

## VİTAMİN A'NIN TAVUK KARACİĞERİNDE HÜCRESEL DEPOLANMASI<sup>1</sup>

Reşat Nuri Aştı<sup>2</sup>

Mahmut Sağlam<sup>2</sup>

Attila Tanyolaç<sup>2</sup>

Nevin Kurtdede<sup>3</sup>

Levent Ergün<sup>4</sup>

The cellular storage of Vitamin A in the hens liver

**Summary:** *This study was carried out under light, electron and fluorescence microscopy to investigate the cellular storage of Vitamin A in the liver of hens given normal and excess doses of Vitamin A palmitate.*

*Fifty adult Ross Brown breed hens were used as material.*

*Examination of the liver tissue of control animals revealed few perisinusoidal cells containing one or two small lipid droplets in their cytoplasm. These cells gave weak reactions with Sudan III and gold chloride. Fluorescence against Vitamin A was also meagre.*

*In the animals given Vitamin A palmitate, lipid droplets exhibiting fluorescence against Vitamin A and reacting with Sudan III and gold chloride were observed in the cytoplasm of liver epithelial cells during the first two hours. From the second hour on, lipid droplets were found in the perisinusoidal cells, which gave a strong reaction against Sudan III and gold chloride. The droplets gave also a strong fluorescence with Vitamin A palmitate. The amount of these droplets reached the maximum level toward 15th day- and remained at this level until the end of second month.*

*Granular endoplasmic reticulum, which became very active and transformed themselves to dilated sacs in the second hour, contained some structures that showed similar characteristics with lipid droplets.*

*According to our findings, newly administrated Vitamin A was initially located in the hepatocytes, then transferred to the perisinusoidal cells and stored there. Perisinusoidal cells could have esterification activity of Vitamin A.*

**Özet:** *Bu araştırma normal ve yüksek dozda Vitamin A palmitat verilen tavukların karaciğerinde, Vitamin A'nın hücresel depolanmasını ışık, elektron ve floresan mikroskopik düzeylerde, ortaya koymak amacıyla yapıldı.*

*Materyal olarak 50 adet erişkin "Ross Brown" ırkı tavuk kullanıldı.*

*Kontrol grubundaki tavukların, sitoplazmalarında bir iki adet lipid damla-*

1. AÜ Araştırma Fonu'na desteklenmiştir (92-10-00-14).
2. Prof. Dr., AÜ Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
3. Dr., AÜ Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
4. Araş. Gör., AÜ Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

*çığı taşıyan az sayıda perisinuzoidal hücelere rastlandı. Bu hücelerin, Sudan III ve altın klorüre zayıf reaksiyon, Vitamin A'ya karşı da zayıf fluoresens verdikleri saptandı.*

*Vitamin A palmitat verilen tavuklarda ilk iki saat içinde karaciğer epitel hücelerinin, ikinci saatten itibaren de perisinuzoidal hücelerin sitoplazmalarında Sudan III ve altın klorüre karşı kuvvetli reaksiyon veren, Vitamin A'ya karşı kuvvetli fluoresens gösteren lipid damlacıklarına rastlandı. Perisinuzoidal hücelerdeki lipid damlacıklarınının 15'inci güne doğru maksimum düzeye ulaştığı, ikinci aya kadar da azalmaksızın devam ettiği gözlemlendi. İkinci saatten itibaren perisinuzoidal hücelerde granüllü endoplazma retikulumunun aktifleştiği ve genişlemiş endoplazma retikulumu keselerinin içinde, sitoplazmadaki lipid damlacıkları ile aynı morfolojik ve histoşimik özellikleri gösteren oluşumların bulunduğu belirlendi.*

*Bu bulgulara göre, Vitamin A'nın ilk önce karaciğer epitel hüceleri tarafından alındığı ve depolanmak üzere perisinuzoidal hücelere transfer edildiği, perisinuzoidal hücelerin Vitamin A'yı esterleştirme aktivitesine sahip olabileceği sonucuna varıldı.*

### Giriş

Evcil hayvanların ve insanların, sağlıklarının ve verim yeteneklerinin devam edebilmesi için A vitaminine gereksinimleri vardır. Bu canlılar A vitamini ekzogen olarak günlük diyetleriyle almak zorundadırlar.

Günlük diyetle alınan A vitamini esterleri, ince barsakların lumeninde nonspesifik pankreas lipazı tarafından hidrolize edilir (12, 43). Retinol, barsak epitel hüceleri tarafından alınıp, uzun zincirli yağ asitleri ile tekrar esterleştirildikten (31) sonra, chylomicronlar içinde lenf yarıklarına verilir (33, 36). Günlük diyetlerle alınan A vitaminininin %97'sinin karaciğerde, çok az miktarının ise böbrek, böbreküstü bezi, retina gibi diğer organlarda uzun zincirli yağ asitleri ile yaptığı esterler şeklinde depo edildiği bildirilmiştir (26).

Memelilerde A vitamininin karaciğerdeki hücrel depolanması üzerine yapılan çalışmalar oldukça eskiye gitmektedir. İlk yapılan ışık ve fluoresan mikroskopik çalışmalara dayanılarak, Vitamin A'nın Kupffer hücelerinde depo edildiği kabul edilmiştir (25, 35). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise Kupffer hücelerinin Vitamin A'nın depolanmasında rol oynamadığı bildirilmiştir (18, 27, 38).

Vitamin A'nın karaciğer epitel hücelerinde depo edildiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (18, 27, 33).

İlk defa Ito (19), insanların karaciğerinde, sinuzoidlerin duvarında endotel ve Kupffer hücelerinden başka, sitoplazmasında yağ damlacıkları bulunan bir diğer hücrenin varlığına değinmiş ve bu hücelere perisinuzoidal hücelere adını vermiştir.

Nakane (30) farelerde, Wake (40), Kobayashi ve Takahashi (23), Ito ve Shibasaki (20), Hendriks ve ark. (15) ratlarda yaptıkları çalışmalarda, Vitamin A'nın perisinuzoidal hücrelerde depo edildiğini bildirmektedirler. Buna karşılık Aterman (1) karaciğerde perisinuzoidal hücrelerin bulunmadığından, Hori ve Kitamura (18) ise, ratlarda Vitamin A'ya karşı spesifik fluorensensi, karaciğer epitel hücrelerinde gördüklerinden söz etmektedirler.

