



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK HEPATİT DELTA HASTALARINDA
OKSİDATİF STRESİN ÖNEMİ**

TEZ DANIŞIMANI

Prof. Dr. Kendal YALÇIN

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

Dr. İhsan SOLMAZ

2015 DİYARBAKIR



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK HEPATİT DELTA HASTALARINDA
OKSİDATİF STRESİN ÖNEMİ**

TEZ DANIŞIMANI

Prof. Dr. Kendal YALÇIN

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

Dr. İhsan SOLMAZ

2015 DİYARBAKIR

ÖNSÖZ

Bilimsel düşünme ve çalışmayı bizlere öğreten, engin bilgi ve birikimlerini bizimle paylaşan, bugünlere gelmemizde büyük emeği olan, hekimliği bizlere öğreten değerli hocamız Prof. Dr. Ekrem MÜFTÜOĞLU'na başta olmak üzere, İç Hastalıkları A.B.D. Başkanımız Prof. Dr. M.Emin YILMAZ'a yetişmemde büyük emekleri olan bütün değerli öğretim üyeleri; Prof. Dr. Orhan AYYILDIZ, Prof. Dr. Abdurrahman İŞIKDOĞAN, Prof. Dr. Alpaslan Kemal TUZCU, Prof. Dr. Muhsin KAYA, Prof. Dr. Ali Kemal KADİROĞLU, Doç. Dr. Ebubekir ŞENATEŞ, Doç.Dr Muhammed Ali KAPLAN, Doç. Dr. Ali İNAL, Doç. Dr. Mehmet KÜÇÜKÖNER, Yrd. Doç. Dr. Zülfükar YILMAZ, Yrd. Doç. Dr. Faruk KILINÇ, Yrd. Doç. Dr. Yaşar YILDIRIM, Yrd. Doç. Dr. M. Sinan DAL, Yrd. Doç. Dr. Zuhat URAKÇI, Uzman Dr. Abdullah KARAKUŞ, Uzman Dr. Nazım EKİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi oluşturmamda büyük emeği geçen tez danışmanım İç Hastalıkları öğretim üyelerinden Prof. Dr. Kendal YALÇIN hocama teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi hazırlarken bana yardımcı olan ve büyük emek sarf eden Yrd. Doç. Dr. Feyzullah UÇMAK ve tüm Gastroenteroloji bölümüne teşekkürlerimi sunarım.

Rotasyon eğitimim sırasında bilgilerini benden esirgemeyen Kardiyoloji A.B.D. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji A.B.D. Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz A.B.D. ve Radyoloji A.B.D. başkanlarına ve değerli öğretim üyelerine,

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk ve onur duyduğum asistan arkadaşlarıma ve İç Hastalıkları A.B.D. çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan ve desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen annem, babam, kardeşlerime ve her zaman en büyük desteğim olan değerli eşime, oğluma ve kızıma teşekkürlerimi sunarım.

Dr. İhsan SOLMAZ

Diyarbakır-2015

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar	IV
ŞEKİLLER	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	V
ÖZET ,AMAÇ ANAHTAR SÖZCÜKLER	VII
ABSTRACT-KEYWORDS	VIII
I.GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
2.1. HEPATİT DELTA VİRUSU	3
2.1.1 Viroloji	3
2.1.2 Genotipler	3
2.1.3. Epidemiyoloji	4
2.1.4. Delta hepatitinde patogenez	6
2.1.5. Delta hepatitinde histolojik değişiklikler	8
2.1.6. Akut delta hepatit	10
2.1.6.1. Koenfeksiyon	11
2.1.6.2. Süperenfeksiyon	13
2.1.7. Kronik delta hepatiti	14
2.1.8. Doğal seyir	15
2.1.9. Tanı	16
2.1.9.1 HDV Koenfeksiyonunda Tanı	18
2.1.9.2. HDV Süperenfeksiyonunda Tanı	18
2.1.10.Tedavi	19
2.1.10.1.Nükleozid ve nükleozid analogları	19
2.1.10.2.İnterferon tedavisi	20
2.1.11.Delta hepatitinde korunma	26
2.2. SERBEST RADİKALLER	26
2.2.1.Reaktif oksijen türleri	28
2.2.1.1.Süperoksit radikalleri	29
2.2.1.2.Hidrojen peroksit	29
2.2.1.3.Hidrojen radikalleri	30
2.2.1.4.Singlet O ₂	30

2.2.1.5.Nitrik oksit-----	31
2.2.2.Başlıca serbest radikal üretim kaynakları-----	33
2.2.2.1. Endojen serbest radikal üretim kaynakları-----	33
2.2.2.2. ekzojen serbest radikal üretim kaynakları-----	34
2.2.3. Serbest radikallerin etkileri-----	34
2.2.3.1. Serbest radikallerin lipitlere etkileri-----	35
2.2.3.2. Serbest radikallerin proteinlere etkileri-----	36
2.2.3.3. Serbest radikallerin DNA ‘ ya etkileri-----	37
2.2.3.4. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri-----	37
2.2.4. Antioksidan savunma sistemleri -----	37
2.2.4.1. Enzimatik antioksidanlar -----	40
2.2.4.2. Enzimatik olmayan moleküler antioksidanlar-----	43
2.2.5. Total oksidan status (TOS) -----	45
2.2.6. Total antioksidan status (TAS)-----	46
2.2.7. Oksidatif stres indeksi (OSİ) -----	46
III. MATERYAL VE METOD -----	47
IV. BULGULAR -----	52
V. TARTIŞMA -----	58
VI. SONUÇ -----	62
VII. KAYNAKLAR -----	63

TABLolar

Tablo 1. HDV infeksiyonunda doğal seyir -----	11
Tablo 2. Serbest radikal tipleri-----	27
Tablo 3. Daha potent reaktif ürünleri oluşturmada metal iyonlarının rolleri-----	27
Tablo 4. Reaktif Oksijen Ürünleri-----	28
Tablo 5. Reaktif Nitrojen Türleri -----	31
Tablo 6. Endojen Antioksidanlar ve Etkileri -----	39
Tablo 7:Hasta ve kontrol grubun cinse göre dağılımı-----	48
Tablo 8 : Hasta grubun tedavi ve siroz dağılımı-----	49
Tablo 9 Hasta ve kontrol grubunun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.-----	52
Tablo 10 :Hastalardan siroz ve siroz olmayan grupların karşılaştırması-----	53
Tablo 11 :Hastalardan İNF tedavisi almış ve almamış grupların karşılaştırması---	54

ŞEKİLLER

Şekil 1. HDV infeksiyonun dünya üzerindeki dağılımı -----	5
Şekil 2. Delta virüsünün yaşam döngüsü-----	8
Şekil 3. Koinfeksiyonda serolojik bulgular -----	12
Şekil 4. Süperinfeksiyonda serolojik bulgular-----	14
Şekil 5. KDH - HBV Monoenfeksiyonu Klinik Seyir Karşılaştırma -----	16
Şekil 6 : İnterferon alfanın etki mekanizması-----	21
Şekil 7: Konvansiyonel IFN farmakodinamiği-----	23

Şekil 8: pegile IFN moleküler yapısı-----	24
Şekil 9: IFN farmakokinetiği-----	25
Şekil 10. Serbest Radikallerin Etkileri-----	35
Şekil 11. Glutasyon Sentez ve Siklusu-----	43
Şekil 12. Oksidan ve Antioksidan Denge-----	46
Şekil-13: Hasta ve kontrol gruplarının TAS, TOS ve OSİ değerleri -----	55
Şekil-14: Siroz ve siroz olmayan gruplarının TOS ve OSİ değerleri-----	57

ŞİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ALP: Alkalen fosfataz

ALT: Alanin amino transferaz

AST: Aspartat amino transferaz

DNA: Deoksiribonükleik asit

FE⁺²: Ferro demir

GGT: Gamaglutamil transferaz

GSH: Glutasyon

HBsAG: Hepatit B yüzey antijeni

HBeAG: Hepatit B e antijeni

HBV: Hepatit B virüs

HCC (HSK): Hepatocellular carcinoma

HCV: Hepatit C virüs

HDV: Hepatit D virüs

IFN: İnterferon

INR: Uluslar arası normalleştirme oranı (International Normalized Ratio)

KHB: Kronik hepatit B

KHD: Kronik hepatit D

KVY: Kronik viral yetmezlik

LDH: Laktat Dehidrogenaz

MCV: Ortalama eritrosit hacmi

NOS: Nitrik oksit sentetaz

O²: oksijen

OSİ: Oksidatif stres indeksi

PEG: Poli etilen glikol

PLT: Trombosit

PTZ: Protrombin zamanı

RNA: Ribonükleik asit

ROT: Reaktif oksijen türleri

SOD: Süperoksit dismutaz

TAS: Total antioksidan stres

TOS: Total oksidan stres

WBC: Lökosit

ÖZET

Amaç: Kronik viral hepatit B ve C' de oksidatif stresin varlığı gösterilmesine rağmen kronik hepatit D' li hastalarda oksidatif stresle ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Amacımız kronik hepatit D' li hastalarda oksidatif stresi araştırmaktır.

Materyal-Metod: Çalışmaya HDV enfeksiyonu tanılı 51'i erkek, 40'ı kadın toplam 91 hasta (yaş ortalaması: 42.2±11.7) ve sağlıklı gönüllü kişilerden 22'si erkek, 18'i kadın toplam 40 kişi (yaş ortalaması: 39.8±6.09) alındı. Hastalar sirotik (n=30) ve non-sirotik (n=61) olarak iki grupta değerlendirildi. Sağlıklı ve hasta grubundan alınan serum örnekleri total oksidan stres (TOS), total antioksidan stres (TAS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) açısından karşılaştırıldı.

Bulgular: Total oksidan stres (TOS) hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla yüksek saptandı, fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). Total oksidan stres (TOS) sirozlu hastalarda siroz olmayanlara kıyasla yüksekti ($p=0.006$). Total antioksidan stres (TAS) hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla düşük saptandı, fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.003$). Oksidatif stres indeksi (OSI) hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla yüksek saptandı, fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). Oksidatif stres indeksi (OSI) sirozlu hastalarda siroz olmayanlara kıyasla yüksekti ($p<0.05$). Hasta grubu içinde interferon tedavisi alanlar ve almayanlar kıyaslandığında oksidatif stres parametrelerinde farklılık saptanmadı (TAS, TOS, OSİ için sırasıyla $p=0.676$, $p=0.714$, $p=0.937$).

Sonuç: Hasta grubunda total oksidan stres (TOS) yüksekliği ve total antioksidan stres (TAS) düşüklüğü nedeniyle belirgin oksidatif stres saptanmıştır. Hasta grubu kendi içinde değerlendirildiğinde total oksidan stres (TOS) yüksekliği sirozlu grupta daha belirgin olup total antioksidan stres (TAS) açısından anlamlı farklılık yoktu. Bu bulgular kronik hepatit D hastalarının patogenezinde oksidatif stresin önemli rolü olduğunu desteklemektedir.

Tartışma: Kronik hepatit D hastalarında bugünkü tedavi seçenekleri ile başarı şansı diğer kronik viral hepatitlere kıyasla düşüktür. Ayrıca interferon tedavisinin kontrendike olduğu durumlarda alternatif tedavi bulunmamaktadır. Oksidatif stresin varlığını gösterecek çalışmalar neticesinde alternatif tedavi seçenekleri göndeme gelebilir.

Anahtar Kelimeler: hepatit, Hepatit D virusü (HDV), oksidatif stres, total oksidan stres, total antioksidan stres.

ABSTRACT

Aim: Although existence of oxidative stress described in chronic viral hepatitis B and C there is no study conducted about existence of oxidative stress in patients with chronic hepatitis D. In this study we aimed to investigate oxidative stress in chronic hepatitis D.

Material Methods: 51 male and 40 female a total of 91 patients diagnosed with chronic hepatitis D (mean age was 42.2 ± 11.7) and 22 male and 18 female a total of 40 healthy volunteers (mean age 39.8 ± 6.09) were included the study. Patients were divided in to a cirrhotic (n=30) and a non cirrhotic (n=61) groups. Serum samples were obtained from patients and controls and total oxidant stress (TOS), total antioxidant stress (TAS) and oxidant stress index (OSI) levels was compared with each other.

Results: Total oxidant stress (TOS) was found significantly elevated in patients in comparison with controls ($p < 0.001$). Total oxidant stress (TOS) was significantly higher in patients with cirrhosis than non cirrhotics ($p < 0.006$). Total antioxidant stress (TAS) was found significantly lower in controls ($p < 0.003$). Oxidant stress index (OSI) was significantly higher in patients group ($p < 0.001$). Oxidant stress index (OSI) was elevated in cirrhotic patients than non cirrhotics ($p < 0.05$) Oxidative stress parameters was not significantly different between patients are given interferon treatment and not given interferon treatment in the patients group (respectively for TAS, TOS, OSI $p = 0.676$, $p = 0.714$, $p = 0.937$).

Discussion: Elevated levels of total oxidant stress (TOS) and lower levels of total antioxidant stress (TAS) implicated the existence of prominent oxidative stress in patients group. Total oxidant stress (TOS) was elevated in cirrhotic patients. Total antioxidant stress (TAS) was not different between cirrhotic and non cirrhotic patients. These findings suggest that oxidative stress plays a role in the pathogenesis of chronic hepatitis D.

Conclusion: Current treatment options for chronic hepatitis D are limited to achieve successful therapy than other chronic viral hepatitises and there is no alternative therapy in the case of interferon contraindication. Conduction of new studies suggesting of oxidative stress in the pathogenesis of chronic hepatitis D, may led to alternative therapy options.

Key Words: Hepatitis, hepatitis D virus (HDV), oxidative stress, total oxidant stress, total antioxidant stress

I-GİRİŞ

Hepatit D insanda kronik viral hepatitin en ciddi formudur. Defektif bir RNA virüsü olup yaşam siklusu için hepatit B virüs yüzey antijenine ihtiyaç duyar. Bu hastalıkta fibrozis daha hızlı seyrettiğinden kronik hepatit B mono enfeksiyonuna oranla siroz, siroz dekompanzasyonu ve artmış hepatoselüler kanser riski daha fazla görülür. Değertekin ve arkadaşlarının çalışmasında Güneydoğu Anadolu bölgesindeki siroz ve hepatoselüler kanser vakalarının neredeyse yarısından kronik hepatit D (KHD) sorumludur (1). Yapılan birçok ilaç denemesine rağmen tek tedavi seçeneği hala pegile interferon(İNF) tedavisidir. Bu tedavi ile sağlanan virolojik yanıt oranları %30 seviyelerinde kalmaktadır (2).

Tüm hücreler metabolik sürecin bir parçası olarak devamlı şekilde serbest radikaller ve reaktif oksijen gruplarını oluştururlar. Bu serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri kompleks bir antioksidan sistem tarafından nötralize edilir. Serbest radikalleri ve reaktif oksijen türleri ile antioksidan sistem arasındaki dengesizlik oksidatif strese neden olur. Bu dengesizlik ise hücre hasarıyla sonuçlanabilir.

Birçok in-vitro ve in-vivo gözlemler oksidatif stres ve ilişkili hasarın kronik karaciğeri hasarının değişik formları ve karaciğer fibrozisi arasında yaygın bağlantı olduğunu desteklemektedir (3). Kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin DNA ve RNA hasarına neden olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (3). Fibrozis sürecinde reaktif oksijen türleri; kollajen I gen regülasyonu, sitokin salınımını etkileyerek önemli rol oynamaktadır (3).

Kronik hepatit B' de oksidatif stresin önemi pek çok çalışmada ortaya konmuştur. Bölükbaş ve arkadaşları kronik hepatit B enfeksiyonunun değişik dönemlerindeki hasta gruplarında (aktif hepatit ve sirozlularda) kontrol grubuna oranla oksidatif stresin belirgin olduğunu göstermişlerdir (4). Duygu ve arkadaşları kronik hepatit B hastalarında total antioksidan kapasitenin hastalığın şiddetiyle orantılı olarak azaldığını göstermişlerdir (5). Venturini ve arkadaşlarının çalışmasında ise tedavi edilmemiş kronik hepatit C hastalarında total antioksidan kapasitede azalma ve pro-oksidatif aktivitede artış olduğunu göstermişlerdir (6). Türkiye' den yapılan bir çalışmada da kronik hepatit C hastalarında oksidatif stres artışı ortaya konmuştur(7).

Bu çalışmamızdaki amaç Kronik Delta hepatitli hastalarda total antioksidan ve total oksidan düzeylerini tesbit edip İNF tedavisi almış siroz gelişen, İNF tedavisi almış

siroz gelişmeyen, İNF tedavisi almamış siroz gelişmemiş hastalar, İNF tedavisi almamış siroz gelişen hastaları sağlıklı kontrol gurubu ile karşılaştırmaktır.

