

## **Aufnahme und Verteilung von $^{14}\text{C}$ -Retinylacetat in Organe und Sinnesgewebe (Innenohr) des Meerschweinchens**

**H. K. Biesalski, H. A. Welker, H. Weiser\* und K. H. Bässler**

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Mainz und \*Hoffmann-La Roche, Basel

### **Zusammenfassung**

Es wird über die Aufnahme und chemische Identifizierung von  $^{14}\text{C}$ -Retinylacetat in das Innenohr des Meerschweinchens nach per oraler Verabreichung berichtet. Die Untersuchung wurde aus methodischen Gründen bei Vitamin-A-mangelernährten Tieren durchgeführt. Es findet sich eine zeitabhängige Verteilung in den Sinnesgeweben, die der anderer Organe gleicht. Die chemische Identifizierung zeigt, daß das als Retinylacetat verabreichte markierte Vitamin A in den membranösen Strukturen des Innenohres in Form des Retinylpalmitats zu finden ist. Dies mag ein Hinweis sein auf die Fähigkeit des Innenohrgewebes, die Transportform des Vitamins A, das Retinol, zu verestern und eventuell auch zu speichern.

### **Summary**

The uptake and chemical identification of  $^{14}\text{C}$ -retinyl acetate in the inner ear of the guinea-pig after oral administration is reported. For methodological reasons the experiment was carried out in vitamin A-deficient guinea-pigs. In the sensory tissues a time-dependent distribution was found similar to that in other organs. The chemical identification shows that the orally administered labeled retinyl acetate can be detected as retinyl palmitate in the membranous structures of the inner ear. This may be an indication for the ability of the inner ear tissues to esterize and probably store the transport form of vitamin A, retinol.

**Schlüsselwörter:**  $^{14}\text{C}$ -Retinylacetat, Sinneszellgewebe, Vitamin-A-Verteilung, HPLC, Autoradiographie

### **Einleitung**

Vitamin A wird seit vielen Jahren als adjutantes Therapeutikum in der Otorhinolaryngologie bei Innenohrschwerhörigkeit unterschiedlicher Genese, Schwindel, Tinnitus (1–7) mit wechselndem Erfolg und nicht unumstritten eingesetzt. Daneben wurde eine protektive Wirkung gegenüber Lärm (8, 9) und ototoxischen Antibiotika beobachtet (10–12).

Experimentelle Arbeiten haben im Vitamin-A-Mangel bei Tieren und bei Menschen Störungen der auditiven Wahrnehmung und unterschiedlich morphologische Veränderungen des Innenohrs ergeben (13–16). Es ist jedoch bisher noch völlig unklar, welche Rolle Vitamin A für die Funktion des Hörens spielt, da genaue funktionelle Untersuchungen bisher fehlen.

Andererseits läßt die Tatsache, daß Vitamin A und seine Ester in hohen Konzentrationen in der Basilarmembran nachgewiesen wurden, vermuten, daß dem Vitamin A im Innenohr eine größere Bedeutung zukommen könnte als bisher angenommen (17, 18). Um der Frage nachzugehen, ob das Innenohr im Blut zirkulierendes Vitamin A aufnehmen kann, wurde überprüft, ob per oral verabreichtes Vitamin A die häutigen Strukturen der Cochlea erreicht und in welcher Form es dann dort zu finden ist.

## Material und Methode

### Tiermaterial

Verwendet wurden 14 Vitamin-A-mangelernährte Meerschweinchen (Himalayan spotted) mit einem mittleren Gewicht von  $490 \pm 55$  g. (Die Tiere wurden uns freundlicherweise durch die Firma Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz, zur Verfügung gestellt.) Vor und während des Versuches wurden die Tiere mit Vitamin-A-Mangelfutter (Tab. 1) ernährt. Zu Versuchsbeginn wurden die Vitamin-A-Konzentration in der Leber (Retinylester) und im Serum (Retinol) bei zwei Tieren überprüft (Retinylester 270 ng/g; Retinol 5 ng/ml). Alle Tiere wurden unter standardisierten Laborbedingungen (LD 12:12, rel. Luftfeuchte 60 %, Temperatur  $24 \pm 2$  °C, Wasser ad libitum) gehalten. Vor Versuchsbeginn fasteten die Tiere 12 h.

