

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig – Maximilians - Universität München

Geschäftsführender Vorstand:

Prof. Dr. H. J. Gabius

Arbeit angefertigt unter der Anleitung von:

Prof. Dr. W. A. Rambeck

**Einfluß der Wirkstoffformulierung auf die Resorption
von Vitamin A beim Ferkel**

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

Von Kirstin Lambrecht, geb. Weichselgartner

Aus München

München 2006

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

Dekan : Univ. – Prof. Dr. E. P. Märtlbauer

Referent: Prof. Dr. W. Rambeck

Korreferent: Univ. – Prof. Dr. K. Heinritzi

Tag der Promotion: 10. Februar 2006

Meinem Mann Alois

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....		I
Abbildungsverzeichnis.....		IV
Tabellenverzeichnis.....		VI
1.	Einleitung.....	1
2.	Schrifttum.....	3
2.1.	Vitamine.....	3
2.2.	Vitamin A.....	3
2.2.1.	Resorption, Transport und Speicherung von Vitamin A.....	5
2.2.2.	Wechselwirkungen von Vitamin A.....	9
2.2.2.1.	Nitrit.....	9
2.2.2.2.	Eisen.....	10
2.2.2.3.	Zink.....	11
2.2.2.4.	Vitamin E.....	12
2.2.3.	Funktionen von Vitamin A.....	13
2.2.3.1.	Die Rolle von Vitamin A beim Sehvorgang.....	13
2.2.3.2.	Die Rolle von Vitamin A bei der Genexpression.....	14
2.2.3.3.	Die Rolle von Vitamin A bei der Entwicklung der Knochen.....	15
2.2.3.4.	Die Bedeutung von Vitamin A für das Immunsystem.....	16
2.2.3.4.1.	Die Bedeutung von Vitamin A für Promyelozyten, Myelozyten und Granulozyten.....	16
2.2.3.4.2.	Die Bedeutung von Vitamin A für T-Lymphozyten.....	17
2.2.3.4.3.	Die Bedeutung von Vitamin A für B-Lymphozyten und Plasmazellen..	19
2.2.3.4.4.	Die Bedeutung von Vitamin A für Monozyten und Makrophagen.....	20
2.2.3.4.5.	Die Bedeutung von Vitamin A für die natürlichen Killer-Zellen.....	21
2.2.3.4.6.	Einfluß von Vitamin A auf Infektionskrankheiten und Parasitosen.....	22
2.2.3.4.7.	Die Bedeutung von Vitamin A für das Immunsystem des Magen- Darmkanals.....	25
2.2.3.4.8.	Die Bedeutung von Vitamin A für das Immunsystem der Milchdrüse..	26

2.2.3.5.	Die Rolle von Vitamin A beim Epithelschutz.....	28
2.2.3.6.	Die Rolle von Vitamin A bei der Reproduktion.....	29
2.2.3.6.1.	Vitamin A beim männlichen Schwein.....	29
2.2.3.6.2.	Vitamin A beim weiblichen Schwein.....	30
2.2.4.	Bioverfügbarkeit von Vitamin A bei unterschiedlichen Formulierungen.....	33
2.2.5.	Versorgung der Schweine mit Vitamin A.....	34
2.2.5.1.	Vitamin A-Versorgung der Ferkel.....	35
2.2.5.2.	Vitamin A-Bedarf des wachsenden Schweines.....	36
2.2.6.	Symptome der Hypovitaminose A beim Schwein.....	38
2.2.7.	Symptome der Hypervitaminose A beim Schwein.....	40
3.	Material und Methoden.....	44
3.1.	Versuch 1.....	44
3.1.1.	Versuchstiere.....	44
3.1.2.	Versuchsablauf.....	44
3.2.	Versuch 2.....	45
3.2.1.	Versuchstiere.....	45
3.2.2.	Versuchsablauf.....	45
3.2.3.	Haltung der Versuchstiere.....	46
3.2.4.	Fütterung.....	47
3.2.5.	Bestimmung der Vitamin A-Konzentration im Serum.....	49
3.2.5.1.	Blutentnahme.....	49
3.2.5.2.	Aufbereitung der Proben.....	49
3.2.6.	Bestimmung der Vitamin A-Konzentration in den Organen.....	51
3.2.6.1.	Aufbereitung der Organproben	51
3.2.7.	Statistik.....	53
4.	Ergebnisse.....	54
4.1.	Ergebnisse von Versuch 1.....	54
4.1.1.	Vitamin A-Gehalt im Serum.....	54
4.1.2.	Vitamin A-Gehalt in den Organen.....	55
4.1.2.1.	Vitamin A-Gehalt in der Leber.....	56
4.1.2.2.	Vitamin A-Gehalt in den Darmlymphknoten.....	56

4.2.	Ergebnisse von Versuch 2.....	57
4.2.1.	Vitamin A-Gehalt im Serum.....	57
4.2.2.	Vitamin A-Gehalt in den Organen.....	59
4.2.2.1.	Vitamin A-Gehalt in der Leber.....	59
4.2.2.2.	Vitamin A-Gehalt in der Lunge.....	60
4.2.2.3.	Vitamin A-Gehalt in der Niere.....	62
4.2.2.4.	Vitamin A-Gehalt in den Darmlymphknoten.....	63
5.	Diskussion.....	64
5.1.	Vitamin A im Serum.....	64
5.1.1.	Versuch 1.....	64
5.1.2.	Versuch 2.....	65
5.2.	Vitamin A in den Organen.....	71
5.2.1.	Vitamin A in der Leber.....	71
5.2.1.1.	Versuch 1.....	71
5.2.1.2.	Versuch 2.....	71
5.2.2.	Vitamin A in den Darmlymphknoten.....	74
5.2.2.1.	Versuch 1.....	74
5.2.2.2.	Versuch 2.....	75
5.2.3.	Vitamin A in der Lunge und der Niere.....	76
6.	Zusammenfassung.....	79
7.	Summary.....	81
8.	Literaturverzeichnis.....	83
9.	Danksagung.....	110

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformeln von Retinol und einigen Metaboliten (nach Arnhold et al., 2002)

Abbildung 2: Resorptionsweg von Vitamin A in den Enterozyten

Abbildung 3: Vitamin A im Sehzyklus

Abbildung 4: Vitamin A-Serumkonzentrationen in der Kontroll- und Versuchsgruppe nach Gabe des „sano-vital AE“ bzw. nach Gabe des Placebos

Abbildung 5: Vitamin A-Serumkonzentrationen in der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen nach Gabe des „sano vital AE“, des konventionellen Vitamin A-Präparates bzw. des Placebos

Abbildung 6: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Resorptionswege

Abbildung 7: Vitamin A-Konzentrationen der Leber in der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen zu den unterschiedlichen Entnahmezeitpunkten

Abbildung 8: Vitamin A-Konzentrationen der Darmlymphknoten in der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen zu den unterschiedlichen Entnahmezeitpunkten

Abbildung 9: Vitamin A-Konzentrationen der Lunge in der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen zu den unterschiedlichen Entnahmezeitpunkten

Abbildung 10: Vitamin A-Konzentrationen der Niere in der Kontrollgruppe und den bei den Versuchsgruppen zu den unterschiedlichen Entnahmezeitpunkten

Abbildung 11: Vitamin A-Konzentrationen der Niere und der Lunge zum Zeitpunkt 48 Stunden post interventionem

Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Zusammensetzung des verwendeten Ferkelaufzuchtfutters
- Tabelle 2: Gehalt an Inhaltsstoffen im verwendeten Ferkelaufzuchtfutter
- Tabelle 3: Gehalt an Zusatzstoffen im verwendeten Ferkelaufzuchtfutter
Vitamine je kg
- Tabelle 4: Gehalt an Spurenelementen im verwendeten Ferkelaufzuchtfutter je kg
- Tabelle 5 : Serumgehalt an Vitamin A in der Kontroll- und Versuchsgruppe
(Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Gabe des „sano-vital AE“ bzw.
nach Gabe des Placebos
- Tabelle 6: Vitamin A-Gehalt in der Leber (I.E. Vitamin A / g Leber) 48 h nach
Gabe von „sano-vital AE“ (Mittelwert \pm Standardabweichung)
- Tabelle 7: Vitamin A-Gehalt in den Darmlymphknoten (I. E. Vitamin A / g
Darmlymphknoten) nach Gabe von „sano-vital AE“ (Mittelwert \pm
Standardabweichung)
- Tabelle 8: Serumgehalt an Vitamin A (in I.E./ml Serum) in den drei
Untersuchungsgruppen (Kontrolle, „sano-vital AE“ Gruppe, Gruppe mit
konventionellem Vitamin A Präparat) (Mittelwert \pm Standardab-
weichung) nach Gabe der Vitaminpräparate bzw. des Placebos
- Tabelle 9: Vitamin A-Gehalte in der Leber (I.E./g uS) in den drei Untersuchs-
gruppen (Kontrolle, „sano-vital AE“ Gruppe, Gruppe mit
konventionellem Vitamin A-Präparat) (Mittelwert \pm Standardab-
weichung) nach Gabe der Vitaminpräparate bzw. des Placebos

Tabelle 10: Vitamin A-Gehalte in der Lunge (IE/g uS) in den drei Untersuchungsgruppen (Kontrolle, "sano-vital AE" Gruppe, Gruppe mit konventionellem Vitamin A-Präparat) (Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Gabe der Vitaminpräparate bzw. des Placebos

Tabelle 11: Vitamin A-Gehalte in der Niere (IE/g uS) in den drei Untersuchungsgruppen (Kontrolle, "sano-vital AE" Gruppe, Gruppe mit konventionellem Vitamin A-Präparat) (Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Gabe der Vitaminpräparate bzw. des Placebos

Tabelle 12: Vitamin A-Gehalte in den Darmlymphknoten (I.E./g uS) in den drei Untersuchungsgruppen (Kontrolle, "sano-vital AE" Gruppe, Gruppe mit konventionellem Vitamin A-Präparat) (Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Gabe der Vitaminpräparate bzw. des Placebos

1. Einleitung

Vitamine sind organische Verbindungen, die vom Organismus nicht als Energieträger sondern für andere lebenswichtige Funktionen benötigt werden. Sie können jedoch vom Organismus nicht oder nicht ausreichend synthetisiert werden und müssen deshalb mit der Nahrung aufgenommen werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Resorptionsgeschwindigkeit, des Resorptionswegs und des Speicherverhaltens von zwei verschiedenen Formen von oral verabreichtem Vitamin A. Verglichen wurden dabei zwei Vitamin A-Formulierungen, eine konventionelle, pulverförmige Vitamin A-Zubereitung und eine Milchfetttröpfchen-Vitamin-Emulsion.

Zur Bestimmung der Resorptionsgeschwindigkeit und der aufgenommenen Menge an Vitamin A sollten vor und zu mehreren Zeitpunkten nach der oralen Aufnahme Blutproben gewonnen und der Vitamin A-Gehalt des Serums mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography) bestimmt werden.

Zur Überprüfung einer eventuellen Speicherung des aufgenommenen Vitamin A in Leber, Lunge, Niere und Darmlymphknoten, sollten nach der Tötung der Tiere Proben zu unterschiedlichen Zeitpunkten post interventionem entnommen und der Vitamin A-Gehalt ermittelt werden.

Bei einem eventuellen Unterschied der Resorptionswege käme für die Emulsion die lymphatisch-korpuskuläre Resorption, für das konventionelle Präparat die transzelluläre Resorption in Frage.

Sollte sich diese Vermutung durch die vorliegenden Untersuchungen erhärten lassen, so ist mit der emulgierten Vitaminlösung eine Möglichkeit gegeben, die gestörte Resorption fettlöslicher Vitamine bei Durchfallerkrankungen bzw. bei nicht intakter Fettverdauung zu umgehen. Die Aufnahme der Emulsion erfolgt durch Interzellularspalten analog der Milchfetttröpfchen-Resorption bei der Aufnahme der Muttermilch durch Neugeborene. Die besondere physiologische Bedeutung der korpuskulären-lymphatischen Resorption liegt darin, dass auf diesem Wege alle erforderlichen Fette, Lipide und fettlöslichen Vitamine per os zugeführt werden können, ohne dass das noch nicht voll ausgereifte Leber-Galle-System und das Pankreas in Funktion treten müssen.

Es ist bekannt, dass beim Ferkel ein erhöhter Vitamin A-Bedarf durch Streß und Infektionen, vor allem beim Absetzen vom Muttertier und bei der Aufstallung in einen Mastbetrieb, entstehen kann. Zu dem kann sich bei einer Futterumstellung Durchfall einstellen oder die Futteraufnahme sogar ganz unterbrochen werden. Beides verringert die Vitamin A-Versorgung des Organismus zusätzlich.

In der Praxis wäre in Zeiten eines erhöhten Bedarfes die Gabe eines Vitamin-Emulsions-Bolus zusätzlich zur Vitamin-Supplementierung im Futter sinnvoll, um vor den Auswirkungen eines eventuell entstehenden Vitamin A-Mangels zu schützen.

2. Schrifttum

2.1. Vitamine

Vitamine sind organische, niedermolekulare Verbindungen unterschiedlicher Struktur, die der Körper bei der üblichen Fütterung nicht bzw. nicht in ausreichendem Maße bildet und die daher mit dem Futter zugeführt werden müssen.

Ein Mangel an einem Vitamin führt zu charakteristischen Mangelkrankungen.

Der Bedarf an Vitaminen ist von Alter, Wachstumsintensität und Leistung abhängig.

Die Einteilung der Vitamine wird nicht nach dem Wirkungsprinzip, sondern nach ihrer Löslichkeit vorgenommen.

Fettlöslich sind die Vitamine A, D, E und K. Wasserlöslich sind die B-Vitamine und die Ascorbinsäure (Vitamin C).

2.2. Vitamin A

Vitamin A ist der Sammelbegriff für mehrere fettlösliche Verbindungen mit gleicher biologischer Aktivität. Vitamin A kommt vor allem in Futtermitteln tierischer Herkunft wie zum Beispiel Leber, Eigelb und Milch vor (Roth, 1991).

Die in pflanzlichen Futtermitteln enthaltenen Carotine sind Vorstufen des Retinols. β -Carotin hat dabei als Provitamin A die größte Bedeutung, da es in 2 Moleküle Retinal gespalten werden kann (Schoeff, 1983).

Für das Schwein wird mit einer Konvertierung des Carotins zu Vitamin A im Mengenverhältnis von 11-13:1 gerechnet. Dabei entspricht 1 I.E. Vitamin A 3,8 μ g an β -Carotin (Kirchgeßner, 2000).

Die Mengenangabe für Vitamin A erfolgt in Gramm oder „Internationalen Einheiten“ (I.E.). Dabei entspricht 1 I.E. 0,3 μ g Retinol. Diese I.E. gründet sich auf der Verwertung des Vitamin A durch die Ratte.

Im Körper wird Vitamin A hauptsächlich als Retinylester in der Leber (Hepatozyten, Kupffersche Sternzellen und Parenchymzellen) und in extrahepatischen Geweben gespeichert.

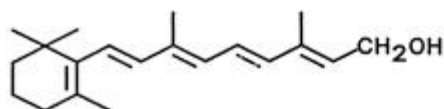
Im Plasma wird Vitamin A als Retinol transportiert. Hierbei handelt es sich um einen primären Polyenalkohol, der einen für die spezifische Vitaminwirkung wichtigen β -

lonenring und eine aus Isoprenresten aufgebaute Seitenkette mit mehreren Doppelbindungen enthält.

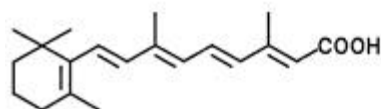
Aufgrund dieser mehrfach ungesättigten Polyenstruktur sind das Retinol und die anderen Vitamin A-Metaboliten sehr empfindlich gegenüber Luftsauerstoff, Licht und Hitze (Bondi und Sklan, 1984).

Außerdem kann Vitamin A durch Säuren sehr leicht oxidiert werden, was ebenfalls zum Verlust seiner biologischen Wirkung führen kann.

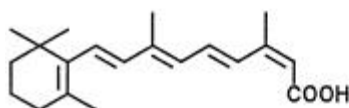
Neben dem Retinol als Transportform und dem Retinylester als Speicherform des Vitamin A im Körper, stellt die Retinsäure und das Retinal weitere wichtige Metaboliten des Vitamin A dar. Ihre Funktionen werden in späteren Kapiteln gesondert betrachtet.



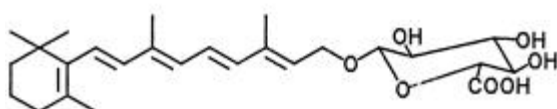
Retinol (vitamin A alcohol)



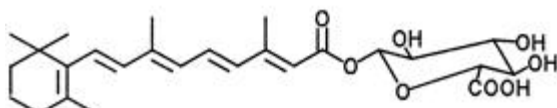
All-trans-retinoic acid (all-trans-RA)



13-cis-retinoic acid (13-cis-RA)



Retinyl- β -D-glukuronid (ROG)



Retinoyl- β -D-glukuronid (RAG)

Abbildung 1:

Strukturformeln von Retinol und einigen Metaboliten (nach Arnhold et al., 2002)

2.2.1. Resorption, Transport und Speicherung von Vitamin A

Vitamin A wird hauptsächlich als Retinylester mit der Nahrung aufgenommen. Im Magen findet fast keine Resorption von Vitamin A statt, der Hauptteil wird in der Darmmucosa des proximalen Jejunum aufgenommen. Hier liegt die Resorptionsrate von Vitamin A bei 80-90 % (Borel et al., 2001).

Da Vitamin A vorwiegend als freier Alkohol, dem Retinol absorbiert wird, müssen die mit der Nahrung aufgenommenen Retinylester im Darm von einem Enzym des Bürstensaums, der Phospholipase B und von der Pancreatic triglyceride lipase (PTL) zu Retinol hydrolysiert werden.

Die Carboxylesterlipase, eine weitere Darm-Lipase, ist bei der Hydrolyse von Retinol nicht involviert, wie Harrison und Hussain (2001) an knock-out-Mäusen zeigen konnten.

Das entstandene Retinol wird in als Carrier fungierende Lipid-Micellen aufgenommen und mit den Mucosazellen der Darmwand in Kontakt gebracht. So kann das Retinol durch die Lipidschicht der Microvillimembran wandern.

Die Aufnahme in die Enterozyten erfolgt sowohl durch Diffusion, als auch durch einen Protein-medierten vereinfachten Transport.

In der Mucosazelle wird das meiste Retinol an ein zelluläres Retinolbindungsprotein vom Typ II (cRBP II) gebunden und wieder zu Retinylester verestert. Danach werden die Retinylester zusammen mit Triglyceriden in Chylomicronen, die im Golgi-Apparat gebildet werden, eingebaut und in die Lymphe sezerniert (Norum und Blomhoff, 1992).

Die limitierenden Schritte in der lymphatischen Absorption von Vitamin A liegen bei der Bildung und Sekretion der Chylomicronen in den Enterozyten. Diese ist unmittelbar mit der Fettabsorption gekoppelt. So kann also die Verwertung des Vitamin A bei niedrigem Fettgehalt der Nahrung durch Zulage von Fett gefördert werden (Li und Tso, 2003).

Mit der Lymphe erreichen die Chylomicronen schließlich das Blut. Beim Durchtritt der Chylomicronen durch die Kapillaren werden durch Lipoprotein-Lipasen Fettsäuren abgespalten, wobei fettstoffärmere Partikel entstehen, die dann in die Hepatozyten aufgenommen werden können.

In Fastenzeiten wird allerdings kein Retinylester aus den Mucosazellen sezerniert, sondern es wird freies Retinol ohne Verbindung mit Lipoproteinen ins Blut abgegeben (Nayak et al. 2001).

In den Enterozyten ist auch eine Retinol-Umsetzung durch unspezifische Enzyme möglich. Da die Affinität dieser Enzyme zu Retinol allerdings nicht sehr hoch ist, geschieht dieser Umsatz zu Phase I- (Oxidation zu Retinsäure) und Phase II-Metaboliten (nach Glucuronidierung) nur bei Anflutung sehr hoher Konzentrationen von Retinol in größerem Umfang.

Bei diesem Stoffwechselweg entstehen nur polare Metaboliten des Retinols, nämlich Retinsäure, Retinyl β -D-glucuronid und Retinoyl β -D-glucuronid.

Mißt man die Konzentrationen der jeweiligen Metaboliten 1,75 h nach oraler Verabreichung eines Bolus von Retinol in der Vena portae und in der Vena jugularis externa von Schweinen, so sind die polaren Metaboliten in erheblich höheren Konzentrationen in der Vena portae nachzuweisen als in der Vena jugularis externa (Arnhold et al. 2002).

Im Gegensatz zu den Retinylestern, die in Chylomicronen über die Lymphe ins Blutsystem abtransportiert werden, gelangen die polaren Metaboliten des Retinols also direkt in die Vena portae. Sie werden hier als Anionen an Serum-Albumin gebunden und transportiert (Goodman, 1984).

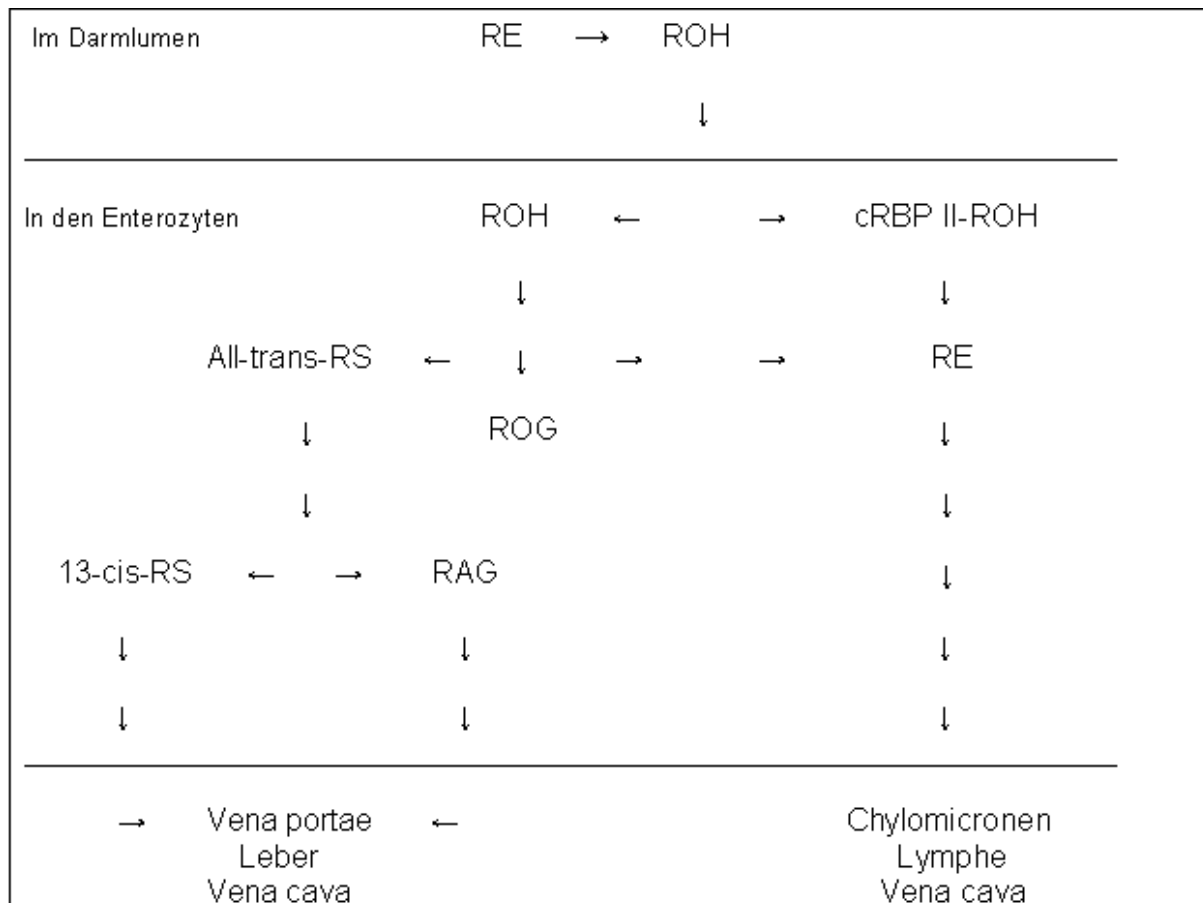


Abbildung 2:

Resorptionsweg von Vitamin A in den Enterozyten

RE = Retinylester, ROH = Retinol, cRBP = zelluläres Retinol-binding-Protein,
 ROG = Retinyl β -D-glucuronid, RAG = Retinoyl β -D-glucuronid, RS = Retinsäure.

Die Leber enthält etwa 90% des im Körper enthaltenen Vitamin A (Schöne, 1986). Dabei besteht eine positive Relation zwischen den aufgenommenen und den in der Leber gespeicherten Vitamin A-Mengen (Kessler und Jost, 1999; Landes, 1994). In der Leber wird das Vitamin A allerdings nicht homogen verteilt, sondern es wird in den einzelnen Leberlappen unterschiedlich angereichert und gespeichert. Die höchsten Konzentrationen kann man so im rechten Leberlappen finden, während im linken äußeren Leberlappen die Vitamin A Konzentration eher niedrig ist (Kiener, 1988).

Ungefähr 20% des gesamten Plasma-Turnovers des in den Chylomicronen transportierten Retinols wird von der Leber aufgenommen.

Hiervon wird die eine Hälfte in die Hepatocyten, die andere Hälfte in die Kupfferschen Sternzellen eingelagert. Das in die Parenchymzellen der Leber absorbierte Retinol wird an das Retinol-binding-Protein gebunden und in die Kupfferschen Sternzellen transferiert, welche dann das Retinol als Retinylester in Fetttröpfchen speichern (Norum und Blomhoff, 1992; Harrison, 1998).

Die Retinylester in beiden Zelltypen stammen dabei weniger aus den intrazellulären Retinol-Speichern, sondern bevorzugt aus dem frisch absorbierten Retinol.

Verbraucht ein Organismus wenig Retinol, wird etwa die Hälfte des aus den Hepatocyten sezernierten Retinols direkt in die Kupfferschen Sternzellen transferiert und dort gespeichert (Green et al., 1993).

Um den Bedürfnissen der Gewebe an Vitamin A gerecht zu werden, sezerniert die Leber Retinol ins Blut. Dort wird das Retinol an ein spezielles Carrier-Protein, das Retinol-binding-Protein (RBP) gebunden und transportiert.

Die Funktion dieses Proteins ist es, Retinol von den Speichern in der Leber zu den Zielgeweben zu transportieren (Quadro und Hamberger, 2003; Quadro et al., 1999).

Das RBP hat ein Molekulargewicht von 21 000 Dalton und bindet je 1 Molekül Vitamin A. Es liegt im Blutplasma der meisten Tiere mit Ausnahme der Carnivoren, zum großen Teil als Komplex mit einem Präalbuminmolekül (Transthyretin) vor, der in den Nierenglomerula nicht abfiltriert wird.

Der Komplex hat ein Molekulargewicht von 76 000 Dalton. Bei den meisten Species besteht das RBP aus 182 Aminosäuren. Es wird auch von extrahepatischen Geweben, wie dem Endometrium und dem Embryo gebildet.

Die Mobilisierung von Retinol wird sehr stark von Faktoren reguliert, die die Synthese und Sekretion von RBP kontrollieren. So ist bei stärkerem Mangel an Protein oder an essentiellen Aminosäuren in der Nahrung die Bildung des RBP in der Leber herabgesetzt. Bei Nährstoffmangel vermindert sich die Synthese von RBP gleichfalls. Allerdings wirken Östrogene auf seine Bildung fördernd (Pitt, 1981).

Die Aufnahme durch die Zielgewebe hängt wahrscheinlich von Oberflächenrezeptoren auf den Zellen für RBP ab. Gewebeoberflächen von Ratten, Menschen und anderen Spezies beinhalten allerdings auch lösliche Bindungsproteine für ungebundenes Retinol wie auch für Retinsäure (Goodmann, 1984).

Durch die Speicherung von Vitamin A in der Leber hat der Vitamin A-Plasmaspiegel keine Aussagekraft über den aktuellen Versorgungsgrad, es können lediglich Rückschlüsse bei starkem Mangel oder Überschuß von Vitamin A gezogen werden (Gerster, 1997; Schöne et al., 1991).

Ein Plateau des Serum-Vitamin A-Spiegels wird beim Schwein bereits bei einem geringen Vitamin A-Vorrat in der Leber von 36 µmol/kg erreicht (Schöne, 1986).

Erst wenn der Vitamin A-Spiegel in der Leber unter 40 I.E./g absinkt, zeigt sich auch eine Absenkung im Plasmagehalt von Vitamin A. Unter diesen Bedingungen treten im Stoffwechsel dann folgende Anpassungsvorgänge auf:

Der Umfang der Resorption von Vitamin A steigt an, außerdem nehmen die Resorption und Verwertung der Carotine für die Bildung von Vitamin A zu.

Der Umfang des Abbaues vermindert sich, die Ausscheidung von Abbauprodukten über die Galle nimmt ab, ebenso wird die Ausscheidung von Vitamin A und von Retinsäure-Glucuronid über die Leber eingeschränkt, deren Wiederverwertung steigt an (Deskmuth, 1964).

2.2.2. Wechselwirkungen von Vitamin A

2.2.2.1. Nitrit

Vitamin A und ebenso Carotin werden durch Nitrit direkt oxydiert und verlieren so ihre biologische Wirksamkeit. Somit wirkt Nitrit also als Vitamin A-Antagonist (Hoar et al., 1968). Davon bleibt die Vitamin A-Resorption, die enzymatische Umwandlung des Carotins zu Vitamin A und die Leberfunktion jedoch unbeeinflusst (Phillips, 1966).

