

37819

T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI
Tez Yöneticisi: Prof.Dr. Nihat SİPAHİ

**KARACİĞER SİROZUNDA SERUM BETA-KAROTEN
VE RETİNOL DÜZEYLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Uz. Dr. Murat PALABIYIKOĞLU

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ANKARA-1994

TEŐEKKÜR

Bu araŐtırmanın gerçekleŐmesinde her tŒrlŒ destek ve yardımı sağlayan TŒrkiye Atom Enerjisi Kurumu (TAEK) Lalahan Hayvan Sağlığı ve NŒkleer Araştırma EnstitŒsŒne; bilim dalımızda yetiŐmemde emeği geçen tŒm Œđretim Œyelerine; yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen bilim dalımız biyokimya laboratuvarı çalıŐanlarına teŐekkŒrŒ bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa no

Giriş ve Amaç1
Genel Bilgiler2
Materyal ve Metod	16
Bulgular	19
Tartışma	23
Sonuç	25
Özet	26
Kaynaklar	27

GİRİŞ VE AMAÇ

Siroz, birçok komplikasyonlarla seyreden fatal bir karaciğer hastalığıdır. Sirozun korkulan komplikasyonlarından birisi de hepatoma gelişimidir. Sürekli bir sellüler ve oksidatif hasara yol açan virüs, alkol, ilaç, aşırı demir yükü gibi nedenlere eklenen immün cevap bozukluğu, istenmeyen ve fatal seyredebilen komplikasyon veya patolojilerin hazırlayıcısı olmaktadır.

Retinol (A vit.), serbest oksijen radikallerini temizleme özelliği nedeni ile etkili bir anti-oksidan; çeşitli hücre tiplerinin proliferasyon ve diferansiyasyonunu modüle edebilme ve immün sistemi etkileyebilme nitelikleri ile de bir anti-karsinojendir. Hem yetmezlik hem de toksik dozlarda meydana gelen karaciğer hasarı ile olan ilişkisi, yoğun araştırmalara konu teşkil etmektedir.

Beta-karoten (BK)'de anti-oksidan ve anti-tümör özellikler taşıyan ve non-toksik kabul edilen, aynı zamanda A vitamini prekürsörü olan bir ajandır.

Siroz patogenezi ve patogenezdaki çok çeşitli etkenler düşünüldüğünde, yukarıda adı geçen retinol ve beta-karotenin de patogeneзде etkili olma olasılığı akla gelmektedir. Özellikle az bilinen beta-karoten ve siroz ilişkisi öncelikli olmak üzere, bu iki anti-oksidan maddenin sirozdaki serum seviyelerini, değişik siroz evreleri ile olan ilişkilerini ve diyetetik faktörlerin önemini araştırmak amacıyla bu çalışma planlandı.

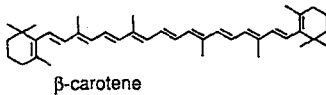
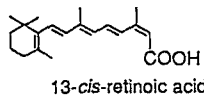
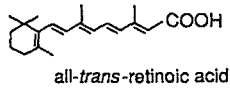
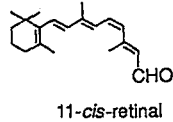
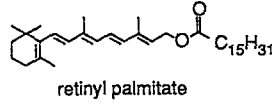
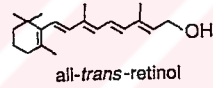
GENEL BİLGİLER

RETİNOL VE BETA KAROTEN

Tanım ve Özellikler

Vitamin A, sıklıkla ve tam doğru olmayan bir şekilde tüm ilgili bileşikler için kullanılmasına rağmen, gerçekte "retinol"ün karşılığıdır. "Retinoid" terimi ise, vitamin A'nın hem doğal hem de sentetik tüm izomer ve türevleri için kullanılmaktadır (Şekil 1). Retinolün oksitlenmesi sonucu oluşan vitamin A aldehidi (retinal), görme fonksiyonunda kritik öneme sahiptir. Vitamin A asidi (retinoik asit) ise, retinolün majör oksidatif metabolitidir. Retinoik asit, retinolün büyümeyi destekleyici, epitel farklılaşması ve çoğalmasını sağlayıcı fonksiyonlarını yerine getirebilirken, onun üremedeki rolüne ve retinalin görme olayındaki etkinliğine sahip değildir (1). Karotenoidler, bölünerek retinale dönüşen daha büyük prekürsör moleküllerdir. Provitamin-A aktivitesine sahip 30'u aşkın karotenoidin en önemlilerinden biri de beta-karotendir.

A vitamini, ilk belirlenen vitaminlerden biri olmasına rağmen, biyokimyası henüz tümüyle aydınlatılabilmemiş değildir. Çeşitli metabolik rollerinden en iyi anlaşılmuş olanı, görme fonksiyonu ile ilgilidir. Retinal, ışığı yakalayan tüm pigmentlerin prostetik grubudur. Retinada 4 tip pigment bulunmaktadır:



Şekil 1.

rodlarda "rodopsin" ve konlarda 3 tip "iodopsin." Karanlığa adapte olmuş retinada, ışık fotonları rodopsini aktive eder. Bu olay görme siklusunu başlatarak, retinalin cis formundan trans izomerine dönüşmesine ve proteindeki diğer tamamlayıcı değişikliklerin oluşumuna yol açar. Karanlık adaptasyonu boyunca bu işlemler tersine işler ve rodopsin rejenere olur. Bu mutlak retinal gereksinimi karşısında, oldukça hassas olan gece görme işlevinin kaybının A vitamini eksikliğinin erken bir belirtisi olması sürpriz sayılmamalıdır. Retinolün retinanın normal fonksiyonu için ek roller üstlendiği de düşünülmektedir (1,2).

Retinolün fõtal gelişim, çeşitli hücre tiplerinin gelişim, çoğalma ve farklılaşması ile üreme fonksiyonundaki etkinliğiyle ilgili mekanizmalar, bugün için tam anlamıyla açıklığa kavuşmamıştır. Bir hipoteze göre retinol, spesifik selüler bağlayıcı proteinlere bağlanma aşamasını takiben, genomdaki olayları etkileyebilme yönünden steroid hormonlara benzemektedir. Alternatif bir hipotez, retinolün glikoprotein sentezinde yer alarak sonuçta metabolik olayları etkilediğini öne sürmektedir. Özellikle epitelial dokuların farklılaşması ve proliferasyonu üzerindeki çarpıcı etkisi, bu vitamin ve türevlerinin epitelial kökenli kanserlerin önlenmesinde rol oynayabileceği konseptinin gündeme gelmesine yol açmıştır (1,2).

Beta-karoten (BK) ve retinolün ilgi çekici özelliklerinden biri de, anti-oksidan maddeler arasında kabul edilmeleridir (3). Retinolün serum düzeyi, retinol-bağlayıcı proteini (RBP) de içeren bir homeostatik mekanizma ile yakından kontrol edilmektedir. Diyetle alınan miktarın artışı, dolaşımdaki ve dokudaki retinol seviyelerinde uzun süreli yükselmelere neden olmamakta, zira fazlası sadece karaciğerde depolanmaktadır. Bu faktör, diyetteki retinol artışının, etiyojilerinde serbest radikallerin yer aldığı hastalıkların insidansında önleyici etki yapacağı yolundaki beklentileri, retinolün serbest O₂ radikallerini temizlemedeki geniş kapasitesine rağmen, azaltmaktadır.

Sayıları yaklaşık olarak 600'ü bulan ve memelilerde ancak %10'undan daha azı retinole çevrilebilen karotenoidlerin, hastalık önleyici etkilerinin vitamin prekürsörü olma özelliklerinden bağımsız olup olmadığı, son yılların en ilgi çekici konularından biri olmuştur. Geçtiğimiz 10 yılda, yüksek serum beta-karoten düzeyleri ile azalmış kanser insidansı arasında yakın ilişki bulunduğu dair kuvvetli prospektif epidemiyolojik bulgu birikimi olmuştur (3). Bazı araştırmacılar, diyetle yüksek orandaki karotenoidler ile azalmış kanser riski arasındaki bağlantıya da dikkat çekmişlerdir (4). Wald ve arkadaşları, serum beta karoten düzeylerinin en üst 2 persantilindeki bireylerde kanser riskinin, en alt persantildekilerin ancak %60'ı kadar olduğunu, kanser bölgesi için kesin bir yorumda bulunulmamakla birlikte, en kuvvetli ilişkinin akciğer

kanseri ile saptandığını bildirmiştir (5). 1973 ve 1975 yılları arasında başlanan ve yakınlarda sonlanan multipl risk araştırmasında, beta-karoten'in sigara içenlerde akciğer kanserine karşı protektif etki yaptığı bildirilmiş (6), Ziegler ile Connett ve arkadaşları da bu bulguları destekleyen bildirimlerde bulunmuşlardır (7,8). Yine yakın zamanlardaki bazı yayınlarda, provitamin-A aktivitesi olmayan bazı karotenoidlerin de, kansere karşı koruyucu etkisi olduğu öne sürülmüştür (9,10). Bu sonuçlar, karotenoidlerin anti-karsinojenik etkisinin, provitamin-A aktivitelerinden bağımsız olduğunu düşündürmektedir. Gerçekte, akciğer kanseri ile ilgili epidemiyolojik data, beta-karotenin koruyucu etkisinin retinol tarafından paylaşılmadığını göstermektedir (6,7,11). Karotenoidlerin bu koruyuculuğu hangi mekanizma ile gerçekleştirdiği henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Ancak beta-karotenin efektif bir serbest O₂ ve diğer radikal temizleyicisi olduğu bilinmektedir. Bunun dışında, karotenoidlerin immün sisteme etki ederek anti-tümör özellik gösterdikleri ileri sürülmüş, Bendich ve Shapiro, sıçanlarda beta-karotenin T ve B lenfosit proliferasyonuna yol açtığını bildirmişlerdir. Ayrıca radyasyona karşı her ikisi de koruyucu etki yapmaktadır (12,13).

Retinoidlerin tümör gelişimini 2 temel mekanizma ile engellediği düşünülmektedir. Retinoidler ya karsinogenezisi baskılamakta, ya tümör hücresi düzeyinde transplante tümör büyümesini engellemekte (Lotan-1980); veya ikinci yol olarak tümör hücresini tanıyabilen ve öldürebilen immün efektörleri stimüle etmektedir (Dennert-1984). Sıçanlara allojenik tümör hücrelerinden önce retinoik asit enjeksiyonu, o tümöre spesifik hücrel sitotoksitede belirgin artışa yol açmaktadır. Bunun da interleukin-2 (IL-2) salgılanması ile görevli T hücreleri üzerinden olduğu, aynı zamanda IL-2 ile doğal öldürücü (NK) hücrelerin de stimüle edildiği düşünülmektedir (23).