Die Untersuchung wurde in drei Gruppen durchgeführt:

- I. Verteilung von  $^{14}\text{C}$ -Retinylacetat in Organen und Sinnesgeweben nach per oraler Aufnahme zu unterschiedlichen Zeiten (6 Vitamin-A-mangelernährte Tiere).
- II. Chemische Bestimmung des aufgenommenen  $^{14}\text{C}$ -Retinylacetats (6 Vitamin-A-mangelernährte Tiere).
- III. Vergleich der Aufnahme bei ein- bzw. mehrmaliger Applikation (2 Vitamin-A-mangelernährte Tiere).

### Chemie und Apparate

$^{14}\text{C}$ -14,15-Retinylacetat (spez. Aktivität 5,5  $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ , freundliches Geschenk der Firma Hoffman-La Roche, Basel, Schweiz) wurde verfüttert (Versuch I, II). Die

Tab. 1. Zusammensetzung des Vitamin-A-Mangelfutters.

Ingredienzen	Anteile in %
Soyamin 90	12,00
Casein, technisch	12,00
Magermilchpulver	5,00
Textaid (hydrolysierte Maisstärke)	10,00
Zucker krist.	8,32
Gerste, gemahlen	20,00
Luzernegrünmehl	8,00
Cellulosepulver*	8,00
Sojacel, raff.	5,00
 Praemix 1 <sub>5</sub> :	
Mineral- und Mikronährstoffe, Aminosäuren	9,68
 Praemix 2 <sub>5</sub> :	
Vitamine + Träger	2,00

\*SANACEL 200 oder 300 (= Foodcel 200 oder 300)

radiochemische Reinheit lag bei 98 %. Für Versuch III wurde  $^3\text{H}$ -11,12-Retinylacetat (spez. Aktivität 479  $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ ) eingesetzt, um hohe Aktivität bei physiologisch vertretbarer Vitamin-A-Belastung zu erreichen. Die radiochemische Reinheit lag bei 99 %. Als Standards zur qualitativen und quantitativen Analyse der chemischen Bestimmung wurden verwendet: all-trans Retinylpalmitat, all-trans Retinol (kristallin, Sigma, München, FRG).

Die verwendeten Chemikalien hatten p. a. bzw. HPLC (Lichrosolv) Qualität und wurden durch die Firma Merck (Darmstadt, FRG) bezogen.

### Futterlösung

Zur oralen Applikation wurden die oralen Substanzen in Äthanol gelöst (1  $\mu\text{Ci}/10\text{ }\mu\text{l}$ ) und in Olivenöl und Ultraschall (Sonifier B12, Branson Sonic Company) emulgiert. Pro Tier wurden 5  $\mu\text{Ci}$  in 250  $\mu\text{l}$  Olivenöl per Knopfsonde verabreicht.

### Versuchsdurchführung (I)

Während der Untersuchung wurden die Tiere in Stoffwechselkäfigen gehalten, die eine getrennte Gewinnung von Kot und Urin ermöglichen. Der Kot wurde zusammen mit dem Darminhalt untersucht, da eine Trennung zwischen nicht resorbiertem Vitamin A und über die Galle ausgeschiedenem Vitamin A nicht möglich war. Die Radioaktivität des Urins wurde direkt in Instagel II (Packard) gemessen. Nach Versuchsende wurden die einzelnen Organe herauspräpariert, gewogen, getrocknet (ca. 48 h, 30 °C) und verbrannt (Tri Carb Sample Oxidizer 306, Packard Instruments). Das bei  $^{14}\text{C}$ -Markierung entstehende  $^{14}\text{CO}_2$  wurde in Carbosorb absorbiert und mit Permafluor V (Packard) gemessen. Bei  $^3\text{H}$ -Markierungen wurde Monophase 40 als Szintillator verwendet.