Da also bei einer akut einsetzenden Nitrit-Belastung ein Großteil des mit dem Futter zugeführten Vitamin A durch das Nitrit oxidiert wird, müssen zur Aufrechterhaltung der Vitamin A-Homöostase im Organismus die Vitamin A-Ressourcen in der Leber mobilisiert werden. So konnten fallende Vitamin A-Gehalte in den Lebern von Schweinen bereits bei einem Futtergehalt von 0,3% Kaliumnitrit oder 0,5% Natriumnitrit beobachtet werden (Emerick und Olson, 1962; Hutagalung et al., 1968). Während z.B. der Bedarf für das Wachstum bei jungen Mastschweinen bei einer Vitamin A-Versorgung von 250 I.E./kg Futter gedeckt wird, kommt es bei einer zusätzlichen Nitritbelastung zu einer Stagnation der Lebendmassenzunahme.

So hat der Nitritzusatz von 1g Nitrit/kg Futter bei einer Vitamin A Versorgung von 250 I.E./kg Futter bereits negative Auswirkungen, indem es zu einer starken Wachstumsdepression kommt. Bei einem doppelt so hohen Vitamin A-Gehalt im Futter und der gleichen Nitritbelastung wie oben, kommt es jedoch nur zu einer geringen Verzehr- und Wachstumsverschlechterung (Schöne und Lüdke, 1984).

Nicht nur über das Futter kann es zu einer Nitrit-Belastung kommen (Liebenow, 1972). So führte ein Nitritgehalt des Tränkwassers von 800 mg/l bei einer Vitamin A-Supplementierung von 1173 I.E./kg Futter ebenfalls zu einer signifikanten Wachstumsdepression (Wood et al., 1967).

2.2.2.2. Eisen

Ist der Organismus einem Eisenmangel ausgesetzt, so hat das auch Folgen für den Vitamin A-Metabolismus. Das Eisendefizit bedingt einen verlangsamten Umsatz des Vitamin A, da die Absorption in die Zielzellen und damit die irreversible Verwertung des Vitamin A reduziert ist. Außerdem ist die Vitamin A-Transfer-Rate zwischen dem Retinylester-Speicherpool der Leber und dem Blutplasma geringer.

So konnte nach einer achtwöchigen Eisen-Mangel-Diät bei Ratten ein etwa siebenmal höherer Vitamin A-Gehalt in der Leber nachgewiesen werden, während gleichzeitig der Vitamin A-Plasmaspiegel der Versuchstiere nur etwa halb so hoch war wie bei den Kontrolltieren (Jang et al., 2000).

Eine Verbesserung des Vitamin A-Status durch Stabilisierung des Retinol-Plasmagehaltes konnten Schweigert und Baumann (1997) durch Applikation einer intramuskulären Eisen-Dextran-Injektion von 200 mg Eisen bei Ferkeln erreichen.

Umgekehrt zieht auch ein Vitamin A-Mangel Veränderungen des Eisen-Stoffwechsels nach sich. Als erstes Anzeichen eines veränderten Eisen-Metabolismus erzeugt die Vitamin A-Unterversorgung eine leichte Anämie, die auf eine beeinträchtigte Erythropoese hindeutet. Es folgt eine Steigerung der Eisen-Absorption aus dem Darm. Während einer zehnwöchigen Versuchsdauer wurde den Ratten einer Kontrollgruppe eine Diät mit ausreichend Vitamin A und Eisen gefüttert, die Versuchsgruppe bekam eine Diät ohne Vitamin A-Zusatz. Während der Versuchsdauer führte der Vitamin A-Mangel zu keinen klinischen Symptome, jedoch waren am Ende des Versuches der Hämatokrit, das mittlere corpuskuläre Volumen,

der Plasma-Eisen-Spiegel und der Eisen-Gehalt in den Nieren, der Milz und dem Femur der Versuchstiere im Vergleich zu den Kontrolltieren erhöht, während die totale Eisen-Bindungs-Kapazität abgenommen hatte (Roodenburg et al., 1994). Der hohe Vitamin A-Spiegel im Körper führte zu einer vermehrten Eisen-Mobilisierung aus der Leber.

2.2.2.3. Zink

Zink ist für Säugetiere als Bestandteil zahlreicher Enzyme ein lebensnotwendiges Spurenelement. Auch bei der Homöostase von Vitamin A im Körper ist Zink maßgeblich beteiligt.

So wird zum Beispiel der erhöhte Vitamin A-Gehalt in der Leber bei einem Zink-Mangel einer reduzierten Synthese des Plasma Retinol-binding-Proteins (RBP) angelastet.

Durch die reduzierte Synthese des RBP ergab sich eine verminderte Freisetzung des in der Leber gespeicherten Retinols in den Kreislauf. Ein Zink-Mangel führte somit zu einer Begrenzung der Bioverfügbarkeit von Vitamin A (Kirchgessner et al., 1989).

Ein Untersuchung an mit Vitamin A unterversorgten Kindern in Bangladesh zeigte, dass bei gleichzeitiger Supplementierung von Vitamin A und Zink, der Plasma-Gehalt von RBP nach drei Wochen signifikant höher war als bei zwei anderen Gruppen, bei welchen entweder nur Vitamin A oder nur Zink supplementiert worden war (Rahman et al., 2002).

Aber auch die Aktivitäten anderer Enzyme wurden von einem Zinkmangel beeinflusst. So ergab sich eine signifikante Reduktion der Enzymaktivität des Antidiuretischen Hormons (ADH), dem Enzym, welches den ersten Schritt in der Retinol-Oxidation katalysiert.

Im Gegensatz dazu war die Aktivität der Retinal-Oxidase, welche die irreversible Oxidation von Retinal zu Retinsäure reguliert, bei Zink-Mangel signifikant erhöht.

Die spezifischen Aktivitäten der Retinylester-Hydrolase und der mikrosomalen Acyl-Coenzym A-Retinol-Acyl-Transferase blieben allerdings unbeeinflusst vom Zinkmangel und so wurde das Verhältnis von Retinol zu Retinylestern in der Leber nicht tangiert.

Diese Ergebnisse deuteten darauf hin, dass der erhöhte Vitamin A-Leber-Gehalt bei Zink-Mangel sekundär zu einem verminderten Retinol-Abbau führte und die Synthese oder Hydrolyse des Retinylesters beeinflusst wurde (Boron et al., 1988).

Eine Stabilisierung des Plasma-Retinol-Spiegels durch Zink-Supplementierung über das Trinkwasser bei hungernden Schweinen konnte Dvorak (1983) nachweisen. So konnte die Abnahme des Plasmagehaltes von Retinol durch den Zink-Zusatz im Vergleich zu einer Kontrollgruppe beträchtlich reduziert werden.

2.2.2.4. Vitamin E

Eine Erhöhung der Vitamin A-Supplementierung im Futter von Schweinen bedingte eine Reduktion der Vitamin E-Konzentration im Serum und hatte - insbesondere durch eine gesteigerte Lipidperoxidation - eine negative Wirkung auf den gesamten antioxidativen Stoffwechsel. Wurde die Vitamin A-Zulage im Futter wieder vermindert, konnte eine deutliche Steigerung der α -Tocopherolkonzentration im Plasma nachweisen werden (Ching et al., 2002; Fuhrmann et al., 1997).

Im Vergleich zu den anderen Organen war die Beeinflussung der α -Tocopherolgehalte in der Leber durch die hohe Vitamin A-Supplementierung weniger stark ausgeprägt (Sugg, 1991).

Unter steigendem Vitamin A-Einfluß nahm die Menge des Tocopherols das den Resorptionsort erreicht, ab. Als Ursache hierfür wurde eine durch die hohen Vitamin A-Konzentrationen gesteigerte intestinale Oxidation von Tocopherol, ein beschleunigter Tocopherol-Stoffwechsel mit verstärkter Glucuronidierung und eine selektive Aktivitätsänderung der Enzyme, die gegen oxidative Zellschädigung schützen, diskutiert (Sklan und Donoghue, 1982 a).

2.2.3. Funktionen von Vitamin A

2.2.3.1. Die Rolle von Vitamin A beim Sehvorgang

Im Sehvorgang dient das 11-cis-Retinal als lichtempfindlicher Chromophor des Sehpigments. Es fungiert als prosthetische Gruppe in Rhodopsin (Sehpurpur), welches in den Stäbchen lokalisiert und zuständig für das Sehen im Dämmerlicht ist.

Im Iodopsin, dessen Sitz in den Zapfen ist, wird es ebenfalls als prosthetische Gruppe gebunden und ist mit für das Farbsehen verantwortlich.

Unter Lichteinfall erfolgt die Isomerisation von 11-cis-Retinal zu all-trans-Retinal. Die damit verbundene Konformationsänderung führt zu einer Dislokation des all-trans-Retinals vom Opsin. Über verschiedene Kaskaden werden Kationenkanäle an der Oberflächenmembran des Photorezeptors geschlossen. Es kommt zur Hyperpolarisation und damit zur Auslösung eines nervalen Impulses.

Im Dunkeln wird all-trans-Retinal enzymatisch direkt oder über all-trans-Retinol in 11-cis-Retinal überführt und somit regeneriert. Dies geschieht im Pigmentepithel der Retina. Das 11-cis-Retinal kehrt zu den äußeren Segmenten der Photorezeptoren zurück und regeneriert hier das Rhodopsin (Mori, 2003).

Ein Vitamin A Mangel manifestiert sich als Nachtblindheit. Diese zeigt sich zuerst durch verlangsamte Adaption an die Dunkelheit und steigert sich bei fortbestehendem Mangel bis zur totalen Nachtblindheit. Wird Retinol substituiert, normalisiert sich das Sehvermögen wieder (Dowling und Wald, 1958).

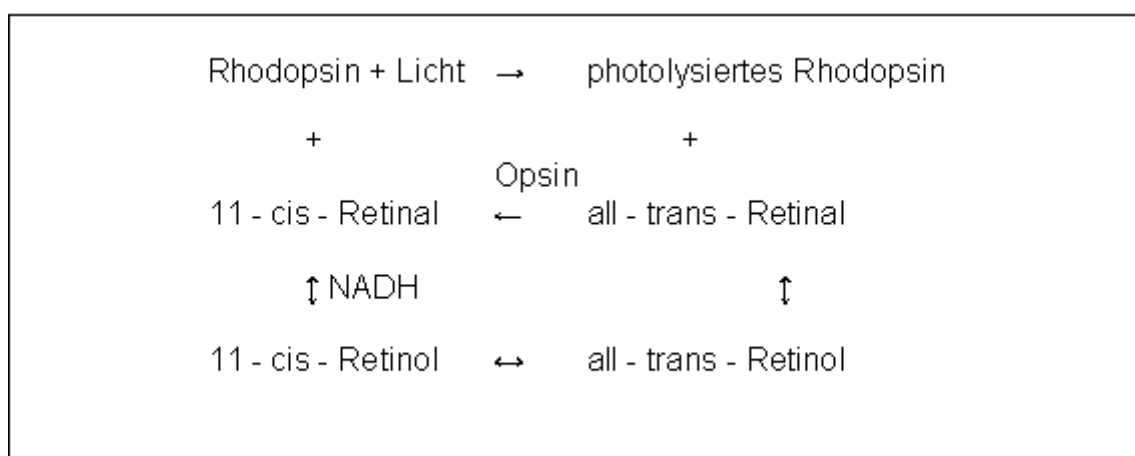


Abbildung 3:

Vitamin A im Sehzyklus

2.2.3.2. Die Rolle von Vitamin A bei der Genexpression

Für die Differenzierung und das Wachstum von Geweben ist Retinsäure unentbehrlich (Ott und Lachance, 1979; Ross and Ternus, 1993). So ist sie an der Transkription von mehr als 300 Genen beteiligt (Dawson, 2000).

Um diese Aufgabe zu erfüllen, wird Retinol in den meisten Zielzelltypen an ein zelluläres RBP (cRBP) angelagert und danach zur all-trans-Retinsäure dehydriert, die vom cRBP abgespalten und an ein zelluläres Retinsäure-binding-Protein (cRABP) angelagert wird. Durch eine Isomerase wird die all-trans-Retinsäure dann teilweise in die 9-cis-Retinsäure umgewandelt. In Bindung an das cRABP werden die Retinsäure-Isomeren anschließend in die Zellkerne transportiert, wo sie an einen der Retinsäure-Rezeptoren oder einen der Retinoid-X-Rezeptoren angelagert werden (Lee et al., 2000). Die Retinsäure-Rezeptoren vom Typ RAR alpha, beta und gamma können sowohl die all-trans- als auch die 9-cis-Retinsäure binden. Die Retinoid-X-Rezeptoren vom Typ RXR alpha, beta und gamma, können dagegen nur durch die 9-cis-Retinsäure besetzt werden. Beide Rezeptoren gehören zur Familie der Steroid/thyroid-Rezeptoren (Mangelsdorf, 1994).

Vor dem Wirksamwerden verbinden sich jeweils zwei Rezeptor-Moleküle zu einem Doppelmolekül (Dimer). Ein Molekül vom Typ RAR kann sich dabei mit einem solchen vom Typ RXR oder mit einem Thyroxin- oder 1,25-Hydroxyvitamin-D-Rezeptor verbinden. Auch Homodimere beider Rezeptor-Moleküle können sich bilden (Jump et al., 1993).

Die mit den Retinsäuremolekülen beladenen Rezeptor-Dimere können sich schließlich mittels einer Bindungsstelle an bestimmte Promotor-Gene (DNA-Abschnitte) anlagern und so eine Steigerung der Transkription bestimmter Gene bewirken (Lee et al., 2000).

Bei Vitamin A-Mangel kann die Transkription bestimmter Gene reduziert oder vollständig gehemmt werden. Shin und McGrane (1997) zeigten zum Beispiel, dass ein Mangel an Retinsäure bei Mäusen die Gene von Phosphoenolpyruvat Carboxykinase, Fructose-1,6-bisphosphatase und 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase in der Leber hemmt, die essentiell für die Gluconeogenese sind.

2.2.3.3. Die Rolle von Vitamin A bei der Entwicklung der Knochen

Vitamin A spielt eine große Rolle bei der Entwicklung der Knochen, indem es die Aktivität der Osteoklasten beeinflusst.

Bei Vitamin A-Mangel ist die Aktivität der Osteoklasten reduziert, was sich durch starke Auflagerungen des Periosts bemerkbar macht, da die Aktivität der Osteoblasten ungebremst ist. Irritation der Gelenke und ungeordnetes Knochenwachstum sind zwei häufige daraus resultierende Erscheinungsformen des Vitamin A-Mangels. So können zum Beispiel in manchen Fällen die Foramen für den Durchtritt der Seh- und Gehörnerven eingeengt werden, woraus dann Blind- oder Taubheit resultieren kann (Wolbach und Bessey, 1947).

Retinsäure bremst das Längenwachstum der Knochen, indem es die Vermehrung und Differenzierung der Chondrozyten der Wachstumsfugen und die Matrixsynthese hemmt. Dies konnten DeLuca et al. (2000) an fetalen Metatarsalknochen von Ratten, die in vitro mit und ohne Vitamin A angezüchtet wurden, zeigen.

In einer in vitro Studie von Togari et al. (1991) an Schlüsselbeinen von neugeborenen Mäusen konnten folgende Wirkungen von Vitamin A auf den Knochenstoffwechsel belegt werden:

Eine übermäßige Exposition der Knochen mit Retinsäure führt scheinbar zu einer erhöhten Aktivität der Osteoklasten, welche sich durch Demineralisierung der Knochensubstanz darstellt.

So machte sich nach vier tägiger Inkubation mit Retinsäure eine Abnahme der Aktivität der alkalischen Phosphatase (ALP) bemerkbar. Wurden die Knochen jedoch nur zwei Tage mit Retinsäure behandelt, blieb der Mineralgehalt der Knochen unverändert. Die Veränderungen an den Knochen sind demzufolge abhängig von der Einwirkungszeit der Retinsäure.

Dickson und Walls fanden in ihrer Arbeit von 1985 an Schlüsselbeinen von Hühner-Embryonen heraus, dass Retinol dosisabhängig die Collagen-Synthese herabsetzte, während die Synthese von nicht-collagen-Protein nahezu unbeeinflusst blieb. Dieser Effekt setzte schon vierundzwanzig Stunden post expositionem ein und wurde auf einen direkten Effekt von Retinol auf die Collagen- Synthese zurückgeführt, welcher nicht von den Osteoklasten mediiert wird.

2.2.3.4. Die Rolle von Vitamin A für das Immunsystem

Bei einem Vitamin A-Mangel ist die Fähigkeit des Organismus, Infektionserreger wie zum Beispiel Bakterien, Viren und Parasiten zu eliminieren mehr oder weniger stark herabgesetzt, da sowohl die Leistungsfähigkeit der meisten Zelltypen des Immunsystems als auch die Bildung von Aktivatoren für das Immunsystem eingeschränkt ist.

Bei Ausbildung einer Hypovitaminose A kann in den Zellen nicht mehr ausreichend Retinsäure gebildet werden, welche für die Transkription und damit der Bildung von Matrizen (RNA) für die Synthese von Proteinen, z.B. von Interleukinen unverzichtbar ist. Interleukine sind von den Leukozyten sezernierte Kommunikationsproteine und dienen der Immunregulation.

Der Mangel führt außerdem zur Einschränkung der Leistungsfähigkeit von Phagozyten (Makrophagen), zur Herabsetzung der Vermehrung von T- und B-Lymphozyten bei Einwirkung von Mitogenen, zur Hemmung der Bildung von Antikörpern bei Belastung mit bestimmten Antigenen, zur Abnahme der Leistungsfähigkeit der natürlichen Killer-Zellen und zu geringerer Ausbildung der Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ (Kolb, 1995).

2.2.3.4.1. Die Bedeutung von Vitamin A für Promyelozyten, Myelozyten und Granulozyten

Vitamin A bzw. die daraus gebildeten Verbindungen spielen bei der Regulation des Wachstums der Stammzellen des Knochenmarks sowie der daraus entstehenden Zelltypen eine wichtige Rolle.

Aus dem Vitamin A bilden die Zellen drei verschiedene Verbindungen, nämlich das 14-Hydroxy-retro-retinol, das Anhydroretinol und die Retinsäure. Bei der genaueren Differenzierung der Retinsäure-Isomeren konnte festgestellt werden, dass der Hauptteil der Retinsäure auf die all-trans-Verbindung entfiel, daneben kamen nur kleine Anteile von 13-cis- und von 9-cis-Isomeren vor. Diese Verbindungen können dosisabhängig entweder fördernd oder hemmend auf die Vermehrung der entsprechenden Zellen wirken (Eppinger et al., 1993).

Primitive Stammzell-Linien (Lin-Scan-1) des Knochenmarks von Mäusen wurden im Wachstum und in der Differenzierung ab einer Konzentration von 0,1 µmol/l der all-trans- und der 9-cis-Retinsäure gehemmt. Die Hemmung war dosisabhängig und reversibel. Ein Wachstumsstillstand konnte ab einer Konzentration von 1 µmol/l nachgewiesen werden (Jacobsen et al., 1994).

Bei der Züchtung von Promyelozyten in humanen promyeloischen Zell-Linien (HL-60) konnte festgestellt werden, dass eine Konzentration an Vitamin A von 0,01 bis 0,1 µmol/l für das Zellwachstum notwendig ist.

Bei einer höheren Konzentration von Vitamin A erfolgte dann eine Differenzierung der Promyelozyten in Granulozyten.

Die bakterizide Wirksamkeit der Granulozyten in vitro kann durch Zugabe von Retinsäure erhöht werden. Bei Analysen von Tjoelker et al. (1986) an aus dem Blut von Rindern isolierten Granulozyten in der Kultur wurde die höchste Phagozytosekapazität bei Zusatz von 10^{-3} mmol an Vitamin A und von 10^{-4} mmol an Retinsäure festgestellt.

2.2.3.4.2. Die Bedeutung von Vitamin A für T-Lymphozyten

Vitamin A ist ein wichtiger Wachstumsfaktor für T-Lymphozyten, bei denen nach der Wirksamkeit Helfer-, Suppressor- und zytotoxische T-Zellen unterschieden werden. Die T-Lymphozyten vom Helfer-Typ werden durch Kontakt mit antigenpräsentierenden Makrophagen und Dendritenzellen sowie durch Bindung von Interleukin 1 aktiviert und sezernieren die Interleukine 2, 3, 4, 5 und 6.

Die Zellteilungsgeschwindigkeit der T-Lymphozyten ist abhängig von der Konzentration der Retinsäure in den Zellen. Diese kann durch den Vitamin A-Gehalt des Futters gesteigert werden, was Garbe et al. (1992) bei der Inkubation von T-Lymphozyten von Geflügel nachweisen konnten. Die größte Proliferation lag bei einem Vitamin A-Gehalt des Futters von 6,6 mg/kg vor.

Desweiteren fördert die Retinsäure die Bildung von Boten-RNS für den Retinsäure-Rezeptor a und damit dessen Synthese. Die erhöhte Ausrüstung mit dem Rezeptor steigert wiederum die Wirksamkeit der Retinsäure bei der Förderung der Transkription und damit der Zellvermehrung.

So führte ein Zusatz von Retinsäure in einer Konzentration von 0,01 µmol/l bei Inkubation von T-Lymphozyten mit dem Mitogen Konkanavalin schon im Verlauf von zwei Stunden zu einer maximalen Bildung von Boten-RNA für den Retinsäure-Rezeptor α (Halevy et al., 1994).

Aus Tierversuchen ist ersichtlich, dass eine gute Versorgung mit Vitamin A die Leistungsfähigkeit der T-Lymphozyten bei der Immunantwort erhöhen kann. Dies konnten Forni et al. (1986) durch ihre Untersuchungen an Mäusen belegen. Nach einer drei Monate langen Vitamin A-Supplementierung lag bei Applikation eines Mitogens eine erhöhte Fähigkeit der T-Zellen zur Vermehrung sowie zur Bildung von Interleukin 2 und von Interferon gamma vor. Außerdem war die Resistenz gegenüber transplantierten Tumoren größer als bei Kontrolltieren.

Eine weitere, bei Mäusen untersuchte Wirkung einer ausreichenden Vitamin A-Zulage zum Futter bestand darin, dass der immunsuppressive Effekt des Prednisolons verhindert werden konnte und die Lymphozytenvermehrung nach Stimulierung durch das Mitogen Phythämagglutinin im Vergleich zu Kontrolltieren erhöht war (Nuwayri-Salti und Murad, 1985).

Einen immunstimulierenden Effekt von Vitamin A auf die T-Lymphozyten konnten auch Boroskova et al. (1985) bei mit *Ascaris suum* infizierten Ferkeln feststellen. Die Anzahl der migrierenden Larven, die die Lunge erreichten, war bei einer nicht ausreichend mit Vitamin A versorgten Kontrollgruppe, im Gegensatz zu der Gruppe die ausreichend mit Vitamin A supplementiert wurde, halbiert.

Bei unzureichender Vitamin A-Versorgung ist die Leistungsfähigkeit der T-Lymphozyten bei der Immunantwort stark eingeschränkt. So kann Vitamin A-Mangel eine Dysfunktion der T-Helfer-Zellen verursachen, die dann eine sehr niedrige IgG-Antikörper Reaktion nach sich zieht. Dies konnten Chun et al. (1992) an Vitamin A defizienten Mäusen nach parenteraler Applikation eines Antigens nachweisen.

Außerdem ist die Wirksamkeit der zytotoxischer T-Lymphozyten bei Vitamin A-Mangel herabgesetzt, wie Sijtsma et al., (1990) nach einer Infektion von Küken mit dem Newcastle-Virus herausfanden.

2.2.3.4.3. Die Bedeutung von Vitamin A für B-Lymphozyten und Plasmazellen

Die B-Lymphozyten spezialisieren sich bei Säugetieren in den Peyerschen Platten und beim Geflügel in der Bursa fabricii auf die Erkennung bestimmter Antigene. Bei Einwirkung eines bestimmten Antigens vermehren sich die hierfür immunkompetenten B-Zellen über 7-8 Generationen, dann wandeln sie sich in Plasmazellen um, die anschließend die Immunglobuline synthetisieren. In den Plasmazellen werden zunächst Immunglobuline von Typ M, danach vom Typ G gebildet.

Neben den Plasmazellen entstehen auch B-Zellen vom Gedächtnistyp, welche die Information über den Aufbau des Antigens speichern und die bei erneuter Einwirkung besonders schnell mit einer Zellvermehrung und mit einer besonders großen Antikörperproduktion reagieren können. Bei der Auslösung der Antikörperbildung gegen zahlreiche aber nicht aller Antigene spielen deren Bearbeitung durch Makrophagen und Dendritenzellen und die Präsentation der veränderten Antigene an T-Helfer-Zellen eine Rolle.

Zur Antikörperbildung gegen das Tetanustoxoid sind z.B. die T-Zellen notwendig, zu der gegen Lipopolysaccharide von *Pseudomonas aeruginosa* allerdings nicht (Pasatiempo und Pusateri, 1990).

Die durch die Präsentation aktivierten T-Zellen geben die Interleukine 2, 3, 4, 5 und 6 ab. Die Interleukine 4, 5 und 6 fördern die Vermehrung von B-Lymphozyten, die Typen 4 und 6 auch die Bildung von Immunglobulinen in den Plasmazellen.

Bei den B-Lymphozyten fungiert nicht die Retinsäure als Mediator für das Wachstum wie bei den T-Lymphozyten, sondern das optisch aktive 14-Hydroxyretroretinol. Da allerdings die Halbwertszeit des 14-Hydroxyretroretinols im Gegensatz zur Retinsäure geringer ausfällt, ist auch die Dauer seiner Wirksamkeit verkürzt. So kann die Zellvermehrung von B-Lymphozyten in vitro durch viermalige Zugabe von geringeren Konzentrationen (0,01 $\mu\text{mol/l}$) an 14-Hydroxyretroretinol im Gegensatz zu einer einmaligen höheren Dosis (1 $\mu\text{mol/l}$) innerhalb von 24 h optimiert werden (Buck et al., 1991).

Anders als beim Zellwachstum spielt die Retinsäure bei der Antikörperbildung wieder eine wichtige Rolle. Hier hat die Retinsäure im Vergleich zu Retinol die größere Wirkungspotenz. Nach Supplementierung mit Retinsäure im Gegensatz zur

Supplementierung mit Retinol in der gleichen Dosierung konnte die Antikörperbildung gesteigert werden. Belegt wurde dies von Sijtsma et al. (1990), indem sie Vitamin A depletierten Küken nach einer Infektion mit dem Newcastle-Virus Retinsäure oder Retinol in einer Menge von 2 mg/kg Futter verabreichten. Bei den depletierten Tieren ohne Substitution war die Antikörperbildung im Vergleich zu den Kontrolltieren vermindert.

Der Wirkungseintritt des Vitamin A bei der Förderung der Immunantwort erfolgt sehr schnell, da nach Applikation von Vitamin A an vorher mangelhaft versorgten Ratten zum Zeitpunkt einer Erst-Immunisierung mit Tetanustoxoid die Bildung von Antikörpern vom Typ M und G sogar um das 1,5 – 2fache größer war als bei durchgehend vollwertig ernährten Tieren (Kinoshita und Xanaka, 1991).

In einem weiteren Versuch konnten die Autoren zeigen, daß die Bildung von „Gedächtniszellen“ des B-Typs trotz Vitamin A-Mangels normal ablief. Wurde nämlich den Vitamin A depletierten Tieren zwei Tage vor der zweiten Immunisierung mit Tetanustoxoid Vitamin A verabreicht, so war die Antikörper-Bildung ebenso groß wie bei den Kontrolltieren. Bei Mangel an Vitamin A bestand bei den Ratten sowohl nach der ersten als auch nach der zweiten Verabreichung von Tetanustoxoid eine verminderte Bildung von Antikörpern.

2.2.3.4.4. Die Bedeutung von Vitamin A für Monozyten und Makrophagen

Die Monozyten und Makrophagen spielen bei der Abwehr von Infektionen und Parasitosen, sowie bei der Beseitigung von Tumorzellen eine wichtige Rolle (Hagen et al., 1999). Sie kommen in besonders großen Mengen in den Lungenalveolen, in der Schleimhaut des Darmkanals und in der Leber, als Kupffersche Sternzellen, vor. Durch in vitro Versuche konnte gezeigt werden, dass die Phagozytosefähigkeit von Monozyten durch Vitamin A gesteigert werden kann. So nahm die tumorizide Wirkung von Monozytenkulturen gegen Melanomzellen nach Inkubation mit Retinol (0,01 µmol/l) oder 13-cis-Retinsäure (1 µmol/l) über einen Zeitraum von 24 Stunden stark zu (Moriguchi et al., 1988).

Die gleiche Wirkung wie bei den Monozyten konnte für Vitamin A auch bei den Makrophagen nachgewiesen werden. Sowohl ein Zusatz von Retinsäure in einer

Konzentration von 0,1 µmol/l zu einer Makrophagenkultur vor einer Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis* als auch ein Zusatz von 10 µmol/l nach der Infektion, führte zu einer starken Hemmung der Keim-Vermehrung im Gegensatz zu Vergleichskulturen (Crowle und Ross, 1989).

Die Steigerung der Phagozytosekapazität von Makrophagen durch Vitamin A kann nicht nur durch in vitro-Versuche sondern auch durch Tierversuche belegt werden.

Bei den Untersuchungen von Hatchigian et al. (1989) wurde festgestellt, dass sich bei Ratten eine zweimal wöchentlich zusätzliche Verabreichung von 3000 I.E. Vitamin A zum normalen Futter über fünf Wochen günstig auf die Beseitigung einer Infektion mit *Salmonella typhimurium* auswirkte. Den Versuchstieren war für den Versuch eine subletale Dosis von 100 000 Keimen pro Tier verabreicht worden. Bei den mit Vitamin A zusätzlich versorgten Tieren erfolgte die Eliminierung der Keime aus dem Blut wesentlich schneller als bei den Kontrolltieren, da der Abbau in der Leber und in der Milz mit größerer Geschwindigkeit stattfand. Eine schnellere Clearance der Keime, bei gleichem Versuchsaufbau, wurde auch nach einer Infektion mit *Listeria monocytogenes* ermittelt.