II-GENEL BİLGİLER

2. 1. DELTA HEPATİT

2.1.1.Viroloji

Hepatit delta virüs (HDV) sadece hepatit B virus (HBV) infeksiyonu olan kişilerde viral hepatit etkeni olabilen defektif bir virüstür. HDV viral taksonomide satellit virüsler içerisinde kabul edilmektedir. Satellit virüslerin ortak özelliği; kendine yardımcı bir virüs ile beraber konakta hastalık meydana getirmesidir.

Delta hepatit insanlarda akut ve kronik karaciğer hastalığına yol açmaktadır. HDV ilk olarak Rizzetto ve arkadaşları tarafından 1977 yılında HBV ile infekte hastalara ait hepatositlerin çekirdeğinde yeni bir antijen olarak tanımlanmıştır (8). HBV'den daha küçük boyutlu olan HDV, çapı 36 nm'den 43 nm'ye ulaşan, sferik yapıda bir virüstür. HDV genomu 1986 yılında sekanslanmıştır. Tek sarmalli, yaklaşık 1700 nükleotidden oluşan RNA virüsüdür. Genom, HDV tarafından kodlanmış bir RNA polimeraz yerine konağa ait RNA polimeraz II tarafından replike edilir. HDV-RNA replikasyonu kendi kendine bölünme ile dönen dairesel bir mekanizma ile oluşur. HDV-RNA, HDV antijeni (HDAg) olarak isimlendirilen, 68.000 daltonluk bir nükleokapsid ile çevrilidir. Bu antijenin kendisi de HBsAg ile çevrilidir. Nonglikozile fosfoprotein olan HDAg, HDV genomunun tek ürünüdür (9). HDV, karaciğer hücrelerinde replike olur. Virüsün RNA polimeraz enziminin olmaması ve hücrel RNA polimeraz II aracılığı ile replike olması en önemli özelliğidir. DNA'dan RNA sentezlenen bu hücrel enzimin viral RNA'ya yönlendirilmesi HDV'ye özgüdür. HDAg direkt olarak RNA polimeraz II'ye bağlanarak molekülü aktive eder. Sonuç olarak lineer tek bir RNA molekülü oluşur. Oluşan moleküller hücre sitoplazmasına geçerek HDAg sentezine başlar. Sentezlenen genomik RNA'lar HDAg ile bağlanır. Bir yandan da HDAg dimerizasyonu ile nükleokapsit oluşur. Hücre çekirdeğinde oluşan nükleokapsit endoplazmik retikulumda HBsAg ile etkileşerek zarfını kazanır. Hücre dışına salınma HBV'ye benzer şekilde olduğu düşünülmektedir (10).

2.1.2.Genotipler

%19-38 sekans varyasyonuna dayanılarak bugüne kadar 8 HDV genotipi tanımlanmıştır (11, 12). Eski terminolojide genotip 2a ve 2b sadece %77 nükleotid homolojisine sahip olduğundan, yeni terminolojide genotip 2 ve 4 olarak değiştirildi.

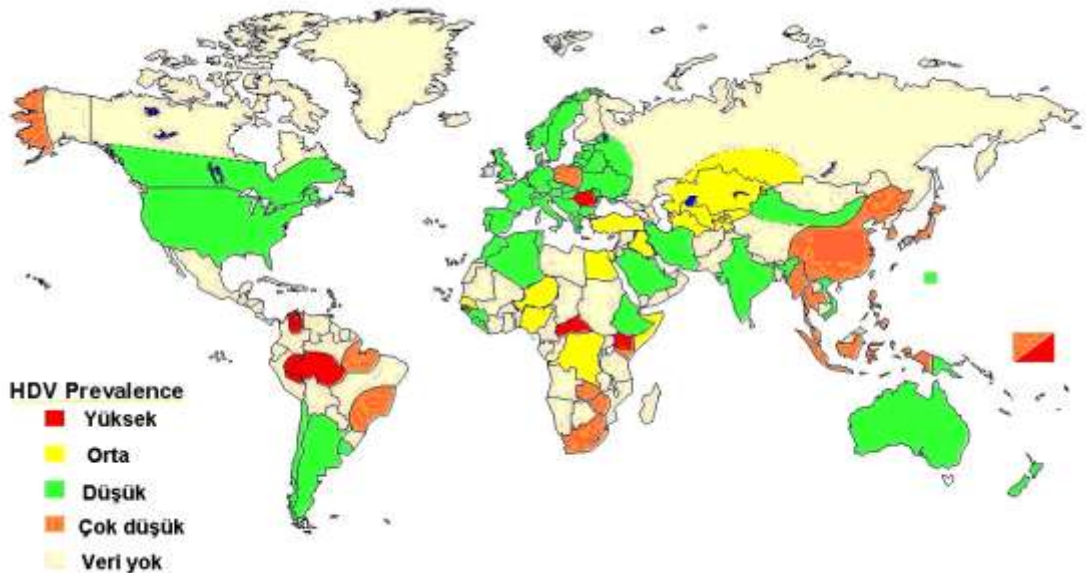
Genotip 5, 6, 7 ve 8 ise son zamanlarda tanımlandı ve bunlar Afrika'dan izole edildi (11, 12). Genotip 1 en sık görülen tiptir ve tüm dünyada yaygındır (13). En sık görüldüğü yerler Akdeniz ülkeleri, Afrika, Avrupa ve Kuzey Amerika'dır. Genotip 2 ve 4 sıklıkla Uzak Doğu ve Rusya'nın bazı bölgelerinde görülmektedir ve genotip 1 ile karşılaştırıldığında daha hafif hastalık seyriyle ilişkidir (14, 15). Bununla birlikte genotip 4 (önceki genotip 2b)varyant şiddetli karaciğer hastalığı ile ilişkili olabilir (16). Genotip 3 en şiddetli karaciğer hastalığının nedenidir ve özellikle Kolombiya, Venezuela, Peru ve Ekvator gibi Güney Amerika'nın kuzey ülkelerinde şiddetli ve fulminan olgulardan sorumludur (17). İki yeni çalışmada, kronik delta hepatitinde HDV ve HBV genotiplerinin önemine değinildi (18, 19). Brezilya'dan bildirilen bir çalışmada, HDV viral yükünün genotip A'da genotip D ve F'den daha düşük olduğu fakat bu farkın hastalık seyrinde bir etkisinin gözlenmediği belirtildi (19). Bununla birlikte hasta sayısının nisbeten azlığının sonuçlar üzerine olası etkisi göz önünde tutulmalı. Genotip B ve C HBV ile genotip 1 ve 2 HDV 'li 194 delta hepatit hastasını içeren bir Tayvan çalışması, akut karaciğer yetersizliği insidansının genotip 1' de genotip 2' den uzun süreli izlemde genotip 1'in daha düşük remisyon oranlı ve daha olumsuz seyir ile ilişkili olduğunu saptadı. Benzer olarak, genotip C HBV 'de genotip B HBV'den daha düşük remisyon ve daha kötü prognoz ile ilişkili bulundu. Çok değişkenli analizde, yaş, genotip C HBV ve genotip 1 HDV olumsuz sonuçların bağımsız belirleyicileriydi (18). Genotip 1 ve 2 HDV'nin farklı klinik seyirlerinin nedeni bu iki genotipin viryon morfogenezinin ve HDV replikasyonunun farklı olmasında yatabilir. Nitekim, in vitro çalışmalarda, genotip 1 HDV'nin viryon morfogenez etkinliğinin, genotip 2'ye göre daha fazla olduğu belirtilmiştir (20). Yine, Tayvan kaynaklı bir genotip 2 klonu hücre kültürlerinde İtalyan kaynaklı bir genotip 1 klonu ile karşılaştırıldığında 100 kat daha az RNA replikasyonuna sahip olduğu saptanmıştır (21). Bütün bunlara karşılık, genotip 1 HDV'nin de son yıllarda hastalığın ilk saptandığı 70'li yıllara göre nisbeten daha selim seyrettiği de gözlenmektedir (22, 23).

2.1.3.Epidemiyoloji

HDV parenteral yolla bulaşır. En sık damar içi yoldan ilaç kullananlar, çok sayıda cinsel eşi olanlar, sık kan ürünü verilenler, dövme yaptırnanlar ve HDV enfeksiyonu olan kişilerin aile bireylerinde görülür. Organ ve doku nakli ile bulaşabilir. Hijyen koşullarının kötü olduğu, aşırı kalabalık yaşam koşullarında virüsün bulaşması kolaylaşır. Bir çalışmada aile içi bulaşmada en önemli risk faktörünün, aynı evde yaşayan birey sayısı olduğu bulunmuştur (24, 25).

HDV infeksiyonu tüm dünyada görülür. HDV görülme sıklığının HBV ile ilişkili olduğu bildirilmektedir ancak HBV prevalansının yüksek olduğu her ülkede HDV prevalansı yüksek değildir. HBV'nin alınma yaşı gibi bazı faktörlerin, HDV sıklığını etkilediği düşünülmektedir. Örneğin Alaska yerlilerinde HBV infeksiyonu çocukluk çağında alınmaktadır, HDV infeksiyonu ise ihmal edilebilir sıklıktadır. HDV Orta Doğu ülkelerinde endemik olarak bulunmaktadır. İtalya, bazı Doğu Avrupa ülkeleri, Amazon havzası, Venezuela, Kolombiya, Pasifik adaları, Pakistan ve Batı Asya prevalansın yüksek olduğu yerlerdir (26).

HBV ile infekte kişilerde HDV seroprevalansı Güney Amerika, Orta ve Doğu Asya' da %20-60, Akdeniz havzası, Doğu Avrupa ve Batı Afrika'da %5-20, Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika' da %0,5-2 oranındadır (27). Ülkemizde 32 çalışmanın alındığı bir meta analizde inaktif HBV taşıyıcılarında 1980- 1990 yılları arasında %7.4 olan HDV sıklığının 2001-2009 yılları arasında %1.4'e gerilediği bildirilmiştir. Bu araştırmada da görüldüğü üzere son on yıl içinde HDV epidemiyolojisinde değişim olmuştur. Çevresel koşulların düzelmesi, hijyen konusunda bilinçlenme, HBV aşısının yaygın kullanımı ile HDV infeksiyonu sıklığında da azalma görülmüştür. Anti-HDV pozitifliği açısından ülkemizin doğusu ve batısı farklılık göstermektedir. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde anti-HDV pozitifliği %23-27 iken Batı Anadolu'da % 15 civarındadır (28).



Şekil 1. HDV infeksiyonunun dünya üzerindeki dağılımı

2.1.4. Delta Hepatitinde Patogenez

HDV infeksiyonunun patogenezi, tam olarak açıklanamamıştır. HDV'nin direkt sitopatik etkili olduğunu bildiren çalışmalar vardır. Bu hastalarda da hepatit B ve hepatit C'li hastalardaki gibi hepatosellüler hasarın, immün cevap ile gelişmesi olasıdır. Akut Delta hepatitindeki hastalık aktivitesinin, artmış immün cevap ve azalmış HDV replikasyonu ile paralel olduğu bilinmektedir. HDV'nin küçük ve büyük proteinlerinin deneysel modellerde infekte hücrelerdeki ekspresyonu; büyüme potansiyelini azaltmış veya toksisiteye neden olmuştur. Küçük proteininin avian hücrelerinde eksprese olduğunda ise anlamlı olarak apoptosisi indüklediği gösterilmiştir. Bununla birlikte HDV ile infekte insanların hepatositlerinde, transgenik fare modellerinde ve sadece Delta antijeni eksprese eden dokularda HDV varlığına rağmen karaciğer hasarı saptanmadığını dolayısıyla sitopatik olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (34, 35). Delta hepatitinin kronik fazında infekte hepatositler çevresinde inflamatuvar hücrelerin ve değişik antikorların gösterilmesi, patogenezde immün cevabın da rolü olduğunu düşündürmüştür. En sık olarak da karaciğer-böbrek mikrozomal antikor tip 3 (anti-LKM 3) pozitifliği görülmüş ve ürüdin difosfat glukuronil transferaz 1'e karşı geliştiği bildirilmiştir (34, 35).

Ciddi ve hızlı progresyon göstermesi delta virüsünü yüksek patojenik virüs haline dönüştürmektedir. HDV infeksiyonlu hastaların %70'inde siroz gelişmektedir. Genellikle siroza ilerleyiş 5-10 yıl kadar devam etsede bunların yaklaşık %15'inde ilk birkaç yıl içinde görülmektedir. Bununla birlikte siroz gelişiminden sonra yıllarca stabil olarak devam edebilmektedir (30, 37, 38).

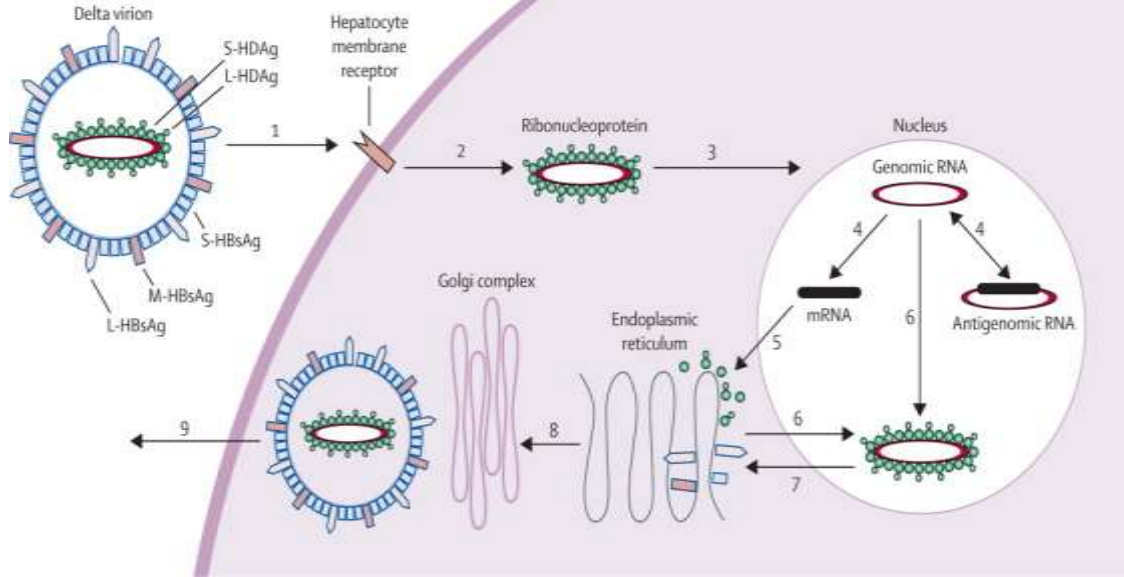
HDV replikasyonunun konak hücre proliferasyonu üzerine zararlı etkileri in vitro transfekte edilmiş hücrelerde gösterilmiştir (39). HDV süperinfeksiyonu sonrası karaciğer hücrelerinin mononükleer hücreler tarafından belirgin olarak infiltre olması, delta hepatitinde karaciğer hasarının primer olarak immün sistem aracılıklı olabileceğini düşündürmüştür. Daha sonraları yapılan çalışmalarda da HDV'li hastaların periferik kanlarında infeksiyon aktivitesinin düşmesi ile ilişkili olarak HDV-Ag'e spesifik T hücre (CD4 ve CD8) yanıtı saptanmıştır. Delta antijenine spesifik CD4+Th (T helper) yanıtının karaciğer hasarının artmasında ve viral klirenste etkili olabileceği ileri sürülmüş ancak bunlar aktif delta hepatitinde gösterilemediğinden konak immün sistemin (CD4 ve CD8 T lenfositler) karaciğer hasarında önemli bir rolü olduğu olası görülmektedir (40, 41).

Hastalığa yanıtta oluşan farklılıklar viruse, konağa veya çevresel faktörlere bağlı olabilir. Viral faktörler arasında HBV ve HDV replikasyonu arasındaki ilişki, yüksek sensitif PCR testleri kullanılmasıyla tekrar değerlendirilmeye alınmıştır. Kronik HDV enfeksiyonlu hastaların büyük bir kısmında anti-HBe pozitif ve düşük düzeyde HBV-DNA replikasyonu vardır (42, 43). HDV negatif kronik hepatit B'li hastalardakinin aksine kronik hepatit D'li hastalardaki HBV-DNA ile ALT arasında bir korelasyon bulunmamaktadır. Bu da bu hastalarda karaciğer hasarının başlıca nedeninin HDV olduğunu göstermektedir (43). Benzer bir şekilde asemptomatik HDV taşıyıcılarında HBV baskılanmıştır (33). Bununla birlikte HDV'nin düşük düzeyleri ile karakterize paterninde, orta düzey yükseklikte ALT ile birlikte HBV reaktivasyonu, Tayvan'lı delta hepatitli hastalarda tarif edilmiştir (31). Damar içi madde bağımlılarında HDV enfeksiyonu en sık HBeAg pozitifliği ve aktif HBV replikasyonu ile birlikte görülür. Bu patern HDV'nin patojenitesini artırabilir (44).