Çeşitli epidermal dokuların büyüme ve farklılaşma regülatörü olan retinoidlerin, bunların bir çoğunda farmakolojik antikarsinojen olarak hareket ettiği kabul edilmektedir (24). Bu etkilerini büyük ölçüde karsinogenezisin post-inisiasyon döneminde gerçekleştirdikleri düşünülmektedir. Farelerde geliştirilen cilt kanserlerinde, retinoidlerin phorbol-esterle oluşturulan tümör promosyonunu inhibe ettiği ve daha önceden mevcut olan benign tümörlerde regresyona yol açtığı gösterilmiştir. Retinoidler keratinositlerin terminal differansiyasyonunu ve kornifikasyonu engellemektedir (24). Sherman, Gubler ve arkadaşları, retinoik asite maruz bırakılan embryonel karsinoma hücrelerinin, dramatik olarak klonlaşma yeteneklerini kaybettiklerini demonstre etmiştir (25). Bertram ve Martner ise, non-toksik dozlarda verilen retinyl-asetatın tirozin fosforilasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir. Tirozin kinazların büyüme faktörleri ve onkogen üretiminde mediatör oldukları düşünüldüğünde, reti-

noidlerin tirozin fosforilasyonu üzerindeki modölatör etkisinin büyük bir potansiyel öneme sahip bulunduğu ortaya çıkmaktadır (26).

Retinoidlerin son yıllarda üzerinde durulan etkilerinden biri de, proliferatif ve invaziv non-malign bir hastalık olan romatoid artritteki kollajenaz aktivitesinin inhibisyonudur. Ancak buradaki mekanizmalar henüz açıklığa kavuşmamıştır (27).

Yağda eriyebilen retinol, asit ve ısıya hassastır; ışık ve oksijene maruz kaldığında hızla okside olur. Beta-karoten ise ısıya rölatif olarak daha az hassastır. İnsanda endojen sentezi mümkün olmadığı için esansiyel bir gıda maddesi olan retinolün günlük alınmadaki dalgalanmalara rağmen, iyi regüle edilmiş bir transport ve depolama sistemi sayesinde dokulara yeterli miktarlarda retinoid sunumu mümkün olabilmektedir (14).

ABD'de kabul edilen günlük doz (RDA), yaşa ve cinse göre değişmekle birlikte erkekler için 1000, kadınlar için 800 mikrogram retinol eşdeğeridir (RE) (15). 0-4 yaş grubu için 400 RE olan bu rakam, laktasyon dönemi için 1300 RE olarak kabul edilmektedir. Bir RE ise, 1 mikrogram retinol ya da 6 mikrogram beta-karoten şeklinde tarif edilmektedir. Yukarıdaki seviyeler de bu ilişki göz önünde tutularak hesaplanmıştır; zira beta-karoten'in tüm kullanımı, emilimine ve retinole dönüşüm oranına bağlı olarak, retinolün ancak altıda biri kadardır. Bu dozları, daha önce ifade edilen enternasyonel ünite (IU) cinsinden ifade edersek, bir RE 3.33 IU retinole ve 10 IU beta-karotene eşdeğerdir. RDA olarak bu değerler, yetişkin erkekler için 5000, kadınlar için ise 4000 IU'dir. Rakamlar, ABD'nde diyetin eşit oranda beta-karoten ve retinol içerdiği varsayılarak belirlenmiştir.

Beta-karoten, büyük ölçüde havuç, patates, sarı ve yeşil yapraklı sebzeler ve bazı meyvalar gibi bitkisel kaynaklardan sağlanır. Hurma yağı da karotenlerden oldukça zengindir (1,16). Retinol ise hemen hemen tamamen hayvansal kaynaklardan sağlanmaktadır. Karaciğer en zengin kaynak olup, onu böbrek, süt ve süt ürünleri ile yumurta izlemektedir. Balık yağı da önemli bir retinol kaynağıdır.

Metabolizma

Diyetteki hayvansal kaynaklı preforme A vitamini (retinyl esterleri) ile sebze ve meyvalardaki provitamin A karotenoidler, yağ damlacıkları içinde duodenuma geçer ve safra tuzları varlığında daha küçük lipid parçacıklarına dönüşerek pankreatik lipaz, retinyl ester hidrolaz ve kolesteryl ester hidrolaz tarafından kolayca dijesyona uğrarlar (15). Retinol, karotenoidler, steroller, fosfolipidler, mono ve digliseridlerden oluşan karışık miçeller, hücre membranları ile temas eder ve miçellerin çeşitli komponentleri absorbe olur. Serbest retinol

mukoza hücrelerine emildikten sonra, palmitik asitle yeniden esterleşir ve lenf yolu ile taşınır. Yeni esterleşen retinol, büyükçe miktarda trigliserid ile bir kısım fosfolipid ve protein lenf yoluna şilomikronlar şeklinde gönderilirler. Şilomikronlar aynı zamanda küçük oranlarda esterleşmemiş retinol de içerirler.

Beta-karoten ve diğer provitaminler, intestinal hücreye geçtikten sonra değişik oranlarda ve retinaldehid oluşturmak üzere parçalanırlar. Beta-karoten 2 molekül retinaldehide dönüşebilirken, diğer karotenoidlerin çoğu ancak 1 molekül verebilir. Bu reaksiyon beta-karoten 15,15'-dioksijenaz tarafından katalize edilirken, oluşan retinal retinaldehid redüktaz tarafından retinole indirgenir (15). Bu değişim oranı, diyetteki retinol miktarına, total retinol depolarına ve başka faktörlere bağlıdır. Diyetle fazla oranda alınırsa, büyük miktarlarda beta-karoten değişmeden emilerek ciltte veya diğer dokularda depolanır ya da atılır.

Retinal ve 3-dehidroretinal, absorbe edilmeden önce retinole indirgenip esterleştikleri halde kolayca emilirler. Sıçanlarda, oral yoldan verilen retinoik asit hızla emilip glukuronik asitle konjuge edildikten sonra, safra ile atılır.

Retinyl esterleri (ağırlıklı olarak palmitat), şilomikronlarla lenfatikler ve ductus thorasicus yolu ile genel dolaşıma katılır. Şilomikronların lenfatiklerle genel dolaşıma katılmaları sürecinde trigliseridlerin çoğu sindirilip ortamdan uzaklaştırıldığı için, geride karaciğer tarafından tutulan ve retinyl esterleri, kolesterol esterleri ve diğer lipidleri içeren şilomikron artıkları kalır.

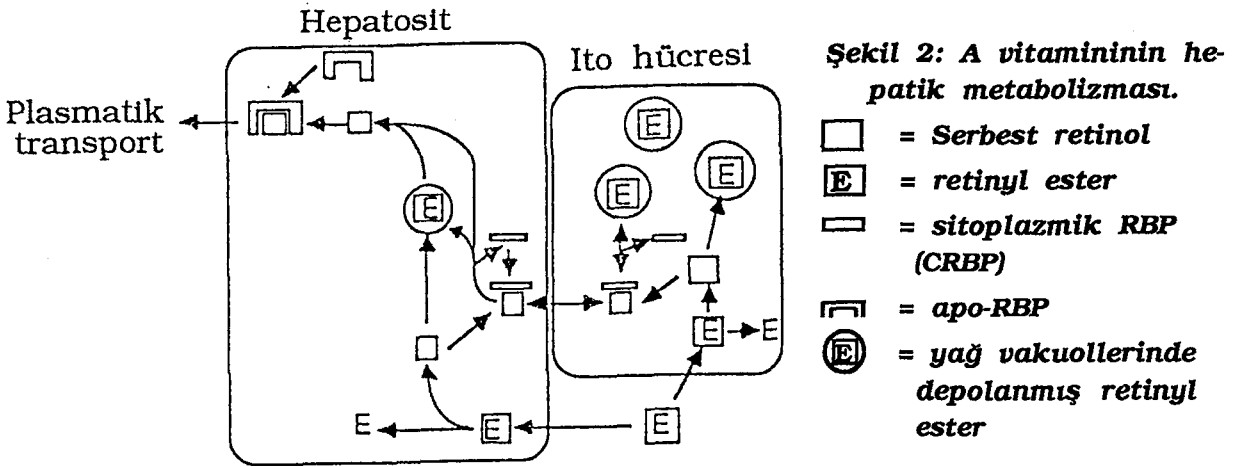
Retinol plazmada spesifik taşıma proteini olan RBP (Retinol Binding Protein)'e bağlı olarak dolaşır. İnsan plazmasında RBP, tiroid hormonlarını da bağlayan bir tetramer olan transthyretin (prealbumin) ile kompleks oluşturur. Bu, böbrekten geçişi sırasındaki RBP kaybını minimale indirmek için fizyolojik olarak anlamlı bir yapılanma olabilir. Retinolün bazı biyolojik aktivitelerine sahip olan retinoik asit ise, plazmada albuminle taşınmaktadır.

Total A vitaminin %80-90'ı karaciğerde, küçük bir miktarı ise böbrek ve sürrenal glandında depolanır. Yeni absorbe edilmiş retinyl esterleri şilomikron artıkları ile birlikte, dolaşımdan büyük oranda çekilerek (%70-80) karaciğerde tutulurlar. Bu işlem sonrası, hidroliz ve re-esterifikasyon karaciğerde gerçekleşir. Hepatik A vitamini hem parankimal hem de non-parankimal yağ depolayan (önemli olarak endotel hücreleri, Kupffer hücreleri ve perisinüoidal yıldız hücreler) hücrelerde saklanır. Parankimal hücreler total hücrelerin %65'ini oluştururken, endotelial hücreler %18, Kupffer hücreleri %10 ve yıldız hücreler de %7'sini teşkil eder. Ancak hepatic vitaminin %79-84 gibi bir çoğunluğu, yıldız hücrelerde depolanmaktadır (17,18,2). Perisit, interstisyel

hücre, yağ depolayan hücre, liposit, Ito hücresi gibi değişik isimler de verilmiş olan yıldız hücrelere, endositoza uğramış şilomikron kalıntısı retinyl esterlerin %70-80'i parankim hücrelerden hızlıca sekrete edilerek taşınır. Parankim hücreleri karaciğerdeki total retinoidlerin yaklaşık %9'una, total RBP'in, %98'ine, total sellüler RBP (CRBP)'in %91'ine ve total sellüler retinoik asit bağlayıcı proteinin (CRABP) %71'ine sahiptir. Yıldız hücrelerde bu oranlar sırasıyla %88, %0.7, %8 ve %21'dir (Şekil 2). Endotelial hücreler ve Kupffer hücreleri tüm bu maddeleri oldukça düşük konsantrasyonlarda içermektedir. Hayvan deneyleri RBP'in, retinolün parankimal hücrelerden yıldız hücrelere transferinde parakrin mediatör olarak rol oynadığını göstermektedir (19).

Yüksek vertebralılarda, yüksek doz A vitamini alındığında ekstrahepatik A vitamini depolayan yıldız hücreler gözlenmektedir. Bu hücrelerin normal şartlarda retinol metabolizmasında rol oynayıp oynamadıkları belli değildir. Bu hücreler fibrotik karaciğerde proliferasyon göstermekte ve kollajen gibi bağ dokusu komponentlerini sentezleyebilmektedir. Son çalışmalar, yıldız hücrelerin kollajen ve diğer bazı ekstrasellüler maddelerin asıl kaynağı olduğunu ve bu faktörün hem normal hem de fibrotik karaciğer için geçerli bulunduğunu göstermiştir (19). Perisitin spesiyalize olmuş bir tipi şeklinde düşünülen yıldız hücrelerin, karaciğer fibrozisi gelişimindeki patolojik değişiklikler üzerinde merkezi bir rolü olduğu ileri sürülmektedir (19).

