ($p=0,05$) festgelegt. Werte von $p > 0,05$ galten als nicht signifikant, Werte von $p < 0,05$ als signifikant, Werte von $p < 0,01$ als hoch signifikant und Werte von $p < 0,001$ als höchst signifikant.

Bei allen untersuchten Einzelparametern wurden jeweils der arithmetische Mittelwert (x), die Standardabweichung (s), die Anzahl (n) sowie das Minimum (min) und das Maximum (max) ermittelt. Die Referenzbereiche wurden anhand des 95%-Perzentils definiert. Zuvor wurde mit der Methode nach HENRY und REED (1971) in jeder Reptiliengruppe nach Ausreißern gesucht. Diese wurden nicht in den Referenzbereich mit einbezogen.

Alle Proben und Standards wurden als Doppelprobe angesetzt. Bei der Messung der 25-OH-D₃-äIR wurde der Variationskoeffizient (VK) der optischen Dichte jeder einzelnen Doppelprobe und auch der Mittelwert der Variationskoeffizienten innerhalb eines Test-Kits errechnet.

Die vergleichenden Untersuchungen der unterschiedlichen Test-Kits wurden mit Hilfe der Pearson-Korrelation durchgeführt.

Mit dem t-Test für unabhängige Stichproben wurden die Unterschiede zwischen zwei Mittelwerten auf statistische Signifikanz überprüft.

Mit der zweifaktoriellen Varianzanalyse wurden Unterschiede zwischen mehr als zwei Mittelwerten statistisch überprüft, gegebenenfalls mit anschließendem Holm-Sidak-Test.

Der Chi-Quadrat-Test wurde zur statistischen Prüfung von Unterschieden zwischen diskreten Merkmalen herangezogen. Kam es zu signifikanten Ergebnissen, wurden nachfolgend einzelne Gruppen im paarweisen Vergleich untersucht und die Irrtumswahrscheinlichkeit nach Bonferroni korrigiert.

4 Ergebnisse

4.1 Vitamin A-Gehalt des Plasmas

In den Tabellen 18 bis 20 sind die bei der Analyse der Plasmaproben der Reptilien erhaltenen Mittelwerte \pm Standardabweichung sowie die jeweiligen minimalen und maximalen Werte getrennt nach Reptiliengruppen und Ernährungsweise in $\mu\text{g}/\text{ml}$ dargestellt. Nur die Werte der Gruppe der Schlangen unterschieden sich statistisch hoch signifikant von denen der anderen Gruppen ($p < 0,001$).

Tabelle 18: Plasma-Retinolwerte in Abhängigkeit von der Reptiliengruppen ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Reptiliengruppe	n	\bar{x} ($\mu\text{g}/\text{ml}$) \pm s	min	max
WSK	41	$0,175 \pm 0,093^{\text{a}}$	0,016	0,397
LSK	58	$0,198 \pm 0,095^{\text{a}}$	0,026	0,530
Schlangen	30	$0,027 \pm 0,011^{\text{b}}$	0,011	0,053
Echsen	33	$0,191 \pm 0,081^{\text{a}}$	0,039	0,380

Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

Die Plasma-Retinolkonzentrationen der karnivoren Schlangen sind im Vergleich zu denen der herbi- bzw. omnivoren Tiere statistisch hoch signifikant geringer.

Tabelle 19: Plasma-Retinolwerte in Abhängigkeit von der Ernährungsweise ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Ernährungsweise	n	\bar{x} ($\mu\text{g}/\text{ml}$) \pm s	min	max
herbivor	58	$0,200 \pm 0,085^{\text{a}}$	0,026	0,428
omnivor	67	$0,182 \pm 0,091^{\text{a}}$	0,016	0,530
karnivor	37	$0,054 \pm 0,080^{\text{b}}$	0,011	0,397

Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

Um zu überprüfen, ob die niedrigen Werte der Karnivoren nur durch die Schlangen oder allgemein durch karnivore Reptilien beeinflusst wurden, wurden die Tiergruppen zusätzlich nach Ernährungsweise getrennt betrachtet. Hierbei zeigten sich auch bei den karnivoren Echsen statistisch signifikant niedrigere Werte im Gegensatz zu den herbi- und omnivoren Tieren.

Ergebnisse

Tabelle 20: Plasma-Retinolwerte (µg/ml) in Abhängigkeit von der Ernährungsweise und der Reptiliengruppe (x ± s (n))

	Echsen	Schildkröten	Schlangen
herbivor	0,226 ± 0,078 (13) ^a	0,193 ± 0,086 (45) ^a	n.n.
omnivor	0,181 ± 0,067 (18) ^a	0,182 ± 0,099 (49) ^a	n.n.
karnivor	0,046 ± 0,009 (2) ^b	0,217 ± 0,135 (5) ^a	0,027 ± 0,011 (30) ^b

Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

Die Werte der Männchen und Weibchen wiesen keine statistisch signifikanten Differenzen auf (p=0,885).

β-Carotin konnte bei keiner Probe nachgewiesen werden. Retinylester konnten in nur sehr geringem Umfang in Form von Retinyl-Palmitat nachgewiesen werden. Die Peakflächen betrugen jedoch nur circa 10% der jeweiligen Retinolflächen.

4.2 Lutein-Gehalt des Plasmas

Im Laufe der HPLC-Analyse des Reptilienplasmas fiel ein Peak auf, der bei mehreren Proben immer drei Sekunden nach der Retentionszeit des Retinyl-Acetats erschien. Durch eine weitere HPLC-Analyse in einem Fremdlabor stellte sich heraus, dass es sich hierbei größtenteils um Lutein handelte. Retinylester und β -Carotin konnten auch mit dem Verfahren des Fremdlabors nicht nachgewiesen werden.

Die dort gemessenen Plasma-Luteinkonzentrationen der Reptilien sind in der Tabelle 21 zusammengefasst.

Die Werte der 12 Tiere erstreckten sich von 2,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ bis 5,6 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Der Mittelwert lag bei 3,44 $\mu\text{g}/\text{ml}$ mit einer Standardabweichung von 1,25 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Die Werte der Echsen unterschieden sich nicht signifikant von denen der Wasserschildkröten.

Tabelle 21: Plasma-Luteinkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{ml}$) der in Berlin gemessenen Proben

Art	Plasma-Luteinkonzentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Bartagame (<i>Pogona vitticeps</i>)	4,4
Bartagame (<i>Pogona vitticeps</i>)	3,6
Bartagame (<i>Pogona vitticeps</i>)	5,6
Bartagame (<i>Pogona vitticeps</i>)	4,3
Bartagame (<i>Pogona vitticeps</i>)	3,0
Bartagame (<i>Pogona vitticeps</i>)	3,3
Bartagame (<i>Pogona vitticeps</i>)	2,9
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	2,2
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	2,6
Rotbauch-Schmuckschildkröte (<i>Trachemys scripta elegans</i>)	2,1
Rotbauch-Schmuckschildkröte (<i>Trachemys scripta elegans</i>)	2,0
Gelbwangen-Schmuckschildkröte (<i>Trachemys scripta troosti</i>)	5,4

Die Proben der Tiere aus Tabelle 21 sind sowohl im eigenen als auch im Fremdlabor analysiert worden, somit konnten die Lutein-Konzentrationen zu den Peakflächen ins Verhältnis gesetzt werden. Dieses ist in Abbildung 17 graphisch dargestellt. Die Werte wiesen eine gute Korrelation auf ($R^2 = 0,77$).

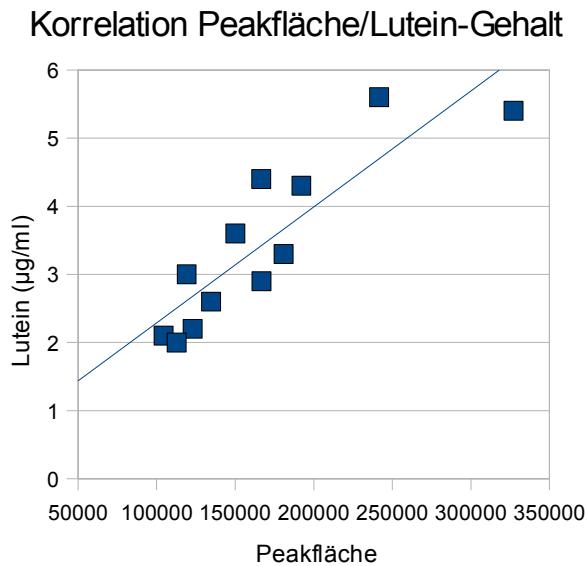


Abbildung 17: Korrelation der Peakflächen der im eigenen Labor analysierten Proben zum Lutein-Gehalt des in Berlin gemessenen Plasmas

Die Flächengrößen der Lutein-Konzentrationen der Plasmaproben der Reptilien, die im eigenen Labor gemessen wurden, sind in Tabelle 22 zusammengefasst. Der Lutein-Peak zeigte sich bei allen Wasserschildkröten und Echsen, die im Rahmen dieser Studie untersucht wurden. Bei den Landschildkröten trat er bei 55 von 58 Tieren auf. Auffallend war, dass sich nur bei einer von 33 untersuchten Schlangen ein kleiner Peak fand.

Tabelle 22: Flächengrößen des Lutein-Peaks der einzelnen Reptiliengruppen

Reptiliengruppe	n	$x \pm s$	min	max
WSK	41	48687 ± 73763^a	1009	327058
LSK	55	24568 ± 19363^b	3156	87294
Schlangen	1	3370 ^c	3370	3370
Echsen	33	150077 ± 75262^d	7444	328788

Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

Da die Peakflächen des Luteins gut mit den gemessenen Plasma-Luteinkonzentrationen korrelierten, ließ sich der mittlere Plasma-Luteingehalt der Wasserschildkröten auf 1,5 µg/ml schätzen. Die Landschildkröten erreichten im Mittel 0,7 µg/ml, die Echsen 3,0 µg/ml. Bei der Schlange ergab sich ein Wert von ungefähr 0,009 µg/ml.

4.3 25-OH-D₃-äIR im Plasma

In den Tabellen 23 bis 25 werden die bei der Analyse der Plasmaproben der Reptilien ermittelten Werte der 25-OH-D₃-äIR zusammengefasst.

Da das EIA-Test-Kit für Reptilien durch die in Material und Methoden beschriebenen Versuche noch nicht ausreichend validiert werden konnte, wurden für die Darstellung der Ergebnisse nicht die absoluten Zahlen, sondern die in Material und Methoden aufgeführten Bereiche verwendet.

Tabelle 23 zeigt die Ergebnisse der Analysen in Abhängigkeit der Reptiliengruppe nach Bereichen aufgeteilt. Hervorzuheben ist, dass sich 80% der Landschildkröten im Bereich von 0-25 nmol/l wiederfanden.

Tabelle 23: 25-OH-D₃-äIR im Plasma der verschiedenen Reptiliengruppen (nmol/l), eingeteilt in Bereiche (n gesamt und Prozent)

Bereich (nmol/l)	E ^a (33)	%	LSK ^b (54)	%	WSK ^c (42)	%	S ^c (30)	%
0-25	4	12%	43	80%	17	40%	13	43%
26-100	14	42%	0	0%	5	12%	6	20%
101-200	5	15%	8	15%	19	45%	6	20%
>200	10	30%	3	5%	1	2%	5	17%

Gruppen, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

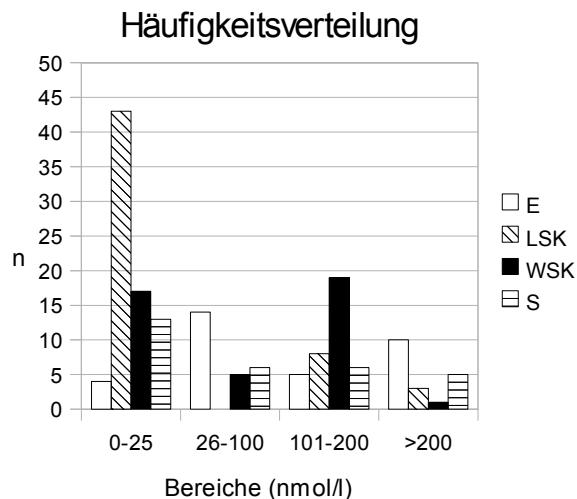


Abbildung 18: Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen der 25-OH-D₃-äIR der Reptiliengruppen in Bereiche eingeteilt

Tabelle 24 zeigt die Werte der 25-OH-D₃-äIR der Tiere, die UVB-Licht ausgesetzt waren und der Tiere, die keinem UVB-Licht ausgesetzt waren. Hierbei wurde ersichtlich, dass die Plasmakonzentrationen bei Tieren ohne UVB-Licht mehrheitlich (66%) im niedrigen Bereich von 0-25 nmol/l lagen, während sich die Proben der Tiere mit UVB-Licht zu 38% im hohen Bereich von 101-200 nmol/l. 30% der Proben fanden sich jedoch im niedrigen Bereich (0-25 nmol/l). Allerdings waren mit 20%, gegenüber 4% der Tiere ohne UVB-Exposition, eindeutig mehr Tiere im sehr hohen Bereich (>200 nmol/l).

Tabelle 24: Plasmakonzentrationen der 25-OH-D₃-äIR der Tiere mit und ohne UV-Licht-Exposition eingeteilt in Bereiche (n gesamt und Prozent)

Bereich (nmol/l)	mit UV-Licht (79) ^a	%	ohne UV-Licht (80) ^b	%
0-25	24	30%	53	66%
26-100	9	11%	16	20%
101-200	30	38%	8	10%
>200	16	20%	3	4%

Gruppen, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

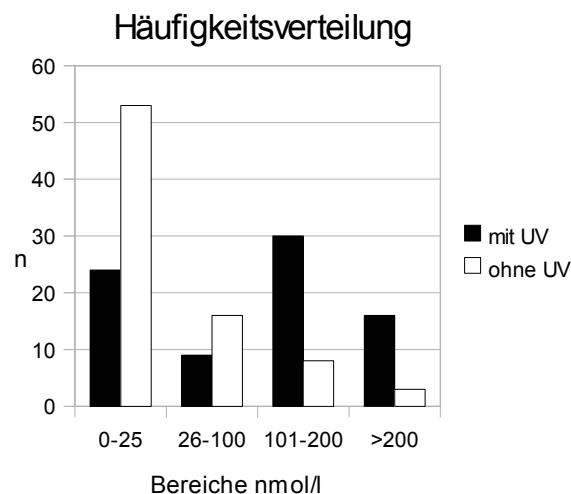


Abbildung 19: Häufigkeitsverteilung der Bereiche der 25-OH-D₃-äIR im Plasma von Reptilien mit und ohne UV-Licht-Exposition

Tabelle 25 fasst die Konzentrationen der 25-OH-D₃-äIR der Tiere in Abhängigkeit von der Ernährungsweise zusammen.

Hierbei war kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Höhe der 25-OH-D₃-äIR und der Ernährungsweise zu erkennen.

Tabelle 25: Plasmakonzentrationen der 25-OH-D₃-äIR in Abhängigkeit von der Ernährungsweise (n gesamt und Prozent)

Bereich (nmol/l)	herbivor (55) ^a	%	omnivor (67) ^a	%	karnivor (37) ^a	%
0-25	31	56%	30	45%	16	43%
26-100	0	0%	17	25%	8	22%
101-200	11	20%	19	28%	8	22%
>200	13	24%	1	2%	5	14%

Ernährungsweisen, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

Auch zwischen männlichen und weiblichen Tieren konnte kein signifikanter Unterschied erkannt werden.

4.4 Vitamin E-Gehalt des Plasmas

In den Tabellen 26 und 27 werden die bei der Analyse der Plasmaproben erhaltenen Mittelwerte der einzelnen Reptiliengruppen und Ernährungsweisen des Vitamin E-Gehalts dargestellt. Zwischen den Konzentrationen der männlichen und weiblichen Tiere zeigten sich keine statistisch relevanten Differenzen ($p=0,586$).

Es fand sich ein statistisch hoch signifikanter Unterschied zwischen allen Reptiliengruppen.

Tabelle 26: α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen der verschiedenen Reptiliengruppen ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Reptiliengruppe	n	\bar{x} ($\mu\text{g}/\text{ml}$) \pm s	min	max
WSK	41	$9,8 \pm 5,5^{\text{a}}$	2,7	22,7
LSK	58	$2,9 \pm 1,7^{\text{b}}$	0,1	7,2
Schlangen	30	$5,5 \pm 5,4^{\text{c}}$	0,1	24,3
Echsen	33	$7,8 \pm 3,7^{\text{d}}$	0,1	17,0

Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

Tabelle 27: α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen in Abhängigkeit von der Ernährungsweise ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Ernährungsweise	n	\bar{x} ($\mu\text{g}/\text{ml}$) \pm s	min	max
herbivor	50	$4,1 \pm 2,2^{\text{a}}$	0,1	9,7
omnivor	67	$7,9 \pm 5,6^{\text{b}}$	0,1	22,7
karnivor	28	$6,0 \pm 5,4^{\text{a,b}}$	0,1	24,3

Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

Hervorzuheben sind die signifikant höheren Werte der naturnah gehaltenen Farmzuchten (*Testudo hermanni*, *T. horsfieldii*, n=19), die erst seit ein, bzw. zwei Wochen bei dem Händler untergebracht waren. Sie lagen im Mittel bei $4,5 \pm 1,9 \mu\text{g}/\text{ml}$, während die Werte der Tiere, die überwiegend in Terrarien gehalten wurden (*Testudo hermanni*, n=21) bei $2,8 \pm 1,2 \mu\text{g}/\text{ml}$ lagen. Zwischen *Testudo hermanni* und *Testudo horsfieldii* ergaben sich keine statistischen Unterschiede.

Ergebnisse

Tabelle 28: Vergleich der α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen von naturnah gehaltenen Farmzuchten und von überwiegend in Terrarien gehaltenen Tieren

Herkunft	n	x (μg/ml) \pm s	min	max
Farmzucht	19	$4,5 \pm 1,9^a$	2,3	7,2
Terrarium	21	$2,8 \pm 1,2^b$	1,3	5,0

Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

4.5 Standardisierte Fütterung über zehn Tage

Bei zehn separat gefütterten Wasserschildkröten (*Trachemys spp.*, *Graptemys spp.*) wurden die Konzentrationen an Retinol, die Höhe der 25-OH-D₃-äIR und die Plasmakonzentrationen des α-Tocopherols am Tag 0 und 9 gemessen.

Zur statistischen Auswertung wurden der Mittelwert, die Standardabweichung, das Minimum und das Maximum herangezogen.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen 29 bis 31 zusammengefasst.

Bei keinem der Vitamine waren statistisch signifikante Unterschiede bezüglich der Konzentrationen am Tag 0 und 9 des Versuchs zu erkennen.

