

# Kronik Karaciğer Hastalıklarında Serum Retinol-Binding Protein Düzeyi

Dr. M. Enver DOLAR, Uz. Bio. Selime AYAZ, Dr. Çağlar BAYSAL,  
Dr. Uğur YILMAZ, Dr. A. Sedat BOYACIOĞLU, Dr. M. Emin CANER,

**Özet:** Karaciğerden hedef dokulara vitamin A'yı taşıyan Retinol bağlayan protein (RBP) esas olarak karaciğer parankim hücrelerinde sentez edilir. Serum RBP düzeyi bazı hastalıklarda değişiklik gösterir. Çalışmamızda karaciğer sirozu ve kronik aktif hepatit'li hastalarda serum RBP düzeyi kontrollere göre anlamlı olarak düşük bulundu. Serum RBP düzeyinin, karaciğer sirozunda hepatosit protein sentezini gösteren diğer parametreler ile ve prognoza işaret eden Child-Pugh skoru ile çok anlamlı korelasyon gösterdiği saptandı.

Serum RBP düzeyinin, karaciğer sirozunda hepatik sentez fonksiyonlarına ve prognoza işaret eden diğer parametrelere yardımcı olabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Retinol bağlayan protein (RBP), Kronik aktif hepatit, karaciğer sirozu, Child-Pugh skoru.

Retinol bağlayan protein (RBP) karaciğerden hedef epitel dokulara Vitamin A'nın moleküler formu olan retinol'ü taşıyan düşük molekül ağırlıklı bir proteindir, ve tamama yakını karaciğerde parankim hücrelerinde (hepatosit) sentez ve sekrete edilir (1-5). RBP böbreklerde katabolize edilir, serbest RBP (Apo-RBP) glomerüllerden süzöldükten sonra proksimal tübül hücrelerinden geri emilir ve bu hücrelerde yıkılır (2, 6, 7).

Serum RBP düzeyi, karaciğerde sentezini ve böbreklerde katabolizmasını etkileyen hastalıklarda değişiklik gösterir (1-3, 5, 8, 9, 12).

Karaciğerin parankim hücrelerinde (hepatosit) sentez edilen retinol - binding protein hepatik fonksiyonlar için iyi bir klinik test olabi-

**Summary:** SERUM RETINOL-BINDING PROTEIN LEVEL IN CHRONIC LIVER DISEASE

Retinol-binding protein (RBP) which carries Vitamin A to the target tissues from the liver. It is synthesized in hepatocytes. The serum level of RBP was found significantly reduced in patients with cirrhosis and chronic active hepatitis, as compared to controls.

The serum RBP levels were found strongly correlated with other parameters which indicates the hepatic protein synthesis and Child-Pugh scores in cirrhotic patients. This findings suggest that serum RBP level could be helpful parameters to other hepatic protein synthesis and also a prognosis index in liver cirrhosis.

**Key Words:** Retinol-binding protein (RBP), Chronic active hepatitis, liver cirrhosis, Child-Pugh score.

leceği bildirilmiş işede bu konuda yeterli çalışma yoktur (5).

Biz bu çalışmamızda kronik karaciğer hastalıklarında serum RBP düzeyinin hepatik fonksiyonları gösteren diğer parametreler ile ilişkisini inceleyerek gerek hepatosit protein sentez fonksiyonları, gerekse hepatosit hasarı için bir gösterge olup olamayacağını araştırdık.

## MATERYAL ve METOD

### Hastalar:

Çalışmaya TYİH Gastroenteroloji kliniğinde Ocak-Haziran 1992 arasında, klinik, biyokimyasal, sonografik ve histopatolojik olarak kronik aktif hepatit (KAH) ve karaciğer sirozu tanısı konan 41 hasta ile kontrol grubu olarak hiçbir yakınması olmayan normal 20 hastane çalışması alındı. Kontrol grubundaki bireylerin

TYİH Gastroenteroloji Kliniği ve Hematoloji Bölümü.

karaciğer fonksiyon testleri normal olup, hepsinin HBsAg'ni negatif idi. Kontrol ve hasta grubunda serum kreatinin düzeyleri normal sınırlarda olup hiçbir renal patoloji yoktu. Ayrıca kadın hasta ve kontrollerin hiçbiri oral kontraseptif kullanmıyordu.