Normal karaciğerde bağ dokusu hücrelerinin hepatositlere oranı düşüktür. Ancak karaciğer dokusunda olan kronik hasarlar, hem bağ dokusu hücre popülasyonunda hem de ekstrasellüler matrikste büyük artışa neden olarak belirgin fibroze yol açar. Bağ dokusu hücrelerinin aktivasyonu, hepatik fibrozis gelişimi ile ilişkili, belki de muhtemel sebebidir.



Hepatik lobüllerin iki önemli bağ dokusu hücre popülasyonu, myofibroblastik karakterdeki peri-sinüoidal hücreler ile lipositler (yıldız hücreler, yağ depolayan hücreler, Ito hücreleri)'dir (28). Bu iki hücre genelde tek bir hepatik bağ dokusu hücre tipinden köken alan 2 fenotip olarak kabul edilmektedir (Bioulac-Sage ve Balabaud, 1985). Hepatik lipositlerin (yıldız hücreler), normal ve fibrotik parankimde kollajen liflerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kent ve ark., 1976). Bu hücrelerle ilgili in vivo bir çalışmada, Clement (1984) aralarında fibronektin, kollajen I, III ve IV'ün de bulunduğu ekstrasellüler matriks moleküllerinin sentezlendiğini göstermiştir. Ayrıca, yapılan in vitro deneyler de yıldız hücrelerin karaciğerdeki kollajen ve onunla ilişkili ekstrasellüler matriks moleküllerinin en önemli kaynaklarından biri olduğuna işaret etmektedir (Senoo, 1984;Friedman, 1985; Gressner ve Haarman, 1988; Gressner, 1989).

Yıldız hücre sayısındaki artışın A hipervitaminozuna bağlı sirozla ilişkili olduğu bilinmektedir (Jacques, 1979). Diğer taraftan, insanlardaki ve deneysel modellerdeki kronik alkol intoksikasyonunda, karaciğer myofibroblastlarında sayıca artışın yanısıra, yıldız hücrelerde oransal bir düşüş gözlenmiştir (Minato, 1983; Mak, 1984). Bu nedenle, lipositlerin aktive olmuş ve kollajen sentezleyen myofibroblastlara dönüşümü, alkole bağlı siroz ve fibrozisde, artmış fibrogenezise yol açan mekanizmalardan biri olarak öne sürülmektedir (Mak, 1984). Bu geçiş, karaciğerdeki ekstrasellüler matriksin normal ve patolojik sentez homeostazının kontrolünde temel noktalardan biri olabilir (28).

Sıçan lipositlerinin primer in-vitro kültürlerinde yürütülen çalışmalar, retinolün proliferasyon hızlarını ve metabolizmalarını etkilediğini göstermiştir (Davis, 1987; Davis ve Vucic, 1988). Ancak, hepatik myofibroblastların primer kültürlerinde, retinolün sadece minör etkisi olduğu ve liposit fenotipinin tam bir ifadesinin bulunmadığı izlenmiştir (Geerts, 1989). Hepatik lobüldeki tek bir bağ dokusu hücre popülasyonu gerçeği ile uyumlu şekilde, bu iki fenotip arasında potansiyel olarak reversibl bir değişim söz konusudur. Bu iki fenotip arasındaki rölatif oran, muhtemelen vitamin-A statusu ve karaciğer dokusundaki potansiyel fibrojenik molekül varlığı gibi eksternal şartlarca koordine edilmektedir. Lipositlerin vitamin-A'ya bağlı hiperplazileri artmış proliferasyona değil, bağ dokusu hücrelerinin liposit fenotipine doğru olan dönüşüm oranındaki yükselmeğe bağlıdır.

Bir A vitamini formunun hücre içinde diğer bir A vitamini formuna fizyolojik transformasyonu, kompleks bir işlemdir. Beta-karotenden intestinal mukoza tarafından oluşturulan retinalin redüksiyonu, NADH varlığında intestinal hücre sitoplazmasında gerçekleşir. Oluşan retinol daha sonra esterifiye edilir. Retinyl esterler tekrar retinole hidrolize olabilirler. Bu reaksiyon seti, barsak,

karaciğer ve sürrenaller gibi birçok dokuda izlenebilir. Retinol karaciğer h c-
relerinde beta-glukuronide transforme edilerek safraya sekrete olabilir. Retinal-
dehid, daha ileri aşamada karaciğer ve barsağın çeşitli dehidrogenaz ve
oksidazlarınca katalize edilen bir reaksiyonla retinoik aside oksitlenebilir. Reti-
noik asid ise herhangi bir dokuda depolanmamaktadır.

Normal miktarlarda alındığında, A vitaminin %20'si absorbe edilmez ve 1-
2 gün içinde vitamin metabolitleri ya da değişime uğramamış karotenoidler
şeklinde feçesle atılır. Emilen %80'in yaklaşık %20 ile %50'si ya konjuge olur
ya da 1 hafta içinde idrar veya feçesle atılan ürünlere oksitlenir. Kalan b -
l m (%30-60) ise, asıl karaciğerde olmak üzere, vücutta depolanır.

Beta-karoten'e gelince:

Karotenoidler, gıdalardaki total A vitamini aktivitesinin oldukça önemli bir
bölümünü karşırlar. Yaklaşık 600'  bulan doğal karotenoidlerden ancak 50
kadarı provitamin A aktivitesine sahiptir. Bu karotenoidler içinde en yüksek
provitamin biyolojik aktivitesine beta-karoten sahiptir. Beta-karoten'in non-
toksik olduğu geniş  l de kabul gören bir görüştür. Gıda katkısı olarak
kullanımının çok üzerindeki miktarlarda bile bu özelliğini koruduğuna inanıl-
maktadır (15).

Provitamin A karotenoidler hiç değişmeden ya da A vitaminine d n şt k-
ten sonra absorbe edilebilir. Gıdalardaki karotenoidler genellikle membran ve
lipoproteinlerle ilişki halindedir. Proteinler kısmen pepsin ile sindirilir ve mi-
dede sınırlı bir lipoliz gerçekleşir. Gıdalardan serbestleşen lipidler lipid damla-
cıklarına agrege olur ve barsaktaki safra tuzlarınca solubilize edilir. Daha
sonra barsaktaki mukozal hücrelerin plazma membranlarınca absorbe edilir ve
direkt olarak kana da verilebilir. Karotenoidler ve retinol mukozal hücelere
endositoz yolu ile de taşınabilmektedir. Karotenoidler, plazmada lipoprotein-
lere bağlı olarak dolaşır. Araştırmacılar, bunun özellikle LDL fraksiyonunda ger-
 ekleştiğini bildirmektedirler.

Safra tuzları, lipidler, proteinler, antioksidanlar ve çinko varlığında absorb-
siyon artmaktadır. Alınan karotenoidlerin yaklaşık %25-75'i absorbe edilme-
mekte ve değişmemiş olarak feçesle atılmaktadır. Yüksek dozlarda bile,
beta-karoten idrarla atılmamaktadır (15,20).

Beta-karoten yağ dokusunda depolanmakta ve epidermis, dermis, trombo-
sit ve lökositin de içinde bulunduğu birçok dokuda yer almaktadır. Sıçan de-
neylerinde, beta-karoten'in alım miktarı ve doku dağılımı arasında doza
bağımlı etkileşim ortaya konmuş; karaciğerde en yüksek, kasta en düşük do-
ku beta-karoten konsantrasyonları saptanmıştır (21).

Beta-karoten'in retinole enzimatik konversiyonu teorik olarak kantitatifdir. Fizyolojik verimsizlik nedeniyle, düşük dozlarda gösterilen maksimum konversiyon oranı %50'dir (ağırlık bazında); yani 1 mol beta-karoten'den 1 mol retinoldür. Ayrıca, değişik gıdalardan beta-karoten emiliminde verimlilik farkları bulunmaktadır. İnsanda ortalama emilim oranı 1/3 iken, retinolün normal şartlarda tamamen emildiği kabul edilmektedir. Beta-karotenin tüm kullanımını ise retinolün altında biri kadardır (15).

Lakshman, Asher ve arkadaşları, beta-karoten ile beslenen sıçanlarda, beta-karoten'in retinyl ester ve retinole dönüşümünde 2 kat artış olduğunu; bunun beta-karoten parçalayıcı enzim sisteminin önceden bu maddeyi vermekle indüklenebileceğini akla getirdiğini belirtmişlerdir (29). Aynı araştırmacılar ikinci olarak, daha önceden satüre edilen beta-karoten parçalayıcı enzim sisteminin, daha sonra verilen beta-karoten'in absorpsiyonunu 2 kat arttırdığını ve yeni alınan beta-karoten'in retinal veya diğer retinoid türevlerine dönüşümünün hemen hemen ortadan kalktığını ileri sürmüşlerdir (29). Bu ikinci görüş, intestinal parçalanmadan kurtulan beta-karoten ve diğer karotenoidlerin oynayabileceği muhtemel antikarsinogenik rol yönünden klinik önem taşımaktadır. Bu gruba göre, diet kaynaklı beta-karotenin karaciğerde depolanmasında, parankim hücreleri lipositlere göre daha büyük bir kapasiteye sahipken, retinyl ester ve retinolün asıl depolanma yeri lipositlerdir.

Yetmezlik

A vitamini yetmezliği, dünya üzerinde ve özellikle de gelişmekte olan ülkelerde, kıtlık ya da vitaminden zengin gıda eksikliği ve/veya azlığı nedeniyle, önemli bir sağlık problemi oluşturmaktadır. Yetmezliğin gözle ilgili olan yönü, birçok ülkede düşük sosyo-ekonomik düzeydeki ailelerin küçük çocuklarında izlenen körlüğün en önde gelen nedenleri arasında sayılmaktadır (1,30). Sommer ve arkadaşları, hafif kseroformalmisi bulunan okul öncesi Hintli çocuklardaki mortalite oranının, kseroformalmisi bulunmayan çocuklara göre 4-12 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Yine aynı araştırmacılara göre, kseroformalmili grupta solunum yolu enfeksiyonları ve diyare daha sık görülmekte ve bu artmış risk, genel nütrisyonel statustan ziyade A vitamini statusu ile ilgili görünmektedir. Ancak enfeksiyon ve hipovitaminoz arasında bir korelasyon olduğu kabul edilen bir görüştür. Aralarında Türkiye'nin de bulunduğu gelişmekte olan ülkelere yapılan yayınlarda, çocukluk döneminin en sık rastlanan bu iki enfeksiyöz hastalığına ait yüksek mortalite oranları ve düşük vit. düzeyleri bildirilmiştir (30,31,32). Kıtlık veya yetmezlik hallerinde uygulanan pirinç, buğday ve mısırdan zengin diyet de çok az beta-karoten içermek-

tedir. Anne sütü ve inek sütündeki vitamin düzeyleri ise, büyüme çağındaki çocuğun gereksinimlerini karşılamaktan uzak kalmaktadır.