HDV antijenleri kodlayan dizilerdeki özellikle B ve T hücre epitoplarındaki genetik rekombinasyon virüsün evolüsyonunda ve farklılaşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Nitekim akut alevlenme sonrası S-HDAg (küçük delta antijeni)'nin B hücre epitoplarında aminoasit değişiklikleri sonucu meydana gelmiş yeni dominant epitoplar saptanmıştır. Bu değişiklikler sonucunda konağın immün yanıtından kaçmasını sağlayan kaçak (escape) mutasyonlar meydana gelebildiği de bildirilmiştir (32). Ayrıca viral persistans ve hastalığın seyri ile ilişkili olan birçok viral enfeksiyonda saptanmış defektif virüsler, kronik HDV enfeksiyonlu hastalarda da saptanmıştır. Bunlar doğal tipleri olmadıkça replike olamaz ve yeni bir virüs yapısı oluşturamazlar. Bu parametrelerin HDV'nin yüksek kronisitesinde ve patojenezinde etkili olduğu düşünülmektedir (34).

DNA virüslerinin tersine her iki RNA virüsü otoimmün belirtilerle ilişkilidir. Hepatit C virüs (HCV) enfeksiyonunda %0-5 LKM1 otoantikörlere rastlanırken, HDV enfeksiyonunda %13 oranında LKM3 gözlenir. LKM3 otoantikörların moleküler hedefi 1. sınıfta yer alan UDP-glukoronosiltransferazdır. HCV'de LKM1, HDV'de LKM3 otoantikörlarının varlığı değişik hepatotropik virüslerin diğer virüs enfeksiyonlarında saptanmayan spesifik otoantikörları oluşturduğunu göstermektedir. Bu spesifik doku hasarı sonucu nekrotik dokudan salınan makrofajlara maruz kalması ile açıklanamaz. Spesifik virüs enfeksiyonlarına bağlı otoantikörların oluşmasında spesifik yolların açığa çıkarılması gerekmektedir (45). Kronik hepatit D'nin doğal seyrini değiştirebilecek diğer faktör ise diğer virüslerle koinfeksiyondur. Üçlü enfeksiyonlarda HDV'nin hem HBV ve hem HCV'yi inhibe ederek dominant rol oynadığı birkaç çalışmada gösterilmiştir. Kronik HDV

infeksiyonu eşzamanlı HIV (Human Immunodeficiency Virus) infeksiyonundan ise pek etkilenmemektedir. Yalnız, bu vakalarda HDV'ye karşı antikor immün yanıtı yoktur veya saptanması çok zordur (46).



Şekil 2. Delta virüsünün yaşam döngüsü (34, 35).

2.1.5. Delta Hepatitinde Histolojik Değişiklikler

Viral hepatitlerde histopatolojik değişiklikler temel olarak iki grup altında toplanabilir. Biri etyolojik ajandan bağımsız, tüm viral hepatitlerde gözlenen, elementer lezyonlar, diğeri ise virüse özgü bulgulardır. Akut viral hepatitler, çok hafif bir morfolojik değişikliktir, ileri fatal karaciğer hasarına kadar yol açabilirler. Tipik akut viral hepatitte panlobüler fokal nekrozlar izlenir. Bazı parankimal hücrelerde hidropik dejenerasyon (balonlaşma) izlenirken, bazılarında apoptoz görülür. Az oranda steatoz tabloya eşlik edebilir. Hepatositlerde mitoz, multinükleer dev hücre transformasyonu gözlenebilir. Hepatositlerdeki bu değişiklikler farklı boyutlarda hepatosit oluşumuna yol açarak kordonlarda düzensizliğe yol açarlar. Buna "lobuler disarray (lobüler düzensizlik)" adı verilir. Lobüler düzensizlik akut hepatit tanısı için diagnostik bulgudur. Lenfositten zengin mononükleer hücrelerden oluşan, parankimal infiltrasyon, akut hepatitlerin bir diğeri bulgusudur. Kesitlerde gözlenen küçük lenfosit topları, sitotoksik T lenfositleri ile oluşan hücre ölümünü temsil eder. Bu "fokal inflamasyon", "fokal nekroz" veya "spotty nekroz" olarak tanımlanır. Akut hepatit sırasında, Kupffer hücreleri büyük belirgin hale

gelir ve ölen hepatositlerden salınan maddeleri fagosite ederler. İyileşen akut hepatitlerin ileri dönemlerinde portal ve parankimal hasarın hemen tümü geriler. Çok az miktarda iltihap ve hepatosellüler reaktif değişiklikler, daha uzun süre görülebilir (47). Kronik hepatitlerde ise izlenen elementer lezyonlar fokal nekroz, portal inflamasyon, fibrozis ve sirozdur. Fokal nekroinflamasyon, küçük mononükleer hücre toplantisıdır. Şiddetli hepatitlerde konfluent nekroz izlenebilir. Portal iltihap, hafif, orta veya yoğun olabilir. İnterfaz hepatiti, daha önce "piece-meal nekroz" olarak isimlendirilen periportal lezyondur. İnterfaz hepatiti hepatosit apopitozunu gösterir. Hasarın rejenerasyonla iyileşmediği durumlarda fibrozis gelişir. Fibrozis portal alanlarda başlar ve periportal alana ulaşır. Daha ileri dönemlerde köprüleşme fibrozisleri meydana gelir. Nekroinflamasyonun devamı halinde progressif fibrosiz ve parankimal rejenerasyon ile siroz oluşur. Karaciğer biyopsisini inceleyen patolog, öncelikle patolojinin kronik hepatit ile uyumlu olup olmadığına karar vermelidir. Daha sonra, tanı kronik hepatit ise, etiyolojik tanı konmalı veya bulgular etiyoloji açısından değerlendirilmelidir. Tüm kronik viral hepatitlerde yukarıda tanımlanan elementer lezyonlar gözlenir. Bu morfolojik değişikliklere ek olarak virüslere spesifik değişiklikler bulunur ve bu spesifik değişikliklerin izlenmesi ile etiyolojik tanıya gidilir (47). Delta hepatitinin kronik fazında infekte hepatositler çevresinde inflamatuvar hücrelerin ve değişik antikörlerin gösterilmesi, immün cevabın da rolü olduğunu düşündürmüştür. En sık olarak da karaciğer-böbrek mikrozomal antikör tip 3 (anti-LKM 3) pozitifliği görülmüş ve ürüdin difosfat glukuronil transferaz 1'e karşı geliştiği bildirilmiştir (34, 36).

Akut D hepatitinde izlenen hepatosellüler hasar, akut B ve C hepatitinden daha şiddetlidir. HDV hepatitlerinde interfaz aktivitesi daha fazla ve lobüler nekroinflamasyon daha belirgindir. Enfekte hepatositteki vakuoler değişiklikler nedeni ile hücre multiveziküler bir görüntü alır ve "Morul hücresi" olarak adlandırılır. Bu görüntü hasarlı hepatositteki mikroveziküler yağlanma sonucu oluşur (47). Kronik Delta hepatitli bir hastadan alınan biyopside HBV ve HDV'ye özgü morfolojik bulgular birlikte izlenir. Kronik B hepatiti için iki adet diagnostik bulgu mevcuttur. Bu diagnostik bulgular "buzlu cam tarzında sitoplazma" ve "kumsu nükleus"dur. Tipik buzlu cam sitoplazmalı hücrelerde bir halo bulunmaktadır. Kumsu nükleus çok miktarda HBcAg içeren nükleusun santral kısmının soluk, eozinofilik görüntüsüne verilen isimdir. Buzlu cam görüntüsünde sitoplazma, kronik hepatit B için diagnostik olmakla birlikte spesifik değildir. Buzlu cam görüntüsündeki sitoplazmada immünohistokimyasal olarak HBsAg varlığının gösterilmesi

HBV için spesifiktir. Kumsu görüntüdeki nükleuslarda immünohistokimyasal olarak HBcAg varlığının gösterilmesi HBV varlığı için spesifik bir bulgudur. Kronik D hepatitinde, kronik B hepatitinde tanımlanan bu morfolojik değişikliklerin tümü izlenir. Ancak kronik D hepatitinde, karaciğer hasarı daha fazla, dolayısıyla histolojik aktivite indeksi daha yüksektir. Progresyon riski, kronik B hepatitinden daha fazladır. HDV selektif olarak HBcAg ve HBeAg'yi süprese eder. Ancak HBsAg'yi süprese etmez (48). Kronik Delta hepatitlerinde spesifik bulgular olarak, belirgin interfaz aktivitesi ve lobüler hepatit izlenir. Nükleuslarda fazla miktarda HDAg toplanması nedeniyle nükleus kumsu görünümündedir. Delta hepatiti için spesifik bulgu, delta antijeninin hepatosit nükleusunda, immünohistokimyasal olarak gösterilmesidir. Her kronik D hepatitinde, HDAg pozitifitesi saptanmayabilir. HDV-RNA insitu hibridizasyon ve PCR yöntemi ile dokuda gösterilebilir ve sensitivitesi immünohistokimyadan daha fazladır.

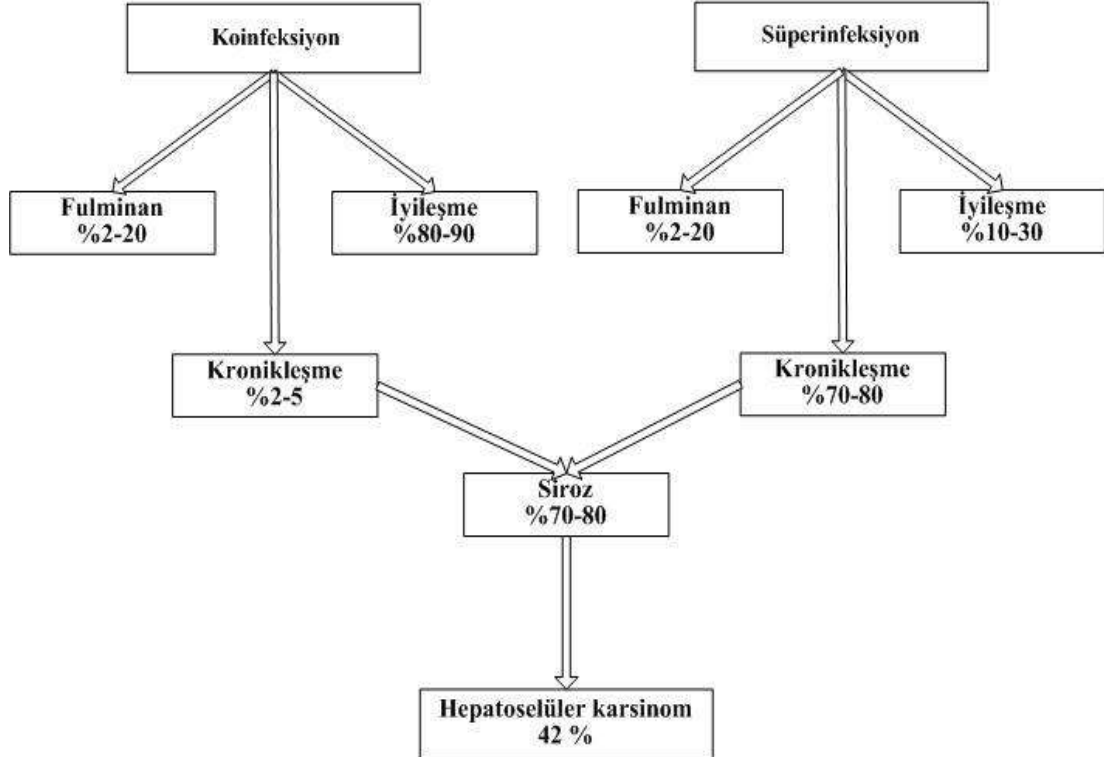
Hepatit D'nin şiddeti ve patogenezinde genotiplerin farklı bir rol oynayıp oynamadığı sorusunun cevabı ise hala belli değildir. Ancak genotip 3 ile fulminan hepatit gelişimi arasındaki bağlantı bu genotipin yüksek bir patojeniteye sahip olduğunu göstermektedir. Öte yandan genotip 1'in fulminan hepatitin de dahil olduğu hastalığın şiddetinin geniş bir spektrumla birlikte görülmesi hastalığın patogenezinde genotipin direkt rol oynadığı görüşüne uymamaktadır (40).

2.1.6. Akut Delta Hepatiti

Akut HDV enfeksiyonu iki şekilde olabilir. Birincisi HBV enfeksiyonu ile eşzamanlı olarak gelişerek koenfeksiyon şeklinde, ya da daha önceki HBV enfeksiyonu zemininde gelişen süperenfeksiyon şeklinde gelişir. Akut delta hepatitinde klinik tablo diğer hepatit virüslerine benzer bir akut hepatit tablosu şeklinde kendini gösterir. Klinik seyir değişkenlik göstermekle birlikte, genel olarak diğer viral hepatitlere göre daha ağır seyirli (53). Yaklaşık 3-7 haftalık bir inkübasyon periyodundan sonra preikterik faz başlar. Bu evrede 3-7 gün kadar süren halsizlik, letarji, iştahsızlık ve bulantı gibi nonspesifik bulgular vardır. Preikterik faz boyunca serum transaminaz düzeyleri bozulmaya başlar. Viral replikasyon ise azalmaktadır. İkterik fazın başlangıcı sarılık oluşumu ile karakterizedir. Ancak bu faz her zaman gelişmeyebilir. Halsizlik ve bulantı genellikle sebat eder ve bilirubin düzeyleri yükselmeye başlar; idrar rengi koyulaşır. Akut ancak kendini sınırlayan enfeksiyonu olan hastalarda iyileşme dönemi, klinik semptomların kaybolmasıyla başlar. İştahsızlık ve bulantı görece olarak daha erken kaybolur, ancak

halsizlik ve letarji haftalar veya aylarca sürebilir. Akut infeksiyon tablosu 2-10 hafta içinde kendiliğinden kaybolur. Akut delta hepatitinde mortalite %5-20 arasında değişmektedir. Şayet fulminan seyir gelişirse, mortalite daha fazla artmaktadır. Fulminan hepatit gelişen hastalarının %3-25'inden delta hepatiti sorumludur (54). Bu oran kronik B hepatiti zemininde gelişen fulminan hepatitli hastalarda %70 düzeylerine erişmektedir (55).

Tablo 1. HDV infeksiyonunda doğal seyir

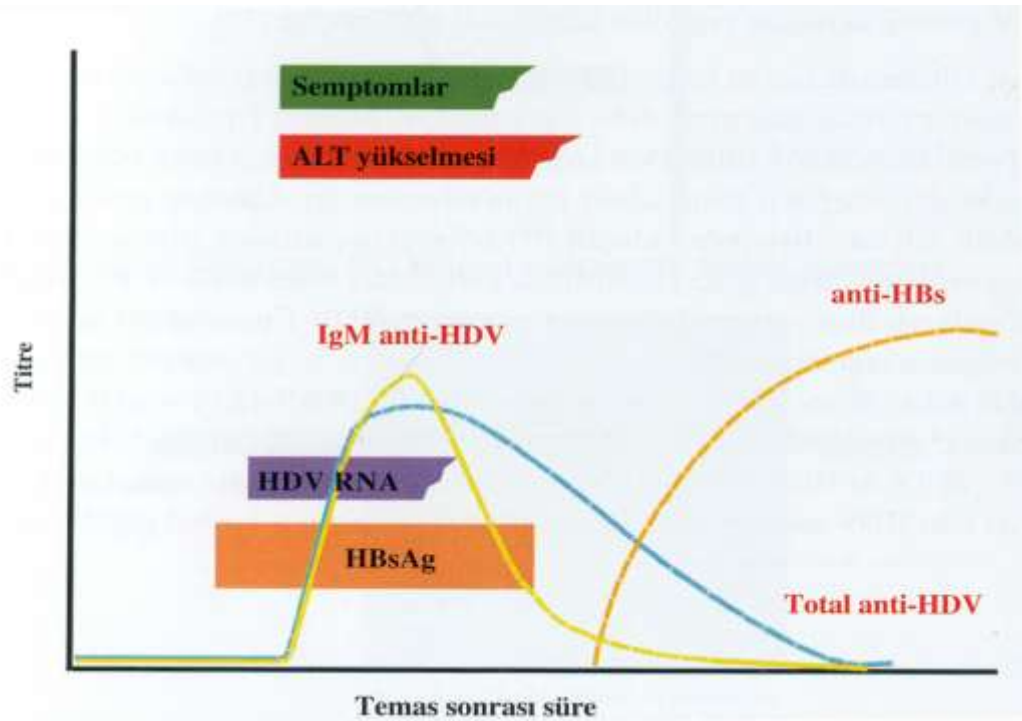


2.1.6.1. Koenfeksiyon

HBV ile Delta virüsünün eşzamanlı infeksiyon yapması “koinfeksiyon” olarak tanımlanır. Bu tabloda klinik seyir tipik bir akut B hepatitinden farklı değildir. Koinfeksiyonların büyük bir kısmı remisyon gösterirken, %2–4.7’si kronikleşir (56, 57). Bu seyirin sebebi; HDV’nun HBV replikasyonunu baskılaması sonucu kendi replikasyonu için gerekli optimal koşulların ortadan kalkmasına bağlanmaktadır. Bununla birlikte damar içi ilaç kullanıcılar arasında karaciğer yetersizliği insidansının yüksek olduğu bildirilmiştir (52). Bazı hastalarda saptanabilen bifazik enzim yükselmesi (önce delta, sonra B hepatitine

bağlı) tipik bir bulgudur (49, 58). Bu durum sıklıkla damar içi ilaç kullananlarda görülür. Bir kaynaktan HBV ve diğer kaynaktan kısa süre içerisinde HDV bulaşır ve bifazik enzim yükselmesini teorik olarak izah eder. Bir diğer açıklamaya göre ise HDV, HBV replikasyonunu baskılayarak dominant virus olur ve ilk hepatit atağını yapar. HDV ile infekte hepatositlerin klirensi sonucu HBV reaktivasyonu ve ikinci hepatitik atak meydana gelir. Genel düşünce, koinfeksiyonda kronikleşme riskinin artmadığı yönündedir (58). Bu konuda yapılmış detaylı ve şeffaf çalışma sayısı yeterli olmamakla birlikte, selim seyre işaret eden tek anlamlı çalışma bir İtalyan çalışmasına dayanmaktadır. Bu çalışmada 42 akut delta koinfeksiyonlu hasta takip edildiğinde tümünde anti-HBs pozitifleştiği ve kronikleşme olmadığı bildirilmiştir (59).