Son yıllarda farelerde yapılan biyokimyasal çalışmalarda, karaciğer Vitamin A metabolizmasında hepatositler ile perisinuzoidal hücrelerin birlikte rol oynadıkları bildirilmiştir (7, 9, 15, 16, 36). Bu çalışmalara göre Vitamin A, ilk önce karaciğer epitel hücreleri tarafından alınmakta ve alındıktan 2-4 saat sonra depolanmak üzere perisinuzoidal hücrelere transfer edilmektedir. Her iki hücrenin de Vitamin A esterlerinin hidrolizinden ve Vitamin A'nın yeniden esterleştirilmesinden sorumlu olan enzimlere sahip oldukları vurgulanmaktadır (2, 3, 6, 14).

Bu çalışmada, normal ve yüksek dozda Vitamin A palmitat verilen tavukların karaciğerinde, Vitamin A'nın hücresel depolanması ışık, elektron ve fluoresan mikroskopik düzeylerde saptanmaya çalışıldı.

### Materyal ve Metot

Çalışmada materyal olarak 50 adet "Ross Brown" ırkı erişkin tavuk kullanıldı. Bunlar 2 gruba ayrıldı.

Birinci grup'da bulunan 11 adet hayvan kontrol grubu olarak kullanıldı.

İkinci gruptaki 39 adet hayvanın her birine 50.000 IU/kg Vitamin A palmitat subkutan yolla bir defada verildi. Vitamin A palmitatın verilmesinden 30 dakika, 1, 2, 3, 6, 12, 24 saat, 2, 3, 7, 15 gün, 1 ve 2 ay sonra olmak üzere çeşitli zamanlarda karaciğer örnekleri alındı.

Alınan materyaller aşağıdaki işlemlere tabi tutuldu:

A-Işık mikroskopik incelemeler için: Her vakada karaciğerden alınan parçalar %10 formol kalsiyum tespit solusyonunda tesbit edildi. Kriyostatta 15 mikron kalınlığında alınan kesitler, Sudan III (37), Altın impregnasyonu (40) ve Sudan III+ Altın impregnasyonu (37, 40) boyama metotları ile boyandı.

B- Elektron mikroskopik araştırmalar için: Her hayvandan alınan parçaların yarısı, Karnovsky (21) yöntemine göre tespit edilerek, Araldit M'de bloklandı. Alınan karaciğer parçalarının diğer yarısı ise elektron mikroskopta altın klorür reaksiyonunu (40) demonstre etmek için kullanıldı. Bloklardan alınan kesitler, Carl Zeiss EM 9 S-2 model elektron mikroskopu'nda incelendi.

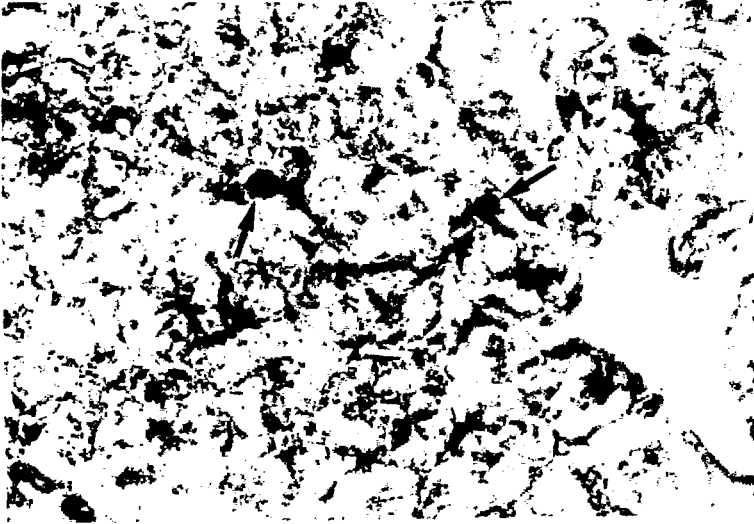
C- Fluoresan mikroskopik incelemeler için: Vitamin A'nın gösterdiği 10-20 saniyede kaybolan spesifik primer fluorensandan yararlanıldı (37). Kriyostat'ta 15 mikron kalınlığında alınan kesitler, Carl Zeiss marka epifluoresan mikroskopta incelendi.

## Bulgular

### I- Işık Mikroskopik Bulgular:

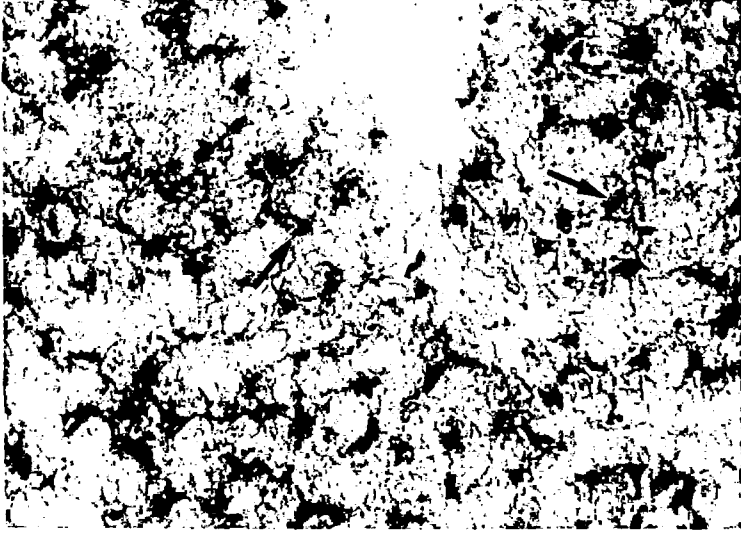
Sudan III ve altın klorürle boyanan kontrol grubuna ait kesitlerde, karaciğer epitel hücrelerinde her iki boyamaya karşı negatif reaksiyon görülürken, sinuzoidlerde yerleşmiş izlenimi veren az sayıdaki bazı hücrelerde her iki boyamaya karşı az da olsa pozitif reaksiyon gözlemlendi.

