

Bilimsel Araştırma

A Vitamini Entoksikasyonunda E Vitamininin Etkisi

Murat YURDAKÖK(*)
Melda ÇAĞLAR(*)
İmran ÖZALP(*)
Olca ORAN(*)
Kadriye YURDAKÖK(*)

Özet: Toplam otuz sıçan üzerinde yapılan bu çalışmada hipervitaminosis A'a bağlı hepatotoksik etkilerin önlenmesinde vitamin E'nin etkisi incelendi. Üç eşit gruba ayrılan hayvanların bir grubu kontrol olarak ayrıldı. Diğer bütün hayvanlara ondört gün süre ile içtikleri su içine katılarak günde 150 000 Ü vitamin A verildi. Bunlardan yarısına vitamin A verilmeye başlandığı gün tek dozda intraperitoneal olarak 50 mg vitamin E enjekte edildi. Vitamin E verilen gruptaki sıçanlarda ondördüncü gün bakılan serum karoten, vitamin A ve SGPT düzeyleri, verilmeyen gruptakilere göre daha az yükselmiş olarak bulundu (Serum karoten $1.18 \pm 0.09 \mu\text{g/ml}$ ve $1.72 \pm 0.13 \mu\text{g/ml}$ $p < 0.01$; vitamin A $39.37 \pm 2.34 \mu\text{g/dl}$ ve $70.31 \pm 7.63 \mu\text{g/dl}$ $p < 0.01$; SGPT $91.0 \pm 11.1 \text{ U}$ ve $145.8 \pm 18.0 \text{ U}$ $p < 0.05$). Buna karşılık karaciğer ağırlıkları, SGOT, BUN düzeyleri arasında farklılık bulunmadı. Karaciğerin histopatolojik incelemelerinde de hipervitaminosis A'a bağlı hepatosellüler değişikliklerin vitamin E ile tamamen önlendiği tesbit edildi. Özellikle vitamin E depoları azalmış malnütrisyonlu çocuklar-

(*) H.Ü. Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Hacettepe - ANKARA

da yüksek dozda vitamin A tedavisi uygulanması gerektiğinde E vitamininin de verilmesi gerektiği vurgulandı.

THE EFFECT OF VITAMIN E ON HYPERVITAMINOSIS A

Summary : The value of vitamin E on the hepatotoxic effects of hypervitaminosis E were determined in 30 rats. Ten animals were control and received no drug, 20 animals were received vitamin A orally in drinking water in a dose of 150 000 U per day for fourteen days. Ten of them were also received in a single intraperitoneally dose of 50 mg vitamin E on the first day of the study. Serum caroten, vitamin A and SGPT levels were less elevated in the group treated with vitamin E than the group receiving vitamin A alone (Serum caroten 1.18 ± 0.09 $\mu\text{g/ml}$ and 1.72 ± 0.13 $\mu\text{g/ml}$ $p < 0.01$; vitamin A 39.37 ± 2.34 $\mu\text{g/dl}$ and 70.31 ± 7.63 $\mu\text{g/dl}$ $p < 0.01$; SGPT 91.0 ± 11.1 U and 145.8 ± 18.0 $p < 0.05$ respectively). But liver weight, SGOT and BUN levels were same in both groups. Histopathological changes in liver observed in animals with hypervitaminosis A were also prevented with vitamin E treatment.

Key Words : Hypervitaminosis A, Liver Toxicity, Vitamin E

Giriş

Deney hayvanlarında ve insanlarda kronik vitamin A intoksikasyonunun hepatotoksik etkileri uzun süreden beri bilinmektedir (1-7). Vitamin E, vitamin A'nın vücutta etkili bir şekilde kullanılması ve depolanması için gereklidir. Vitamin E aynı zamanda hipervitaminosis A'a bağlı ortaya çıkan hepatoselüller zedelenmeyi de azaltmaktadır (8-13). Bu çalışmanın amacı vitamin E'nin hipervitaminosis A'ya bağlı hepatotoksik etkilerin önlenmesindeki diğerini araştırmak ve vitamin E enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan hipervitaminosis A'lı sıçanlarda karaciğer fonksiyon testlerini ve histolojik özelliklerini kar-

