

Karaciğer sirozunda serum beta-karoten ve retinol düzeyleri

Serum retinol and beta-carotene levels in liver cirrhosis

Dr. Murat PALABIYIKOĞLU, Dr. Nurcan ÇETİNKAYA, Dr. Nihat SİPAHI, Dr. Ali ÖZDEN, Dr. Kadir BAHAR, Dr. Özden UZUNALIMOĞLU

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, Ankara
Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Lalahan Hayvan Sağlığı ve Nükleer Araştırma Merkezi, Ankara

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. High Performance Liquid Chromatography (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.

Anahtar Kelimeler: Retinol, beta-karoten, siroz, diyet

SİROZ, birçok komplikasyonlarla seyreden fatal bir karaciğer hastalığıdır. Sirozun korkulan komplikasyonlarından birisi de, hepatosellüler karsinoma 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 (3,4,6,8,12).

Retinol (A vit.), serbest oksijen radikallerini temizleme özelliği nedeni ile etkili bir anti-oksidan;

SUMMARY: Serum levels of retinol and beta-carotene, which are accepted to have well-known anti-oxidative and anti-tumor properties, were calculated in 40 cirrhotic patients and 20 healthy individuals in order to investigate the relationship with the development and the stages of cirrhotic process as well as the possible dietetic factors. HPLC was the method used and both retinol and beta-carotene were found to be significantly lower in cirrhotic patients ($p<0.01$ and $p<0.001$ respectively). Results didn't differ among Child A,B and C groups significantly, but tended to reduce from Child-A to Child-C. Although the results were in harmony with the current literature, it was quite interesting to assess that the patient group had been consuming significantly higher amounts of green and yellow vegetables that are known to be rich sources of the two compounds. More detailed and controlled trials are needed to analyze the multifactors affecting the pathways of metabolism.

Key words: Retinol, beta-carotene, cirrhosis, diet

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-karotende (BK) 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 çalışmaya planlandı.

Tablo 1. 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

GEREÇ ve YÖNTEM

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 Hepatitis-B virüsü (HBV)'ne, 7'sinin Hepatitis-C virüsü (HCV)'ne, 3'ünün alkole bağlı bulunduğu, birinin Wilson, kalan beşinin de kriptojenik siroz olduğu belirlendi. 2 hastada görüntüleme yöntemleri ile HBV'ne bağlı siroz zemininde solid lezyon saptandı ve histopatolojik olarak hepatosellüler karsinoma 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 yanı sıra beta-karoten ve retinol absorpsiyonunu olumsuz yönde etkileyebilecek inflamatuvar barsak hastalığı, pankreas hastalıkları, çöliak ve barsak rezeksiyonları gibi patolojiler de ekarte edildi (3,5,7).

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 (4). 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 porsiyon olarak kabul edildi. Ankette ayrıca defekasyon alışkanlıkları sorularak kaydedildi.

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

Yöntem

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 devir/

Tablo 2. Hasta ve kontrol grubunda yeşil-sarı sebze tüketimi

Yeşil Sebze Tüketimi			
Porsiyon/gün	Hasta	Kontrol	Değerlendirme
0-0.5	3	7	p= 0.0265 p<0.05
1-1.5	14	5	
2 ve üstü	23	8	
	40	20	
Sarı Sebze Tüketimi			
Porsiyon/gün	Hasta	Kontrol	Değerlendirme
0-0.5	9	15	p= 0.0004 p<0.001
1-1.5	23	3	
2 ve üstü	8	2	
	40	20	

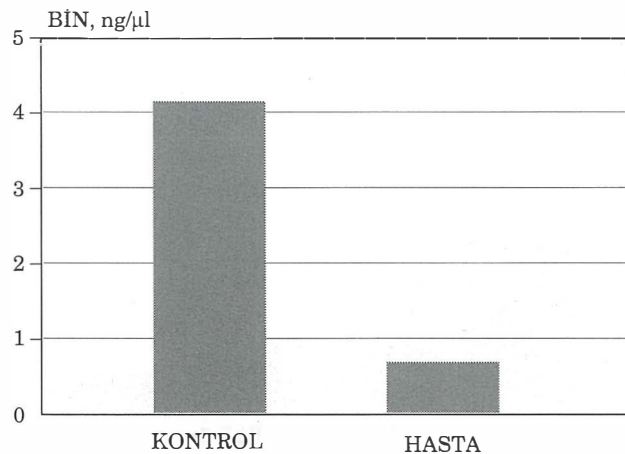
dk'da 30 dk süreyle santrifüj edildi; serumlar ayrıldı ve analize kadar -20°C'da derin dondurucuda saklandı. Dondurulmuş serumlar, analizlerin yapıldığı Türkiye Atom Enerjisi Kurumu (TAEK) Lalahan Hayvan Sağlığı ve Nükleer Araştırma Enstitüsü'ne kuru buz içinde nakledildi. Örneklerin alınmasından analizlerin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