Die Makrophagen des Peritoneums und der Milz sowie die Kupfferschen Sternzellen der Leber hatten bei verbesserter Versorgung mit Vitamin A eine höhere Phagozytosekapazität als die der Kontrolltiere.

2.2.3.4.5. Die Bedeutung von Vitamin A für die natürlichen Killer-Zellen

Natürliche Killer-Zellen sind große, granulareiche Lymphozyten. Sie sind nicht antigenspezifisch und können ohne vorherige Antigenexposition sofort die Zielzelle (v.a. virusinfizierte Zellen sowie Tumorzellen) zerstören. Bei Mangel an Vitamin A ist die zytolytische Aktivität der natürlichen Killer-Zellen aus der Milz und aus dem Blut vermindert, da die Bildung des Interferon gamma herabgesetzt ist. Nach Supplementierung von Vitamin A oder von Retinsäure normalisierte die Aktivität der natürlichen Killer-Zellen wieder (Bowman et al., 1990; Ross, 1996).

Um die Abhängigkeit der zytolytischen Wirkung der natürlichen Killerzellen von Interferon gamma und einer ausreichenden Vitamin A-Versorgung genauer zu untersuchen, verabreichten Zhao und Ross (1992) eine die Bildung von Interferon gamma induzierenden Nukleinsäure (Poly I : C) an vorher Vitamin A depletierte Ratten. Die

zytolytische Aktivität der natürlichen Killer-Zellen dieser Ratten nahm um das zweifache zu und war vergleichbar mit der Aktivität der Zellen von den Kontrolltieren, die keinem Vitamin A-Mangel ausgesetzt gewesen waren.

Auf die Aktivierung der natürlichen Killer-Zellen hat Vitamin A allerdings keinen Einfluß (Zhao et al., 1994).

2.2.3.4.6. Einfluß von Vitamin A auf Infektionskrankheiten und Parasitosen

Bereits 1968 stellten Scrimshaw et al. bei der Auswertungen von mehr als 50 Publikationen fest, dass von allen ernährungsbedingten Erkrankungen ein Mangel an Vitamin A die Ausbildung von Infektionskrankheiten am stärksten fördert.

Reifen (2002) führte aus, dass eine Nahrungsergänzung mit Vitamin A sich sehr hilfreich bei einer Großzahl von Infektionen, einschließlich Hauterkrankungen, Broncho-Pulmonalen Dysplasien und einige Formen von Präkanzerosen und Krebserkrankungen auswirken kann.

Bei Infektionskrankheiten steigt der Verbrauch an Vitamin A an, die Konzentrationen von Vitamin A im Blutplasma und in der Leber nehmen daher parallel dazu ab. Dies konnten West et al., (1992) nach Infektion von vier Wochen alten Küken mit dem Virus der infektiösen Bronchitis bzw. mit Reo-Virus, durch Bestimmung der Vitamin A-Konzentrationen in Plasma und Leber, belegen. Als Folge der niedrigen Leber- und Plasmakonzentrationen von Vitamin A ist der Gehalt des Blutes an B- und T-Lymphozyten herabgesetzt, für deren Proliferation Vitamin A benötigt wird. Zu diesem Ergebnis kamen Rombout et al. (1992), nachdem sie Hühner-Küken vom Schlupf an entweder normal oder ungenügend mit Vitamin A versorgten. Als nach 26 Tagen die Tiere künstlich mit dem Newcastle-Virus infiziert wurden, traten klinische Symptome der Erkrankung wie Atembeschwerden und Schwäche nur bei den mangelhaft mit Vitamin A versorgten Tieren auf, was die Autoren auf die durch den Vitamin A-Mangel entstandene Lymphozytose zurückführten.

Friedmann et al. (1991) fütterten Eintags-Küken mit einer Diät, deren Vitamin A-Zulage stark reduziert war. Eine Infektion mit pathogenen E. coli-Keimen nach 21 Tagen führte in der Folgezeit zu einer erhöhten Sterblichkeit im Vergleich zu normal aufgezogenen Kontrollküken. Der Gehalt des Blutplasmas an Antikörpern gegen

E.coli war bei den Küken mit Vitaminmangel herabgesetzt. Ebenso war die Vermehrung von Lymphozyten bei gemeinsamer Kultur mit abgetöteten Zellen von E.coli kleiner als bei den Kontrolltieren. Dass sich auch eine Überdosierung von Vitamin A bei Infektionskrankheiten negativ auswirken kann, konnten die Autoren in einem weiteren Versuch mit gleichem Aufbau, allerdings diesmal mit übermäßiger Vitamin A-Versorgung darstellen. Auch hier war die Sterblichkeit der Küken im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht.

Um die optimale Vitamin A-Supplementierung des Futters von Hühnerküken für eine optimale Immunantwort näher zu beleuchten, machten Sklan et al. (1994) folgende Untersuchungen. Eintagsküken wurde vom ersten Tag an Futter mit unterschiedlichen Vitamin A -Gehalten gegeben. Nach 21 Tagen wurde den Küken β -Casein oder Antigen von Mycobacterium tuberculosis verabreicht. Bei fehlender Zulage von Vitamin A war die Antikörperbildung gegen die beiden Antigene sehr gering. Mit zunehmendem Gehalt im Futter stiegen sie an und waren bei 6,66 $\mu\text{g/g}$ Futter am größten. Mit der höchsten Dosierung konnte keine Steigerung der Immunantwort mehr erreicht werden. Auch bei Inkubation von Lymphozyten mit den genannten Antigenen war die Vermehrung der Lymphozyten bei den Küken mit fehlender Zulage von Vitamin A am kleinsten und bei solchen mit einer Vitamin A-Zulage von 6,66 $\mu\text{g/g}$ Futter am größten. Auch hier konnte mit der höchsten Dosierung von Vitamin A keine Steigerung mehr erreicht werden.

Nicht nur bei Infektionskrankheiten, sondern auch bei vielen Parasitosen nimmt der Gehalt an Vitamin A im Blutplasma wegen des erhöhten Verbrauches ab. So wurde z.B. bei gesunden Hunden ein doppelt so hoher Blutplasma-Gehalt an Vitamin A als bei Hunden mit Sarkoptesräude festgestellt (Ferreira et al., 1985).

Als weitere Parallele zu den Infektionskrankheiten nimmt auch bei den Parasitosen der Gehalt an Antikörpern im Blutplasma bei Vitamin A-Mangel ab.

Nach Infektion mit Schistosoma mansoni wurde bei Ratten mit Vitamin A-Mangel ein niedrigerer Gehalt an Antikörpern, besonders an IgE-Antikörpern, gegen die Parasiten und ein höherer Gehalt an Würmern und an Wurmeiern in der Leber als bei Kontrolltieren festgestellt (Parent et al., 1984).

Der Mangel an Vitamin A führt außerdem zu einer geringeren Entwicklung von B-Zellen (Plasmazellen). Dass daraus nicht nur ein Mangel an IgE-Antikörpern resultiert, sondern die Produktion von parasitenspezifischen Immunglobulinen vom Typ IG 1 im Vergleich zu Kontrolltieren ebenfalls reduziert war, zeigten Carman und Pond (1992) bei einem Versuch mit ausreichend bzw. ungenügend mit Vitamin A versorgten Mäusen im Alter von sechs bis sieben Wochen. Jedem Tier wurden 150 bis 200 Larven von *Trichinella spiralis* (Typ L 1) oral verabreicht. 15 Tage danach waren bei den ausreichend mit Vitamin A versorgten Mäusen keine, bei den nicht ausreichend versorgten etwa 20 Würmer je Tier im Darmkanal nachzuweisen. Bei dem Larven-Gehalt in der Muskulatur bestand jedoch kein Unterschied zwischen den Versuchsgruppen.

Dass bei Vitamin A-Mangel auch die Bildung der eosinophilen Granulozyten reduziert ist, fanden die Autoren heraus, indem sie nach Tötung der Versuchstiere das Knochenmark untersuchten. Bei ausreichender Versorgung mit Vitamin A wies das Knochenmark einen Eosinophilenanteil von 22 %, bei ungenügender Versorgung jedoch nur einen Anteil von 7 bis 8 % auf.

Eine ausreichende Vitamin A-Versorgung erleichtert es dem Organismus, mit Infektionskrankheiten und Parasitosen leichter fertig zu werden. Dies konnte in zahlreichen Tierversuchen nachgewiesen werden.

So wurden zum Beispiel bei den Untersuchungen von Leutskaya et al. (1993) an vier Wochen alte Hühner-Küken jeweils 100 bis 1000 Eier von *Ascaridia galli* verabreicht. Ein Teil der Tiere erhielt 3 Tage vor der Infektion eine Vitamin A-Menge von 2500 I.E., zusätzlich wurde den Tieren am 3. und 6. Tag post infectionem, die gleiche Menge appliziert. Die verbesserte Versorgung mit dem Vitamin A reduzierte die Entwicklung von Parasiten im Gegensatz zu den Kontrolltieren um 40 bis 78%.

In einer anderen Untersuchung konnte nach Verabreichung von Oozysten von *Eimeria tenella* an 15 und 24 Tage alte Hühnerküken ein Zusatz von Vitamin A in einer Menge von 1000 I.E./kg zu einem ansonsten vollwertigen Mischfutter, eine Senkung der Mortalität bei den Versuchstieren im Vergleich zu den Kontrolltieren bewirken (Richter und Wiesner, 1987).

Auch bei Schweinen, die mit *Trichuris suis* infiziert waren, konnte durch eine Vitamin A-Supplementierung die Wachstumsrate signifikant erhöht werden. Die mit Vitamin A behandelten Tiere hatten nach drei Wochen einen 33 % höheren Gewichtszuwachs aufzuweisen, als unbehandelte Kontrolltiere (Medzyavichyus et al., 1989).

2.2.3.4.7. Die Bedeutung von Vitamin A für das Immunsystem des Magen-Darmtrakts

Im Bereich der Schleimhaut des Darms liegt eine große Anhäufung von Makrophagen, von T- und B-Lymphozyten sowie von Granulozyten in den Peyer'schen Platten vor, wo bei Säugetieren auch die Spezialisierung der B-Lymphozyten statt findet. Außerdem werden hier große Mengen der T-Lymphozyten gebildet.

Bei Mangel an Vitamin A waren die Größe der Peyer'schen Platten und der Gehalt an Immunglobulin-haltigen Zellen im Lymphgewebe des Darms von Ratten im Vergleich zu Kontrolltieren ohne Vitamin A-Mangel, herabgesetzt (Majumder und Matamee, 1987) und nach oraler Verabreichung von *Vibriae cholerae*-Toxin oder von *E. coli* war die Bildung von Lymphozyten bei Ratten mit Vitamin A-Mangel vermindert (Majumder und Sattar, 1987).

Die Plasmazellen in der Schleimhaut des Dünndarms bilden hauptsächlich IgA. Jeweils zwei Moleküle von IgA werden mit Hilfe eines Proteins J (=joining piece) zusammengefügt und aus den Zellen abgegeben. Von den Epithelzellen wird ein Rezeptorprotein (R) gebildet. Die Bildung dieses Proteins wird durch ausreichende Versorgung der Zellen mit Vitamin A optimiert. Dies konnte durch Untersuchungen an kultivierten Colon-Zellen von Mäusen festgestellt werden. Bei Zusatz von Interleukin 4 und von Interferon gamma, also von Mediatoren die bei einer Immunantwort auf bakterielle oder virale Infektionen freigesetzt werden, bildeten mehr als 50% der Zellen das Rezeptorprotein (R).

Bei Anzüchtung in Vitamin A-freier Lösung waren nur 21% der Zellen aktiv. Wurde dieser Kultur dann ein Retinsäure-Zusatz von 1 $\mu\text{mol/l}$ beigefügt, so erhöhte sich die Bildung des Rezeptorproteins wieder auf 50% (Sarkar et al., 1994).

Das gebildete Rezeptorprotein (R) wird in die Membran der Epithelzellen überführt und bindet dort das Molekül J-(IgA)₂. Dabei entsteht der gegen Proteasen stabile Komplex R-J-(IgA)₂, der folgende Bedeutung hat:

Zum einen wird er von der Oberfläche der Epithelzellen des Darmes abgegeben und verbindet sich im Darmlumen mit Bakterien und Viren. Dadurch wird die Anlagerung der Bakterien und Viren und somit deren Eindringen in die Epithelzellen gering gehalten. Zum anderen reagiert er in der Schleimhaut mit bereits resorbierten Antigenen oder Infektionserregern, indem er mit diesen Komplexe bildet. Diese

Komplexe werden über die Lymphe in das Blut überführt und zur Leber transportiert. Dort werden die Antigene bzw. Keime dann abgebaut. Das IgA wird über die Galle wieder in den Dünndarm sezerniert und kann dort erneut wirksam werden. Bei Vitamin A-Mangel ist die Ausscheidung von IgA über die Galle allerdings herabgesetzt (Puengtomwatanakul und Sirisinha, 1986).

Bei Mangel an Vitamin A verlaufen Darminfektionen wegen der eingeschränkten Leistungsfähigkeit des Immunsystems besonders heftig und unter Umständen tödlich, da diese Infektionen oft gemeinsam mit größeren Epithelschäden bei Patienten mit Vitamin A-Mangel auftreten. Durch das geschädigte Epithel penetrieren Bakterien und andere Agentien wesentlich leichter und führen so zu Sekundärinfektionen, welche die Gefährlichkeit der ursprünglichen Virusinfektion noch potenzieren können (Ross und Stephensen, 1996).

Im Gegensatz zu einer Kontrollgruppe mit vollwertiger Ernährung, konnte nach einer Rotavirus-Infektion von Mäusen mit Vitamin A-Mangel im Darmtrakt dramatische Veränderungen der Mucosa mit nahezu vollständiger Zerstörung der Zotten und Mikrovillie festgestellt werden. Bei der ausreichend mit Vitamin A versorgten Kontrollgruppe konnte die Rotavirus-Infektion keine so schwerwiegenden Schäden an der Darmschleimhaut anrichten. Außerdem war bei den Kontrollmäusen auch die Antikörperbildung nicht erniedrigt (Ahmed et al., 1990).

2.2.3.4.8. Die Bedeutung von Vitamin A für das Immunsystem der Milchdrüse

Für die Funktionsfähigkeit des Immunsystems der Milchdrüse ist die ausreichende Versorgung mit den Vitaminen A und E, die Eigensynthese von Ascorbinsäure in der Leber, sowie die Versorgung mit Selen von Bedeutung (Kolb, 1995).

Gegen Ende der Trächtigkeit nimmt der Gehalt an Vitamin A und E im Blutplasma auch bei ausreichender Versorgung offenbar wegen der gesteigerten Überführung in den Fetus und in das Kolostrum ab. Bei den Untersuchungen von Goff und Stabel (1990) verminderte sich die Konzentration an Vitamin A im Blutplasma von 55 bis 75 µg/dl am 14. Tag vor dem Abkalben, auf 20 µg/dl am 1. Tag danach.

Im peripartalen Zeitraum wurde eine Abnahme der Phagozytosekapazität der Granulozyten und der Proliferationsfähigkeit der Lymphozyten (Daniel et al., 1987), sowie der Leistungsfähigkeit der Neutrophilen und eine verminderte Stimulierbarkeit der Lymphozyten durch Mitogene (Kehrli et al., 1989) in der Milchdrüse festgestellt. Es wird angenommen, dass die Senkung des Vitamin A-Gehaltes bei der zeitweisen Verminderung der Leistungsfähigkeit des Immunsystems im peripartalen Zeitraum eine Rolle spielt.

Bei ausreichender Versorgung mit Vitamin A, die durch die tägliche intramuskuläre Applikation von 13-cis-Retinsäure in einer Dosis von 200 mg über sieben Tage nach dem Abkalben bewerkstelligt wurde, kam es zu keiner negativen Beeinflussung der Proliferationsfähigkeit der Lymphozyten, im Gegensatz zu Kontrolltieren ohne Injektionen von 13-cis-Retinsäure (Franklin et al., 1995).

Auf die günstige Wirkung einer ausreichenden bzw. zusätzlichen Versorgung mit Vitamin A und mit Carotin auf die Leistungsfähigkeit des Immunsystems der Milchdrüse weisen verschiedene weitere Untersuchungen hin.

So kann durch ausreichende Vitamin A-Substitution der Entstehung von Mastitiden im letzten Drittel der Trächtigkeit bis nach der Geburt vorgebeugt werden (Kolb, 2004).

Von Chew und Johnston (1985) wurde der Einfluß einer täglichen Vitamin A-Zulage mit und ohne zusätzlichem β -Carotin-Anteil vom 30. Tag vor dem Abkalben bis zur 11. Woche danach untersucht. Der niedrigste Zell-Gehalt der Milch im Zeitraum von 2 bis 8 Wochen nach dem Abkalben lag bei der kombinierten Zulage von Vitamin A mit β -Carotin vor. Bei dieser Versuchsanordnung war auch die Zahl der neu infizierten Euterviertel am kleinsten (Dahlquist und Chew, 1985).

Bei einem Versuch von Tjoelker et al. (1987) wurde festgestellt, dass die Proliferationsfähigkeit von isolierten Lymphozyten bei Zusatz von Konkanavalin als Mitogen in der Kultur nach Applikation von 53 000 I.E. an Vitamin A je Rind und Tag von der 6. Woche vor dem Abkalben bis zur 2. Woche danach größer war, als bei den Kontrolltieren ohne zusätzliche Gaben von Vitamin A.

Auf eine günstige Wirkung einer guten Versorgung mit Vitamin A vor und nach der Geburt auf die Funktionsfähigkeit der Neutrophilen weisen die Untersuchungen von Michal et al. (1990) hin. Im Zeitraum von 4 Wochen vor bis 4 Wochen nach dem Abkalben wurde täglich jedem Rind zusätzlich Vitamin A verabreicht. Die aus dem Blut isolierten Neutrophilen wiesen im Gegensatz zu Neurophilen von Kontrollkühen

zum Zeitpunkt des Abkalbens und eine Woche danach eine erhöhte bakterizide Wirksamkeit auf (Chew, 1991).

2.2.3.5. Die Rolle von Vitamin A beim Epithelschutz

Vitamin A ist essentiell für das Wachstum und die Entwicklung von Zellen und Geweben. Sie ist verantwortlich für die Differenzierung der epithelialen Zellen der meisten Schleimhäute im Säugetierorganismus. Bei der Integration von Zellformationen mit Hilfe von „gap junctions“ ist Vitamin A in Form der Retinsäure wirksam (Biesalski und Nohr, 2003). Ferner ist Vitamin A an der Synthese und Polymerisation, hierbei insbesondere am Sulfateinbau in die Mucopolysaccharide und Glycoproteine, beteiligt. Diese sind als Gerüst und Schleimstoffe zur Abdichtung und Abdeckung der Epitheloberflächen notwendig (Pitt, 1966). Vitamin A ist jedoch nicht nur an der Synthese der Schleimstoffe beteiligt, sondern es stimuliert die Epithelbasalzellen auch zur Sekretion von Schleim, der ebenso wie die Sekrete von Speichel- und Tränendrüsen, antiinfektiöse Eigenschaften besitzt (Wolff und Johnson, 1960).

Vitamin A hat außerdem eine wichtige Funktion bei der Aufrechterhaltung der Effektivität der Magenschleimhautbarriere. Die Wirkung von Vitamin A scheint darin zu bestehen, dass es die elektrischen Parameter der Magenschleimhaut stabilisiert und die Proteinsynthese der Mucosazellen der Magenschleimhaut kontrolliert (Ventura et al., 2003).

Bei Vitamin A-Mangel bildet sich an den mucösen Schleimhäuten oft eine squamöse metaplastische Veränderung aus, die mit einer Keratinisierung der obersten Zellschichten einher gehen kann (Gijbels et al., 1992). Von der Keratinisierung sind vor allem die Schleimhäute des Respirationstraktes, der Speicheldrüsen, des Urogenitaltraktes und der Augen betroffen. An den Augen entsteht wegen der dadurch bedingten verminderten Sekretion der Tränendrüsen oft eine Xerophthalmie (Krankheitsbild an den Augen mit Störung der Regeneration von Rhodopsin und Untergang von Photorezeptoren in Verbindung mit Epithelstörungen an Bindehaut und Hornhaut) und eine Keratomalazie (Einschmelzungsvorgänge an der Hornhaut der Augen) (Wolbach und Bessey, 1925).

Bei histologischen Untersuchungen der Speicheldrüsen von Schweinen mit Vitamin A-Mangel wurden in den größeren Speichelgängen Epithelveränderungen in Form von Vakuolenbildungen oder Metaplasie des normalerweise ein- bis zweischichtigen Zylinderepithels in ein vielschichtiges Plattenepithel gefunden (Lüdke et al., 1985).

Die Veränderungen an den Schleimhäuten bei Vitamin A-Mangel können aber auch Auswirkungen ganz anderer Art haben. So können sich die adulten Spulwürmer (*Trichuris suis*) an der geschädigten Darmschleimhaut von Schweinen mit Vitamin A-Mangel die nicht mehr so gut anheften und werden daher viel schneller mit dem Kot ausgeschieden. Zu dieser Schlußfolgerung kamen Pedersen et al. (2001), nachdem sie junge Schweine mit Spulwürmern infiziert hatten. Die Eiausscheidung mit dem Kot bei den Schweinen mit Vitamin A-Mangel stagnierte sehr viel früher als bei der Kontrollgruppe, die ausreichend mit Vitamin A versorgt war.

2.2.3.6. Die Rolle von Vitamin A in der Reproduktion

2.2.3.6.1. Vitamin A beim männlichen Schwein

Vitamin A ist wichtig für die Spermatogenese, da es zum einen essentiell für die Synthese von Testosteron in den Leydig'schen Zwischenzellen ist, zum anderen schützt es das Epithel der Tubuli seminiferi, die bei der Reifung der Spermien eine wichtige Rolle spielen (Gunther, 1976).

Mit dem Beginn der Spermatogenese erfolgte auch die Anreicherung von Retinol im Hodengewebe. So konnte zum Zeitpunkt der Geburt beim männlichen Schwein noch kein Retinol-Gehalt nachgewiesen werden. Im Alter zwischen 12 und 24 Wochen begann die Spermatogenese bei den jungen Schweinen und der Vitamin A-Gehalt im Hodengewebe stieg sehr schnell an und erreichte bald sein Maximum. Dieser hohe Retinol-Gehalt blieb auch beim älteren Eber bestehen und zeigte eine aktive Spermatogenese an. Bei Zwittern war der Vitamin A-Gehalt des Hodengewebes vor und nach der Pubertät geringer als bei normalen Ebern (Booth, 1974).

Bei Vitamin A depletierten Zuchtebern war der Retinol-Gehalt des Spermas erniedrigt, der Anteil von defekten Spermien im Ejakulat war im Vergleich zu Kontrollebern ohne Vitamin A-Mangel erhöht (Steinbrink, 1996).

Bei einer länger andauernden mangelhaften Vitamin A-Versorgung von männlichen Schweinen kann sich eine reversible Hodendegeneration entwickeln (Palludan, 1966).

Wurde Vitamin A wieder supplementiert, so erfolgte die Regeneration des Hodengewebes sehr schnell. So bekamen Eber in einem Versuch von Rao und Raja (1977) 225 Tage eine Vitamin A-Mangel Diät verabreicht, durch die sich eine Hodendegeneration einstellte. Bereits 15 Tage nach Vitamin A-Supplementierung setzte die Regeneration des Hodengewebes ein und nach 45 Tagen war sie bereits abgeschlossen.

Durch längerfristige Zufütterung von hohen Vitamin A-Dosen war es möglich, das Volumen des Ejakulates von jungen Ebern, im Vergleich zu Kontrolltieren ohne Vitamin A-Zusatz, zu verzehnfachen. Der Spermien-Gehalt pro Ejakulat war bei der mit Vitamin A supplementierten Gruppe um den Faktor 1,4 höher als bei der nicht supplementierten Gruppe. Auch die Überlebenszeit der Spermien konnte durch den Vitamin A-Zusatz erheblich verlängert werden (Zhil'tsova, 1974).

2.2.3.6.2. Vitamin A beim weiblichen Schwein

Eine Vielzahl von Untersuchungen zeigten, dass es während der Trächtigkeit in Abhängigkeit vom Schweregrad eines Vitamin A-Mangels zur Resorption oder zur Totgeburt der Feten kommen kann (Saoulidis et al., 1996; Kolb und Seehawer, 1997; Brief und Chew, 1985; Coffey und Britt, 1993; Whaley et al., 1997; Mingazov und Vaganova, 1978; Wang et al., 2004). Werden lebensfähige Ferkel geboren, können sie verschiedenartige Defekte haben, wie zum Beispiel unterschiedlich schwer ausgeprägte Missbildungen der Augen bis zum gänzlichen Fehlen der Augäpfel, Ausbildung von verschiedenen großen Augen, beidseitiger Kryptorchismus, Bildung einer Hasenscharte oder einer offenen Gaumenspalte (Campbell et al., 2004).

Dabei stellten sich die Mißbildungen und die Lebensunfähigkeit der Ferkel oft erst dann ein, wenn die Sauen 2-4 Trächtigkeiten und Laktationen Vitamin A-arm bzw. völlig ohne Vitamin A ernährt worden waren (Hjarde et al., 1961).

Diese weitreichenden Folgen des Vitamin A-Mangels rühren daher, dass Vitamin A nicht nur Einfluß auf die Steroidhormon-Bildung in den Ovarien nahm, sondern auch das hormonelle Milieu im Uterus mitbestimmte (Chew, 1993). So zeigten Vitamin A-

defiziente Ratten eine verminderte Sekretion von Progesteron in die ovariellen Venen zwischen dem 9. und 15. Trächtigkeitstag (Ganguly et al., 1971). Wurden Granulosaluteinzellen vom Schwein mit Retinol und Retinsäure in vitro inkubiert, konnte man eine gesteigerte Bildung von Progesteron im Gegensatz zu Kontrollzellkulturen beobachten (Talavera und Chew, 1988).

Bei Anwesenheit von Progesteron sezerniert der Uterus eine Reihe von verschiedenen Proteinen, die eine wichtige Rolle bei der Ernährung des Konzeptus spielen (Roberts und Bazer, 1980, 1988; Buhi et al., 1979).

Auch die Sekretion von Retinol-binding-Protein (RBP) durch den Uterus ist progesteroninduziert, wie bei Versuchen mit Hormonsubstitutionen bei ovariectomierten Sauen gezeigt werden konnte (Adams et al., 1981).

Neben dem Endometrium des Uterus produziert auch der Konzeptus des Schweines selbst RBP (Harney et al., 1990; Trout et al., 1990).

Das RBP hat verschiedene Funktionen im Reproduktionstrakt des weiblichen Schweines: Transfer von Retinol zum Fetus, Bereitstellung von Substraten um Retinsäure und andere biologisch aktive Metaboliten von Retinol bilden zu können und Schutz der Gewebe vor oxidativen Reaktionen (Blomhoff et al., 1990). Vitamin A liegt im Reproduktionstrakt in unterschiedlichen Formen vor, was auf die unterschiedlichen Arten des Metabolismus zurückzuführen sein kann. So wurde im Myometrium Vitamin A als Retinylester gespeichert, während im Endometrium mehr als 90% des Vitamin A als Retinol vorlag. Dieses wurde in die Uterusflüssigkeit sezerniert (Schweigert et al., 1999). Das Retinol in den Uterusflüssigkeiten bewahrt den Embryo unter anderem wahrscheinlich vor der oxidierenden Aktivität des Uteroferrins (Vallet und Christenson, 1995). Trout et al. (1992) konnten eine hohe Korrelation zwischen der Embryonengröße und dem Retinolspiegel in der Uterinflüssigkeit ($r = 0,97$) nachweisen.

Der Effekt einer Vitamin A-Supplementierung auf den nachfolgenden Reproduktionszyklus wird widersprüchlich diskutiert:

Tokach und Dial (1992) führten eine Studie auf einer kommerziellen Schweinefarm durch und zeigten an 956 Sauen, dass eine einzelne Injektion von β -Carotin, Vitamin A oder auch eine Kombination von β -Carotin und Vitamin A zum Zeitpunkt des Entwöhnens keinen Effekt auf den nachfolgenden Reproduktionszyklus hatte. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Pusateri et al. (1999). Auch bei ihnen zeigte eine

einzelne Vitamin A Injektion zu unterschiedlichen Zeitpunkten zwischen Entwöhnen und erneutem Wurf keinen Einfluß auf die Wurfstärke.

Im Gegensatz dazu fanden Coffey und Britt (1993) in ihrer Arbeit heraus, dass nach der Injektion von 200 mg Provitamin A (β -Carotin) beim Absetzen, die Wurfgröße bei mehrfach gebährenden Sauen erhöht werden konnte. Die Injektion hatte jedoch keine Wirkung bei Erstgebärenden. Auch Brief und Chew (1985) konnten zeigen, dass Vitamin A die Reproduktionsrate steigerte, indem weniger Embryonen abstarben und dadurch die Ferkelzahl pro Wurf anstieg. Mehrere Feldversuche von Whaley et al. (2000) haben gezeigt, dass die Wurfstärke um 0,6 bis 1,5 Ferkel pro Wurf verstärkt werden konnte, wenn die Sau eine Vitamin A-Injektion beim Entwöhnen verabreicht bekommen hatte. Die Autoren gingen davon aus, dass Vitamin A die Entwicklung der Embryonen beeinflussen kann, indem es die Wiederaufnahme der Meiose beschleunigt und das hormonelle Milieu während der Follikelreifung verändert.