şılaştırmak olmuştur. Aynı zamanda hipervitaminosis A'a bağlı böbrek zedelenmesi bulgularının gelişip gelişmediği de araştırılmak istenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı Deney Hayvanları Üretim Çiftliği'nden sağlanan erkek, erişkin, albino sıçanlar kullanılmıştır. Her birinde on sıçan olmak üzere üç grup oluşturulmuş, bunların hepsi aynı şartlar altında standart sıçan yemi ile beslenmişlerdir. Birinci ve ikinci gruptaki sıçanlara ondört gün süre ile günde 150 000 Ü vitamin A (AfortinR) içtikleri su içine katılarak oral yol-

la verilmiş, birinci gruptaki sıçanlara vitamin A verilmeye başlandığı gün intraperitoneal olarak tek dozda 50 mg vitamin E (Evigen®) enjekte edilmiştir (14). Üçüncü gruptaki sıçanlar kontrol grubu olarak ayrılmış, her hangi bir ilaç veya vitamin verilmemiştir.

Hayvanların hepsi çalışmanın ilk ve son günleri tartılmıştır. Bütün sıçanlardan ondördüncü gün hafif eter anestezisi altında kardiak ponksiyonla kan örnekleri alınarak serum karoten (16), vitamin A(16), transaminazlar (17), BUN (18) düzeylerine bakılmıştır. Ayrıca her sıçandan karaciğer ve böbrek örnekleri alınarak, parafin bloklar hazırlanmış, dört mikron kalınlığında kesitler hematoksilin-eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenmiştir.

Sonuçlar ortalama \pm ortalamanın standart hatası olarak belirtilmiş, istatistiksel karşılaştırmalarda Student's t testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Yüksek dozda vitamin A alan sıçanlarda halsizlik, kılların donuklaşması ve dökülmesi gibi intoksikasyon bulguları ortaya çıkmış, buna karşılık vücut ağırlığında ve karaciğer ağırlığında değişiklik görülmemiştir (6), (Tablo I, $p > 0.05$).

Serum vitamin A düzeyi ikinci gruptaki sıçanlarda belirgin derecede ($p < 0.01$) yüksek olarak bulunmasına karşılık, birinci gruptaki sıçanlarda kontrol grubundaki sıçan-

lardaki kadar ($p > 0.05$) olduğu görülmüştür. (Tablo I).

Yalnız vitamin A alan, yani ikinci gruptaki sıçanlarda SGPT düzeyleri belirgin derecede ($p < 0.01$) yüksek olarak bulunmuş olmasına karşılık, önceden vitamin E verilen birinci gruptaki sıçanlarda ikinci gruptaki sıçanlara göre daha az ($p < 0.05$) yükselme olduğu bulunmuştur. Gruplar arasında SGPT/SGOT oranları arasındaki istatistiksel farklılık daha önemli bulunmuştur (Tablo I, $p < 0.01$).

Birinci ve ikinci gruptaki sıçanlarda BUN düzeylerinin kontrol grubundakilerine göre belirgin derecede yüksek olduğu ($p < 0.01$), ancak birinci ve ikinci gruptaki sıçanların BUN düzeyleri arasında istatistiksel farklılık olmadığı bulunmuştur ($p > 0.05$).

