

Kronik Viral Hepatit Olgularında Total Oksidatif Seviye ve Total Antioksidan Kapasitenin Değerlendirilmesi

Evaluation of Total Oxidative Level and Total Antioxidant Capacity in Cases with Chronic Viral Hepatitis

Fatma Sirmatel¹, Fazilet Duygu², Hakim Çelik³, Şahabettin Selek³, Öcal Sirmatel⁴, Bensu Gürsoy², Fatma Nur Eriş¹

¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye

²Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

³Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

⁴Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Radyodiagnostik Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye

Özet

Amaç: Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunmasıyla hücrelerin serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanır. Kronik viral hepatit (KVH) olgularında total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidatif seviyenin (TOS) hastalığın şiddetiyle ilişkisini ve bu maddelerin tedaviye yanıtın izlenmesinde güvenilir bir parametre olarak kullanılabilirliğini araştırmak istedik.

Yöntemler: Bu çalışmaya Ocak 2004-Mart 2006 tarihleri arasında, KVH tanısı alan 73 olgu alındı. Hastaların yaşları 15-70 arası değişmekteydi. KVH tanısı, klinik, serolojik ve biyokimyasal olarak konuldu. Olgular iki gruba ayrıldı: Grup 1, HBsAg-pozitif ya da anti-HCV-pozitif olan ama HBV DNA ya da HCV RNA-negatif olan olgular ve Grup 2, kanıtlanmış KVH olguları. Tüm olguların serumlarında TAK, lipid hidroperoksid (LOOH) ve TOS, Erel yöntemine göre çalışılarak χ^2 yöntemiyle istatistiksel olarak incelendi.

Bulgular: TAK, LOOH ve TOL değerleri arasındaki fark iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ortalama TAK değeri sırasıyla Grup 1 hastalarında 1.8 ± 0.5 mmol Trolox-Eqv./lt iken, Grup 2'de 1.0 ± 0.15 mmol Trolox-Eqv./lt ($p=0.0001$); LOOH Grup 1'de 5.3 ± 2.8 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ iken, Grup 2'de 10.6 ± 10.1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ ($p=0.002$) ve TOS değeri Grup 1'de 10.2 ± 5.9 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./lt iken, Grup 2'de 18.5 ± 16.6 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./lt olarak ($p=0.004$) bulundu.

Sonuçlar: Grup 1 olgularında Grup 2 hastalarına oranla TAK yüksek, TOS ve LOOH değeri düşük bulundu. Kronik hepatitlerin izleminde TAK, TOS ve LOOH hastalığın aktifleşme işaretleyicileri olarak kullanılabilir.

Klimik Dergisi 2009; 22(3): 92-6.

Anahtar Sözcükler: Total antioksidan kapasite, total oksidatif seviye, kronik viral hepatit.

Abstract

Objective: Oxidative stress is described as an instability between production of free radicals from cells and antioxidant defence of the body. The aim of the study was to investigate the correlation of total antioxidant capacity (TAC) and total oxidative level (TOL) with the severity of the disease and reliability of these parameters in the follow up of response to treatment in cases with chronic viral hepatitis (CVH).

Methods: Between January 2004-March 2006, 73 cases with CVH were included in the study. The ages of the patients ranged from 15 to 70 years. Diagnosis of CVH was confirmed by clinical serological, and biochemical markers. The cases were divided into two groups: Group 1 as HBsAg-positive or anti-HCV-positive but HBV DNA or HCV RNA-negative and Group 2 as proven CVH. TAC, lipid hydroperoxide (LOOH), and TOL of the sera were studied according to Erel method, and statistically evaluated by χ^2 test in all the cases.

Results: TAC, LOOH and TOL were found statistically significantly different between two groups. Average values of TAC were 1.8 ± 0.5 mmol Trolox-Eqv./L and 1.0 ± 0.15 mmol Trolox-Eqv./L in Group 1 and Group 2 ($p=0.0001$) respectively. Average values of LOOH were 5.3 ± 2.8 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ in Group 1 and 10.6 ± 10.1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ in Group 2 ($p=0.002$). Average values of TOL were 10.2 ± 5.9 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L in Group 1 and 18.5 ± 16.6 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L in Group 2 ($p=0.004$).

Conclusions: TAC was found higher, and TOL and LOOH were found lower in Group 1 than Group 2. The evaluation of plasma TAC, TOS and LOOH levels may be important activation markers for the follow up of CVH.

Klimik Dergisi 2009; 22(3): 92-6.