50.000 IU/kg Vitamin A palmitat verilen ikinci gruptaki hayvanlara ait kesitlerde, vitamin verilmesinden 30 dakika sonra karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazmasında Sudan III ve altın klorüre karşı pozitif reaksiyon veren lipid damlacıklarına rastlandı. İkinci saatten itibaren karaciğer epitel hücrelerindeki lipid damlacıkları kaybolurken, perisinuzoidal hücrelerin giderek artan sayıda görülmeye başladıkları ve sitoplazmalarındaki Sudan III ve altın klorüre karşı pozitif reaksiyon veren lipid damlacıklarının sayısının arttığı dikkati çekti (Şekil 1 oklar). Bu artışın, 15'inci güne doğru maksimum düzeye ulaştığı (Şekil 2 oklar) ve bu durumun ikinci aya değin devam ettiği görüldü. Kombine boyama uygulanan kesitlerde altın klorür partiküllerinin bu hücrelerdeki lipid damlacıklarının üzerinde lokalize olduğu saptandı (Şekil 3 oklar).

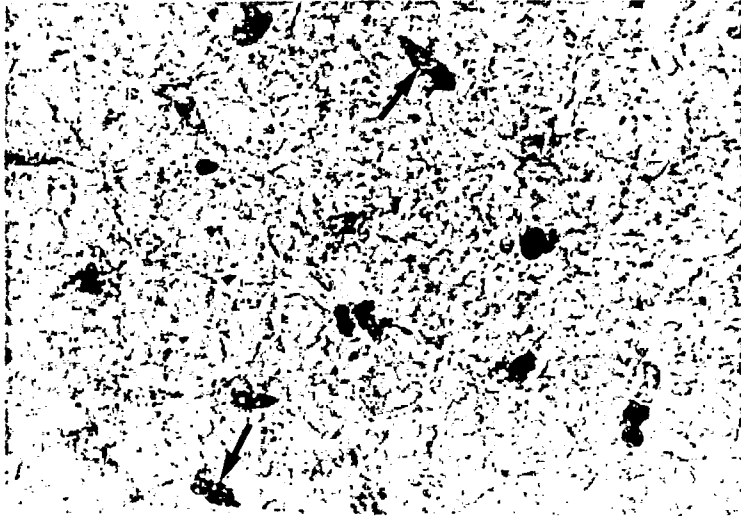


Şekil 1: Vitamin A verilmesinden 3 saat sonra perisinuzoidal hücrelerde altın klorüre karşı pozitif reaksiyon (oklar). Altın klorür. x390.

Figure 1: Three hours after Vitamin A administration. Strong reaction were seen in the perisinusoidal cells against gold chloride (arrows). Gold chloride. x390.



Şekil 2: Vitamin A verilmesinden 15 gn sonra perisinuzoidal hücrelerde altın klorüre karşı pozitif reaksiyon (oklar). Altın klorür. x245.  
 Figure 2: 15 days after Vitamin A administration. Strong reaction were seen in the perisinusoidal cells against gold chloride (arrows). Gold chloride. x245.

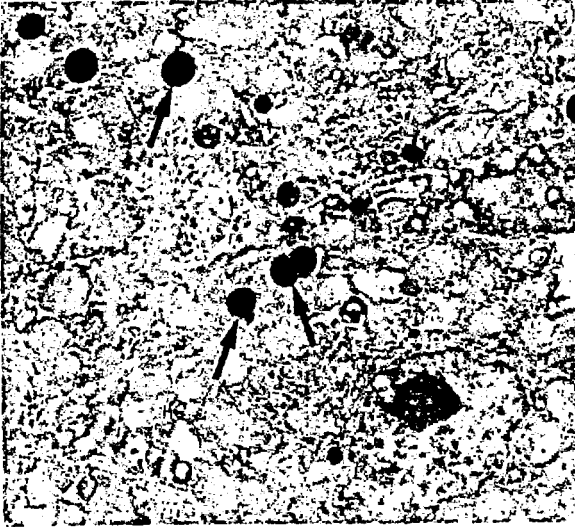


Şekil 3: Vitamin A verilen hayvanların perisinuzoidal hücrelerinde Sudan III ve altın klorüre karşı pozitif reaksiyon grlmekte (oklar). Sudan III + altın klorür. x 550.  
 Figure 3: Perisinusoidal cells treated with Vitamin A. Positive reaction were seen against the Sudan III and Gold chloride in the same cell (arrows). Sudan III and Gold chloride. x550.



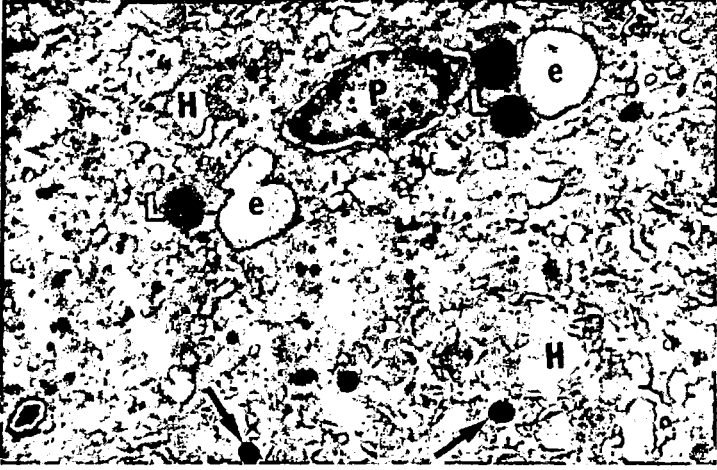
Şekil 4: Kontrol grubu. H: karaciğer epitel hücreleri, P: perisinuzoidal hücre, L: lipid damlacıkları, e: endotel hücresi. x10.800.

Figure 4: Control grup. H: hepatocyte, P: perisinusoidal cell, L: lipid droplets, e: endothelial cell. x10.800.