Karaciğerin histopatolojik incelenmesinde ikinci gruptaki sıçanlarda karaciğer yapısının oldukça iyi bir şekilde korunmuş olmasına karşılık, hepatositlerde belirgin derecede vakuoler dejenerasyon olduğu, bazı portal mesafelerde mononükleer hücre infiltrasyonu ve yerel hepatik nekroz alanları olduğu; birinci gruptaki sıçanlarda ise hiç bir patolojik bulgunun olmadığı tesbit edildi. Böbrek kesitlerinin histolojik incelenmesinde gerek kontrol, gerekse çalışma gruplarındaki sıçanlarda patolojik bir bulgu yoktu.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Vücuda ister retinol, ister re-

tinen, isterse retinil ester şeklinde alınır, vitamin A lenfatiklere geçmeden önce barsak mukozasında ester şekline çevrilir. Karaciğerdeki vitamin A depoları büyük ölçüde biyolojik olarak inaktif palmitat ester şeklinden oluşmuştur. Gerekliğinde karaciğer hücrelerinde bulunan esterazların aracılığı ile bu esterler yeniden alkol şekline çevrilerek kana verilir. Vitamin A'nın gerek ester, gerekse alkol şekillerine dönüştürülmesi için gerekli enzimler karaciğerde mikrozomlarda bulunur. Vitamin A'nın palmitat şeklinin yüksek düzeylerde bile karaciğer üzerinde toksik etki yapmadığı gösterilmiştir. Buna karşılık biyolojik olarak aktif alkol şekli yüksek düzeylere çıktığında lizozomal ve mitokondrial zedelenme ile başlayan hepatotoksik bulgulara neden olmaktadır (1,19).

Vitamin A kana, retinol - bağlayan protein ve prealbumine bağlanarak geçmektedir. Küçük moleküler ağırlıklı bir protein olan retinol-bağlayan protein karaciğerde yapılmaktadır. Bu protein kana geçer geçmez hemen serbest albuminle birleşmekte, vitamin A da büyük ölçüde bu protein kompleksine bağlanarak taşınmaktadır. Vitamin A esterleri ve karoten ise bu kompleksle taşınmamakta, buna karşılık albumin ve bazı lipoproteine zayıf bağlarla bağlanmaktadır (20). Hipervitaminosis A'da retinol taşıma sisteminde de bozukluklar ortaya çıkmakta, retinol - bağlayan protein yapımı yarı yarıya azalabilmektedir(1).

Uzun süre yüksek dozlarda vitamin A alanlarda hepatomegali ve karaciğer fonksiyon testlerinde bozuklukların ortaya çıktığı bilinmektedir (1-5). Bu çalışmada tesbit edilen sıçanlarda hipervitaminosis A'a bağlı hepatosellüler değişiklikler daha önce de bildirilmiştir (6-8). İnsanlarda kronik hipervitaminosis A vakalarında hepatomegali oldukça sık rastlanan bir bulgu olmasına karşılık karaciğer biopsisi yapılarak incelenen vaka sayısı oldukça azdır (1-5). İncelenen vakalarda karaciğerde genellikle patolojik bir bulgu görülmediği bildirilmiştir. Hipervitaminosis A'lı vakalarda portal hipertansiyon gelişebildiği bilinmekle birlikte hepatic fibrosis ve siroz yalnız iki vakada bildirilmiştir (21).

Gerek insanlarda gerekse deney hayvanlarında hipervitaminosis A'a bağlı olarak ortaya çıkan en belirgin ve muhtemelen primer ultrastrüktürel değişiklik, perisinüsoidal hücrelerde masif lipid (ve vitamin A) birikmesidir (22-25). Bundan sonra bu perisinüsoidal hücrelerin sayılarında artma olmakta ve perisinüsoidal fibrosis gelişmektedir. Perisinüsoidal hücreler, diğer adları ile Ito hücreleri veya lipositler Disse aralığında ve hepatositlerle sinüsoidal endotelium arasında bulunurlar (24, 25). Vitamin A'nın özellikle bu hücrelerde depo edildiği sanılmaktadır. Ito hücreleri Kupffer hücrelerinden gerek yerleşim özellikleri, gerekse fagositoz yapmamalarıyla ayrılmaktadırlar. Bu hücrelerin deney-

sel çalışmalarda fibroblastlara dönüşebildikleri ve tip III kollojen sentezledikleri gösterilmiştir. İşte bu nedenle Ito hücrelerinde bol miktarda vitamin A birikmesi kollojen sentezini başlatmaktadır. Daha sonra gelişen perisinüsoidal fibrosis nedeniyle sinusoidlerdeki kan akımı bozulmakta ve buna bağlı olarak hepatositlerde sekonder değişiklikler ortaya çıkmaktadır (22-28). Vitamin A az miktarda hepatositler içinde de birikmesine rağmen, bunun doğrudan toksik etki yapmadığı sanılmaktadır (23, 26).