### Präparation der Organe

Die Organe wurden mit Ausnahme von Riechepithel und Innenohr *in toto* entnommen und eingewogen. Zur Gewinnung von Riechepithel wurden die beiden oberen Muscheln präpariert und die Schleimhaut mit dem knöchernen Anteil entnommen. Der membranöse Anteil des Innenohres (Ligamentum spirale, Stria vascularis, Basilarmembran und Cortisches Organ) wurde nach Entfernen der knöchernen Cochlea zusammen mit dem Modiolus präpariert und eingewogen. Von der Leber und dem in einem Fleischwolf homogenisierten Rest der Tiere wurden Mehrfachproben getrocknet und verbrannt. Der Darm wurde zusammen mit dem Darminhalt und dem Kot in mindestens 5fachem Volumen Chloroform/Methanol 1:1 homogenisiert und Aliquote des Überstandes gemessen.

Zur Messung der  $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung wurden 2 Tiere in speziellen gasdichten Stoffwechselkäfigen (Typ R, Altromin, Lage/Lippe) gehalten. Die Atemluft der Tiere wurde durch zwei hintereinander geschaltete Waschflaschen mit je 250 ml 10%iger KOH gesaugt, wobei das  $^{14}\text{CO}_2$  vollständig absorbiert wurde. 1 ml dieser Lösung wurde mit 1,5 ml Wasser verdünnt und mit 20 ml Instagel II nach Abklingen der Chemolumineszenz gemessen. Der erhöhte Background durch  $^{40}\text{K}$  wurde berücksichtigt.

Die Radioaktivitätsmessung erfolgte in einem Flüssigszintillationszähler (Packard 460 CD). Die Quenchkorrektur wurde über das Probenkanalverhältnis des externen Standards vorgenommen. Der Wiederfund lag, ohne Berücksichtigung der  $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung, bei  $76,8 \pm 6,5\%$ . Der Wiederfund wurde gleich 100 % gesetzt. Die Werte der Organverteilung (Tab. 2) sind als Anreicherungsfaktoren angegeben. Der Anreicherungsfaktor errechnet sich aus:

### Organkonzentration

#### Gesamtmenge pro Tier/Körpergewicht

Die Normierung der gemessenen Organkonzentrationen über die resorbierte Menge und das Gewicht des Tieres erlaubt einen direkten Vergleich der Einzeltiere.

Die Organkonzentrationen (Abb. 1–3) wurden in ng  $^{14}\text{C}$ -Retinylacetat pro g Frischgewicht angegeben.

#### Qualitative chemische Analyse (II)

Zur chemischen Bestimmung wurden die Tiere, wie unter „Versuchsdurchführung“ beschrieben, in Stoffwechselkäfigen gehalten und nach definierten Zeitpunkten getötet. Die chemische Analyse und Identifizierung der aufgenommenen  $^{14}\text{C}$ -Vitamin-A-Derivate wurde mittels HPLC durchgeführt. Die Organe wurden nach Entnahme sofort in flüssigem Stickstoff gefroren und anschließend im Gefriertrockner (Miniliyo II,  $-55^\circ\text{C}$ ,  $2 \times 10^{-3}$  Torr) für 24–48 h getrocknet.

Extraktion und Bestimmung wurden mit der kürzlich entwickelten Methode (19) vorgenommen. Zur Quantifizierung des  $^{14}\text{C}$ -Anteils der getrennten Vitamin-A-Derivate wurden die entsprechenden Peaks (Retinol, Retinylester) in einem konzentrations- und zeitgesteuerten Fraktionssammler (Gilson) hinter dem Detektor über ein 3-Wege-Mikroventil aufgefangen und nach Überschichten mit Instagel II als Szintillatormischung die Radioaktivität gemessen.

#### Untersuchung der Speicherkapazität

Zur orientierenden Untersuchung der „Speicherkapazität“ des Sinneszellgewebes wurde bei 1 mangelernährten Tier  $^{3}\text{H}$ -Retinylacetat als Bolus (17  $\mu\text{Ci}$ ; Tötung nach 3 h) und bei einem weiteren mangelernährten Tier als „Fraktion“ ( $3 \times 9 \mu\text{Ci}$ ; Zeitpunkte: 0, 3 h, 6 h; Tötung nach 9 h) verabreicht. Die Haltung der Tiere und Radioaktivitätsbestimmung wurde, wie unter „Versuchsdurchführung“ (I) beschrieben, durchgeführt.