Batı toplumlarında yetmezlik genellikle kırsal kesimdeki fakir, yaşlı kişilerde, alkoliklerde, malabsorbsiyonu bulunanlarda ya da marjinal diyet uygulayanlarda izlenmektedir. Kronik olarak laksatif kullananlar, A vitamini yetmezliğine karşı duyarlı olabilirler. Alkolizmdeki yetmezliklerde sıkça gözlenen çinko yetmezliği, karaciğerden RBP salınımını olumsuz yönde etkilemekte ve görme fonksiyonu için gerekli retinal dönüşümünü kısmen engellemektedir. Böylelikle, dietetik retinol yetmezliğinin gece körlüğü gibi komplikasyonları, alkolizme bağlı çinko yetmezliği nedeniyle şiddetlenebilir (1). Retinadaki retinol-retinal dönüşümünü sağlayan alkol dehidrogenazın ileri derecede satüre hale gelmesiyle, retinal üretimi büyük ölçüde azalabilir. Yapılan hayvan deneylerinde, beraberinde yüksek oranda vitamin verilmesi halinde bile, etanolün karaciğer retinol düzeylerini azalttığı, bunu da muhtemelen retinol metabolizmasının yeni keşfedilen mikrozomal işlemlerinde degradasyonu arttırarak gerçekleştirdiği gösterilmiştir (33). Ayrıca kronik alkolizm sonucu gelişebilecek malabsorbsiyon tablosunda da gaitada retinol ve karotenoid kaybı ortaya çıkabilir. Laksatifler, hızlı transit ve absorbsiyon azalmasına neden olduklarından, yetmezliğe zemin hazırlayabilir. Kolestiramin, kolestipol, neomisin ve kolşisinin uzun süreli kullanımı da benzer sonuçlara yol açabilmektedir.

Gece körlüğü yetmezliğin erken göstergelerinden biridir. Özellikle alkoliklerde sıkça rastlanan geceleri düşme ve trafik kazasına karışma gibi durumların altta yatan sebeplerinden birinin de gece körlüğü olduğu düşünülmektedir (1). Ek olarak, önce konjonktivada, daha sonra da korneada kuruluk ve kserozis gelişerek sonuçta kornea yumuşaması ve perforasyon ile sklerada Bitot lekeleri ortaya çıkabilir. Epitel diferansiyasyonundaki rolü nedeniyle, yetmezlik özellikle göz, akciğer, ter bezleri ve GI traktste anormal epitelial doku gelişimi ve keratinizasyona yol açar. Tat alma duyusunda kayıp da izlenebilmektedir.

Anormal karanlık adaptasyonunun demonstre edilmesi, yetmezlik tanısı için önemli bir bulgudur. Serum retinol tayini için, saha şartlarında da kulanılabilecek, pahalı olmayan ekipmanlar geliştirilmeğe çalışılmaktadır. Serum düzeyi direkt immunoassay yöntemi ile de tayin edilebilmektedir. Hipotiroidizm, nefrotik sendrom, oral kontraseptif kullanımı ve lipid metabolizma bozuklukları, serum düzeylerini arttırabilir. Dietetik yetmezlik sonucu serum düzeyleri dşmeğe başladığında, karaciğer rezervleri de zaten büyük ölçüde azalmış durumdadır.

Toksisite

Herhangi bir maddenin toksisitesi, hedef noktadaki toksik formun konsantrasyonuna bağlıdır. Eşik değer ya da daha yüksek konsantrasyonların varlığı, doz indekslerine ve toksikokinetik işlemlere bağlıdır. Retinol gibi biyoakkümüülasyon gösterme eğiliminde olan maddelerde, yavaş metabolik klirens ve geniş depolanma kapasitesi nedeniyle kronik kullanım çok önemli hale gelmektedir. Uzun biyolojik yarı ömrü, hızlı absorpsiyon ve yavaş klirens kombinasyonu nedeniyle, yeteri kadar yüksek dozla akut toksisite, oldukça küçük ancak uzun süreli dozlarla da kronik toksisite gelişebilmektedir (15).

Şu anda elde bulunan bilimsel veriler, yan etkiler için minimum bir eşik değeri belirleme olanağı vermemektedir. Ancak günlük 25000 IU nutrisyonel olarak fazla ve toksisite riski taşıyıcı bir değer şeklinde kabul edilmektedir. Aynı şekilde, güvenilir günlük doz aralığının üst sınırını belirlemek de zordur. Çoğu kişide 10000 IU'lık doz, iyi bir nütrisyon için oldukça yeterli, toksisiteyi önlemek yönünden de oldukça düşük bir dozdur.

Klinik olgu çalışmalarının gözden geçirilmesi , günde 100.000 IU veya daha fazla dozun günler ya da birkaç hafta süreyle, ya da 25000-50000 IU'lık daha düşük dozların birkaç ay ya da daha uzun süreyle kullanılmasının çok sayıda yan etkiye yol açabileceği görüşünü kuvvetlendirmektedir (15). Bu doz aralığının alt sınırındaki (25000 IU'lık) toksisiteye ait bilgiler, aynı anda alkol kullanımı, ciddi protein-enerji malnütrisyonu veya viral hepatit gibi nedenlerden ötürü karaciğer hasarı bulunan kişilere ait bildirimlerden kaynaklanmaktadır. Diyetle veya ilave olarak alınan vitaminin miktarı kadar, kullanım süresi de toksisite riski açısından önem taşımaktadır. Normal çocuklar 1500 IU/kg/gün dozunda nadiren toksik belirtiler gösterirken, 2000-3000 IU/kg doz aralığında toksisite riski artmaktadır.

Toksisite, genellikle akut ve kronik olarak iki grupta incelenmektedir. Akut toksisite, oldukça yüksek bir doz alımından saatler sonra ya da bir, en fazla iki gün içinde ortaya çıkmaktadır. Akut toksisite yaratmayacak ölçüdeki dozlara bağlı kronik toksisitenin gelişimi ise, haftalar, aylar ya da yıllar içinde olmaktadır. Ancak kronik toksisite için gerekli doz, akut toksisite için gerekenden oldukça düşüktür.

Akut toksisite belirtileri tablo A'da gösterilmiştir:

Tablo A: A vitaminine bağlı akut toksisitede belirti ve bulgular

Çocuklarda	Yetişkinlerde
—İştahsızlık	—Abdominal ağrı
—Fontanel kabarıklığı	—İştahsızlık
—Uyuklama	—Bulanık görme
—Artmış intrakranial basınç	—Uyuşukluk
—İrritabilite	—Baş ağrısı
—Kusma	—Hiperkalsemi
	—İrritabilite
	—Kaslarda güçsüzlük
	—Bulantı, kusma
	—Periferik nöritis
	—Ciltte deskuamasyon

Kronik toksisite ile ilgili semptom ve bulgular ise Tablo B'de yer almaktadır.

Latent hipervitaminozu olan subpopülasyon, "Karaciğerde depolanan vitamin düzeyleri oldukça yüksek bulunan ancak serum ve periferik doku düzeyleri normalin üzerinde olmayan kişiler" şeklinde tarif edilebilir. Bu tür olgular,

Tablo B: Kronik toksisite semptom ve bulguları

Çocuklarda

Alopesi, iştahsızlık, kemik ağrısı ve hassasiyeti, fontanel kabarıklığı, kraniotabes, hepatomegali, hiperostozis, erken epifiz kapanması, fotofobi, kaşıntı, pseudotumor cerebri, ciltte deskuamasyon ve eritem

Yetişkinlerde

Alopesi, anemi, iştahsızlık, ataksi, kemik ağrısı ve anormallikleri, cheilitis, konjonktivit, diare, diplopi, müköz membranlarda kuruluk, disüri, ödem, CSF basıncında artma, epistaksis, fasial dermatit, yorgunluk, ateş, baş ağrısı, hepatomegali ve hepatotoksisite, hiperostozis, uykusuzluk, iritabilite, menstrüel anormallikler, müküler ağrı, bulantı, negatif azot dengesi, peteşi, papilödem, peteşi, polidipsi, kaşıntı, pseudotumor cerebri, ciltte deskuamasyon, eritem ve rash, splenomegali, kusma, kilo kaybı

hepatotoksisite (örn: alkol kullanımı) veya karaciğer fonksiyon bozukluğu (ör: ciddi protein yetmezliği) yapan yandaş bir hastalık ortaya çıktığında bildirim konusu olmaktadır (15).

Alkolle retinolün toksisite konusunda sinerjizm gösterdikleri düşünülmektedir. Kronik vitamin toksisitesinde, alkolün yol açtıklarından farklı lezyonlar deneysel hayvan modellerinde gözlenmiştir (34).

Retinol fazlası, glukoneogenezi ve protein turn-over'ini stimüle ettiğinden, düşük protein alınımında, vitamin-A'nın bu özelliği ile ilgili toksisitesi artabilir. Ayrıca eğer karaciğer disfonksiyonu ciddi boyutlarda ise, hipervitaminozun periferik bulguları protein-enerji malnütrisyonu nedeniyle maskelenebilir. Tokoferol veya taurin-çinko beraberce hücreleri retinol toksisitesinden korumaktadır. Bunun membran stabilize edici etkiden kaynaklandığı düşünülmektedir (35). Vitamin A ve D ise birbirlerinin toksik etkilerini azaltmaktadır (36). Tetrasiklin'in ise, akut ve kronik retinol toksisitesinde beraber verildiği takdirde, benign intrakranial hipertansiyon riskini oldukça artırdığı öne sürülmektedir. Değişik kökenli karaciğer hastalıkları (protein-kalori malnütrisyonu, alkol kullanımı veya viral hepatit gibi), retinol toksisitesine olan eğilimi arttırabilmektedir.

Konumuzla ilgisi nedeniyle, retinole bağlı hepatotoksisite üzerinde biraz daha durmak yararlı olacaktır.

Geubel ve arkadaşları, 1976-1989 yılları arasında retinole bağlı hepatotoksisite tanısı almış 41 hastayı incelemişlerdir (37). Hepatotoksisite tanısı, çentikli nükleus ve floresan vakuoller (uv-ışık mikroskopunda) içeren liposit (yıldız hücre) hiperplazi ve hipertrofisi ile klinik hikayeye dayanılarak, kronik karaciğer hastalığı ya da liposit hiperplazisi yapabilecek başka nedenlerin (ör: methotrexate, anabolik steroidler, kortikosteroidler, kenodeoksikolik asit, IV yağ emülsiyonları gibi) bulunmadığı konumlarda geçerli tanı olarak kabul edilmiştir. Olguların sadece 13'ünde, ilk konuşmada karaciğer hastalığının sebebi şüphe konusu olmuş, diğerlerinde tanıya histopatolojik olarak gidilmiştir. 17 olguda siroz, 7 olguda kronik persistan, 3 olguda hafif kronik aktif hepatit, 6 olguda mikrovakuoler steatoz, 4 olguda sinüsoidal fibrozis ve 1 olguda ise peliozis gözlenmiştir. Liposit proliferasyonunun 20 olguda portal mesafede, 21 olguda ise lobüllerde belirgin olduğu; kısa süreli kullanımlarda lobüller, uzun süreli kullanımlarda ise portal alan yerleşimi gösterdiği izlenmiştir. 5 hastada non-sirotik portal hipertansiyon, 9 hastada ise sadece artmış depolanma ile retinole bağlı gelişebilen tüm karaciğer lezyonlarının tam bir spektrumu ortaya çıkmıştır. Olguların %51'inde izlenen özofagus varisleri, 11 hastada kanama sebebini oluşturmuştur.