Key Words: Total antioxidant capacity, total oxidative level, chronic viral hepatitis.

VIII. Ulusal Viral Hepatit Kongresi (2-5 Eylül 2006, Antalya)'nde bildirilmiştir.

Presented in the VIIIth National Viral Hepatitis Congress (2-5 September 2006, Antalya).

Yazışma Adresi / Address for Correspondence:

Fatma Sirmatel, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye
Tel./Phone: +90 374 253 55 56 Faks/Fax: +90 374 253 46 15 E-posta/E-mail: sirmatelfatma@yahoo.com

Giriş

Hepatit B virusu (HBV) ve hepatit C virusu (HCV) kronik viral hepatit (KVH) etkenidir. Karaciğer hücresinde nekroinflamasyon ve süregen replikasyonlar sonucu, fibroz-siroz-hepatoselüler kansere neden olan önemli patojenlerdir. Son yıllarda oksidan ve antioksidan kapasite arasındaki ilişki oldukça fazla irdelenmiştir ve bunlar arasındaki dengesizliğin hücre yıkımındaki rolü daha fazla anlaşılmıştır (1-5). Özellikle hücre içinde ekzojen ve endojen kaynaklı oluşan serbest radikallerin, toksik açıdan önemli olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (4-8). Reaktif oksijen türlerinin (ROT), kimyasal veya metabolik oluşumuna yol açan hücre içi ve/veya hücre dışı koşullar, oksidatif stres olarak adlandırılır (9-13). Hücreler, ROT'un zararlı etkilerine karşı antioksidan savunma sistemleri ile korunurlar. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, serbest oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, kurşun zehirlenmesi, karbon tetraklorüre bağlı karaciğer hasarı, aminoglikozid-ağır metal nefrotoksitesisi gibi çeşitli ilaç/toksinle oluşan reaksiyonlarda, glomerülonefritte, hepatit B'de, iskemide, vitamin (C ve E) eksikliğinde, kanser, amfizem, hiperoksidasyon, bronkopulmoner displazi, arteroskleroz, pankreatit ve romatoid artrit gibi birçok hastalığın patogenezinde etkilidir (12-14). Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak da tanımlanabilir (1,8,14,15). Serbest radikaller hidroksil, süperoksid, nitrik oksid ve lipid peroksid radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir (13). Lipid hidroperoksidlerin yıkımıyla oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize olurlar ya da başlangıçtaki etki alanlarında difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarak, sekonder bozuklukların göstergesi olabilirler (14-17). Yapılan deneysel çalışmalarda diyetle alınan alfa-tokoferolün, hücreleri lipid peroksidasyonuna karşı koruduğu ve sonuçta steroidlerin neden olduğu karaciğer hücre hasarı ve tümör gelişmesini önleyebildiği gösterilmiştir (14). Son yıllarda KVH'lerde oksidatif stres ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (1,5,10,13). Halen kronikleşme patogenezi tam olarak açıklanamayan KVH'lerde, oksidatif stresin hücre harabiyetinde, DNA ve RNA hasarındaki rolü deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur (1,10,18). Bu çalışmada KVH olarak izlenen iki farklı hasta grubu seçilerek total antioksidan kapasite ve total oksidan seviye araştırıldı.

Yöntemler

Bu çalışma prospektif olarak Ocak 2004-Mart 2006 tarihleri arasında, KVH tanısı alan 15-70 yaş arasında olan hastalarda yapıldı. Tüm olgular HAV, HBV, HCV, HDV ve HIV açısından değerlendirildi.

Çalışmaya alınma kriterleri, en az altı aydır KVH tanısıyla (biyokimyasal, serolojik ve histolojik olarak) kliniğimizde takip ediliyor olması, tüm olguların aynı bölgede yaşaması, altta yatan herhangi bir hastalığının olmaması, kan almadan bir gün önce sigara ve herhangi başka bir ilaç almamış olması olarak belirlendi.

Daha önce KVH tedavisi alan yanıtız olgular, dekompanse sirozlu olgular, sarılık ve kronik alkol öyküsü olanlar çalışmaya alınmadı. Kolajen doku, metabolik (diyabet, hipertiroidi gibi), kardiyak (hipertansiyon, infarktüs geçirmiş), solunum

(astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlar), santral (epilepsi, kanama geçirmiş), gastrointestinal (kronik iltihabi barsak hastalığı, safra kesesi taşı gibi) sistem rahatsızlığı olanlar, gebeler, otoimmün ve başka bir virusla KVH gelişmiş olan olgular çalışma dışı bırakıldı.