#### Ergebnisse und Diskussion

Der zeitliche Ablauf der Konzentration und Anreicherung von  $^{14}\text{C}$ -Vitamin-A-Metaboliten in den untersuchten Sinnesepithelien und Organen ist in den Abbildungen 1–3 und Tabelle 2 wiedergegeben. Abbildung 4 zeigt die  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung.

Bei den Ergebnissen der Tabelle 2 muß berücksichtigt werden, daß ein hoher Anteil an nichtspeicherndem „Ballastgewebe“ in die Untersuchung

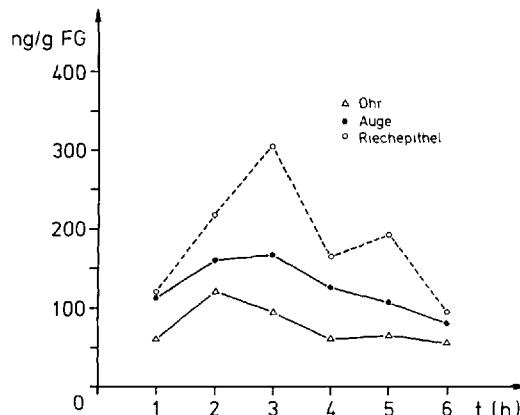
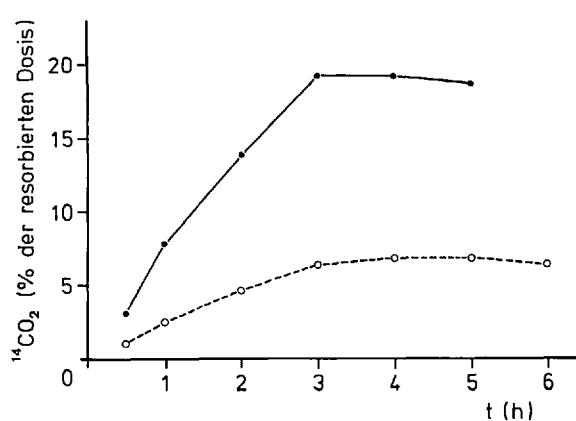
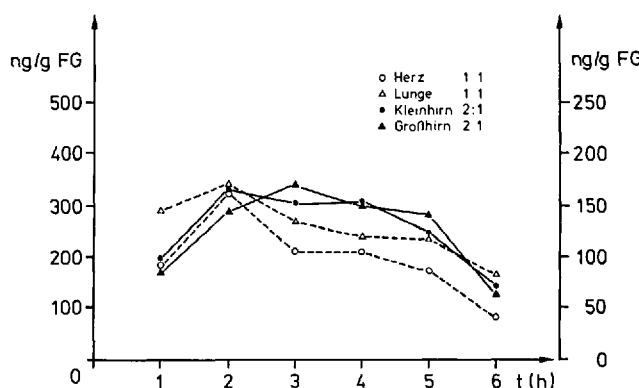
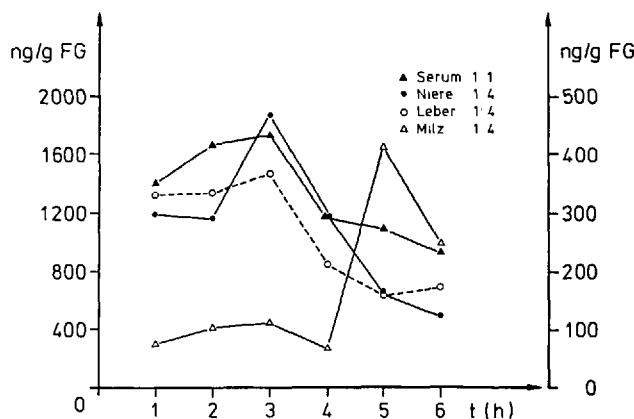


Abb. 1. Zeitlicher Verlauf der  $^{14}\text{C}$ -Aktivität in Sinnesepithelien in ng Retinylacetat/g Feuchtgewicht.