Dondurulmuş serumlar oda sıcaklığında çözülde. Herbir serum örneğinden 0.2 ml otomatik pipetle alınarak tüplere konuldu. Serumların üzerine 0.2 ml etanol eklenerek herbir 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 tاینleri için ayrı ayrı tüplere otomatik pipetle aktarıldı ve çeker ocakta heksan fazı, azot gazı altında kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Miktar tاینlerinden önce, tüplerde kalan çökelti 0.1 ml etanolde çözülerek alele enjekte edildi.

Retinol ve Beta-karoten tاینi: Serum retinol ve beta-karoten düzeyleri "High Performance Liquid Chromatography" (HPLC) yöntemi ile tاین edildi. Retinol saptama tekniğı Catignoni'nin (1983), beta-karoten tekniğı 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 absorbans dedektörü ve BBC Goertz-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.

Grafik 1. Hasta ve kontrol gruplarının ortalama β -karoten düzeyleri



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 değışti. 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 tاین 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 grafiğı geçirilerek çizilen standart grafiklerden değeriendirildi. 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 (13).

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

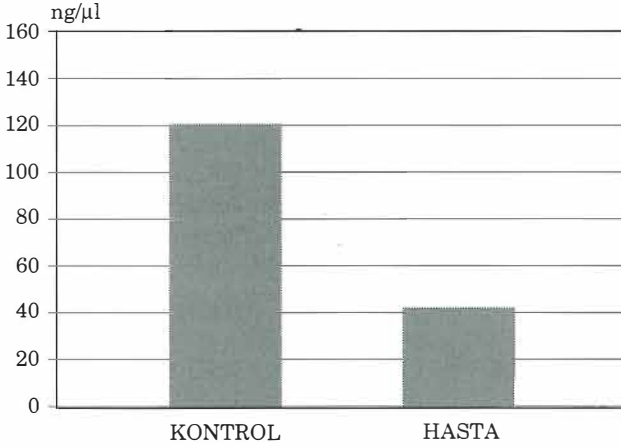
SONUÇLAR

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 (Grafik 1) ($P < 0.001$), retinol değerlerinin de hasta grubunda (69.85 ± 93.48 ng/mikrol) kontrollerine göre (145.15 ± 66.57 ng/mikrol) yarı yarıya azaldığı dikkati çekti (Grafik 2) ($P < 0.01$).

Retinol düzeyleri, Child A ve Child B gruplarında birbirine oldukça yakinken (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) ($P < 0.01$) (Grafik 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) ($P < 0.001$) (Grafik 4).

Grafik 2. Hasta ve kontrol gruplarında ortalama retinol düzeyleri

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 %80 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.

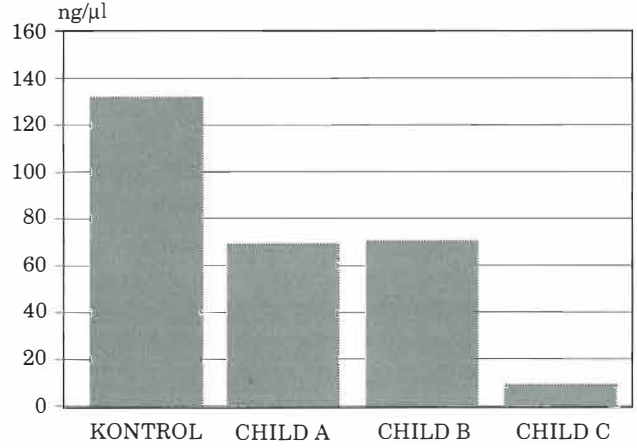
Her iki grup kendi içinde ele alındığında, hem retinol hem de beta-karoten için cinsler arasında bir fark saptanmadı ($p>0.05$).

Beslenme şekli ve diyet özellikleri karşılaştırıldığında, hem retinol hem de beta-karoten kaynağı olan yeşil ve sarı sebzelerin 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.