Tabelle 29: Plasma-Retinolwerte an Tag 0 und Tag 9 des Versuchs (µg/ml)

	n	x (µg/ml) ± s	min	max
Retinol (Tag 0)	10	0,171 ± 0,093 ^a	0,048	0,343
Retinol (Tag 9)	10	0,181 ± 0,089 ^a	0,047	0,316

Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

Tabelle 30: Plasmakonzentrationen der Werte der 25-OH-D₃-äIR an Tag 0 und Tag 9 des Versuchs (nmol/l)

	n	x (nmol/l) ± s	min	max
25-OH-D ₃ -äIR (Tag 0)	10	134,0 ± 30,4 ^a	93,4	190,1
25-OH-D ₃ -äIR (Tag 9)	10	127,6 ± 23,8 ^a	88,9	167,4

Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

Tabelle 31: α-Tocopherol-Plasmakonzentrationen an Tag 0 und Tag 9 des Versuchs (µg/ml)

	n	x (µg/ml) ± s	min	max
α-Tocopherol (Tag 0)	10	12,478 ± 4,960 ^a	3,0	20,3
α-Tocopherol (Tag 9)	10	12,013 ± 6,227 ^a	4,2	22,7

Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant.

5 Diskussion

5.1 Kritik der Methodik

5.1.1 Tiermaterial

Es stellt sich die Frage, inwieweit die Tiere dieser Studie repräsentativ waren. Die Tiere waren sehr unterschiedlicher Herkunft und daraus ergab sich, dass sie unter sehr verschiedenen Bedingungen gehalten wurden und nicht von einer einheitlichen Fütterung ausgegangen werden konnte.

Für die Erstellung von Referenzbereichen sollten gesunde Tiere herangezogen werden. In dieser Arbeit wurde deshalb Gesundheit als ein Zustand eines ungestörten Allgemeinbefindens ohne klinische Anzeichen einer Erkrankung definiert.

Hatten die Tiere bekannte Vorerkrankungen, so wurden sie nicht in die Studie mitaufgenommen. Unter den Tieren waren auch Farmzuchten aus Osteuropa (Dalmatien), die unter sehr naturnahen Bedingungen aufgewachsen sind. Deren Werte könnten somit als „normal“ angesehen werden. Um die „Normalwerte“ richtig bestimmen zu können, macht es Sinn, die Vitaminkonzentrationen bei Wildtieren zu messen. Denn in Menschenhand gehaltene Tiere erhalten meist nicht ihre natürliche Nahrung und auch die UVB-Exposition weicht oft sehr von der der wildlebenden Artgenossen ab.

Somit können die Ergebnisse dieser Studie nur als „Normalwerte“ von in Menschenhand gehaltenen Tieren angesehen werden, die keine offensichtlichen ernährungsbedingten Krankheiten aufwiesen. Eine Untersuchung wildlebender Reptilien auf ihre „Normalwerte“ würde im Vergleich zu den bisher gewonnenen Ergebnissen sicherlich wertvolle Hinweise auf eine mehr den natürlichen Gegebenheiten entsprechende Haltung geben. Dies ist praktisch jedoch kaum durchführbar.

Trotz aller Nachteile erschien es sinnvoll, diese breit gestreuten Tiere in die Studie aufzunehmen. Diese Arbeit soll einen Überblick über die Plasma-Vitaminkonzentrationen geben, um so Grundlage für weitere Studien zu sein. Gerade für Reptilien findet man in der Literatur nur wenige Angaben hierüber. So wurde versucht, Referenzwerte für Schlangen, Echsen und Schildkröten zu erstellen. Da die Klasse der Reptilien jedoch über 8000 Arten beinhaltet, die physiologisch sehr unterschiedlich sind, können die Ergebnisse nur auf die jeweils untersuchten Arten bezogen werden.

Aufgrund des benötigten Probenvolumens von mindestens 1 ml Blut konnten Jungtiere nicht mit in die Studie aufgenommen werden, da diese noch nicht genügend Körpermasse besitzen. Somit wurden die Tiere vorselektiert und es konnten nur Aussagen über adulte und semi-adulte Tiere getroffen werden. Auch konnte der jahreszeitliche Verlauf nicht miteinbezogen werden, da die meisten Tiere nur kurze Zeit beim Händler, bzw. in der Auffangstation verblieben.

Des Weiteren musste auf eine blutchemische Untersuchung zur genaueren Bestimmung des Gesundheitszustandes verzichtet werden, da hierfür zusätzliches Blut benötigt worden wäre. So wurde der Gesundheitszustand der Tiere durch eine gründliche Anamnese und adspektorische Untersuchung evaluiert und in einem Protokoll festgehalten. Jedoch könnte die Blutchemie gerade im Hinblick auf Leber- oder Nierenerkrankungen wichtige Anhaltspunkte liefern, insbesondere in dem Fall, wenn die Vorgeschichte des Tieres unbekannt ist. Somit war nicht sichergestellt, dass nur völlig gesunde Tiere in die Studie miteinbezogen wurden.

5.1.2 Probenmaterial

Für die Untersuchungen wurden die Blutentnahmen wie im Material und Methoden-Teil bereits beschrieben einheitlich durchgeführt.

In der Literatur gibt es unterschiedliche Angaben zur Blutmenge, die einem gesunden Reptil maximal abgenommen werden sollte. MADER (2006) empfiehlt nicht mehr als 10% des Gesamtblutvolumens zu entnehmen. Das Blutvolumen von Reptilien beträgt circa 5-8% des Körpergewichts.

Als Faustregel gilt, dass das Probenvolumen nicht mehr als 1% des Körpergewichts betragen sollte. Das heißt einem 450g schweren Grünen Leguan sollte man maximal 4,5ml Blut abnehmen.

Setzt man jedoch beispielsweise ein Gesamtblutvolumen von 5% voraus, kann man diesem Leguan nur 1,8ml Blut entnehmen.

Daher wiesen alle in diese Studie einbezogenen Reptilien ein Mindestgewicht von 400g auf, um den Tieren sicher nicht zu schaden.

Es gibt verschiedene Studien über den Einfluss der Blutentnahmestelle auf die Blutparameter (GOTTDENKER et al. 1995, LÓPEZ-OLVERA et al. 2003).

LÓPEZ-OLVERA et al. (2003) verglichen Blutproben aus der Vena cocygealis dorsalis und der Vena brachialis bei Landschildkröten (*Testudo marginata*). Sie fanden signifikante Unterschiede unter anderem beim Hämatokrit, dem Gesamteiweiß, Kalzium und Phosphat.

Somit lässt sich nicht ausschließen, dass es auch einen Einfluss auf die Konzentrationen der Vitamine gibt.

Vor allem ist die Gefahr der Kontamination und damit der Verdünnung des Blutes mit Lymphe an der Vena cocygealis dorsalis gegeben. Dies ist die häufigste Ursache für unterschiedliche Werte.

Die tiefgefrorenen Proben wurden alle innerhalb von höchstens vier Monaten analysiert. CRAFT et al. (1988) untersuchten die Effekte von Lagerung und Handling auf die Konzentrationen vom Carotinoiden, Retinol und Tocopherol im Plasma. Alle Analyten erwiesen sich bei einer Lagerung bei -20°C für mindestens fünf Monate als stabil. Auch COMSTOCK (1993), GUNTER (1988) und DRISKELL (1985) beschäftigten sich mit der Stabilität von Vitamin A und E in gefrorenem Plasma und Serum. Sie bestätigen eine Stabilität von mehreren Jahren. Vitamin E ist jedoch nicht über einen so langen Zeitraum stabil wie Vitamin A. Hier wurde eine Reduktion schon nach einem Jahr beobachtet. Dies liegt vermutlich an der Tatsache, dass es nicht an ein Bindepolymer gebunden vorliegt, wie es beim Retinol der Fall ist. Eine Lagerung bei -70°C hält alle fettlöslichen Metaboliten über Jahre stabil (GUNTER 1988).

Somit ist bei den Proben dieser Arbeit nicht von negativen lagerungsbedingten Einflüssen auszugehen.

Zu der Stabilität von Vitamin D gibt es verschiedene Studien (OCKÉ et al. 1995, LISSNER et al. 1981). Laut OCKÉ et al. (1995) war Vitamin D, gelagert bei -20°C, vier Jahre lang stabil. Die Firma Immundiagnostik AG (Bensheim) spricht von einer Stabilität von 12 Monaten bei -20°C. Was auf jeden Fall vermieden werden sollte, ist ein mehrfaches Auftauen und Einfrieren der Proben. Im Rahmen der Testvalidierung ließ sich ein mehrfaches Auftauen und Einfrieren nicht umgehen. Somit kann ein Teil der aufgetretenen Probleme bei der Validierung auch mit dem Auftauen und Wiedereinfrieren der Proben in Zusammenhang stehen.

5.1.3 Analysemethoden

Die Plasmaproben der Reptilien wurden mittels HPLC auf ihren Vitamin A- und E-Gehalt untersucht. Dabei tauchte immer wieder ein „unbekannter“ Peak auf. Dieser stellte sich durch weitere Analysen als Lutein heraus. Da bei unseren HPLC-Analysen jedoch kein Luteinstandard mitgeführt wurde, lassen sich die Peaks im Nachhinein nicht mehr quantifizieren. Die Peakflächen der Messungen im eigenen Labor zeigten allerdings eine gute Korrelation mit den auch im Fremdlabor gemessenen Lutein-Konzentrationen. Somit war eine ungefähre Einschätzung der Plasmakonzentrationen der im eigenen Labor gemessenen Proben möglich.

Die Quantifizierung von Retinylestern ist ein sehr aufwändiges Verfahren. Wegen der geringen Anzahl an minimalen Retinyl-Palmitat-Peaks, die in dieser Studie gefunden wurden, lohnte sich eine Quantifizierung nicht.

Da es für Reptilien kein validiertes Analyseverfahren für den Vitamin D-Gehalt des Plasmas gibt, musste auf Verfahren zurückgegriffen werden, die für andere Tierarten, bzw. den Menschen validiert worden sind.

Es wurde versucht, ein EIA-Test-Kit mit Hilfe von Vorversuchen in Form von Verdünnungsreihen, Spike-Versuchen und Mehrfachmessungen zu validieren. Eine vollständige Validierung war jedoch im Rahmen dieser Dissertation aufgrund der zu geringen Menge an Probenmaterial leider nicht möglich.

CHEN et al. (1990) empfehlen HPLC als die genaueste Methode zur Bestimmung von zirkulierendem 25-OH-D₃. Hierfür werden jedoch relativ große Mengen an Plasma benötigt, die man bei Reptilien nur selten erhalten kann. Zudem ist auch diese Methode nur für den Menschen validiert.

In vielen Studien wird für Reptilien ein kompetitiver Proteinbinde-Assay angewandt (LAING und FRASER 1999, 2001; FERGUSON 2003; EATWELL 2008). EATWELL (2008) ging nach der von LIND et al. (1997) beschriebenen Methode vor. In anderen Arbeiten kam ein Radioimmunoassay zum Einsatz (ACIERTNO 2006, GILLESPIE 2000, BERNARD 1996). BERNARD (1996) arbeitete nach einer Methode von CHEN et al. (1990). ALLEN et al. (1995) analysierten ihre Proben mittels HPLC nach einer von HORST (1981) beschriebenen Methode.

In fast allen Studien wurden die Proben in ein Labor eingesandt und dort analysiert. Daher ist wenig über die Probenaufbereitung bekannt. Diese hat jedoch großen Einfluss auf die Messergebnisse. Auch ist nicht bekannt, ob die jeweiligen Testverfahren für Reptilien validiert wurden.

Die Extraktion des 25-OH-D₃ aus dem Plasma erfolgte bei der von LIND et al. (1997) beschriebenen Methode (EIA) mit Hilfe von Acetonitril. Dieses wird häufig in der HPLC-Analytik genutzt.

Bei zukünftigen Validierungsversuchen sollten die unterschiedlichen Methoden der Extraktion besonders beachtet werden, da die Vitamin D-Bindeproteine der Reptilien sich von denen der Säuger unterscheiden (LICHT 1994).

Der in dieser Studie angewandte Human-Test-Kit (EIA) der Firma Immundiagnostik AG (Bensheim) ist laut Firmenangaben auch für Reptilien anwendbar, da das in den Proben enthaltene Protein im Vorfeld gefällt wird und das 25-OH-D₃-Molekül bei allen Wirbeltieren gleich aufgebaut ist. Das Fällungsreagenz des Test-Kits ist von Immundiagnostik auf die Fällung des Vitamin D-Bindeproteins mittels Western Blot und Coomasie Färbung überprüft worden. Es konnte im Vergleich zu einer unbehandelten Probe kein Vitamin D-Bindeprotein mehr nachgewiesen werden. Somit sind mindestens 99% des Bindeproteins gefällt worden.

Da das Bindeprotein der Reptilien zwar strukturell dem DBP des Menschen gleicht, aber ein duales Bindeprotein für Thyroxin und Vitamin D ist (LICHT 1994), besteht die Möglichkeit, dass nicht

alles Bindeprotein gefällt wurde. Dies wurde mit Hilfe der Biuret-Methode überprüft.

Im gefällten Überstand fanden sich jedoch nur minimale Spuren von Protein.

Es besteht ebenfalls die Möglichkeit, dass das Vitamin D der Reptilien bei dieser Fällung am Bindeprotein hängen bleibt und folglich mit ausfällt. Das könnte die niedrigen Werte der Schildkröten erklären. Dem widersprechen jedoch die hohen gemessenen Werte der Farmzuchten.

Der in dieser Studie angewandte EIA-Test-Kit besitzt eine Kreuzreaktivität von 100% (bezogen auf die 25-OH-D-Reaktivität) zu 24,25-(OH)₂-D₃ und 25-OH-D₂. Da über den Vitamin D-Metabolismus der Reptilien noch wenig bekannt ist, könnten diese Metaboliten den Test stören. Dann wären jedoch höhere Werte zu erwarten.

So kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob tatsächlich das 25-Hydroxyvitamin D₃ gemessen wurde. Daher wird in dieser Arbeit nur von einer 25-OH-D₃-äIR gesprochen. Zudem wurden die ermittelten Werte in Bereiche eingeteilt, da sie durch die unzureichende Validierung nicht als absolute Zahlen angesehen werden können.

Die Ergebnisse der HPLC-Messungen der Firma Immundiagnostik AG (Bensheim) sind aufgrund einer zum Teil starken Gelbfärbung des Plasmas und Problemen mit der Pumpe während des Laufs nicht als absolute Werte, sondern eher als Schätzwerte anzusehen. Zudem ist auch dieses Verfahren nicht zur Messung der 25-OH-D₃-Konzentrationen im Plasma von Reptilien validiert.

Die Proben wurden nur in Bensheim und nicht im eigenen Labor gemessen. Daher ist kein direkter Vergleich zwischen den Ergebnissen der HPLC-Messung und denen der EIA-Analysen möglich. Grundsätzlich stimmt die Größenordnung der Werte der 25-OH-D₃-Plasma-Konzentrationen jedoch überein. In den Plasmaproben der Wasserschildkröte und des Grünen Leguans, die an die Firma Immundiagnostik gesandt wurden, konnten mittels HPLC-Analyse hohe Gehalte an 25-OH-D₂ festgestellt werden. Dies könnte darauf hinweisen, dass Reptilien (zumindest Echsen und Wasserschildkröten) Vitamin D₂ bevorzugt absorbieren. HORST et al. (1982) zeigten in ihrer Studie, dass Schweine, Ratten und Hühner zwischen Ergocalciferol (D₂) und Cholecalciferol (D₃) unterscheiden. Hühner metabolisierten bevorzugt Vitamin D₃. Reptilien könnten Vitamin D₂ bevorzugen. Es fehlen jedoch Versuche zur Bioverfügbarkeit von Vitamin D₂ bei Reptilien.

Eine Gelbfärbung des Plasmas könnte die kolorimetrische Auswertung des EIA-Tests stören. Das hieße allerdings, dass Plasmaproben mit einer starken Gelbfärbung eine niedrige 25-OH-D₃-Konzentration aufweisen müssten, da die Farbentwicklung zur nachgewiesenen Analytmenge umgekehrt proportional ist. Dies ist jedoch bei den Analysen dieser Studie nicht der Fall. Das häufig stark gelb verfärbte Echsenplasma wies durchgehend hohe Werte auf.

Eine vollständige Validierung einer Testmethode zur Bestimmung der Konzentration des 25-Hydroxyvitamins D₃ im Plasma von Reptilien wäre für weiterführende Studien unbedingt notwendig. Da die Klasse der Reptilien jedoch mehr als 8000 Arten beinhaltet, müsste das Testverfahren für die jeweilige Art gesondert validiert werden (zumindest für die am häufigsten gehaltenen Arten). GYIMESI (2003) äußert bei einem Roundtable über UV-Licht bei Reptilien und Amphibien die Vermutung, dass der vom Endocrinology Department der Animal Health Diagnostic Laboratory an der MichiganState University (USA) für den Komodowaran (*Varanus komodoensis*) validierte Test (GYIMESI et al. 2002) nicht bei Schildkröten anwendbar sei, da die Vitamin D-Physiologie bei Schildkröten bisher nur unzureichend erforscht sei.

Nach den Ergebnissen der eigenen Studie ist der EIA-Test-Kit der Firma Immundiagnostik AG (Bensheim) ebenfalls nur bedingt geeignet. Für die weitere Erforschung des Vitamin D-Stoffwechsels von Reptilienarten ist es daher zunächst notwendig, die Analytik zu beleuchten. Eine validierte HPLC-Methode wäre gerade im Hinblick auf die Möglichkeiten der Differenzierung der einzelnen Vitamin D-Metaboliten besser geeignet.

5.2 Besprechung der Ergebnisse

5.2.1 Vitamin A-Gehalt des Plasmas

Bei der Untersuchung des Vitamin A-Gehalts im Plasma der verschiedenen Reptilien ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen karnivoren einerseits, sowie herbi- und omnivoren Tieren andererseits. Die Werte der Karnivoren lagen deutlich unter denen der Herbi- und Omnivoren. Die karnivoren Tiere dieser Studie wurden jedoch fast ausschließlich von Schlangen repräsentiert. Somit kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob andere, rein karnivore Reptilien ebenso niedrige Werte aufweisen. Die zwei in diese Studie einbezogenen karnivoren Echsen (*Physignatus cocincinus*) zeigten ebenfalls einen geringen Vitamin A-Gehalt des Plasmas.

Karnivore Säugetiere und Vögel transportieren unter physiologischen Bedingungen einen hohen Prozentsatz des Gesamt-Vitamin A im Blut in Form von Retinylestern (UEHLEIN-HARRELL 1989, SCHWEIGERT 1990). Eine Ausnahme bilden dabei die Kegelrobben, die trotz ihrer karnivoren Ernährungsweise keine Retinylester im Blut aufwiesen (UEHLEIN-HARRELL 1989). Auch in dieser Studie konnten keine Retinylester im Blut nachgewiesen werden.