Eine Verkürzung des Zeitintervalls zwischen Geburt und erneuter Bedeckung bei Zuchtsauen von vier bis sieben Tagen konnte Kairov (1998) mit einer erhöhten Supplementation von Vitamin A zum Futter erreichen. Im Vergleich zu einer Kontrollgruppe nahmen diese Sauen während der Trächtigkeit 5-19% mehr an Gewicht zu, die Wurfstärke war höher und die Ferkel hatten ein höheres Geburtsgewicht.

2.2.4. Bioverfügbarkeit von Vitamin A bei unterschiedlichen Formulierungen

Die höchste Speicherung von Vitamin A in der Leber von acht Tage alten Ferkeln erfolgte im Gegensatz zur oralen Applikation nach intramuskulärer Injektion einer wasserlöslichen Zubereitung. Dabei konnte der Anstieg der Vitamin A-Konzentration in der Leber bereits nach vier Tagen nachgewiesen werden, was einen schnellen Abtransport aus dem Injektionsbereich im Muskel anzeigt.

Bei Lösung des Vitamin A in Ethyloleat erfolgte nach oraler Eingabe erst nach drei bis vier Wochen eine Zunahme des Vitamin A-Gehaltes im Blutplasma, während die intramuskuläre Applikation der öligen Lösung weder einen Konzentrationsanstieg im Plasma noch in der Leber zur Folge hatte (Christensen, 1958).

Wurden wenige Wochen vor dem Abferkeln wasserdispergierte Vitamin A-Präparate parenteral an Sauen verabreicht, so führt ein erhöhter Vitamin A-Spiegel im Kolostrum zu einer bemerkenswerten Erhöhung des Vitamin A-Gehaltes in der Leber der neugeborenen und zwei Wochen alten Ferkel.

Bei der Injektion von öligen Zubereitungen konnte kein erhöhter Vitamin A-Gehalt in den Lebern der Ferkel festgestellt werden. (Pujin, 1967)

Um eine fütterungsbedingte, chronische Hypervitaminose A bei Schweinen zu provozieren ist bei einer fettlöslichen Vitamin A-Formulierung die 10-fache Dosierung im Gegensatz zu wasserlöslichen, emulgierten oder pulverisierten Vitamin A-Präparaten nötig (Myhre et al., 2003).

2.2.5. Versorgung der Schweine mit Vitamin A

Die höchsten Anforderungen an eine ausreichende Vitamin A-Versorgung werden nach Nehring und Hoffmann (1966) bei hohem Leistungsniveau und stark konzentrierter Haltung der Schweine sowie bei deren Aufzucht gestellt.

Aber auch Infektionen und Parasitosen (Bebravichyus and Medzyavichyus, 1989; Stephensen, 2001) sowie andere Streßfaktoren wie schlechte Haltungsbedingungen, Trächtigkeit, Laktation oder schnelles Wachstum mit erhöhtem Eiweißumsatz können vielfach zu einem verstärkten Abbau der Vitamin A-Reserven infolge gesteigerten Bedarfes führen und so unter Umständen zur Auslösung von Vitamin A-Mangelsymptomen beitragen.

Der erhöhte Vitaminverbrauch bei längerer Zeit bestehenden Belastungen ergibt sich dabei zusätzlich durch die Immunsuppression, die durch die erhöhte Sekretion von Cortisol und Cortikosteron bedingt ist (Kolb und Seehawer, 2001).

Die durch diesen Streß bedingte Cortisolausschüttung und deren Einfluß auf die Vitamin A-Konzentration im Plasma wurde von Dvorak (1987) in seinen Versuchen mit Ferkeln näher untersucht. Dazu verabreicht er 15 Tage alten Ferkeln 0,25 mg Cortison. Zwei Stunden nach der Applikation war die Plasmakonzentration von Vitamin A im Vergleich zu einer Kontrollgruppe signifikant erniedrigt. Auch Underwood et al. (1979) konnte eine durch Streß bedingte Reduktion des Plasma-Retinols sowie des Plasma-RBP bis 25% in seinen Versuchen an Ferkeln nachweisen.

Besonders häufig treten Mängel in der Versorgung mit Vitamin A während der Säugeperiode bei Vorliegen von Infektionen der Lungen und des Magen-Darmkanals auf, die den Verbrauch an Vitaminen erhöhen und oft die Nahrungsaufnahme sowie die Resorption einschränken (Johnson et al., 1992). Auch bei Unterbrechung der Futteraufnahme und bei Diarrhoe vermindert sich der Gehalt an Vitamin A im Blutplasma sehr schnell. So war bei neun Wochen alten Ferkeln nach einer dreitägigen Hungerperiode deren Vitamin A-Gehalt im Blutplasma fast halbiert (Dvorak, 1983).

Die Abhängigkeit des Vitamin A-Verbrauches von der metabolischen Aktivität kann man im Wachstumsverlauf nachweisen.

Absatzferkel, die 1000 I.E. Vitamin A je kg Mischfutter erhielten, speicherten, gemessen an der aufgenommenen Dosis, praktisch kein Vitamin A in der Leber.

Dagegen wurden während der Mast entsprechend dem abnehmenden Bedarf für das Wachstum 17% der aufgenommenen Vitamin A-Dosis in die Leber eingelagert.

Der enorme Konzentrationsanstieg des Vitamin A in der Leber älterer Schweine ist vor allem auf das im Vergleich zum Körperwachstum verminderte Wachstum der Leber zurückzuführen (Schöne, 1981).

2.2.5.1. Vitamin A - Versorgung der Ferkel

Der Fetus wird über die Plazenta mit Vitamin A versorgt, ohne dass seine Leber mit nennenswerten Vorräten ausgestattet wird. So konnten bei unterschiedlicher Vitamin A-Versorgung von Muttersauen keine nennenswerten Unterschiede bei den Vitamin A-Gehalten der Lebern von deren neugeborenen Ferkel nachgewiesen werden (Frape et al., 1969). Die Autoren erklärten dies mit der Existenz einer Plazentaschranke, welche die mittlere Vitamin A-Konzentration der Leber des Neugeborenen begrenzt.

Die Abgabe von Vitamin A mit der Muttermilch sichert dann die weitere Versorgung des Neugeborenen, wobei eine lineare Korrelation zwischen den Vitamin A-Reserven der Sauen und den an die Ferkel abgegebenen Vitamin A-Mengen mit der Muttermilch besteht (Hjarde et al., 1961; Hakansson et al., 2001; Sevkovic et al., 1974).

Bei normaler Ernährung der Sauen mit bedarfsgerechten Vitamin A-Mengen betrug der Gehalt von Vitamin A im Kolostrum zwischen 200 und 400 I.E. je 100 ml (Nielsen, 1965).

Neuere Untersuchungen von Ross et al. (2004) bei Ratten zeigten, dass die Konzentration von Vitamin A in der Muttermilch mit der Menge des mit dem Futter Auch Studien an Knock-out-Mäusen, deren Gene für das RBP gelöscht waren, zeigten, dass die extrahepatische Aufnahme von postprandialem, nicht an das RBP gebundenem Vitamin A eine besonders wichtige Rolle beim Vitamin A-Transfer durch das mütterliche Kolostrum auf den Nachwuchs spielt (Li und Tso, 2003). Die Aufnahme von Retinol in die Milchdrüsen erreicht ihr Maximum ungefähr zehn mal so schnell wie die Aufnahme in die Leber. Dies wird durch eine schnelle aktive Lipolyse aufgenommenen (postprandialen) Vitamin A zusammenhing, während der Spiegel des an das RBP gebundene Retinol im Plasma dabei unverändert blieb.

der Chylomicronen, an die das Retinol gebunden ist, im Milchdrüsengewebe bewerkstelligt.

Ferkel von nicht Vitamin A-depletierten Muttersauen, die eine einmalige hohe Dosis von Vitamin A während der Laktation erhalten hatten, zeigen keinen signifikanten Unterschied in den Vitamin A-Konzentrationen ihrer Lebern, im Vergleich zu Ferkeln von Muttersauen, die eine einmalige, niedrige Dosis verabreicht bekommen hatten. Eine gute Erklärung hierfür ist eine physiologische Grenze für Vitamin A-Konzentrationen die in die Muttermilch aufgenommen werden kann. Für die säugenden Ferkel ist es also unerheblich, ob eine ausreichend mit Vitamin A versorgte Muttersau eine zusätzliche Dosis Vitamin A verabreicht bekommt oder nicht (Valentine und Tanumihardjo, 2005).

Anders sah es bei nicht ausreichend mit Vitamin A versorgten Muttersauen aus. So war der Vitamin A-Gehalt des Kolostrums - vor dem ersten Säugen der neugeborenen Ferkel - von Sauen, die während der Trächtigkeit hohe Dosen von Vitamin A intramuskulär verabreicht bekommen hatten fast doppelt so hoch wie bei Sauen, die während der Trächtigkeit nicht ausreichend mit Vitamin A versorgt gewesen waren (Emel-zanov und Frecmane, 1972). Ferkel von Sauen, die ausreichend mit Vitamin A versorgt waren, besaßen dann im Alter von ein bis zwei Wochen einen durchschnittlich doppelt so hohen Vitamin A Gehalt /g Leber wie am ersten Lebenstag.

Für die Bestandsbetreuung und der damit verbundenen Einschätzung der Vitamin A-Versorgung der Tiere eines Betriebes hat es sich bewährt, die Vitamin A-Gehalte der Lebern von Totgeburten und von zwei Wochen alten Saugferkeln zu bestimmen. So kann man Rückschlüsse auf die Vitamin A-Versorgung sowohl der trächtigen Sau als auch ihrer Ferkel vor und nach der Geburt ziehen (Dannenber, 1969).

2.2.5.2. Vitamin A – Bedarf des wachsenden Schweines

Als Grenzwert für eine ausreichende Vitamin A-Versorgung wird von Dannenberg (1971), Polann und Grätsch (1976) und Schöne (1986) ein Vitamin A-Lebergehalt von über 30 I.E./g Leber angegeben. Andere Autoren wie Behrens (1965) und Schmidt (1973) propagieren dagegen Werte von über 50 I.E./g Leber, um eine normale Leistung der Mastschweine zu garantieren.

Eine Vitamin A-Mangel bedingte Verzehr- und Wachstumsdepression bei Absatzferkeln tritt gewöhnlich zwischen der siebten und dreizehnten Lebenswoche auf.

Wenn die Vitamin A-Vorräte der Lebern von Ferkeln zum Absetzen über 50 I.E. bzw. zu Mastbeginn über 100 I.E./g betragen, blieben allerdings Futtermittelverzehr, Lebendmassezunahme und Futteraufwand von weiteren Vitamin A-Zusätzen weitestgehend unbeeinflusst. Der Zusatz von 250 I.E. an Vitamin A erbrachte dann im Vergleich zu 4000 I.E. vom Absetzen bis zum Mastende die gleiche Gewichtszunahme. Die Massen von Leber, Milz, Nieren, Herz und Gehirn wurden von der Vitamin A-Versorgung nicht beeinflusst. Gleiches gilt für die Körperzusammensetzung und den Fettansatz (Schöne und Lüdke, 1984).

Auch die weitere Speicherung von Vitamin A in der Leber während der Mast hängt von der Vitamin A-Versorgung der Ferkel während der Saugperiode ab. So reicherten Jungschweine mit einer Leber-Vitamin A-Konzentration zu Beginn der Mast von über 100 I.E./g Leber während der Mast wesentlich weniger Vitamin A in der Leber an als Tiere, deren Vitamin A-Depots zu Mastbeginn sehr niedrig gewesen waren (Hennig et al., 1985). Bei weiteren Versuchen mit Mastschweinen konnten die Autoren nachweisen, dass die gleiche Vitamin A-Dosierung des Futters mit zunehmendem Alter einen signifikanten Konzentrationsanstieg von Vitamin A in der Leber zur Folge hatte. Bei einem Zusatz von 4000 I.E. Vitamin A pro kg Futter zeigte sich eine vom Alter unabhängige, konstante Speicherung des zugeführten Vitamin A in der Leber von 17 bis 18 %.

Da die Leber aber in Beziehung zur Körpermasse negativ allometrisch wächst, kann der sich von Mastbeginn bis zur Schlachtreife verdoppelnde Vitamin A-Gehalt der Leber durch den Abfall der relativen Lebermasse von 25 auf 13 g pro kg KM erklärt werden (Steinhardt et al., 1985).

2.2.6. Symptome der Hypovitaminose A beim Schwein

Eines der häufigsten Merkmale des Vitamin A-Mangels bei neugeborenen Ferkeln sind Affektionen an den Augen, wie z.B. Blindheit, unterentwickelte Augäpfel oder gänzliches Fehlen der Augen. Bei Absatzferkeln führte die Verfütterung einer Vitamin A-freien Diät nach etwa fünf bis sieben Wochen zu einer Verzehr- und Wachstumsdepression. Nach weiteren zwei Wochen kam es dann zu neurologischen Störungen wie Ataxien, Paresen und Paralysen (Lüdke et al., 1985; Pavlov, 1986; Salum und Njavike, 1993).

Beim älteren Schwein zeigt sich eine Hypovitaminose A meist durch zwei Symptomenkomplexe: Zum einen durch eine schlechtere Reproduktionsrate bei Sauen mit der Geburt lebensschwacher oder toter Ferkel, zum anderen mit Koordinationsstörungen und Paresen der Hintergliedmaßen (Whitehair und Miller, 1981).

Als weiteres charakteristisches Symptom des fortgeschrittenen Vitamin A-Mangels nannten Lüdke et al. (1985) Stimmaffektionen, die sie als „Kreischlaute“ beschrieben. Etwa ein Drittel der Tiere mit Vitamin A-Mangel zeigten dieses Symptom.

Epithelveränderungen in den Speicheldrüsen stellten ebenso einen typischen Befund bei der Hypovitaminose A dar. Diese Epithelveränderungen zeigten sich in Form von Vakuolenbildungen oder durch eine Metaplasien des normalerweise ein- bis zweischichtigen Zylinderepithels in ein vielschichtiges Plattenepithel in den größeren Speichelgängen. Das Epithel der Speicheldrüse zeigte die beschriebenen Veränderungen noch vor dem Auftreten der nervösen Störungen und stellt somit ein sehr sensibles Kriterium für den Vitamin A-Mangel dar. Hyperkeratinisierung und Blindheit wurden nur vereinzelt registriert und konnten daher nach Einschätzung der Autoren nicht in dem Grade als typisch für den Vitamin A-Mangel des Schweines gelten wie die nervösen Störungen und die Stimmaffektionen.

Rahman et al. (1996) fanden bei Schweinen mit Hypovitaminose A neben der epithelialen Hyperplasie der Speicheldrüsen auch ebensolche Veränderungen am Oberflächenepithel der Alveolen und Bronchiolen der Lungen und an den Nierentubuli.

Genauere pathologische und vor allem histologische Untersuchungen von Schweinen mit Vitamin A-Mangel führte Carrigan et al. (1988) durch. Dazu wurden mehrere Schweine unterschiedlichen Alters mit einer deutlich ausgeprägten

Hypovitaminose A getötet. Die pathologischen Veränderungen waren sich bei allen untersuchten Schweinen sehr ähnlich.

Die herausragendsten Befunde waren ein cerebrales Ödem und eine kegelförmige Verformung des Kleinhirns.

Bei sechs bis acht Wochen alten Ferkeln konnte eine Verdickung des Osseus tentorium cerebelli festgestellt werden. Außerdem hatten einige Ferkel mehrere weiße, ein bis zwei Millimeter große Knoten in der Tunica mucosa der Harnblase, die durch eine keratinisierende, squamöse Metaplasie des Blasenepithels verursacht worden war.

Die wichtigste histopathologische Veränderung war die sog. „Wallersche Degeneration“, die in unterschiedlicher Ausprägung in allen Bereichen der weißen Substanz des Rückenmarks nachgewiesen werden konnte.

Bei der „Wallerschen Degeneration“ handelt es sich um eine sekundäre Degeneration und Nekrose von Nervenzellfortsätzen nach Unterbrechung ihrer Verbindung mit dem Perikaryon. Sie entstand hier durch einen erhöhten Liquordruck. Dieses Krankheitsbild war bei allen untersuchten Schweinen vorhanden.

Eine weniger stark ausgeprägte „Wallersche Degeneration“ wurde bei fast allen Schweinen auch in der weißen Substanz des Gehirns gefunden, wobei davon das Kleinhirn und der hintere Hirnstamm am stärksten betroffen waren.

Carrigan et al. (1988) machte zwei pathologische Mechanismen für die zentralnervösen Störungen bei den Vitamin A-defizienten Schweinen verantwortlich; zum einen eine Osteodystrophie des Schädeldaches und der Wirbelsäule und zum anderen ein erhöhter Liquordruck.

Die Osteodystrophie resultiert aus einer veränderten Aktivität der Osteoklasten, die zu einer vermehrten Knochenbildung bei sich im Wachstum befindlichen Schweinen führt (Barnicot und Datta, 1972).

Der erhöhte Liquordruck bei Schweinen mit Vitamin A-Mangel ergibt sich aus einer vermehrten Sekretion des Plexus Chorioideus und einer verminderten Absorption durch die arachnoidalen Villi (Sullivan, 1985).

Durch diesen erhöhten Druck ergibt sich eine Erweiterung des liquorgefüllten Zentralkanal des Rückenmarks (Hydromyelia) und eine Höhlen- und Röhrenbildung in der grauen Substanz des Rückenmarkes, unabhängig vom Zentralkanal aber in seiner Nähe liegend (Syringomyelia). Aus diesen Faktoren resultierte die „Wallersche Degeneration“ in diesen Gebieten.

Ähnliche Befunde hatten Odiawo et al. (1990) bei Mastschweinen mit Vitamin A-Mangel in einem Betrieb in Zimbabwe beschrieben. Die Sektion ergab auch hier eine Komprimierung des Rückenmarkkanals und des Gehirns durch einen erhöhtem Liquordruck. Histologisch konnten axonale Schwellungen im Rückenmark mit einer Degeneration der cranialen Ganglien sowie eine squamöse Metaplasie des Epithels der interlobulären Gänge der Parotis nachgewiesen werden.

2.2.7. Symptome der Hypervitaminose A beim Schwein

Vitamin A kann als fettlösliches Vitamin im Körper gespeichert werden. Seine Umwandlung in exkretionsfähige Formen ist allerdings begrenzt und so entwickelt sich bei einer Überversorgung mit Vitamin A eine Hypervitaminose.

Bei Aufnahme von Vitamin A in mehr als der 100fachen Menge des Bedarfs steigt der Gehalt an Retinylestern im Blutplasma an. Ihr Anteil ist dann gegenüber dem des proteingebundenen Retinol deutlich erhöht. Die Ester werden im Plasma nicht an das Retinol-binding-Protein, sondern an Lipoproteine gebunden. Dieser unspezifische Transport wird für die toxischen Eigenschaften mitverantwortlich gemacht, da die Aufnahme in die jeweiligen Zellen unreguliert ablaufen kann (Sklan und Donoghue, 1982 b).

Vitamin A wird in den Zellen neben dem Zellkern vor allem in den Lysosomen angereichert. Dies sind Zellorganellen, die Hydrolasen enthalten, um die von den Zellen durch Pinozytose oder Phagozytose aufgenommenen organischen Substanzen einem intrazellulären Abbau zu unterziehen. Wird bei einer Hypervitaminose zu viel Vitamin A in die Zelle aufgenommen, so werden die Zellmembranen durch die membranolytische Wirkung des Vitamin A geschädigt. Erschwerend kommt hinzu, dass auch die Membranen der Lysosomen an Stabilität verlieren und so die Zellen zusätzlich von innen durch die freigesetzten Enzyme aus den Lysosomen angegriffen werden können.

Ein zunehmender Plasma-Retinolspiegel hat auch Auswirkungen auf einige Elektrolyte im Plasma. So erhöhte sich der Calciumspiegel im Serum linear mit zunehmender Vitamin A-Supplementierung, bis es dann bei einer Vitamin A-Überdosierung zu einer Hypercalzämie kam. Einzige Ausnahme bildete dabei der subtoxische Bereich, bei dem eine Erniedrigung des Calciumspiegel festzustellen

war. Etwas anders verhielt es sich bei dem anorganischen Phosphor. Hier stieg der Serumspiegel bei zunehmender Vitamin A-Zufuhr bis er sein Maximum im subtoxischen Bereich erreichte, um dann im toxischen Bereich abzusinken. Veränderungen in der Zusammensetzung der Knochenasche der Metatarsalknochen in Abhängigkeit von der Vitamin A-Supplementierung konnten bezüglich des Calciumgehaltes nicht festgestellt werden. Der Gehalt der Knochenasche an Phosphor nahm mit steigender Vitamin A-Dosierung allerdings in signifikanter Weise zu (Anderson et al., 1966).

Auswirkungen einer zunehmenden Vitamin A-Versorgung sind desweiteren auf die Aktivitäten der alkalischen Phosphatase im Serum und in den Knochen sowie auf die Gewichtszunahme von Schweinen zu verzeichnen. Mit zunehmender Dosierung erfolgt eine Steigerung, die im subtoxischen Bereich stagniert, um im toxischen Bereich einen signifikanten Rückgang zu erfahren (Donoghue et al., 1979).

In weiteren Fütterungsversuchen bei Schweinen konnten Anderson et al. (1966) keinen statistischen Zusammenhang zwischen dem diätetischen Gehalt von Vitamin A und dem Hämoglobinwert oder dem Hämatokrit ermitteln.

Anders verhielt es sich bei den Hydroxyprolinwerten im Plasma, hier wurde ein hoch signifikanter, linearer Anstieg in Korrelation mit der Zunahme der Vitamin A-Gehalte im Futter beobachtet.

Hydroxyprolin ist eine nur in Gerüstproteinen (Kollagen) vorkommende, nicht essentielle Aminosäure. Die Erhöhung ihrer Werte in Verbindung mit einer Hypervitaminose A könnte aus einem generellen Zusammenbruch des Bindegewebes der Blutgefäße herrühren, welcher das Auftreten der generalisierten Hämorrhagien erklären würde, die regelmäßig in Verbindung mit einer toxischen Hypervitaminose A beobachtet werden konnten. Erschwerend kommen die bei einer Vitamin A-Übersorgung parallel auftretenden Symptome eines Vitamin K-Mangels in Form einer verlängerten Blutgerinnungszeit hinzu, da Vitamin A die Wirkung von Vitamin K hemmt. (Matschiner et al., 1967).

Der Verlauf und die Symptome einer Hypervitaminose A beim Schwein wurden von Anderson et al. (1966) genauer untersucht.

Die durchschnittliche Anzahl der Tage bis zum Auftreten der ersten Vergiftungssymptome in Abhängigkeit von der jeweiligen Vitamin A-Dosierung nahm erwartungsgemäß mit steigender Vitamin A-Supplementierung ab.

Bei einer Dosierung von 1.100.000 I.E. verstarben bereits nach vierzehn Tagen drei der Versuchsschweine, ohne vor ihrem Tod äußere Anzeichen einer toxischen Hypervitaminose A gezeigt zu haben. Bei der Sektion der toten Schweine wurden allerdings massive innere Einblutungen in die Tarsalgelenke, in die Subserosa und Mucosa des Gastrointestinaltraktes, sowie in das Pericard und in den corticomedullären Bereich der Nieren gefunden.

Nach einundzwanzig Tagen manifestierten sich bei den verbliebenen Schweinen die typischen Symptome der Hypervitaminose A wie eine rapide Verschlechterung der Kondition, struppiges Haarkleid, schuppige Haut, gesteigerte Schreckhaftigkeit und Empfindlichkeit bei Berührungen. Des weiteren traten Erytheme und umschriebene petechiale Blutungen an den Gliedmaßen und dem Abdomen auf und es entwickelten sich blutende Hautfalten oberhalb der Klauenschuhe. Blutbeimengungen in Urin und Kot konnten nachgewiesen werden, Tränenfluß und ein periodisch auftretender Tremor war bei fast allen Tieren vorhanden.

Außerdem konnten Schwellungen an den Gelenken beobachtet werden, die mit einer deutlichen Bewegungsunlust der Tiere verbunden war (Dobson, 1969). Etwa eine Woche nach dem Auftreten der ersten Vergiftungsanzeichen verloren die Tiere die Kontrolle über ihre Hintergliedmaßen, wenig später verschwand auch die Kraft und Kontrolle der Vordergliedmaßen.

Röntgenologische Untersuchungen belegen, dass die Knochen, ausgenommen der Metatarsal- und Metacarpalknochen, der Versuchstiere generell kürzer waren als die von Kontrolltieren. Die Corticalis der Knochen war dünner, die Trabecula der Metaphysen waren feiner und der Durchmesser des Schaftes bei den Röhrenknochen war geringer. Die Knorpelschicht vieler Epiphysen war weniger ausgeformt und verdünnt. Etliche Epiphysenfugen waren schon vorzeitig geschlossen (Pryor et al., 1969). Die vorzeitige Verknöcherung der Epiphysenfugen zeigte eine Störung in der enchondralen Ossifikation der Knochen an, das Längenwachstum der Knochen wurde somit frühzeitig unterbrochen (Kodaka et al., 1998; Doige und Schoonderwoerd, 1988).

Bei der Sektion erwiesen sich die Knochen als sehr fragil, sie konnten leicht gebrochen und geschnitten werden. Diese Befunde finden sich nicht nur beim Schwein, sondern bei vielen untersuchten Tierarten, im Gegensatz zu den anderen Spezies finden sich beim Schwein allerdings keine pathologischen Spontanfrakturen.

Eine weitere nur beim Schwein beobachtete besondere Auswirkung der Hypervitaminose A sind Veränderungen an der Hinterhauptsschuppe. Sie scheint besonders empfindlich auf eine Überversorgung mit Vitamin A zu reagieren und wird in ihrer Mittellinie total zerstört. Streß-Deformationen und subdurale hämorrhagische Blutungen sind die Folge (Wolke und Nielsen, 1968).

Histologische Untersuchungen der Knochen von wachsenden Schweinen mit Hypervitaminose A ergaben, dass die Zahl der Osteoblasten signifikant erniedrigt war, während die Osteoklasten in normaler Anzahl vorhanden waren.

Daher kann bei normalen Umbauvorgängen durch die Osteoklasten nicht genügend neue Matrix durch die fehlenden Osteoblasten gebildet werden. Das daraus entstehende mikroskopische Bild stimmte mit dem der Osteochondrose überein (Blair et al., 1989).

3. Material und Methoden

Das Ziel der Versuche war herauszufinden, ob nach oraler Verabreichung die Aufnahme von Vitamin A in das Blut und die Speicherung in ausgesuchten Organen durch die Darreichungsform des Vitamins beeinflusst wird.

3.1. Versuch 1

Um die optimalen Zeitpunkte für die Blutentnahmen bzw. die Entnahme der Organproben herauszufinden, wurde Versuch 1 mit nur wenigen Versuchstieren dem Versuch 2 vorangestellt.

3.1.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden Zuchthybriden aus Deutscher Landrasse x Pietrain ausgewählt.

Nach einer Adaptionsphase von 6 Wochen betrug das durchschnittliche Gewicht der 10 weiblichen Schweine bei Versuchsbeginn 35 ± 2 kg.

3.1.2. Versuchsablauf

Zu Versuchsbeginn wurden die Schweine nach Gewicht randomisiert und je fünf Tiere in eine Kontrollgruppe und eine Versuchsgruppe eingeteilt.

Die Tiere der Versuchsgruppe erhielten zu Versuchsbeginn jeweils 4 ml mit 300.000 I.E. Vitamin A der Vitaminemulsion „sano-vital AE“ (1 ml enthält 75 000 I.E. Vitamin A) mit einer Einmalspritze oral verabreicht.

Den Tieren der Kontrollgruppe wurde über einen Dosierspender 4 ml Wasser eingegeben, um alle Tiere der gleichen eventuellen Stressbelastung auszusetzen, die beim Handling der Tiere zur Verabreichung der Präparate entstehen kann.

Vor Verabreichung des Präparates, sowie 20 Minuten, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 und 72 Stunden nach der Verabreichung wurden bei allen Tieren 4 ml Blut entnommen.

Drei ausgewählten Tieren wurde nach einer Auswaschphase von 14 Tagen nochmals 4 ml der Vitaminemulsion „sano-vital AE“ (300.000 I.E. Vitamin A) oral eingegeben.

Die Tötung dieser Tiere fand 48 Stunden nach Verabreichung des Vitamin A statt, Proben der Lebern sowie der Darmlymphknoten wurden für die Untersuchungen entnommen und bis zur Analyse bei -30°C tiefgefroren gelagert.

3.2. Versuch 2

3.2.1. Versuchstiere

Wie in Versuch 1 wurden als Versuchstiere Zuchthybriden aus Deutscher Landrasse x Pietrain ausgewählt. Es handelte sich um 55 weibliche und männlich-kastrierte Ferkeln aus verschiedenen Würfen eines Ferkelerzeugers.

Nach einer zweiwöchigen Adaptionsphase an Stall und Futter wurden die Tiere tätowiert und gewogen. Das durchschnittliche Gewicht der Ferkel betrug bei Versuchsbeginn $18 \pm 3,2$ kg.

3.2.2. Versuchsablauf

Die Versuchstiere wurden nach Wurf, Geschlecht und Gewicht randomisiert und in drei Untersuchungsgruppen – zwei Versuchsgruppen mit je 18 Schweinen und eine Kontrollgruppe mit 19 Schweinen - aufgeteilt.

Dabei erhielt die 1. Versuchsgruppe das emulgierte Vitamin A-Präparat „sano-vital AE“, die 2. Versuchsgruppe ein konventionelles Vitamin A Präparat in Pulverform und die Kontrollgruppe als Placebo Wasser.