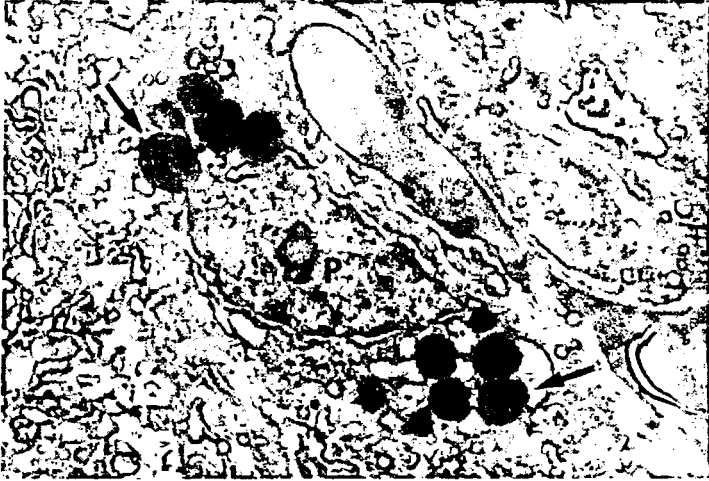
Şekil 5: Vitamin A verilmesinden 30 dakika sonra karaciğer epitel hücrelerinde altın klorür pozitif lipid damlacıkları (oklar). Altın klorür. x 6750.

Figure 5: Thirty minutes after Vitamin A administration. Gold chloride positive lipid droplets were seen in the liver hepatocyte (arrows). Gold chloride. x 6750.



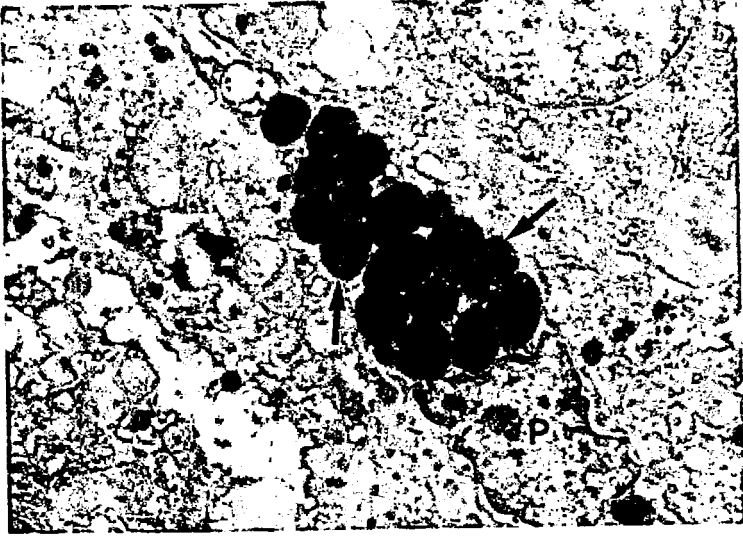
Şekil 6: Vitamin A verilmesinden 1 saat sonra karaciğer epitel hücresleri (oklar) ile perisinuzoidal hücreslerde altın klorür pozitif lipid damlacıkları (L). H: karaciğer epitel hücresleri, P: perisinuzoidal hücre, e: genişlemiş granüler endoplazma retikulum keseleri. Altın klorür. x 8100.

Figure 6: One hour after Vitamin A administration. Gold chloride positive lipid droplets were seen both in the liver hepatocyte (arrows) and perisinusoidal cell (L). H: hepatocyte, P:perisinusoidal cell, e: dilated granuler endoplasmic sacs. Gold chloride. x 8100.



Şekil 7: Vitamin A verilmesinden 6 saat sonra perisinuzoidal hücreslerde altın klorür pozitif lipid damlacıkları (oklar). P: perisinuzoidal hücre. Altın klorür. x 8100.

Figure 7: Six hours after Vitamin A administration. Gold chloride positive lipid droplets were seen in the perisinusoidal cell (arrows). P: perisinusoidal cell. Gold chloride. x 8100.



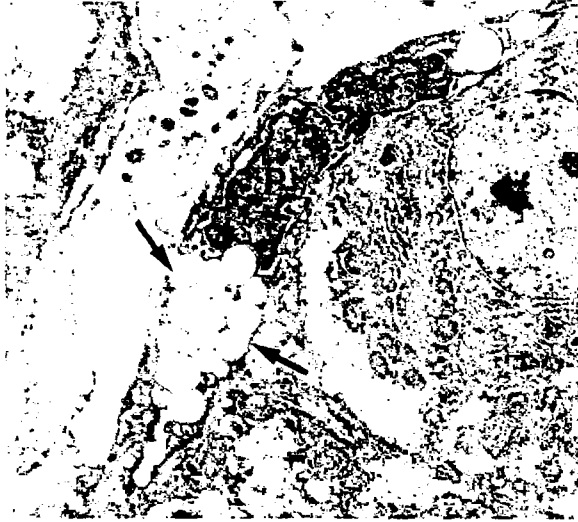
Şekil 8: Vitamin A verilmesinden 1 hafta sonra perisinuzoidal hücrelerde altın klorür pozitif lipid damlacıkları (oklar). P: perisinuzoidal hücre. Altın klorür. x 9000.  
 Figure 8: One week after Vitamin A administration. Gold chloride positive lipid droplets were seen in the perisinusoidal cell (arrows). P: perisinusoidal cell. Gold chloride. x 9000.

## II- Elektron Mikroskopik Bulgular:

Kontrol grubuna ait ince kesitlerde, sitoplazmasında birkaç adet lipid damlacığı (Şekil 4 L) taşıyan az sayıdaki perisinuzoidal hücelere rastlandı (P). Bu hücrelerin, sinuzoidlerin lumeninden endotel hücreleriyle ayrıldığı (e) ve sinuzoidlerin lumeni ile direkt ilişkilerinin olmadığı gözlemlendi. Sitoplazmalarında serbest ribozomların, granüllü endoplazma retikulumunun ve az sayıda mitokondriyonların bulunduğu saptandı. Bu hücrelerin sitoplazmasında fagositik vakuollere ve lizozomlara rastlanmadı.