Bei dem einzigen in der Studie von UEHLEIN-HARRELL (1989) untersuchtem Reptil, einer Klapperschlange (*Crotalus spp.*), konnten ebenfalls keine Retinylester nachgewiesen werden. Retinylester dienen als Schutz vor Vitamin A-Intoxikationen. Schlangen scheinen diesen Mechanismus nicht zu besitzen und sind daher empfindlicher gegenüber einer Vitamin A-Überversorgung.

Ein Vergleich der in dieser Studie ermittelten Werte mit den in der Literatur zu findenden Werten bestätigt die niedrigen Werte der Schlangen (SCHWEIGERT et al. 1991, CALLE et al. 1994). Auch die Retinolkonzentrationen der Landschildkröten stimmen mit den gemessenen Werten überein (JACOBSON et al. 1991, DICKINSON et al. 2002, DIERENFELD et al. 1999).

Die Plasma-Retinolkonzentrationen der Grünen Leguane (*Iguana iguana*), die von RAILA et al. (2002) erstellt wurden, liegen jedoch signifikant niedriger als die Werte der im Rahmen dieser Studie ermittelten Konzentrationen bei Grünen Leguanen (*Iguana iguana*). Dies kann fütterungsbedingt sein. Eventuelle Unterschiede waren jedoch nicht mehr nachvollziehbar.

In Tabelle 32 sind die Plasma-Retinolwerte verschiedener Spezies zusammengefasst. Bei den mit * gekennzeichneten Spezies ist ein physiologisches Vorkommen von Retinylestern im Plasma bekannt.

Generell liegen die Werte bei allen aufgeführten Arten unter 1 µg/ml.

Diskussion

Tabelle 32: Plasma-Retinolwerte verschiedener Spezies (µg/ml)

Spezies	n	Retinol (µg/ml)	Quelle
Hund (<i>Canis familiaris</i>)*	7	0,654	UEHLEIN-HARRELL (1989)
Pferd (<i>Equus caballus</i>)	23	0,21	BAKER et al. (1986)
Mensch (<i>Homo sapiens</i>)	o.A.	0,98	SCHMIDT et al. (2003)
Schwein (<i>Sus scrofa domesticus</i>)	10	0,174	UEHLEIN-HARRELL (1989)
Ratte (<i>Rattus spp.</i>)	6	0,188	UEHLEIN-HARRELL (1989)
Hauskatze (<i>Felis catus</i>)*	29	0,96	BAKER et al. (1986)
Wachtel (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)	11	0,817	UEHLEIN-HARRELL (1989)
Spaltenschildkröte (<i>Malacochersus tornieri</i>)	17	0,45	RAPHAEL et al. (1994)
Kalifornische Gopherschildkröte (<i>Gopherus (Xerobates) agassizii</i>)	6	0,155	JACOBSON et al. (1991)
Kalifornische Gopherschildkröte (<i>Gopherus agassizii</i>)	91	0,4	DICKINSON et al. (2002)
Wasserschildkröten	193	0,04-0,35	DIERENFELD et al. (1999)
Landschildkröten	345	0,04-0,61	DIERENFELD et al. (1999)
Anaconda (<i>Eunectes murinus</i>)	12	0,03-0,24	CALLE et al. (1994)
Klapperschlange (<i>Crotalus spp.</i>)	1	0,023	SCHWEIGERT et al. (1991)
Lederschildkröte (<i>Dermochelys coriacea</i>)	12	0,5	DEEM et al. (2006)
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	5	0,052	RAILA et al. (2002)
Aldabra-Riesenschildkröte (<i>Geochelone gigantea</i>)	14	0,008-0,179	GHEBREMESKEL et al. (1991)
Komodowaran (<i>Varanus komodoensis</i>)	43	0,286-2,435	GILLESPIE et al. (2000)

*Erläuterungen: * physiologisch hohe Retinylester-Anteile an Vitamin A-Plasmakonzentration*

Um vorläufige Referenzwerte für die Plasma-Retinolkonzentrationen von Reptilien zu erhalten, wurde das 95%-Perzentil getrennt für die jeweilige Reptiliengruppe errechnet (Tabelle 33). Auch hier wurden die merklich geringeren Werte der Schlangen deutlich.

Tabelle 33: Vorläufige Referenzwerte des Plasma-Retinolgehalts (µg/ml) getrennt nach den einzelnen Reptiliengruppen

Spezies	n	Retinol (µg/ml)
Wasserschildkröten	41	0,030-0,364
Landschildkröten	58	0,034-0,415
Schlangen	33	0,012-0,049
Echsen	30	0,049-0,372

5.2.2 Lutein-Gehalt des Plasmas

Die Ergebnisse der Analyse der Lutein-Konzentrationen im Plasma der Reptilien bestätigt die Einschätzung von GOODWIN (1984) und RAILA et al. (2002), dass Grüne Leguane (*Iguana iguana*) selektive Akkumulatoren von Xanthophyllen (vor allem Lutein) sind. Die Werte dieser Studie weisen darauf hin, dass alle Echsen und Schildkröten zu diesen selektiven Akkumulatoren gehören. Auch COSTANTINI et al. (2005) fanden beim Galapagos-Landleguan (*Conolophus subcritatus*) hohe Lutein-Konzentrationen im Plasma (siehe Tabelle 34).

Bei den 33 Schlangen, die in dieser Studie untersucht wurden, fand sich bei nur einer eine sehr geringe Plasma-Luteinkonzentration. Da die Nahrung der Schlangen nur wenig bis gar kein Lutein enthält, lässt sich keine Aussage darüber machen, ob sie es nicht doch akkumulieren würden, wenn es in ihrer Nahrung enthalten wäre.

Tabelle 34: Plasma-Luteinkonzentrationen (µg/ml) verschiedener Tierarten

Art	n	Lutein (µg/ml)	Quelle
Meerschweinchen (<i>Cavia porcellus</i>)	3	0,018	SCHÄFFER et al. (2008)
Javaneraffe (<i>Macaca fascicularis</i>)	8	0,13	SNODDERLY et al. (1990)
Legehenne	o.A.	19,8	HAQ et al. (1995)
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	2	2,3	Ergebnisse dieser Studie
Bartagame (<i>Pogona vitticeps</i>)	7	3,9	Ergebnisse dieser Studie
Galapagos-Landleguan (<i>Conolophus subcritatus</i>)	179	7,15	COSTANTINI et al. (2005)

Aus diesen Ergebnissen lassen sich Rückschlüsse auf die Fütterung dieser Spezies ziehen. Eventuell sollte man erwägen, diesen Tieren Lutein, anstatt β -Carotin über das Futter zuzuführen, da dieses besser aufgenommen werden kann.

Wie auch die Studie von RAILA et al. (2002) zeigt, hat eine Substitution von β -Carotin bei Grünen Leguanen (*Iguana iguana*) keinerlei Effekt auf die Retinol- und β -Carotin-Plasmakonzentrationen. Wohingegen die Substitution von polaren Xanthophyllen die Luteinwerte im Plasma ansteigen ließen. Als besonders effektiv erwies sich Canthaxanthin.

5.2.3 25-OH-D₃-äIR im Plasma

Da das Human-Test-Kit zur Bestimmung von 25-OH-D₃ noch nicht ausreichend für die untersuchten Spezies validiert werden konnte (siehe Material und Methoden), sollten die Ergebnisse dieser Studie mit Vorsicht interpretiert werden.

Die Plasmakonzentrationen von 25-OH-D₃ variieren sehr stark von Spezies zu Spezies. In Tabelle 35 sind die Werte einiger Spezies zusammengefasst.

Sie erstrecken sich von 3,7 nmol/l (Humboldt Pinguin, *Spheniscus humboldti*) bis 1508 nmol/l beim Pantherchamäleon (*Furcifer pardalis*).

Die Werte der Echsen, wie die der Grünen Leguane (*Iguana iguana*), der Bartagamen (*Pogona barbata*) oder des Komodowarans (*Varanus komodoensis*) zeigen gute Übereinstimmung mit den Werten der in dieser Studie untersuchten Echsen. Sie liegen meist in einem Bereich von ungefähr 100-300 nmol/l.

Die in Tabelle 35 aufgeführten Werte der Land- und Wasserschildkröten liegen unterhalb von 100 nmol/l. Dies stimmt mit den Ergebnissen dieser Studie weitgehend überein.

Tabelle 35: Plasmakonzentrationen 25-OH-D₃ (nmol/l) verschiedener Spezies

Spezies	n	25-OH-D ₃ (nmol/l)	Quelle
Hund (<i>Canis familiaris</i>)	o.A.	85-285	RUMBEIHA (2007)
Pferd (<i>Equus caballus</i>)	35	11-16	MÄENPÄÄ et al. (1988)
Kiefernittich (<i>Rhynchositta pachyrhyncha</i>)	45	19,04	HOWARD et al. (2004)
Humboldt Pinguin (<i>Spheniscus humboldti</i>)	33	3,7	ADKESSON et al. (2007)
Mensch (<i>Homo sapiens</i>)	o.A.	135-225	HADDAD (1971), HADDOCK (1982), MATSUOKA (1989)
Fidschi-Leguan (<i>Brachylophus spp.</i>)	o.A.	78	LAING et al. (2001)
Nashornleguan (<i>Cyclura cornuta corn.</i>)	7	332	RAMER et al. (2005)
Rotwangen-Schmuckschildkröte (<i>Trachemys scripta elegans</i>)	6	71,7	ACIERNO et al. (2006)
Landschildkröten (<i>Testudo spp.</i>)	56	28,41	EATWELL (2008)
Bartagame (<i>Pogona barbata</i>)	26	105	LAING et al. (1999)
Kornnatter (<i>Elaphe guttata</i>)	6	196	ACIERNO et al. (2008)
Komodowaran (<i>Varanus komodoensis</i>)	54	4-324	GILLESPIE et al. (2000)

Diskussion

Fortsetzung Tabelle 35:

Madagaskar-Taggecko (<i>Phelsuma madagascariensis</i>)	3	40	ALLEN et al. (1995)
Leopard-Gecko (<i>Eublepharis macularius</i>)	4	25,3	ALLEN et al. (1995)
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	24	353-1280	ALLEN et al. (1995)
Chuckwalla (<i>Sauromalus obesus</i>)	9	211	AUCONE et al. (2003)
Pantherchamäleon (<i>Furcifer pardalis</i>)	26	225-1508	FERGUSON et al. (2003)

Auffallend waren die minimalen Werte der Landschildkröten, insbesondere der Köhlerschildkröten (*Geochelone carbonaria*) des Großhändlers. Diese wiesen trotz Vitamin D₃-reicher Fütterung (Vitamin D₃ supplementiertes Nassfutter und NEKTON-MSA® mit Vitamin D₃) nur Werte unterhalb der Messgrenze auf. Das könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Tiere das in der Nahrung enthaltene Vitamin D₃ nicht aufnehmen konnten. ALLEN et al. (1998) zeigten in ihrer Studie, dass Grüne Leguane (*Iguana iguana*) ebenso Vitamin D₂ als auch Vitamin D₃ absorbieren können. Studien an Hühnern demonstrierten, dass diese zwischen oral aufgenommenem Ergocalciferol und Cholecalciferol unterschieden. Sie nahmen bevorzugt das Vitamin D₃ auf (HORST et al. 1982). Alternativ ist zu bedenken, dass das Vitamin D₃ der Schildkröten mit dem verwendeten EIA-Test möglicherweise nicht messbar war. Da die Proben im Oktober genommen wurden, ist es denkbar, dass die Schildkröten trotz UV-durchlässigem Dach nicht genügend Vitamin D über die Haut bilden konnten. Denn die dermale Produktion von Vitamin D hängt von der Intensität der UV-Strahlung ab. Diese variiert stark je nach Breitengrad, Jahres- und Tageszeit. Besonders bei nur geringer UV-Strahlung, wie im Winter in unseren Breitengraden, konkurriert das Melanin bei der Absorption von UV-Photonen mit dem 7-Dehydrocholesterol (HOLICK 1989, 1995). Die aus dem tropischen Südamerika stammende, dunkel pigmentierte Köhlerschildkröte (*Geochelone carbonaria*) ist evolutionär an die starke UV-Strahlung ihrer Heimat angepasst. Im Oktober könnte die UV-Strahlung in Deutschland für sie keine ausreichende Intensität zur Vitamin D-Synthese aufweisen. HARRIS und DAWSON-HUGHES (1998) fanden in ihrer Studie heraus, dass die zirkulierenden Konzentrationen von 25-Hydroxyvitamin D₃ bei dunkelhäutigen Frauen aus Boston sowohl im Winter als auch im Sommer signifikant niedriger waren als die von weißen Frauen.

Sowohl BERNARD (1995), als auch EATWELL (2008) beobachteten bei Landschildkröten (*Gopherus agassitii* und *Geochelone sulcata*, bzw. *Testudo spp.*) extrem niedrige Vitamin D-Werte. EATWELL (2008) hielt die Tiere seiner Studie in Südengland, er setzte sie ungefiltertem Sonnenlicht aus. Die UV-Strahlung dieser Breitengrade könnte für Reptilien, die aus südlicheren Breitengraden stammen (wie *Testudo spp.*) nicht ausreichend sein. Darauf weisen auch empirische Erfahrungen von deutschen Züchtern hin, deren Jungschildkröten trotz direkter Sonneneinstrahlung weiche Panzer aufweisen.

Auch die in der südöstlichen USA bis Nordostmexiko vorkommende Rotwangen-Schmuckschildkröte (*Trachemys scripta elegans*) profitiert von einer UVB-Bestrahlung. Dies zeigte ACIERNO (2006) in einer Studie. Über einen Zeitraum von vier Wochen hielt er die Wasserschildkröten in zwei Gruppen: eine mit UVB-Bestrahlung und eine ohne. Die Gruppe ohne UVB-Bestrahlung wies signifikant niedrigere Werte an 25-Hydroxyvitamin D₃ (31,4 nmol/l) auf als die Gruppe mit UVB-Licht (71,7 nmol/l).

GILLESPIE (2000) untersuchte in seiner Studie 77 Komodowarane (*Varanus komodoensis*). 44 davon lebten in Zoos und 33 in freier Wildbahn in Indonesien. Er beobachtete signifikante Unterschiede in der Plasmakonzentration von 25-Hydroxyvitamin D₃ zwischen Waranen, die ohne UVB-Licht gehalten wurden und Waranen, die UVB-Licht ausgesetzt waren. So stiegen zwei Proben von 4 und 32 nmol/l (ohne UV-Licht) innerhalb eines Monats unter Sonnenlichtexposition auf 252 und 271 nmol/l.

Die Vergleichbarkeit zwischen UVB-Exposition im Winter und UVB-Exposition im Sommer ist bei den Tieren dieser Studie nur bei den Bartagamen (*Pogona vitticeps*) des einen Großhändlers gegeben. Diese Tiere waren zu den Blutabnahmezeitpunkten im August und im Oktober unter einem UV-durchlässigem Dach untergebracht. Die restlichen Tiere dieser Studie waren entweder das ganze Jahr über in Terrarien, mit oder ohne künstlichem UVB-Licht, einquartiert, oder aber sie verbrachten den Sommer im Freiland und den Winter in Terrarien, gegebenenfalls mit UVB-Lampe. Zudem wurden fast alle Tiere im Laufe dieser Studie nur einmal beprobt. Somit war kein direkter Vergleich zwischen Sommer und Winter möglich.

Erstaunlicherweise zeigten die Bartagamen (*Pogona vitticeps*) im Oktober einen signifikant höheren Mittelwert (82 nmol/l 25-OH-D₃-äIR) als im August (17 nmol/l 25-OH-D₃-äIR). Es handelte sich nicht um die selben Tiere. Fütterung und Haltungsbedingungen waren jedoch identisch. Zu bedenken ist, dass die zu diesem Zeitpunkt herrschenden Wetterverhältnisse mit einbezogen werden müssen. Waren die Wochen vor der Blutentnahme sehr regnerisch, konnten die Tiere vermutlich nicht genügend Vitamin D über die Haut bilden. In diesem Falle gab es, laut den Aufzeichnungen von wetteronline.de, in den vier Wochen vor der jeweiligen Blutabnahme 28, bzw. 25 Regentage in Freiburg. Dadurch lassen sich die gemessenen Werte folglich nicht erklären.

Für eine statistische Auswertung der verschiedenen UVB-Lampen im Hinblick auf die Vitamin D-Bildung war die Anzahl der Tiere, bzw. der jeweiligen Lampen zu klein.

Unterschiede in der 25-OH-D₃-Plasmakonzentration in Abhängigkeit des Geschlechts konnten in dieser Studie nicht festgestellt werden. Andere Studien (NEVAREZ et al. 2002) zeigten geringfügig höhere 25-Hydroxycholecalciferol-Konzentrationen bei graviden weiblichen Grünen Leguanen (*Iguana iguana*). Zudem gibt es Studien darüber, dass gravide Reptilien für längere Zeiträume sonnenbaden als nichtgravide (HERNANDEZ-DIVERS 2001, FERGUSON et al. 2003). Dies erhöht nicht nur die Körpertemperatur und damit den Stoffwechsel, sondern es erhöht auch die Produktion von Vitamin D in der Haut. Es wird vermutet, dass so der erhöhte Bedarf an Kalzium und Vitamin D₃ während der Follikulogenese gedeckt wird (FERGUSON et al. 2002, 2003).

Studien zeigen einen erheblichen Speziesunterschied bei der Rolle von über die Nahrung zugeführtem und endogen gebildetem Vitamin D. Spezies, die natürlicherweise viel Vitamin D mit der Nahrung aufnehmen, wie beispielsweise Hund oder Katze, scheinen unfähig zur Produktion von Vitamin D mittels UVB-Strahlung zu sein (HOW et al. 1994, KENNY 1998). Im Gegensatz dazu scheinen tagaktive, sonnenbadende insektenfressende oder herbivore Reptilien, wie der Grüne Leguan (*Iguana iguana*) oder das Pantherchamäleon (*Furcifer pardalis*), die natürlicherweise wenig Vitamin D mit der Nahrung aufnehmen, in der Lage zu sein, ausreichend Vitamin D über die Haut zu bilden. Auch gibt es Hinweise darauf, dass nachtaktive Reptilien, im Gegensatz zu tagaktiven, einen weitaus effektiveren Mechanismus zur Vitamin D-Photobiosynthese zu haben scheinen (FERGUSON et al. 1996, ALLEN et al. 1995, 1998). Zudem scheinen nachtaktive Reptilien wie der Leopard-Gecko (*Eublepharis macularius*) einen relativ niedrigen Bedarf an Vitamin D (ALLEN 1995) zu haben.