Vor Verabreichen der jeweiligen Präparate wurde allen Ferkeln 4 ml Blut entnommen um die Basiswerte der Vitamin A-Gehalte der Seren zu ermitteln.

Im Anschluß daran bekamen die Tiere nach ihrer Gruppenzugehörigkeit das Vitamin A bzw. das Placebo verabreicht.

Die „sano-vital AE“ Gruppe erhielt 300.000 I.E. Vitamin A entsprechend 4 ml „sano-vital AE“ (1 ml enthält 75 000 I.E. Vitamin A) in einer Einmalspritze oral verabreicht.

Die Gruppe mit dem konventionellem Vitamin A-Präparat bekam die gleiche Vitamindosis in einer mit dem Vitamin-Präparat gefüllten Gelatine kapsel eingegeben. Der Kontrollgruppe wurden 4 ml Wasser ebenfalls in einer Einmalspritze verabreicht, um alle Tiere der gleichen eventuellen Streßsituation auszusetzen, die beim Handling der Tiere zur Verabreichung der Präparaten entstehen kann.

Um die Vitamin A-Konzentrationen im Serum bestimmen zu können, wurde ausgehend von den Ergebnissen des Vorversuches, nach 20 Minuten, nach 1, 3, 5, 6, 7, 12 und 24 Stunden den Tieren nochmals je 4 ml Blut entnommen.

Bei allen drei Gruppen wurde nach dieser Versuchsphase eine zweiwöchige Auswaschphase eingehalten.

Im Anschluß daran bekamen die Tiere entsprechend ihrer Gruppenzugehörigkeit noch einmal die gleiche Dosis von Vitamin A bzw. Wasser oral verabreicht, um das Speicherverhalten von Vitamin A in den Organen vergleichen zu können.

Aus jeder Gruppe wurden je fünf Tiere nach 24, 48 und 96 Stunden getötet.

Die Organproben von Lunge, Leber, Niere sowie Darmlymphknoten aus dem Dünndarmbereich wurden den Tieren sofort entnommen und ebenfalls bis zur weiteren Verarbeitung bei -30°C tiefgefroren.

3.2.3. Haltung der Versuchstiere

Die Tiere wurden während des Versuchs in Einzelbuchten mit einer Fläche von 2 m^2 auf Betonboden, welcher im vorderen Teil mit Spaltengitter ausgestattet war, im Stall des Instituts für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung am Oberwiesenfeld in München, gehalten. Als Einstreu dienten Hobelspäne.

Während des gesamten Versuchszeitraumes hatten die Tiere freien Zugang zu Nippeltränken. Außerdem hatten die Tiere Sicht- und Berührungskontakt mit ihren Buchtnachbarn.

Ein konstantes Stallklima ($20-22^{\circ}\text{C}$) wurde mit Hilfe von Heizungs- und Lüftungsapparaten sichergestellt.

Für eine ausreichende künstliche Beleuchtung sorgten 12, in ca. 3 m Höhe aufgehängte Neonlampen mit einer den Tagesrhythmus berücksichtigenden

Beleuchtungsdauer von mindestens acht Stunden und einer Beleuchtungsstärke von mindestens 50 Lux pro Tag (gemäß der Schweinehaltungsverordnung vom 18.02.1994).

Die Versuchsgruppen wurden so über den Stall verteilt, dass alle den gleichen Licht- und Temperaturbedingungen ausgesetzt waren.

Die Genehmigung für Tierversuche nach Tierschutzgesetz in der Fassung vom 25.5.1998 (BGBl I S. 1105) von der Regierung Oberbayern lag vor.

3.2.4. Fütterung

Zu Beginn der Aufstallung wurden die Ferkel ca. 1 Woche lang restriktiv gefüttert, um Durchfallerkrankungen vorzubeugen, danach war die Fütterung ad libitum.

Verwendet wurde ein konventionelles Ferkelaufzuchtfutter der Firma Zimmerer-Werk.

Tabelle 1: Zusammensetzung des verwendeten Ferkelaufzuchtfeeders

Weizen	31,1 %
Mais	14,0 %
Gerste	10,0 %
Reismehl	10,0 %
Weizengrießkleie	10,0 %
Sojaschrot	9,5 %
Malzkeime	6,0 %
Melasse	3,0 %
Grünmehl	2,0 %
Mineralstoffmischung für Schweine	2,0 %
Vitaminvormischung für Schweine	2,0 %
Calciumpropionat	0,4 %

Tabelle 2: Gehalt an Inhaltsstoffen im verwendeten Ferkelaufzuchtfutter

18 %	Rohprotein
6,2 %	Rohasche
3,4 %	Rohfaser
1,0 %	Lysin
0,9 %	Calcium
0,6 %	Phosphor
0,2 %	Natrium

Tabelle 3: Gehalt an Zusatzstoffen im verwendeten Ferkelaufzuchtfutter
Vitamine je kg:

8 000 I.E.	Vitamin A
2 000 I.E.	Vitamin D ₃
60,00 mg	Vitamin E
1,25 mg	Vitamin B ₁
5,00 mg	Bitamin B ₂
3,75 mg	Vitamin B ₆
20,00 mg	Vitamin B ₁₂
2,50 mg	Vitamin K ₃
7,50 mg	Ca-d-Pantothenat
20,00 mg	Nikotinsäure
290,00 mg	Cholinchlorid

Tabelle 4: Gehalt an Spurenelementen im verwendeten Ferkelaufzuchtfutter je kg:

166,00 mg	Zink
95,00 mg	Eisen
53,00 mg	Mangan
0,24 mg	Jod
0,48 mg	Selen

Das Ferkelaufzuchtfutter enthielt keinen Kupferzusatz.

3.2.5. Bestimmung der Vitamin A-Konzentration im Serum

Der Gehalt der Serumproben an Vitamin A wurde mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography) bestimmt.

3.2.5.1. Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte aus der Vena cava cranialis mit sterilen Einmalkanülen (0,9 x 40 mm, Fa. Terumo, Leuven, Belgien). Zur Punktion der Vene wurde das Schwein in Rückenlage auf einem Bock fixiert.

Die Einstichstelle befand sich im Winkel zwischen cranialer Brustbeinspitze und Kranialrand der ersten Rippe.

Pro Blutentnahme wurden 4 ml Vollblut in eine 9 ml Serummonovette (Fa. Sarstedt) aspiriert. Das Blut wurde bis zur vollständigen Gerinnung senkrecht stehend bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Durch Zentrifugation des Blutes bei 3000 U/min für 10 Minuten (Zentrifuge Heraeus Sepatech, Heraeus Holding GmbH, Hanau) innerhalb von zwei Stunden nach Entnahme, wurde das Serum abgetrennt.

Es wurde in Eppendorfcups abpipettiert und bei -30°C bis zur weiteren Verarbeitung tiefgefroren.

3.2.5.2. Aufbereitung der Proben

Verwendete Reagenzien und Material

- Ethanol, 96% vergällt (Fa. Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe)
- n-Hexan, Rotisolv HPLC, (Fa. Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe)
- Methanol, LiChrosolv (Fa. Merck KGaA, Darmstadt)
- Reinstwasser für die Chromatographie, hauseigene Herstellung (Anlage Seralpur delta, Fa. Seral Reinstwasser-Systeme, Ransbach-Baumbach)
- HPLC-Fläschchen G8-2,5 br, 1,5 ml, 32x11,5 braun (Fa. Chromatographie Handel Müller, Fridolfing)

- Mikroeinsätze für HPLC-Fläschchen, Öffnung = 5 mm, 0,1 ml, 30x5 mm, farblos, rund (Fa. Chromatographie Handel Müller, Fridolfing)
- Schraubkappe G8 für HPLC-Fläschchen, 1,3 mm, 35S, Silicon-weiß/PTFE-rot (Fa. Chroma)
- PS-1/2 Mikroküvetten (Fa. Brand GmbH & CoKG, Wertheim)

Verwendete Apparate

- Vortex-Schüttler (Fa. Bender & Hobein AG, Zürich, Schweiz)
- Zentrifuge (Eppendorf Centrifuge 5702 R, Fa. Eppendorf AG, Hamburg)
- HPLC-Anlage
 - Class-vp Chromatography Data System Version 4.2 mit Computer Pentium I 90, 128 MB RAM (Fa. Shimadzu, Neufahrn bei Freising)
 - Fluoreszenzdetektor, Jasco FP-920 Intelligent Fluorescence Detector (Fa. Jasco Labor- und Datentechnik GmbH Deutschland, Groß-Umstadt)
 - Pumpe Merck Hitachi L-6200 Intelligent Pump (Fa. Merck KGaA, Darmstadt)
 - Probengeber Shimadzu SIL 10 AD VP Auto Injector, mit integrierter Probenkühlung (Fa. Shimadzu, Neufahrn bei Freising)
 - Chromatographiesäule LiChrosorb SI 60, 5µm, 125 x 4 mm (Fa. Grom Chromatography GmbH, Rottenburg-Hailfingen)

Zunächst wurden die Proben bei Raumtemperatur aufgetaut, danach wurden je 200 µl Serum in Glaszentrifugenröhrchen mit 200 µl Reinstwasser verdünnt. Durch Zugabe von 750 µl 96% Ethanol und Schütteln auf einem Vortex-Schüttler wurde die Ausfällung der Serumproteine erreicht.

Zur Extraktion des Vitamin A wurde 1 ml n-Hexan zugegeben, erneut mit Hilfe des Vortex-Schüttlers gemischt und anschließend bei 3000 U/min 5 Minuten lang zentrifugiert.

Nach dem die Hexanphase in ein zweites Glasröhrchen abpipettiert worden war, erfolgte eine zweite Extraktion nach dem gleichen Schema.

Der Überstand der zweiten Extraktion wurde mit dem der ersten vereinigt und für 10 Minuten bei 30°C im Verdampfer bis zur Trockene abgedampft.

Der Rückstand wurde mit 200 µl eines Methanol-Ethanol-Gemisches (80:20) aufgenommen und der Vitamin A-Gehalt bei einer Wellenlänge von 313 nm mittels HPLC-Anlage ermittelt.

Die Retentionszeit betrug 1,5 Minuten.

Als mobile Phase diente Methanol.

Die Elution des Vitamin A erfolgte bei einer Flussrate von 1,0 ml/min.

3.2.6. Bestimmung der Vitamin A-Konzentration in den Organen

Der Gehalt der Organproben an Vitamin A wurde mittels Fluoreszenzdetektion im HPLC bestimmt.

3.2.6.1. Aufbereitung der Organproben

Verwendete Reagenzien und Material

- n-Hexan (Fa. Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe)
- Isopropanol (Fa. Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe)
- 0,9 molare NaCl Lösung (52,56g NaCl, Fa Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe werden in 1 l destillierten Wasser gelöst)
- Methanol (Fa. Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe)
- Methanol, LiChrosolv (Fa. Merck KgaA, Darmstadt)

Verwendete Apparate

- Tischkühlzentrifuge, Typ 301 K (Fa. Sigma, Osterode/Harz)
- Laborwaage, Typ Handy (Fa. Sartorius, Göttingen)
- Pürrierstab Typ Ultra-Turax T25 (Fa. Janke und Künkel, IKA-Labortechnik, Staufen in Br.)

Nach dem Auftauen wurde aus jeder Probe durch Feinzerkleinerung mittels Pürrierstab eine homogene Masse hergestellt.

Davon wurden 3 g abgewogen und in ein Plastikzentrifugenröhrchen mit 10 ml einer n-Hexan-Isopropanol-Mischung (60:40) gegeben, um das in den Organen gespeicherte Vitamin A darin zu lösen.

Es folgte eine erneute Homogenisierung mittels Pürrierstab, anschließend wurde für 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute und einer Temperatur von 3°C zentrifugiert.

Der Überstand wurde vorsichtig in einen 50 ml Messzylinder abpipettiert. Zum Bodensatz wurde nochmals 10 ml der oben genannten Lösung zugegeben, erneut homogenisiert und abpipettiert.

Dieser Vorgang wurde insgesamt dreimal wiederholt, um eine vollständige Extraktion des Vitamin A zu gewährleisten.

Da eine alleinige Lösung des Vitamin A in n-Hexan erreicht werden sollte, wurde jedem Messzylinder anschließend 10 ml einer 0,9 molaren NaCl-Lösung zugegeben, um das polare Isopropanol darin zu lösen und das unpolare n-Hexan als Überstand abtrennen zu können. Nach Verschließen mit einem Stopfen wurde der Messzylinder mehrere Male kräftig geschüttelt. Die zwei Phasen bildeten sich nach etwa einer Stunde aus. Die obere Phase wurde vorsichtig in einen weiteren 50 ml Messzylinder abpipettiert. Der unteren, wässrigen Phase wurde 5 ml n-Hexan zum Nachextrahieren des Vitamin A beigefügt. Nach vorherigem Verschließen wurde erneut kräftig geschüttelt und die Phasentrennung abgewartet.

Die überstehende Phase wurde in den Messzylinder mit der zuvor abpipettierten oberen Phase gefüllt.

Der Vorgang des Nachextrahierens wurde insgesamt zweimal wiederholt.

Um ein genau definiertes Volumen zur Berechnung des Vitamin A-Gehaltes zu erhalten, wurde der Messzylinder mit n-Hexan auf 50 ml aufgefüllt.

Von diesen 50 ml wurden 10 ml in einen Schliffkolben abgemessen und im Wasserbad bei 50°C im Wasserstrahlvakuum bis zur Trocknung eingedampft.

Die Aufnahme der verbliebenen Trockensubstanz erfolgte mit 1 ml Methanol. 100 µl dieser Lösung wurden in den Mikroinsert eines HPLC-Fläschchens zur anschließenden Messung, analog zu den Serumproben, verbraucht.

3.2.7. Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Computerprogramm SAS (Statistical Analysis System).

Es wurden folgende Werte errechnet:

- Arithmetischer Mittelwert aus den Einzelwerten jeder Gruppe
- Standardabweichung zur Abschätzung der Streuung
- Varianzanalysen zum Vergleich der Werte mehrerer Gruppen anhand des LS-Means-Tests

4. Ergebnisse

4.1. Ergebnisse von Versuch 1

4.1.1. Vitamin A-Gehalt im Serum

Zur Bestimmung der Konzentrationen von Vitamin A im Serum wurde den Schweinen der Versuchsgruppe jeweils 4 ml „sano-vital AE“ oral verabreicht, der Kontrollgruppe wurde je 4 ml Wasser als Placebo eingegeben. Danach wurden von allen Tieren Blutproben gewonnen.

Tabelle 5 zeigt die durchschnittlichen Vitamin A-Gehalt im Serum zu den unterschiedlichen Blutentnahmezeitpunkten in der Kontroll- und der Versuchsgruppe.

Bereits 20 min post interventionem war ein deutlicher Anstieg der Vitamin A Serumkonzentration in der Versuchsgruppe im Gegensatz zur Kontrollgruppe zu beobachten.

Die Vitamin A Serumkonzentration der Versuchsgruppe stieg weiter kontinuierlich an, bis ein Maximum zwischen 4 und 6 Stunden erreicht war. Hier waren die Serumkonzentrationen der Versuchsgruppe etwa um das 1,6-fache gegenüber der Kontrollgruppe erhöht. Danach nahm die Konzentration wieder ab. Ungefähr 12 Stunden nach Eingabe des „sano-vital AE“ waren die Werte der Vitamin A Serumkonzentration wieder auf die Werte des Ausgangsniveaus gefallen. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe, bei welcher während der gesamten Versuchsdauer kein Anstieg der Vitamin A Werte zu verzeichnen war, bestanden nicht.

Tabelle 5 : Serumgehalt an Vitamin A in der Kontroll- und Versuchsgruppe
(Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Gabe des „sano-vital AE“ bzw.
nach Gabe des Placebos.

Zeit post interventionem	Kontrollgruppe (n=5) Vitamin A in I.E./ml Serum			Versuchsgruppe (n=5) Vitamin A in I.E./ml Serum		
0 min	0,78	\pm	0,05	0,82	\pm	0,13
20 min	0,68	\pm	0,05	0,90	\pm	0,14
1 Std	0,70	\pm	0,05	0,92	\pm	0,15
2 Std	0,67	\pm	0,05	0,95	\pm	0,15
4 Std	0,63	\pm	0,05	1,02	\pm	0,16
6 Std	0,70	\pm	0,05	1,05	\pm	0,15
8 Std	0,76	\pm	0,07	0,91	\pm	0,10
12 Std	0,79	\pm	0,09	0,78	\pm	0,05
24 Std	0,68	\pm	0,11	0,72	\pm	0,02
48 Std	0,73	\pm	0,12	0,67	\pm	0,01
24 Std	0,71	\pm	0,12	0,69	\pm	0,02

4.1.2. Vitamin A-Gehalt in den Organen

Im Anschluß an die Untersuchung zum Serumgehalt wurde drei Tieren nach Einhaltung einer Auswaschphase von 14 Tagen nochmals 4 ml „sano-vital AE“ oral eingegeben.

Diese Schweine wurden nach 48 Stunden getötet und Organproben von Leber und Darmlymphknoten zur Untersuchung des Vitamin A Gehaltes dieser Organe, entnommen.

4.1.2.1. Vitamin A-Gehalt in der Leber

Tabelle 6 zeigt den durchschnittlichen Vitamin A-Gehalt in der Leber der drei Versuchstiere 48 Stunden nach oraler Eingabe von „sano-vital AE“.

Tabelle 6: Vitamin A-Gehalt in der Leber (I.E. Vitamin A / g Leber) 48 h nach Gabe von „sano-vital AE“ (Mittelwert \pm Standardabweichung)

Zeit post interventionem	Versuchsgruppe (n=3) Vitamin A in I.E./g Leber
48 h	104 \pm 4

4.1.2.2. Vitamin A-Gehalt der Darmlymphknoten

In Tabelle 7 ist der durchschnittliche Vitamin A-Gehalt der Darmlymphknoten der drei Versuchstiere aufgeführt.

Die Vitamin A-Gehalte der Darmlymphknoten lagen 48 Stunden nach oraler Eingabe von „sano-vital AE“ unterhalb der Nachweisgrenze für Vitamin A.

Tabelle 7: Vitamin A-Gehalt in den Darmlymphknoten (I. E. Vitamin A / g Darmlymphknoten) nach Gabe von „sano-vital AE“ (Mittelwert \pm Standardabweichung)

Zeit post interventionem	Versuchsgruppe (n=3) Vitamin A in I.E./g Lymphknoten
48 h	Nicht nachweisbar

4.2. Ergebnisse von Versuch 2

4.2.1. Vitamin A-Gehalt im Serum

Die erste Versuchsgruppe erhielt 4 ml „sano-vital AE“, die zweite Versuchsgruppe bekam die gleiche Vitamindosis in einer mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat gefüllten Gelatine kapsel oral verabreicht.

Der Kontrollgruppe wurde 4 ml Wasser eingegeben.

In Tabelle 8 finden sich die Mittelwerte der Serumkonzentrationen von Vitamin A in den drei Untersuchungsgruppen nach Gabe der jeweiligen Vitamin A Präparate bzw. des Placebos.

Bereits eine Stunde post interventionem war mit einem mehr als doppelt so hohen Vitamin A-Gehalt bei der „sano-vital AE“-Gruppe ein signifikante Erhöhung im Gegensatz zur Versuchsgruppe mit dem konventionellen Vitamin A Präparat und zur Kontrollgruppe zu beobachten.

Nach drei Stunden waren sowohl signifikante Unterschiede der beiden Versuchsgruppen untereinander als auch zwischen diesen Gruppen und der Kontrollgruppe zu verzeichnen. Dabei war der Vitamin A-Serumgehalt der Gruppe, die das konventionelle Vitamin A-Präparat erhalten hatte, im Gegensatz zur Kontrollgruppe um den Faktor drei erhöht, die Werte der „sano-vital AE“-Gruppe waren sogar fünf mal so hoch.

Zu diesem Zeitpunkt hatten beide Versuchsgruppen das Maximum ihres Anstiegs erreicht, wobei das Maximum der „sano-vital AE“-Gruppe mehr als eineinhalb mal höher lag.

Fünf Stunden post interventionem hatten die Vitamin A-Konzentrationen im Serum der Versuchsgruppen um mehr als die Hälfte abgenommen, die signifikanten Unterschiede zwischen allen Untersuchungsgruppen konnten aber trotzdem noch festgestellt werden.

Erst nach einer weiteren Stunde bestand der signifikante Unterschied zwischen der „sano-vital AE“ Gruppe und der Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat nicht mehr, allerdings unterschieden sich die beiden Versuchsgruppen noch signifikant von der Kontrollgruppe.

Nach sieben Stunden waren auch diese signifikanten Unterschiede nicht mehr festzustellen.

Zwölf Stunden post interventionem lagen die Serumwerte beider Versuchsgruppen wieder im Bereich der Kontrollgruppe.

Die Vitamin A-Serumwerte der Kontrollgruppe blieben während der gesamten Versuchsdauer auf dem gleichen niedrigen Niveau.

Tabelle 8: Serumgehalt an Vitamin A (in I.E./ml Serum) in den drei Untersuchungsgruppen (Kontrolle, "sano-vital AE" Gruppe, Gruppe mit konventionellem Vitamin A Präparat) (Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Gabe der Vitaminpräparate bzw. des Placebos

Zeit post interventionem	Kontrollgruppe (n=15) Vitamin A		Versuchsgruppe "sano-vital AE" (n=15) Vitamin A		Versuchsgruppe „konventionelles Vitamin A-Präparat“ (n=15) Vitamin A	
0 min	3,22	\pm 1,79	2,10	\pm 0,57	2,42	\pm 1,06
20 min	2,80	\pm 1,60	1,98	\pm 0,53	2,21	\pm 1,07
1 Std	2,91	\pm 1,50 ^b	6,55	\pm 3,14 ^a	2,77	\pm 1,18 ^b
3 Std	3,10	\pm 1,62 ^c	15,51	\pm 7,39 ^a	9,08	\pm 4,60 ^b
5 Std	2,62	\pm 1,15 ^c	6,19	\pm 2,77 ^a	4,42	\pm 1,72 ^b
6 Std	2,96	\pm 1,47 ^b	4,83	\pm 2,10 ^a	4,12	\pm 1,96 ^a
7 Std	3,28	\pm 1,61	4,03	\pm 1,52	3,77	\pm 1,80
12 Std	2,91	\pm 1,70	2,91	\pm 1,12	2,75	\pm 0,75
24 Std	3,29	\pm 1,81	2,27	\pm 0,74	2,66	\pm 1,29

a,b,c: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den 3 Versuchsgruppen zu den jeweiligen Zeitpunkten

4.2.2. Vitamin A-Gehalte in den Organen

Nach einer zweiwöchigen Auswaschphase bekamen die Tiere entsprechend ihrer Gruppenzugehörigkeit noch einmal 4 ml der jeweiligen Vitaminpräparate bzw. 4 ml Wasser oral verabreicht.

Danach wurden jeweils fünf Tiere pro Gruppe nach 24, 48 und 96 Stunden getötet. Innerhalb von zwei Stunden wurden die Organproben bei den toten Tieren entnommen.

4.2.2.1 Vitamin A-Gehalt in der Leber

Die Mittelwerte der Vitamin A-Gehalte der Lebern in den drei Untersuchungsgruppen nach oraler Verabreichung der jeweiligen Vitamin A-Präparate bzw. des Placebos sind in Tabelle 9 dargestellt.

Nach 24 Stunden zeigte der Vitamin A-Gehalt in den Lebern der „sano-vital AE“ Gruppe im Vergleich zur Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat eine signifikante Erhöhung mit fast doppelt so hohen Werten. Der signifikante Unterschied zur Kontrollgruppe betrug nahezu das Dreieinhalbfache.

Der Wert bei der Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat war um den Faktor 1,7 höher als der Wert der Kontrollgruppe, jedoch bestand zu diesem Zeitpunkt noch kein signifikanter Unterschied.

Dieser stellte sich dann 48 Stunden post interventionem ein und lag etwa bei dem dreifachen Wert der Kontrollgruppe.

Der Vitamin A-Gehalt der Lebern der „sano-vital AE“ Gruppe hatte zu diesem Zeitpunkt sein Maximum erreicht und war um den Faktor 1,6 höher als der Vitamin A-Gehalt der Lebern der Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat. Im Vergleich mit der Kontrollgruppe waren die Werte um das Fünffache erhöht. Eine Konzentrationszunahme wie in den ersten 24 Stunden konnte allerdings nicht mehr erreicht werden.

Nach 72 Stunden war der Wert der „sano-vital AE“ Gruppe gefallen und lag wieder im Bereich der Kontrollgruppe.

Der Wert des Vitamin A-Gehalts der Lebern von der Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat hatte erst zu diesem Zeitpunkt sein Maximum innerhalb des Versuchszeitraumes erreicht und war jetzt im Vergleich zur „sano-vital AE“ Gruppe und zur Kontrollgruppe signifikant um etwa das Zweieinhalbfache erhöht.

Die Vitamin A-Gehalte der Lebern der Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat konnten die Maximalwerte der „sano-vital AE“ Gruppe innerhalb des Versuchszeitraumes nicht erreichen sondern blieben deutlich um den Faktor 1,5 darunter.

Tabelle 9: Vitamin A-Gehalte in der Leber (I.E./g uS) in den drei Untersuchungsgruppen (Kontrolle, „sano-vital AE“ Gruppe, Gruppe mit konventionellem Vitamin A-Präparat) (Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Gabe der Vitaminpräparate bzw. des Placebos

Zeit post interventionem	Kontrollgruppe (n=5) Vitamin A		Versuchsgruppe „sano-vital AE“ (n=5) Vitamin A		Versuchsgruppe „konventionelles Vitamin A-Präparat“ (n=5) Vitamin A	
24 h	358	\pm 152 ^b	1222	\pm 325 ^a	624	\pm 267 ^b
48 h	276	\pm 120 ^b	1398	\pm 110 ^a	826	\pm 179 ^c
72 h	306	\pm 152 ^a	351	\pm 115 ^a	867	\pm 254 ^b

a,b,c: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den 3 Versuchsgruppen zu den jeweiligen Zeitpunkten

4.2.2.2. Vitamin A-Gehalt in der Lunge

Signifikante Unterschiede waren innerhalb des Versuchszeitraumes bei den Vitamin A-Gehalten der Lungen zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen nicht zu verzeichnen. Im Vergleich zu dem Vitamin A-Konzentration in der Leber sind die

Vitamin A-Werte der Lunge sehr gering, die Streuung der Mittelwerte ist sehr groß und beträgt fast 50%.

Tabelle 10 führt die Mittelwerte der Vitamin A-Gehalte der Lungen nach oraler Gabe der jeweiligen Vitamin A-Präparate bzw. des Placebos in den drei Gruppen auf.

24 Stunden post interventionem hatte die Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat einen leicht erhöhten Vitamin A-Wert in der Lunge im Vergleich zur „sano-vital AE“ Gruppe und zur Kontrollgruppe.

Nach 48 Stunden hatten sich die Werte der „sano-vital AE“-Gruppe den Werten der anderen Versuchsgruppe angenähert, welche sich nicht mehr verändert hatten.

Somit hatte die Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat ihre maximalen Werte schon nach 24 Stunden post interventionem erreicht, während die „sano-vital AE“-Gruppe ihr Maximum erst nach 48 Stunden hatte.

72 Stunden post interventionem näherten sich alle Werte wieder dem Ausgangsniveau.

Tabelle 10: Vitamin A-Gehalte in der Lunge (IE/g uS) in den drei Untersuchungsgruppen (Kontrolle, „sano-vital AE“ Gruppe, Gruppe mit konventionellem Vitamin A-Präparat) (Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Gabe der Vitaminpräparate bzw. des Placebos

Zeit post interventionem	Kontrollgruppe (n=5) Vitamin A			Versuchsgruppe „sano-vital AE“ (n=5) Vitamin A			Versuchsgruppe „konventionelles Vitamin A-Präparat“ (n=5) Vitamin A		
24 h	8	\pm	1	9	\pm	4	12	\pm	4
48 h	7	\pm	2	12	\pm	3	12	\pm	4
72 h	8	\pm	2	10	\pm	6	11	\pm	5

4.2.2.3. Vitamin A-Gehalt in der Niere

Signifikante Unterschiede bezüglich der Vitamin A-Gehalte der Nieren waren zwischen den Gruppen nicht erkennbar. Im Vergleich zu den Vitamin A-Gehalten der Leber sind die Vitamin A-Werte der Nieren sehr gering.

Die durchschnittlichen Vitamin A-Konzentrationen in den Nieren bei den drei Untersuchungsgruppen nach oraler Eingabe der jeweiligen Vitamin A-Präparate bzw. des Placebos sind in Tabelle 11 angegeben.

24 Stunden post interventionem waren die Vitamin A-Gehalte der Nieren der „sano-vital AE“ Gruppe um das 1,4fache höher als die Vitamin A-Gehalte bei der Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat.

Bereits nach 48 Stunden näherten sich die Werte wieder den Werten der Kontrollgruppe, wobei bei der Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat der erhöhte Vitamin A-Gehalt länger bestehen blieb und auch noch nach 72 Stunden zu erkennen war. Dieses Speicherverhalten zeigt gewisse Parallelen zu dem der Leber.

Tabelle 11: Vitamin A-Gehalte in der Niere (IE/g uS) in den drei Untersuchungsgruppen (Kontrolle, „sano-vital AE“ Gruppe, Gruppe mit konventionellem Vitamin A-Präparat) (Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Gabe der Vitaminpräparate bzw. des Placebos

Zeit post interventionem	Kontrollgruppe (n=5) Vitamin A			Versuchsgruppe „sano-vital AE“ (n=5) Vitamin A			Versuchsgruppe „konventionelles Vitamin A-Präparat“ (n=5) Vitamin A		
	Mittelwert	\pm	SD	Mittelwert	\pm	SD	Mittelwert	\pm	SD
24 h	10	\pm	2	17	\pm	4	12	\pm	3
48 h	10	\pm	5	14	\pm	3	13	\pm	5
72 h	10	\pm	2	9	\pm	1	13	\pm	3

4.2.2.4. Vitamin A-Gehalt in den Darmlymphknoten

Bei der Auswertung der Vitamin A-Gehalte in den Darmlymphknoten bestand zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Untersuchungsgruppen.