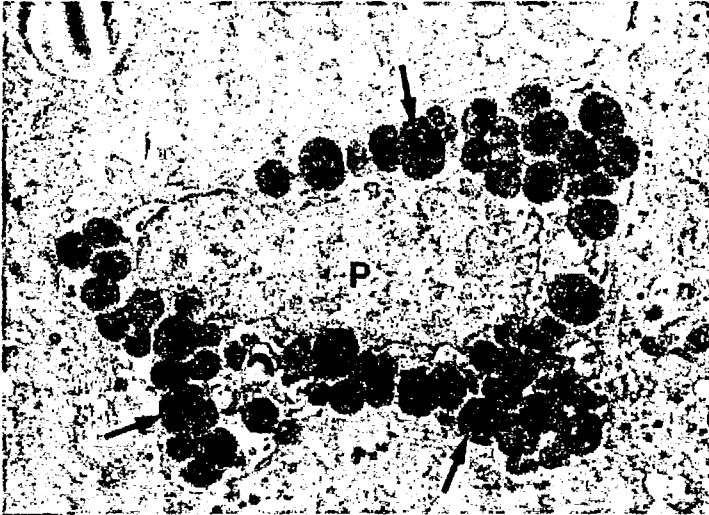
Vitamin A verilen ikinci gruba ait ince kesitlerde, vitaminin verilmesinden 30 dakika sonra karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazmasında altın klorüre karşı pozitif reaksiyon veren lipid damlacıkları gözlemlendi (Şekil 5 oklar). Bu dönemde perisinuzoidal hücrelerin ve sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarının sayısında ise bir artış dikkati çekmedi. Bir saat sonra, karaciğer epitel hücrelerinde altın klorür pozitif lipid damlacıkları gözlenirken (Şekil 6 oklar), aynı zamanda perisinuzoidal hücrelerin ve bu hücrelerdeki altın klorür pozitif lipid damlacıklarının (L) sayısında artışın olduğu saptandı. İkinci saatten itibaren karaciğer epitel hücrelerindeki altın klorür pozitif lipid damlacıklarının kaybolmaya başladığı, buna karşılık perisinuzoidal hücrelerin sitoplazmasındaki lipidlerin hızla artmaya başladığı ve 15. güne doğru maksimum düzeye ulaştığı gözlemlendi (Şekil 7, 8, 9, 10 oklar). Bu hücrelerdeki altın klorür pozitif lipid granüllerinin ikinci aya değin azalmadan buldukları dikkati çekti.





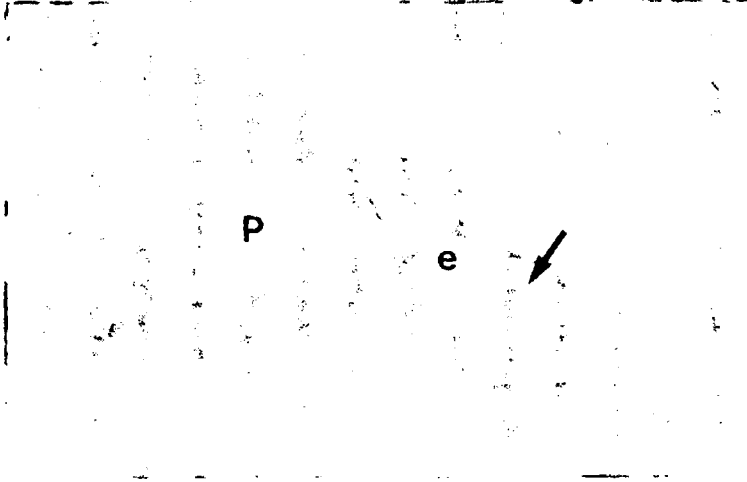
Şekil 9: Vitamin A verilmesinden 15 g¼n sonra perisinuzoidal h¼credeki lipid damlacıkları (oklar). P: perisinuzoidal h¼cre. x 6660.

Figure 9: 15 days after Vitamin A administration. Lipid droplets in the perisinusoidal cell (arrows). P: perisinusoidal cell. x 6660.



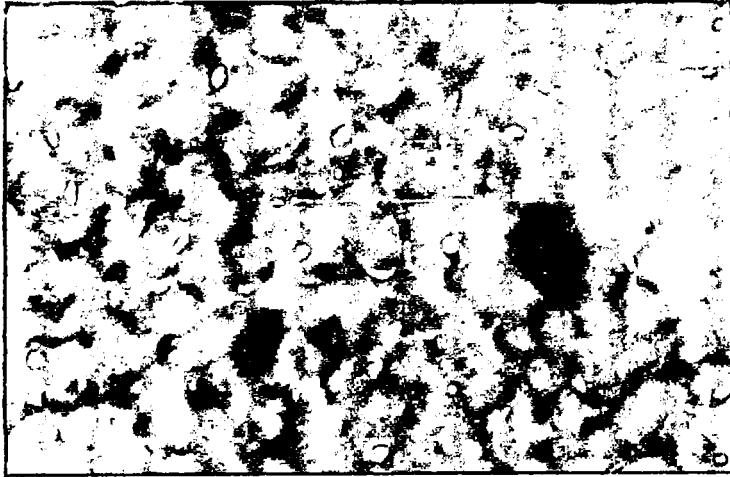
Şekil 10: Vitamin A verilmesinden 15 g¼n sonra perisinuzoidal h¼crelerdeki altın klor¼r pozitif lipid damlacıklarının maksimum d¼zeye ulaştığı g¼zlenmekte (oklar). P: perisinuzoidal h¼cre. Altın klor¼r. x 9900.

Figure 10: 15 days after Vitamin A administration. Gold chloride positive lipid droplets reached maximum level in the perisinusoidal cell. P: perisinusoidal cell. Gold chloride. x 9900.



Şekil 11: Vitamin A verilmesinden 3 saat sonra perisinuzoidal hücredeki genişlemiş granüllü endoplazma retikulumu keseleri içinde, sitoplazmadaki lipid damlacıklarına benzer oluşumlar (ok). P: perisinuzoidal hücre, e: genişlemiş granüllü endoplazma retikulum kesesi. Altın klorür. x 25650.

Figure 11: Three hours after Vitamin A administration. Formations having similar characteristics with lipid droplets in the cytoplasm were seen in dilated granular endoplasmic sac (arrow). P: perisinusoidal cell, e: dilated granular endoplasmic sac. Gold chloride. x 25650.



Şekil 12: Vitamin A verilmesinden 15 gün sonra perisinuzoidal hücrelerde Vitamin A'ya karşı kuvvetli fluoresens görülmekte. x 260.

Figure 12: 15 days after Vitamin A administration. Strong fluorescence were seen against the Vitamin A in the perisinusoidal cells. x 260.