5.2.4 Vitamin E-Gehalt des Plasmas

Die Werte dieser Studie lagen zwischen 0,1 µg/ml und 24,3 µg/ml.

In der Literatur findet man für die verschiedenen Spezies ebenfalls weit gestreute Werte von <0,5-30 µg/ml (BEHRENS et al. 1991). Einige Beispiele sind in Tabelle 36 zusammengefasst.

Der Vergleich zwischen naturnah gehaltenen Landschildkröten und Schildkröten, die überwiegend in Terrarien gehalten wurden, zeigte die signifikant höheren Werte der Farmzuchten (2,8 µg/ml, bzw. 4,5 µg/ml).

Auch DIERENFELD (1994) und DIERENFELD et al. (1988) fanden bei Wildtieren, im Vergleich zu in Gefangenschaft lebenden Tieren, höhere Plasmakonzentrationen an α -Tocopherol.

DIERENFELD et al. (1988) vermuteten, dass der Vitamin E-Bedarf vieler herbivorer Zootiere durch die typischen in Zoos verfütterten Rationen nicht gedeckt wird. Bei der vergleichenden Analyse des von in Zoos verfüttertem Grünfutter und den von Wildtieren gefressenen Pflanzen zeigte sich ein signifikant niedrigerer Vitamin E-Gehalt der Zoo-Rationen (DIERENFELD 1989, 1994). Auch war der Fettgehalt der natürlichen Nahrung höher. Es wäre möglich, dass die höheren Fettgehalte die Galle-Produktion anregen und somit die Fettabsorption erhöht wird (DIERENFELD et al. 1989, GHEBREMESKEL et al. 1991). Dies könnte die höheren Vitamin E-Plasmakonzentrationen der Wildtiere erklären.

In der natürlichen Nahrung vieler herbivorer Wildtiere findet man nicht nur α -Tocopherol als Antioxidans. Auch sekundäre pflanzliche Inhaltsstoffe wie Polyphenole (Flavonoide und Tannine) kommen in teilweise hohen Konzentrationen vor (HÄSSIG et al. 1999). Da auch sie antioxidativ wirken, könnten andere Antioxidantien, wie beispielsweise Vitamin E, „eingespart“ werden (FACINO et al. 1998).

Die über das ganze Jahr gleich bleibende Fütterung und Haltung der in Terrarien lebenden Reptilien spiegelt gewiss nicht die Bedingungen der wildlebenden Tiere wieder. Somit sollte ein Vergleich der Werte mit freilebenden Tieren vorsichtig interpretiert werden, bis die Zusammenhänge zwischen Geschlecht, Alter und saisonalen Bedingungen besser aufgeklärt sind (DIERENFELD 1989).

Diskussion

Tabelle 36: α-Tocopherol-Plasmakonzentrationen (µg/ml) verschiedener Spezies

Spezies	n	α-Tocopherol (µg/ml)	Quelle
Pferd (<i>Equus caballus</i>)	14	1,3	SCHWEIGERT et al. (1991)
Hauskatze (<i>Felis catus</i>)	29	5	BAKER et al. (1986)
Hausschwein (<i>Sus scrofa domesticus</i>)	10	1,51	SCHWEIGERT et al.(1991)
Ratte (<i>Rattus rattus</i>)	6	6,17	SCHWEIGERT et al.(1991)
Weißstorch (<i>Ciconia ciconia</i>)	1	2,98	SCHWEIGERT et al.(1991)
Kalifornische Gopherschildkröte (<i>Gopherus (Xerobates) agassizii</i>)	6	3,1	JACOBSON et al. (1991)
Kaliforn. Gopherschildkröte ♂ (<i>Gopherus agassizii</i>)	90	4,3	DICKINSON et al. (2002)
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	5	3,48	RAILA et al. (2002)
Grüner Leguan (<i>Iguana iguana</i>)	o.A.	12-17	PAPPAS et al. (1991)
Spaltenschildkröte (<i>Malacochersus tornieri</i>)	8	0,32	RAPHAEL et al. (1994)
Klapperschlange (<i>Crotalus spp.</i>)	1	8,44	SCHWEIGERT et al.(1991)
Anaconda (<i>Eunectes murinus</i>)	12	5,9-23,7	CALLE et al. (1994)
Aldabra-Riesenschildkröte (<i>Geochelone gigantea</i>)	14	0,015-1,32	GHEBREMESKEL et al. (1991)
Komodowaran (<i>Varanus komodoensis</i>)	53	0,08-0,92	GILLESPIE et al. (2000)

Diskussion

Zur Erstellung der vorläufigen Referenzbereiche wurde in allen Reptiliengruppen getrennt nach Ausreißern gesucht. Nur bei den Schlangen wurde ein Ausreißer nach oben gefunden. Anschließend wurde das 95%-Perzentil errechnet.

In Tabelle 37 sind die vorläufigen Referenzbereiche der einzelnen Reptiliengruppen zusammengefasst.

Tabelle 37: Vorläufige Referenzwerte der Plasmakonzentrationen von α -Tocopherol ($\mu\text{g}/\text{ml}$) getrennt nach Reptiliengruppen

Reptiliengruppe	95%-Perzentil
Wasserschildkröten	3,0 - 20,9
Landschildkröten	0,3 - 6,8
Schlangen	0,2 - 14,6
Echsen	1,6 - 16,1

5.2.5 Standardisierte Fütterung über zehn Tage

Bei der Interpretation der Ergebnisse dieses Versuches ist zu bedenken, dass der Versuchszeitraum zu kurz angesetzt war (zehn Tage). Zudem waren die Unterschiede der Vitaminkonzentrationen der verwendeten Futtermittel zu gering (siehe Tabelle 12 Seite 40). Daher waren keine signifikanten Unterschiede der Vitamin-Plasmakonzentrationen zu erwarten.

GALLO-TORRES (1980) stellte fest, dass die Plasma-Vitamin E-Konzentrationen eng mit denen mit der Nahrung zugeführten Konzentrationen korrelieren. Jedoch spielt die Dauer der Fütterung einer entsprechenden Diät eine entscheidende Rolle. Bei einigen Spezies, wie beispielsweise dem Asiatischen Elefanten (*Elephas maximus*) musste die Diät über einen Zeitraum von bis zu einem Jahr verfüttert werden. Erst dann wurde ein korrespondierender Anstieg der Plasma- α -Tocopherolkonzentrationen beobachtet (DIERENFELD und DOLENSEK 1988). Andere Arten wie der Wanderfalke (*Falco peregrinus*) zeigten schon nach wenigen Monaten signifikante Anstiege (DIERENFELD et al. 1989). Hatten die Tiere zuvor einen Vitamin E-Mangel, müssen wahrscheinlich erst die Ziel- und Speichergewebe (Muskulatur und Fett) aufgefüllt werden. Erst dann steigen auch die Blutwerte an.

Die Metabolisierungsraten der Reptilien liegen generell 25-35% unter denen von warmblütigen Säugetieren (DONOGHUE 2006). Werden Reptilien zudem noch unterhalb ihrer Körpervorzugs temperatur („Preferred Optimum Temperature Zone“, POTZ) gehalten, verlangsamt sich ihr Stoffwechsel und damit auch der Vitamin-Metabolismus. Häufig sind Verdauungsstörungen zu beobachten, da die körpereigenen Enzyme die Nahrung nicht mehr aufschließen können (KÖLLE 2002).

6 Zusammenfassung / Summary

Im Rahmen dieser Dissertation wurden Plasmakonzentrationen von Vitamin A (Retinol, Retinylester), Vitamin D (25-OH-D₃, bzw. 25-OH-D₃-ähnlichen-Immunoreaktivität „25-OH-D₃-äIR“) und Vitamin E (α-Tocopherol), sowie Lutein und β-Carotin bei Schlangen, Echsen und Schildkröten bestimmt. Die Untersuchungen umfassten Anamnese der Haltung und Fütterung der Tiere und eine klinische Untersuchung.

Für die Untersuchung konnten in einem Zeitraum von circa 20 Monaten Blutproben von insgesamt 162 Reptilien, davon 33 Echsen, 30 Schlangen, 58 Land- und 41 Wasserschildkröten aus unterschiedlichster Haltung und Fütterung genommen werden.

Diese Studie soll einen Beitrag zur Erarbeitung von Referenzwerten bei Reptilien leisten. Die vorläufigen Referenzwerte sind als 95%-Perzentil angegeben.

Die Werte wurden auf Abhängigkeiten bezüglich Reptiliengruppe, Ernährungsweise, Geschlecht und UVB-Bestrahlung überprüft.

Dabei ergaben sich für die Vitamine A (Retinol) und E (α-Tocopherol) die der Tabelle 38 zu entnehmenden vorläufigen Referenzwerte. Hier fallen die signifikant niedrigeren Werte des Vitamin A bei den Karnivoren auf.

Retinylester und β-Carotin konnten in keinem nennenswerten Umfang bei den untersuchten Tieren nachgewiesen werden. Der Plasma-Luteingehalt erstreckte sich bei den Echsen von 2,0 µg/ml bis 5,6 µg/ml. Die Wasserschildkröten wiesen im Mittel Werte 1,5 µg/ml auf. Landschildkröten lagen im Mittel bei 0,7 µg/ml. Bei den Schlangen zeigten sich bei nur einem Tier geringe Mengen im Plasma (0,009 µg/ml).

Es war ein eindeutiger Zusammenhang zwischen UVB-Exposition und Höhe der 25-OH-D₃-äIR im Blut zu erkennen. So wiesen 58% der Tiere mit UVB-Licht Werte über 100 nmol/l auf. Während 86% der Tiere ohne UVB-Licht Werte unter 100 nmol/l aufwiesen. Dieser Zusammenhang zeigte sich auch deutlich innerhalb der einzelnen Reptiliengruppen. Auffallend waren jedoch die markant niedrigen Werte vor allem der Landschildkröten (80% wiesen Werte unterhalb von 25 nmol/l auf). Hier erlangte nur eine Gruppe von naturnah gehaltenen Farmzuchten Werte über 100 nmol/l.

Beim Vergleich zwischen naturnah gehaltenen Farmzuchten und Schildkröten, die überwiegend in Terrarien gehalten wurden, ergaben sich beim Vitamin E signifikant höhere Werte für die Farmzuchten (2,8 µg/ml, bzw. 4,5 µg/ml).

Tabelle 38: Vorläufige Referenzwerte für Vitamin A und E (Plasmagehalt), getrennt nach Reptiliengruppen

Reptiliengruppe	Vitamin A (µg/ml)	Vitamin E (µg/ml)
Wasserschildkröten	0,030-0,364	3,0-20,9
Landschildkröten	0,034-0,415	0,3-6,8
Schlangen	0,012-0,049	0,2-14,6
Echsen	0,049-0,372	1,6-16,1

Summary

Investigations on the determination of vitamin A, D₃ and E in reptilian plasma

The present study is concerned with the determination of plasma concentrations of vitamin A (retinol, retinyl esters), vitamin D (25-OH-D₃, 25-OH-D₃-like immunoreactivity "25-OH-D₃-lIR") and vitamin E (α -tocopherol), as well as lutein and β -carotene. Samples were obtained from snakes, lizards, turtles and tortoises.

162 reptiles, including 33 lizards, 30 snakes, 58 tortoise and 41 turtles, were examined over a period of about 20 months. The animals lived under different conditions and were fed various diets. Due to the lack of substantiated research data in this field, the aim of this study is the evaluation of reference ranges for vitamin A, D and E. Preliminary reference levels were defined as 95% percentile.

The levels of vitamin A, D and E were examined for differences with respect to species, diet, sex and exposure to UVB-light. The concentrations of vitamin A (retinol) and vitamin E (α -tocopherol) are shown in Table 39. The significantly lower levels of retinol in carnivorous reptiles is remarkable.

Lutein plasma concentrations of lizards varied between 2.0 μ g/ml and 5.6 μ g/ml. Turtles showed mean levels of 1.5 μ g/ml and tortoises showed mean levels of 0.7 μ g/ml. Snakes seemed to have no lutein at all (only one individual had 0.009 μ g/ml).

A correlation between UVB-exposure and 25-OH-D₃-lIR levels was observed. Levels of 25-OH-D₃-lIR were significantly higher in animals exposed to UVB-light. 58% of the plasma samples from animals exposed to UVB-light had 25-OH-D₃-lIR levels above 100 nmol/l, whereas 86% of the plasma samples from animals not exposed to UVB-light had 25-OH-D₃-lIR levels under 100 nmol/l. This correlation was also present in each of the groups of reptiles (i.e. turtles, tortoises, snakes and lizards). Remarkably, significantly lower levels of 25-OH-D₃-lIR were found in tortoises (80% showed levels below 25 nmol/l). Only a group of free-ranging tortoises showed levels higher than 100 nmol/l.

The α -tocopherol concentrations were significantly higher in free-ranging animals than in animals kept in captivity (2.8 μ g/ml, respectively 4.5 μ g/ml).

Retinyl esters and β -carotene were not detected in a significant scale in any of the plasma samples.

Table 39: Preliminary reference plasma levels of vitamin A and E, by groups:

Reptile Group	Vitamin A (μg/ml)	Vitamin E (μg/ml)
Turtles	0.030-0.364	3.0-20.9
Tortoises	0.034-0.415	0.3-6.8
Snakes	0.012-0.049	0.2-14.6
Lizards	0.049-0.372	1.6-16.1

7 Einzelergebnisse der Analysen

Tierart	Nr.	Retinol µg/ml	25-OH-D₃äIR nmol/l	Vitamin E µg/ml
<i>Iguana iguana</i>	1	0,295	201,6	9,5
<i>Iguana iguana</i>	2	0,314	210,6	9,7
<i>Iguana iguana</i>	3	0,302	174,7	7,2
<i>Iguana iguana</i>	4	0,217	182,2	8,2
<i>Testudo hermanni</i>	5	0,196	22,3	4,2
<i>Testudo hermanni</i>	6	0,183	60,3	2,4
<i>Boa constr:constrictor</i>	7	0,037	214,1	3,0
<i>Morelia spilota</i>	8	0,040	179,9	2,5
<i>Epicrates cenchria</i>	9	0,035	129,0	0,2
<i>Staurotypus triporcatus</i>	10	0,030	0,01	5,7
<i>Iguana iguana</i>	11	0,254	250	4,9
<i>Iguana iguana</i>	12	0,183	213,1	6,1
<i>Iguana iguana</i>	13	0,380	250,0	6,1
<i>Testudo hermanni</i>	14	0,120	38,6	1,9
<i>Macrochelys temmincki</i>	15	0,262	0,01	3,4
<i>Macrochelys temmincki</i>	16	0,237	0,01	15,2
<i>Trachemys scripta troostii</i>	17	0,154	4,7	2,7
<i>Trachemys scripta troostii</i>	18	0,179	0,01	5,0
<i>Trachemys scripta troostii</i>	19	0,042	0,01	3,3
<i>Graptemys kohnii</i>	20	0,109	2,1	5,1
<i>Trachemys scripta troostii</i>	21	0,157	0,01	3,6
<i>Trachemys scripta troostii</i>	22	0,193	0,01	7,3
<i>Trachemys scripta troostii</i>	23	0,130	0,01	17,1
<i>Graptemys kohnii</i>	24	0,106	0,01	5,6
<i>Trachemys scripta elegans</i>	25	0,209	0,01	5,4
<i>Trachemys scripta troostii</i>	26	0,016	0,01	3,3
<i>Testudo hermanni</i>	27	0,264	8,1	4,3
<i>Testudo hermanni</i>	28	0,277	0,01	4,1
<i>Testudo hermanni</i>	29	0,165	0,01	4,3
<i>Testudo hermanni</i>	30	0,219	0,01	3,5
<i>Testudo hermanni</i>	31	0,354	0,01	2,9

Einzelergebnisse der Analysen

Tierart	Nr.	Retinol µg/ml	25-OH-D₃äIR nmol/l	Vitamin E µg/ml
<i>Testudo hermanni</i>	32	0,174	0,01	3,0
<i>Testudo hermanni</i>	33	0,175	0,01	1,7
<i>Testudo hermanni</i>	34	0,110	0,01	2,2
<i>Testudo hermanni</i>	35	0,213	0,01	3,0
<i>Testudo hermanni</i>	36	0,146	0,01	1,4
<i>Testudo hermanni</i>	37	0,239	0,01	1,6
<i>Testudo hermanni</i>	38	0,234	0,01	2,8
<i>Testudo hermanni</i>	39	0,249	0,01	3,1
<i>Testudo hermanni</i>	40	0,185	0,01	5,0
<i>Testudo hermanni</i>	41	0,037	0,01	1,3
<i>Physignatus cocincinus</i>	42	0,039	56,5	0,1
<i>Physignatus cocincinus</i>	43	0,052	133,0	2,0
<i>Trachemys scripta troostii</i>	44	0,071	0,01	12,9
<i>Python regius</i>	45	0,024	14,9	4,4
<i>Python regius</i>	46	0,017	6,4	0,2
<i>Python regius</i>	47	0,023	5,2	0,1
<i>Geochelone carbonaria</i>	48	0,256	0,01	2,2
<i>Geochelone carbonaria</i>	49	0,109	0,01	0,8
<i>Geochelone carbonaria</i>	50	0,111	0,01	0,8
<i>Geochelone carbonaria</i>	50.1	0,031	0,01	0,3
<i>Geochelone carbonaria</i>	51	0,131	0,01	1,7
<i>Geochelone carbonaria</i>	52	0,305	0,01	3,6
<i>Geochelone carbonaria</i>	53	0,183	0,01	1,6
<i>Pogona vitticeps</i>	54	0,133	73,2	8,4
<i>Pogona vitticeps</i>	55	0,230	63,9	15,9
<i>Pogona vitticeps</i>	56	0,247	76,6	6,5
<i>Pogona vitticeps</i>	57	0,204	77,1	5,1
<i>Pogona vitticeps (Pool, m)</i>	58	0,216	79,4	17,0
<i>Pogona vitticeps (Pool, w)</i>	59	0,157	93,7	11,7
<i>Pogona vitticeps (Pool, m)</i>	60	0,186	125,8	14,1
<i>Pogona vitticeps (Pool, w)</i>	61	0,161	65,8	9,8
<i>Geochelone carbonaria</i>	62	0,286	0,01	1,5
<i>Geochelone carbonaria</i>	63	0,195	0,01	1,2