Tab. 2. Anreicherungsfaktoren.

Organ	1h	2h	3h	4h	5h	6h
Ohr	0,2	0,2	0,3	0,1	0,4	0,3
Auge	0,5	0,3	0,5	0,3	0,6	0,4
Zunge	4,1	4,3	7,4	2,5	3,0	2,3
Riechepithel	0,5	0,5	0,9	0,4	1,1	0,5
Kleinhirn	0,4	0,3	0,4	0,3	0,7	0,4
Großhirn	0,4	0,3	0,5	0,3	0,6	0,3
Hoden	1,2	0,5	3,0	—	0,9	—
Niere	4,7	2,3	5,1	2,6	3,9	2,5
Leber	5,5	2,6	4,0	1,9	3,8	3,5
Lunge	1,2	0,7	0,8	0,5	1,3	0,8
Herz	0,8	0,6	0,6	0,5	1,0	0,4
Milz	1,2	0,8	1,2	0,6	9,4	5,0
Serum	1,5	0,8	1,2	0,6	1,5	1,3
Resttier	0,8	1,1	0,7	0,7	0,9	0,7

Anreicherungsfaktoren werden berechnet:

Organkonzentration

Gesamtmenge pro Tier/Tiergewicht

Die Normierung der Ergebnisse erlaubt einen direkten Vergleich der Einzeltiere, da Unterschiede im Körpergewicht und der resorbierten Menge ausgeglichen werden.

mit eingeht. Dies sind vor allem der knöcherne Anteil der oberen Muschel (beim Riechepithel), der Modiolus (Innenohr) und die das Pigmentepithel (Auge) umgebenden Strukturen. Beim Riechepithel darf die „Speicherkapazität“ des in der Schleimhaut mit vorliegenden Respirationsepithels nicht vernachlässigt werden. Eine klare Trennung ist hier nicht möglich.

Im Innenohr liegen die Retinylester (d. h. die Speicherformen) im wesentlichen in Basilarmembran und Cortischem Organ (17) vor, während der Modiolus keine und das übrige membranöse Gewebe nur geringe Retinylesterkonzentrationen enthalten. Daß die niedrigen Anreicherungsfaktoren durch einen hohen Anteil an nichtspeicherndem oder stoffwechselträgern Gewebe verursacht sein können, konnte an autoradiographischen Aufnahmen von Ratten gezeigt werden, in denen eine starke Aufnahme des Innenohres und Auges zu erkennen ist (Abb. 5 und 6).

Einen Tag nach Applikation (5, 6) ist eine deutliche Anreicherung (neben Leber und Trachea) vor allem in Innenohr und Auge bei mangelernährten Ratten zu beobachten.

Die Zunge zeigt zwar einen hohen Anreicherungsfaktor, jedoch ist hier eine Kontamination, bedingt durch die Applikation, zu berücksichtigen (Tab. 2). Niere und Leber zeigen erwartungsgemäß hohe Anreicherungsfaktoren. Für die Niere ist dies ein im Vitamin-A-Mangel häufig beobachteter Befund entsprechend einer höheren Ausscheidungsrate des zugeführten Vitamins A im Vitamin-A-Mangel (20, 21). Die Urinausscheidung spiegelt den Verlauf der Vitamin-A-Verteilung im Organismus der untersuchten Tiere wieder (Tab. 3). Die Leber, das Hauptspeicherorgan für das Vitamin A im Organismus, übernimmt im Vitamin-A-Mangel weniger eine Speicherfunktion, als um so mehr die Aufgabe eines „Umsetzers“ für das