Sirotik hastaların, non-sirotiklere göre anlamlı şekilde daha fazla kümülatif retinol aldıkları gösterilirken, 6 yıl süreyle 25000 IU/gün ve 2.5 yıl süreyle 100.000 IU/gün'lük dozların siroza yol açabildiği demonstre edilmiştir.

Hepatomegali 18, splenomegali 14, ascite 9, ikter 8, ödem 4 hastada saptanırken çoğu kez orta derecede yükselen transaminaz düzeyleri, hafif bir anikterik kolestaz tablosuna eşlik etmiştir. Tanı anında halen ilaç almakta olan 23 olguda, ilacın kesilmesi transaminaz ve Ig M düzeylerinde %50 oranında bir düşüşe yol açmış, ancak alkalen fosfataz değerlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir.

Serideki biyokimyasal profil, büyük ölçüde erken primer bilier siroza benzetilirken, ortalama 4.6 yıllık takip sonucunda 6 hasta karaciğerle ilgili nedenlerden ötürü hayatını kaybetmiştir.

Geubel ve arkadaşları sonuç olarak, en azından bazı batı ülkelerinde, A vitaminiye bağlı hepatotoksisitenin çok iyi biyopsi değerlendirilmesi gereği nedeniyle sıkça atlanabileceğini ve önemli bir sağlık problemi haline geldiğini belirterek, çoğu kez benign hastalıklar için ve terapötik doz sınırı içinde olduğu düşünülerek yazılan ve hatta kolayca temin edilebilen polivitamin preparatları içindeki retinolün, ciddi ve hayatı tehdit edici karaciğer patolojilerine yol açabileceği uyarısında bulunmuşlardır.

Beta-karoten toksisitesine gelince:

Genelde yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, özellikle retinol ile eşdeğer miktarlar göz önüne alınırsa, beta-karotenin insanlar için güvenilir bir gıda maddesi olduğu görülmektedir. Saf ve kristalize beta-karoten'in gıda, ilaç ve kozmetiklerde katkı maddesi olarak kullanılması, FDA tarafından onaylanmıştır (15,38).

Beta-karoten, eritropoetik protoporfiria adlı genetik hastalığın tedavisinde, günlük 20-180 mg'lık doz aralığında başarıyla kullanılmaktadır. Derideki anormal fotosensitivite reaksiyonları ile karakterize bu hastalıkta kullanılan yüksek dozlarda bile herhangi bir toksisite belirtisine rastlanmamıştır. Ek olarak, bu hastalarda yüksek serum retinol düzeyleri de saptanmamıştır.

Hiperkarotenemi, günde 30 mg veya daha fazla beta-karoten alanlarda gözlenebilir. Fazla oranda havuç içeren hazır gıdalarla beslenen bebeklerde de ortaya çıkabilmektedir. Serum retinol düzeyi hafif yükselmekte, ancak toksisite belirtisi gözlenmemektedir.

Amenore, lökopeni ile ilgisi gösterilememiştir. E. protoporfiria nedeniyle yüksek doz beta-karoten 10 yıl boyunca kullananların retinasında kristalize materyel depolanması görülmemiştir.

Anti-kanser ajan özellikleri ile ilgili olarak, bugüne kadar olan verilere göre, beta-karoten hem bakteriyel hem de hücre kültür sistemlerinde genetik hasarlanmayı önlemektedir. Maternal hiperkarotenemi nedeniyle karotenemisi bulunan bebeklerde, saf beta-karoten büyüyen fötusa hiçbir toksik etki yapmamaktadır.

MATERYAL VE METOD

Hastalar

Çalışmanın hasta materyalini klinik ve histopatolojik olarak siroz tanısı almış 26'sı erkek, 14'ü kadın toplam 40 olgu; kontrol grubunu ise 12'si erkek 8'i kadın toplam 20 sağlıklı birey oluşturdu. Hasta grubunun E/K oranı 1.85/1; yaş dağılımı 19-72; yaş ortalaması 49.57±13.04; kontrol grubunun ise E/K oranı 1.5/1; yaş dağılımı 25-70 ve yaş ortalaması da 49.20±11.85 idi.

Hasta grubundaki etiyolojik incelemede, 24 olgunun HBV'ne, 7'sinin HCV'ne, 3'ünün alkole bağlı bulunduğu, birinin Wilson, kalan ikisinin de kriptojenik siroz olduğu belirlendi. 2 hastada görüntüleme yöntemleri ile HBV'ne bağlı siroz zemininde solid lezyon saptandı ve histopatolojik olarak hepatoma tanısı konuldu. Vakaların 14'ü Child-A, 18'i Child-B ve 8'i ise Child-C sınıfında bulunuyordu. Çeşitli derecelerde kolestazi bulunan post-nekrotik, primer bilier sirozlu ve sklerozan kolanjitli hastalar çalışmaya alınmadı.

Hasta ve kontrol grubu seçiminde kolestazın yanısıra beta-karoten ve retinol absorpsiyonunu olumsuz yönde etkileyebilecek inflamatuvar barsak hastalığı, pankreas hastalıkları, çöliak ve barsak rezeksiyonları gibi patolojiler de ekarte edildi (39,41,43).

Çalışmaya katılmayı kabul eden her iki gruptaki bireylere ortak bir anket uygulandı ve geriye doğru son 3 ayı kapsayan bir dönemde beslenme alışkanlıkları ve diyetleri incelendi (40). Beta-karoten yönünden yeşil ve sarı sebze ile meyva; retinol yönünden yeşil-sarı sebze, domates, ciğer, süt ve süt ürünleri gibi gıda gruplarını tüketme oranları belirlendi. Anket dönemi kış aylarını kapsadığından, özellikle bu mevsimde tüketilen gıda grupları dikkate alındı. Günlük, haftalık ve aylık bazda tüketim belirlenirken ciğer, sebze ve meyvada 150 gr; süt ve süt ürünlerinde ise 160 gr 1 porسیون olarak kabul edildi. Ankette ayrıca defekasyon alışkanlıkları sorularak kaydedildi.

Her iki gruba SGOT, SGPT, GGT, bilirubin, alkalin fosfataz, albumin, kolesterol, trigliserid, protrombin zamanı ve aktivitesi, lökosit ve trombosit tayinlerine yönelik kan testleri uygulandı. Bu tayinlerde rutin biyokimyasal analiz yöntemleri kullanıldı.

Metod

Beta-karoten ve retinol için örnek toplanması ve hazırlanması

8 saat açlığı takiben hasta ve kontrol grubundan çift kat alüminyum folyo sarılarak ışıktan korunmuş özel tüplere alınan venöz kanlar, 1500 de-

vir/dk'da 30 dk süreyle santrifüj edildi; serumlar ayrıldı ve analize kadar -20°C'da derin dondurucuda saklandı. Dondurulmuş serumlar, analizlerin yapıldığı Türkiye Atom Enerjisi Kurumu (TAEK) Lalahan Hayvan Sağlığı ve Nükleer Araştırma Enstitüsü'ne kuru buz içinde nakledildi. Örneklerin alınmasından analizlerin sonuçlandırılmasına kadar, tüm serumların direkt ışıktan korunmuş olmasına dikkat edildi.

Dondurulmuş serumlar oda sıcaklığında çözüldü. Her bir serum örneğinden 0.2 ml otomatik pipetle alınarak tüplere konuldu. Serumların üzerine 0.2 ml etanol eklenerek her bir tüp 15 sn vortex ile karıştırıldı. Tüplere 0.4 ml heksan eklenerek tekrar her bir tüp 45 sn vortex ile karıştırılarak 1000 devir/dk'da 15 dk santrifüj edildi. Heksan fazından 0.1 ml beta-karoten, 0.1 ml retinol tayinleri için ayrı ayrı tüplere otomatik pipetle aktarıldı ve çeker ocakta heksan fazı, azot gazı altında kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Miktar tayinlerinden önce, tüplerde kalan çökelti 0.1 ml etanolde çözülerek alete enjekte edildi.

Retinol ve Beta-karoten tayini: Serum retinol ve beta-karoten düzeyleri "High Performance Liquid Chromatography" (HPLC) yöntemi ile tayin edildi. Retinol saptama tekniği Catignoni'nin (1983), beta-karoten tekniği ise Miller'in (1984) metodları baz alınarak hazırlandı.

Water Associates (Milford, Mass., ABD)'ten temin edilen ve 6000 A modeli solvent pompası, U-6 K modeli universal sıvı kromatografi enjektörü, 441 model absorbands dedektörü ve BBC Goerz-Metrawatt SE-120 kaydedici (Viyana, Avusturya) içeren HPLC cihazı ile RCM 100 modeli kompresyon modülünde, ters faz kolon ve radyal kompresyon ayırma sistemi (RCSS) kartuşu kullanıldı.

Retinol ve beta-karoten standartları Sigma (Kimy. Maddeler) Co.'den (St. Louis, MO, ABD) sağlandı. Bu standart solüsyonlar %99'luk etanolde hazırlandı.

Beta-karoten analizinin mobil fazı bir metanol: asetonitril: kloroform (47:42:11) karışımı olup, 2 ml/dk'lık bir hızla pompalandı. Ekstrakte edilen artıklar ve standart solüsyonlar bir C₁₈ ters faz kromatografik kolonuna enjekte edildi. Enjeksiyon hacimleri 40-90 mikrol arasında değişti. Absorbans 436'nm filtre ile, 0.005 sensitivitede ve 1 cm/dk hızda kaydedilmek suretiyle monitorize edildi. Beta-karoten standardının pik değerleri (20,30,60,90 ve 120 ng Beta-karoten), serum beta-karoten düzeylerini tayin edebilmek için kullanıldı.

Serum retinol düzeylerinin saptanmasında, %95'lik methanol mobil fazı oluşturdu ve akım hızı 2.5 ml/dk idi. Absorbans aynı özellikteki dedektörle monitorize edildi.

Sonuçlar, retinol ve beta-karoten standartlarına karşı pik yükseklikleri grafiğe geçirilerek çizilen standart grafiklerden değerlendirildi. Örnek hazırlama sırasında yapılan işlemler dikkate alınarak bulunan seyreltme faktörleri ile grafikten okunan değerler çarpılarak orijinal serum örneğinde bulunan retinol ve beta-karoten değerleri belirlendi (49).

Sonuçlar tek yönlü varyans analizi ve buna bağlı olarak Duncan testi, Student's t testi ve Khi-kare testi ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

İncelenen her iki faktörün, yani hem retinol hem de beta-karotenin sirotik hastalarda büyük ölçüde ve anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi.

Beta-karotenin hasta grubunda (1221.90 ± 575.36 ng/mikroL) kontrol grubunun (3894.95 ± 1004.80 ng/mikroL) yaklaşık üçte birine düştüğü gözlenirken (Tablo 1) ($P < 0.001$), retinol değerlerinin de hasta grubunda (69.85 ± 93.48 ng/mikroL) kontrollere göre (145.15 ± 66.57 ng/mikroL) yani yarıya azaldığı dikkati çekti (Tablo 2) ($P < 0.01$).