Die durchschnittlichen Vitamin A-Gehalte in den Darmlymphknoten bei den einzelnen Versuchsgruppen nach oraler Applikation der jeweiligen Vitamin A-Präparate bzw. des Placebos, sind in Tabelle 12 aufgelistet.

Die Vitamin A-Gehalte der Darmlymphknoten sind im Vergleich zu den Werten der Leber sehr gering.

Tabelle 12: Vitamin A-Gehalte in den Darmlymphknoten (I.E./g uS) in den drei Untersuchungsgruppen (Kontrolle, "sano-vital AE" Gruppe, Gruppe mit konventionellem Vitamin A-Präparat) (Mittelwert \pm Standardabweichung) nach Gabe der Vitaminpräparate bzw. des Placebos

Zeit post interventionem	Kontrollgruppe (n=5) Vitamin A			Versuchsgruppe "sano-vital AE" (n=5) Vitamin A			Versuchsgruppe "konventionelles Vitamin A-Präparat" (n=5) Vitamin A		
24 h	19	\pm	6	19	\pm	8	17	\pm	7
48 h	19	\pm	6	15	\pm	4	16	\pm	3
72 h	23	\pm	15	27	\pm	13	27	\pm	7

5. Diskussion

Um mögliche Unterschiede bei der Resorptionsgeschwindigkeit, beim Resorptionsweg und beim Speicherverhalten von oral verabreichtem Vitamin A in Abhängigkeit von der Wirkstoffzubereitung herauszufinden, wurde 6 Wochen alten Schweinen zum einen eine konventionelle Vitaminmischung in Pulverform, zum anderen eine Vitaminemulsion bzw. ein Placebo verabreicht.

Im Anschluß daran wurden dann zu unterschiedlichen Zeitpunkten Blut- und Organproben entnommen um den Metabolismus des Vitamin A verfolgen zu können. Für die Versuche wurden die Schweine nicht Vitamin A-depletiert, sondern erhielten ein Schweineaufzuchtfutter mit 8.000 I.E. Vitamin A pro kg Futter, gemäß den Mindestanforderungen des DLG-Arbeitskreises für Futter und Fütterung (Roth, 1991).

5.1. Vitamin A im Serum

Um den mit der Blutentnahme verbundenen Streß für die Schweine durch die mehrmaligen Blutentnahmen innerhalb kurzer Zeit möglichst gering zu halten, wurde in Versuch 1 die Anzahl der Entnahmezeitpunkte auf 11 festgelegt. Es sollte dabei überprüft werden, ob diese Anzahl an Serumwerten die Konzentrationsänderungen von Vitamin A in zufriedenstellender Weise widerspiegeln kann. Nach Auswertung der Ergebnisse von Versuch 1 konnten die Blutentnahmezeitpunkte in Versuch 2 auf 9 reduziert werden.

5.1.1. Versuch 1

In Versuch 1 sollte zuerst in kleinerem Rahmen die optimalen Zeitpunkte für die Gewinnung der Blutproben nach Applikation der jeweiligen Präparate ermittelt werden.

Um die Versuchstierzahl möglichst gering zu halten wurden dabei lediglich zwei Untersuchungsgruppen zu je fünf Tieren gebildet, auf die Applikation des konventionellen Vitamin A-Präparates wurde verzichtet.

In Abbildung 4 ist der Verlauf der Serumkonzentrationen von Vitamin A in Versuch 1 dargestellt.

Es konnte gezeigt werden, dass ein kontinuierlicher Vitamin A-Konzentrationsanstieg im Serum stattfindet, der nach etwa 4 bis 6 Stunden sein Maximum erreicht hat. Dies entspricht etwa dem Zeitraum, den der verabreichte Vitamin A-Bolus braucht, um Magen und Dünndarm zu passieren. Der danach folgende Konzentrationsabfall könnte aus einem Verbrauch bzw. aus einer Ausscheidung von Vitamin A oder aus der Speicherung in bestimmten Organen resultieren.

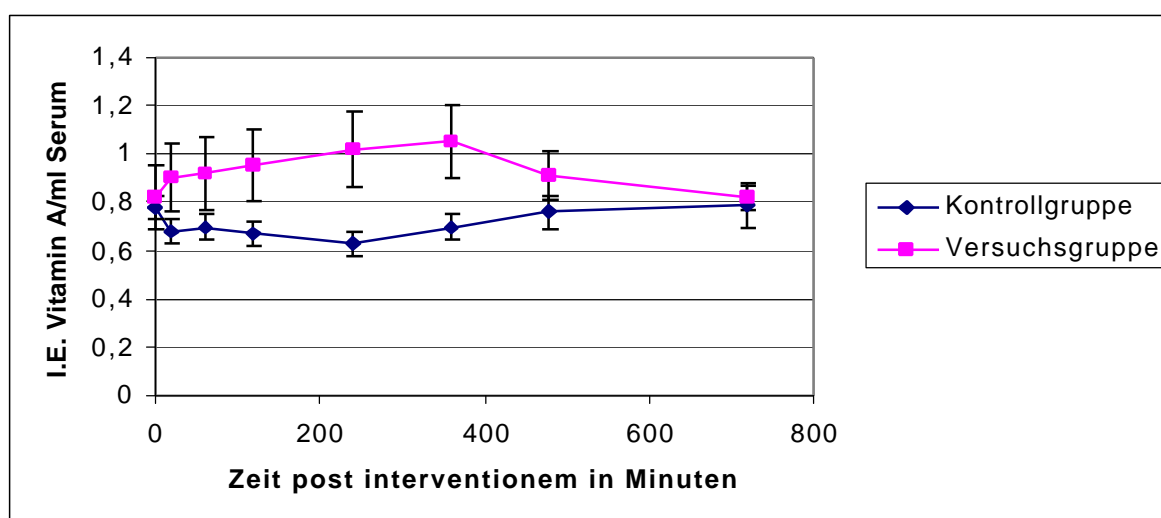


Abbildung 4: Vitamin A-Serumkonzentrationen in der Kontroll- und Versuchsgruppe nach Gabe des „sano-vital AE“ bzw. nach Gabe des Placebos.

5.1.2. Versuch 2

In Versuch 2 wurden die Serumkonzentrationen von Vitamin A nach Verabreichung der unterschiedlichen Vitaminformulierungen bzw. des Placebos ermittelt.

Einige Blutentnahmezeitpunkte aus Versuch 1 wurden dabei verändert, um wichtige Bereiche noch besser überwachen zu können.

Die Zeitpunkte 0, 20 Minuten und 1 Stunde post interventionem wurden zur Dokumentation des Anflutens von Vitamin A im Serum auch für Versuch 2 übernommen.

Die Punktionen nach 2 und 4 Stunden in Versuch 1 wurden in Versuch 2 durch eine Punktion nach 3 Stunden gemittelt.

Um das Maximum und die Abnahme des Vitamin A-Gehaltes im Serum besser dokumentieren zu können, wurden für Versuch 2 die Blutentnahmezeitpunkte 5, 6 und 7 Stunden post interventionem festgelegt, nachdem das Maximum der Resorption in Versuch 1 zwischen 4 und 6 Stunden verzeichnet worden war.

Der Entnahmezeitpunkt 12 Stunden nach der Applikation wurde für beide Versuche beibehalten.

Da nach 24 Stunden in Versuch 1 kein Unterschied mehr zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe verzeichnet werden konnte, wurde die Entnahme von Blutproben nach dieser Zeit für die Auswertung der Resorption als nicht mehr relevant angesehen. So wurde für Versuch 2 der Zeitpunkt für die letzte Blutentnahme 24 Stunden post interventionem gewählt.

Im Vergleich zu Versuch 1 fiel auf, dass das Maximum der Resorptionskurve von „sano vital AE“ nicht nur früher erreicht wurde, sondern auch signifikant höher ausfiel. Eine mögliche Erklärung dafür ist in der unterschiedlichen Vitamin A-Dosierung pro kg Körpermasse (KM) zu sehen, da das Gewicht der Schweine in Versuch 1 bei Versuchsbeginn mehr als doppelt so hoch war wie das der Schweine in Versuch 2. Die Tiere aus Versuch 2 erhielten bei der Verabreichung des Vitamin A-Bolus mit 75.000 I.E. Vitamin A etwa 4200 I.E. pro kg KM, während den Tieren aus Versuch 1 nur etwa die Hälfte, nämlich 2150 I.E. Vitamin A pro kg KM verabreicht worden war. Des weiteren ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Mehrzahl der zehn Ferkel für Versuch 1 aus einem Wurf stammen sehr groß. Daher können eventuell vererbte physiologische Besonderheiten in bezug auf die Resorption von Vitamin A innerhalb des Wurfes stark zum Tragen kommen. Des weiteren waren in Versuch 1 lediglich 5 Tiere in der Versuchsgruppe. Diese geringe Zahl ist für statistisch gesicherte Ergebnisse zu klein, da sich individuelle Besonderheiten bei der Berechnung des Mittelwertes stark auswirken können.

Bei der Auswertung der Vitamin A-Serumkonzentrationen von Versuch 2 fällt der signifikante Unterschied der Maxima zwischen der „sano-vital AE“-Gruppe und der Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A- Präparat auf. Das Maximum der „sano-vital AE“-Gruppe ist fast doppelt so hoch wie das der zweiten Versuchsgruppe.

Außerdem beginnt das Anfluten bei der „sano vital AE“-Gruppe früher. So ist bereits nach einer Stunden ein mehr als doppelt so hoher Vitamin A-Gehalt zu verzeichnen, während die Werte der Gruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat noch im Bereich der Kontrollgruppe lagen.

Auch bei der Abnahme der Serumkonzentrationen nach fünf Stunden blieben bei der „sano vital AE“-Gruppe fast doppelt so hohe Vitamin A-Werte im Serum bestehen wie bei der Versuchsgruppe mit dem konventionellen Vitamin A-Präparat.

In Abbildung 5 sind die Vitamin A-Konzentrationen im Serum nach Gabe der unterschiedlichen Vitamin A-Formulierungen veranschaulicht.

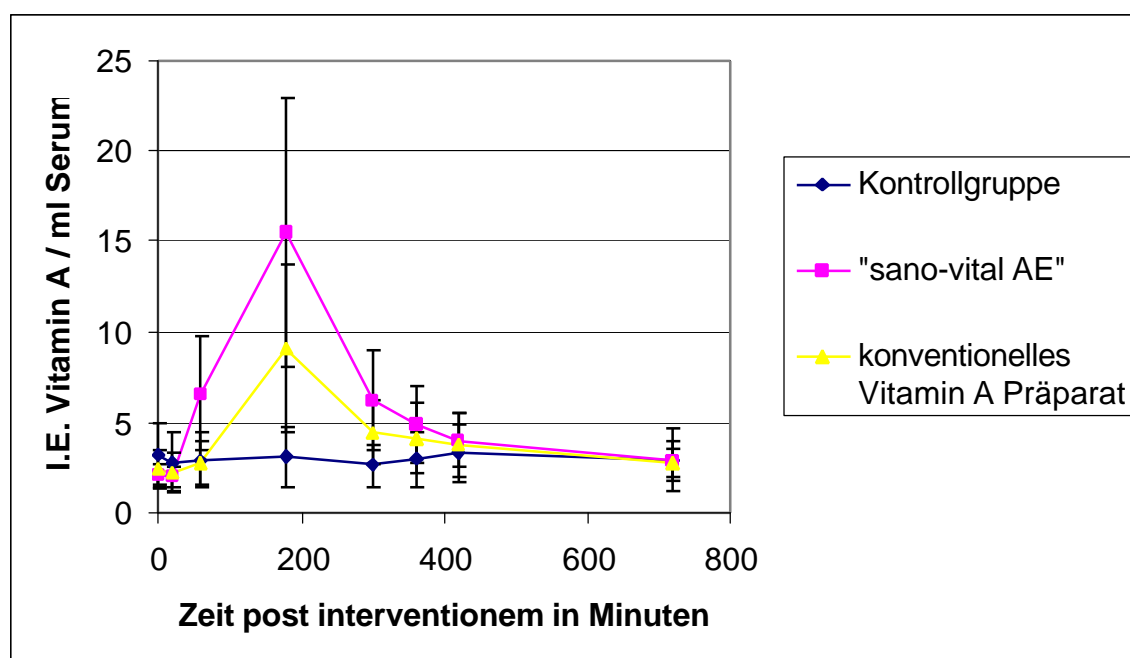


Abbildung 5: Vitamin A-Serumkonzentrationen in der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen nach Gabe des „sano vital AE“, des konventionellen Vitamin A-Präparates bzw. des Placebos.

Eine mögliche Interpretation der gefundenen Ergebnisse besteht darin, daß Vitamin A, wenn es in einer Fetttröpfchen-Emulsion gebunden ist, wie bei „sano-vital AE“ verwirklicht, schneller bzw. in größerem Umfang resorbiert wird, da bei dieser Formulierung die Resorption vereinfacht ablaufen kann.

Die anatomisch-physiologischen Besonderheiten als Voraussetzung für diese sogenannte lymphatisch-korpuskuläre Resorption von Milchfetttröpfchen sind die zwischen den Epithelzellen des Verdauungstraktes liegenden Interzellularspalten.

So könnte die Resorption der Vitamin-Emulsion bereits im Magen beginnen, was die signifikante Vitamin A-Zunahme im Serum bei der „sano-vital AE“-Gruppe eine Stunde post interventionem erklären würde, da die emulgierten Fetttröpfchen über diese Interzellularspalten ohne vorherige enzymatische Aufspaltung im Magen und im Darmlumen, mittels einer „Zottenpumpe“ in das Körperinnere befördert werden.

Die „Zottenpumpe“ funktioniert durch das Zusammenziehen von zahlreichen glatten Muskelzellen, die im Stroma der Saumzellen liegen. So kann sich die Zotte verkürzen, bei Entspannung dieser Muskelzellen verlängert sich die Zotte wieder. Dieser Vorgang kann drei bis sechs mal in der Minute stattfinden und spielt beim Einsaugen der Emulsionskügelchen in den interzellulären Spaltraum sowie beim Auspressen der zentralen Chylusgefäße und beim Abtransport der mit den Fettkügelchen beladenen Lymphe eine wesentliche mechanische Rolle.

Die Umgehung der enzymatischen Aufspaltung durch die Verdauungsenzyme funktioniert bei den Milchfetttröpfchen wahrscheinlich durch die alternierenden positiven und negativen Ladungen und den daraus resultierenden Potentialdifferenzen auf der Membranoberfläche. Durch diese aktiven Grenzflächen werden verschiedenartige Anziehungs- und Abstoßungsphänomene wirksam, die zusammen mit dem pH-Wert des Serums und den Ionisationsvorgängen eine relativ stabile Aufrechterhaltung der Milchemulsion sichern.

Eine weitere Voraussetzung für die lymphatisch-korpuskuläre Resorption ist sicherlich in der Teilchengröße der Milchfettkügelchen zu sehen, da sie durch die Interzellularspalten passen müssen, die jedoch auch stark erweiterungsfähig sind. Die Teilchengröße liegt bei der Milch der meisten Säugetiere wie auch bei „sano vital AE“ bei etwa $3\ \mu$ mit einer Schwankungsbreite von $0,2 - 22\ \mu$ im Durchmesser. Im Vergleich dazu beträgt der Durchmesser eines Erythrozyten vom Menschen etwa $7,5\ \mu$.

Die besondere Bedeutung des lymphatisch-korpuskulären Resorptionsweges liegt darin, dass dadurch die Ernährung des Neugeborenen nach Unterbrechung der Versorgung über den Placentarkreislauf durch den Geburtsvorgang und das Abnabeln sofort weitergeführt werden kann. Über die Muttermilch können auf diesem Wege alle erforderlichen Fette, Lipide und fettlöslichen Vitamine als Milchfetttröpfchen-emulsion per os zugeführt werden, ohne dass die noch nicht voll arbeitsfähigen Verdauungsdrüsen bzw. das noch nicht voll ausgereifte Leber-Gallen-System und das Pankreas in Funktion treten müssen.

Der Resorptionsweg des konventionellen Vitamin A-Präparates entspricht hingegen der transzellulären Resorption. Dabei werden die nicht-emulgierte Nahrungsfette im Darmlumen mit Hilfe von Galle, Pankreasenzymen und Darmlipasen enzymatisch aufgespalten, in Micellen integriert und anschließend resorbiert. Sie gelangen auf diesem Weg ins Innere der Zelle, wo zum Teil ihre Resynthese erfolgt.

Je nach ihrer chemischen Konstitution werden die Nährstoffe dann entweder in das zentrale Chylusgefäß oder in die Kapillaren der Zotte weitergeleitet.

Folglich bestimmt bei der Fettverdauung in erster Linie nicht die chemische Zusammensetzung sondern die physikalische Darreichungsform den Resorptionsweg und den weiteren Abtransport aus dem Dünndarm über das Blut- oder das Lymphsystem.

In Abbildung 6 sind die Unterschiede der beiden Resorptionswege dargestellt.

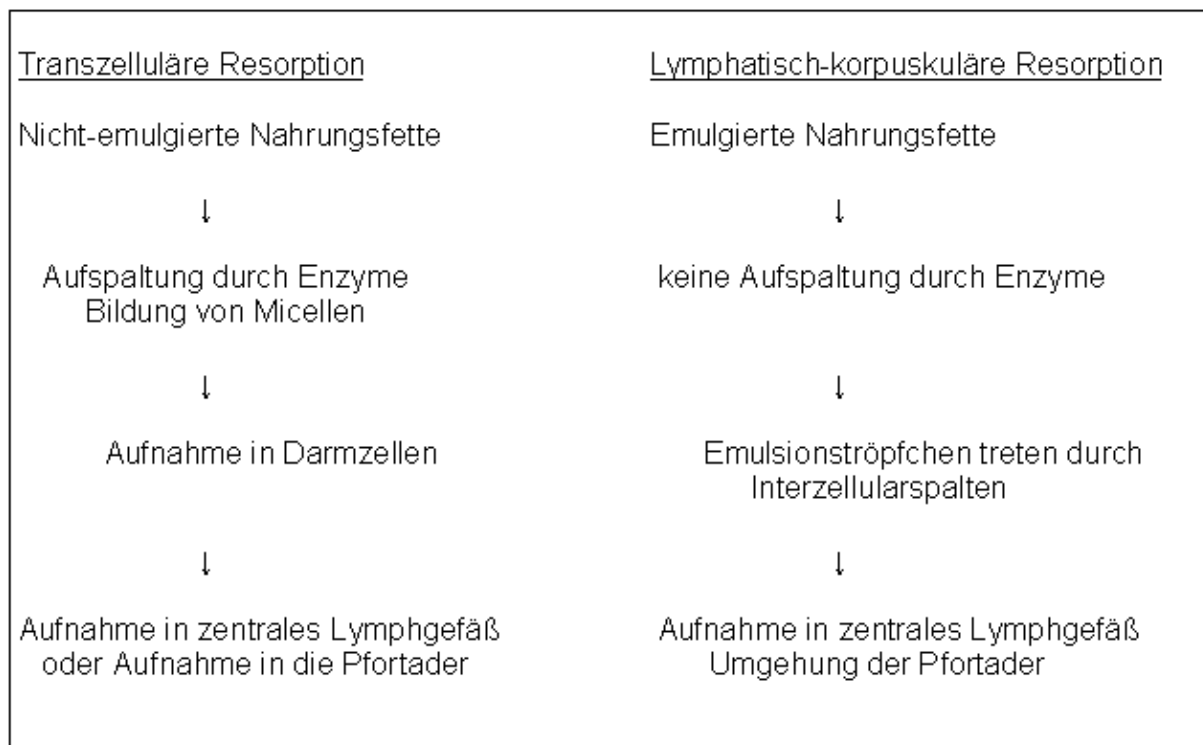


Abbildung 6: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Resorptionswege

Aus dem jeweiligen Resorptionsweg ergibt sich dann sowohl die Zeit, die zur Aufnahme benötigt wird, als auch die Menge an Substrat, die pro Zeiteinheit umgesetzt werden kann.

Geschwindigkeitsbestimmend bei der transzellulären Resorption ist zum einen die Enzymsättigung der an der Vitamin A-Aufnahme beteiligten Enzyme wie zum Beispiel der Lipasen, die Retinylester zu Retinol hydrolysieren.

Ab einem bestimmten Sättigungswert kann nicht mehr Substrat pro Zeiteinheit umgesetzt werden.

Weitere, an der Aufnahme von Vitamin A beteiligte Vorgänge sind unter anderem die Bildung der Micellen, die Aufnahme von den Micellen in die Enterozyten, die dortige Reveresterung des Retinols in Retinylester, um dann in die im Golgi-Apparat gebildeten Chylomikronen eingebaut und endlich in die Lymphe abgegeben werden zu können. Dabei ist der am stärksten limitierende Abschnitt bei der transzellulären Absorption von Vitamin A in der Bildung und Sekretion der Chylomicronen in den Enterozyten zu sehen (Li und Tso, 2003).

Jeder einzelne dieser Schritte braucht eine bestimmte Reaktionszeit, die sich für die gesamte Resorptionszeit aufsummiert.

Daraus ergeben sich Grenzen für die Resorptionsgeschwindigkeit und das Maximum von aufgenommenem Vitamin A pro verabreichtem Bolus.

Bei der lymphatisch-korpuskulären Resorption werden die emulgierten Fetttröpfchen durch die Zottenpumpe einfach aufgesaugt, ohne dass vorher enzymatische oder biochemische Reaktionen abgelaufen sein müssen. Die Aufnahme kann also schneller erfolgen, und somit kann auch mehr Vitamin A pro Zeiteinheit aufgenommen werden.

5.2. Vitamin A in den Organen

5.2.1. Vitamin A in der Leber

5.2.1.1. Versuch 1

Drei Schweinen aus Versuch 1 wurde nach Einhaltung einer Auswaschphase von 14 Tagen noch einmal ein Bolus mit 300.000 I.E. Vitamin A in Form von 4 ml „sano vital AE“ eingegeben. Nach 48 Stunden wurden die Tiere getötet und ihr Leber-Vitamin A-Gehalt bestimmt. Dieser war mit 104 I.E. Vitamin A/g Leber nicht erhöht (Landes, 1994; Dannenberg, 1971), wonach für Versuch 2 zusätzlich ein früherer und ein späterer Zeitpunkt zur Gewinnung der Organproben festgelegt wurde, um etwaige Umverteilungen des Vitamin A im Körper dokumentieren zu können.

5.2.1.2. Versuch 2

Wie auch in Versuch 1 bekamen die Tiere nach einer zweiwöchigen Auswaschphase entsprechend ihrer Gruppenzugehörigkeit nochmals einen Bolus mit 300.000 I.E. Vitamin A des jeweiligen Vitaminpräparates bzw. Wasser verabreicht.

Danach wurden jeweils fünf Tiere pro Gruppe getötet und die Vitamin A-Gehalte der Lebern bestimmt.

Ähnlich wie bei den Serumwerten fällt auch bei den Vitamin A-Konzentrationen in der Leber der große Unterschied zwischen den Werten der untersuchten Schweinelebern aus Versuch 1 und den Werten der untersuchten Schweinelebern aus Versuch 2 auf. So lag die Leber-Vitamin A-Konzentration 48 Stunden post interventionem in Versuch 1 bei 104 I.E./g Leber, bei Versuch 2 betrug sie zu diesem Entnahmezeitpunkt 1222 I.E./g Leber, was mehr als das 10-fache bedeutet. Sogar die Werte der Kontrollgruppe von Versuch 2 zeigten mehr als den doppelten Vitamin A-Gehalt an.

Wie bei der Ermittlung der Serumkonzentrationen, besteht auch hier eine mögliche Erklärung darin, dass die Schweine aus Versuch 1 etwa das doppelte Gewicht hatten

wie die Schweine aus Versuch 2 und damit die Vitamin A-Dosierung pro kg Körpermasse bei Verabreichung des selben Bolus um die Hälfte niedriger war.

Des weiteren spielt die bisherige Fütterung beim Ferkelerzeuger eine große Rolle, da eine hochsignifikante lineare Beziehung zwischen mit dem Futter zugeführtem Vitamin A und dessen Speicherung in der Leber nachgewiesen werden konnte (Hoppe et al., 1992; Hennig et al., 1985).

Zusätzlich kann daher auch die ad libitum Fütterung während des Versuchszeitraumes zu einer unterschiedlichen hohen Aufnahme von diätetischem Vitamin A und damit zu unterschiedlich hohen Vitamin A-Gehalten in der Leber geführt haben (Hoppe et al., 1992). Das in vorliegender Arbeit verwendete Ferkelaufzuchtfutter hatte einen Vitamin A-Gehalt von 8.000 I.E./kg Futter.

Außerdem wurden in Versuch 1 nur drei Schweinelebern untersucht, so dass die Aussagekraft des Mittelwertes nicht sehr groß ist, da sich auch hier individuelle Besonderheiten der drei Schweine in Bezug auf Absorption, Metabolismus, Speicherung und Elimination auf die Konzentration von Vitamin A in der jeweiligen Leber auswirken können. Diese individuellen Auswirkungen können die Speicherung von Vitamin A bis um den Faktor 2 variieren (Hoppe et al., 1992).

Des weiteren zeigten Untersuchungen hinsichtlich des Vitamin A-Gehaltes in einzelnen Leberlappen von Schlachtschweinen, dass in einem größeren Anteil der Lebern die Vitamin A-Verteilung (I.E./g Frischmasse) in den Leberlappen sehr unterschiedlich war und die Werte aus diesen teilweise erheblich vom jeweiligen Mittelwert abwichen. Die relativen Standardabweichungen vom Mittelwert jeder Leber betragen zwischen 2 und 29%, durchschnittlich 12%. Insgesamt gesehen schienen die rechten Leberteile mehr Vitamin A zu enthalten als die linken. So lag im Durchschnitt der Gehalt des rechten äußeren Leberlappens 3% über dem Gesamtmittelwert. Mit 7% unter dem Gesamtmittelwert hatte der linke äußere Leberlappen den durchschnittlich niedrigsten Gehalt. Schlußfolgernd hieraus empfiehlt es sich für Vitamin A-Bestimmungen, zum Erhalt genauerer Ergebnisse Proben aus mehreren Leberteilen zu entnehmen, bzw. die gesamte Leber zu homogenisieren (Wilk, 1988; Hoppe et al., 1992; Dannenberg, 1969; Rezevskaja, 1957; Kiener, 1988).

Die Auswertung der Ergebnisse aus Versuch 2 zeigen, dass die Leber als Hauptspeicherorgan für Vitamin A im Körper erwartungsgemäß die größten

Anreicherungen des Vitamin A nach Applikation der Boli im Vergleich zu allen anderen untersuchten Organen aufweist.

Abbildung 7 zeigt die Vitamin A-Konzentrationen in der Leber der drei Untersuchungsgruppen zu den jeweiligen Entnahmezeitpunkten.

Da durch die lymphatisch-korpuskuläre Resorption wesentlich mehr Vitamin A pro Zeiteinheit in das Blut aufgenommen werden konnte als bei der transzellulären Resorption, wurde bereits nach 24 Stunden signifikant mehr Vitamin A in der Leber der mit „sano vital AE“ behandelten Tiere im Gegensatz zu den Tieren, die das konventionelle Vitamin A-Präparat verabreicht bekommen hatten, gespeichert. Der höhere Anstieg der Vitamin A-Konzentration in der Leber bei der „sano vital AE“-Gruppe könnte als bessere bzw. schnellere Verfügbarkeit des emulgierten Vitamin A im Organismus bzw. in den Zielgeweben gedeutet werden.

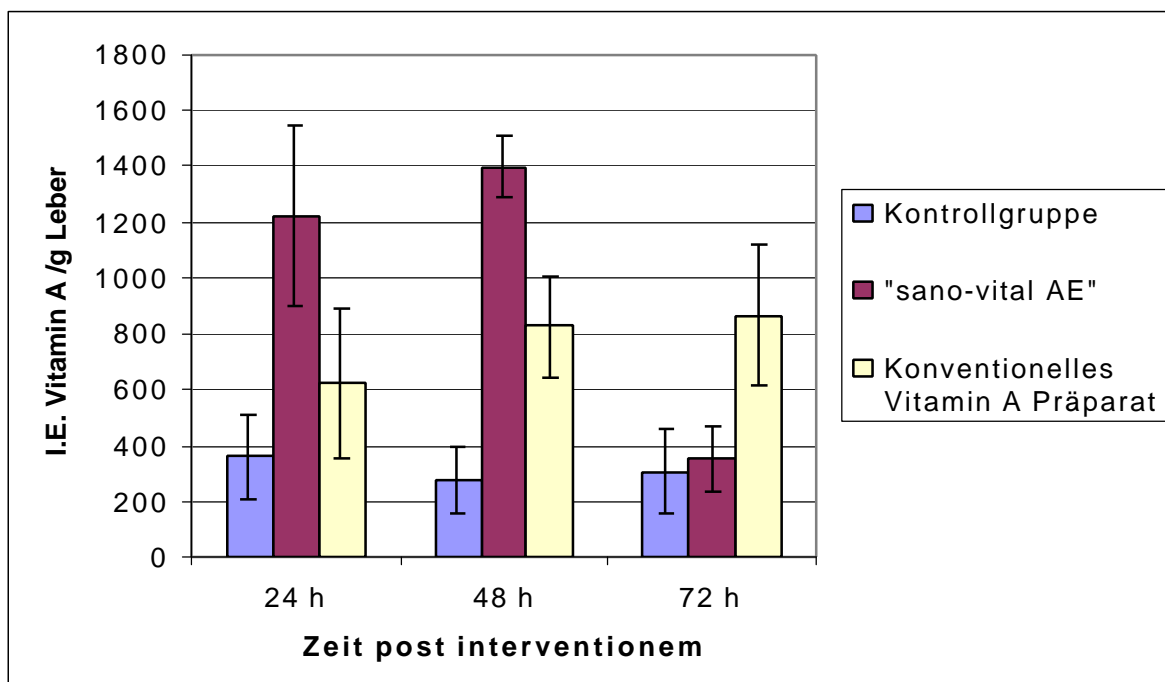


Abbildung 7: Vitamin A-Konzentrationen der Leber in der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen zu den unterschiedlichen Entnahmezeitpunkten

Als welcher Metabolit das Vitamin A nach der lymphatisch-korpuskulären Resorption im Blut transportiert und in der Leber gespeichert wird, wurde in vorliegender Arbeit nicht untersucht. Auch die Frage, ob und in welcher Weise das Retinol-binding-Protein bei Transport und Speicherung involviert sein könnte, wurde nicht geklärt.