Vücutta vitamin A ve vitamin E metabolizması arasında yakın bir ilişki olduğu uzun süreden beri bilinmektedir. Vitamin E, barsakta vitamin A'nın oksidasyonunu önlemekte, vitamin A'nın absorpsiyonunu, kullanımını ve karaciğerde depolanmasını arttırmaktadır (8-13). Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda vitamin E verilmesiyle, karaciğerde vitamin A depolanmasının on katı kadar artırılabilirdiği, vitamin E'nin aynı zamanda bu depoların boşalmasını da geciktirdiği gösterilmiştir. Vitamin A ve E'den fakir diyetle beslenen sıçanlarda vitamin A depoları vitamin E verilenlere göre hızla boşalmaktadır. Ağızdan yüksek dozlarda vitamin A verilen sıçanlarda ise karaciğerdeki vitamin E depoları hızla azalmaktadır. İşte bu nedenlerle yüksek dozlarda vitamin A verilirken beraberinde E vitamini de verilmesi önerilmiştir (8-13). Bu çalışmada bulunan vitamin E enjeksiyonu yapılan sı-

çanlardaki serum vitamin A düzeyindeki nisbi düşüklük yukarıda anlatılan nedenlere bağlı olabilir. Bununla birlikte vitamin E'nin düşük dozlarda kullanıldığında vitamin A metabolizması üzerinde fazla etkili olmadığı da ileri sürülmektedir (8-13).

Vitamin A eksikliğinde karaciğer dokusunda hücre içi membran sistemlerinin geçirgenliklerinin veya fragilitelerinin arttığı; vitamin A'nın bu membranlar üzerinde koruyucu etki yaptığı, ancak yüksek dozlarda tersine lipoprotein yapılarının zedeleyerek membranları parçaladığı bilinmektedir (29, 30). Vitamin E antioksidan özelliği nedeniyle bu parçalanmayı büyük ölçüde önleyebileceği (31) düşünülerek yapılan çalışmamızda vitamin E'nin gerek morfolojik, gerekse biyokimyasal olarak hipervitaminosis A'a bağlı karaciğer zedelenmesini azalttığı gösterilmiştir.

Dünyada protein - kalori malnütrisiyonu ve vitamin A eksikliğinin sık görüldüğü yerlerde vitamin E eksikliği de sık olarak görülmektedir (32, 33). Yukarıda belirtilen nedenlerle bu hastalara oral veya intramüsküler yoldan yüksek dozlarda vitamin A verilmesi gerektiğinde E vitamini verilmesinin de uygun olacağı kanısındayız.

(G. T. 22.7.1985)