Retinol düzeyleri, Child A ve Child B gruplarında birbirine oldukça yakınken (sırasıyla 82.21 ± 104.13 ve 83.56 ± 100.58 ng/mikroL), Child C grubunda hızlı bir düşüş göstermektedir (17.37 ± 6.78 ng/mikroL) ($P < 0.01$) (Tablo 3).

Beta-karotende ise, Child A'dan C'ye doğru gidildikçe değerler progressif olarak azalmaktadır (sırasıyla 1351.86 ± 787.51 ; 1233.33 ± 409.19 ; 968.75 ± 422.66 ng/mikroL) ($P < 0.001$) (Tablo 4).

Ancak, her iki grupta da Child A'dan C'ye doğru gidildikçe, yani karaciğer yetmezliği arttıkça beta-karoten ve retinol değerlerinde gözlenen düşüşün istatistiksel anlam taşımadığı; başka bir deyişle kontrol grubu ile olan farklılıkta bir artış olmadığı belirlendi ($p > 0.05$).

Hasta grubunda %85 oranında viral etken belirlendiğinden, farklı etiyolojilere yönelik bir karşılaştırma yapılamadı. Yine bu grupta, beta-karoten ve retinolün serum düzeyleri ile rölatif diyet alımları arasında herhangi bir korelasyon bulunamadı. Keza, diğer laboratuvar indeksleri ile beta-karoten ve retinol arasında da bir ilişki bulunamadı.

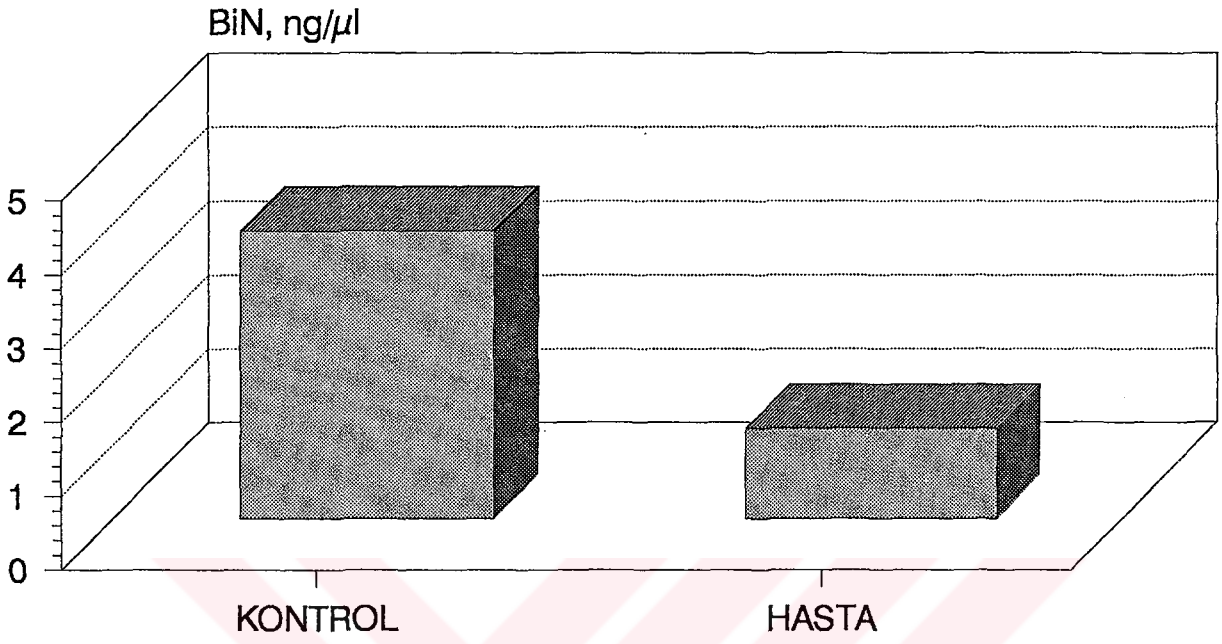
Grupların ortalama laboratuvar bulguları Tablo 5'de verilmiştir.

Her iki grup kendi içinde ele alındığında, hem retinol hem de beta-karoten için cinsler arasında bir fark saptanmadı ($p > 0.05$).

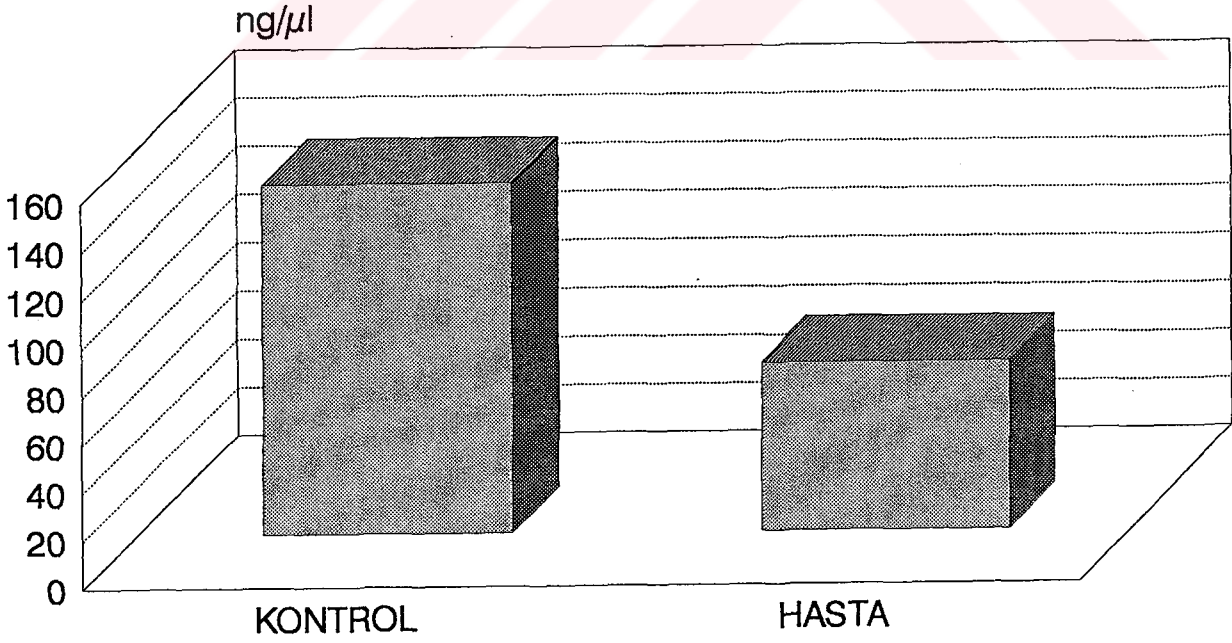
Beslenme şekli ve diyet özellikleri karşılaştırıldığında, hem retinol hem de beta-karoten kaynağı olan yeşil ve sarı sebzenin hasta grubunda daha fazla tüketildiği izlendi (sırasıyla $p < 0.05$ ve $p < 0.001$) (Tablo 6). Meyva, domates, ciğer, süt ve süt ürünleri tüketiminde ise iki grup arasında bir fark bulunamadı ($p > 0.05$). Günlük defakasyon adedi de farklılık göstermedi ($p > 0.05$).

Hastaların daha fazla sebze tüketmelerine karşın, serum düzeylerinin oldukça düşük bulunması, ilginç bir bulgu olarak dikkati çekti.

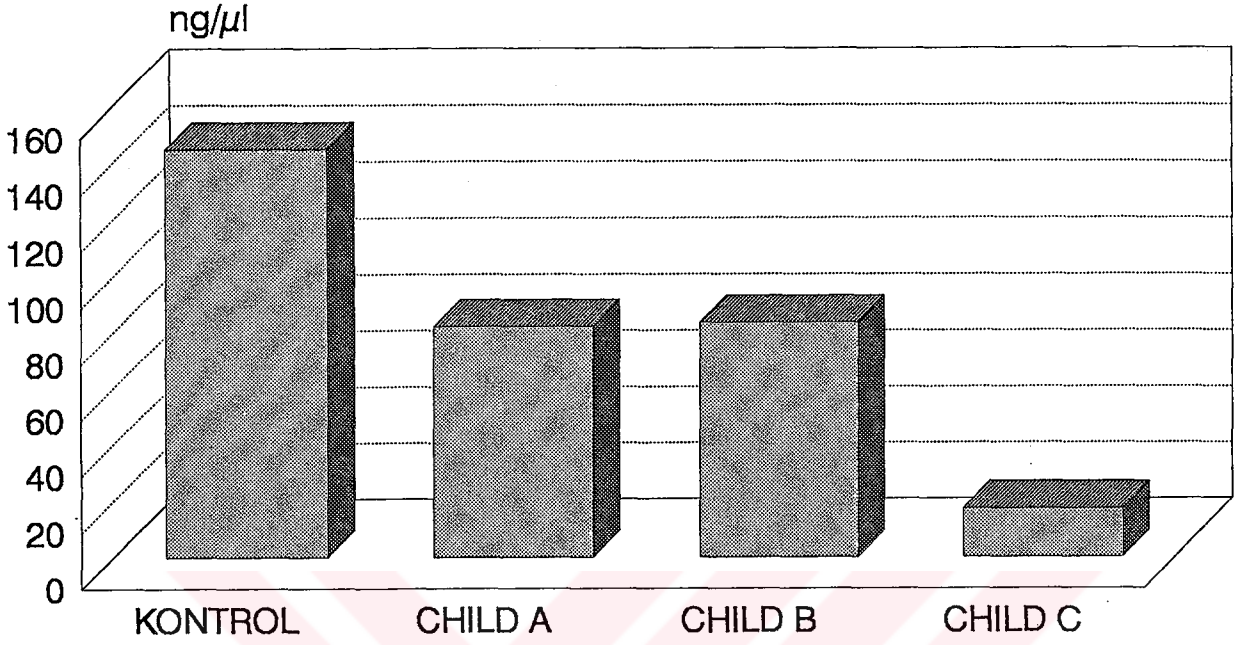
Tablo 1: Hasta ve Kontrol gruplarının ortalama β -karoten düzeyleri



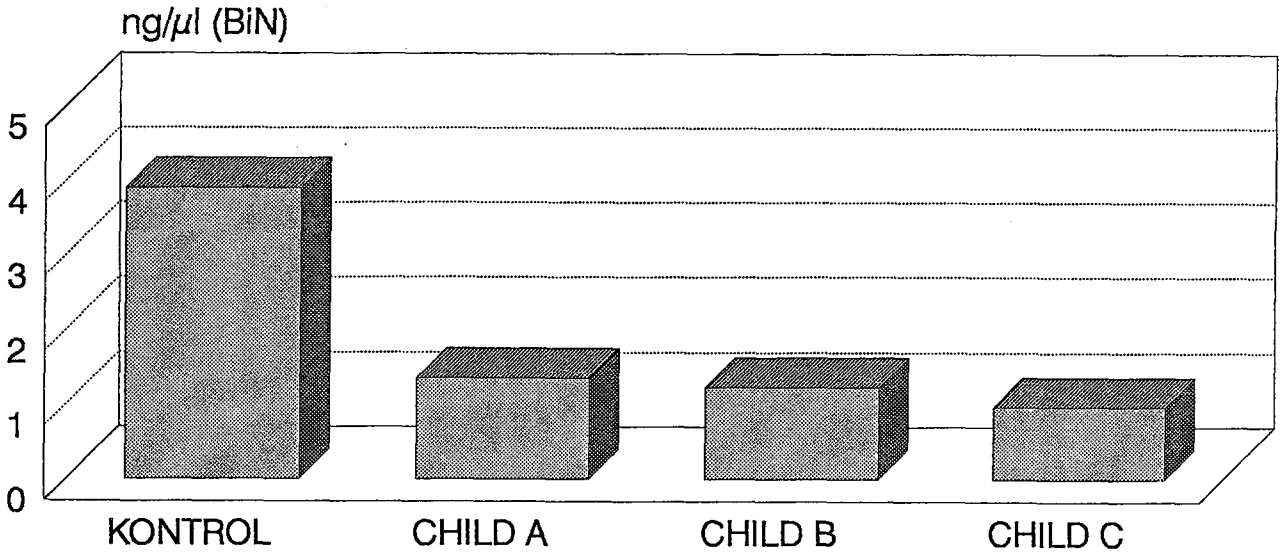
Tablo 2: Hasta ve Kontrol gruplarında ortalama retinol düzeyleri