Ülkemizde yapılan bir araştırmada akut delta koinfeksiyonu sıklığı %13, ciddi veya fulminan hepatit gelişme sıklığı %10, bifazik enzim yükselmesi %30 ve kronikleşme ise %5 olarak bildirilmiştir (60).



Şekil 3. Koinfeksiyonda serolojik bulgular

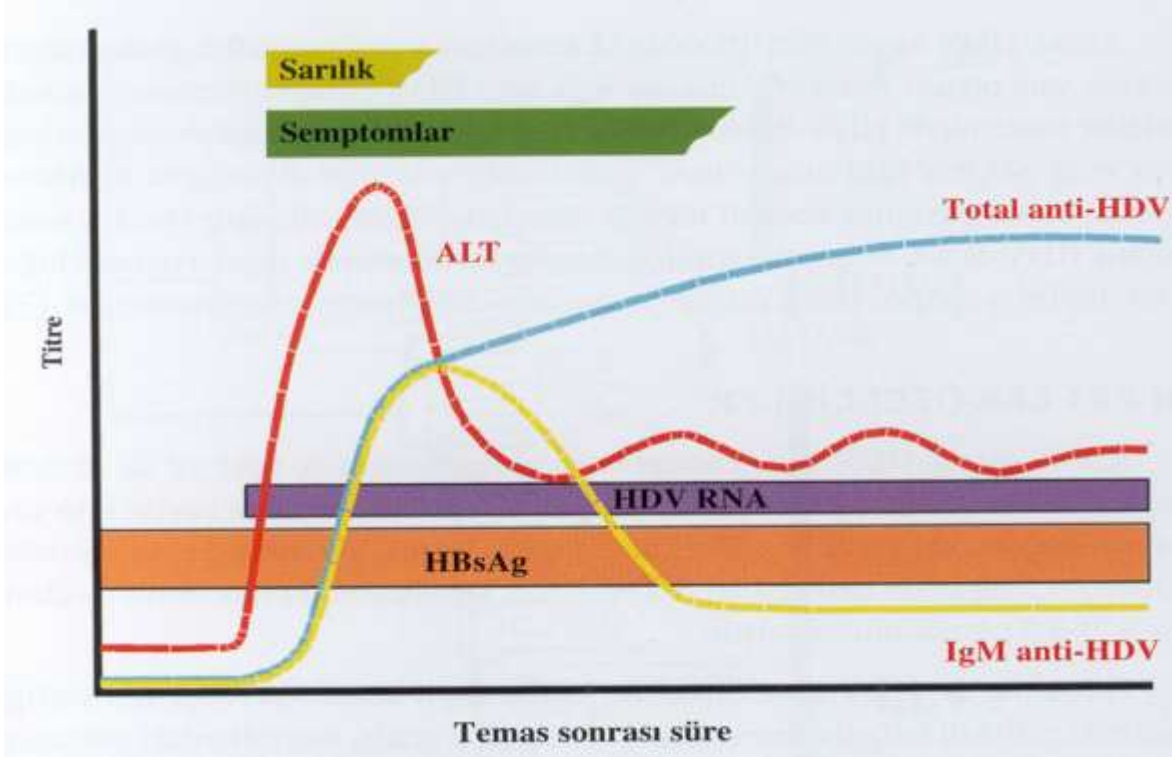
Fulminan hepatit riski, akut delta koinfeksiyonundaki diğeri bir tartışmalı konudur. Özellikle damar içi ilaç kullanan topluluklarda ve genotip II HDV'nun (sitopatik etkili, mikroveziküler steatoz ile karakterize ve sıklıkla HBV genotip F ile birlikte) endemik olduğu Güney Afrika Ülkeleri'nde fulminan hepatit sıklığının %10-40 arasında olduğu bildirilmiştir (61,62). Rusya'nın Samara kentinde saptanan akut delta koinfeksiyonu (genotip I HDV ve genotip D HBV) vakalarının %40'ında fulminan seyir görülmüş ve damar içi ilaç kullanımının en önemli risk faktörü olduğu belirlenmiştir (63). Bu veriler; genotipin yanı sıra, konağın özellikleri (immün sistem vb.), HDV infeksiyonunun bulaşma şekli ve belki de inokülasyon miktarının fulminan hepatit gelişmesinde rolü olabileceğini düşündürmektedir. Güneydoğu Asya'da sık olan genotip II HDV infeksiyonunda fulminan seyir riski daha az ancak kronikleşen hastalarda prognoz daha kötü olduğu belirtilmiştir (64).

2.1.6.2. Süperenfeksiyon

Daha önce HBV seronegatif olan kişide meydana gelen akut hepatit D koinfeksiyonu, HBsAg pozitif olduğu bilinen (kronik HBV infeksiyonlu) kişilerde oluşan akut hepatit D ise süperenfeksiyon olarak tanımlanır (50, 51). Yani HBsAg pozitif bir kişinin sonradan HDV ile enfekte olmasıdır. Süperenfeksiyon akut delta hepatitinin en sık görülen formudur. Burada klinik seyir fulminan hepatite kadar gidebilen ağır bir akut hepatit atağı şeklinde başlamakta ve daha önce mevcut olan hepatitin klinik ve histopatolojik bulgularında belirgin ağırlaşma ile seymektedir (65). Süperenfeksiyonların %50-70'inde ağır akut hepatit formları gelişmekte ve %80'inde kronikleşme gerçekleşmektedir. Bu durum HDV'nun, hepatit B virusunun ağırlıklı olarak kolonize olduğu hepatositleri kendi replikasyonu için enfekte etmesinden kaynaklanır.

HDV süperenfeksiyonu 3 fazda seyrederek. Akut fazda HBV'nin süpresyonu ve aktif HDV replikasyonu, yüksek ALT düzeyleri, kronik fazda HDV azalması ve HBV'nin reaktivasyonu, orta derecede ALT yüksekliği, geç fazda siroz gelişimi ve HCC gelişimi izlenir (49). Ayrıca geç fazda her iki virusun da replikasyonunda azalma görülür.

Kronikleşen hastalarda anti-HDV titresi giderek artar. Yüksek titrede anti-HDV ve HDV RNA pozitifliği ve dokuda HDAg varlığı kronik delta hepatiti tanısı konulmasını sağlayan en güvenilir parametrelerdir (51, 66). HDV süperenfeksiyonuna bağlı gelişen kronik delta hepatiti tüm kronik hepatit formları içerisinde en şiddetli seyredenidir.



Şekil 4. Süperinfeksiyonda serolojik bulgular

2.1.7. Kronik Delta Enfeksiyonu

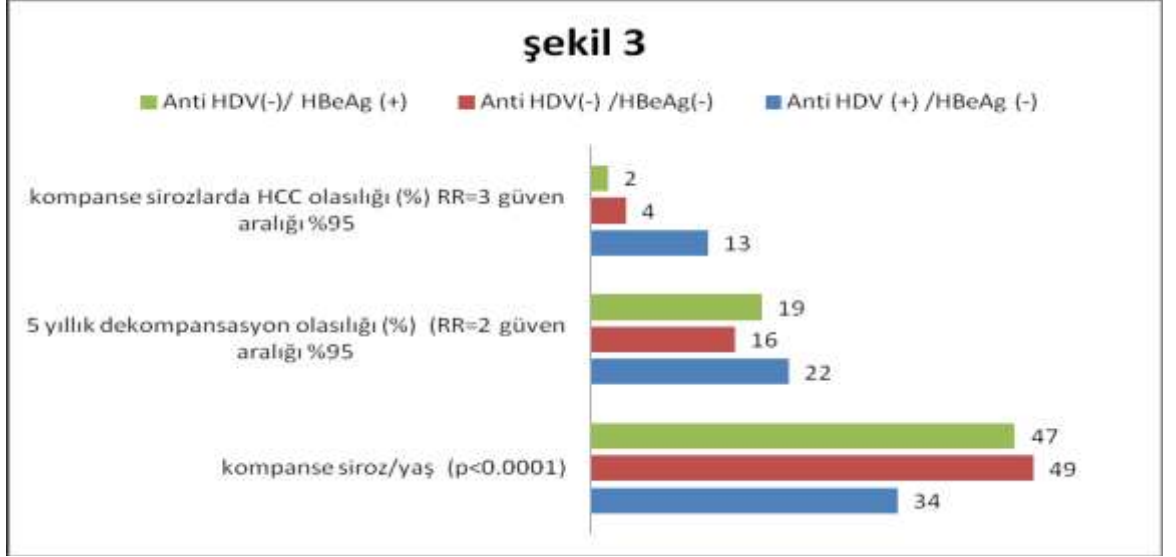
Kronik hepatit formunda anormal karaciğer enzim değerleri, HBsAg pozitifliği, anti-Delta pozitifliği ve serumda HDV RNA pozitifliğinin en az 6 ay süreyle saptanmasıdır. HBV DNA genellikle baskılandığı için negatif saptanmaktadır. KDH sıklıkla süperinfeksiyon sonucu oluşmaktadır. Kronik delta enfeksiyonunda anti-HDV IgM ve IgG serumda saptanır. Karaciğer dokusundan immunhistokimyasal boyalar veya insitu hibridizasyon ile gösterilebilir. KDH enfeksiyonu kronik B monoinfeksiyonuna kıyasla; fibroziste hızlanma, erken dekompanseasyon ve artmış HSK riski taşımaktadır (67). Doğu Anadolu bölgesindeki HDV'e bağlı sirozlu vakaların yaklaşık dörtte birinde HSK geliştiği gözlemlenmiştir (68). Tayvan' da yapılan bir çalışmada KDH'nin 15 yıllık sağ kalım oranı %50'nin altında saptanmıştır (69).

2.1.8. Doğal seyir

HDV diğer viral hepatitlere göre daha ciddi bir hepatit tablosuna neden olmaktadır. Mevcut veriler Dünya genelinde HBV taşıyıcılarının %5'inin HDV ile infekte olduğunu göstermektedir. Bu da Dünya genelinde yaklaşık 15 milyon KDH olduğunu göstermektedir. Asemptomatikten fulminan hepatite kadar çok geniş bir spektrumda infeksiyona neden olmaktadır. Yapılan gözlemsel değerlendirmeler ciddi ve fulminan hepatitlerin HBV/HDV koinfeksiyonlarında, HBV monoinfeksiyonlarına göre daha sık görüldüğünü düşündürmektedir (70). HBV/HDV koinfeksiyonu sonrası kronikleşme oranı HBV monoinfeksiyonu sonrası kronikleşme oranı ile benzerdir (<%5). HBV/HDV süperinfeksiyon sonrası %70-80 kronikleşme beklenmektedir. Kronikleşen vakalarında yaklaşık %70-80'inde 5-10 yıl içerisinde siroza ilerleme beklenmektedir (71). Nadiren süperinfeksiyonlardan sonra hem HBV hem de HDV için spontan klirens gözlenebilmektedir. KDH'nde hastalık progresyonu kronik B hepatitlilere göre daha hızlıdır ve 2 yıl içinde hastaların %10-15'i siroza ilerlemektedir (72). Yapılan geriye dönük bir analizde HBV monoinfeksiyonu veya KDH kompanse sirozlu (Child A) 200 hastanın klinik verileri karşılaştırılmıştır. Doğal seyri etkileyebilecek antiviral tedavi, steroid tedavisi, ek metabolik hastalığı ve başvuru anında HSK olanlar çalışmaya alınmamıştır. Medyan 80 aylık takip verileri değerlendirildiğinde KDH'lilerde (n=39) erken yaşta siroz (p<0.0001) ve HSK geliştiği (p<0.0001) saptanmıştır. Multivaryans analizde KDH'li hastalarda 5 yıllık tahmini HSK görülme olasılığı %13, dekompanse siroz olasılığı da % 37 saptanmıştır. HBV monoinfeksiyonlu hastalara 16 göre 16 KDH'nde HSK gelişme riskinde 5 yılda 3 kat, dekompanse siroz riskinde de 2 kat artış olduğu saptanmıştır (73). (Şekil 5)

Değişik etiyolojilere bağlı karaciğer hastalıklarında fibrozise ilerleme hızını araştıran bir çalışmada 40 yaş altı sirozların 3 hastalık grubunda toplandığı dikkati çekmektedir: HIV ile koinfekte HCV, otoimmün hepatit ve HDV infeksiyonu (74).

KDH'ne bağlı sirozlu 76 hastanın posttransplant takiplerinde %10'unda HBV/HDV reinfeksiyonu saptanmıştır (hastalara pretransplant hepatit B hiperimmunglobulini uygulanmış). %78 hastada HBsAg negatif iken posttransplant 1. yılda serumda HDV-RNA, karaciğer biyopsisinde HDAg pozitifliği tespit edilmiştir. Ancak bu vakaların %5'inde 2 yıl sonrada HDV infeksiyonu persiste etmiştir (75).



Şekil 5. KDH - HBV Monoenfeksiyonu Klinik Seyir Karşılaştırma

2.1.9. Tanı

Delta hepatiti HBsAg taşıyıcısı herkeste göz önünde bulundurulmalıdır. Özellikle yüksek riskli hastalarda ve hiperendemik bölgede yaşayanlarda ciddi olarak araştırılmalıdır. Kronik delta hepatiti klinik olarak diğer kronik viral hepatitlerden ayırt edilemez, yani kronik delta hepatitin klinik özellikleri nonspesifiktir. Bununla birlikte kronik delta hepatit su durumlarda akla gelmelidir (77).

- Anti-HBe (+), HBV DNA (-) kronik B hepatiti;
- Hepatit B enfeksiyonlu bir hastada gözlenen hastalık aktivasyonu;
- Hızlı seyreden, kısa sürede siroz gelişen hepatit B vakaları.

HDV enfeksiyonu tanısı serumda HDAg'ye karşı oluşan IgM ve IgG cinsi antikorların gösterilmesine dayalı olarak dolaylı yoldan konulabilir. Akut olgularda HBsAg koinfeksiyonlarda her zaman pozitif olsa da süperenfeksiyonlarda pozitif olmayabilir. Total anti-HDV titresinin EL_SA ve RIA ile 1/100 üzerinde pozitif olması kronik delta hepatitini düşündürmelidir. Tanı 4 şekilde teyid edilebilir (76, 77, 79).

1. Serumda hepatit delta antijenine karşı gelişen antikorların saptanması
(anti-Delta IgG ve anti-Delta IgM).
2. Serumda HDV RNA'nın PCR yöntemleriyle gösterilmesi.
3. Fikse karaciger dokusunda direkt in situ-hibridisazyonyöntemiyle HDV RNA'nın saptanması.
4. Biyopsi ile alınan karaciger dokusunda immünohistokimyasal teknikler kullanılarak hepatit delta antijeninin gösterilmesi (8, 76).

Akut koinfeksiyon ve süperinfeksiyon olgularında Anti-HBc IgM, HDAg, anti-HD IgM, HDV-RNA ve total anti-HDV pozitif olmaktadır. Kronik olgularda ise anti-HBc IgG ve HDV-RNA'nın her zaman pozitif, HDAg, anti-HD IgM ve total anti-HDV sıklıkla pozitif olarak bulunurlar (78).