Einzelergebnisse der Analysen

Tierart	Nr.	Retinol µg/ml	25-OH-D₃äIR nmol/l	Vitamin E µg/ml
<i>Geochelone carbonaria</i>	64	0,530	0,01	0,8
<i>Geochelone carbonaria</i>	65	0,267	0,01	1,6
<i>Geochelone carbonaria</i>	66	0,225	0,01	1,4
<i>Geochelone carbonaria</i>	67	0,202	0,01	2,0
<i>Pogona vitticeps</i>	68	0,226	74,3	10,6
<i>Pogona vitticeps</i>	69	0,168	88,7	4,4
<i>Pogona vitticeps</i>	70	0,127	65,5	6,0
<i>Trachemys s. el. (Pool,2)</i>	71	0,364	0,01	14,2
<i>Boa constrictor</i>	72	0,040	12,7	6,0
<i>Boa constrictor</i>	73	0,053	0,01	3,4
<i>Boa constrictor</i>	74	0,038	0,01	5,5
<i>Morelia spilota</i>	75	0,047	28,0	15,4
<i>Boa constrictor c.</i>	76	0,021	244,2	1,2
<i>Boa constr. imperator</i>	77	0,017	250	1,0
<i>Iguana iguana</i>	78	0,181	250	7,2
<i>Iguana iguana</i>	79	0,122	775,8	5,3
<i>Iguana iguana</i>	80	0,193	581,6	7,4
<i>Chelydra serpentina</i>	81.1	0,161	179,9	6,3
<i>Chelydra serpentina</i>	82	0,397	22,2	13,8
<i>T.s.elegans</i>	83	-	0,01	-
<i>T.s.elegans</i>	84	0,223	6,2	7,5
<i>T.s.troostii</i>	85	0,127	2,8	9,5
<i>Pseudemys nelsoni</i>	86.1	0,245	176,6	10,3
<i>Pseudemys nelsoni</i>	86.2	0,278	123,4	10,8
<i>Pseudemys nelsoni</i>	87.1	0,145	144,4	8,6
<i>Pseudemys nelsoni</i>	87.2	0,125	136,1	7,1
<i>Pseudemys peninsularis</i>	88.1	0,048	107,4	20,3
<i>Pseudemys peninsularis</i>	88.2	0,047	112,4	20,9
<i>T.s.troostii</i>	89.1	0,094	138,5	10,5
<i>T.s.troostii</i>	89.2	0,085	162,3	6,7
<i>T.s.elegans</i>	90.1	0,186	114,2	13,4
<i>T.s.elegans</i>	90.2	0,196	135,4	10,9
<i>Pseudemys concinna</i>	91.1	0,177	114,6	18,4

Einzelergebnisse der Analysen

Tierart	Nr.	Retinol µg/ml	25-OH-D₃äIR nmol/l	Vitamin E µg/ml
<i>Pseudemys concinna</i>	91.2	0,210	111,4	22,7
<i>T.s.elegans</i>	92.1	0,129	124,9	15,1
<i>T.s.elegans</i>	92.2	0,137	167,4	17,1
<i>Pseudemys nelsoni</i>	93.1	0,343	135,8	11,2
<i>Pseudemys nelsoni</i>	93.2	0,316	88,9	8,5
<i>Pseudemys peninsularis</i>	94.1	0,075	190,1	3,0
<i>Pseudemys peninsularis</i>	94.2	0,140	121,8	4,2
<i>Pseudemys nelsoni</i>	95.1	0,266	93,4	14,1
<i>Pseudemys nelsoni</i>	95.2	0,271	116,7	11,3
<i>Testudo hermanni</i>	96	0,204	110,1	1,3
<i>Testudo graeca</i>	97	0,026	172,3	0,1
<i>Testudo hermanni</i>	98	0,397	153,7	4,1
<i>Testudo horsfieldii</i>	99	0,117	211,4	4,7
<i>Testudo horsfieldii</i>	100	0,174	191,6	5,7
<i>Testudo horsfieldii</i>	101	0,196	122,2	4,2
<i>Testudo horsfieldii</i>	102	0,190	126,5	4,0
<i>Testudo horsfieldii</i>	103	0,125	205,2	3,8
<i>Testudo horsfieldii</i>	104	0,138	165,9	2,9
<i>Testudo horsfieldii</i>	105	0,119	201,3	6,2
<i>Testudo horsfieldii</i>	106	0,150	143,1	4,8
<i>Testudo horsfieldii</i>	107	0,184	0,01	5,8
<i>Testudo hermanni</i>	108	0,259	0,01	4,2
<i>Testudo hermanni</i>	109	0,215	0,01	7,2
<i>Testudo hermanni</i>	110	0,428	0,01	7,2
<i>Testudo hermanni</i>	111	0,255	0,01	4,4
<i>Testudo hermanni</i>	112	0,179	0,01	2,3
<i>Testudo hermanni</i>	113	0,206	0,01	3,0
<i>Testudo hermanni</i>	114	0,312	0,01	5,5
<i>Testudo hermanni</i>	115	0,167	0,01	3,1
<i>Testudo hermanni</i>	116	0,140	0,01	4,0
<i>Testudo hermanni</i>	117	0,213	0,01	2,7
<i>Pogona vitticeps</i>	118	0,216	37,2	7,9
<i>Pogona vitticeps</i>	119	0,370	64,9	14,2

Einzelergebnisse der Analysen

Tierart	Nr.	Retinol µg/ml	25-OH-D₃äIR nmol/l	Vitamin E µg/ml
<i>Python reticulatus</i>	120	0,017	91,6	11,2
<i>Morelia amethistina</i>	121	0,011	0,01	24,3
<i>Morelia amethistina</i>	122	0,013	2,6	12,5
<i>Morelia amethistina</i>	123	0,018	5,3	8,4
<i>Boa constr. constr.</i>	124	0,028	1,2	2,5
<i>Boa constr. constr.</i>	125	0,027	187,0	3,0
<i>Boa constr. constr.</i>	126	0,030	19,3	3,9
<i>Boa constr. constr.</i>	127	0,023	183,6	3,2
<i>Boa constr. constr.</i>	128	0,039	24,4	2,2
<i>Boa constr. constr.</i>	129	0,041	76,1	4,5
<i>Boa constr. constr.</i>	130	0,036	63,0	3,7
<i>Pogona vitticeps</i>	131	0,180	5,9	8,7
<i>Pogona vitticeps</i>	132	0,093	36,5	5,4
<i>Pogona vitticeps</i>	133	0,102	4,9	6,3
<i>Pogona vitticeps</i>	134	0,148	21,9	8,5
<i>Pogona vitticeps</i>	135	0,095	15,5	8,5
<i>Iguana iguana</i>	136	0,203	250	5,9
<i>Testudo marginata</i>	137	0,070	1,0	2,1
<i>Geochelone pardalis</i>	138	0,146	0,01	1,6
<i>Iguana iguana</i>	139	0,120	250	3,6
<i>Iguana iguana</i>	140	0,177	250	5,4
<i>Geochelone pardalis</i>	141	0,120	0,01	1,2
<i>Trachemis scripta elegans</i>	142	0,255	0,01	3,6
<i>Graptemys spp.</i>	143	0,236	10,1	6,9
<i>Testudo hermanni</i>	144	0,055	6,5	1,3
<i>Testudo marginata</i>	145	0,350	8,7	0,3
<i>Python molurus</i>	146	0,016	35,3	5,8
<i>Python molurus</i>	147	0,018	146,4	6,9
<i>Python molurus</i>	148	0,026	185,7	7,8
<i>Python molurus</i>	149	0,016	80,9	14,3
<i>Python molurus</i>	150	0,012	250	1,3
<i>Boa constrictor</i>	151	0,027	19,4	0,9
<i>Python molurus</i>	152	0,017	205,1	4,9

8 Literaturverzeichnis

ACIERNO M.J., MITCHELL M.A., ROUNDREE M.K., ZACHARIAH T.T. (2006)

Effects of ultraviolet radiation on 25-hydroxyvitamin D₃ synthesis in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*)
Am.J.Vet.Res., 67(12):2046-2049

ACIERNO M.J., MITCHELL M.A., ZACHARIAH T.T., ROUNDREE M.K., KIRCHGESSNER M.S., SANCHEZ-MIGALLON GUZMAN D. (2008)

Effects of ultraviolet radiation on plasma 25-hydroxyvitamin D₃ concentrations in corn snakes (*Elaphe guttata*)
Am.J.Vet.Res., 69(2):294-297

ADKESSON M.J., LANGAN J.N. (2007)

Metabolic bone disease in juvenile Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*): investigation of ionized calcium, parathyroid hormone, and vitamin D₃ as diagnostic parameters
J.ZooWildl.Med., 38(1):85-92

ADKINS E., DRIGGERS T., FERGUSON G., GEHRMANN W., GYIMESI Z., MAY E., OGLE M., OWENS T. (2003)

Ultraviolet light and reptiles, amphibiens
J.Herpetol.Med.Surg., 13(4):27-37

ALBERS N., HEIMBECK W., KELLER T., SEEHAWER J., TRAN T.D. (2001)

Vitamine in der Tierernährung, Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung
Verlag Agrimedia und Deutscher Fachverlag

ALLEN M.E. (1989)

Nutritional aspects of insectivory
Ph.D. Dissertation, Michigan State University

ALLEN M.E., OFTEDAL O.T. (1994)

The nutrition of carnivorous reptiles
In: Captive Management and Conservation of Amphibians and Reptiles
Murphy, Adler, Collins (eds)
Ithaca, New York, Soc. Study Amphib. Rept; pp 71-82

ALLEN M.E., OFTEDAL O.T. (1995)

Remarkable differences in the response to dietary vitamin D among species of reptiles and primates: Is ultraviolet B light essential?
In: Biologic Effects of Light
Holick, Jung (eds)
Berlin, Walter de Gruyter, pp 13-38

ALLEN M.E., CHEN T.C., HOLICK M.F., MERKEL E. (1998)

Evaluation of vitamin D status in the green iguana (*Iguana iguana*): Oral administration vs. UVB exposure
In: *Biologic Effects of Light*
Holick, Jung (eds)
Boston, Kluwer, pp 99-101

ALLEN M.E., OFTEDAL O.T. (2003)

Nutrition in Captivity
Husbandry and Veterinary Management of the Green Iguana
Malabar, FL, Krieger publications, pp 47-74

ANDERSON S.J., DAWODU A., PATEL M., BAILEY T.A., SILVANOSE C. (2002)

Plasma concentrations of vitamin E in six species of bustard (*Gruiformes:Otididae*)
J.Wildl.Dis., 38(2):414-419

ARATRI E., SPYCHER S., BREYER I., AZZI A. (1999)

Modulation of α -tropomyosin expression by α -tocopherol in rat vascular smooth muscle cells
FEBS Lett., 447:91-94

AUCONE B.M., GEHRMANN W.H., FERGUSON G.W., CHEN T.C., HOLICK M.F. (2003)

Comparison of two artificial ultraviolet light sources used for Chuckwalla, *Sauromalus obesus*, husbandry
J.Herpetol.Med.Surg., 13(2):14-17

AZZI A., BOSCOBOINIK D., FAZZIO A., MARILLEY D., MARONI P., OZER N.K., SPYCHER S., TASINATO A. (1998)

RRR-alpha-tocopherol regulation of gene transcription in response to cell oxidant status
Z.Ernährungswiss.Suppl., 37(1):21-28

BAER D.J., OFTEDAL O.T., RUMPLER W.V., ULLREY D.E. (1997)

Dietary fibre influences nutrient utilization, growth and dry matter intake of green iguanas (*Iguana iguana*)
J.Nutr. 127(8):1501-1507

BAKER H., SCHOR S.M., MURPHY B.D., DeANGELIS B., FEINGOLD S., OSCAR F. (1986)

Blood vitamin and choline concentrations in healthy domestic cats, dogs and horses
Am.J.Vet.Res., 47(7):1468-1471

BALLEW C., BOWMAN B.A., RUSSELL R.M., SOWELL A.L., GILLESPIE C. (2001)

Serum retinyl esters are not associated with biochemical markers of liver dysfunction in adult participants in the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994
Am.J.Clin.Nutr., 73:934-940

BEDO G., SANTISTEBAN P., ARANDO A. (1989)

Retinoic acid regulates growth hormone gene expression
Nature, 339:231-234

BEHRENS W.A., MADÈRE R. (1991)

Tissue discrimination between dietary RRR-alpha- and all-rac-alpha-tocopherols in rats
J.Nutr., 121(4):454-459

BERNARD J.B. (1995)

Spectral irradiance of fluorescent lamps and their efficacy for promoting vitamin D synthesis in herbivorous reptiles
Ph.D Dissertation, Michigan State University

BERNARD J.B., OFTEDAL O.T., ULLREY D.E (1996)

Idiosyncrasies of vitamin D metabolism in the green iguana (*Iguana iguana*)
Proc.Comp.Nutr.Soc.Symp., pp 11-14

BERNARD J.B., OFTEDAL O.T., ULLREY D.E. (1997)

Vitamin D and ultraviolet radiation: Meeting lighting needs for captive animals
Nutrition Advisory Group Handbook, pp 1-4

BERRY K.H., CHRISTOPHER M.M. (2001)

Guidelines for the field evaluation of desert tortoises health and disease
J.Wildl.Dis., 37(3):427-450

BIDMON H.J., STUMPF W.E. (1994)

Distribution of target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the brain of yellow bellied turtle
Trachemys scripta
BrainRes., 640(1-2):277-285

BIDMON H.J., STUMPF W.E. (1995)

1,25-Dihydroxyvitamin D₃ binding sites in the eye and associated tissues of the green lizard
Anolis carolinensis
Histochem.J., 27(7):516-523

BIDMON H.J., STUMPF W.E. (1996)

Vitamin D target systems in the brain of the green lizard *Anolis carolinensis*
Anat.Embryol.(Berlin), 193(2):145-160

BLOMHOFF R., BLOMHOFF H.K. (2005)

Overview of retinoid metabolism and function
J.Neurobiol., 66(7):606-630

BOLTON A.B., BJORNDAL K.A. (1992)

Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: Size-specific and sex-specific relationships
J.Wildl.Dis., 28(3):407-413

BOUILLOU R., Van BAELEN H., ROMBAUTS W., DeMOOR P. (1978)

The isolation and characterisation of the vitamin D-binding protein from rat serum
J.Biol.Chem., 253:4426-4431

BOUILLOU R., CARMELIET G., DACI E., SEGAERT S., VERSTUYF A. (1998)

Vitamin D metabolism and action
Osteoporos.Int.Suppl., 8:13-19

BOYER T.H. (1991)

Vitamin A toxicity
Bull.Assoc.Amphib.Rept.Vet, 1(1):2-8

BOYER T.H. (2006)

Hypovitaminosis A and hypervitaminosis A
In: Reptile Medicine and Surgery, 2nd ed.
Mader (ed)
St. Louis, Missouri, USA, Saunders Elsevier, pp 831-835

BOYLE I.T. (1993)

Vitamin D, sunlight and bone disease
In: Biologic Effects of Light
Holick (ed)
Berlin, Walter de Gruyter, pp 34-41

BRAMES H. (2007)

Aspects of light and reptilian immunity
IGUANA, 14(1):19-23

BRIGELIUS-FLOHÉ R., KELLY F.J., SALONEN J.T., NEUZIL J., ZINGG J.M., AZZI A. (2002)

The european perspective on vitamin E: current knowledge and future research
Am.J.Clin.Nutr., 76(4):703-716

BUCK J., RITTER G., DANNECKER L., KATTA V., COHEN S.L., CHAIT B.T., HÄMMERLING U. (1990)

Retinol is essential for growth of activated human B cells
J.Exp.Med., 171(5):1613-1624

BUCK J., DERGUINI F., LEVI E., NAKANISHI K., HÄMMERLING U. (1991)

Intracellular signaling by 14-hydroxy-4, 14-retro-retinol
Science., 254(5038):1654-1656

BUCK J., GRÜN F., DERGUINI F., CHEN Y., KIMURA S., NOY N., HÄMMERLING U. (1993)

Anhydroretinol: a naturally occurring inhibitor of lymphocyte physiology
J.Exp.Med., 178(2):675-680

BURGER R.M., GEHRMANN W.H., FERGUSON G.W. (2007)

Evaluation of UVB reduction by materials commonly used in reptile husbandry
Zoo Biol., 26:417-423

CALLE P., RIVAS J., MUÑOZ M., THORBJARNARSON J., DIERENFELD E., HOLMSTROM W., BRASELTON W., KARESH W. (1994)

Health assessment of free-ranging anacondas (*Eunectes murinus*) in Venezuela
J.Zoo Wildl.Med., 25(1):53-62

CAMPBELL T.W., ELLIS C.K. (2007)

Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology, 3rd ed.
Berlin, Blackwell Verlag GmbH, pp 51-56

CARLOTTI M.E., ROSATTO V., GALLARATE M. (2002)

Vitamin A and vitamin A palmitate stability over time and under UVA und UVB radiation
Int.J.Pharm., 240(1-2):85-94

CARMAN E.N., FERGUSON G.W., GEHRMANN W.H., CHEN T.C., HOLICK M.F. (2000)

Photobiological opportunity and ability for UV-B generated vitamin D synthesis in free-living house geckos (*Hemidactylus tucicus*) and Texas spiny lizards (*Sceloporus olivaceus*)
Copeia, 2000(1):245-250

CHEN T.C., TURNER A.K., HOLICK M.F. (1990)

Methods for determination of the circulating concentration of 25-hydroxyvitamin D
J.Nutr.Biochem., 1(6):315-19

CHRISTOPHER M.M., BERRY K.H., WALLIS I.R., NAGY K.A., HENEN B.T., PETERSON C.C. (1999)

Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave Desert
J.Wildl.Dis., 35(2):212-238

CLAUSS M., JESSUP D.A., NORKUS E.B., CHEN T.C., HOLICK M.F., STREICH W.J., DIERENFELD E.S. (2002)

Fat soluble vitamins in blood of free-ranging and captive rhinoceros
J.Wildl.Dis., 38(2):402-413

CLAUSS M., PELLEGRINI N., CASTELL J.C., KIENZLE E., DIERENFELD E.S., HUMMEL J., FLACH E.J. STREICH W.J., HATT J.M. (2006)

Antioxidant status of faeces of captive black rhinoceros (*Diceros bicornis*) in relation to dietary tannin supplementation
J.Vet.Med. A, 53:319-322

CLUM N.J., FITZPATRICK M.P., DIERENFELD E.S. (1996)

Effects of diet on nutritional content of whole vertebrate prey
Zoo.Biol., 15(5):525-537

COMSTOCK G.W., ALBERG A.J., HELZLSUER K.J. (1993)

Reported effects of long-term freezer storage on concentrations of retinol, β -carotene, and α -tocopherol in serum or plasma summarized
Clin.Chem., 39(6):1075-1078

CRAFT N.E., BROWN E.D., SMITH J.C. (1988)

Effects of storage and handling conditions on concentrations of individual carotenoids, Retinol, and Tocopherol in Plasma
Clin.Chem., 34(1):44-48

DEEM S.L., DIERENFELD E., SOUNGUET G.P., ALLEMAN R.A., CRAY C., POPPENGA R.H., NORTON T.M., KARESH W.B. (2006)

Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) on the coast of the Republic of Gabon
J.ZooWildl.Med., 37(4):464-471

DICKINSON V.M., JARCHOW J.L., TRUEBLOOD M.H. (2002)

Hematology and plasma biochemistry reference range values for free-ranging desert tortoises in Arizona
J.Wildl.Dis., 38(1):143-153

DIERENFELD E.S., DOLENSEK E.P. (1988)

Circulating levels of vitamin E in captive asian elefants (*Elephas maximus*)
ZooBiol., 7:165-172

DIERENFELD E.S., DU TOIT R., MILLER R.E. (1988)

Vitamin E in captive and wild rhinoceros (*Diceros bicornis*)
J.Wildl.Dis., 24(3):547-550

DIERENFELD E.S. (1989)

Vitamin E deficiency in zoo reptiles, birds and ungulates
J.ZooWildl.Med., 20(1):3-11

DIERENFELD E.S., SANDFORT C.E., SATTERFIELD W.C. (1989)

Influence of diet on plasma vitamin E in captive peregrin falcons
J.Wildl.Manage., 53(1):160-164

DIERENFELD E.S. (1994)

Vitamin E in exotics: Effects, evaluation and ecology
J.Nutr., 124(12 Suppl.):2579-2581

DIERENFELD E., LEONTYEVA O., KARESH W., CALLE P. (1999)

Circulating α -tocopherol and retinol concentrations in free-ranging and zoo turtles and tortoises
Proc.Amer.Assoc.Zoo.Vet., Columbus, OH

DIERENFELD E.S., ALCORN H.L., JACOBSON K.L. (2002)

Nutrient composition of whole vertebrate prey (excluding fish) fed in zoos
Paper, pp 1-20

DIERENFELD E.S., NORKUS E.B., CARROLL K., FERGUSON G.W. (2002)

Carotinoids, vitamin A, and vitamin E concentrations during egg development in Panther chameleons (*Furcifer pardalis*)
Zoo.Biol. 21(3):295-303

DIFFEY D.L. (1991)

Solar ultraviolet radiation effects on biological systems
Phys.Med.Biol., 36(3):299-328

DONOGHUE S., LANGENBERG J. (1994)

Clinical nutrition of exotic pets
Aust.Vet.J., 71(10):337-341

DONOGHUE S. (1996)

Veterinary nutritional management of amphibians and reptiles
J.Am.Vet.Med.Assoc., 208(11):1826-1820

DONOGHUE S. (1998)

Nutrition of pet amphibians and reptiles
Sem.Av.Ex.Pet.Med., 7(3):148-153

DONOGHUE S. (2006)

Nutrition
In: Reptile Medicine and Surgery, 2nd ed.
Mader (ed)
St. Louis, Missouri, USA, Saunders Elsevier, pp 251-298

DOUGLAS T.C., PENNINO M., DIERENFELD E.S. (1994)

Vitamins E and A, and proximate composition of whole mice and rats used as feed
Comp.Biochem.Physiol., 107A(2):419-424

DRAPER H.H. (1980)

Nutrient interrelationships
In: Vitamin E: A comprehensive Treatise
Machlin (ed)
New York, Marcel Dekker, Inc., pp 272-288

DRISKELL W.J., LACKEY A.D., HEWETT J.S., BASHOR M.M. (1985)

Stability of vitamin A in frozen sera
Clin.Chem., 31(6):871-872

DROTT P., MEURLING S., MEURLING L. (1991)

Clinical adsorption and photodegradation of fat-soluble vitamins A and E
Clin.Nutr., 10(6):348-351

DUA P.N., DAY E.J., HILL J.E., GROGAN C.O. (1967)

Utilization of xanthophylls from natural sources by the chick
J.Agricul.Food.Chem., 15:324-328

EATWELL, K. (2008)

Plasma concentrations of 25-hydroxycholecalciferol in 22 captive tortoises (*Testudo spp.*)
Vet.Rec., 162(11):342-354

ELKAN E., ZWART P. (1967)

The ocular disease of young terrapins caused by vitamin A deficiency
Pathol.Vet., 4(3):201-222

ENGELMANN W. E. (Hrsg.) (2006)

Zootierhaltung, Tiere in menschlicher Obhut, Reptilien und Amphibien
Frankfurt am Main, Wissenschaftlicher Verlag Harri Deutsch, pp 81-337

EVANS H.M., BISHOP K.S. (1922)

On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction
Science, 56:650-651

FARNSWORTH R.J., BRANNIAN R.E., FLETCHER K.C., KLASSEN S. (1986)

A vitamin E-selenium responsive condition in a green iguana
J.Zoo.Anim.Med., 17(1):42-43

FAZZIO A., MARILLEY D., AZZI A. (1997)

The effect of alpha-tocopherol and beta-tocopherol on proliferation, protein kinase C activity
and gene expression in different cell lines
Biochem.Mol.Biol.Int., 41(1):93-101

**FERGUSON G.W., JONES J.R., GEHRMANN W.H., HAMMACK S.H., HUDSON R.,
TALENT L.G., FRYE F.L., DIERENFELD E.S., FRITZPATRICK M.P., HOLICK M.F.,
CHEN T.C., LU Z., VOGEL J.J. (1995)**

Effects of vitamin A and D and ultraviolet irradiation on the life history of captive Panther
chameleons (*Chameleo paradalisi*)
In: Biologic Effects of Light
Holick, Jung (eds)
Berlin, Walter de Gruyter, pp 77-86

**FICINO R.M., CARINI M., ALDINI G., CALLONI M.T., BOMBARDELLI E.,
MORAZZONI P. (1998)**

Sparing effect of procyanidins from *Vitis vinifera* on vitamin E: in vitro studies
PlantaMed., 64:343-347

FERGUSON G.W., JONES J.R., GEHRMANN W.H., HAMMACK S.H., TALENT L.G., HUDSON R.D., DIERENFELD E.S., FITZPATRICK M.P., FRYE F.L., HOLICK M.F., CHEN T.C., LU Z., GROSS T.S., VOGEL J.J. (1996)

Indoor husbandry of Panther chameleon *Chamaeleo[Furcifer] pardalis*: Effects of dietary vitamins A and D and ultraviolet irradiation on pathology and life-history traits
ZooBiol., 15(3):279-299

FERGUSON G.W., CARMAN E.N., GEHRMANN W.H., HOLICK M.F., CHEN T.C. (1998)

Photobiosynthesis in lizards: Opportunity, ability and behavioral regulation
In: Biologic Effects of Light
Holick, Jung (eds)
Boston, Kluwer, pp 103-109

FERGUSON G.W., GEHRMANN W.H., CHEN T.C., HOLICK M.F., RUSSEL M.J. (1998)

Ultraviolet light requirements of panther chameleons in captivity
In: Biologic Effects of Light
Holick, Jung (eds)
Boston, Kluwer, pp 137-140

FERGUSON G.W., GEHRMANN W.H., HAMMACK S.H., CHEN T.C., HOLICK M.F. (2001)

Effects of dietary vitamin D and UVB irradiance on voluntary exposure to ultraviolet light, growth and survival of the panther chameleon *Furcifer pardalis*
In: Biologic Effects of Light
Holick (ed)
Boston, Kluwer, pp 193-203

FERGUSON G.W., GEHRMANN W.H., CHEN T.C., DIERENFELD E.S., HOLICK M.F. (2002)

Effects of artificial ultraviolet light exposure on reproductive success of the female Panther chameleon (*Furcifer pardalis*) in captivity
ZooBiol., 21(6):525-537

FERGUSON G.W., GEHRMANN W.H., KARSTEN K.B., HAMMACK S.H., McRAE M., CHEN T.C., LUNG N.P., HOLICK M.F. (2003)

Do Panther chameleons bask to regulate endogenous vitamin D₃ production?
Physiol.Biochem.Zool., 76(1):52-59

FERGUSON G.W., GEHRMANN W.H., KARSTEN K.B., LANDWER A.J., CARMAN E.N., CHEN T.C., HOLICK M.F. (2005)

Ultraviolet exposure and vitamin D synthesis in a sun-dwelling and a shade-dwelling species of anolis: Are there adaptions for lower ultraviolet B and dietary vitamin D₃ availability in the shade?
Physiol.Biochem.Zool., 78(2):193-200

FERGUSON G.W., BRINKER A.M., GEHRMANN W.H., BUCKLIN S.E., BAINES F.M., MACKIN S.J. (2009)

Voluntary exposure of some western-hemisphere snake and lizard species to ultraviolet-B radiation in the field: How much ultraviolet-B should a lizard or snake receive in captivity
Zoo.Biol., 28(5):1-18

FITZGERALD K.T., VERA R. (2006)

Reported toxicities in reptiles
In: Reptile Medicine and Surgery, 2nd ed.
Mader (ed)
St. Louis, Missouri, USA, Saunders Elsevier, pp 1068-1080

FOWLER M.E. (1980)

Comparison of respiratory infection and hypovitaminosis A in desert tortoises
In: Pathology of Zoo Animals
Montali, Migaki (eds)
Washington, D.C., Smithsonian Institution Press, pp 93-97

FOWLER M.E. (1986)

Metabolic bone disease
In: Zoo and Wildlife Medicine, 2nd ed.
Fowler (ed)
Philadelphia, WB Saunders Co., pp 69-90

FRASER D.R., KODICEK E. (1970)

Unique biosynthesis by kidney of a biologically active vitamin D metabolite
Nature, 228:764-766

FRASER D.R. (1980)

Regulation of the metabolism of vitamin D
Physiol.Rev., 60:551-613

FRYE F.L. (1981)

Biomedical and Surgical Aspects of Captive Reptile Husbandry
Edwardsville, Veterinary Medical Publishing Co., Inc., pp 23-61

FRYE F.L. (1984)

Nutritional disorders in reptiles
In: Diseases of Amphibians and Reptiles
Hoff, Frye, Jacobson (eds)
New York, Plenum Press, pp 215-234

FRYE F.L. (1989)

Vitamin A sources, hypovitaminosis A, and iatrogenic hypervitaminosis A in captive chelonians
In: Current Veterinary Therapy, Vol.X,
Kirk (ed)
Philadelphia, W.B. Saunders Co., pp 791-769

FRYE F.L. (1991)

Biochemical and Surgical Aspects of Captive Reptile Husbandry, 2nd ed.
Frye (ed)
Melbourne, FL, R.E. Krieger Publ. Co., pp 124-130

FRYE F.L. (2003)

Reptilien richtig füttern
Datz Terrarienbücher
Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co, pp 43-67

FURR H.C., COOPER D.A., OLSON J.A. (1986)

Separation of retinyl esters by non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography
J.Chromatogr., 378(1):45-53

GALLO-TORRES H.E. (1980)

Transport and metabolism
In: Vitamin E: A comprehensive Treatise
Machlin (ed)
New York, Marcel Dekker, Inc., pp 193-267

GALLO-TORRES H.E. (1980)

Absorption
In: Vitamin E: A comprehensive Treatise
Machlin (ed)
New York, Marcel Dekker Inc., pp 170-172

GARCIA A.L., RAILA J., KOEBNICK C., EULENBERGER K., SCHWEIGERT F. (2006)

Great Apes show highly selective plasma carotenoids and have physiologically high plasma retinyl esters compared to humans
Am.J.Phys.Anthropol., 131(2):236-242

GEHRMANN W.H., FERGUSON G.W., ODOM T.W., ROBERTS D.T., BARCELLONA W.J. (1991)

Early growth and bone mineralization of iguanid lizard, *Sceloporus occidentalis* in captivity: Is vitamin D₃ supplementation or Ultraviolet D irradiation necessary?
ZooBiol., 10(5):409-416

GEHRMANN W.H. (1997)

Reptile lightning: A current perspective
Vivarium, 8(2):44-45

GEHRMANN W., JAMIESON D., FERGUSON G., HORNER J., CHEN T.C., HOLICK M.F. (2004)

A comparison of vitamin D-synthesizing ability of different light sources to irradiances measured with a solarmeter model 6.2 UVB Meter
Herpetol.Rev., 35(4):361-364

GEHRMANN W.H. (2006)

Artificial lightening

In: Reptile Medicine and Surgery, 2nd ed.

Mader (ed)

St. Louis, Missouri, USA, Saunders Elsevier, pp 1081-1084

GERLACH T., BIESALSKI H.K., BÄSSLER K.H. (1988)

Serum-Vitamin-A-Bestimmungen und ihre Aussagekraft zum Vitamin-A-Status

Z.Ernährungswiss., 27(1):57-70

GHEBREMESKEL K., WILLIAMS G. (1988)

Plasma retinol and alpha-tocopherol levels in captive wild animals

Comp.Biochem.Physiol., 89B(2):279-283

GHEBREMESKEL K., WILLIAMS G., SPRATT D., SAMOUR H.J. (1991)

Plasma biochemistry of free-living giant tortoises (*Geochelone gigantea*) on Curieuse Island (Republic of Seychelles)

Comp.Biochem.Physiol., 99A(1-2):65-67

GILLESPIE D., FRYE F.L., STOCKHAM S.L., FREDEKING T. (2000)

Blood values in wild and captive Komodo dragons (*Varanus komodoensis*)

ZooBiol., 19(6):495-509

GÖBEL T., SPÖRLE H. (1992)

Blutentnahmetechnik und Serumnormalwerte wichtiger Parameter bei griechischen Landschildkröten (*Testudo hermanni hermanni*)

Tierärztl.Prax., 20(2):231-234

GOODMAN D.S. (1984)

Vitamin A and retinoids in health and disease

N.Engl.J.Med., 310(16):1023-1031

GOODWIN T.W. (1984)

Animals

In: Biochemistry of the Carotenoids, Vol.2

London, UK, Chapman and Hall, pp 176-297

GOTTDENKER N.L., JACOBSON E.R. (1995)

Effect of venipuncture sites on hematologic and clinical biochemical values in desert tortoises (*Gopherus agassizii*)

Am.J.Vet.Res., 56(1):19-21

GRAY R.W., CALDAS A.E., WILZ D.R., LEMANN J., SMITH G.A. (1978)

Excretion of 3H-1,25-hydroxyvitamin D₃ in healthy adults

J.Clin.Endocrinol.Metab., 46(5):756-765

GUNTER E.W., DRISKELL W.J., YEAGER P.R. (1988)

Stability of vitamin E in long-term stored serum
Clin.Chim.Acta, 175(3):319-336

GYIMESI Z.S., BURNS R.B. (2002)

Monitoring of plasma-25-hydroxy-vitamin D concentrations in two Komodo dragons (Varanus komodoensis) a case study
J.Herpetol.Med.Surg., 12:4-9

HADDAD J.G., CHYU K. (1971)

Competetive protein-binding radioassay for 25-hydroxycholecalciferol
J.Clin.Endocrinol.Metab., 33(6):992-995

HADDOCK L., CORCINO J., VAZQUEZ M.D. (1982)

25(OH)D serum levels in the normal Puerto Rican population and in subjects with tropical sprue and parathyroid disease
P.R.Health Sci.J., 1:85-91

HÄSSIG A., LIANG W.X., SCHWABL H., STAMPFLI K. (1999)

Flavonoids and tannins: plant-based antioxidants with vitamin character
Med.Hypothes., 52(5):479-481

HAMBIDGE K.M., KREBS N.F., WESTCOTT J.L., SIAN L., MILLER L.V., PETERSON K.L., RABOY V. (2005)

Absorption of calcium from tortilla meal prepared from low-phytate maize
Am.J.Clin.Nutr., 82(1):84-87

HAQ A.U., BAILEY C.A., CHINNAH A.D. (1995)

Neonatal immune response and growth performance of chicks hatched from Single Comb White Leghorn breeders fed a diet supplemented with β -carotene, canthaxanthin, or lutein
Poult.Sci., 74:844-851

HARRIS S., DAWSON-HUGHES B. (1998)

Seasonal changes in plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations of young American black and white women
Am.J.Clin.Nutr., 67(6):1232-1236

HARRISON E.H. (2005)

Mechanisms of digestion and absorption of dietary vitamin A
Annu.Rev.Nutr., 25:87-103

HEANEY R.P., WEAVER C.M. (1989)

Oxalate: Effect on calcium absorbability
Am.J.Clin.Nutr., 50:830-832

HERNANDEZ-DIVERS S.J. (2001)

Clinical aspects of reptile behaviour
Vet.Clin.North.Am:Exot.Anim.Prac., 4:599-612

HERNANDEZ-DIVERS S.J. (2006)

Diagnostic techniques
In: Reptile Medicine and Surgery, 2nd ed.
Mader (ed)
St. Louis, Missouri, USA, Saunders Elsevier, pp 490-523

HERR F.M., ONG D.E. (1992)

Differential interaction of lecithin-retinol acyltransferase with cellular retinol binding proteins
Biochemistry, 31(29):6748-6755

HIGHFIELD A.C. (1996)

Practical Encyclopedia of Keeping and Breeding Tortoises and Freshwater Turtles
London, Carapace Press, pp. 23-25, 67-70

HILL G.E. (1995)

Interspecific variation in plasma hue in relation to carotenoidplumage pigmentation
Auk., 112:1054-1057

HOLDEN J.M., ELDRIDGE A.L., BEECHER G.R., BUZZARD I.M., BHAGWAT S., DAVIS C.S., DOUGLASS L.W., GEBHARDT S., HAYTOWITZ D., SCHAKEL S. (1999)

Carotenoid content of U.S. foods: An update of the database
J.Food.Compost.Anal., 12(3):169-196

HOLICK M.F. (1981)

The cutaneous photosynthesis of previtamin D₃: A unique photoendocrine system
J.Invest.Dermatol., 77(1):76:51-58

HOLICK M.F. (1989)

Vitamin D: Biosynthesis, metabolism, and mode of action
In: Endocrinology, Vol.2
DeGroot, Cahill, Martini, Nelson, Odell, Potts, Steinberger, Winegrad (eds)
New York, Grune and Stratton, pp 902-926

HOLICK M.F. (1995)

Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D
Am.J.Clin.Nutr., 61(3 Suppl.):638-645

HOLICK M.F. (1995)

Biologic effects of light: Historical and new perspectives
In: Biologic Effects of Light
Holick, Jung (eds)
Berlin, Walter de Gruyter, pp 3-12

HOLICK M.F., TIAN X.Q., ALLEN M (1995)

Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D₃ in the skin of poikilothermic animals
Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 92(8):3124-3126

HOLICK M.F. (1998)

The role of sunlight in providing vitamin D for bone health
In: Biologic Effects of Light
Holick, Jung (eds)
Boston, Kluwer, pp 11-32

HOLLIS B.W. (2005)

Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency:
Implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D
J.Nutr., 135(2):317-322

HORST R.L., LITTLEDIKE E.T., RILEY J.L., NAPOLI J.L. (1981)

Quantitation of vitamin D and its metabolites and their plasma concentrations in five species of animals
Anal.Biochem., 116(1): 189-203