Jedoch scheinen Unterschiede in der verstoffwechselten Form des Vitamin A in Abhängigkeit vom Resorptionsweg zu bestehen, da das lymphatisch-korpuskulär resorbierte Vitamin A in der Leber nicht so lange gespeichert werden konnte, wie das transzellulär resorbierte. Ein eventueller Abbau des in der Leber gespeicherten Vitamin A scheint in der „sano vital AE“-Gruppe schneller möglich zu sein, da der Vitamin A-Gehalt nach 72 Stunden wieder im Bereich der Kontrollgruppe lag, während das transzellulär resorbierte Vitamin A zu diesem Zeitpunkt immer noch signifikant erhöhte Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe aufweisen konnte.

Eine Erklärung für den Verbleib des Vitamin A aus der „sano vital AE“-Gruppe nach 72 Stunden kann eine Ausscheidung mit der Galle, also letztlich über den Kot bzw. eine Auslagerung in das Fettgewebe sein.

Allerdings wurden keine Vitamin A-Bestimmungen im Kot in dieser Arbeit vorgenommen, so dass der wirkliche Verbleib nicht endgültig geklärt werden konnte.

5.2.2. Vitamin A in den Darmlymphknoten

5.2.2.1. Versuch 1

Parallel zu den Organproben von der Leber wurden auch Proben aus den Darmlymphknoten entnommen. 48 Stunden post interventionem lag der Vitamin A-Gehalt der Lymphknoten unterhalb der Nachweisgrenze für Vitamin A. Dies lag möglicherweise daran, dass das resorbierte Vitamin A aus dem Darmtrakt bereits vollständig aufgenommen war. In Versuch 2 sollten daher bereits früher Proben gewonnen werden, um überprüfen zu können ob die Vitaminemulsion über den lymphatisch-korpuskulären Resorptionsweg aufgenommen wird.

5.2.2.2. Versuch 2

Bei den Darmlymphknoten konnten zu keinem Entnahmezeitpunkt signifikante Unterschiede bezüglich der Vitamin A-Konzentrationen weder bei den beiden Versuchsgruppen untereinander noch zur Kontrollgruppe gefunden werden, wie in Abbildung 8 veranschaulicht wird. Auch sind die Werte im Vergleich zu den Vitamin A-Gehalten in der Leber sehr gering.

Die Anflutung des Vitamin A in den Darmlymphknoten erfolgt direkt im Anschluß an die Resorption aus dem Darm, also fast parallel zum Anstieg der Konzentration im Serum. Da die Serumkonzentrationen von Vitamin A bereits nach 8 Stunden wieder in den Bereich der Kontrollgruppe abgefallen waren, wie aus Abbildung 5 ersichtlich ist, konnte die Auswertung der Darmlymphknoten 24 Stunden post interventionem und später kein relevantes Ergebnis mehr liefern.

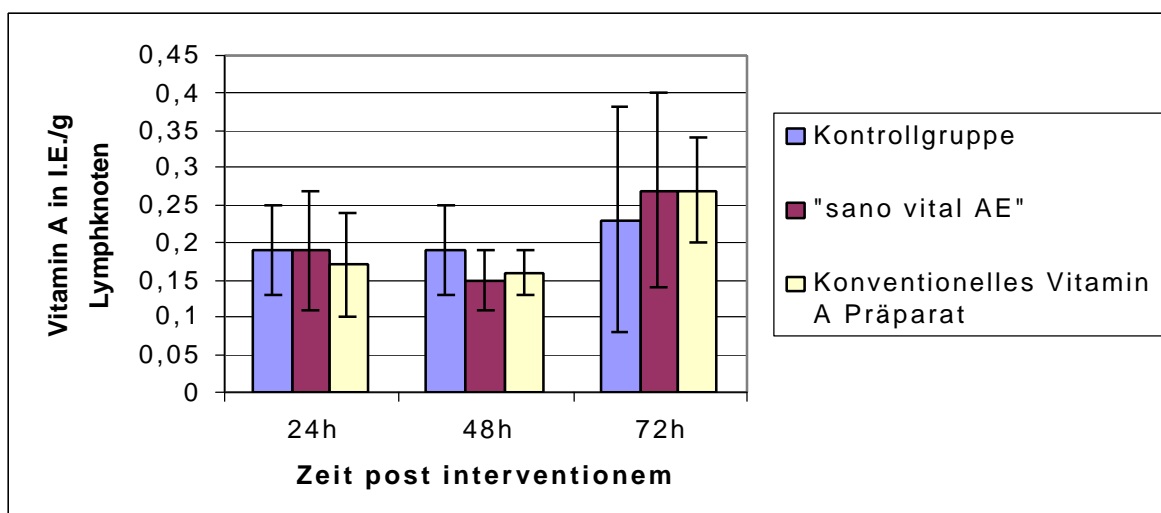


Abbildung 8: Vitamin A-Konzentrationen der Darmlymphknoten in der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen zu den unterschiedlichen Entnahmezeitpunkten

5.2.3. Vitamin A in der Lunge und der Niere

In den Zielorganen Lunge und Niere kommt es zu keinem Zeitpunkt zu einer nennenswerten Speicherung von Vitamin A, wie in den Abbildungen 9 für die Lunge und in Abbildung 10 für die Niere veranschaulicht ist.

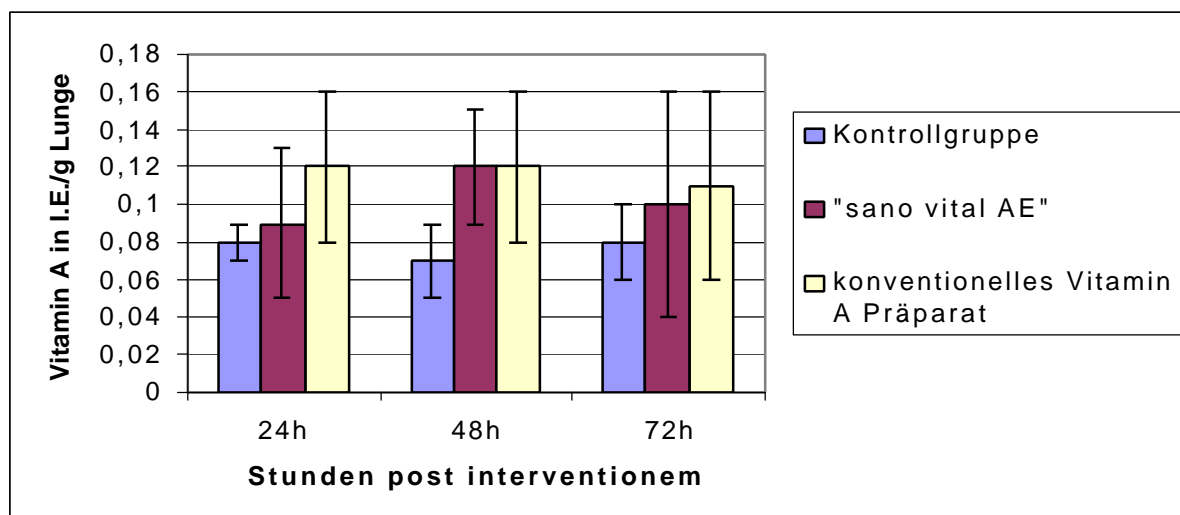


Abbildung 9: Vitamin A-Konzentrationen der Lunge in der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen zu den unterschiedlichen Entnahmezeitpunkten

Auffallend ist die große Streuung der Mittelwerte besonders bei der Lunge.

Eine mögliche Erklärung hierfür wäre eine während der Agonie und postmortal auftretende Hypostase, die besonders in diesem Organ stark ausgeprägt ist. Dabei sammelt sich das Blut, dem Gesetz der Schwere folgend in den unten liegenden Lungenlappen, wenn das tote Tier auf der Seite liegt. Nachdem das Blut ebenfalls Vitamin A enthält, könnte eine Organprobe aus den unten liegenden Lungenlappen in der Analyse einen höheren Vitamin A-Gehalt haben, als eine Probe aus einem oben liegenden und weniger Blut enthaltenden Lungenlappen.

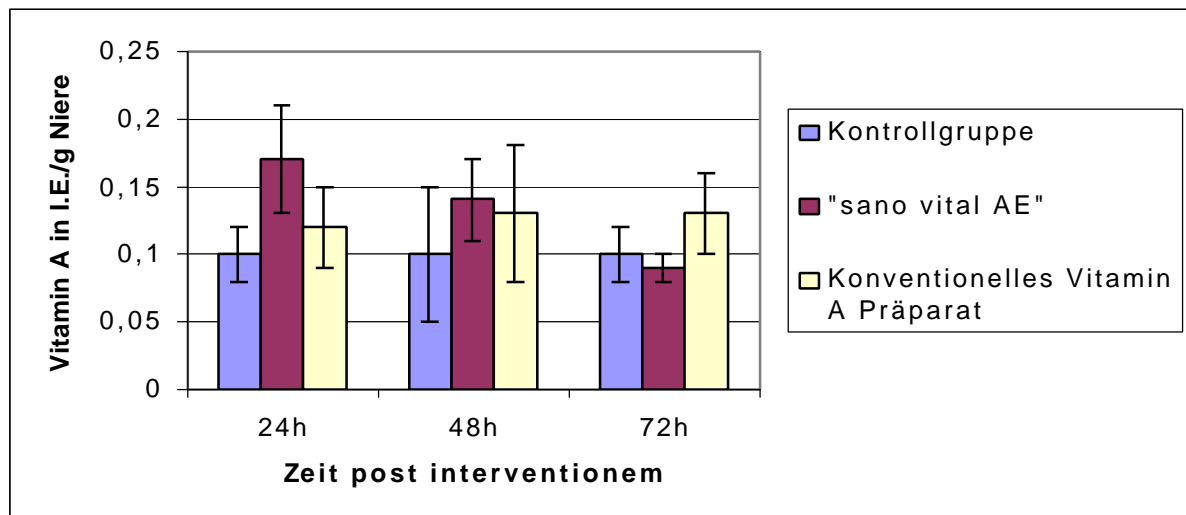


Abbildung 10: Vitamin A-Konzentrationen der Niere in der Kontrollgruppe und den beiden Versuchsgruppen zu den unterschiedlichen Entnahmezeitpunkten

In Bezug auf ihr Speichervermögen für Vitamin A besitzen die beiden Organe keine signifikanten Unterschiede, wie aus Abbildung 11 zu erkennen ist.

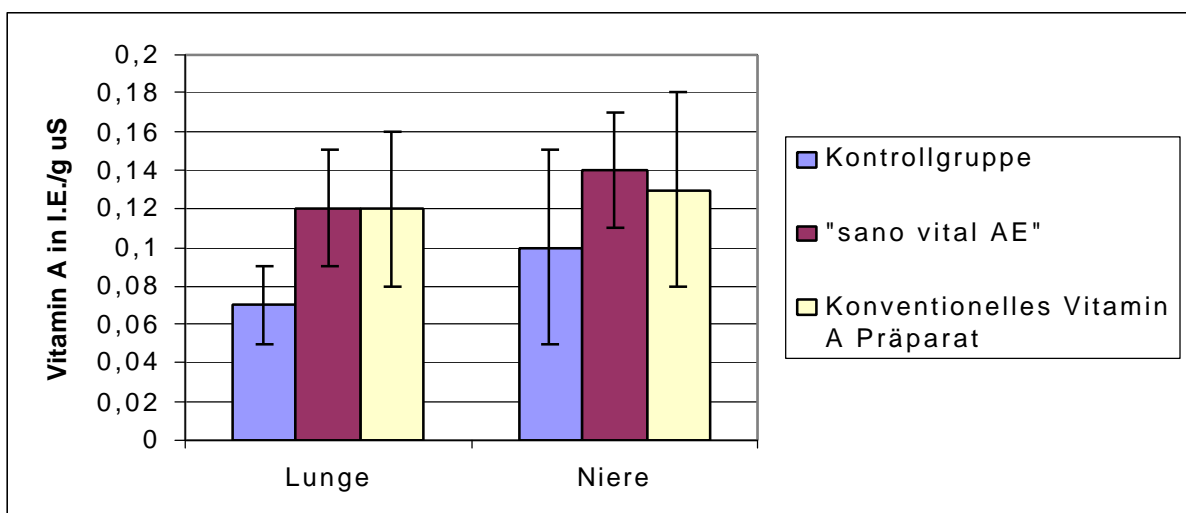


Abbildung 11: Vitamin A-Konzentrationen der Niere und der Lunge zum Zeitpunkt 48 Stunden post interventionem

Die Konzentrationen an gespeichertem Vitamin A sind im Vergleich mit dem Hauptspeicherorgan Leber sehr gering. Dies ist eventuell mit einer geringen Speicherkapazität dieser Organe für Vitamin A zu erklären. Durch die gute Vitamin A-

Supplementierung der Schweine in vorliegender Arbeit durch das Futter und den zuvor verabreichten Vitamin A-Bolus waren die Speicher von Lunge und Niere möglicherweise bereits gefüllt und eine weitere Aufnahme somit nicht mehr möglich.

6. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, mögliche Unterschiede bei der Resorptionsgeschwindigkeit, beim Resorptionsweg und beim Speicherverhalten von oral verabreichtem Vitamin A in Abhängigkeit von der Wirkstoffzubereitung beim Schwein herauszufinden.

Dazu wurden 6 Wochen alte Schweine (Deutsche Landrasse x Pietrain) nach Wurf, Geschlecht und Gewicht randomisiert und in eine Kontrollgruppe sowie zwei Untersuchungsgruppen eingeteilt. Zusätzlich zu einem üblichen Ferkelaufzuchtfutter mit 8.000 I.E. Vitamin A bekamen die Tiere einmalig einen Vitamin A-Bolus von 300.000 I.E. in Form einer konventionellen Vitaminmischung in Pulverform oder in Form einer Milchfetttröpfchen-Vitaminemulsion verabreicht.

Zur Bestimmung der Konzentration von Vitamin A im Serum nach der oralen Applikation wurden mehrere Blutproben gewonnen und auf ihren Vitamin A-Gehalt hin untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, dass die Resorption des emulgierten Vitamin A-Präparates schneller und in größerem Umfang statt fand, als die Resorption des konventionellen Vitamin A-Präparates.

Eine mögliche Erklärung dafür könnte der unterschiedliche Resorptionsweg der beiden Vitaminformulierungen sein. So wurde für das emulgierte Vitamin A-Präparat der lymphatisch-korpuskulären Resorptionsweg im Gegensatz zur transzellulären Resorption des konventionellen Präparates angenommen. Dabei werden die emulgierten Fetttröpfchen ohne vorherige enzymatische Aufspaltung durch Interzellularspalten direkt in die Lymphe abgegeben. Für den transzellulären Resorptionsweg hingegen sind zahlreiche enzymatisch gesteuerte Vorgänge notwendig, die den Vitamin A-Umsatz pro Zeiteinheit beschränken.

Zur Untersuchung des Speicherverhaltens in den Zielorganen fand eine erneute Applikation der jeweiligen Vitamin A-Präparate statt. Im Anschluß daran wurden pro Gruppe je 5 Schweine nach 24, 48 und nach 72 Stunden getötet, die zu untersuchenden Organproben entnommen und auf ihren Vitamin A-Gehalt untersucht. Für Niere, Darmlymphknoten und Lunge bestanden zu keinem Entnahmezeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

Im Gegensatz dazu zeigte sich bei den Lebern bereits nach 24 Stunden eine signifikante Erhöhung der Vitamin A-Konzentration bei der Emulsions-Gruppe, die nach 48 Stunden ihr Maximum erreicht hatte. Nach 72 Stunden fielen die Werte

dieser Gruppe bereits wieder auf die Werte des Ausgangsniveaus zurück, während der Leber-Vitamin A-Gehalt der Gruppe, welche das konventionelle Vitamin A-Präparat erhalten hatte, langsamer anstieg und länger erhöht blieb.

Aus diesen Ergebnissen kann man die Schlußfolgerung ziehen, dass Vitamin A in emulgierter Form dem Organismus nach oraler Aufnahme schneller und in höheren Konzentrationen zur Verfügung steht, ohne dass gleichzeitig eine längere Speicherung im Körper stattfindet.

7. Summary

Kirstin Lambrecht

Influence of the agent formulation on the vitamin A resorption of piglets

Objective of this analysis was finding out about possible differences in the speed of resorption, way of resorption and way of accumulation of vitamin A which is administered orally to pigs and to determine the dependence on how the active ingredient was prepared.

In order to achieve this, 6 week old pigs (Deutsche Landrasse x Pietrain) were randomized according to litter, sex and weight and divided into one control group and two treatment groups. In addition to a customary breeding food for piglets with 8.000 I.U., the animals were give a one-time vitamin A-Bolus of 300.000 I.U. consisting of a conventional vitamin mixture in powder form or in form of a milk-fat droplet vitamin emulsion.

In order to determine the vitamin A concentration in the serum after the first oral application, various blood samples were taken and analysed regarding their contents of vitamin A. It was found out that emulsified vitamin A preparation was resorbed quicker and to a larger extent than the resorption of the conventional vitamin A compound.

The different way of resorption of the two vitamin compounds might be one explanation. Thus, it is expected that the emulsified vitamin A preparation is resorbed lymphatic-corposcularly, while the conventional preparation in contrast is resorbed trans-cellularly.

In this process, the emulsified fat droplet are passed on directly to the lymph without prior enzymatical dispartment by intercellular gaps. In contrast, the trans-cellular way of resorption requires numerous enzymatic-controlled processes which limit the consumption of vitamin A per time unit.

In order to examine the accumulation behaviour in the target organ, another application of the respective vitamin A preparation was administered. Afterwards, 5 pigs per group were culled after 24, 48 and 72 hours. The necessary organs were

removed and examined for their vitamin A contents. Not at any time have there been any significant differences for kidneys, intestine lymph nodes and lung between the treatment groups.

In contrast, the livers showed significant increase of vitamin a concentration already after 24 hours in the emulsion-group, reaching its maximum after 48 hours. After 72 hours, the levels of this group decreased back to the original level, while the vitamin A level in the livers of the group which had been administered the conventional preparation increased slower and remained on the higher level for a longer period.

Based on these results, one can draw the conclusion that vitamin A in emulsified form reaches a faster and higher concentration in an organism without longer accumulation in the body at the same time.

8. Literaturverzeichnis

Adams, K. L., Bazer, F.W., Roberts, R.M. (1981)

Progesterone-induced secretion of a retinol-binding Protein in the pig uterus
J. Reprod. Fertil. 62: 39.

Ahmed, F., Jones, D.B., Jackson, A.A. (1990)

The interaction of vitamin A deficiency and rotavirus infection in the mouse
Br. J. Nutr. 63(2): 363-73.

Anderson, M.D., Speer, V.C., McCall, J.T., Hays, V.W. (1966)

Hypervitaminosis A in the young pig
J. Anim. Sci. 25(4): 1123-7.

Arnhold, R., Nau, H., Meyer, S., Rothkoetter, H.J., Lampen, A. (2002)

Porcine intestinal metabolism of excess vitamin A differs following vitamin A supplementation and liver consumption
J. Nutr. 132: 197 – 203.

Barnicot, N.A., Datta, S.P. (1972)

The Biochemistry and Physiology of Bone
GH Bowne, Vol 2, 2nd edn, Academic Press New York : 205.

Bebravichyus, V., Medzyavichyus, A.K. (1989)

Effect of supplements of vitamin A on changes in the content in blood serum of pigs infected with *Trichocephalus suis* in commercial conditions
Lietuvos-Biologijos-Moksia: (2): 95-99.

Behrens, H. (1965)

Vitamin A deficiency in piglets
Züchtungskunde 37: 348.

Bessis, M. (1960)

Die Zelle im Elektronenmikroskop

Sandoz-Monographien, Basel.

Biesalski, H.K., Nohr, D. (2003)

Importance of vitamin A for lung function and development

Mol. Aspects Med. 24(6): 431-40.

Blair, R., Burton, B.A., Doige, C.E., Halstead, A.C. (1989)

Tolerance of weanling pigs for dietary Vitamin A and D

Int. J. Vit. Nutr. Res. 59: 329-332.

Blomhoff, R.M, Green, H., Berg, T., Norum, K. R. (1990)

Transport and storage of vitamin A

Science 250: 399.

Bondi, A., Sklan D. (1984)

Vitamin A and carotene in animal nutrition

Prog. Food Nutr. Sci. 8(1-2): 165-91.

Booth, W.D. (1974)

Vitamin A in testicular tissue of the boar and intersex pig

J. Repr. Fertil. 40(1): 219-222.

Borel, P., Berengere P., Armand, M., Tyssandier, V., Grolier, P., Andre, M., Senft, M.,

Peyrot, J., Jaussan, V., Lairon, D., Azais-Braesco, V. (2001)

Processing of vitamin A and E in the human gastrointestinal tract

Am. J. Physiol. Vol. 280: G95-G103.

Boron, R., Hupert, J., Barch, D., Fox, C., Friedman, H., Layden, T., Mobaman, S.

(1988)

Effect of zinc deficiency on hepatic enzymes regulating vitamin A status

J. Nutr. 118 (8): 995-1001.

- Boroskova, Z., Benkova, M., Berezko, V., Rosival, I., Toth, G. (1985)
Stimulatory effect of vitamin A on T and B lymphocytes in swine experimentally
infected with *Ascaris suum*
Verterinarnia-Medicina 30(6): 331-336.
- Bowman, T.A., Goonewardene, I.M., Pasatiempo, A.M., Ross, A.C., Taylor, C.E.
(1990)
Vitamin A deficiency decreases natural killer cell activity and interferon production in
rats
J. Nutr. 120(10): 1264-73.
- Brief, S., Chew, B.P. (1985)
Effects of vitamin A and beta-carotene on reproductive performance in gilts
J. Anim. Sci. 60(4): 998-1004.
- Buck, J., Derguini, F., Levi, E., Nakanishi, K., Hämmerling, U. (1991)
Intracellular signalling by 14-hydroxy-4,14-retroretinol
Science 254: 1654-56.
- Buhi, W., Bazer, F.W., Ducsay, C., Chun, P.W., Roberts, M. (1979)
Iron content, molecular weight and possible function of the progesterone-induced
purple glycoprotein
Fed. Proc. 38: 733.
- Campbell, J.L. Jr., Smith, M.A., Fisher J.W., Warren D.A. (2004)
Dose-response for retinoic acid-induced forelimb malformations and cleft palate
Birth Defects Res. B. Dev. Reprod. Toxicol. 71(4): 289-95.
- Carman, J., Pond, L. (1992)
Immunity to *Trichnella spiralis* infection in vitamin A deficient mice
J. Exp. Med. 175: 111-120.

Carrigan, M.J., Glastonbury, J.R.W., Evers, J.V. (1988)

Hypovitaminosis A in pigs

Austr. Vet. J. 65: 158-159.

Chew, B. (1991)

Kinetics of carotene uptake by subcellular fractions of bovine lymphocytes

J. Anim. Sci. 69, Suppl. 1: 551 A.

Chew, B. (1993)

Effect of supplemental vit A on reproduction in swine

J. Anim. Sci. 71(1): 247-52.

Chew, B., Johnston, L. (1985)

Effects of supplemental vitamin A and carotene on mastitis in dairy cows

J. Dairy Sci. 68. Suppl. 1: 191 A.

Ching, S., Mahan, D.C., Wiseman, T.G., Fastinger N.D. (2002)

Evaluating the antioxidant status of weanling pigs fed dietary vitamins A and E

J. Anim. Sci. 80(9): 2396-401.

Christensen, N.O. (1958)

Gehalt an Vitamin A in der Leber von Ferkeln

Nord. Vet. Med.10: 49-62.

Chun, T.Y., Caraman, C.A., Hayes, C.E. (1992)

Retinoid repletion of vitamin A-deficient mice restores IgG responses

J. Nutr. 122(5): 1062-9.

Coffey, M.R., Britt, J.H. (1993)

Enhancement of sow reproductive performance by beta-carotene or vitamin A

J. Anim. Sci. 71(5): 1198-202.

Crowle, A., Ross, E.J. (1989)

Inhibition by retinoic acid of multiplication of virulent tubercle bacilli in cultured human macrophages

Inf. and Immun. 57: 840-44.

Cunha, T.J. (1972)

Vitamins for Swine Feeding and Nutrition

Vet. Med. small Anim. Clin. 67(3): 263-8.

Dahlquist, S., Chew, B. (1985)

Effects of vitamin A on mastitis in dairy cows during the early dry period

J. Dairy Sci. 68, Suppl. 1: 191-192 A.

Daniel, E., Chew, B.P., Tanaka, T.S., Tjoelker, L.W. (1987)

Peripartum changes in phagocyte and lymphocyte function in dairy cows

J. Dairy Sci. 70, Suppl. 1: 166 A.

Dannenberg, H.D. (1969)

Untersuchungen zur Vitamin A-Versorgung der Schweine

Arch. Exp. Vet. Med. 24(1): 425-449.

Dannenberg, H.D. (1971)

Untersuchungen zur Vitamin A- und E-Versorgung der Schweine

Arch. Exp. Vet. Med. 29(2): 689-91.

Dawson, M.I. (2000)

The importance of vitamin A in nutrition

Curr. Pharm. Des. 6(3): 311-25.

De Luca, F., Uyeda, J.A., Mericq, V., Mancilla, E.E., Yanovski, J.A., Barnes, K.M., Zile, M.H., Boron, J. (2000)

Retinoic acid is a potent regulator of growth plate chondrogenesis

Endocrinology 141(1): 346-53.

Deskmuth, D.A. (1964)

Studies on metabolism of vitamin A

A. Biochem. J. 90: 98.

Dickson, I., Walls, J. (1985)

Vitamin A and bone formation. Effect of an excess of retinol on bone collagen synthesis in vitro

Biochem. J. 15; 226(3): 789-95.

Dobson, K.J. (1969)

Osteodystrophy associated with hypervitaminosis A in growing pigs

Austr. Vet. J. Vol. 45: 570-73.

Doige, C., Schoonderwoerd, M.(1988)

Dwarfism in a swine herd: suspected vitamin A toxicosis

J. Am. Vet. Med. Assoc. 193(6): 691-3.

Donoghue, S., Kronfeld, S., Ramberg, C. (1979)

Plasma retinol transport and clearance in hypervitaminosis A

J. Dairy Sci. 62(2): 326-332.

Dowling, J., Wald, G. (1958)

Vitamin A deficiency and night blindness

Proc. of the Nat. Acad. Sci. of the USA, 44: 648-661.

Dvorak, M. (1983)

Effects of starvation and zinc intake on vitamin A and E levels in the blood plasma of piglets

Acta Vet., Brno 52 (1/2): 49-57.

Dvorak, M. (1987)

Effects of stress on the vitamin A and E concentrations in the blood serum of piglets

Vet. Med. 32(3): 161-169.

Emel`-zanov, L., Frecmane, R. (1972)

Effect of intramuscular injection of vitamin A concentrate on biological activity of sows colostrum

Latvijas Lauksaimniecibas Akademijas Raksti. 58: 36-38.

Emerick, U., Olson, O.E., (1962)

Effect of nitrate and nitrite on vitamin A storage in the rat

J. Nutr. 78, 73-7.

Eppinger, T.M., Buck, J., Hammerling, U. (1993)

Growth control or terminal differentiation: endogenous production and differential activities of vitamin A metabolites in HL-60 cells

J. Exp. Med. 178: 1995-2005.

Everhart, E.L. (1958)

Vitamin A in nutrition

J. Am. Vet. Med. Ass. 132: 344.

Ferreira, W.G., Pessoa, J.M., Figueiredo, C. (1985)

Serum vitamin A values in clinically normal dogs and dogs with sarcoptic mange

Arq. Bras. Med. Vet. et Zoot. 37: 325-331.

Forni, G., Cerruti, M., Giovarelli, A., Santoni, P., Martinetto, D., Vietti, D. (1986)

Effect of prolonged administration of low doses of dietary retinoids on cell-mediated immunity and the growth of transplantable tumors in mice

J. Nat. Cancer Inst. 76: 527-533.

Franklin, K.T., Young, J.W., Horst, R.L., Nonnecke, B.J. (1995)

Administration of 13-cis-retinoic acid to dairy cattle

J. Dairy Sci. 78: 70-76.

Frape, D.G., Wolf, K.L., Wilkinson, J., Chubb, L.G. (1969)

The vitamin A requirement of the young pig

J. Agric. Sci. Camb. 73: 33.

Friedman, A., Meidovsky, A., Leitner, G., Sklan, D. (1991)
Decreased resistance and immune response to E. coli infection in chicks with low or high intakes of vitamin A
J. Nutr. 212: 395-400.