Grup 1: HBsAg ve/veya anti-HCV-pozitif, karaciğer enzimleri normal, serum HBV DNA ve/veya HCV RNA'sı negatif olanlar, kontrol grubu olarak kan bankasına başvuran sağlıklı kan donörlerinden seçildi.

Grup 2 (kanıtlanmış KVH'li olgular): Kronik hepatit B için olguların son altı ayda ALT düzeyinin normalden iki misli yüksek olması, HBV DNA düzeyinin HBeAg-pozitiflerde $>10^5$, anti-HBe pozitiflerde 10^4 kopya/ml olması ve yapılan karaciğer biyopsisinde fibroz skorunun >2 'den fazla olması koşulu arandı. Kronik hepatit C için hastanın bir yıldan fazla anti-HCV pozitifliği, HCV RNA'nın pozitif olması, karaciğer biyopsisinde inflamasyon ve fibroz (>2 skor) bulunması göz önüne alındı. Daha önce hiç tedavi almamış, alkol alma öyküsü olmayan, klinik, biyokimyasal, serolojik ve histolojik açıdan KVH kriterlerine uyan olgular KVH olarak kabul edildi (19-22).

Tüm olguların, rutin tam kan ve kan biyokimyası klasik yöntemlerle incelendi. Tüm denekler, tanı konulmadan önce viral hepatit serolojik belirleyicileri (HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HBs, anti-HBc IgG, anti-HBc IgM, anti-HCV, anti-HDV, anti-HAV IgG, anti-HEV IgG), alfa-fetoprotein, ferritin, otoimmün antikorlar, hepatobiliyer ultrasonografi ve altta yatan hastalıklar açısından araştırıldı.

Hastaların serumları sabah aç karna alınarak -80°C 'de derin dondurucuda saklandı ve daha sonra hepsi bir anda çözülerek Erel (15) yöntemine göre çalışıldı. Her hastada total antioksidan kapasite (TAK), lipid hidroperoksid (LOOH) düzeyi ve total oksidan seviye (TOS) incelendi.

TAK: Erel (3,15) tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur. Bu yöntemin çalışma prensibi; Fe^{2+} -o-dianisidin kompleksi hidrojen peroksid ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek düşük pH'da renksiz o-dianisidin molekülüyle reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidil radikallerini oluşturur. Dianisidil radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumunu artırır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir.

TOS: Erel (3) tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir. Numunede bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidin kompleksini ferrik iyon oksidlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda "xylenol orange" ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

LOOH: Serum LOOH seviyeleri ferröz iyon oksidasyonu "xylenol orange" (FOX-2) yöntemiyle çalışıldı (17).

İstatistik: Sonuçlar, SPSS programına aktarılarak Wilcoxon ve Mann Whitney-U yöntemiyle incelendi.

Bulgular

Bu çalışmaya alınan hastaların demografik verileri Tablo 1'de gösterilmiştir. Hastaların biyokimyasal değerleri ve HBV ve/veya HCV açısından demografik irdelenmelerinde anlamlı bir farklılık izlenmedi. Çalışmaya alınan 73 olgunun; 39'u (%45.8) Grup 1, 34'ü (%40) Grup 2 idi. Oksidatif stresin göstergeleri olan TAK, TOS, LOOH sonuçları istatistiksel olarak gruplar arasında farklılık gösterdi. TAK ortalama değeri Grup 1 hastalarında 1.8 ± 0.5 mmol Trolox-Eqv./lt iken, KVH'li olgularda 1.0 ± 0.15 Trolox-Eqv./lt olarak daha düşük değerde bulundu ($p=0.0001$).

LOOH, Grup 1'de ortalama 5.3 ± 2.8 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./lt iken, KVH hastalarında 10.6 ± 10.1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./lt idi ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.002$).

TOS, Grup 1'de 10.2 ± 5.9 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./lt iken, bu oran KVH'li olgularda 18.5 ± 16.6 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./lt idi ve fark anlamlıydı ($p=0.004$) (Tablo 2).