Vitamin A'nın verilmesinden sonraki ilk saatlerden itibaren, perisinuzoidal hücrelerde granüllü endoplazma retikulumu keselerinin aktifleşerek genişlediği görüldü (Şekil 11 e). Bu keselerin lipid damlacıkları ile sıkı iliŐki içinde oldukları, hatta bazı kesitlerde genişlemiş endoplazma keselerinin içinde, sitoplazmada görülen lipid damlacıkları ile aynı morfolojik yapıyı gösteren ve altın klorüre karşı da onlar gibi pozitif reaksiyon veren oluşumlara rastlandı (Şekil 11 ok). Endotel ve Kupffer hücrelerinde, vitaminin verilmesi ile ilgili olarak bir değişim dikkati çekmedi. Sitoplazmalarında kontrol gruplarında olduğu gibi lipid damlacıklarının bulunmadığı görüldü.

### III- Floresan Mikroskopik Bulgular:

Vitamin A, floresan mikroskopta, Ultraviyole ışınlarının etkisi ile 10-20 saniyede kaybolan sarımsı-yeŐil renkteki primer spesifik floresensi ile tanındı.

Kontrol grubuna ait kesitlerde, sinuzoidlerin bulunduğu bölgede, Vitamin A'ya karşı çok az floresens görüldü. Vitaminin verilmesinden sonraki ilk iki saat içinde karaciğer epitel hücrelerinin, ikinci saatten itibaren ise perisinuzoidal hücrelerdeki lipid damlacıklarının Vitamin A'ya karşı spesifik floresens verdiği, floresensin giderek arttığı ve 15'inci güne doğru maksimum düzeye ulaştığı (Şekil 12) ve ikinci aya kadar azalmadan devam ettiği saptandı.

### TartıŐma ve Sonuç

IŞık mikroskopunun büyütme gücünün zayıf oluşundan dolayı uzun yıllar karaciğer epitel hücreleri dışında görülen diğer hücreler endotel ve Kupffer hücreleri olarak tanımlanmışlardır (35). İlk defa Ito (19), insan karaciğerinde sinuzoidlerin duvarında perisinuzoidal hücrelerin bulunduğunu bildirmiŐtir. Ito'nun çalışmasından sonra, memeli hayvanların karaciğerinde de bu hücrelerin varlığını kabul eden (10,30) ve kabul etmeyen (1) çalışmalara rastlanmaktadır. Bu çalışmada da kontrol ve deneme gruplarına ait ışık ve elektron mikroskopik kesitlerde perisinuzoidal hücrelere rastlandı. Bu hücrelerin, sinuzoidlerin lumeninden endotel hücreleri ile ayrıldıkları ve sinuzoid lumeniyle direkt ilişkilerinin olmadığı belirlendi.

Nakane (30), perisinuzoidal hücrelerin fare karaciğerinde bulunduğunu, Bronfenmajer ve ark. (10), insan karaciğerinde bulunan bu hücrelerin lipid depo ettiklerini, Wake (40) ratlarda yaptığı çalışmada normalde az sayıda görülen ve az sayıda lipid damlacığı taşıyan bu hücrelerin Sudan III ve altın klorüre karşı zayıf reaksiyon, Vitamin A'ya karşı da zayıf floresens verdiklerini bildirmişlerdir. Wake (41) Vitamin A'nın in vitro koŐullarda altın klorürle renk reaksiyonu verdiğini saptamış ve çeşitli araştırmacılar da yaptıkları çalışmalarda (24, 28, 40, 41, 42) altın klorür reaksiyonunun perisinuzoidal hücreler için spesifik olduğunu vurgulamışlardır. Kontrol ve deneme gruplarında perisinuzoidal hücrelerin altın klorür boyamasına karşı pozitif reaksiyon ve Vitamin A'ya karşı da floresens göstermesiyle, bu araştırmacıların bulgularına biz de katılmaktayız.

Hruban ve ark.'nın (17) hipervitaminosis A'lı insanlarda, Nakane (30), Kobayashi ve Takahashi (23) ile Wake'in (40) ratlarda yüksek dozda Vitamin A vererek yaptıkları araştırmalarda Vitamin A'nın verilmesine bağlı olarak perisinuzoidal hücrelerin sayısını ve sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarının hızla artmaya başladığı, Sudan III ve altın klorür boyamasına karşı kuvvetli reaksiyon veren bu hücrelerin Vitamin A'ya karşı da kuvvetli reaksiyon gösterdikleri bildirilmiştir. Vitamin A verdiğimiz gruba ait hayvanlarda benzer bulgular elde edilmiştir: Vitamin A verilmesinden sonra ikinci saatten itibaren perisinuzoidal hücrelerin sayılarının arttığı ve bu hücrelerin Sudan III ve altın klorüre karşı kuvvetli reaksiyon, Vitamin A'ya karşı da kuvvetli fluoresens verdikleri saptandı.

Normal şartlarda vücuttaki Vitamin A'nın %95'inin karaciğerde, Vitamin A esterleri şeklinde depo edildiğinin (12) anlaşılmasından sonra, araştırmalar karaciğerde bu metabolizmada görev alan hücreler üzerinde yoğunlaşmıştır.

Popper (35) ve Lane (25) yaptıkları fluoresan mikroskopik çalışmalarda Vitamin A'nın Kupffer hücrelerinde depo edildiğini bildirmişlerdir. Kupffer hücrelerinin Vitamin A metabolizmasında rol oynamadığını bildiren çalışmalar da vardır (18, 27). Normal ve Vitamin A verilen grupta, Kupffer hücrelerinde Vitamin A'ya karşı fluoresens gözlemediğimizden, bu hücrelerin Vitamin A metabolizmasında rol oynamadıkları görüşüne biz de katılmaktayız.