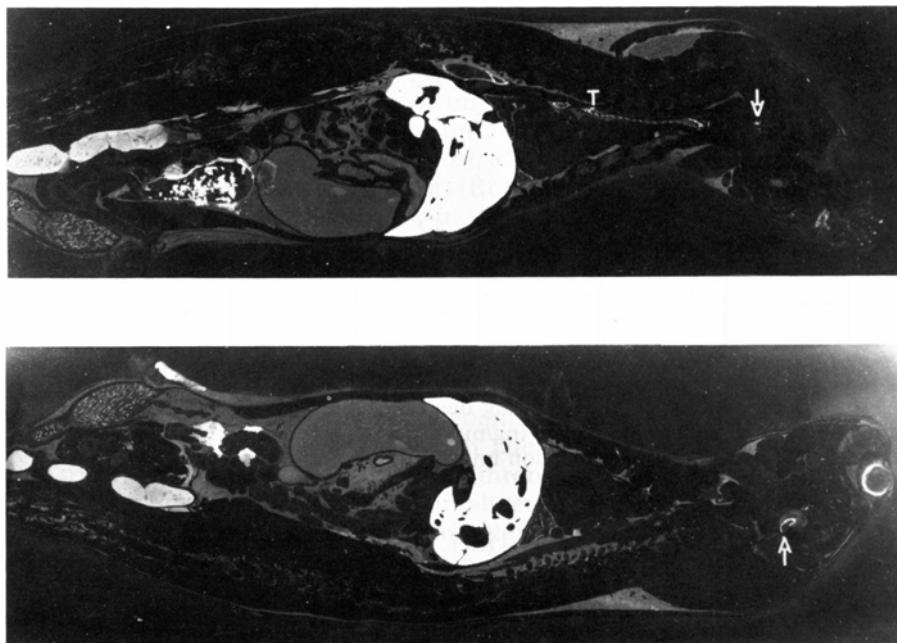


Abb. 5, 6. Autoradiographie der Anreicherung von  $21,2 \mu\text{Ci} 15\text{-}^{14}\text{C}$ -Retinol bei der Ratte 24 h nach peroraler Applikation. T: Trachea, → Innenohr.

aktuell resorbierte Vitamin, indem sie die Bindung des Retinols an das Transportprotein nach Hydrolyse der gespeicherten Vitamin-A-Ester ermöglicht und damit das Vitamin für den Organismus zellulär verfügbar macht.

Daneben finden sich in der Leber die gallengängigen Glucuronide. Die aktuelle Menge an markiertem Vitamin A in der Gallenflüssigkeit (zum Meßzeitpunkt) liegt im Bereich  $\leq 1\%$  der resorbierten Dosis.

Lunge und Herz zeigen keine übermäßige Anreicherung. Während das Herz als Muskel keine besondere Bedeutung im Vitamin-A-Stoffwechsel aufzuweisen scheint, finden sich in der Lunge und im Respirationstrakt funktionell Vitamin-A-abhängige Epithelien (Respirationsepithel). Die  $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung (Abb. 4) spiegelt den im Vitamin-A-Mangel vorliegen-

Tab. 3.  $^{14}\text{C}$ -Ausscheidung in Ausatmungsluft ( $^{14}\text{CO}_2$ ) und Urin ( $^{14}\text{C}$ )

	1h	2h	3h	4h	5h	6h
resorbiert	18,4	25,7	21,9	16,0	17,0	12,7
$\text{CO}_2$	nm	nm	nm	nm	2,9	0,8
Urin	1,6	0,8	6,5	5,6	2,0	2,8

Alle Angaben in Prozent des Wiederfundes; nm: nicht gemessen.

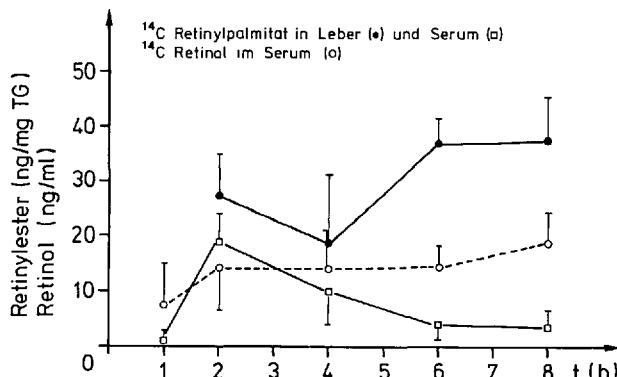


Abb. 7. Radiochemische Bestimmung des zeitlichen Verlaufs der  $^{14}\text{C}$ -Retinylpalmitat-Konzentration in der Leber (ng/mg Trockengewicht) und im Serum (ng/ml) sowie der  $^{14}\text{C}$ -Retinol-Konzentration im Serum (ng/ml).