HORST R.L., NAPOLI J.L., LITTLEDIKE E.T. (1982)

Discrimination in the metabolism of orally dosed ergocalciferol and cholecalciferol by pig, rat and chick
Biochem.J., 204:185-189

HOW K.L., HAZEWINKEL A.W., MOL J.A. (1994)

Diatary vitamin D dependence of cat and dog due to inadequate cutaneous synthesis of vitamin D
Gen.Comp.Endocrinol., 96(1):12-18

HOWARD L.L., KASS P., LAMBERSKI N., WACK R.F. (2004)

Serum concentrations of ionized calcium, Vitamin D₃, and parathyroid hormone in captive thick-billed parrots (*Rhynchositta pachyrhyncha*)
J.ZooWildl.Med., 35(2):147-153

INDUSTRIEVERBAND HEIMTIERBEDARF (IVH) E.V. (2008)

„Der deutsche Heimtiermarkt 2008, Struktur & Umsatzdaten“
<http://www.ivh-online.de>

**JACOBSON E.R., GASKIN J.M., BROWN M.B., HARRIS R.K., GARDINER C.H.,
LaPOINTE J.L., ADAMS H.P., REGGIARDO C. (1991)**

Chronic upper respiratory tract disease of free-ranging desert tortoises (*Xerobates agassizi*)
J.Wildl.Dis., 27(2):296-316

JENKINS M.Y., MITCHELL G.V. (1975)

Influence of excess vitamin E on vitamin A toxicity in rats
J.Nutr., 105:1600

JONES J.R., FERGUSON G.W., GEHRMANN W.H., HOLICK M.F., CHEN T.C., LU Z. (1995)

Vitamin D nutritional status influences voluntary behavioral photoregulation in a lizard
In: *Biologic Effects of Light*
Holick, Jung (eds)
Berlin, Walter de Gruyter, pp 49-55

KAMPHUES J., COENEN M., KIENZLE E., IBEN C., PALLAUF J., SIMON O., WANNER, ZENTEK J. (2008)

Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung, 11. Auflage
Alfeld-Hannover, Verlag M.&H. Schaper, pp 164, 298

KENNY D.E. (1998)

The role of sunlight, artificial UV radiation and diet on bone health in zoo animals
In: *Biologic Effects of Light*
Holick, Jung (eds)
Boston, Kluwer, pp 111-119

KIEFER C., HESSEL S., LAMPERT J.M., VOGT K., LEDERER M.O., BREITHAUPT D.E., von LINTIG J. (2001)

Identification and characterization of a mammalian enzyme catalysing the asymmetric oxidative cleavage of provitamin A
J.Biol.Chem., 276(17):14110-14116

KIM H.S., ARAI H., ARITA M., SATO Y., OGIHARA T., INOUE K., MINO M., TAMAI H. (1998)

Effect of α -tocopherol status on α -tocopherol transfer protein expression and its messenger RNA level in rat liver
FreeRadic.Res., 28:87-92

KÖLLE P., HOFFMANN R. (1996)

Blutparameter als Hilfe in der Diagnostik von Reptilienkrankheiten
Tierärztl.Prax., 24(4):402-405

KÖLLE P. (2002)

Reptilienkrankheiten
Stuttgart, Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co., pp 68-85

KÖLLE P. (Hrsg.) (2009)

Die Schildkröte-Heimtier und Patient
Stuttgart, Enke Verlag, pp 131-141

LAING C.J., FRASER D.R. (1999)

The vitamin D system in iguanian lizards
Comp.Biochem.Physiol., 123B(4):373-379

LAING C.J., TRUBE A., SHEA G.M., FRASER D.R. (2001)

The requirement for natural sunlight to prevent vitamin D deficiency in iguanian lizards
J.ZooWildl.Med., 32(3):342-348

LAKSHMINARAYANA R., RAJU M., KRISHNAKANTHA T.P., BASKARAN V. (2007)

Lutein and zeaxanthin in leafy greens and their bioavailability: Olive oil influences the absorption of dietary lutein and its accumulation in adult rats
J.Agric.Food.Chem., 55(15):6395-6400

LANG J. (2006)

Einfluss der Matrix-Zusammensetzung von Vitamin E auf die Bioverfügbarkeit bei wachsenden Schweinen
Dissertation, München

LICHT P. (1994)

The relation of the dual thyroxine/vitamin D-binding protein (TBP/DBP) of emydid turtles to Vitamin D-binding proteins of other vertebrates
Gen.Comp.Endocrinol., 94(2):215-224

LICHT P., MOORE M.F. (1994)

Structure of a reptilian plasma thyroxine binding protein indicates homology to vitamin D-binding protein
Arch.Biochem.Biophys., 309(1):pp 47-51

LICHT P. (1994)

Thyroxine-binding protein represents the major vitamin D-binding protein in the plasma of the turtle, *Trachemys scripta*
Gen.Comp.Endocrinol., 93(1):82-92

LIND C., CHEN J., BYRJALSEN I. (1997)

Enzyme immunoassay for measuring 25-hydroxyvitamin D₃ in serum
Clin.Chem., 43(6 Pt.1):943-949

LIPS P. (2006)

Vitamin D physiology
Prog.Biophys.Mol.Biol., 92(1), 4-8

LISSNER D., MASON R.S., POSEN S. (1981)

Stability of vitamin D metabolites in human blood serum and plasma
Clin.Chem., 27(5):773-774

LÓPEZ-OLVERA J.R., MONTANÉ J., MARCO I., MARTINEZ-SILVESTRE A., SOLER J., LAVIN S. (2003)

Effect of venipuncture site on hematologic and serum biochemical parameters in marginated tortoise (*Testudo marginata*)
J.Wildl.Dis., 39(4):830-836

MADER D.R. (2006)

Metabolic Bone Diseases
In: Reptile Medicine and Surgery, 2nd ed.
Mader (ed)
St. Louis, Missouri, USA, Saunders Elsevier, pp 841-851

MÄENPÄÄ P.H., KOSKINEN T., KOSKINEN E. (1988)

Serum profiles of vitamins A, E and D in mares and foals during different seasons
J.Anim.Sci., 66(6):1418-1423

MANNING B., GRIGG G.C. (1997)

Basking is not of thermoregulatory significance in the „basking“ freshwater turtle
Emydura signata
Copeia, 1997(3):579-584

MARILLEY D., MOSIENIAK G., BOSCOBOINIK D., AZZI A. (1996)

Correlation between human vascular smooth muscle cell proliferation and protein kinase C
alpha-expression: effect of d-alpha-tocopherol
Biochem.Mol.Biol.Int., 40(4):699-707

MARSDEN A. (1999)

Sunlight and reptile UVB tubes, The value of UVB exposure
Melissa Kaplan's Herp Care Collection

MARTÍN J., LÓPEZ P. (2006)

Vitamin D supplementation increases the attractiveness of males' scent for female iberian
rock lizards
Proc.R.Soc., 273(B):2619-2624

MATA-GRANADOS J.M., DE CASTRO L., QUESADA J.M. (2004)

Fully automated method for determination of 24,25(OH)₂ and 25(OH) D₃ hydroxyvitamins,
and vitamins A and E in human serum by HPLC
J.Pharm.Biomed.Anal., 35(3):575-582

MATSUOKA L.Y., WORTSMAN J., HANIFAN N., HOLICK M.F. (1988)

Chronic sunscreen use decreases circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D: A
preliminary study
Arch.Dermatol., 124(12):1802-1804

MATSUOKA L.Y., WORTSMAN J., HADDAD J.G., HOLLIS B.W. (1989)

In vivo threshold for cutaneous synthesis of vitamin D₃
J.Lab.Clin.Med., 114(3):301-305

McARTHUR S., INNIS C., MEYER J. (2004)

Anatomy and Physiology
In: Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles
McArthur, Wilkinson , Mayer (eds)
Blackwell Publishing, pp 35-71

McARTHUR S, BARROWS M. (2004)

General care of chelonians (Lighting)
In: Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles
McArthur, Wilkinson , Mayer (eds)
Berlin, Blackwell Verlag GmbH, pp 99-100

McCAY P.B., KING M.M. (1980)

In: Vitamin E- A Comprehensive Treatsi
Machlin (ed)
New York, Marcel Dekker

MILLER K.W., YANG C.S. (1985)

An isocratic high-performance liquid chromatography method for the simultaneous analysis of plasma retinol, α -tocopherol, and various carotenoids
Anal.Biochem., 145(1):21-26

MOEHN L.D. (1974)

The effect of quality of light on agonistic behavior of iguanid and agamid lizards
J.Herpetol., 8(2):175-183

MORRIS J.G. (2002)

Cats discriminate between cholecalciferol and ergocalciferol
J.Anim.Physiol.Anim.Nutr.(Berl.), 86(7-8):229-238

MÜLLER K., VOIGT C.C., RAILA J., HURTIERNE A., VATER M., BRUNNBERG L., SCHWEIGERT F.J. (2007)

Concentrations of carotenoids, retinol and α -tocopherol in plasma of six microchiroptera species
Comp.Biochem.Physiol., 147B(3):492-497

MURO J., CUENCA R., PASTOR J., VINAS L., LAVIN S. (1998)

Effects of lithium heparin and tripotassium EDTA on hematologic values of hermann's tortoises (*Testudo hermanni*)
J.ZooWildl.Med., 29(1):40-44

MURPHY T.P., WRIGHT K.E., PUDELKIWICZ W.J. (1981)

An apparent rachitogenic effect of excessive vitamin E in the chick
Poult.Sci., 60:1873-1874

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES-NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1987)

Vitamin tolerance of animals
Committee on animal nutrition
Washington DC, National Academy Press

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES-NATIONAL RESEARCH COUNCIL (2001)

Nutrient requirements of domestic animals
Nutrient requirements of dairy cattle, 7th rev. ed.
Washington DC, National Academy Press

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES-NATIONAL RESEARCH COUNCIL (2006)

Nutrient requirements of domestic animals
Nutrient requirements of dogs and cats
Washington DC, National Academy Press

NEVAREZ J.G., MITCHELL M., LE BLANC C., GRAHAM P. (2002)

Determination of plasma biochemestries, ionized calcium, vitamin D₃ and hematocrit values in captive green iguanas (*Iguana iguana*) from El Salvador
Proc. 9th an. Conf. Assoc. Rept. Amph. Vets, Reno, USA, pp 309-311

NIJBOER J., VAN BRUG H., TRYFONIDOU M.A., VAN LEEUWEN J.P.T.M. (2006)

UV-B and vitamin D₃ metabolism in juvenile Komodo dragons (*Varanus komodoensis*)
<http://www.reptileuvinfo.com>

NORMAN A.W. (1998)

Sunlight, season, skin pigmentation, vitamin D, and 25-hydroxyvitamin D: integral components of the vitamin D endocrine system
Am.J.Clin.Nutr., 67(6):1108-1110

OCKÉ M.C., SCHRIJVER J., OBERMANN-DE BOER G.L., BLOEMBERG B.P.M., HAENEN G.R.M.M., KROMHOUT (1995)

Stability of blood (pro)vitamins during four years of storage at -20°C: Consequences for epidemiologic research
J.Clin.Epidemiol., 48(8):1077-1085

PAGÉS T., PEINADO V.L., VISCOR G. (1992)

Seasonal changes in hematology and blood chemistry of the freshwater turtle *Mauremys caspica leprosa*
Comp.Biochem.Physiol., 103A(2):275-278

PALMER D.G., RÜBEL A., METTLER F., VÖLKER L. (1984)

Experimentell erzeugte Hautveränderungen bei Landschildkröten durch hohe parenterale Gaben von Vitamin A
Zbl.Vet.Med. A, 31(8):625-633

PALMER L.S. (1915)

Xanthophyll, the principal natural yellow pigment of the egg yolk, body fat and blood serum of the hen. The physiological relationship of the pigments to the xanthophylls of plants
J.Biol.Chem., 23:261-279

PALMER L.S., KEMPSTER H.L. (1919)

The influence of specific feed and certain pigments on the colour of the egg yolk
J.Biol.Chem., 39:331-337

PAPPAS A.M., CAMBRE R.C., CITINO S.B., BAER D.J., WOODEN G.R. (1991)

Species differences in the utilization of various forms of vitamin E
Proc.Amer.Assoc.ZooVet., pp 186-192

PARKER R.S. (1996)

Absorption, metabolism, and transport of carotenoids
FASEB J., 10(5):542-551

PENTLAND A., MORRISON A., JAKOBS S., HRUZA L., HEBERT J., PACKER L. (1992)

Tocopherol analogs suppress arachidonic acid metabolism via phospholipase inhibition
J.Biol.Chem., 267:15578-15584

PETKOVICH M., BRAND N.J., KRUST A., CHAMBON P. (1987)

A human retinoic acid receptor which belongs to the family of nuclear receptors
Nature, 330:444-450

PIETRZIK K., GOLLY I., LOEW D. (2008)

Handbuch Vitamine – Für Prophylaxe, Therapie und Beratung
München, Elsevier GmbH, Urban&Fischer Verlag, pp 189-364, 419-435

PONCHON G., KENNAN A.L., DeLUCA H.F. (1969)

„Activation“ of vitamin D by the liver
J.Clin.Invest., 48:2032-2037

POWELL R., GUTMANN A.J. (2003)

Iguanas and artificial ultraviolet light: How and how much made simple-well, not exactly simple....
IGUANA, 10(3):10-17

QUADRO L., BLANER W.S., SALCHOW D.J., VOGEL S., PIANTEDOSI R., GOURAS P., FREEMAN S. ET AL. (1999)

Impaired retinal function and vitamin A availability in mice lacking retinol-binding protein
EMBO J., 18(17):4633-4644

QUESADA J.M., MATA-GRANADOS J.M., LUQUE DE CASTRO M.D. (2004)

Automated method for the determination of fat-soluble vitamins in serum
J.Steroid Biochem.Mol.Biol., 89-90(1-5):473-477

RAICA N., SCOTT J., LOWRY L., SAUBERLICH H.E. (1972)

Vitamin A concentration in human tissues collected from five areas in the United States
Am.J.Nutr., 25:291-293

RAILA J., GOMEZ C., SCHWEIGERT F.J. (2002)

The ferret as a model for vitamin A metabolism in carnivores
J.Nutr., 132(6 Suppl. 2):1787-1789

RAILA J., RADON R., TRÜPSCHUCH A., SCHWEIGERT F.J. (2002)

Retinol and retinyl ester responses in the blood plasma and urine of dogs after a single oral dose of vitamin A
J.Nutr., 132(6 Suppl. 2):1673-1675

RAILA J., SCHUMACHER A., GROPP J., SCHWEIGERT F.J. (2002)

Selective absorption of carotenoids in the common green iguana (*Iguana iguana*)
Comp.Biochem.Physiol., 132A(2):513-518

RAILA J., SCHWEIGERT F.J. (2002)

Physiologische Besonderheiten im Vitamin-A-Stoffwechsel von Karnivoren
Tierärztl.Prax.(K), 30(1):1-7

RAMER J.C., MARIA R., REICHARD T., TOLSON P.J., CHEN T.C., HOLICK M.F. (2005)

Vitamin D status of wild Ricord's iguanas (*Cyclura ricordii*) and captive and wild
Rhinoceros iguanas (*Cyclura cornuta cornuta*) in the Dominican Republic
J.ZooWildl.Med., 36(2):188-191

**RAPHAEL B.L., KLEMENS M.W., MOEHLMANN P., DIERENFELD E., KARESH W.B.
(1994)**

Blood values in free-ranging pancake tortoises (*Malacochersus tornieri*)
J.ZooWildl.Med., 25(1):63-67

REED A.H., HENRY R.J., MASON W.B. (1971)

Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range
Clin.Chem., 17(4):275-284

RICCIARELLI R., MARONI P., ÖZER N., ZINGG J., AZZI A. (1999)

Age-dependant increase of collagenase expression can be reduced by α -tocopherol via
protein kinase C inhibition
FreeRadic.Biol.Med., 27:729-737

RICCIARELLI R., ZINGG J., AZZI A. (2000)

Downregulation of the CD36 scavenger receptor by α -tocopherol
Circulation, 102:82.87

RICHMAN L., MONTALI R., ALLEN M., OFTEDAL O. (1995)

Widespread metastatic soft tissue mineralization in vitamin D deficient green iguanas
(*Iguana iguana*)
Vet.Pathol., 32:560-562

**RIETJENS I., BOERSMA M.G., de HAAN L., SPENKELINK B., AWAD H.M., CNUBBEN
N.H.P., van ZANDEN J.J., van der WOUDE H., ALINK G.M., KOEMAN J.H. (2002)**

The pro-oxidative chemistry of the natural antioxidant vitamin C, vitamin E, carotenoids and
flavonoids
Environ.Toxicol.Pharmacol., 11(3-4):321-333

ROSS A.C. (1999)

Vitamin A and retinoids
In: Modern nutrition in Health and Disease, 9th ed.
Shils, Olson, Shike, Ross (eds)
Baltimore MD, Williams and Wilkins, pp 305-327

ROST D.R., YOUNG M.C. (1984)

Diagnosing White-Muscle Disease
Vet.Med.SmallAnim.Clin., 79:1286-1287

ROTRUCK J.T., POPE A.L., GANTHER H.E., SWANSON A.B., HAFEMANN E.B.,

HOEKSTRA W.G. (1973)

Selenium: Biochemical role as a component of glutathion peroxidase
Science, 179:588-590

RUMBEIHA W.K. (2007)

Vitamin D toxicity
In: Blackwell's five-minute Veterinary Consult: Canine and Feline, 4th ed.
Tilley, Smith (eds)
Iowa, Blackwell Publishing Profesional, pp 1430-31

SAMOUR H.J., RISLEY D., MARCH T., SAVAGE B., NIEVA O., JONES D.M. (1984)

Blood sampling techniques in reptiles
Vet.Rec., 114(19):472-476

SCHÄFFER M.W., SINAH ROY S., MUKHERJEE S., DAS S.K. (2008)

Identification of lutein, a dietary antioxidant carotenoid in guinea pig tissues
Biochem.Biophys.Res.Commun., 374(2):378-281

SCHMIDT C.K., BROUWER A., NAU H. (2003)

Chromatographic analysis of endogenous retinoids in tissue and serum
Anal.Biochem., 315(1):36-48

SCHWEIGERT F.J., RYDER O.A., RAMBECK W.A., ZUCKER H. (1990)

The majority of vitamin A is transported as retinyl esters in the blood of most carnivores
Comp.Biochem.Physiol., 95A(4):573-578

SCHWEIGERT F.J., UEHLEIN-HARRELL S., von HEGEL G., WIESNER H. (1991)

Vitamin A (retinol and retinyl esters), α -tocopherol and lipid levels in Plasma of captive
wild mammals and birds
Zbl.Vet.Med., 38(1):35-42