Karaciğerde Vitamin A metabolizmasında yalnız hepatositlerin görev aldığını bildiren çalışmaların (18, 27, 33) yanında, sadece perisinuzoidal hücrelerin rol oynadığını bildiren araştırmalar da (11, 22, 30, 42, 43) bulunmaktadır. Sunulan bu çalışmada Vitamin A'nın verilmesinden sonraki ilk iki saat içinde karaciğer epitel hücrelerinde, ikinci saatten itibaren perisinuzoidal hücrelerde Vitamin A'ya karşı spesifik fluoresens, altın klorüre karşı da pozitif reaksiyon veren lipid damlacıklarına rasladığımızdan dolayı araştırmacıların, bu hücrelerin Vitamin A metabolizmasında tek başına görev aldıkları şeklindeki görüşlerine katılmamaktayız.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, karaciğer Vitamin A metabolizmasında karaciğer epitel hücreleri ile perisinuzoidal hücrelerin birlikte görev aldıkları bildirilmiştir (4, 5, 8, 13, 16). Araştırmacılara göre, Vitamin A ilk önce karaciğer epitel hücreleri tarafından alınmakta ve daha sonra depolanmak üzere perisinuzoidal hücrelere transfer edilmektedir. Hirosawa ve Yamada (16) farelerde işaretili retinölün intravenöz enjeksiyonundan kısa bir müddet sonra radioaktivitenin her iki tür hücrede de görüldüğünü, daha sonra ise radioaktivitenin perisinuzoidal hücrelerde artmaya başladığını, Blomhoff ve ark. da (4) radioaktif retinol esterlerini Vitamin A yetmezliği çeken ratlara enjekte ettiklerinde, enjeksiyondan 30 dakika sonra radioaktivitenin %75'ini karaciğer epitel hücrelerinde, %25'ini de perisinuzoidal hücrelerde gördüklerini, enjeksiyondan 2-4 saat sonra ise karaciğer epitel hücrelerinde radioaktivite düşerken, perisinuzoidal hücrelerde yükseldiğini bildirmişlerdir; bu çalışmadan elde ettiğimiz bulgular, yukarıdaki araştırmacıların görüşünü desteklemektedir.

Burada, Vitamin A'nın neden ilk önce karaciğer epitel hücrelerine alındığı ve sonra depolanmak üzere perisinuzoidal hücrelere aktarıldığı sorusu akla gelmektedir. Kan plazmasında retinolün 1 molekülü, retinol binding proteinin (RBP) 1 molekülüne bağlanarak retinol-RBP kompleksi halinde hedef hücrelere taşınmaktadır (29, 32, 34). RBP'in karaciğer epitel hücrelerinde sentezlenebilmesi ve retinol-RBP kompleksinin karaciğer epitel hücrelerinden dışarı verilebilmesi için karaciğer epitel hücrelerine retinolün alınması gerekmektedir (39). Biz de Vitamin A'nın ilk önce karaciğer epitel hücrelerine alınmasının, RBP'lerin sentezlenmesi ile ilgili olabileceği görüşündeyiz.

Perisinuzoidal hücrelerin Vitamin A'nın esterleştirilmesinden (3, 6) ve Vitamin A esterlerinin hidrolizinden (14) sorumlu olan enzimleri içerdikleri, araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. İncelediğimiz elektron mikroskopik kesitlerde, perisinuzoidal hücrelerin genişlemiş granüllü endoplazma retikulumu keseleri içinde, sitoplazmada görülen ve Vitamin A'ya karşı fluoresens veren lipidlerle aynı morfolojik yapıyı gösteren, altın klorürle de pozitif reaksiyon veren oluşumlara rastlanması, bu hücrelerin Vitamin A'yı esterleştirme aktivitesine sahip olabileceğini gösterdi.

Bu bulgular ile, Vitamin A'nın tavuk karaciğerinde ilk önce karaciğer epitel hücreleri tarafından alındığı, daha sonra perisinuzoidal hücrelere transfer edilerek Vitamin A esterleri şeklinde depo edildiği ve bu hücrelerin Vitamin A'yı esterleştirme aktivitesine sahip olabilecekleri sonucuna varıldı.

#### KAYNAKLAR

1. **Aterman, K.** (1963). *The structure of the liver sinusoids and the sinusoidal cells in the liver. Morphology.* Biochemistry. Physiology, C. Rouiller (ed), New York Academic press. Inc., Vol. 1.
2. **Blaner, W.S., Hendriks, H.F.J., Brouwer, A., Delecuw, A.M., Knook, D.L., Goodman, D.S.** (1985). *Retinoids, retinol-binding proteins, and retinyl palmitate hydrolase distributions in different types of rat liver cells.* J. Lipid. Res. 26: 1241-1251.
3. **Blaner, W.S., Van Bennekum, A.M., Brouwer, A., Hendriks, H.F.J.** (1990). *Distribution of lecithin-retinol acyltransferase activity in different types of rat liver cells and subcellular fractions.* Febs. lett. 274:89-92.
4. **Blomhoff, R., Helgerud, P., Rasmussen, M., Berg, T., Norum, K.R.** (1982). *In vivo uptake of chylomicron (H3) retinyl ester by rat liver evidence for retinol transfer from parenchymal to nonparenchymal cells.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 79:7326-7330.
5. **Blomhoff, R., Holte, K., Naess, L.** (1984). *Newly administrated (H3) retinol is transferred from hepatocytes to stellate cells in liver for storage.* Exp. Cell. Res. 150: 186-193.
6. **Blomhoff, R., Rasmussen, M., Nilsson, A., Norum, K.R. Berg, T., Blaner, W.S., Kato, M., Mertz, J.R., Goodman, D.S., Eriksson, U., Peterson, P.A.** (1985). *Hepatic retinol metabolism: distribution of retinoids, enzymes, and binding proteins in isolated rat liver cells* J. Biol. Chem. 260:13560-13565.