Hastaların 23'ü erkek, 18'i kadın ve yaşları 22-73 arasında olup, ortalama yaş KAH grubunda  $41 \pm 16$ , siroz grubunda  $53 \pm 11$  idi.

KAH grubundaki hastaların 11'inde HBV, 4'ünde HCV, siroz grubundaki hastaların 16'sında HBV, 3'ünde HCV belirleyicileri pozitif idi. Siroz grubundaki 4 hastada etyolojik sebep alkol kullanımı idi. KAH grubundaki 3 hastada tüm viral hepatit belirleyicileri negatif ve ANA pozitif idi ve bu hastalar otoimmün hepatit olarak değerlendirildi.

## METOD

Hastalardan sabah saat 8<sup>00</sup> 'de 5ml venöz kan alındı ve kanlar 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar -20 C de derin dondurucuda saklanarak bir ay içinde çalışıldı.

Total RBP düzeyi Radyal Immün Difüzyon (RID) yöntemi ile (Behring-Werke, Warburg-Germany) örnekler duplike olmak üzere tayin edildi (3). Serum albumin, kreatinin, bilirubin, ALT, AST düzeyleri DACOS (Discrete analyzer with Continous Optical Scanning) otoAnalizör (Coulter Electronics Inc., Texas Instruments, USA) ile serum alkalen fosfataz (AP) düzeyi ENCOR otoanalizör (Baker Instruments Corporation, USA) ile fibrinojen, prothrombin zamanı (PT) ve prothrombin aktivitesi ACL koagülometri (Automated Coagulation Laboratory, Instrumentation Laboratory, USA) ile tayin edildi.

## RBP tayin tekniği:

RBP standartı (Human protein standart for NOR Partigen Behring-Germany) 0.5 ml distile suda çözüldü ve izotonik NaCl ile 1 + 7, 1 + 3, 1 + 0,5'lik sulandırılmalar yapılarak kalibrasyon eğrisi çizildi. Plaklar oda ısısında 5 dakika bekletildikten sonra kapakları açılarak 1., 2., 3.üncü kuyulara otomatik pipet ile 20 µl standart örnekleri konuldu. Diğer kuyulara ise 20 µl hasta serum örnekleri konuldu. Plak-

lar önce kapakları açık 20 dakika daha sonra kapakları kapatılarak yaklaşık 48 saat oda ısısında bekletildi. Oluşan pesipitasyon halkalarının çapları özel kalibreli cetvel ile mm cinsinden ölçüldü. Absiste RBP konsantrasyonu (mg/L), ordinatta halka çapının karesi ( $\text{mm}^2$ ) olmak üzere standart eğri çizildi ve sonuçlar standart eğriden değerlendirildi.

## İstatistiksel Analiz:

Gruplar arasındaki farkın önem tayini (ortalama  $\pm$  standart sapma) Stutent's t testi ile, korelasyon analizi multiple korelasyon matrisi ile yapıldı.  $p < 0,05$  anlamlı olarak değerlendirildi.

## SONUÇLAR

Çalışmaya alınan kontrol ve hasta gruplarının özellikleri Tablo 1 de görülmektedir. Child-Pugh klasifikasyonuna göre siroz grubundaki hastaların 4'ü A; 10'u B; 9'u C grubunda olup, Child-Pugh skoru ortalaması siroz grubunda  $8.78 \pm 2.61$  idi. Her üç grupta da serum kreatinin düzeyleri normal sınırlarda olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p > 0.05$ ).