SCHWEIGERT F.J., RAILA J., WICHERT B., KIENZLE E. (2002)

Cats absorb β -carotene, but it is not converted to vitamin A
J.Nutr., 132(6 Suppl. 2):1610-1612

SCOTT P.W. (1996)

Nutritional diseases in reptile medicine and surgery
Proc. BVZS, London

SIES H. (1989)

Vitamin E
Dtsch.Ärztebl., 86:1294

SINN A. (2004)

Pathologie der Reptilien – eine retrospektive Studie
Dissertation LMU München

SLIFKA K.A., BOWEN P.E., STACEWICZ-SAPUNTZAKIS M., CRISSEY S.D. (1999)

A survey of serum and dietary carotenoids in captive wild animals
J.Nutr., 129(2):380-390

SMITH F.R., GOODMAN D.W. (1976)

Vitamin A transport in human vitamin A toxicity
N.Engl.J.Med., 294(15):805-808

SNODDERLY D.M., RUSSETT M.D., LAND R.I., KRINSKY N.I. (1990)

Plasma carotenoids of monkeys (*Macaca fascicularis* and *Saimiri sciureus*) fed a nonpurified diet
J.Nutr., 120(12):1663-1671

SORG O., TRAN C., CARRAUX P. (2002)

Oxidative stress-independent depletion of epidermal vitamin A by UVA
J.Invest.Dermatol., 118:513-518

SOUICI S.W., FACHMANN W., KRAUT H. (2008)

Die Zusammensetzung der Lebensmittel. Nährwert-Tabellen, 7. Auflage
Stuttgart, medpharm, Scientific Publishers, pp 12, 270, 409, 660, 718, 772, 799, 802

STOCKER R. (1999)

The ambivalence of vitamin E in atherogenesis
TrendsBiochem.Sci., 24(6):219-223

STUMPF W.E., BIDMON H.J. (2000)

„Vitamin D mysteries“? Secretions and sloughings from skin and oral-gastrointestinal mucosa contain hormone
J.Nutr., 130(2): 264-265

ÖÜNDER A., HALLE I., FLACHOWSKY G. (1999)

Vitamin E hypervitaminosis in laying hens
Arch.Tierernähr., 52(2):185-194

SURAI P.F., SPEAKE B.K., SPARKS N.H.C. (2001)

Carotenoids in avian nutrition and embryonic development. 1. Absorption, availability and levels in plasma and egg yolk
J.Poult.Sci., 38:1-27

TIAN X.Q., HOLICK M.F., ALLEN M. (1995)

Comparative studies of cutaneous vitamin D₃ photosynthesis in terrestrial vertebrates
In: Biologic Effects of Light
Holick, Jung (eds)
Berlin, Walter de Gruyter, pp 39-48

TOWNSEND C.R., COLE C.J. (1985)

Additional notes on requirements of captive whiptail lizards (*Cnemidophorus*), with emphasis on ultraviolet radiation
ZooBiol., 4(1):49-55

TRAMS E.G. (1969)

Carotinoid transport in the plasma of the scarlet ibis (*Eudocimus ruber*)
Comp.Biochem.Physiol., 8:1177-1184

UEHLEIN-HARRELL (1989)

Retinylester im Blutplasma von Carnivoren, anderen Säugetieren und Vögeln
Dissertation, LMU München

UETZ P., CHENNA R., ETZOLD T., HALLERMANN J. (2008)

<http://www.reptile-database.org>
Heidelberg, Peter Uetz und EMBL

ULLREY D.E., BERNARD J.B. (1999)

Vitamin D: metabolism, sources, unique problems in zoo animals, meeting needs
In: Zoo and Wild Animal Medicine, Current Therapy. Vol.4
Fowler, Miller (eds)
Philadelphia, W.B. Saunders, pp 63-78

UPSTON J.M., TERENTIS A.C., STOCKER R. (1999)

Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement
FASEB J., 13(9):977-994

UPSTON J.M., KITHARIDES L., STOCKER R. (2003)

The role of vitamin E in atherosclerosis
Prog.Lipid.Res., 42(5):405-422

vanVLIET T. (1996)

Absorption of β -carotene and other carotenoids in human and animal models
Europ.J.Clin.Nutr., 50:32-37

VERSHININ A. (1999)

Biological functions of carotenoids-diversity and evolution
BioFactors, 10:99-104

VUILLEUMIER J.P., KELLER H.E., GYSEL D., HUNZIKER F. (1983)

Clinical chemical methods for routine assessment of the vitamin status in human populations. Part I: The fat-soluble vitamins A and E, and beta-carotene
Int.J.Vitam.Nutr.Res., 53(3):265-72

WALD G. (1968)

Molecular basis of visual excitation
Science, 162:230239

WALLACH J.D. (1966)

Hypervitaminosis D in Green Iguanas
J.Am.Vet.Med.Assoc., 149(7):912-914

WEBB A.R., KLINE L., HOLICK M.F. (1988)

Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D3 in human skin:
Exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D3 synthesis
in human skin
J.Clin.Endocrinol.Metabol., 67(2):373-378

WEBER F.L., MITCHELL G.E., POWELL D.E., REISER B.J., BARNWELL J.G. (1982)

Reversible hepatotoxicity associated with hepatic vitamin A accumulation in a protein-
deficient patient
Gastro.Enterol., 82:118-123

WHITWORTH D.J., HUNT L., LICHT P. (2000)

Widespread expression of the mRNA encoding a novel Vitamin D/Thyroxine dual binding
protein in the turtle *Trachemys scripta*
Gen.Comp.Endocrinol., 118(2):354-358

WILKINSON R. (2004)

Clinical Pathology, Therapeutics, Formulary
In: Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles
McArthur, Wilkinson, Mayer (eds)
Berlin, Blackwell Verlag GmbH, pp 141-186, 465-485, 487-502

WILLIAMS W.D. (1992)

Origin and impact of colour on consumer preference for food
Poult.Sci., 71:744-746

YANG N.Y.J., DESAI I.D. (1977)

Effect of high levels of dietary vitamin E on hematological indices and biochemical
parameters in rats
J.Nutr., 107:1410-1413

YEUM K.J., RUSSEL R.M. (2002)

Carotinoid bioavailability and bioconversion
Annu.Rev.Nutr., 22:483-504

ZENTEK J., DENNERT C. (1997)

Fütterung von Reptilien: Praxis und Probleme
Tierärztl.Prax.(K), 25(6):684-688

ZHOU X., NIU C., SUN R. (2004)

The effects of vitamin E on antiacid stress ability in juvenile soft-shelled turtles (*Pelodiscus*
sinensis)
Comp.Biochem.Physiol., 137C(4):299-305

9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

✗ Abbildung 1: Taxonomie der Klasse der Reptilien (Tiere dieser Studie sind grau hinterlegt).....	3
✗ Abbildung 2: Taxonomie der Schildkröten (Tiere der Studie sind grau hinterlegt).....	5
✗ Abbildung 3: Taxonomie der Schuppenkriechtiere (Tiere der Studie sind grau hinterlegt).....	8
✗ Abbildung 4: Strukturformel wichtiger Vitamin A-Metaboliten.....	10
✗ Abbildung 5: Strukturformel des β -Carotins.....	14
✗ Abbildung 6: Vitamin A-Stoffwechselwege (nach Blomhoff 2005).....	15
✗ Abbildung 7: Strukturformel des Luteins.....	19
✗ Abbildung 8: Strukturformel des Cyclo-Pentano-Perhydro-Phenanthrens.....	21
✗ Abbildung 9: Biosynthese von $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ aus 7-Dehydrcholesterol (vereinfacht und ergänzt nach Holick (1995) und Norman (1998)).....	25
✗ Abbildung 10: Chromanring mit isoprenoider Seitenkette.....	31
✗ Abbildung 11: Protokoll der in diese Studie einbezogenen Reptilien.....	38
✗ Abbildung 12: Gradient der Eluenten A und B der HPLC-Methode aus Berlin.....	43
✗ Abbildung 13: Beispiel-Chromatogramm der HPLC-Analyse von Vitamin A und E, sowie Lutein	44
✗ Abbildung 14: Pipettierschema der Testvalidierung des Vitamin D-EIA-Kits.....	49
✗ Abbildung 15: Schema der Verdünnung der Proben 140 und 142 mit Waschpuffer.....	49
✗ Abbildung 16: Ergebnisse der Validierung des Vitamin D-EIA-Kits, Mittelwerte der Doppelproben (nmol/l)	50
✗ Abbildung 17: Korrelation der Peakflächen der im eigenen Labor analysierten Proben zum Lutein-Gehalt des in Berlin gemessenen Plasmas.....	56
✗ Abbildung 18: Häufigkeitsverteilung der Plasmakonzentrationen der $25\text{-OH-}\text{D}_3\text{-äIR}$ der Reptiliengruppen in Bereiche eingeteilt.....	58
✗ Abbildung 19: Häufigkeitsverteilung der Bereiche der $25\text{-OH-}\text{D}_3\text{-äIR}$ im Plasma von Reptilien mit und ohne UV-Licht-Exposition.....	59

Tabellenverzeichnis

✗ Tabelle 1: Beispiele natürlicher Vorkommen von Vitamin A, bzw. Provitamin A (RE/100g uS) Quelle: SOUCI et al. 2008.....	11
✗ Tabelle 2: Plasma-Retinolkonzentrationen (µg/ml) einiger Reptilienarten.....	12
✗ Tabelle 3: Versorgungsempfehlungen von Vitamin A für verschiedenen Spezies.....	13
✗ Tabelle 4: Lutein/Zeaxanthin-Gehalte verschiedener Gemüsesorten (mg/100g TS) Quelle: LAKSHMINARAYANA et al. 2007.....	19
✗ Tabelle 5: Plasma-Luteinkonzentrationen (µg/ml) einiger Tierarten.....	20
✗ Tabelle 6: Vitamin D-Gehalte verschiedener Futtermittel (µg/100g uS) Quelle: SOUCI et al. 2008.....	22
✗ Tabelle 7: 25-OH-D3-Plasmakonzentrationen (nmol/l) einiger Reptilienarten.....	22
✗ Tabelle 8: Versorgungsempfehlungen von Vitamin D für verschiedenen Spezies.....	23
✗ Tabelle 9: α -Tocopherol-Gehalte verschiedener Futtermittel (µg/100g uS) Quelle: SOUCI et al. 2008.....	31
✗ Tabelle 10: α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen (µg/ml) einiger Reptilienarten.....	32
✗ Tabelle 11: Versorgungsempfehlungen von Vitamin E für verschiedenen Spezies.....	33
✗ Tabelle 12: Vergleich der Vitamin-Gehalte der verfütterten Leber und der Aquasticks® (IE/kg TS).....	40
✗ Tabelle 13: Plasmakonzentrationen der 25-OH-D ₃ -äIR (nmol/l) der Proben E1-S9, gemessen am 18.09.2007, 26.09.2007 und dem 17.07.2008.....	46
✗ Tabelle 14: Plasmakonzentrationen der 25-OH-D ₃ -äIR (nmol/l) der Proben E11-WSK25, gemessen am 18.09.2007, 22.10.2007 und 01.04.2008.....	46
✗ Tabelle 15: Plasmakonzentrationen der 25-OH-D ₃ -äIR (nmol/l) der Proben LSK107-E135, gemessen am 11.12.2008 und 08.01.2009.....	47
✗ Tabelle 16: Vergleich der Plasmakonzentrationen der 25-OH-D ₃ -äIR (nmol/l) der Proben E136-S152, gemessen im eigenen Labor und dem der Firma Immundiagnostik AG.....	48
✗ Tabelle 17: Ergebnisse der HPLC-Analyse 25-OH-Vitamin D ₂ und -D ₃ (nmol/l) der Firma Immundiagnostik AG.....	51
✗ Tabelle 18: Plasma-Retinolwerte in Abhängigkeit von der Reptiliengruppen (µg/ml).....	53
✗ Tabelle 19: Plasma-Retinolwerte in Abhängigkeit von der Ernährungsweise (µg/ml).....	53
✗ Tabelle 20: Plasma-Retinolwerte (µg/ml) in Abhängigkeit von der Ernährungsweise und der Reptiliengruppe (x ± s (n)).....	54
✗ Tabelle 21: Plasma-Luteinkonzentrationen (µg/ml) der in Berlin gemessenen Proben.....	55
✗ Tabelle 22: Flächengrößen des Lutein-Peaks der einzelnen Reptiliengruppen.....	56
✗ Tabelle 23: 25-OH-D ₃ -äIR im Plasma der verschiedenen Reptiliengruppen (nmol/l), eingeteilt in Bereiche (n gesamt und Prozent).....	57
✗ Tabelle 24: Plasmakonzentrationen der 25-OH-D ₃ -äIR der Tiere mit und ohne UV-Licht-Exposition eingeteilt in Bereiche (n gesamt und Prozent).....	58
✗ Tabelle 25: Plasmakonzentrationen der 25-OH-D ₃ -äIR in Abhängigkeit von der Ernährungsweise (n gesamt und Prozent).....	59
✗ Tabelle 26: α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen der verschiedenen Reptiliengruppen (µg/ml).....	60
✗ Tabelle 27: α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen in Abhängigkeit von der Ernährungsweise (µg/ml).....	60

✗ Tabelle 28: Vergleich der α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen von naturnah gehaltenen Farmzuchten und von überwiegend in Terrarien gehaltenen Tieren.....	61
✗ Tabelle 29: Plasma-Retinolwerte an Tag 0 und Tag 9 des Versuchs ($\mu\text{g}/\text{ml}$).....	62
✗ Tabelle 30: Plasmakonzentrationen der Werte der 25-OH-D ₃ -äIR an Tag 0 und Tag 9 des Versuchs (nmol/l).....	62
✗ Tabelle 31: α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen an Tag 0 und Tag 9 des Versuchs ($\mu\text{g}/\text{ml}$).....	62
✗ Tabelle 32: Plasma-Retinolwerte verschiedener Spezies ($\mu\text{g}/\text{ml}$).....	68
✗ Tabelle 33: Vorläufige Referenzwerte des Plasma-Retinolgehalts ($\mu\text{g}/\text{ml}$) getrennt nach den einzelnen Reptiliengruppen.....	69
✗ Tabelle 34: Plasma-Luteinkonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{ml}$) verschiedener Tierarten.....	69
✗ Tabelle 35: Plasmakonzentrationen 25-OH-D ₃ (nmol/l) verschiedener Spezies.....	71
✗ Tabelle 36: α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen ($\mu\text{g}/\text{ml}$) verschiedener Spezies.....	75
✗ Tabelle 37: Vorläufige Referenzwerte der Plasmakonzentrationen von α -Tocopherol ($\mu\text{g}/\text{ml}$) getrennt nach Reptiliengruppen.....	76
✗ Tabelle 38: Vorläufige Referenzwerte für Vitamin A und E (Plasmagehalt), getrennt nach Reptiliengruppen.....	78
✗ Table 39: Preliminary reference values vitamin A and E, devided in groups.....	79

10 Abkürzungsverzeichnis

Folgende Abkürzungen wurden verwendet:

®	registered name
°C	Grad Celsius
<	kleiner als....., unter....
>	größer als...., über....
1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol
25-OH-D ₃	25-OH-Cholecalciferol
25-OH-D ₃ äIR	25-OH-Cholecalciferol-ähnliche Immunoreaktivität
Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
CTRL	Kontrolle
DBP	Vitamin D Binding Protein
df	degrees of freedom
E	Echse
et al.	et alii
g	Gramm
HPLC	High Pressure Liquid Chromatographie
hv	herbivor
I.E.	Internationale Einheiten
i.m.	intramuskulär
I.U.	International Units
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
kv	karnivor
l	Liter
lat.	lateinisch
LSK	Landschildkröte
max	Maximum
min	Minimum
mJ/cm ²	Megajoule pro Quadratzentimeter
ml	Milliliter
mm	Millimeter
n	Tierzahl
n.n.	nicht nachweisbar
nm	Nanometer
nmol	Nanomol

Nr.	Nummer
NRC	National Research Council
NSB	Non Specific Binding
NWG	Nachweisgrenze
o.A.	ohne Angaben
ov	omnivore
POTZ	Preferred Optimal Temperature Zone
RBP	Retinol Binding Protein
RE	Retinol Äquivalent
s	Standardabweichung
S	Schlange
s.c.	subkutan
spp.	Spezies (Plural)
St	Standard
Tab.	Tabelle
TM	Trade Mark
U/min	Umdrehungen pro Minute
uS	ursprüngliche Substanz
UV	ultraviolet
VK	Variationskoeffizient
VLDL	very low density lipoprotein
WSK	Wasserschildkröte
x	Mittelwert
z.B.	zum Beispiel
α -TTP	α -Tocopherol-Transfer-Protein
μ g	Mikrogramm

11 Danksagungen

An erster Stelle möchte ich Frau Prof. Dr. Ellen Kienzle für die zahlreichen Anregungen zu meinem Thema, die vielen Hilfestellungen und die schnelle Korrektur meiner Arbeit danken.

Ganz herzlich danken möchte ich auch Priv. Doz. Dr. Petra Kölle für die Überlassung des Themas, die Betreuung und die Korrektur dieser Arbeit. Vielen Dank für die jederzeit gewährte Unterstützung in allen Fragen.

Ferner bedanke ich mich bei all den netten Leuten, deren Tiere ich „anzapfen“ durfte. Insbesondere der Firma „Lucky Reptile“ in Waldkirch, durch deren finanzielle Hilfe diese Dissertation erst ermöglicht werden konnte. In der Klinik für Fische und Reptilien der LMU München und der Auffangstation e.V. für Reptilien habe ich ebenfalls viele Proben nehmen dürfen und auch der Fütterungsversuch (Dank an alle Tierpfleger) konnte dort stattfinden.

Ebenfalls großer Dank geht an die Firma Immundiagnostik AG in Bensheim, deren Test-Kit wir benutzt haben, die alle Fragen geduldig beantwortet haben und die mit zusätzlichen Tests Wesentliches zu meinen Analysen beigetragen haben.

Danken möchte ich zudem Frau Kleiner und Frau Wetzel für Ihre geduldige Hilfe bei der Laborarbeit, und dass sie mir immer mit Rat und Tat beiseite standen. Ebenso Herrn Hesselbach, der in vielen technischen Fragen Rat wusste.

Auch Frau Dr. Sauter-Louis gebührt großer Dank für Ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Des Weiteren bedanke ich mich bei meiner Kollegin Ute Hartung, die ebenfalls eine Doktorarbeit über Reptilien schreibt, so dass wir oft gemeinsam über die Tiere „herfallen“ konnten.

Ein ganz besonderes Dankeschön an meine Eltern und meinen Freund Karl, ohne deren (finanzielle und seelische) Unterstützung diese Arbeit gar nicht erst möglich gewesen wäre!