den hohen Vitamin-A-Umsatz wider, da die Markierung ( $^{14}\text{C}$ ) stabil ist. Entsprechend der Lage der Markierung (Pos. 14, 15) des Vitamins A und unter Voraussetzung der Stabilität der Substanz im Organismus setzt die  $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung notwendigerweise eine Metabolisierung voraus.

Eine Besonderheit ergibt sich bei der Untersuchung der Milz. Während bis 4 h keine nennenswerte Anreicherung zu beobachten ist, zeigt sich nach Überschreiten des Resorptionsmaximums (4 h) ein steiler Anstieg in der Anreicherung. Dieser Befund steht im Widerspruch zum Serumverlauf, scheint also nicht auf Speicherung oder Sequestrierung des Blutes zu beruhen, insbesondere, da Erythrozyten kein bzw. kaum Vitamin A enthalten. Woher diese starke und verzögerte Aufnahme in dieses Organ kommt, kann aus dieser Untersuchung nicht gesagt werden.

Im Serum finden sich bis 2 h vermehrt Retinylester (chemische Identifizierung) als Zeichen einer höheren Vitamin-A-Belastung (Abb. 7) des Resorptionssystems. Der Anstieg der Retinolkonzentration zwischen 3 h und 5 h spiegelt die Asschleusung aus der Leber wider.

Die in den untersuchten Organen gemessenen  $^{14}\text{C}$ -Aktivitäten sind im wesentlichen auf all-trans Retinylpalmitat zurückzuführen. Kontamina-

Tab. 4. Anreicherungsfaktoren.

	Anreicherungsfaktor		Konzentration (ng/g)	
	a	b	a	b
Serum	0.16	0.64	1.96	3.27
Innenrohr	0.23	0.15	2.93	0.76
Auge	0.05	0.11	0.62	0.56
Riechepithel	0.65	0.30	8.18	1.56
Leber	0.40	1.12	5.07	5.74
Niere	0.42	1.78	5.27	9.15

a = einmalige Applikation; b = mehrmalige Applikation.

tionen der Gewebe (besonders Sinnesepithelien) durch Serumretinylester (< h) sind vernachlässigbar, da die Serumretinylesterkonzentrationen zum Meßzeitpunkt im Serum so gering sind, daß sie quantitativ kaum ins Gewicht fallen (Abb. 7). Vor allem im Innenohr ist eine Kontamination durch das in der Stria vascularis befindliche Blutvolumen kaum anzunehmen (< 50  $\mu\text{l}$ ). Dies läßt den Schluß zu, daß die Gewebe in der Lage sind, eine Veresterung der Transportform (Retinol) durchzuführen.

Die Speicherung des Vitamin A in den Sinnesepithelien scheint beim Mangeltier nach einmaliger Gabe einer hohen Konzentration stärker zu sein als nach mehrmaliger Gabe geringer Vitamin-A-Mengen (Tab. 4).

Die Anreicherungsfaktoren zeigen, daß nach einmaliger Gabe die Werte im Innenohr und im Riechepithel deutlich höher liegen als nach wiederholter Gabe. Dies gilt auch für die absoluten Konzentrationen. Die Leber zeigt nach mehrmaliger Applikation ebenso wie die Niere eine deutliche Anreicherung. Die Serumwerte, die ebenfalls nach mehrmaliger Applikation angestiegen sind, können jedoch auch auf eine zunehmende Ausschleusung aus der Leber zurückzuführen sein. Der als orientierender Versuch gedachte Einsatz von einmaliger und mehrmaliger Gabe von Vitamin A, der in größeren Tierkollektiven weitergeführt wird, zeigt, daß in den Sinnesepithelien im Vitamin-A-Mangel offensichtlich eine rasche Sättigung der Speicher stattfindet.