Tablo 3: Kontrol ve Hasta grubunda Child sınıflamasına göre ortalama retinol düzeyleri



Tablo 4: Kontrol ve Hasta grubunda Child sınıflamasına göre ortalama β-karoten düzeyleri



Tablo 5: Hasta ve kontrol grubunun ortalama laboratuvar bulguları

Test	Hasta gr.ort.	Kontrol gr.ort.	Değerlendirme
SGOT	96.85±77.75	22.10±6.26	p<0.001
SGPT	71.87±66.01	23.60±12.85	p<0.001
GGT	69.75±64.80	20.30±10.65	p<0.001
Total Bil.	2.48±1.91	0.69±0.29	p<0.001
Alk.Fosf.	130.90±80.37	79.20±18.94	p<0.001
Albumin	2.74±0.78	4.20±0.41	p<0.001
Kolesterol	107.10±39.95	186.45±38.25	p<0.001
Trigliserid	98.57±36.53	150.60±52.13	p<0.001
PTZ	18.52±6.86	12.72±1.29	p<0.001
PT AKT.	56.94±21.97	94.65±9.61	p<0.001

Tablo 6: Hasta ve kontrol grubunda yeşil-sarı sebze tüketimi

Yeşil Sebze Tüketimi			
Porsiyon/gün	Hasta	Kontrol	Değerlendirme
0-0.5	3	7	p=0.0265
1-1.5	14	5	p<0.05
2 ve üstü	23	8	
	40	20	

Sarı Sebze Tüketimi			
Porsiyon/gün	Hasta	Kontrol	Değerlendirme
0-0.5	9	15	p=0.0004
1-1.5	23	3	p<0.001
2 ve üstü	8	2	
	40	20	

TARTIŞMA

Hastalığın sonuçlar üzerine etkisini tartışmadan önce, her iki grubun diyet alışkanlıklarının araştırılması önem taşımaktadır. Gruplara uygulanan ve geriye doğru son 3 ayı kapsayan anketten çıkan sonuçlar yorumlandığında, hastaların yeşil sebze kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha fazla tükettiği ($p<0.05$), yine sarı sebze alımının da hasta grubunda daha yüksek olduğu ($p<0.001$) izlenmektedir. Beta-karoten ve retinol kaynağı olan diğer besin gruplarında ise, herhangi bir fark bulunamamıştır. Ayrıca besin grupları ile serum beta-karoten ve retinol düzeyleri arasında da bir korelasyon saptanamamıştır.

İtalya'da yapılan benzer bir çalışmada, hasta ve kontrol grupları arasında beta-karoten ve retinol içeren gıda tüketimi yönünden bir fark bulunamazken, yine sirotik hastaların serum düzeyleri anlamlı şekilde düşük çıkmıştır (40). Araştırmamızda, hasta grubunun tüketim oranları anlamlı şekilde yüksek olduğu halde, yine düşük serum düzeyleri ile karşılaşmıştır. Bu çelişki, karaciğer patolojisine bağlı olarak, absorpsiyondan itibaren metabolik zincirde gelişen bir ya da birkaç olası defekti akla getirmektedir.

Bazı araştırmacılar serum retinol ve beta-karoten oranlarının yaşla arttığını ve erkeklerde her ikisinin de kadınlara göre daha yüksek olduğunu belirtmektedir. Ancak bu konudaki görüşler çelişkili olup, herhangi bir fark bulunmadığını belirten yayınlar da vardır (16,39,40). Çalışmamızda grupların gerek yaş ortalaması, gerekse yaş dağılımının birbirine oldukça yakın bulunmasının yanısıra, kendi içlerinde değerlendirildiğinde, cinsler arasında da anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).

Rocchi, Borghi ve arkadaşları, alkolik sirozda serum retinol ve beta-karoten düzeylerini non-alkoliklere göre biraz daha düşük saptamış, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır (40). Sirozlu grubumuzda %85 oranda viral neden belirlendiğinden, diğer etiyolojik faktörlerle sağlıklı bir karşılaştırma yapılamadı.

Retinolün kronik karaciğer hastalıkları ve sirozda azaldığına dair yayınlar sıklıkla (40-48). Bu yayınların bir kısmında, retinolle birlikte RBP'in de azaldığı, artmış vitamin A: RBP molar oranının karaciğerde düşük oranda RBP sentezine işaret ettiği bildirilmekte ve sonuçta karaciğerden retinol-RBP kompleksinin serbestleşme düzeyinin azalarak normalin altında serum retinol seviyelerine neden olacağı açıklanmaktadır (42,44,48). Yine bazı araştırmacılar, çinkonun RBP sentezinde önemli rol üstlendiğini vurgulayarak, sirotik hastalardaki düşük çinko seviyelerinin RBP sentezini ve retinol metabolizmasını etkilediğini ileri sürmektedir (44,47,48).

Retinolle ilgili bulgularımız, literatürle uyum içindedir. Sirotik süreçteki A hipovitaminozu için safraya azalmış safra tuzu sekresyonu ve safrada düşük miçel fazı lipid konsantrasyonu, portal hipertansiyon, bozulmuş lenfatik drenaj, plazma protein ve lipoproteinlerindeki bozukluklar, azalmış depolama ve RBP gibi kısa ömürlü protein yıkımında oluşabilecek muhtemel değişiklikler suçlandırılmakta, ancak tek ve kesin bir neden ileri sürülememektedir. Normal enerji üretimi ve anormal bir substrat oksidasyon oranı gözlenen sirotik süreçte, anti-oksidatif kapasitenin büyük oranda azalması, beklenen bir sonuçtur. Zira sadece provitamin-A faktörleri değil, anti-oksidan özellikteki tüm karotenoidler de belirgin derecede düşüş göstermektedir (39,40).

Zeng, Wang ve arkadaşlarına göre, düşük A vitamini bulunan sirotik hastalardaki endotoksemi oranı %82 ve sekonder enfeksiyon oranı %31'dir (45). Retinol ve fibronektin düşüklüğünün birlikte bulunduğu olgularda ise, endotoksemi oranı %93 olarak belirtilmektedir. Araştırmacılar, sirotik hastalardaki endotoksemi ve sekonder enfeksiyon komplikasyonlarının önemli bir nedeninin A vitamini yetmezliği olduğunu ileri sürmektedirler.

Sirozdan ölüm oranları ile belirli nütrisyonel faktörler arasındaki ilişkiyi araştıran ve 38 ülkeyi kapsayan bir çalışmada da, retinol ile ölüm oranları arasında negatif bir ilişki ($p<0.01$) saptanmıştır (46).

Beta-karoten ve siroz ilişkisini ele alan yayınlar retinole göre oldukça azdır. Karotenoidlerin, retinolün ve tokoferolün (E vit.) birlikte oksidatif sellüler hasarı önleme ve tümör gelişimini inhibe etme konusundaki rolleri iyi dökümanite edilmiş olmasına rağmen, sirotik süreçteki rolleri bütün çıplaklığı ile henüz gözler önüne serilememiştir. A vitamini prekürsörü olma niteliğine bağımlı olmaksızın yukarıdaki özellikleri gösterebilen beta-karotenin sirozda izlenen ve çalışmamızda da anlamlı olarak düşük bulunan serum değerleri için yine retinoldekine benzer nedenler ileri sürülmektedir (29,39,40).

Rocchi ve grubu, Child A'dan Child C'ye gidildikçe hem beta-karoten hem de retinol düzeylerinin progressif olarak azaldığını ve bu azalmanın anlamlı olduğunu bildirmiştir (40). Araştırmamızda, bu düşüş eğilimi belirlenmekle beraber, azalmanın istatistiksel anlam taşımadığı gözlenmiştir.

SONUÇ

Yapılan çalışmada elde edilen bulguların, literatürle büyük ölçüde uyumlu olduğu gözlenmiştir. Nedenlerine çok yönlü yaklaşımı gerekli gördüğümüz sonuçların yaş, cins ve nütrisyonel faktörlerden bağımsız olduğunu söylemek yerinde olacaktır. Ancak, hasta grubunun daha fazla retinol ve beta-karoten kaynağı gıda tüketmesine karşın, sonuçların yine anlamlı şekilde düşük bulunması ilginç bir özellik olmuştur. Bu noktaya ışık tutabilmek amacıyla, yeterli doz ve sürede standardize edilmiş retinol ve beta-karotenin verildiği ve bazal değerlerle karşılaştırıldığı kontrollü çalışmalara gereksinim vardır. Literatürle uyumlu olmayan bir başka sonuç ise, Child A'dan C'ye doğru gidildikçe düşme eğilimi gösteren değerlerdeki bu azalmanın anlamlı olmamasıdır.

Karotenoidlerin anti-tümör özelliklerini retinoide dönüşmeden gösterebilmeleri ve gerçekten de ihmal edilebilecek derecedeki toksisiteleri, gelecekte karsinogenezise karşı kullanılacak kimyasal ajanlar arasında kendilerine ön saflarda yer bulmalarını sağlayabilecektir.

Anti-oksidatif kapasitenin büyük ölçüde azaldığı, kimyasal defoksifikasyonun neredeyse sıfırlandığı ve kronik sellüler hasarın birlikte gittiği sirozlu hastalarda, provitamin-A faktörleri ve karotenoidlerin dikkatlice monitorize edilmesi ve metabolik bozuklukların izlenmesi (ör: çinko, protein desteği gibi), alkol, inflamasyon, aşırı demir yükü ve diğer risk faktörlerinin bulunduğu şartlarda, tümöral komplikasyonların önlenmesinde önem taşımaktadır.