İrdeleme

Serbest radikallerin oluşumu, antioksidan kapasiteyi aşacak olursa metabolik ve fonksiyonel birçok bozukluk ortaya çıkar. Dokularda, tek elektronların devamlı oksijene akışı endojen oksidatif stresi meydana getirir (18). ROT olarak bilinen ve oksijenden türeyen süperoksid, peroksid, hidroksil ve diğer serbest radikaller çok reaktiftir. Bu nedenle bunların fazla olması membran bütünlüğünü sağlayan fosfolipidlerin, proteinlerin, DNA ve RNA gibi moleküllerin bütünlüğünü tehdit eder (10,12,23,24). Çeşitli biyolojik olaylarda, örneğin antimikrobiyal savunma, iltihaplanma, kanser, radyasyon hasarı, fotobiyolojik etkiler ve yaşlanmada, ROT işe karışır. Sonuçta DNA baz hasarları, protein oksidasyon ürünleri, lipid peroksidasyon ürünleri açığa çıkar ve hücrenin dengesi bozulur (18-20,23-29). TOS'un azalmasını etkileyen eksternal ve internal birçok faktör vardır. Özellikle hücre içerisinde artan oksidatif radikaller antioksidan koruyucu mekanizmanın azalmasına ve oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır. Oksidatif stresin artması da özellikle karaciğer hücrelerinde ölüme neden olmakta bunun göstergesi olan enzimlerde yükselme, fibrozda gelişme ve tedavi edilmeyen kronik hepatit C olgularında siroz ile sonuçlanmaktadır (25-27).

Sunulan çalışmada hücre yıkımı ve viral replikasyonu olmayan Grup 1 olgularında TOS ve LOOH değerleri nekroinflamasyon olan KVH olgularından anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0.004$). Bölgemizde yapılan bir çalışmada HBV replikasyonu sırasında, ciddi kronik hepatit B olgularında lipid peroksidasyonunun arttığı ve total antioksidan kapasitenin azaldığı gösterilmiştir (28). Bizim çalışmamızda Grup 1 olgularının TAK değeri KVH olgularından daha yüksektir ($p=0.001$). Bu durum oksidatif stres indeksinin Grup 1'de azalmış olduğunu, dolayısıyla ROT aktif olmadığını göstermektedir. Yapılan çalışmalar KVH olgularında ROT'un arttığını, ortaya çıkan lipid peroksidasyonunun DNA ve RNA hasarına yol açarak hücrenin malignleşmeye gidebileceğini göstermiştir (2,14,15,17,29). Bu sunumda KVH olgularında LOOH ve TOS değerinin yüksek bulunması ROT artışının bir göstergesidir. Halliwell ve arkadaşları (29) yaptıkları çalışmada viral infeksiyonlarda inflamatuvar yanıt ile ilişkili olarak lipid peroksidasyonunun artabileceğini, iyileşme sırasında

Tablo 1. Grupların Demografik Özellikleri

Hasta Sayısı	Grup 1* (n=39)	Grup 2† (n=34)	p
Yaş	32±10	29±13	>0.05
Cins (Kadın/Erkek)	20/19	17/17	>0.05
HBV/HCV	19/20	16/18	>0.05
ALT (Ü/lt)	20±12	125±40	<0.001
AST (Ü/lt)	20±9	90±11	<0.001

*Grup 1: HBV ve HCV ile karşılaşmış ve baş etmiş olgular

†Grup 2: Hiç tedavi almamış KVH tanısı alan olgular

Tablo 2. Gruplara Göre Oksidan ve Antioksidan Düzeyler

	Grup 1* (n=39)	Grup 2† (n=34)	p
TAK (mmol Trolox-Eqv./lt)	1.8±0.5	1.0±0.15	0.0001
LOOH ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./lt)	5.3±2.8	10.6±10.1	0.002
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./lt)	10.2±5.9	18.5±16.6	0.004

*Grup 1: HBV ve HCV ile karşılaşmış ve baş etmiş olgular

†Grup 2: Hiç tedavi almamış KVH tanısı alan olgular

oksidatif stresin azalmasının en erken göstergesinin antioksidan düzeyde artış olduğunu belirtmişlerdir. Akaike ve arkadaşları (30) virusla infekte hücrelerde süperoksid anyon ve hidrojen peroksidlerin arttığını, bu serbest radikallerin DNA ve RNA'da mutasyonla malign transformasyona yol açtığını deneysel olarak göstermişlerdir. Oksidatif stresin artması kronik hepatit B olgularında hepatoselüler harabiyete neden olmakta, artan serbest radikallerin yaptığı DNA harabiyeti süregenleşince hepatoselüler kanser gelişimi görülebilmektedir (18,26,29-34). Yamamoto ve arkadaşları (2) yüksek oksidatif stresin KVH, siroz ve hepatoselüler kanser olgularında nekroinflamasyonla birlikte olduğunu ortaya koymuşlardır. Yadav ve arkadaşları (9) virusla infekte hücrelerde oluşan süperoksid anyonların, hidroperoksidlerin hücre DNA ve RNA'sında mutasyona yol açtığını göstermiştir. İnaktif HBV taşıyıcılarının zaman içerisinde alevlenme göstermesi, kronikleşmesi, fibroz, siroz ve hepatoselüler kansere ilerlemesinde bu olayın rolü olabilir.