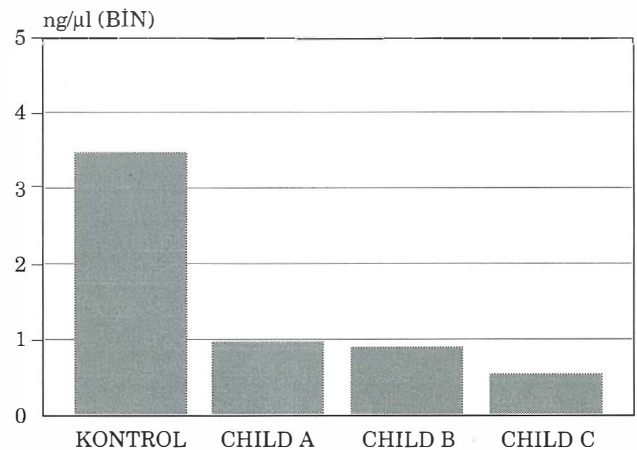
TARTIŞMA

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

Grafik 3. Kontrol ve hasta grubunda Child sınıflamasına göre ortalama retinol düzeyleri

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 (4). 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.

Grafik 4. Kontrol ve hasta grubunda Child sınıflamasına göre ortalama β -karoten düzeyleri

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 (1,3,4). Çalışmamızda grupların gerek yaş ortalaması, gerekse yaş dağılımının birbirine oldukça yakın bulunmasının yanı sıra, 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 (4). Sirozlu grubumuzda %85 oranda viral neden belirlendiğinden, diğer etiyolojik faktörlerle sağlıklı bir karşılaştırma yapılamadı.

Retinolün kronik karaciğer hastalıkları ve sirozda azaldığına dair yayınlar sıktır (4-12). 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 (6,8,12). Yine bazı araştırmacılar, çinkonun RBP sentezinde önemli rol üstlendiğini vurgulayarak, sirotik hastalardaki düşük çinko seviyelerinin RBP sentezini ve retinol metabolizmasını etkilediğini ileri sürmektedir (8,11,12).

Retinolle ilgili bulgularımız, literatürle uyum içindedir. Sirotik proçesteki 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 proçeste, 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 (3,4).

Zeng, Wang ve arkadaşlarına göre, düşük A vitamini bulunan sirotik hastalardaki endotoksemi oranı %82 ve sekonder enfeksiyon oranı %31'dir (9). 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 (10).

Beta-karoten ve siroz ilişkisini ele alan yayınlar retinole göre oldukça azdır. Karotenoidlerin, retinolün ve tokoferolün (E vit.) birlikte oksidatif selüller hasarı önleme ve tümör gelişimini inhibe etme konusundaki rolleri iyi dökümente edilmiş olmasına rağmen, sirotik proçesteki rolleri bütün çıplaklığı ile henüz gözler önüne serilememiştir. A vitamini prekürsörü olma niteliğine bağlı olmaksızın yukarıdaki özellikleri gösterebilen beta-karotenin sirozda izlenen ve çalışmamızda da anlamlı olarak düşük bulunan serum değerleri için yine retinoldekine benzer nedenler ileri sürülmektedir (2-4).

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 (4). Araştırmamızda, bu düşüş eğilimi belirlenmekle beraber, azalmanın istatistiksel anlam taşımadığı gözlenmiştir.

Yapılan çalışmada elde edilen bulguların, literatürle büyük ölçüde uyumlu olduğu izlenmiştir. 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 kullanılabilecek kimyasal ajanlar arasında kendilerine ön saflarda yer bulmalarını sağlayabilecektir.

KAYNAKLAR

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Rocchi E, Borghi A, Paolillo F, Pradelli M, Casalgrandi G. Carotenoids and lipo-soluble vitamins in liver cirrhosis. *J Lab Clin Med* 1991; 118:176-85.
5. 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.
6. Kanematsu T, Kawano T, Sugimachi T. Blood concentrations of thirteen vitamins in cirrhotic patients. *Nutrition* 1989 May-June; 5(3):179-82.
7. 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.
8. 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.
9. 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 (CHI-NA)* Feb 1992; 31(2):77-9 (Eng. Abst.).
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Çetinkaya N, Özcan H. Investigation of seasonal variations in cow serum retinol and beta-carotene by high performance liquid chromatography method. *Comp Bio-chem Physiol* 1991; 100 A (4):1003-8.