Serum RBP düzeyleri, kontrol grubunda  $48.75 \pm 5.32$  mg/L, KAH grubunda  $20.50 \pm 8.20$  mg/L ve siroz grubunda  $15.73 \pm 9.23$  mg/L olarak bulundu (Şekil 1). Serum RBP düzeyi gerek KAH gerekse siroz grubunda, kontrol grubuna göre daha düşüktü. Kontrol grubu ile hem KAH hem de siroz gruplarında serum RBP düzeyi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0.0001$ ). Ayrıca KAH ve siroz grupları arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Tablo-2.

KAH ve siroz gruplarında serum RBP düzeyi ile hepatosit hasar ve protein sentez fonksiyonlarını gösteren diğer parametreler arasındaki ilişkiler incelendiğinde, KAH grubunda serum RBP düzeyi ile bu parametreler arasında hiçbir korelasyon bulunamadı. Siroz grubunda ise serum RBP düzeyi ile hepatoisit protein sentez fonksiyonlarını gösteren prothrombin aktivitesi ( $r = 0.7944$ ,  $p < 0.0001$ ), fibrinojen ( $r = 0.6807$ ,  $p < 0.0003$ ), albumin ( $r = 0.6316$ ,  $p < 0.001$ ) arasında pozitif ve prothrombin zamanı (PT) ( $r = -0.5674$ ,  $p <$

**Tablo I:** Hasta gruplarının özellikleri.

	Kontrol n: 20	KAH n: 18	Siroz n: 23
Yaş (yıl)	31 ± 8	41 ± 16	53 ± 11
Child-Pugh skoru			8.78 ± 2.61
Albumin (gr/dl)	4.08 ± 0.31	3.40 ± 0.97***	2.85 ± 0.71*
Bilirubin (mg/dl)	0.80 ± 0.25	1.48 ± 1.13***	1.95 ± 1.54*
ALT (IU/L)	23.20 ± 9.81	116.000 ± 44.33*	30.78 ± 31.73
AST (IU/L)	19.05 ± 8.18	123.165 ± 59.25*	42.95 ± 32.07**
AP (IU/L)	54.10 ± 14.61	70.33 ± 13.95**	95.34 ± 23.62*
PT (sn)	12.13 ± 0.68	13.66 ± 1.61**	14.17 ± 2.04*
Prot. Akt. (%)	94.30 ± 8.20	62.88 ± 14.38*	65.91 ± 19.93*
Fibrinojen (gr/L)	3.65 ± 0.37	4.20 ± 1.42****	3.48 ± 1.24
Kreatinin (mg/dl)	0.91 ± 0.18	0.97 ± 0.16	1.07 ± 0.15

\* p < 0.0001; \*\*p<0.001; \*\*\*p<0.005; \*\*\*\*p<0.05. Kontrol grubu ile KAH ve siroz grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır.

0.005) arasında negatif kuvvetli korelasyon olduğu saptandı. Ayrıca serum RBP düzeyi ile Child-Pugh skoru arasında kuvvetli negatif korelasyon bulundu ( r = -0.6134, p < 0.001). Tablo 3.

Sonuç olarak siroz grubunda hepatosit sentez fonksiyonlarını gösteren albumin, prothrombin aktivitesi ve fibrinojen ile pozitif, prothrombin zamanı ile negatif kuvvetli ilişki olduğu saptandı. Ancak hepatosit hasarını gösteren parametreler ile herhangi bir korelasyon bulunamadı.

## TARTIŞMA

Diet ile alınan retinil esterleri intestinal lümeninde hidrolize edilerek absorbe edilir ve sonra barsak mukozasında reesterifiye edilir. Oluşan retinil esterleri şilomikronlara bağlı olarak lenf kanalları yolu ile Vitamin A (Retinol)nin ana deposu olan karaciğere taşınır. Retinol hepatosit tarafından alındıktan sonra nonparankimal hücrelere (sinüzoidal yağ depo eden hücreler, Ito hücreleri veya stellate hü-

reler) transfer edilir (5). Bu transfer olayında ve gerekli olduğunda retinolün karaciğerden salıverilmesinde RBP görev alır (7, 10). RBP esas olarak karaciğer parankim hücrelerinde (hepatosit) sentez edilir, sentez olayında çinko önemli rol oynar (1-5, 11).