Bizim sonuçlarımıza göre KVH olgularında artan TOS değeri ve azalan TAK düzeyi, hücrede oksidatif stresin yüksek olduğunu, nekroinflamasyonla birlikte hücre harabiyetinin olduğunu doğrulamaktadır. Moriya ve arkadaşları (1) yaptıkları hayvan deneyinde TOS'ta bir değişiklik saptamamışlardır. Bu hayvan deneyinde yazarlar artan ROT'un inflamasyon olmadan karaciğer hücresinde oksidatif stresi artırarak hepatoselüler kansere ilerlediğini göstermişlerdir. Bu durum karaciğer enzimleri normal KVH olgularında gelişen siroz ile açıklanabilir. Sunulan çalışmaya göre TAK ve TOS, özellikle enzim düzeyi normal, HBV veya HCV ile karşılaşmış ama baş etmiş görünen olgularda bakılacak bir parametre gibi değerlendirilmelidir.

Lipid peroksidasyonu viral infeksiyonlarda inflamatuvar yanıt ile ilişkili olarak artar (15,17). Lipid peroksidasyonu kronik HBV ve HCV infeksiyonu olgularında yetersiz antioksidan

düzeyle birlikte bulunabilir ve nötrofiller için kemotaktik etkiye sahiptir (6,4,26,30,33).

Kronik HCV infeksiyonu olgularında görülen hepatosteatoz sitopatogenik etkiye bağlı olarak hastalığın başlangıcında görülebilmektedir (23-26,30-33). Kronik HCV infeksiyonu olgularında beslenmenin oksidatif stres ve antioksidan ilişkisi bazı çalışmalarda açıklanmış olsa da sunulan olguların KVH grubunda biyopsi yapılmış, kan değerlerinde lipid göstergelerine bakılmış ve altı aylık izlemlerinde herhangi bir hiperlipidemi saptanmamıştır (9). KVH olgularının tedavisiyle oluşan kalıcı cevapta enzim düzeyinin normal olması ve viral replikasyonun negatif olması beklenir. Dikici ve arkadaşları (10) yaptıkları çalışmada, akut ve kronik viral hepatit olgularında oksidatif enzimleri anlamlı olarak artmış, antioksidan maddeleri düşük bulmuşlar, interferon tedavisinden sonra antioksidan seviyesinin arttığını göstermişlerdir. Antioksidan kapasitenin yetersiz kaldığı viral infeksiyonlarda, LOOH ve ROT karaciğer dokusunda fibroza neden olmaktadır (21,32-34). KVH'lerin tedavisindeki amaç, viral replikasyonun basılanması, inflamatuvar cevabı önleyerek hücre harabiyetinin yok edilmesi veya durdurulmasıdır. Tedavi arayışında antioksidan cevabı artırmak yeni bir çıkış noktası olabilir.

Sonuç olarak Grup 1 olgularında TOS ve LOOH değeri hücre yıkımının daha az olduğunun göstergesi olarak düşük bulunmuştur. Nekroinflamasyon ve viral replikasyonun olmadığı Grup 1 olgularında TAK değeri daha yüksek bulunmuştur. Nekroinflamasyon göstergesi olarak karaciğer enzim yüksekliğinin yanı sıra TOS ve LOOH, KVH izleminde kullanılacak bir parametre olabilir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışmasının söz konusu olmadığını bildirmişlerdir.