ÖZET

Anti-oksidan ve anti-tümör nitelikleri iyi bilinen retinol ve beta-karotenin karaciğer sirozu ve siroz evreleri ile olan ilişkilerine, ayrıca diyetetik faktörlerle olan bağlantılarına ışık tutabilmek amacıyla yapılan çalışmada, 40 sirozlu olgunun serum retinol ve beta-karoten düzeyleri, 20 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırıldı. HPLC yöntemi ile yapılan analizler sonucunda, hem retinol hem de beta-karoten düzeyleri hasta grubunda anlamlı şekilde düşük bulundu (sırasıyla $p < 0.01$ ve $p < 0.001$). Child A,B ve C grupları için anlamlılıkta bir değişme gözlenmezken, A'dan C'ye doğru gidildikçe serum düzeylerinin düşme eğiliminde olduğu izlendi. Genelde literatürle uyumlu bulunan sonuçların yaş, cins ve diyet faktörlerinden bağımsız olduğu söylenebilir. Ancak, tüm bireylere uygulanan ve geriye doğru son 3 ayı kapsayan anket, hastaların kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha fazla yeşil ve sarı sebze tükettiğini ortaya koymuştur. Buna rağmen, düşük serum düzeyleri elde edilmesi ilginç bir bulgu olmuştur. Azalmış serum düzeylerine birçok faktörün yol açabileceğini ve bunların birlikte de rol oynayabileceğini belirtmek yararlı olacaktır. Fakat bu konuda kontrollü çalışmalara gereksinim vardır. Bulgular, retinoid ve karotenoidlerin dikkatlice monitorize edilmesi ve metabolik bozuklukların yakından izlenerek verilecek desteğin, fatal tümöral komplikasyonların önlenmesinde etkili olabileceğini telkin etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Rivlin RS. Disorders of vitamin Metabolism. In Cecil-Textbook of Medicine. (eds) Wyngaarden JB, Smith LH. W.B.Saunders Company, 1988:1228-41.
2. Blomhoff R. Hepatic retinol metabolism: role of various cell types. Nutrition Reviews, September 1987; 45(9):257-3.
3. Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. Am J Clin Nutr 1991; 53:189 s-93 s.
4. Schmitz H, Poor CL, Wellmann RB, Erdman JW. Concentrations of selected carotenoids and vitamin A in human liver, kidney and lung tissue. J Nutr 1991; 121:1613-1621.
5. Wald NJ, Thompson SG, Densem JW, Boreham J, Bailey A. Serum beta-carotene and subsequent risk of cancer: results from the BUPA study. Br J Cancer 1988; 57:428-33.
6. Connett JE, Kuller LH, Kjelsberg MO. Relationship between carotenoids and cancer: the Multiple Risk Intervention Trial Study. Cancer 1989; 64:126-34.
7. Ziegler, RG. A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. J Nutr 1989; 119:116-22.
8. Connett JE, Kuller LH, Kjelsberg MO, Polk BF, Collins G, Rider A, Hulley SB. Relationship between carotenoids and cancer. Cancer 1989; 64:126-134.
9. Pung A, Rundhaug JE, Yoshizawa CN, Bertram JS. Beta-carotene and canthaxanthin inhibit chemically and physically-induced neoplastic transformation in 10T/2 cells. Carcinogenesis 1988; 9:1533-39.
10. Shklar G, Schwartz J. Tumor necrosis factor in experimental cancer regression with alpha tocopherol, beta-carotene, canthaxanthin and algae extract. Eur J. Cancer Clin Oncol 1988; 24:839-850.
11. Willett WC. Vitamin A and lung cancer. Nutr Rev 1990; 48:201-11.
12. Krinsky NI. Carotenoids and cancer in animal models. J Nutr 1989; 119:123-6.
13. Bendich A, Shapiro SS. Effect of beta-carotene canthaxanthin on the immune responses of the rat. J Nutr 1986; 116:2254-62.
14. Blomhoff R, Green Michael H, Berg T, Norum Kaare R. Transport and storage of vitamin A. Science 19 Oct 1990; 250:399-403.
15. Hathcock JN, Hattan DG, Jenkins MY, McDonald JT, Sundaresan PR, Wilkening VL. Evaluation of vitamin A toxicity. Am J Clin Nutr 1990; 52:183-202.
16. Ito Y, Ochiai J, Sasaki R, Suzuki S, Kusuhara Y, Morimitsu Y, Otani M, Aoki K. Serum concentrations of carotenoids, retinol and alfa-tocopherol in healthy persons determined by high-performance liquid chromatography. Clinica Chimica Acta 1990; 194:131-144.

17. Lakshman MR, Sundaresan PR, Chambers LL, Shoff PK: Cellular retinyl esters and retinol among parenchymal and stellate cells in normal rat liver. *Lipids* 1988; 23:144-7.
18. Batres RO, Olson JA. Relative amount and ester composition of vitamin A in rat hepatocytes as a function of the method of cell preparation and of total liver stores. *J Nutr* 1987; 117:77-83.
19. Blomhoff R, Wake K. Perisinusoidal stellate cells of the liver: important roles in retinol metabolism and fibrosis. *FASEB J* 1991; 5:271-77.
20. Olson JA. Provitamin A function of carotenoids: the conversion of beta-carotene into vitamin A. *J Nutr* 1989; 119:105-8.
21. Shapiro SS, Mott DJ, Machlin LJ. Kinetic characteristics of beta-carotene uptake and depletion in rat tissue. *J Nutr* 1984; 114:1924-33.
22. Davidson NO, Magun M. Intestinal lipid absorption. In *Textbook of Gastroenterology-I* (eds.) Yamada T, Alpers DH, Owyang C, Powell DW, Silverstein FE. J.B. Lippincott Company, 1991:361.
23. Dennert G. Immunostimulation by retinoic acid. *Retinoids, differentiation and disease*. Pitman, London (Ciba Foundation Symposium 113), 1985:117-131.
24. Lichti U, Yuspa S. Inhibition of epidermal terminal differentiation and tumour promotion by retinoids. *Retinoids, differentiation and disease*. Pitman, London (Ciba Foundation Symposium 113), 1985:77-89.
25. Sherman MI, Gubler ML, Barkai U, Harper M, Coppola G, Yuan J. Role of retinoids in differentiation and growth of embryonal carcinoma cells. *Retinoids, differentiation and disease*. Pitman, London (Ciba Foundation Symposium 113), 1985: 42-60.
26. Bertram JS, Martner JE. Inhibition by retinoids of neoplastic transformation in vitro: cellular and biochemical mechanisms. *Retinoids, differentiation and disease*. Pitman, London (Ciba Foundation Symposium 113), 1985: 29-41.
27. Brinckerhoff CE, Sheldon LA, Benlot MC, Burgess DR, Wilder RL. Effect of retinoids on rheumatoid arthritis, a proliferative and invasive non-malignant disease. *Retinoids, differentiation and disease*. Pitman, London (Ciba Foundation Symposium 113), 1985: 191-211.
28. Margis R, Margis MP, da Silva LCF, Borojevic R. Effects on retinol on proliferation, cell adherence and extracellular matrix synthesis in a liver myofibroblast or lipocyte cell line (GRX). *Int J Exp Path* 1992; 73: 125-135.
29. Lakshman MR, Asher KA, Attlesey MG, Satchithanandam S, Mychkovsky I, Coutlakis PJ. Absorption, storage and distribution of beta-carotene in normal and beta-carotene-fed rats: roles of parenchymal and stellate cells. *J Lipid Res* 1989; 30:1545-1550.

30. Büyükgebiz B, Özalp I, Oran O. Investigation of serum vitamin A levels of children who had a history of recurrent diarrhoea and acute respiratory infections in Ankara. *Journal of Tropical Pediatrics* Oct 1990; 36:251-255.
31. Walsh JA, Warren KS. Selective primary health care: an interim strategy for disease control in developing countries. *N Engl J Med* 1979; 301:967-74.
32. Doğramacı I. Child health situation in Turkey and recent developments. *Bull Inter Ass* 1987; 8:406-12.
33. Lieber CS. Alcohol, liver and nutrition. *J Am Coll Nutr.* 1991 Dec 10; 6:602-632.
34. Leo MA; Lieber CS. Hepatic fibrosis after long-term administration of ethanol and moderate vitamin A supplementation in the rat. *Hepatology* 1983;3:1-11.
35. Pasantes-Morales H, Wright CE, Gaull GE. Protective effect of taurine, zinc and tocopherol on retinol-induced damage in human lymphoblastoid cells. *J Nutr* 1984; 114:2256-61.
36. Metz AL, Walser MM, Olson WG. The interaction of dietary vitamin A and D related to skeletal development in the turkey poult. *J Nutr* 1985; 115:929-35.
37. Geubel AP, Galocsy C, Alves N, Rahier J, Dive C. Liver damage caused by therapeutic vitamin A administration: estimate of dose-related toxicity in 41 cases. *Gastroenterol* 1991; 100:6:1701-1709.
38. Bendich A. The safety of beta-carotene. *Nutr Cancer* 1988; 11:207-14.
39. Ringer TV, DeLoof MJ, Winterrowd GE, Francom SF, Gaylor SK, Ryan JA, Sanders ME, Hughes GS. Beta-carotene's effect on serum lipoproteins and immunologic indices in humans. *Am J Clin Nutr* 1991; 53:688-94.
40. Rocchi E, Borghi A, Paolillo F, Pradelli M, Casalgrandi G. Carotenoids and liposoluble vitamins in liver cirrhosis. *J Lab Clin Med* 1991; 118:176-85.
41. Johnson EJ, Krasinski SD, Howard LJ, Alger SA, Dutta SK, Russell RM. Evaluation of vitamin A absorption by using oil soluble and water-miscible vitamin A preparations in normal adults and in patients with gastrointestinal disease. *Am J Clin Nutr* 1992; 55:857-64.
42. Kanematsu T, Kawano T, Sugimachi T. Blood concentrations of thirteen vitamins in cirrhotic patients. *Nutrition* 1989 May-June; 5 (3):179-82.
43. Janczewska I, Bartnik W, Butrak E, Tomacki R, Kazik E, Ostrowski J. Metabolism of vitamin A in inflammatory bowel disease. *Hepato-Gastroenterol* 1991; 38:391-95.
44. Abdu-Gusau K, Elegbede JA, Akanya HO. Serum zinc, retinol and retinol-binding protein levels in cirrhotics with hypogonadism. *Eur J Clin Nutr* 1989 Jan; 43(1):53-7.
45. Zeng NX, Wang JL, Guo JY. Clinical investigation of vitamin A deficiency and endotoxemia in patients with liver cirrhosis. *Chung Hua Nei Ko Tsa Chih (CHINA)* Feb 1992; 31(2):77-9 (Eng. Abst.).

46. Qiao ZK, Halliday ML, Coates RA, Rankin JG. Relationship between liver cirrhosis death rate and nutritional factors in 38 countries. *Int J Epidemiol* June 1988; 17(2):414-8.
47. Schölmerich J, Fabian M, Tauber R, Löhle E, Köttgen E, Grün M, Wietholtz H, Baumgartner U, Gerok W. Portacaval shunt as an experimental model of impaired hepatic release of vitamin A in liver disease. *Gastroenterol* 1991; 100(5):1379-84.
48. Dolar ME, Ayaz S, Baysal Ç, Yılmaz U, Boyacıoğlu AS, Caner ME. Kronik karaciğer hastalıklarında serum retinol binding protein düzeyi. *Gastroenteroloji Dergisi*, 1992; 3(4):617-20.
49. Çetinkaya N, Özcan H. Investigation of seasonal variations in cow serum retinol and beta-carotene by high performance liquid chromatography method. *Comp Biochem Physiol* 1991; 100 A (4):1003-8.

I.Ö. YÜNSEKÖRETİM KURULU
MANTASTON MERKEZİ