7. **Blomhoff, R., Berg, T., Norum, R.K.** (1988). *Transfer of retinol from parenchymal to stellate cells in liver in mediated by retinol-binding protein.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85:3455-3458.
8. **Blomhoff, R., Green, H.M., Green, J.M., Berg, T., Norum, K.R.** (1991). *Vitamin A metabolism: new perspectives on absorptions, transport, and storage.* Physiological Reviews. 71 (4): 951-990.
9. **Blomhoff, R., Wake, K.** (1991). *Perisinusoidal stellate cells in the liver: important roles in retinol metabolism and fibrosis.* J. Faseb. 5:271-277.
10. **Bronfenmayer, S., Schaffner, F., Popper, H.** (1966). *Fat storing cells (Lipocytes) in human liver.* Arch. Path. 82:447-453.
11. **Goodman, D.S.** (1980). *Vitamin A metabolism.* Federation Proc. 39:2716-2722.
12. **Goodman, D.S., Blaner, W.S.** (1984). *The retinoids.* Academic Press. New York. Vol. 2:1-39.
13. **Hendriks, H.F.J., Wamm, U., Brouwer, A.** (1985). *Perisinusoidal fat storing cells are the main Vitamin A storage sites in rat liver.* Exp. Cell. Res. 160:138-149.
14. **Hendriks, H.F.J., Blaner, W.S., Wennckers, H.M., Piantedosi, R., Brouwer, A., Deleeuw, A.M., Goodman, D.S., Knook, D.L.** (1988). *Distributions of retinoids, retinoid binding proteins and related parameters in different types of liver cells isolated from young and old rats.* Eur. J. Biochem. 171:237-244.
15. **Hendriks, H.F., Elhanany, E., Brouwer, A., Deleeuw, M.A., Knook, D.L.** (1988). *Uptake and processing of (H3) retinoids in rat liver studied by electron microscopic autoradiography.* Hepatology. 8:276-285.
16. **Hirosawa, K., Yamada, E.** (1973). *The localization of the Vitamin A in the mouse liver as revealed by microscope radioautography.* J. Electron Microsc. 22:337-346.
17. **Hruban, Z., Robert, R.M. James, B.L. Seymour, G., Saeed, B.A.** (1974). *Ultrastructural changes in livers of two patients with hypervitaminosis A.* Amer. J. Path. 73 (3): 451-459.
18. **Hori, S.H., Kitamura, T.** (1972). *The Vitamin A content and retinol esterifying activity of a Kupffer cell fraction of rat liver.* J. Histochem. Cytochem. 20: 811-816.
19. **Ito, T.** (1951). *Cytological studies on stellate cells of Kupffer and fat storing cells in the capillary wall of the human liver.* Acta. Anat. Nippon. 26: 2.
20. **Ito, T., Shibasaki, S.** (1968). *Electron microscopic study on the hepatic sinusoidal wall and the fat storing cells in the normal human liver.* Arch. Histol. Jap. 29: 137-192.
21. **Karnovsky, M.J.** (1965). *A formaldehyd-glutaraldehyd fixative of high osmolality for use in electron microscopy.* J. Cell. Biol. 27:137-138.
22. **Knook, D.L., Seffelaar, A.M., Deleeuw, A.M.** (1982). *Fat storing cells of the rat liver. Their isolation and purification.* Exp. Cell. Res. 139:468-471.
23. **Kobayashi, K., Takahashi, Y.** (1971). *Effect of the administration of large doses of Vitamin A on the fine structure of rat liver with special reference to changes in the fat storing cell.* Arch. Histol. Jap. 33 (5): 421-443.

24. **Kusumoto, Y., Fujita, T.** (1977). *Vitamin A uptake cells distributed in the liver and other organs of the rat.* Arch. Histol. Jpn. 40:121-136.
25. **Lane, B.P.** (1968). *Hepatic microanatomy in hypervitaminosis A in man and rat.* Amer. J. Pathol. 53:591-598.
26. **Leutskaya, Z.K., Fais, D.** (1973) *The presence of Vitamin A in animal cell ribosomes.* Bioch. Biophys. Acta. 312:103-110.
27. **Linder, M.C., Anderson, G.H., Ascarelli, M.** (1971). *Quantitative distribution of Vitamin A in Kupffer cell and hepatocyte populations of rat liver.* J. Biol. Chem. 246:5538-5540.
28. **Matsumoto, E., Hirokawa, K., Abe, K., Naka, S.** (1984). *Development of the Vitamin A storing cell in mouse liver during late fetal and neonatal periods.* Anat. Embryol. 169: 249-259.
29. **Mokady, S., Tal, A.** (1974). *Isolation and partial characterisation of retinol-binding protein from chicken plasma.* Bioch. Biophys. Acta. 336:361-366.
30. **Nakane, P.K.** (1963). *Ito's "fat storing cell" of the mouse liver.* Anat. Record. 145:265-266.
31. **Ong, D.E., Page, D.L.** (1987). *Cellular retinol-binding protein (type two) is abundant in human small intestine.* J. Lipid. Res. 28: 739-745.
32. **Peterson, P.A.** (1971): *Characteristics of a Vitamin A transporting protein complex occurring in human serum.* J. Biol. Chem. 246 (1): 34-43.
33. **Peterson, P.A., Rosk, L., Ostberg, L., Anderson, L., Kamuendo, F., Pertoft, H.** (1973). *Studies on the transport and cellular distribution of Vitamin A in normal and Vitamin A-deficient rats with special reference to the Vitamin A binding plasma protein.* J. Biol. Chemist. 248:4009-4022.
34. **Poole, A.R., Dingle, J.T., Malka, A.K., Goodman, D.S.** (1975). *The localisation of retinol-binding protein in rat liver by immunofluorescence microscopy.* J. Cell. Sci. 19:379-394.
35. **Popper, H.** (1944). *Distribution of Vitamin A in tissue as revealed by fluorescence microscopy.* Physiol. Rev. 24:205-224.
36. **Redgrave, T.G., Vakakis, N.** (1976). *Hepatic Vitamin A fat storage cells and the metabolism chylomicron cholesterol.* Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 54 (6):519-525.
37. **Romeis, B.** (1968). *Mikroskopische Technik.* R. Oldenburg Verlag. München-Wien.
38. **Senoo, H., Stang, E., Nilsson, A., Kindberg, G.M., Berg, T., Roos, N., Norum, K.R., Blomhoff, R.** (1990). *Internalisation of retinol-binding protein in parenchymal and stellate cells of the rat liver.* J. Lipid. Res. 31:1229-1239.
39. **Sklan, D., Blaner, W.S., Adachi, N., Goodman, D.S.** (1982). *Association of cellular retinol-binding protein and several lipid hydrolase activities with a Vitamin A-containing high- molecular- weight lipid- protein aggregate from rat liver cytosol.* Arch. Biochem. Biophys. 214: 35-46.
40. **Wake, K.** (1971). *"Sternzellen" in the liver: Perisinusoidal cells with special reference to storage of Vitamin A.* Am. J. Anat. 132:429-462.

41. **Wake, K.** (1973). *Cytochemistry of the lipid droplets containing Vitamin A in the liver.* Electron Microscopy and Cytochemistry. Amsterdam. North-Holland Publ. Co.
42. **Wake, K.** (1980). *Perisinusoidal stellate cells (fat storing cells), their related structure in and around the liver sinusoids, and Vitamin A storing cells in extrahepatic organs.* Intern. Rev. Cytol. 66:303-353.
43. **Wolf, G.** (1984). *Multiple functions of Vitamin A.* Physiol. Rev. 64:873-931.