Kaynaklar

- Moriya K, Nakagawa K, Santa T, et al. Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Res.* 2001; 61(11): 4365-70.
- Yamamoto Y, Yamashita S, Fujisawa A, Kokura S, Yoshikawa T. Oxidative stress in patients with hepatitis, cirrhosis, and hepatoma evaluated by plasma antioxidants. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 247(1): 166-70.
- Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004; 37(2): 112-9.
- Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıköz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology.* 2002; 202(3): 227-35.
- Janssen YM, Van Houten B, Borm PJ, Mossman BT. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab Invest.* 1993; 69(3): 261-74.
- Özdem SS, Şadan G. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Üniv Tıp Fak Derg.* 1994; 11: 63-71.
- Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hosp Med.* 1990; 43(5): 334-44.
- Yagi K. Lipid peroxidase and related radicals in clinical medicine. In: Armstrong D, ed. *Free Radicals in Diagnostic Medicine.* New York: Plenum Press. 1995: 17-27.
- Yadav D, Hertan HI, Schweitzer P, Norkus EP, Pitchumoni CS. Serum and liver micronutrient antioxidants and serum oxidative stress in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97(10): 2634-9.
- Dikici I, Mehmetoglu I, Dikici N, Bitirgen M, Kurban S. Investigation of oxidative stress and some antioxidants in patients with acute and chronic viral hepatitis B and the effect of interferon-alpha treatment. *Clin Biochem.* 2005; 38(12): 1141-4.
- Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *Türk Klin J Med Sci.* 2002; 22: 442-8.
- Cross CE, Halliwell B, Borish ET, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med.* 1987; 107(4): 526-45.
- Cochrane CG. Cellular injury by oxidants. *Am J Med.* 1991; 91(3C): 23S-30S.
- Swierczynski J, Kochan Z, Mayer D. Dietary α -tocopherol prevents dehydroepiandrosterone-induced lipid peroxidation in rat liver microsomes and mitochondria. *Toxicol Lett.* 1997; 91(2): 129-36.
- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005; 38(12): 1103-11.
- Nourooz-Zadeh J. Ferrous ion oxidation in presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxides in plasma. *Methods Enzymol.* 1999; 300: 58-62.
- Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 1991; 91(3C): 31S-8S.
- Bast A, Haenen GR, Doelman CJ. Oxidants and antioxidants: state of the art. *Am J Med.* 1991; 91(3C): 2S-13S.
- Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB, American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management and treatment of hepatitis C. *Hepatology.* 2004; 39(4): 1147-71.
- Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology.* 2007; 45(2): 507-39.
- Koruk M, Taysi S, Savas MC, Yilmaz O, Akcay F, Karakok M. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Clin Lab Sci.* 2004; 34(1): 57-62.
- Vendemiale G, Grattagliano I, Portincasa P, Serviddio G, Palasciano G, Altomare E. Oxidative stress in symptom-free HCV carriers: relation with ALT flare-up. *Eur J Clin Invest.* 2001; 31(1): 54-63.
- Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. *Am J Med.* 1994; 97(3A): 5S-13S.
- Farinati F, Cardin R, Degan P, et al. Oxidative DNA damage in circulating leukocytes occurs as an early event in chronic HCV infection. *Free Radic Biol Med.* 1999; 27(11-12): 1284-91.
- Chrobot AM, Szaflarska-Szczepanik A, Drewa G. Antioxidant defense in children with chronic viral hepatitis B and C. *Med Sci Monit.* 2000; 6(4): 713-8.
- Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects Med.* 2000; 21(3): 49-98.
- Bolukbas C, Bolukbas FF, Horoz M, Aslan M, Celik H, Erel O. Increased oxidative stress associated with the severity of the liver disease in various forms of hepatitis B virus infection. *BMC Infect Dis.* 2005; 5: 95.
- Demirdag K, Yilmaz S, Ozdarendeli A, Kalkan A, Kilic SS. Levels of plasma malondialdehyde and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with chronic hepatitis B. *Hepatogastroenterology.* 2003; 50(51): 766-70.
- Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett.* 1991; 281(1-2): 9-19.
- Akaike T, Suga M, Maeda H. Free radicals in viral pathogenesis: molecular mechanisms involving superoxide and NO. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1998; 217(1): 64-73.
- De Maria N, Colantoni A, Fagioli S, et al. Association between

- reactive oxygen species and disease activity in chronic hepatitis C. *Free Radic Biol Med.* 1996; 21(3): 291-5.
32. Hagen TM, Huang S, Curnette J, *et al.* Extensive oxidative DNA damage in hepatocytes of transgenic mice with chronic active hepatitis destined to develop hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91(26): 12808-12.
33. Bonnefont-Rousselot D, Ratziu V, Giral P, *et al.* Blood oxidative stress markers are unreliable markers of hepatic steatosis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 23(1): 91-8.
34. Nieto N, Friedman SL, Cederbaum AI. Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species. *Hepatology.* 2002; 35(1): 62-73.