Hastalığın tabii seyrini anlamada anti-HD önemli bir araç olarak görülmektedir. Kronik HDV infeksiyonlarında yüksek titrede IgM ve IgG sınıfı anti-HD bulunmaktadır. Ancak kronik olgularda bulunan IgM antikorlar monomerik yapıdadır ve yeni vakalardaki gibi pentamerik değildir. Akut safhada HBV infeksiyonu ile HDV infeksiyonu ayırımında bifazik karaciger fonksiyon testlerinin varlığı önemli bir göstergedir. Ancak bu süperinfeksiyon olgularında görülmeyebilir. Hastalığın seyrinde koinfeksiyon olgularında kanda HBsAg genellikle negatif olur. Bu hastalarda tanıyı gösteren önemli bir laboratuvar bulgusu anti-HD IgG pozitifliği olmaktadır (80).

HDV infeksiyonunun tanısında moleküler tekniklerin gelismesi ile oldukça kolaylıklar sağlanmış bulunmaktadır. Günümüzde en güvenilir tanı araçlarından biri HDV-RNA'nın PCR ile gösterilmesidir. Bu test ile erken dönemde ve antikor oluşumunu beklemeden tanı konulabilmektedir. Hem akut hemde kronik formda kullanışlıdır. PCR'a dayalı metotlar çok daha duyarlı olarak yapılan antiviral tedavinin etkinliğini de takip edebilmektedirler. Bu testler 10-100 kopya sayısı kadar viral genomu bile gösterebilmektedirler(80). Bu amaçla genotipe özgü anti-HD antikorlar immünohistokimyasal boyalar kullanılmaktadır (81).

2.1.9.1.HDV Koenfeksiyonunda Tanı

Serumda HBsAg, HBeAg ve HBV-DNA tıpkı akut hepatit B'de olduğu gibi kuluçka döneminde ortaya çıkar. Klinik hastalığın ortaya çıkmasıyla birlikte eşzamanlı olarak hepatit B kor antijenine (HBcAg) karşı antikor oluşur. Hastalığın pik yaptığı dönemde aktif viral replikasyona ait bulgular sıklıkla kaybolur. Daha sonra iyileşme döneminde HBsAg'ye karşı antikorlar oluşmaya başlar (77). Akut HDV infeksiyonundaki en güvenilir markırlar, serumda anti-HD IgM, viryon ilişkili HDV-RNA ve HDAg'dir. Koinfeksiyonda serum HDAg, HBsAg'nin saptanmasından kısa bir süre sonra veya aynı anda saptanabilir (82). HDAg akut infeksiyonda geç inkübasyon döneminde pozitifleşir ve semptomatik dönemde delta antikorunun ortaya çıkışı ile birlikte pozitifliği önemli ölçüde azalmaktadır.

HDAg'nin kaybolusu ise HBsAg'nin kaybolmasıyla birlikte veya ondan önce olur. HDV'ye karşı anti-HD IgM antikorlarına serokonversiyon HDAg kaybından sonra gelir. Anti-HD IgG ise anti-HD IgM antikorlarının oluşumundan kısa bir süre sonra gelir (77, 80).

Koinfeksiyon paterninde viral replikasyona ait tüm markırlar erken iyileşme döneminde kaybolurlar. Anti-HD antikorları sıklıkla iyileşme döneminde kaybolduklarından dolayı, HDAg ve HDV-RNA akut hepatit tanısında önemlidir. Tam iyileşmeden sonra anti-HD antikorları gittikçe azalarak zaman içinde kaybolabilirler (54).

2.1.9.2.HDV Süperenfeksiyonunda Tanı

HDV ile süperenfeksiyon genellikle persistan HDV infeksiyonu ile sonuçlanır. Süperenfeksiyonda inkübasyon süresi daha kısadır. Pre-akut faz boyunca serumda HDV viremisine ait bulgular ortaya çıkmaya başlar. Takiben akut fazda anti-HD IgM ve anti-HD IgG oluşur. Kroniklesemeye doğru progresyonda, serumda anti-HD antikorlarının titresi artmaya devam eder. Bununla birlikte serum HDVRNA ve HDAg testleri de pozitifleşmiştir (51, 54, 77, 80).

HDV süperenfeksiyonu sırasında, HBsAg taşıyıcılarında gözlenen en önemli serolojik olay, HBV replikasyonunda azalmadır. Buna bağlı olarak dolaşımdaki HBsAg titresinde azalma veya geçici bir kayıp olabilir. Vakaların büyük çoğunda HDV enfeksiyonu kronikleşir ve HDAg karaciğerde saptanmaya devam eder. HBsAg düzeyleri

ise HDV infeksiyonu öncesi düzeylere döner. HDV'ye karşı oluşan yüksek titredeki antikorlar ise persistan HDV infeksiyonu süresince saptanmaya devam eder, ancak anti-HD IgM düzeyindeki düşüş degiskenlik gösterir (54, 47).

Anti-HD IgM ancak HDV-RNA ile birlikte degerlendirildiginde tanisal olarak yeterli olabilmektedir. HDV-RNA kantitatif PCR ile saptanabilmektedir. HDV-RNA konsantrasyonu aynı zamanda HDAg ile paralellik gösterir. Bu dönemde aynı zamanda karaciger HDAg immünfloresan ve immünperoksidaz boyama yöntemleri ile saptanabilir. ALT ise klinik pratikte yararlı olmaktadır (77).

2.1.10.Tedavi

HDV infeksiyonlarının tedavisindeki nihai amaç hem HBV hem de HDV eradikasyonu ya da uzun dönem süpresyonunu sağlamaktır. Kompanse dönemde karaciğer hastalığı olan, biyoşimik, virolojik ve histopatolojik olarak KDH saptanmış tüm hastalar tedavi adaydır. Tedavideki birincil amaç HDV replikasyonunun süpresyonudur. Bu serum ALT seviyesinin normale dönmesi ve karaciğer biyopsisinde nekroinflamasyonun ortadan kalkması olarak da tanımlanabilir. HDV-RNA serumda saptanmaması ve karaciğerde HDAg negatifliğide viral süpresyonun göstergeleridir. Nihai amaç, HBV infeksiyonunun eradikasyonu yani HBsAg serokonversiyonunun sağlanmasıdır. HBV serokonverisyonu sonucu oluşan anti-HBs varlığı ile kişi hem HBV hem de HDV reinfeksiyonundan korunmuş olur. Tedaviye yanıt değerlendirmede, uzun dönem takipli hastalarda fibrozis skorunda 1 azalma veya 4 ve altındaki fibrozis skorunun korunması makul olumlu sonuçlardır. HDV infeksiyonlarında düzenli monitorizasyon çok önemlidir. Dual infeksiyonlu hastada hangi virusun inflamasyonda baskın olduğu ve genotiplerin farklılığı ile farklı klinik sonuçlar ve hastaya özgü farklı tedavi modaliteleri gerektirmektedir.

2.1.10.1. Nükeozid ve nükleozid analogları

HBV infeksiyonlarında kullanılan birçok nükleozid ve nükleotid analogları KDH infeksiyonlarında etkisizdir. Famsiklovir, lamivudin, ribavirin tek başına ve IFN ile kombine verilmesini içeren çalışmalarda bu ilaçların etkisiz olduğu gösterilmiştir. Tenofovir ve klevudin için umut vaat edici çalışmalar olmakla beraber henüz tedavi protokollerine yansıtacak düzeyde değildir (83-85).

2.1.10.2.İnterferon tedavisi

İnterferonlar; bakteri, virus, mantar ve tümoral hücelere karşı immun sistem tarafından oluşturulur. Glikoprotein yapıdadırlar. İlk kez 1950'li yıllarda Japonya'da yapılan virolojik araştırmalar sırasında intraselüler etkinlikleri izlenmiştir. IFN α endojen olarak çoğunlukla monositler ve matür B hücreleri tarafından çeşitli antijenik uyarılara karşı üretilir. İnterferon üretiminin başlıca uyarıları; viral enfeksiyon, çift zincirli RNA, bakteri, protozoa, mikoplazma, polianyonlar, düşük molekül ağırlıklı organik bileşikler, bazı sitokinler, interlökin 1, interlökin 2 ve tümör nekroz faktör gibi büyüme faktörleridir.

Endojen üretilen IFN α 'nın antiviral etkinliği virusun hücre içine girişinin ve viral RNA ile protein sentezinin inhibisyonu ile olur. Bu etkinliğe IFN α 'nın T helper hücreler üzerinden sitotoksik T hücre ve doğal öldürücü hücre aktivitesinde artışa sebep olması yardımcı olur. Ayrıca IFN α yine T helper ve antijen sunucu hücre üzerinden immunmodülatör etki ile hücre hasarının kontrolünü de sağlar (şekil 6).

IFN α 'nın etkisi temelde 3 şekilde olur;

1-Antiviral etki

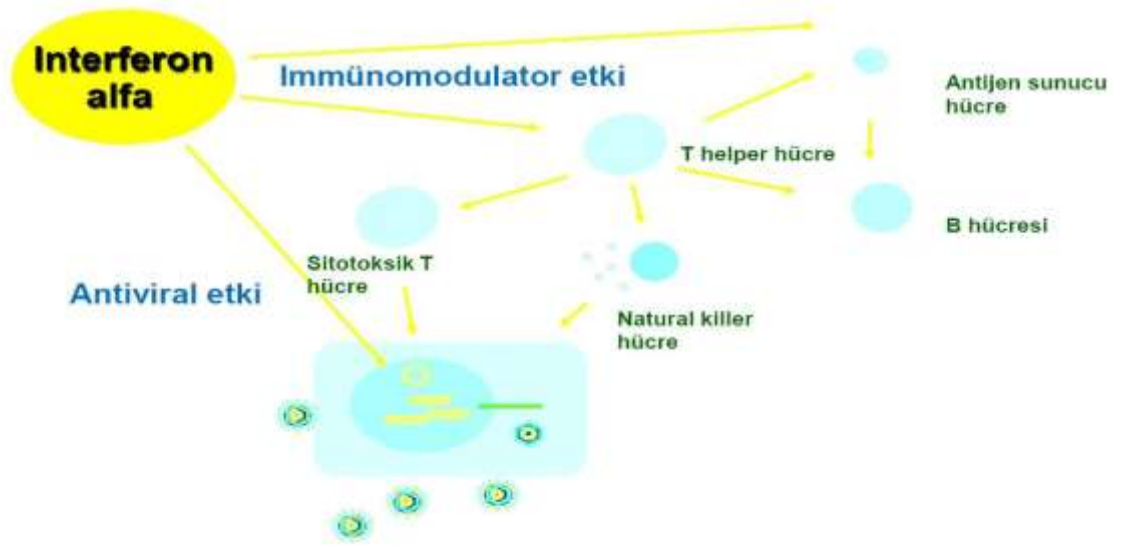
2-İmmunmodülatör etki

3-Antiproliferatif etki

IFN direk olarak antiviral etkili değildir, ancak virüs ile karşılaşan hücrelerden çok sayıda efektör proteinin yapımına neden olur. Sonuçta viral tomurcuklanma, viral penetrasyon, mRNA'nın sentez ve metilasyonu ve-veya viral protein translasyonu engellenir.

IFN α 'nın direkt antiviral etkisi ile ortaya çıkan proteinler etkinliğine aracılık ederler.

IFN aktivitesi



Şekil 6 : İnterferon alfanın etki mekanizması

İnfekte hücre içindeki 2-5 oligonükleotid sentetaz , protein kinaz P1 ve ribonükleaz düzeylerinde artışa sebep olur.

İmmunomodülatör olarak; IFN α viral partikül içeren hücrelerin yüzeyindeki MHC 1 antijen ekspresyonunu artırarak enfekte hücre tanınmasını kolaylaştırır. Ayrıca NK hücre aktivitesi artar (86). Böylece enfekte hepatosit tanınmış ve yok edilmesine aracılık edilmiş olunur.

IFN normal hücrelerde reversibl, neoplastik hücrelerde irreversibl sitostaz yapar. Bu etki ile viral hepatit seyrinde HSK oluşum riskini azaltır.

IFN'ların kollagen sentezini azalttığı ilk olarak dermal fibroblastlar üzerinde yapılmış çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmalar başlangıçta IFN gamma ve skleroderma hastalarında yapılmış olsa da immünomodülatör etkileri ve farklı dokular üzerindeki incelemeler sonucu kronik hepatitlerde IFN α değerlendirmelerine varılmıştır. Hepatik fibrojenizde anahtar rol oynayan stellate hücreler PDGF-BB aracılı aktive olmaktadır. Çalışmalar IFN α 'nın tip 1 kollagen sentezi ve TGF-B aktivitesini baskılayarak fibrojenizi doza bağımlı suprese ettiği ve fibrojenetik aktivitenin yüksek olduğu hücrelerde apoptozu uyardığını göstermiştir.

IFN α tedavisinin sitokrom p450 üzerinde ilaç etkileşimi yoğundur. Nörotoksik, kardiotoksik ve hematotoksik ilaçlar ile birlikte kullanımda bu yan etkiler potansiyelize olabilir. İnterferon tedavisinin en sık yan etkisi grip benzeri sendromdur. Gastrointestinal intolerans, hipersensitivite reaksiyonu, saç dökülmesi, otoantikör oluşumu, tiroid fonksiyon bozukluğu, trombositopenik purpura, hemolitik anemi, myelotoksisite, immüsupresyona bağlı olarak oportunistik infeksiyonlarda artış, psikiyatrik ve nörolojik bozukluklar tedavi sırasında karşılaşılabilecek başlıca problemlerdir. Psikiyatrik bozukluk tedaviyi sınırlayıcı düzeyde depresif episodlar halinde olabilir. Myelotoksisite de doz azaltma sınırı trombosit sayısı için 50000/mm³, granülosit için 750/mm³ 'tür. Trombosit düzeyi 3000, granülosit düzeyi 500'ün altında ise tedavi kesilir. Tedavi sırasında kreatinin, üre ve alkalen fosfataz düzeylerinde yükselme izlenebilir.

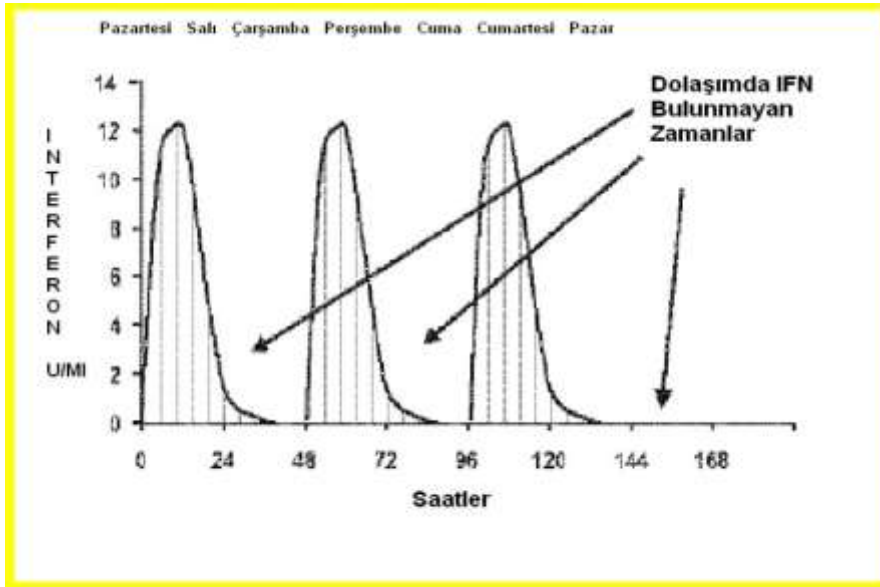
Ciddi kalp hastalığı, dekompanse siroz, renal yetersizlik, intihar eğilimi veya öyküsü, yukarda bahsedilen sınırlarda lökopeni, trombositopeni, otoimmün hepatit, gebelik ve laktasyon, inflamatuvar barsak hastalığı, kontrasepsiyonu reddeden kadın hasta varlığı tedavi için kontrendikasyondur.

Günümüzde KDH'nde onaylanmış tek tedavi seçeneği IFN α 'dır. PegIFN α IFN α 'ya göre daha etkili görülmekle birlikte bu konudaki bilgilerimiz sınırlıdır. Tedavi edilen hastaların küçük bir kısmında HDV klirensi sağlanabilmektedir. İnterferonun KDH'li hastalardaki etki mekanizması açık değildir. İn vitro ortamda IFN α 'nın HDV'ye etkisiz olduğu görülmüştür. Ancak in vivo etkinliğinin patogenezi henüz net olarak aydınlatılamasa da yardımcı virüs HBV'ye etkisi ya da immunmodülatör etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir (87).