Fuhrmann, H., Sallmann, H.P., Thesing, E. (1997)
Die Wirkungen der Vitamine A und E auf den antioxidativen Metabolismus beim Absatzferkel
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 104: 387-391.

Ganguly, J., Pope, G.S., Thompson, S.Y., Toothill, J., Edwards-Webb, J.D., Waynforth, H.B., (1971)
Studies on the metabolism of vitamin a
Biochem. J. 122: 235.

Garbe, R., Buck, J., Hammerling, U. (1992)
Retinoids are important cofactors in T-cell activation
J. Exp. Med. 176: 109-117.

Gerster, H. (1997)
Vitamin A – functions, dietary requirements and safety in humans
Int. J. Vitam. Nutr. Res. 67(2): 71-90.

Gijbels, M.J., van der Ham, F., van Bennekum, A.M., Hendriks, H.F., Roholl, P.J. (1992)
Alterations in cytokeratin expression precede histological changes in epithelia of vitamin A-deficient rats
Cell & Tissue Research 268(1): 197-203.

Goff, J., Stabel, R. (1990)
Decreased plasma retinol, tocopherol and Zink concentration during the periparturient period
J. Dairy Sci. 73: 3195-99.

Goodmann, D.S. (1984)

Overview of current knowledge of metabolism of vitamin A and carotenoids

Nat. Cancer Inst. 73(6): 1375-9.

Green, M.H., Green, J.B., Berg, T., Norum K.R., Blomhoff, R. (1993)

Vitamin A metabolism in rat liver: a kinetic model

Am. J. Physiol. 264 (3 Pt 1): G509-21.

Gunther, K.D. (1976)

Effect of vitamin A on fertility

Bay. Landwirtsch. Jahrbuch 1976 53(8): 920-32.

Hagen, E., Myhre, A.M., Smeland S., Halvorsen, B., Norum, K.R., Blomhof, R.M.
(1999)

Uptake of vitamin A in macrophages from physiologic transport-proteins

J. Nutr. Biochem. 10(6): 345-52.

Hakansson, J., Hakkarainen, J., Lundeheim, N. (2001)

Variation in Vitamin E, glutathione peroxidase and retinol concentrations in blood plasma of primiparous sows and their piglets

J. Anim. Sci. 51(4): 224-234.

Halevy, O., Arazi, Y., Melamed, D., Friedman, A., Sklan, D. (1994)

Retinoic acid receptor gene expression is modulated by dietary vitamin A and by retinoic acid in chicken lymphocytes

J. Nutr. 124: 2139-2146.

Harney, J.P., Mirando, M.A., Smith, L.C., Bazer, F.W. (1990)

Retinol-binding protein, a major secretory product of the pig conceptus

Biol. Reprod. 42: 523.

Harrison, E.H. (1998)

Lipases and carboxylesterases

Annu. Rev. Nutr. 18: 259-76.

Harrison, E.H., Hussain, M.M. (2001)

Mechanisms involved in the intestinal digestion and absorption of dietary vitamin A
J. Nutr. 131(5): 1405-8.

Hatchigan, E., Santos, J.J., Broitman, S.A., Vitale, J.J. (1989)

Vitamin A supplementation improves macrophage function and bacterial clearance during experimental salmonella infection
Proceed. Soc. Exp. Biol. Med. 191: 47-54.

Haubold, H., Heuer, E., Rohusinskyj, R. (1969)

Beiträge zur corpusculären Resorption von Milchfett-Emulsionen und Feinemulgaten anderer Nahrungsfette

Verlag Hans Carl, Nürnberg: Milchwissenschaft, Jg. 15(2): 53-59.

Haubold, H., Heuer, E., Loew, H.W., Rohuschinskyj, R. (1966)

Dünndarmstruktur und Milchfettresorption

Verlag Hans Carl, Nürnberg: Milchwissenschaft, Jg. 21(1): 21-28.

Hennig, A., Schöne, F., Lüdke, H., Panndorf, H., Geinitz, D. (1985)

Untersuchungen zum Vitamin A Bedarf des wachsenden Schweines
Arch. Tierernähr. 35 (1): 19 - 31.

Hjarde, W., Neimann-Sorensen, A., Palludan, B., Sorensen, P.H. (1961)

Investigations concerning vitamin A requirement, utilization and deficiency symptoms in pigs

Acta Agric. Scand. 11: 13.

Hoar, D., Embry, L., Emerick, J. (1968)

Nitrite and vitamin A interrelationships in sheep

J. Anim. Sci. 27(6): 1727-33.

Hoppe, P.P., Schöner, F.J., Frigg, M. (1992)

Effects of Dietary Retinol on Hepatic Retinol Storage and on Plasma and Tissue Tocopherol in Pigs

Internat. J. Vit. Nutr. Res. 62: 121-129.

Hutagalung, R., Chaney, C.J., Wood, R.D., Waddill, D.G. (1968)

Effects of nitrates and nitrites in feed on the utilization of carotene in swine

J. Anim. Sci. 27(1): 79-82.

Jacobsen, S.E., Fahlman, C., Blomhoff H.K., Okkenhaug, C., Rusten L.S., Smeland, E.B. (1994)

All-trans and 9-cis-retinoic acid: potent direct inhibitors of primitive murine hematopoietic progenitors in vitro

J. Exp. Med. 179: 1665-70.

Jang, J., Green, J.B., Beard, J., Green, M. (2000)

Kinetic analysis shows that iron deficiency decreases liver vitamin A mobilization in rats

J. Nutr. 130(5): 1291-6.

Johnson, E.J., Krasinski, S.D., Joward, L.J., Alger, S.A., Dutta, S.K., Russell, M. (1992)

Evaluation of vitamin A absorption by using oil-soluble and water-miscible vitamin A preparations

Am. J. Clin. Nutr. Vol 55: 857-864.

Jump, A.C., Lepar, G.J., Mac Dougald, O.A. (1993)

Nutrition and gene expression

Ed. Berdanier, C.D., J.L. Hargrove, 431p., CRC Press, Boca Raton

Kairov, V. (1998)

Vitamin A requirements of sows

Svinovodstvo-Moskva (6): 24-6.

Kamphues, (1999)

Supplemente, 9. Auflage

Verlag M & H Scharper: 212.

Kehrli, A., Nonnekke, B.J., Roth, J.A. (1989)

Alterations in bovine neutrophil function during the periparturient period

Am. J. Vet. Res. 50: 207-14.

Kessler, J., Jost, M. (1999)

Empfohlenes Angebot an Vitamin A, E und D beim Ferkel

Agrarforschung; 6(10): 369-72.

Kiener, T. (1988)

Liver storage of vitamin A as an indicator of its requirements and availability in piglets

Proceeding of the 4th int. Seminar in Poland: 389-391.

Kiener, T., Lougnon, J., Hymonnet, J.B., (1988)

Biological efficiency of vitamin A in piglets. Dynamics of liver storage

Journées de la Recherche Porcine en France (20): 321-25.

King, N. (1957)

Die Membran der Milchfettkügelchen

Volkswirtschaftlicher Verlag, Kempten

Kinoshita, X., Xanaka, R. (1991)

Immunological memory to tetanus toxoid is established and maintained in the vitamin-A-depleted rat

FASEB J. 5: 2473-81.

Kirchgeßner, M., Roth, F., Roth, H. (1989)

Interrelationships of zinc and vitamin A supply in growing pigs

J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 61 (2-3): 159-167.

Kirchgeßner, M. (2000)

Tierernährung, 10. Auflage

Verlagsunion Agrar: 187.

Kodaka, T., Takaki, H., Soeta, S., Mori, R., Naito, Y. (1998)

Local disappearance of epiphyseal growth plates in rats with hypervitaminosis A

J. of Vet. Med. Sci. 60(7): 815-21.

Kolb, E. (1995)

Die Bedeutung des Vitamins A für das Immunsystem

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 108: 385-390.

Kolb, E. (2004)

Biochemical and pathobiochemical aspects of the development and prophylaxis of piglet losses

Prakt. Tierarzt; 85(5): 356-364.

Kolb, E., Seehawer, J. (1994)

Probleme eines hohen Gehalts an Vitamin A in der Leber von Kälbern, Rindern, Schafen und Schweinen für den Verbraucher

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 107: 342-47.

Kolb, E., Seehawer, J. (1997)

Ursache der embryonalen Verluste bei Schweinen

Tierärztl. Umschau; 52: 290-98.

Kolb, E., Seehawer, J. (2001)

Belastungen bei Schweinen

Tierärztl. Umschau; 56: 90-96.

Landes, E. (1994)

Levels of vitamin A in the liver of cattle and pigs

Übersichten zur Tierernährung; 22 (2): 281-319.

Lee, H.Y., Suh, Y.A., Robinson, M.J., Clifford, J.L., Hong, W.K., Woodgett, J.R.
(2000)

Stress pathway activation induces phosphorylation of retinoid X receptors
J. Biol. Chem. 13; 275(41): 32193-9.

Leutskaya, Z., Dryuchenko, E.A., Eranova, N.A. (1993)

Vitamin A and the establishment of helminths
Trudy gelmintolog. Laborat. 39: 84-92.

Li, E., Tso, P. (2003)

Vitamin A uptake from foods
Curr. Opin. Lipidol. 14(3): 241-7.

Liebenow, H. (1972)

Nitrate und Nitrite in ihrer Beziehung zu Mensch und Tier
Arch. Tierernähr., Bd. 22: 281-293.

Liu, T., Lee, P. (1956)

Vitamin A content of the liver of suckling pigs
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 91: 571.

Lüdke, H., Schöne, F., Hennig, A., Seffner, W., Steinbach, G. (1985)

Untersuchungen zum Vitamin A Bedarf des wachsenden Schweines
Arch. Tierernähr., Bd. 35; 2: 97-108.

Majumder, M., Matamee, Y. (1987)

Effect of vitamin A deficiency on guinea pig Peyer-s patches
Nutr. Res. 7: 539-545.

Majumder, M., Sattar, A. (1987)

Peyers patch immune function of vitamin A deficient guinea pigs
Nutr. Rep. internat. 36: 143-150.

Mangelsdorf, D.J. (1994)

Vitamin A Rezeptors

Nutr. Rev. 52: 32-44.

Matschiner, J.T., Amelotti, J.M., Doisy E.A. Jr. (1967)

Mechanism of the effect of retinoic acid and squalene on vitamin K deficiency in the rat

J. Nutr. 91(3): 303-6.

Medzyavichyus, A.K., Bebravichyus, V., Drebitskene, G., Mozalene, E. (1989)

Effect of vitamin A on immunity to trichuriasis in piglets under industrial farming conditions

Acta-Parasitologica-Lituanica; 23: 115-129.

Michal, J., Chew, B.P., Wong, T.S., Heirman, L.R., Standaert, F.E. (1990)

Effects of supplemental vitamin A on blood and mammary phagocyte function in peripartum dairy cows

J. Dairy Sci. 73, Suppl. 1: 149 A.

Mingazov, T., Vaganova, G. (1978)

Effect of vitamin A on embryo survival and growth and development of piglets

Vestnik-Set-skokhozyaistvennoi 21(6):48-50: 132.

Mölbart, (1960)

The demonstration of alkaline phosphatase in the electronic microscope

J. Biophys. Biochem. Cytol. 7: 387-90.

Mori, M. (2003)

Molecular physiology of vision

Nippon Ronen Igakkai Zasshi 40(2): 101-8.

Moriguchi, M.A., Kohge, M., Kishino Y., Watson, R. (1988)

In vitro effect of retinol and 13-cis retinoic acid on cytotoxicity of human monocytes

Nutr. Res. 8: 255-64.

Myhre, A.M., Carlsen, M.H., Bohn, S., Wold, H.L., Laake, P., Blomhoff, R. (2003)
Water-miscible, emulsified, and solid forms of retinol supplements are more toxic
than oil-based preparations

Am. J. Clin. Nutr. 78(6): 1152-9.

Nayak, N., Hussain, M.M., Harrison, E.H. (2001)

Retinyl ester secretion by intestinal cells

J. Lipid Res. 42(2): 272-80.

Nehring, K., Hoffmann, M. (1966)

Carotinuntersuchungen an Futterpflanzen

Arch. Tierernähr. 16: 553.

Nielsen, T.J. (1965)

Vitamin A content in colostrum and milk from sows given vitamin A orally

Acta Agric. Scand. 15: 235.

Norum, K.R., Blomhoff, R. (1992)

Vitamin A absorption, transport, cellular uptake and storage

Clin. Nutr. 56(4): 735-44.

Nuwayri-Salti, N., Murad, T. (1985)

Immunologic and anti-immunosuppressive effects of vitamin A

Pharmacol. 30: 181-7.

Odiawo, G., Ndikuwera, J., Lawrence, J.A. (1990)

Suspected hypovitaminosis A in grower pigs

Zimbabwe Veterinary Journal 21 (3): 97-103.

Ott, D.B., Lachance, P.A. (1979)

Retinoic acid - a review

Am. J. Clin. Nutr. 32(12): 2522-31.

Palludan, B. (1966)

A-Avitaminosis in swine

Vet. med. Diss., Kopenhagen.

Parent, A.E., Rousseaux-Prevost, R., Carlier, Y., Capron, A. (1984)

Influence of vitamin A on the immune response of *Schistosoma mansoni* infected rats

Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 78: 380-4.

Pasatiempo, G.R., Pusateri, E.H. (1990)

Antibody production in vitamin A depleted rats

FASEB J. 4: 2518-27.

Pavlov, V.N. (1986)

Vitamin A deficiency in pigs

Vet. J. Moscow-USSR (12):11.

Pedersen, S., Saeed, I., Jensen S.K., Michaelsen, K.F., Friis, H. (2001)

Marginal vitamin A deficiency in pigs experimentally infected with *Trichuris suis*

Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 95(5): 557-65.

Phillips, W.E. (1966)

Effect of dietary nitrite on the liver storage of vitamin A in the rat

J. Biochem. Physiol. 44: 1.

Pitt, G.A. (1966)

Neuere Forschungen über die Physiologie des Vitamin A

Int. Z. Vit.forsch. 36: 249.

Pitt, G.A. (1981)

The assessment of vitamin A status

Proc. Nutr. Soc. 40: 173-78.

Polann, R., Grätsch, U. (1976)

Prüfung des diagnostischen Wertes des Stoffwechselfparameters Vitamin A bei Sauen

Stoffwechselfparameter Schwein, Inst. f. angewandte Tierhygiene, Eberswalde.

Pryor, W.J., Seawright, A.A., McCosker, B. (1969)

Hypervitaminosis A in the pig

Aust. Vet. J. 45 (12): 563-9.

Puengtomwatanakul, S., Sirisinha, S. (1986)

Impaired biliary secretion of immunoglobulin A in vitamin A deficient rats

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 182: 437-442.

Pujin, D. (1967)

Untersuchungen über die Wirkung von Vitamin A auf die Fortpflanzungsleistung beim Schwein

Acta vet. (Beograd) 17: 261.

Pusateri, A.E., Diekman, M.A., Singleton, W.L. (1999)

Failure of vitamin A to increase litter size in sows receiving injections at various stages of gestation

J. Anim. Sci. 77(6): 1532-5.

Quadro, L., Blaner W.S., Salchow, D.J., Vogel, S., Piantedosi, R., Gouras, P., Freeman, S., Cosma, M.P., Colantuoni, V., Gottesman, M.E. (1999)

Impaired retinal function and vitamin A availability in mice lacking retinol-binding-protein

J. EMBO. 1;18(17): 4633-44.

Quadro, L., Hamberger, L., Colantuoni, V., Gottesman, M., Blauer, W. (2003)

Understanding the physiological role of retinol-binding protein in vitamin A metabolism using transgenic and knockout mouse models

Mol. Aspects Med. 24(6): 421-30.

Rahman, T., Wahed, M.A., Fuchs, G.J., Baqui, A.J., Alvarez, J.O. (1996)

Hypovitaminosis A in piglets in an organised farm

Indian J. Vet. Path. 20(2): 148-9.

Rahmann, M., Wahed M.A., Fuchs, G., Baqui, A., Alvarez, J. (2002)

Synergistic effect of zinc and vitamin A on the biochemical indexes of vitamin A nutrition in children

Am. J. Clin. Nutr. 75 (1): 92-8.

Rambout, W., van Rens, B.T., Sijtsma, S.T., van der Weide, M.C., West, C.E. (1992)

Effect of vitamin A deficiency and Newcastle disease virus infection on lymphocyte subpopulations in chicken blood

Vet. Immunol. and Immunopathol. 31: 155-166.

Rao, B., Raja, C. (1977)

Studies on the effect of Vitamin A deficiency on sexual organs of boars. III.

Replacement therapy of deficient boars

Kerala Journal of Veterinary Science 8(1): 109-118.

Reifen, R. (2002)

Vitamin A as an anti-inflammatory agent

Proc. Nutr. Soc. 61(3): 397-400.

Rezevskaja, S.A. (1957)

Zit. nach Gazo, M. und Feldheim, W.

Int. Z. Vitaminforsch., 31: 20.

Richter, G., Wiesner, J. (1987)

Beziehungen zwischen der Vitamin A Versorgung von Küken und ihrer Disposition für Feldisolate von E. tenella

Mh. Vet. Med. 42: 895-896.

Roberts, R.M., Bazer, F.W. (1980)

The properties, function and control of synthesis of uteroferrin, the purple protein of the pig uterus

M. Beato (Ed.) Steroid induced Proteins: 133.

Roberts, R.M., Bazer, F.W. (1988)

The functions of uterine secretions

J. Reprod. Fertil. 82: 875.

Roodenburg, A., West, C.E., Yu, S., Beynen, A.C. (1994)

Comparison between time-dependent changes in iron metabolism of rats as induced by marginal deficiency of either vitamin A or iron

British J. Nutr. 71(5): 687-699.

Ross, A.C. (1996)

Vitamin A deficiency and retinoid depletion regulate the antibody response to bacterial antigens and the maintenance of natural killer cells

Clin. Immunol. Immunopathol. 80: 63-72.

Ross, A.C., Pasatiempo, A.M., Green M.H. (2004)

Chylomicron margination, lipolysis and Vitamin A uptake in the lactating rat mammary gland

Exp. Biol. Med. (Maywood) 229(1): 46-55.

Ross, A.C., Stephensen, C.B. (1996)

Vitamin A and retinoids in antiviral responses

FASEB J. 10(9): 979-85.

Ross, A.C., Ternus, M.E. (1993)

Vitamin A as a hormone

J. Am. Diet Assoc. 93(11): 1285-90.

Roth, E (1991)

Vitamin A und E im Schweinefutter

Schweinewelt 6(1): 4-7.

Salum, M.R., Njavike, S. (1993)

Suspected cases of avitaminosis A in pigs

Bulletin of Animal Health and Production in Africa; 41(2):163-5.

Saoulidis, K.I., Samouilidis, S., Kyriakis, S.C., Roubies, N., Kostoglou, P.

Papasteriades, A. (1996)

Fruchtbarkeitsstörungen bei Zuchtsauen durch Vitamin A-Mangel

Tierärztl. Umschau 51: 106-110.

Sarkar, J., Stephensen, C.B., Moldoveanu, Z. (1994)

Vitamin A is required for cytokine-mediated stimulation of polymeric immunoglobulin receptor expression by the epithelial cell line HAT-29

FASEB J. 8, A535: 3100.

Schmidt, R. (1973)

Vitamin A-Bestimmungen bei Schweinen

Vet. med. Diss. Hannover.

Schoeff, L. (1983)

Vitamin A

Am. J. Med. Technol. 49(6): 447-52.

Schöne, F. (1981)

Vet. med. Diss. KMU Leipzig.

Schöne, F. (1986)

Der Vitamin A Haushalt und die ihn beeinflussenden Faktoren unter besonderer Berücksichtigung des wachsenden Schweines

Mh. Vet.-Med. 41: 401-405.

Schöne, F., Lüdke, H. (1984)

Untersuchungen zum Vitamin A Bedarf des wachsenden Schweines

Arch. Tierernähr., Bd 34; 3: 205-218.

Schöne, F., Lüdke, H., Geinitz, D., Hennig, A. (1991)

Evaluating vitamin A and beta-carotene supply and other factors influencing vitamin A status in the growing pig

Umweltaspekte der Tierprod. (33): 439-500.

Schweigert, F., Baumane, A. (1997)

Effect on iron supplementation on plasma levels of vitamin A in piglets

Institute of Nutritional Science, Potsdam.

Schweigert, F., Gürtler, J., Baumane, A., Wahren, M., Leo, M. (1999)

Distribution of vitamin A, retinol-binding protein in the porcine uterus during early gestation

Biol. Reprod. 61(4): 906-11.

Scrimshaw, N.S., Taylor, C.E., Gordon, J.E. (1968)

Interactions of nutrition and infection

Monogr. Ser. World Health Organ. 57: 3-329.

Sevkovic, N., Pujin, D., Basaric, L. (1974)

Correlations of vitamin A in serum of sows and their piglets

Veterinarski-Glasnik 28(4): 311-315.

Shin, D.J., McGrane, M.M. (1997)

Vitamin A regulates genes involved in hepatic gluconeogenesis in mice

J. Nutr. 127(7): 1274-8.

Sijtsma, S. R., Rambout, J.H., West, C.E., van der Zijpp, A.J. (1990)

Vitamin A deficiency impairs cytotoxic T-lymphocyte activity in Newcastle disease virus-infected chickens

Vet. Immunol. Immunopathol. 26: 191-201.

Sklan, D., Melamed, D., Friedman, A. (1994)

The effect of varying levels of dietary vitamin A on immune response in the chick
Poultry sci. 73: 843-847.

Sklan, D., Donoghue, S. (1982) a

Vitamin E response to high dietary vitamin A in the chick
J. Nutr. 112(4): 759-65.

Sklan, D., Donoghue, S. (1982) b

Serum and intracellular retinol
Br. J. Nutr. 47(2): 237-80.

Staab, D., Hodges, R.E., Metcalf, W.K., Smith, J. (1984)

Relationship between Vitamin A and iron in the liver
J. Nutr. 114 (5): 840-4.

Steinbrink, J. (1996)

Einfluss von Vitamin A und beta-Carotin auf Vitamin E-Haushalt, Gesundheit und
Fertilität beim Besamungseber
Vet. med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.

Steinhardt, M., Grätsch, U., Füssel, A., Furcht, G., Pape, G., Hörügel, K. (1985)

Spurenelemente und Vitamin A in der Leber neugeborener Schweine
Arch. Exp. Vet. Med. 39 (2): 183-92.

Stephensen, C.B. (2001)

Vitamin A, infection and immune function
Annu. Rev. Nutr. 21: 167-92.

Sugg, T. (1991)

Vitamins change reduces deaths
Pig Int. 4: 22-24.

Sullivan, N.D. (1985)

Pathology of Domestic Animals

Jubb KVF, Kennedy and Palmer Vol1, 3rd edn, Academic Press: 235.

Talavera, F., Chew, B.P. (1988)

Comparative role of retinol, retinic acid on progesteron secretion by pig corpus luteum in vitro

J. Reprod. Fertil. 82: 611.

Tjoelker, L., Chew, B.P., Tanaka, T.S., Daniel, L.R. (1986)

Effects of vitamin A on phagocytosis and killing by bovine mammary neutrophils in vitro

J. Dairy Sci. 69, Suppl. 1: 103 A.

Tjoelker, L., Chew, B.P., Tanaka, T.S., Daniel, L.R. (1987)

Influence of dietary vitamin A on bovine lymphocyte and phagocyte function during the early dry period

J. Dairy Sci. 70, Suppl. 1: 166 A.

Togari, A., Kondo, M., Arai, M., Matsumoto, S. (1991)

Effects of retinoic acid on bone formation and resorption in cultured mouse calvaria
Gen. Pharmacol. 22(2): 287-92.

Tokach, M.C., Dial, G.D. (1992)

Managing the lactating sow for optimal weanig and rebreeding performance

Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.;8(3): 559-73.

Trout, W.E., Kramer, K.K., Tindle, N.A., Farlin, C.E., Baumbach, G.A., Roberts, R.M. (1990)

Molecular cloning of retinol-binding protein secreted by early pig conceptuses

Biol. Reprod. 42 (Suppl. 1):167.

Trout, W.E., Hall, J.A., Stallings-Mann, M.L., Galvin, J.M, Anthony, R.V., Roberts, R.M. (1992)

Steroid regulation of the synthesis and secretion of retinol-binding protein by the uterus of the pig

Endocrinology 130(5): 2557-64.

Underwood, B.A., Loerch, J.D., Lewis, R.C. (1979)

Effects of dietary vitamin A deficiency and retinoic acid on serially obtained plasma and liver levels of vitamin A in rats

J. Nutr. 109, (5): 796-806.

Valentine, A.R., Tanumihardjo, S.A. (2005)

One-time vitamin A supplementation of lactating sows enhances hepatic retinol in their offspring independent of dose size

Am. J. Clin. Nutr. 81: 427-33.

Vallet, J.L., Christenson, R.K. (1995)

Effect of prepubertal retinyl palmitate treatment on uterine development and subsequent uterine capacity in swine

Biol. Reprod. 53: 1436.

Ventura, U., Ceriani, T., Montini, E., Romano, M., Ricci, V. (2003)

Vitamin A deficiency alters the bioelectric parameters and RNA content of rat gastric mucosa in vitro

J. Physiol. Pharmacol. 54(4): 523-32.

Wang, S., Xue, L., He, S., Zhao, Y. (2004)

Transportation of vitamin A in the early embryo development in pigs

J. Hum. Agr. Univ. 30(1): 91-94.

West, D., Murray, Z., Sijtsma, S.R., Kouwenhoven, B., Rambout, W.M. (1992)

Epithelia-damaging virus infections affect vitamin A status in chickens

J. Nutr. 122: 333-339.

Whaley, S.L., Hegpeth, V.S., Britt J.H. (1997)

Evidence that injection of vitamin A before mating may improve enbryo survival in gilts

J. Anim. Sci. 75(4): 1071-7.

Whaley, S.L., Hedgpeth, V.S., Farin, C.E., Martus, N.S., Jayes, F.C., Britt, J.H. (2000)

Influence of vitamin A injection before mating on oocyte development, follicular hormones and ovulation in gilts

J. Anim. Sci. 78(6): 1598-607.

Whitehair, C.K., Miller, E.R. (1981)

Diseases of Swine

Leman AD, 5th edn, The Iowa State University Press, Ames: 656.

Wilk, H. (1988)

Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Vitamin A Versorgung

Vet. med. Diss., Karl-Marx Universität Leipzig.

Wolbach, S.B., Bessey, O.A. (1925)

Tissue changes following deprivation of fat-soluble A vitamin

J. Exp. Med. 42: 753-777.

Wolbach, S.B., Bessey, O.A. (1947)

Vitamin A deficiency and excess in relation to skeletal growth

J. of Bone and Joint Surgery 45: 171-192.

Wolff, H.H., Johnson, B. (1960)

Effects of vitamin A acid in skin: in vivo and in vitro studies

Acta Derm. Venereol. Suppl. (Stockh.) 27-29; 74: 42-9.

Wolke, R.E., Nielsen, S.W. (1968)

Bone lesions of hypervitaminosis A in the pig

Am. J. Vet. Res. 29 (5): 1009-24.

Wood, R.D., Chaney, C.H., Waddill, D.G., Garrison, G.W. (1967)

Effect of adding nitrate or nitrite to drinking water on the utilization of carotene by growing swine

J. Anim. Sci. 26(3): 510-3.

Zhao, Z., Ross, A (1992)

The role of vitamin A in natural killer cell activity

FASEB J. 6: A 4186.

Zhao, Z., Ross, A., Murasko, D.M. (1994)

The role of vitamin A in natural killer cell cytotoxicity, number and activation in the rat

Nat. Immun.13(1): 29-41.

Zhil'tsova, L.-S. (1974)

Improving the quality of semen by adding vitamins A and C to feeds for boars

Zhivotnovodstvo (1): 48-49.

9. Danksagung

Allen voran möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. W. A. Rambeck für die Überlassung dieses Themas und für die hervorragende Betreuung bedanken.

Auch ein großes Dankeschön an meinen Betreuer Herrn Dr. Uli Wehr, der stets ein offenes Ohr für meine kleinen und großen Nöte hatte (und immer Rat wußte).

Danken möchte ich auch Herrn Prof. Dr. K. Heinritzi und seinem Mitarbeiter Herrn Dr. M. Ritzmann für die Hilfe bei den Blutentnahmen und der Euthanasie unserer Ferkel.

Ich bedanke mich ebenfalls bei den Mitarbeitern des Instituts der Pathologie für die Mithilfe bei den Entnahmen der Organproben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Antje Wetzel für Ihren fachlichen Beistand, Ihre Hilfe bei der Aufbereitung der Proben und für die Durchführung der Vitamin A-Analysen.

Danken möchte ich auch allen Mitarbeitern des Instituts für Ernährung in Oberwiesefeld für die Betreuung der Schweine und Ihre Mithilfe bei der Vorbereitung und Durchführung der Versuche.

Ein ganz herzliches Dankeschön an meine „Schweinefreundin“ Katharina für die vielen gemeinsam „durchlittenen“ Stunden im Schweinestall und im Labor. Danke für deinen kompromisslosen Körpereinsatz beim Fangen und Fixieren der Ferkel, für deine gute Laune und für deine Freundschaft.

Ein ganz besonderes Dankeschön an meine liebe Kollegin vom Amt, Frau Dr. Christine Zwerger für ihren unermüdlichen Einsatz beim Korrekturlesen. Danke für die vielen lieben Kommas und Punkte.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Nicole Dembon für die große Hilfe bei der Übersetzung und für Etzel.

Mein größter Dank gilt allerdings meinem Mann, dem wichtigsten Menschen in meinem Leben, ohne den ich das alles niemals geschafft hätte.