Nach den vorliegenden Befunden sind die Sinnesepithelien nicht nur in der Lage, Vitamin A in Form seiner Ester zu speichern, sondern auch fähig, Retinol aus dem Blut aufzunehmen und zu verestern, um so die Speicher aufzufüllen.

Eine funktionelle Bedeutung für die Sinnesepithelien kann aus diesem Befund kaum abgeleitet werden, jedoch können die Ergebnisse als Hinweis für die notwendige Versorgung der Sinnesorgane gewertet werden.

## Danksagung

Frl. R. Lieberth sei für die technische Assistenz gedankt.

## Literatur

1. Beck C (1969) Zur Therapie des akuten Hörsturzes. Therapiewoche 19:117
2. Hüssli B (1970) Der Hörsturz, seine differentialdiagnostische Abgrenzung und Behandlung. Wien klin Wschr 82:658
3. Khan NA (1975) Die metabolische und hämodynamische Wirkung von Dusodril bei der Behandlung von Innenohrschwerhörigkeit und Schwindel. Therapiewoche 48:7387
4. Neveling R (1966) Therapie beim akuten Hörsturz. Therapiewoche 16:1752
5. Ribari O, Zelen B, Kollar B (1976) Ethyl apovincaminate in the treatment of sensorineural hearing loss. Arznmittel Forsch 26:1977
6. Stern T (1969) Quelques cas des traumatismes acoustiques survenus aux services militaires. Praxis 28:898
7. Stoll HG (1967) Beitrag zur medikamentösen Behandlung der Innenohrschwerhörigkeit und des Tinnitus. Med Welt 16:1034
8. Rüedi L (1954) Wirkungen des Vitamin A im menschlichen und im tierischen Gehörorgan. Schweiz Med Wschr 51:1411
9. Tschirren B (1954) Die Schutzwirkung von Vitamin A bei der Streptomycin- und Neomycinvergiftung des Gehörorgans. Schweiz Med Wschr 51:1414

10. Sowinski H, Szmeja Z, Gawronsky M (1970) Histologische und histochemische Veränderungen am Innenohr nach akustischem Trauma und schützende Wirkung des Vitamin A. Pam 27 Zjazdu Otolaryng Pol Katawicach 1968:151
11. Ukleja Z (1967) Protective importance of vitamin A in toxic action of streptomycin on the inner ear. Otolaryngological Polska 21:715
12. Ajodha JM, Dix MR, London UK (1970) Drug induced deafness and its treatment. Practitioner 216:561
13. Hume EM, Krebs HA (1949) Vitamin A requirements of human adults: An experimental study of vitamin A deprivation in man. His Majesty's Stationery Office, London, p 124
14. Mellanby E (1935) Lesions of central and peripheral nervous systems produced in young rabbits by vitamin A deficiency and a high cereal intake. Brain 58:141
15. Lovino M, Lecco V (1950) Avitaminosi „AA“ experimentale ed orecchio. Arch Ital Otol 61:177
16. Löhle E (1980) Der Einfluß einer 6wöchigen Vitamin A-Mangeldiät auf die Sinneszellen des Innenohres. Z Ernährungswiss 19:203
17. Biesalski HK (1984) Retinol und Retinylester in separated structures of the inner ear. Int J Vit Nutr Res 54:113
18. Biesalski HK (1984) Vitamin A und Hörorgan. Z Ernährungswiss 23:104
19. Biesalski HK, Hafner G (1984) HPLC-Bestimmung von Retinol, Retinal und Retinylestern sowie ihren isomeren Konfigurationen in biologischen Proben. Fresenius Z Anal Chem 318:253
20. Goodman DS, Huang HS, Shiratori T (1965) Time distribution and metabolism of newly adsorbed vitamin A in the rat. J Lipid Res 6:390
21. Sundargesan PR, Sundaresan GM (1975) Tissue distribution of retinol and its metabolites after administration of double-labelled retinol. Biochem J 152:99

Eingegangen 24. Juni 1985

Für die Verfasser:

Dr. H. K. Biesalski, Physiologisch-Chemisches Institut, Johannes-Gutenberg-Universität, Saarstraße 21, 6500 Mainz