Konvansiyonel İnterferon Alfa

KDH hastalarında IFN α ile yapılan çalışmaların çoğunda hasta sayısı az ve sonlanım noktaları açısından farklılıklar içermektedir. Eradikasyon anektodal düzeyde dökümente edilmiştir. Bu anektodal kontrolsüz vaka sunumlarının bazılarında çok uzun dönem IFN tedavisinin HDV replikasyonunu baskılamakla beraber fibroziste ilerlemeye sebep olduğu da gösterilmiştir. Bu konudaki en büyük, çok merkezli çalışmada 61 KDH'li hastanın tümüne 16 hafta boyunca 5 M/Ü IFN α haftada 3 kez uygulandıktan sonra gruplar ikiye bölünerek bir gruba 12 aya tamamlanacak şekilde 3 M/Ü (haftada 3 kez) IFN α , diğer gruba ise plasebo verilmiştir. Tedavi grubunda %25'inde serum ALT'sı normale dönerken

kontrol grubunda ALT normalleşmesi görülmemiştir. Tedavi grubunda tedavi sonu %45 HDV-RNA negatifleşirken, kontrol grubunda bu oran %27'dir. Yalnızca 1 hasta uzun dönem viral klirensi korurken histolojik iyileşme tedavi grubunda %57, kontrol grubunda %36 düzeyinde kalmıştır (88). Randomize kontrollü diğer bir çalışmada yüksek doz IFN α tedavisinin KDH'inde yararlı etkileri gösterilmiştir (89). Bazı çalışmalar 2 yıldan daha uzun süreli IFN α tedavilerinin daha kısa süreli tedavilere kıyasla HDV klirensinde daha üstün olduğunu işaret etmiştir. Bir çalışmada 48 haftalık tedavi süresince uygulanan 9 M/Ü dozun 3 M/Ü 'ye uzun dönem sağ kalım açısından üstün olduğu, virolojik ve histolojik yanıt oranlarının daha iyi olduğu gösterilmiştir. Histolojik değerlendirmede 9 milyon ünite (M/Ü) grubunda 4 hastada fibrozisin sirotik evreden presirotik evreye gerilediği dokümanite edilmiştir (90). Bir vaka bildiriminde 12 yıl süreyle IFN tedavisi alan bir hastada tedavi bitiminde hem HDV hem de HBsAg klirensi saptanmıştır (91). Bu çalışmaların neticesinde araştırmacıların ortak görüşü daha uzun süre ve daha yüksek doz IFN α tedavisinin KDH'nde en etkili tedavi rejimi olduğu yönündedir. Yinede IFN α tedavisine yanıtlar tatmin edici düzeyde değildir. Bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Konvansiyonel IFN tedavisinin ciltaltı injeksiyonundan sonra hızlı emilim, kısa yarılanma ömrü (3–8 saat), vücutta her yere yayılım, böbrek tarafından hızlı süzülme, sık dozlama gereği, tepe-vadi farklılıklarının (dalgalanma) belirgin olması gibi farmakodinamik kısıtlılıklar olmuştur (şekil 7).

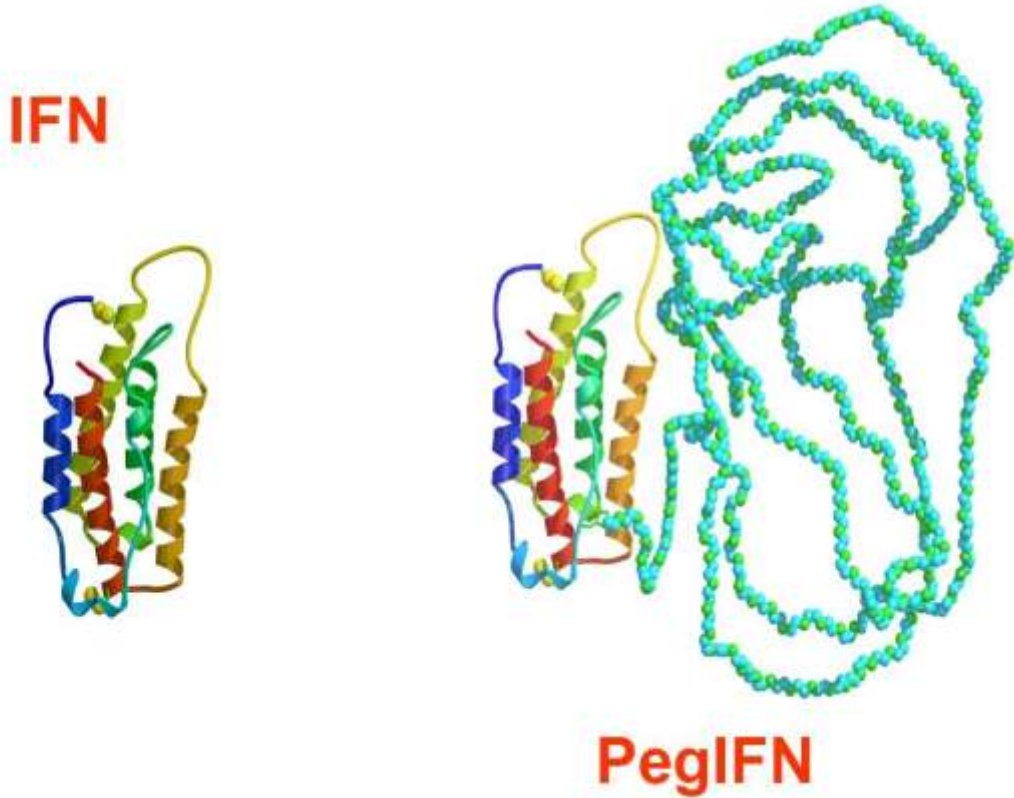


Current Digestive Liver Disease, 46 (Suppl. 5): S114-S119, 2012

Şekil 7: Konvansiyonel IFN farmakodinamiği

Pegile İnterferon Alfa

Pegilasyon, bir molekülün Poli Etilen Glikol (PEG) molekülü ile bağlanmasıdır. Rekombinant IFN α moleküllerinin PEG molekülü ile bağlanması sonucunda PegIFN α oluşur. Pegilasyon, bazı küçük moleküllerin, makromoleküllerin ve özellikle protein peptid gibi biyoteknolojik ürünlerin terapötik etkinliğini artırmak için yapılan işlemdir. PEG'ler suda çözünebilir, inert, toksik ve immunojenik olmayan güvenli polimerlerdir. Pegilasyon işlemi ile plazma yarı ömrünü artırmak, ilacın kan dolaşımında daha uzun sürede kalmasını sağlamak ve buna bağlı olarak renal, hücrel, immuno klirensin ve proteolizisin azalması, plazma konsantrasyonunda daha az dalgalanma, toksisitenin azalması, immunojenite ve antijenitenin azalması, enzimatik parçalanmayı önlemek, potensin artması, fiziksel ve termal stabilitenin artması, in vivo aktivitenin artması, yan etkilerin azalması amaçlanır (şekil9).



Şekil 8: pegile IFN moleküler yapısı

IFN Farmakokinetiği



Kozlowski et al. *BioDrugs*. 2001; Perry and Jarvis. *Drugs*. 2001. Glue et al. *Clin Pharmacol Ther*. 2000.

Şekil 9: IFN farmakokinetiği

2006 yılında PegIFN α ile ilgili 3 küçük çalışma başlatılmıştır. İlk çalışmada KDH'li 14 hastaya 48-70 hafta aralığında PegIFN α 2b verilmiştir. Çalışma neticesinde kalıcı virolojik yanıt (KVY) 6 (%43) hastada saptanmıştır (92). İkinci çalışmada 12 hastaya tedavi verilmiştir. Ancak sadece 2 (%17) hastada KVY saptanmıştır. Bu çalışma ile tedavinin ilk 6 ayında HDV RNA düzeylerinin düşmesinin KVY için öngörücü olduğu belirlenmiştir (93). Üçüncü ve en büyük çalışmada 38 hastaya 72 hafta süreyle PegIFN α 2b tedavisi verilmiştir. Bunlardan 22 hastaya ek olarak ilk 48 hafta ribavirin tedavisinde verilmiştir. 24 haftalık tedavi sonrasında KVY %21 saptanmıştır. Ribavirin verilmesinin ek bir katkısı olmadığı gösterilmiştir (94, 95). 2007 yılında yapılan çok merkezli bir çalışmada 90 hasta 3 gruba randomize edilerek 1. gruba PegIFN α 2a ile beraber adefovir dipivoxil, 2. gruba PegIFN α 2a ile beraber plasebo, 3. gruba ise sadece adefovir dipivoxil 48 hafta süreyle verilmiştir. Çalışma sonucunda %25 hastada KVY geliştiği gösterilmiştir. İkinci olarak adefovir dipivoxil monoterapisinin serum HBV DNA ve serum HDV RNA düzeylerine anlamlı bir katkısı olmadığı tespit edilmiştir. Üçüncü olarak adefovir dipivoxil kombinasyon tedavisinin HDV RNA düzeyinde düşüşe çok küçükte olsa anlamlı katkısı olmuştur. Kombinasyon tedavisinin monoterapilere kıyasla KDH'li hastalarda HBsAg titresinde anlamlı düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (96). Sonuç olarak KDH'nde başarı

oranı düşüktür. Erken tedavi verilmesinin karaciğer hasarını azalttığı bilinmektedir. Günümüzde PegIFNá, IFNá'nın yerini almıştır. Bugün için önerilen yaklaşım, tedavinin erken dönemde en az 1 yıl mümkünse 2 yıl ve yüksek doz verilmesi şeklindedir.

2.1.11. Delta hepatitinde korunma

Sağlıklı bireylerin ve HBV'li hasta yakınlarının HDV enfeksiyonuna karşı korunmalarında en etkili ve kesin yöntem HBV aşısıdır. Bu nedenle aşı endikasyonu olan bütün hedef gruplar, özellikle sağlık çalışanları, HBV'li hasta eşleri, aile üyeleri ve temas ettiği yakınları muhtemel HDV enfeksiyonuna karşı aşılanmalıdırlar. Deneysel çalışmalarda anti-HBs pozitif sempanzelerin HDV'ye karşı korunduğu gösterilmiştir (98). HBV enfeksiyonlu hastalarda ise ister inaktif taşıyıcı olsun ister kronik karaciğer hastalığı bulunsun HDV enfeksiyonuna karşı dikkatli olunmalıdır. Hastalığın temel bulaşım yolu parenteral olduğu için kan ve kan ürünlerinin nakli ve enjeksiyonlar büyük önem kazanır. Özellikle HBsAg taşıyıcısı tüm sağlık personelinin kan ve kan ürünleri ile temasta titiz davranmaları gereklidir (97, 99).

2.2. SERBEST RADİKALLER

Atom, nötron ve protonlardan oluşan çekirdek ve çekirdeğin etrafında dönen elektronlardan oluşur. Elektronlar orbitallere enerji seviyelerine göre yerleşmişlerdir. Pauli ekskülasyon ilkesine göre her bir orbitalde spinleri zıt yönde iki elektron bulunmaktadır (101, 102). Serbest radikaller, bir ya da daha fazla ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron içeren atom ve moleküllerdir. Elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü veya yüksüz olabilirler, yarı ömürleri oldukça kısadır. Bu tür maddeler ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek (redükte veya okside ederek) yeni radikal oluşumuna yol açabilirler ve böylelikle zincir reaksiyonunu başlatırlar (103-106, 116).

Biyolojik sistemde oluşan radikaller organik veya inorganik moleküller halinde bulunurlar. Ortaklanmamış elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanırlar. Ancak Fe⁺³, Cu⁺², Mn⁺² ve Mo⁺⁵ gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bazı reaksiyonlardaki katalizör etkilerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (105).

Tablo 2. Serbest radikal tipleri (132)

Radikal tipleri	Örnekleri
Hidrojen merkezli	Hidrojen atomu(H•)
Karbon merkezli	CCl3
Sülfür merkezli	Glutasyon tiyol(GS•)
Oksijen merkezli	O2•-, •OH, lipid-O2•-
Delokalize elektron	Phenoksil, C6H5O•, NO•

Tablo 3. Daha potent reaktif ürünleri oluşturmada metal iyonlarının rolleri (116)

O2•-	<i>Fe/Cu</i>	•OH
H2O2	<i>Fe/Cu</i>	•OH
Lipid peroksitler	<i>Fe/Cu</i>	RO•, RO2•,
Thiols (RSH)	<i>Fe/Cu ve O2</i>	O2•-, H2O2, RS•,
NAD(P)H	<i>Fe/Cu ve O2</i>	NAD(P)•, O2 •-, H2O2
Askorbik asit	<i>Cu/Fe</i>	Semidehidroaskorbat,
Katekolaminler,	<i>Fe/Cu/Mn</i>	•OH, H2O2
Otooksideedilebilir moleküller	<i>Fe/Cu/Mn</i>	O2•-, H2O2, •OH, Semikinonlar

Serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir (O2). O2, paralel spin durumlu iki ortaklanmamış elektrona sahiptir ve diradikal olarak adlandırılır. Diradikal

yapısındaki oksijen, radikal olmayan maddelerle yavaş reaksiyona girdiği halde serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer (105, 106).

2.2.1. Reaktif oksijen türleri

Organizmada geçiş metallerini (Cu⁺² ve Fe⁺² gibi metaller) içeren enzimler vasıtasıyla moleküler oksijene tek elektron transferi suretiyle oksidasyon reaksiyonları meydana gelir. Moleküler oksijen, diradikal doğasının bir neticesi olarak yüksek derecede reaktif oksijen türleri (ROT) oluşturma eğilimindedir (106). Süperoksit radikali (O₂^{•-}) oksijenin bir elektron almasıyla meydana gelir. Eğer iki elektron transfer edilirse oluşan ürün hidrojen peroksittir (H₂O₂). Hidrojen peroksit radikal olmadığı halde kuvvetli oksidan bir maddedir. İki den fazla elektron alabilir ve oldukça sitotoksik ürünlere dönüşme özelliğine sahiptir. Ferro demir (Fe⁺²) üçüncü elektronunu hidrojen peroksitde transfer ederse O-O bağı kırılarak, su ve hidroksil radikali meydana gelir. •OH radikali en güçlü serbest radikaldir (100, 105). Oluşan reaktif ara ürünlerin tümü radikal değildir (103- 105). Bu özellikleri ile reaktif oksijen ürünleri iki ana başlıkta incelenmektedir. Radikal olmayan bileşiklerin de kimyasal aktivitesi oldukça yüksektir (100, 103 - 105, 108, 109).

Tablo 4. Reaktif Oksijen Ürünleri

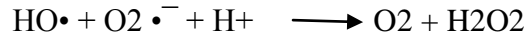
RADİKALLER	RADİKAL OLMAYANLAR
O₂^{•-} - Süperoksit	H₂O₂ Hidrojen peroksit
•OH Hidroksil	¹O₂ Singlet oksijen
HO₂[•] Hidroperoksil	HOCl Hipokloröz asit
RO[•] Alkoksil	ONOO⁻ Peroksinitrit radikali
ROO[•] Peroksil	O₃ Ozon
NO[•] Nitrik oksit	LOOH Lipit hidroperoksit
NO₂[•] Azot dioksit	

2.2.1.1. Süperoksit radikalleri(O₂•⁻)

Moleküler oksijenin tek elektronla indirgenmesiyle meydana gelen süperoksit radikali bütün aerobik hücrelerde bulunur. Hem oksitleyici hem de redükleyici özelliğe sahiptir. Elektron transport zinciri insan vücudunda en büyük süperoksit kaynağıdır. İndirgenmiş geçiş metallerinin oto-oksidasyonu sonucunda da süperoksit radikali oluşabilir (103- 105).



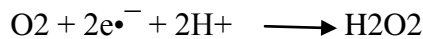
Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının güçlü bir indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir ve oksidan perhidroksi radikali (HO₂ •) oluşturmak üzere protonlanır. Süperoksit radikali perhidroksi radikaliyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir ve moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir (103- 105, 116).



Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO•) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit (ONOO⁻) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO₂ ⁻) ve nitrat (NO₃ ⁻) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit (NO₂ •), hidroksil radikali (•OH), nitronyum iyonu (NO₂ +) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin (NO•) zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (100, 103- 105).

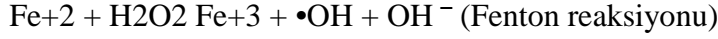
2.2.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Moleküler oksijenin etrafındaki moleküllerden iki e⁻ alması veya süperoksit radikalının bir e⁻ alması sonucu oluşur.



Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin (O₂•⁻) dismutasyonu sonucu olur. Dismutasyon sonucu spontan ya da süperoksit dismutazın kataliziyle, iki süperoksit iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluşturur (103- 105, 116).

Hidrojen peroksid eşleşmemiş elektronu olmadığı için serbest radikal değildir. Buna rağmen ROT kapsamına girer ve serbest radikal reaksiyonlarında önemli rol oynar. Çünkü Fe⁺² veya diğer geçiş metallere varlığında Fenton reaksiyonu, süperoksit radikalinin (O₂ •⁻) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (HO•) oluşturur (100, 103- 105, 107, 116).



Süperoksit radikalinin lipid solubilitesi sınırlı olduğu halde hidrojen peroksit lipid solubldur. Bu nedenle hidrojen peroksit oluştuğu yerden uzakta, hasar oluşturabilir (103-105,116).