RBP, retinolü taşıyan düşük molekül ağırlıklı bir proteindir. Fizyolojik koşullarda serbest bulunduğu zaman (Apo-RBP) böbrek glomerüllerinden itrah edilir. RBP prealbumine bağlanarak oluşturduğu komplekx (RBP-Prealbumin) itrahını önler (7). Plazmada RBP genellikle retinole bağlı (Holo-RBP) şeklinde bulunur. Normalde Holo-RBP/Apo-RBP oranı yaklaşık 4/1 dir ve plazmada çok az miktarda Apo-RBP bulunur (3, 12). Sex hormonları, oral kontraseptifler (estrogen + progesteron) serum RBP düzeyini etkiler.

Serum RBP düzeyi, beslenme bozuklukları kronik inflamasyon, inflamatuvar barsak has-

**Tablo 2:** Hasta gruplarında serum RBP düzeyleri.

Gruplar	n	RBP (mg/L)	
		Ortalama ± SD	Sınırlar
1 Kontrol	20	48.75 ± 5.32	41-58
2 KAH	18	20.50 ± 8.20a	8-33
3 Siroz	23	15.73 ± 9.23ab	5-40

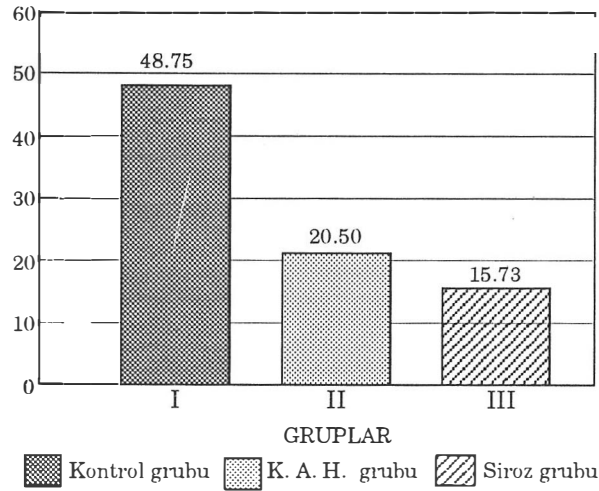
a: 1. grup ile 2. ve 3. gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.0001).  
b: 2. ve 3. grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

**Tablo III.** Siroz ve KAH gruplarında serum RBP düzeyi ile parametreler arasındaki ilişki.

	KAH		Siroz	
	r	p	r	p
Child-Pugh skoru	0.0956	p > 0.05	-0.6134	p < 0.001*
Albumin	-0.0610	p > 0.05	0.6316	p < 0.001*
Bilirubin	-0.1347	p > 0.05	0.1192	p > 0.05
ALT	-0.6160	p > 0.05	0.2553	p > 0.05
AST	-0.1057	p > 0.05	-0.1752	p > 0.05
AP	0.1812	p > 0.05	0.4663	p > 0.05
PT	-0.0652	p > 0.05	-0.5674	p < 0.005 *
Prot.Akt.	0.2378	p > 0.05	0.7944	p < 0.0001*
Fibrinojen	0.3612	p > 0.05	0.6807	p < 0.0003*

r: Korelasyon katsayısı  
İstatistiksel olarak anlamlı korelasyon mevcut (P<0.05).

Şekil 1: Hasta Gruplarında Serum RBP Değerleri



talıkları (Crohn), steatore ile seyreden malabsorbsiyon ve Çöliak hastalığında azalır. Çünkü bu grup hastalıklarda Vitamin A'nın absorpsiyonu azalmıştır. Vitamin A eksikliğinde Holo-RBP düzeyi düşer ve Vitamin A verilmesi ile çabucak artar. Düşük plazma RBP düzeyinin sebebi sentezin azalması değil hepatositlerden protein sekresyonunun azalmasıdır (2, 8, 9). Kronik böbrek hastalıklarında ise serum RBP ve retinol düzeyleri artar (3, 5). Kronik karaciğer hastalıklarında serum RBP ve retinol düzeyleri azalır (1, 3, 5,

12, 13). Ancak düşük RBP düzeyi Vitamin A verilmesi ile artmaz. Çünkü hepatositlerde sentezin azalması ve/veya engellenmesi söz konusudur (1, 2).