KAYNAKLAR

1. Berger, S.S., Roels, O.A., «Hy-

- pervitaminosis A», *Am. J. Clin. Nutr.*, 16, 265-272, 1965.
2. Muentzer, M.D., Perry, H.O., Ludwig, J., «Chronic Vitamin A Intoxication in Adults: Hepatic, Neurologic and Dermatologic Complications», *Am. J. Med.*, 50, 129-136, 1971.
 3. Woodward W.K., Miller, L.J., Legant, D., Acute and Chronic Hypervitaminosis in a Four Months Old Infant», *J. Pediatr.*, 59, 260-263, 1964.
 4. Persson, B., Tunell, R., Eken-gren, K., «Chronic Vitamin A Intoxication During the First Year of Life, Description of Five Cases», *Acta Paediatr. Scand.*, 54, 49-60, 1965.
 5. Rubin, E., Florman, A.L., Degan, T., Diaz, J., «Hepatic Injury In Chronic Hypervitami-nosis A», *Am. J. Dis. Child.*, 119, 132 - 138, 1970.
 6. Rodahl, K., «Hypervitami-nosis A in the Rat», *J. Nutr.*, 41, 399-421, 1950.
 7. Hilmy, M., Rasul, A., Hassa-nein, M., Elsayed, M., «The Adverse Effects of Excess Vita-min A on the Rat's Liver», *J. Fac. Med. (Baghdad)*, 25, 59-68, 1983.
 8. Harrill, L., Minarik, G., Gif-ford., E.D., «Effect of Vitamin A and E on Lipids in Selected Rat Tissues», *J. Nutr.*, 87, 424-431, 1965.
 9. Ames, S.R., «Factors Affecting Absorption, Transport and Sto-rage of Vitamin A», *Am. J. Clin. Nutr.*, 22, 934-940, 1969.
 10. Young, M.L., Mitchell, G.V., Adkins, J.S., «Effect of High Dietary Level of Vitamin E on Vitamin A Toxicity in Rats», *Federation Proc.*, 31, 713, 1972.
 11. Sondergaard, E., «The Influen-ce of Vitamin E on the Expen-diture of Vitamin A from the Liver», *Experientia*, 28, 773-779, 1972.
 12. Bieri, J.G., «Effect of Excessi-ve Vitamins C and E on Vita-min A Status», *Am. J. Clin. Nutr.*, 26, 382-388, 1973.
 13. Bauernfeind, J.C., Newmark, H., Brin, M., «Vitamins A and E Nutrition via Intramuscular or Oral Route», *Am. J. Clin Nutr.*, 27, 234-253, 1974.
 14. National Research Council, «**Nutrient Requirements of Do-mestic Animals**», Washington, National Academy of Scien-ces, pp. 64, 73-76, 1972.
 15. Cumming, F., Briggs, M.H., Briggs, M., «Clinical Toxicology of Vitamin Supplements», Briggs, M.H. (ed) **Vitamins in Humon Biology and Medicine**,

- Florida, CRC Press Inc., pp. 188-195, 204-207, 1981.
16. Neeld, J.B., Pearson, W.N., «Macro and Micro Methods for the Determination of Serum Vitamin A Using Trifluoroacetic Acid», *J. Nutr.*, 79, 454-457, 1962.
 17. Reitman, S., Frankel, S., «A Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamine Oxalacetic and Glutamic Pyruvic Transaminases», *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56-61, 1957.
 18. Frankel, S., Reitman, S., Sonnenwith, A.C., «**Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis**», St. Louis, C.V. Mosby Co., pp. 59-60, 1970.
 19. Anonaton., «The Transport of Vitamin A in Hypervitaminosis A», *Nutr. Rev.*, 34, 119-123, 1976.
 20. Mallia, A.K., Smith, J.E., Goodman, D.S., «Metabolism of Retinol-binding protein and Vitamin A During Hypervitaminosis A in the Rat», *J. Lipid Res.*, 16: 180-185, 1975.
 21. Russell, R.M., Boyer, J.L., Bagheri, S.A., Hruban, Z., «Hepatic Injury From Chronic Hypervitaminosis A Resulting in Portal Hypertension and Ascites», *N. Engl. J. Med.*, 291, 435-440, 1974.
 22. Lane, B.P., «Hepatic Microanatomy in Hypervitaminosis A in Man and Rat», *Am. J. Pathol.*, 53, 591-594, 1968.
 23. Hruban, Z., Russell, R.M., Boyer, J.L., Glagov, S., Bagheri, S.A., «Ultrastructural Changes in Livers of two Patients with Hypervitaminosis A», *Am. J. Pathol.*, 76, 451-468, 1974.
 24. Bronmayer, S., Schaffner, F., Popper, H., «Fat, Storing Cells (Lipocytes) in Human Liver», *Arch. Pathol.*, 82, 447-453, 1966.
 25. Kobayashi, K., Takahashi, Y., Shibasaki, S., «Cytological studies of Fat-storing Cells in the Liver of Rats Given Large Doses of Vitamin A», *Nature (New Biol)*, 243, 186-188, 1973.
 26. Hori, S.H., Kitamura, T., «The Vitamin A Content and Retinol Esterifying Activity of a Kupffer Cell Fraction of Rat Liver» *J. Histochem. Cytoc.*, 20, 811-820, 1972.
 27. McGee, J.O., Patrick, R., «The Role of Perisinusoidal Cells in Hepatic Fibrogenesis. An Electron Microscopic Study of Acute Carbon Tetrachloride Liver Injury», *Lab. Invest.*, 26, 429-440 1972.
 28. Kant, G., Gay, S., Inouye, T., Bahu, R., Minick, O.T., Popper, H., «Vitamin A-containing Li-