Çalışmamızda gerek KAH gerekse siroz gruplarında serum RBP düzeyi normallere göre düşük bulunmuştur. Siroz olgularında hepatositlerin protein sentez fonksiyonlarını gösteren diğer parametreler ile serum RBP düzeyi arasında kuvvetli bir ilişki olduğunun saptanması özellikle siroz olgularında hepatik sentez fonksiyonlarının değerlendirilmesinde serum RBP düzeyinin bir parametre olabileceğini göstermektedir.

Karaciğer sirozunda klinik olarak hastalığın şiddetine işaret eden Child-Pugh skor iyi bir prognostik göstergedir (14). Çalışmamızda Child-Pugh skoru ile serum RBP düzeyi arasında çok kuvvetli negatif korelasyon saptandı. Bu düşük serum RBP düzeyinin karaciğer sirozunda prognostik anlamı da olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak serum RBP düzeyinin KAH ve siroz hastalarında normallere göre düşük olduğu ve karaciğer sirozunda hepatik sentez fonksiyonlarına ve prognoza işaret eden diğer parametrelere yardımcı olabileceğini saptadık.

#### KAYNAKLAR

- Chen WY, James HO, Glover J. Retinol transport proteins. *Biochem. Soc. Trans.*, 1986; 14: 925-8.
- Rask L, Aundi H, Böhme J, et al. The retinol-binding protein. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1980; 40 (supply): 45-60.
- Smith FR, Goodman DS. The effect of disease of the liver, thyroid and kidneys on the transport of vitamin A in human plasma. *J. Clin. Invest.*, 1971; 50: 2426-37.
- Borek C, Smith JE, Soprano DR, et al: Regulation of retinol-binding protein metabolism by glucocorticoid hormones in cultured H<sub>4</sub>IIC<sub>3</sub> liver cells. *Endocrinology*, 1981; 109: 386-91.
- Goodman DW. Vitamin A and retinoids in health and disease. *N. Eng. J. Med.*, 1984; 310: 1023-31.
- Cano N, Dufétel JDC, Calaf R, et al. Prealbumin-retinol-binding protein-retinol complex in hemodialysis patients. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1988; 47: 664-7.
- Gjoen T, BjerKelund T, Blomhoff HK, et al. Liver takes up retinol-binding protein from plasma. *J. Biol. Chem.*, 1987; 262: 10926-30.
- Taylor JM, Matsuo T. Familial retinol-binding protein deficiency (letter). *Lancet*. 1987; i: 910.
- Fex G, Felding P. Factors affecting the concentration of free holo retinol-binding protein in human plasma. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1984; 14: 146-9.
- Davis BH, Vucic A. The effect of retinol on Ito cell proliferation in vitro. *Hepatology*, 1988; 8(4): 788-93.
- Demlacoux E, Evstigneff T, Leclerog M, et al. Skin disorders and vitamin A metabolism disturbances in chronic dialysis patients: The role of zinc, retinol-binding protein and retinoic acid. *Clin. Chim. Acta.*, 1984; 137: 283-9.
- Seon BK, Pressmann D. Retinol-binding protein the liver, thyroid and kidneys on the transport of vitamin A in human plasma. *J. Clin. Invest.*, 1979; 39: 4423-9.
- Russell RM, Morrison SA, Smith FR, et al. Vitamin A reversal of abnormal dark adaptation in cirrhosis. *Ann. Int. Med.*, 1978; 88: 622-6.
- Albers I, Hartmann H, Bircher J, et al. Superiority of the Child-Pugh classification to quantitative liver function tests for assessing prognosis of liver cirrhosis. *Scand. J. Gastroenterol.* 1989; 24: 269.