- pocytes and Formation of Type III Collogen in Liver Injury», **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 73, 3719-3722, 1976.
29. Dingle, J.T., Glauert, A.M., Daniel, M., «Vitamin A and Membrane Systems. I», «The Actions of the Vitamin on the Membranes of Cells and Intracellular Particles», **Biochem. J.**, 84, 76P, 1962.
30. Lucy, J.A., Luscombe, M., Dingle, J.T., «Studies on the Model of Excess of Vitamin A. VIII. Mitochondrial swelling», **Biochem. J.**, 89, 419-425, 1963.
31. Burton, G.W., Cheeseman, K. H., Doba, T., Ingold, K.U., Slater, T.F.» «Vitamin E, as an antioxidant in vitro and in vivo», In: **Biology of Vitamin E. (Ciba Foundation Symposium No 101, London, Pitman, pp. 4-8, 1983.**
32. Hasanoğlu, A., Özalp, İ., «Protein ve Kalori Malnütrisyonunda Serum Vitamin A ve Karoten Seviyeleri», **Çocuk Sağ. ve Hast. Derg.**, 22, 159-164, 1979.
33. Behrman, R.E., Vaughan, V.C., **Nelson Textbook of Pediatrics**, Philadelphia, W.B. Saunders Co., pp. 167, 184, 1983.

Tablo I. Çalışma ve kontrol gruplarında vücut ve karaciğer ağırlıkları ile serum transaminaz, BUN, karoten ve vitamin A düzeyleri.

Grup	Vücut ağı. (gr)	Karaciğer ağı. (gr)	KC/V(*) (%)	SGOT (Ü)	SGPT (Ü)	BUN (mg/dl)	SGPT/SGOT	SGOT/BUN	SGPT/BUN	serum karoten (µg/ml)	serum vit. A (µg/dl)
I	243.7**	8.7	3.57	313.0	91.0	24.4	0.29	11.24	3.72	1.18	39.37
(n: 10)	6.8	0.4	0.11	17.3	11.1	0.7	0.03	3.56	0.42	0.09	2.34
II	237.0	7.9	3.35	360.0	145.8	23.0	0.39	15.85	6.31	1.72	70.31
(n: 10)	6.7	0.1	0.09	13.4	18.0	0.8	0.01	0.94	1.61	0.13	7.63
III	233.6	7.8	3.40	352.0	49.4	19.3	0.14	18.52	2.58	1.44	36.95
(n: 10)	11.8	0.3	0.12	14.3	3.6	0.9	0.01	1.01	0.18	0.13	3.25
I-II	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p < 0.05	p < 0.05	p > 0.05	p < 0.01	p > 0.05	p > 0.05	p < 0.01	p < 0.01
I-III	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p < 0.01	p < 0.01	p < 0.01	p < 0.01	p < 0.05	p > 0.05	p > 0.05
II-III	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p < 0.05	p < 0.01	p < 0.01	p > 0.05	p < 0.05	p > 0.05	p < 0.01

*KC/V : Karaciğer ağırlığının vücut ağırlığına oranı

**Ortalama I standart hata