2.2.1.3.Hidrojen radikali (•OH)

Hidroksil radikali (•OH), Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır (101, 110- 112).

Hidroksil radikali son derece oksidan ve yarılanma ömrü çok kısadır. Çok reaktif olduğu için lipid, protein ve nükleik asitler (DNA ve RNA) başta olmak üzere hemen hemen bütün hücresel moleküllerle reaksiyona girebilmektedir. Non-radikal biyolojik moleküllerle zincir reaksiyonlar başlatır. •OH radikali DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile reaksiyona girerek, baz modifikasyonlarına yol açabilir. Hasar çok kapsamlı olursa hücresel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (103- 105, 110, 116).

Oluştugu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyol radikalleri (RS•), karbon merkezli organik radikaller (R•), organik peroksitler (RCOO•) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur (105,116).

2.2.1.4. Singlet O₂ (‘O₂)

Yapısında ortaklanmamış elektronu bulunmadığından serbest radikal değildir fakat serbest radikal reaksiyonlarını başlattığından serbest radikal sınıfına dahil edilmiştir. Singlet O₂, oksijenin elektronlarından birinin verilen enerji sonucu kendi dönüş yönünün

tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi sonucunda oluşabileceği gibi süperoksit radikalının dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da meydana gelebilir (103- 105).

Tablo 5. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO⁺, NO⁻)

NO	Nitrik oksid	NO ⁺	Nitrozil katyon
OONO ⁻	Peroksinitrit	NO• ₂	Nitrojen dioksid
ONOOH	Peroksinitröz asid	N ₂ O ₃	Dinitrojen trioksid
NO ⁻	Nitroxyl anyon	HNO ₂	Nitroz asid
NO ₂ Cl	Nitril klorid		

2.2.1.5 Nitrik oksit (NO)

NO son derece toksik ve renksiz olan atmosferik bir gazdır ve yarı ömrü çok kısadır. NO; bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır. NO lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir ve suda çözünür. Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir birçok dokuda fizyolojik süreçlerin kontrolünde yer alan önemli bir sinyal molekülüdür. Nörotransmisyon, immün direnç, apoptozis kontrolü gibi birçok süreçte rol alır. Biyolojik etkilerini hem grupları, sülfidril grupları, demir ve çinko gibi hedef moleküllerde gösterir. NO endotel hücresi, makrofaj, sinir hücresi, trombosit, düz kas hücresi ve birçok hücrede L-Argininden nitrik oksit sentetazlar (NOS) olarak adlandırılan bir dizi enzim tarafından sentezlenir.

NOS



NOS fiziko-kimyasal ve kinetik özelliklerine göre iki gruba ayrılır.

a- Konstitütif (yapısal) nitrik oksit sentetaz (cNOS): Özellikle damar endoteli, periferik ve santral sinir sistemi gibi dokularda lokalizedir. eNOS ve nNOS olarak iki izoformu dokularda her zaman mevcuttur, ancak aktif değildir. Hücre içi iyonize Ca^{+2} konsantrasyonunun arttığı durumlarda enzim aktiflenir. Bu yüzden, normal biyolojik sistemlerde düşük miktardaki NO sentezinden sorumludur (111- 113).

nNOS kaynaklı NO: Santral sinir sisteminde nöromodülatör olarak görev yapar, sinapsların şekillenmesine yardımcı olur, görme, koku alma, ağrıyı algılama, hafızanın oluşması gibi işlevlerde rol oynar.

Periferik sinir sisteminde, nörotransmitterdir, solunum fonksiyonlarında, gastrointestinal sistem motilitesinde, penil ereksiyonda, mesane sfinkter işlevinde ve tüm dokuların kan basınçlarının ve akış hızının düzenlenmesinde rol alır.

eNOS kaynaklı NO: Kan damarı tonusunun ayarlanması, kan basıncının düzenlenmesi ve vazodilatasyondan sorumludur. Endotel kaynaklı NO bilinen en güçlü vazodilatördür. Trombositlerde c-GMP düzeylerini yükselterek hem invitro hem invivo olarak trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe eder.

Lipid peroksit radikalleriyle tepkimeye girerek, hücre içi lipid oksidasyonundaki otokatalitik reaksiyon zincirini bozarak antioksidan ve anti-aterosklerotik etki oluşturur. Düşük konsantrasyonlar da lipid peroksidasyonunu artırabilir.

Süperoksit radikalleriyle etkileşir. Süperoksit fazlalığında peroksinitrite bağlı olarak proaterojenik etki oluşabilir. NO fazlalığında ise peroksinitritin prooksidan etkisi NO'nun antioksidan etkisi ile baskılanır ve bu yolla antiaterojenik etki sağlanır (114).

b- İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS): Makrofaj, lökosit, damar endotel hücrelerinde sentez edilmektedir. Aktivasyonu Ca^{+2} 'a bağımlı değildir. Spesifik sitokinlerle aktivasyon sonucu NOS indüksiyonu ve NO sentezi gerçekleşir. İndüksiyon sonrası NO sentezi saatlerce hatta günlerce devam edebilir. Özellikle nonspesifik immünitede önemli rol oynar. Hücrenin genel yapısında mevcut değildir. İskemide olduğu gibi hücrenin sitokinler ile temasını takiben üretimi uyarılır (111- 113).

2.2.2. Başlıca serbest radikal üretim kaynakları

Serbest radikaller çeşitli dış kaynaklı etkilerle oluşabildiği gibi organizmada normal fizyolojik koşullarda gerçekleşen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında da oluşan ürünlerdir. Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir (103, 105, 107).

2.2.2.1. Endojen serbest radikal üretim kaynakları

Metabolizmada normal şartlar altında, bazı biyokimyasal olayların çeşitli basamaklarında serbest radikaller oluşmaktadır. Her ne kadar serbest radikal yapısına sahip maddelerin organizmaya zarar verme potansiyelleri varsa da, bazı metabolik olayların ilerleyebilmesi için bunların oluşması kaçınılmazdır. ROT hücrede aralıksız olarak üretilmektedir. Hücre organellerinin her biri farklı miktarda radikal oluşumuna sebep olurlar. Kullandığımız oksijenin yaklaşık %3-5'i serbest oksijen radikaline çevrilir (106, 115).

- Mitokondriyal elektron taşıma sistemi fizyolojik koşullar altında serbest radikal üretiminin en önemli kısmını oluşturmaktadır.

- Endoplazmik retikulumda ve nükleer membranlarda bulunan sitokrom P-450 moleküler oksijeni kullanarak birçok substratı oksitler.

- Araşidonik asit metabolizması

- Peroksizomlar güçlü hidrojen peroksit kaynağıdır.

- Hemoglobin gibi metalloproteinler, monoaminler, hormonlar, tiyoller, doymamış membran lipitlerinin otooksidasyonu

- Fagositoz

- Glikojen oksidaz, ksantin oksidaz, NAD(P)H oksidaz, diamin oksidaz, urat oksidaz gibi enzimlerin katalizlediği oksidan reaksiyonlar (103, 105, 107, 115).

2.2.2.2. Ekzojen serbest radikal üretim kaynakları

Ekzojen nedenlere bağlı olarak serbest radikaller meydana gelebilir. Çeşitli yabancı toksik maddeler hücrede serbest radikal üretimini artırırılar. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler ya da serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlayan antioksidan aktiviteyi düşürürler. Serbest radikal oluşumunun ekzojen kaynakları arasında stres, sigara, pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, güneş ışınları, ilaçlar, alkol, X-ışınları hatta yiyeceklerde bulunan bazı bileşikler en önemlileridir. Ağır bedensel aktivite de oksijen kullanımındaki artışla beraber radikal oluşumunu artırmaktadır (103, 107).

2.2.3. Serbest radikallerin etkileri

Oksijen radikalleri fazla sayıda olmadıkça patolojik etkileri başlamaz. Enflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı (pO₂), ozon (O₃) ve azot dioksit (NO₂ •), kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisiyle reaktif oksijen ürünlerinin arttığı iyi bilinmektedir. Serbest radikaller hücrelerin lipit, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi bütün önemli bileşikleri ile tepkimeye girerek hücrede işlev bozukluğu yaparlar (105).

Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROT) ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. İskemi ve sonrasında reperfüzyon da reaktif oksijen türlerinin artışına bağlı olarak iskeminin oluşturduğu hücre hasarını artırır. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Aterogenez, amfizem/bronşit, Parkinson hastalığı, Duchenne tipi musküler distrofi, gebelik preeklampsisi, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, diabetes mellitus, akut renal yetmezlik, hemodiyaliz hastaları, Down sendromu, yaşlanma, serebrovasküler bozukluklar, iskemi/reperfüzyon injürisi gibi durumlarda serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarı söz konusudur (106).



Şekil 10. Serbest Radikallerin Etkileri

2.2.3.1. Serbest radikallerin lipitlere etkileri

ROT'ne karşı hücrelerin en hassas kısımları lipitlerdir. Membran lipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin ROT tarafından oksidasyonu lipit peroksidasyonu olarak bilinmektedir. Lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipit serbest radikalleri ($L\bullet$) ve lipit peroksit radikallerinin ($LOO\bullet$) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROT) neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir.

Serbest radikallerin neden olduğu lipit peroksidasyonuna "nonenzimatik lipit peroksidasyonu", araşidonik asit metabolizması sonucu oluşan serbest radikallerin neden olduğu lipit peroksidasyonuna ise "enzimatik lipit peroksidasyonu" denir (105, 110).

Lipit peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ile membranda lipit radikali oluşur. Lipit radikali ($L\bullet$) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipit radikallerinin ($L\bullet$) moleküler oksijenle (O_2) etkileşmesi sonucu lipit peroksit radikalleri ($LOO\bullet$) ve molekül içi çift bağ pozisyonlarının değişmesiyle konjuge yapıları oluşur. Lipit peroksit radikalleri

(LOO•), membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşürler. Böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder.

Lipit peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin (LOOH) geçiş metalleri iyon katalizi ile aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona erer. Oluşan bileşiklerden biri olan malondialdehid (MDA), membranlarda çapraz bağlanma ve polimerizasyona neden olarak esneklik kaybı, iyon transportu, enzim aktivitesinde bozukluklar ve hücre yüzey determinantlarının agregasyonu gibi pek çok patolojiye yol açar. Lipit peroksidasyon ürünleri ölçümünde tiyobarbitürik asit reaksiyonu, konjuge dienlerin UV absorpsiyonu, oksijen tutma yeteneğinin ölçülmesi gibi pek çok metod kullanılmaktadır. Ayrıca, oluşan dien konjugatlarıyla lipid hidroperoksitlerinin ve son ürünlerden etan ve pentan gibi gazların ölçümü de son yıllarda lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (103, 105, 116).

Sonuçta hücre zarının akışkanlığını ve permeabilitesini azaltarak zar bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranların hasarı hidrolitik enzimlerin salınması ve intrasellüler sindirimle sonuçlanır. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin yanı sıra duyarlı aminoasit kalıntılarını (methionin, histin, sistein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler. Lipit peroksidasyonu sonucu oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür (105,110).

Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur. Lipit peroksidasyonu diyabetes mellitus, ateroskleroz, kanser, MI gibi birçok hastalığın ve yaşlanmanın patogeneğinde önemli rol oynar (105).

2.2.3 2. Serbest radikallerin proteinlere etkileri

Serbest radikal harabiyetine karşı lipidlerden daha az hassasiyet gösteren proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme derecesi içerdikleri aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein hasarının boyutları değişebilir. Doymamış bağ ve kükürt içeren aminoasitlerden (fenilalanin, histidin, metiyonin, triptofan, tirozin, sistein gibi) meydana

gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller meydana gelir. Bu reaksiyonlar sonucu yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Enzimler de protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde de (glutatyon redüktaz, gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenaz gibi) değişiklikler meydana gelir (103, 105, 116).

2.2.3.3. Serbest radikallerin DNA'ya etkileri

İyonize edici radyasyon sonucu iyonlar, serbest radikaller ve aktif moleküller oluşur. Oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme neden olurlar. Sitotoksiste, büyük oranda, ya nükleik asit baz modifikasyonlarından oluşan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. 8-oxo-Dguanozin mutasyona yol açan en önemli lezyonlardan biridir (103, 105, 116, 117).

2.2.3.4. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle meydana gelen ürünler çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelirler. Meydana gelen bu ürünler diabet patogenezinde oldukça önemlidir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanıp çapraz bağlar oluşturabilirler ve antimitotik etki gösterirler (105, 116).

2.2.4. Antioksidan savunma sistemleri

Organizmada okside olabilecek maddelerin (protein, karbonhidrat, lipid, DNA) oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar denir (109,118). Normal hücre metabolizması sırasında meydana gelen serbest radikaller, karışık bir antioksidan savunma sistemi ile sınırlandırılır. Böylece antioksidan savunma sistemi serbest radikallerin düşük-sabit konsantrasyonlar da kalmalarını sağlar. Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler (109,118).

A- Serbest radikal oluşumunun önlenmesi

- Başlatıcı reaktifleri uzaklaştırıcı etki.
- Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki.
- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.

B-Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi

- 1) Toplayıcı etki
- 2) Bastırıcı etki
- 3) Zincir kırıcı etki
- 4) Onarıcı etki

Antioksidanlar, hücre lokalizasyonuna göre; intrasellüler ve extrasellüler, fonksiyonuna göre; radikal oluşumunu önleyen ve radikallerin dokulardaki etkilerini önleyen, yapısına göre de enzimatik ve non-enzimatik olarak sınıflandırılabilirler (115, 116).

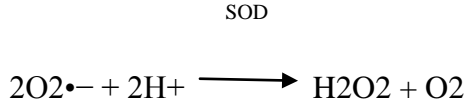
Tablo 6. Endojen antioksidanlar ve etkileri (105, 106, 115, 119)

ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	ETKİLERİ
Süperoksit dismutaz	O ₂ ^{•-} - anyonunu detoksifiye eder
Katalaz	Yüksek konsantrasyonda H ₂ O ₂ detoksifikasyonu
Glutasyon peroksidaz	Düşük konsantrasyonda H ₂ O ₂ detoksifikasyonu
Glutasyon redüktaz	Okside glutasyonun indirgenmesi
Mitokondrial sitokrom oksidaz	Radikal oluşumunu önler.
Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz	NADP ⁺ 'ın NADPH'a dönüşmesi
NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	ETKİLERİ
α-tokoferol	Lipit peroksidasyon zincirini kırar
β-karoten	Radikal tutar, singlet oksijeni baskılar
Melatonin	•OH ve O ₂ ^{•-} - tutar
Askorbik asit	E vitamininin rejenerasyonu, •OH ve •O ₂ tutar
Ürat	Radikal tutar, metal bağlar.
Glukoz	•OH tutar
Bilirubin	Peroksil radikali tutar
Sistein	Elektron vererek organik molekülleri indirger.
Seruloplazmin	Bakır bağlar, O ₂ ^{•-} - detoksifikasyonunu sağlar.
Albumin	LOOH ve HOCl tutucu, hem ve bakırı bağlar.
Transferrin	Dolaşımdaki demiri bağlar.
Ferritin	Dokudaki demiri bağlar.
Laktoferrin	Düşük pH'da demir bağlar.
Haptoglobulin	Hemoglobin bağlar.
Hemopeksin	Hem bağlar.
Koenzim Q10	ETS' de gerekli bir kofaktördür.
α-lipoik asit	•OH, singlet oksijen, NO tutar
Ürik asit	•OH, peroksil, singlet oksijen tutar.
Kreatin	Mitokondri biyoenerjistiklerini korur.

2.2.4.1. Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz:

Antioksidan savunmanın ilk basamağını, süperoksidin H₂O₂' ye dismutasyonunu katalizleyen süperoksit dismutaz enzimi oluşturur. Spontan olarak da meydana gelebilen bu reaksiyonun hızı SOD varlığında 4000 kat artar (105, 120).



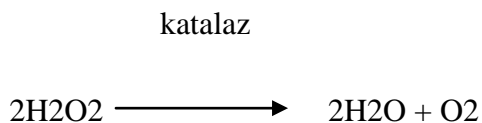
Memelilerde SOD' ın üç tipi bulunmaktadır. Bunlardan ilki dimerik yapıdaki sitozolde ve mitokondrial membranın iç bölümünde yer alan Cu-Zn SOD enzimidir. İkinci tip mitokondrial matriks ve kısmen sitoplazmada bulunan, tetramerik yapıdaki mitokondrial Mn SOD ve üçüncüsü ekstrasellüler alandaki EC-SOD'dır. Genelde hücrede sitozolik Cu-Zn SOD daha fazla miktarlardadır. Her üç SOD aynı reaksiyonu katalizler (105, 120).

Genel olarak SOD enzim sistemi, antagonistik olmaktan çok, organizmayı serbest radikal hasarına karşı koruyucu bir sistemdir. Oksidan stresin arttığı bazı klinik durumlarda, aktivitesini arttırarak koruyucu etkinliğini devam ettirmeye çalışır (103, 105, 118).

Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda aktivitesi yüksektir ve doku pO₂ artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksit düzeyi düşük tutulur (105).

Katalaz:

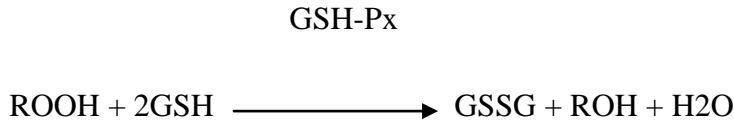
Katalaz, dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Sitozolde ve daha çok peroksizomlarda bulunur. Hidrojen peroksitin, moleküler oksijen ve suya dönüşünü katalizler (105).



Oksidatif stresin fazla olduğu durumlarda oldukça efektiftir. Özellikle glutatyon miktarının kısıtlı ve azalmış GPx aktivitesinin bulunduğu durumlarda önemli olup, SOD Katalaz adaptif hücre cevabında oksidatif strese tolerans gelişiminde önemli bir rol oynar (105, 106, 121).

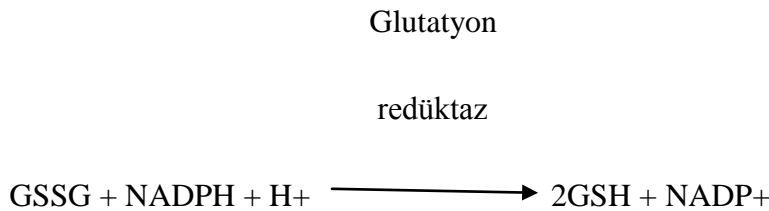
Glutatyon peroksidaz:

Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin detoksifikasyonundan sorumludur. 4 tane selenyum atomu içerir ve tetramerik yapıdadır. Sitozolik bir enzim olan glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksit ile kolesterol ve yağ asidi hidroperoksitlerine etki ederek su ve lipid alkol oluşumuna yol açar. Oksidatif stresin düşük düzeylerde olduğu durumlarda en önemli korunma şekli GPX/ Glutatyon sistemidir.



Glutatyon redüktaz:

Bu reaksiyonda indirgeyici olarak kullanılan glutatyon (GSH) glutatyon disülfide (GSSG) okside olur. Oluşan GSSG glutatyon redüktaz ile tekrar GSH'a dönüşür (105, 121).

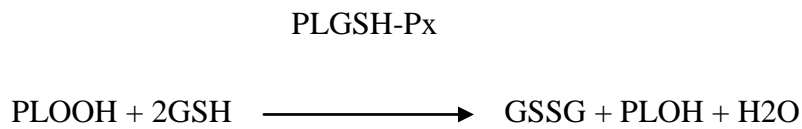
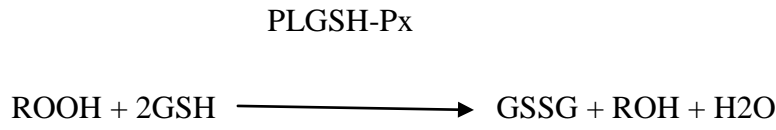
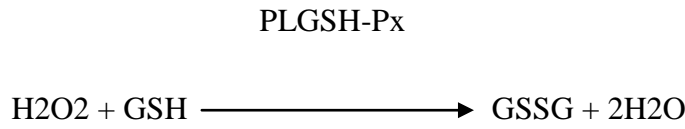


Glutatyon proteinlerdeki SH gruplarının korunması ve bazı reaksiyonlarda koenzim olarak görev almasının yanı sıra aminoasitlerin transportunda, protein ve DNA sentezinde de önemli rol oynar. Sitozolda bulunan glutatyon-S- transferazlar selenyumdan

bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek serbest radikallerin etkilerinden korunmada ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonundan sorumludurlar (105, 117, 122).



Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) enzimi esas olarak membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirger. Membrana bağlı en önemli antioksidan vitamin E yetersiz olduğu zaman PLGSH-Px membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar (105, 117, 119).



GSH-Px'in aktivitesindeki azalma veya azalmış glutatyon, hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerinin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (105, 121).

Mitokondrial sitokrom oksidaz

Elektron transport zincirinin son enzimidir ve süperoksidi ($\text{O}_2 \bullet^-$) detoksifiye eder. Fizyolojik şartlarda sürekli olan normal bir reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit ($\text{O}_2 \bullet^-$) üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve

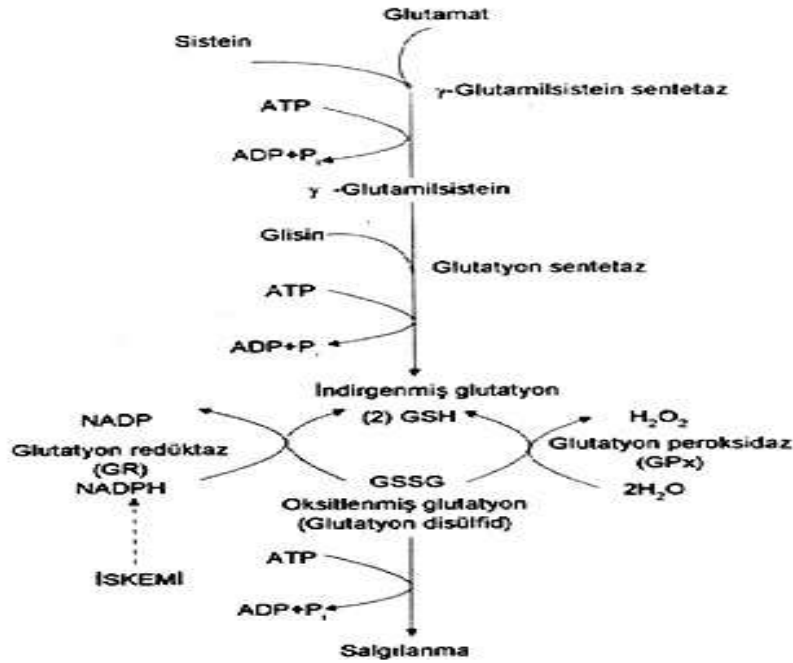
bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin ($O_2 \bullet^-$) zararlı etkilerine engel olurlar (105).



2.2.4.2. Enzimatik olmayan moleküler antioksidanlar

Glutatyon(GSH):

GSH, glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan, intrasellüler konsantrasyonu daha fazla olan bir tripeptiddir. Çok önemli indirgeyici ve antioksidan olan glutatyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bunun dışında, proteinlerdeki -SH gruplarının redükte halde tutulması, bazı reaksiyonlarda (gliksilaz reaksiyonu, formaldehid dehidrogenaz gibi) koenzim olarak görev almasının yanında aminoasitlerin transportunda, protein ve DNA sentezinde de (tiol-disülfid değişimi) önemli rol oynar (105, 119, 122).



Şekil 11. Glutatyon Sentez ve Siklusu (122)

GSH intrasellüler konsantrasyonu fazla olan bir tiol'dür ve GSH'un GSSG'e oksitlenmesi hücredeki en önemli tiol-disülfid indirgenme reaksiyonlarının kaynağıdır. Tüm bunlar GSH'ın sağlığın devamında oldukça önemli bir faktör olduğunu göstermektedir (117,119).

Glutasyon ve glutasyon metabolizması antioksidan savunma için doku ve kanda mutlaka gereklidir (105,117).

Askorbik asit:

C vitamini suda çözünen en güçlü antioksidandır. İnsanlarda sentezlenemediğinden diyetle alınması gerekir. Askorbik asit semidehidroaskorbat radikal ara ürünü üzerinden kolayca dehidroaskorbik aside okside olur. $O_2 \bullet^-$, $\bullet OH$, singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Semidehidroaskorbat da antioksidan etki gösterir. C vitamini, antioksidan aktivite boyunca tokoferoksil radikalinin, α -tokoferole indirgenerek rejenere olmasını sağlar (105, 107, 123, 124).

C vitamini, antioksidan etkileri yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı ferrik demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali ($\bullet OH$) oluşturmaya uygun ferröz demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı C vitamini, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörü veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olduğu bulunmuştur (105, 107, 124).

Vitamin E (α –Tokoferol):

E vitamini yağda eriyen, tokoferol yapısında çok güçlü bir antioksidandır. Hücre zarı fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksi radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonu, vitamin E'nin zincir kırıcı etkisiyle sonlandırılabilir.

Vitamin E katıldığı reaksiyonlar sırasında radikal formuna dönüşse de, askorbik asit, koenzim Q (ubikinon) ve glutasyon tarafından tekrar aktif hale döndürülür. Glutasyon peroksidaz ve E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler.

Enzim oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksitlerin oluşumunu sentezini (105, 117, 124).

DeneySEL olarak oluşturulan beyin iskemisinde E vitamini seviyesinin azaldığı görülmüştür (105, 124).

Karotenoidler:

Vitamin A'nın ön maddesi olan β -Karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve \bullet OH, alkoksil ve peroksil radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan özellik gösterdiği ve lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunu önleyebildiği saptanmıştır. Singlet O₂ uzaklaştırıcı olarak bilinen en güçlü karotenoid likopendir (105,124).

Melatonin

Melatoninin lipid çözünürlüğünün fazla olması nedeniyle doku ve hücrelere kolayca girebilen, sentezi karanlığa bağlı bir hormondur. Son çalışmalar melatoninin hücre çekirdeğinde yüksek miktarlarda bulunduğunu göstermiştir.

Melatonin güçlü bir radikal süpürücü olmasının yanı sıra, radikaller üzerinde dolaylı etkileri de vardır. Melatonin, hidroperoksitleri metabolize eden GSH-Px enzimini aktive ederek, O₂ radikalini H₂O₂' ye katalizleyen SOD aktivitesini arttırarak, oksidatif stres esnasında katalaz aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NOS enzimini inhibe ederek, antioksidan etki göstermektedir (105, 124).

2.2.5 Total Oksidan Status (TOS)

Bilinen birçok metodla serum ya da plazmadaki oksidan moleküllerin konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir. Oksidan stresin arttığı durumlarda artan bu moleküllerin oksidan etkileri birbiri üzerine eklenebilir. Ayrıca tek tek ölçümden ziyade total ölçümün daha pratik olacağı düşünülerek tüm oksidanların durumunu yansıtabilecek bir yöntem geliştirilmiştir. Bu metodla in vitro TOS ölçümü yapılabilmektedir (125, 126, 127).

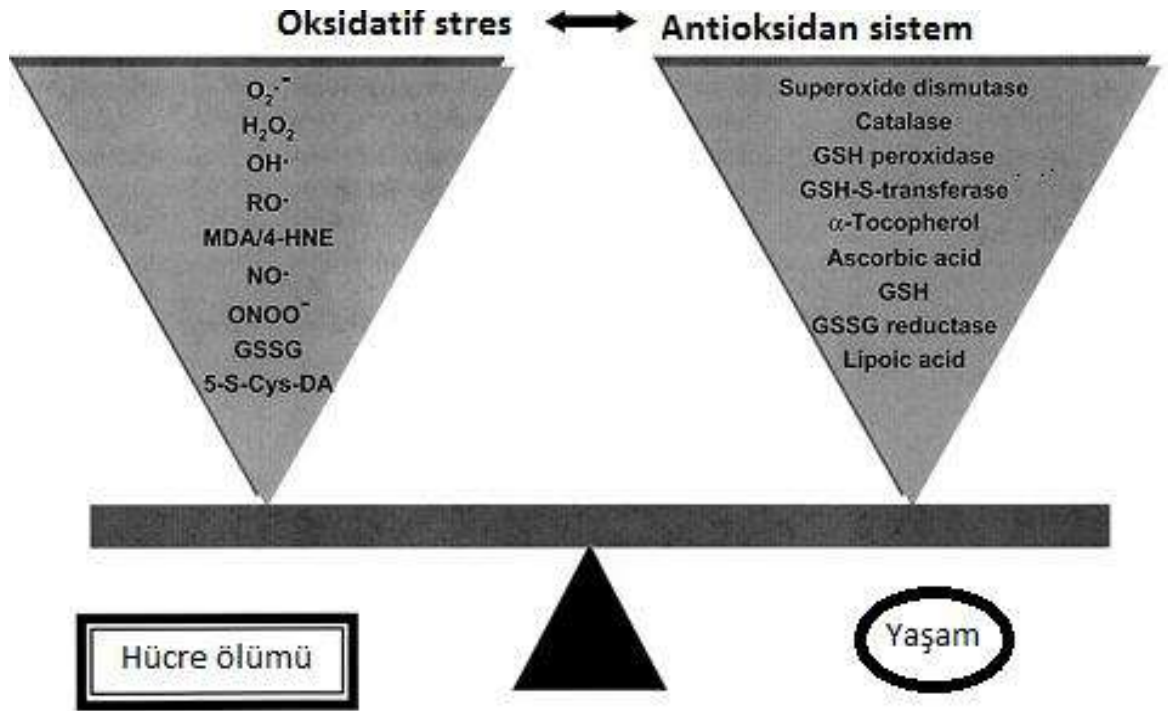
2.2.6. Total Antioksidan Status (TAS)

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada ölçülebilir birçok antioksidan bulunmaktadır. C ve E Vitamini, bilirubin, albumin, ürik asit gibi antioksidan moleküller ve SOD, katalaz, GSH-Px gibi antioksidan enzimler hücreleri oksidan ajanların zararlı etkilerinden korumaktadır. Antioksidan moleküller de oksidanlar gibi tek tek ölçülebilmektedir. Ancak bu şekilde zaman kaybı ve maliyet açısından daha karmaşık metodlar gerektirmektedir. Son zamanlarda geliştirilen TAS metoduyla enzimatik ve non-enzimatik antioksidanların durumu tespit edilebilmektedir. TAS çeşitli reaktif oksijen ve nitrojen radikallerine karşı organizmanın antioksidan savunma etkisini bir bütün olarak gösterir (126- 128).

2.2.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Organizmadaki oksidan/antioksidan dengesini gösterir. TOS değerlerinin TAS değerlerine yüzde cinsinden oranlanarak bulunur ve oksidatif stresin derecesinin göstergesi olarak kullanılır (129, 130).

$$OSİ(\%)= 100 \times (TOS)/(TAS)$$



Şekil 12. Oksidan ve Antioksidan Denge (122)

III. MATERYAL VE METOD

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bölümünde yatarak ve ayaktan takip edilen kronik HDV enfeksiyonu tanılı 51'i erkek, 40'ı kadın toplam 91 hasta (yaş ortalaması: 42.2 ± 11.7) ve sağlıklı gönüllü kişilerden 22'si erkek, 18'i kadın toplam 40 kişi (yaş ortalaması: 39.8 ± 6.09) prospektif olarak çalışmaya alındı. Çalışmamıza Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesi tarafından onay verilmiştir.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- 1) Kronik hepatit B ve D olarak en az 6 ay takip edilmiş olması

Kronik hepatit D:

- Serum alanin amino transferaz veya aspartat amino transferaz aktivitelerinin normal sınırın üzerinde olması (ALT 'nin 35 U/L den AST nin 40 U/L den daha yüksek olması).
- Serumda anti delta ve/veya HDV RNA pozitifliği olması.
- Son 12 ay içerisinde yapılmış olan karaciğer biyopsisinde histolojik nekroinflamatuvar skorun histolojik aktivite indeksi ile en az 5 olduğu (maksimum değer 18) ve hepatik fibrozis skorunun en az 1 olduğu (maksimum değeri 6) kronik hepatit bulgularının olması

Kronik hepatit B:

- HBeAg nin pozitif veya negatif olduğu histolojik bulgularla birlikte olan veya olmayan HBV DNA >2000 IU/ml, serum ALT düzeyinin üst sınırın 2 katından yüksek olması

- 2) İnterferon tedavisi almışsa en az 6 aydır tamamlamış olmak

Çalışmadan hariç bırakılma kriterleri;

- 1) 16 yaş altı ve 65 yaş üstü olmak
- 2) Aktif enfeksiyon hali olması
- 3) Hepatit B akut alevlenmesi olması
- 4) HCV ko-enfeksiyonu olması

- 5) İnterferon tedavisi almakta olmak
- 6) İmmüsupresif tedavi almak
- 7) Antioksidan amaçlı vitamin ve/veya bitkisel ürün kullanmak
- 8) Karaciğer veya karaciğer dışı kanser tanısı olması
- 9) Bilgilendirilmiş onam formunu imzalamayanlar

Hastalar İNF tedavisi almış siroz, İNF tedavisi almış siroz olmayan, İNF tedavisi almamış siroz olmayan hastalar ve İNF tedavisi almamış sirozlu hastalar olmak üzere dört gruba ayrıldı.

Sirotik kronik HDV enfeksiyonlu hasta grubu, serum albumin düzeyi 3 gr/dl'nin altında, serum total bilirubin düzeyi 4 mg/dl'nin üstünde, protrombin zamanı (PTZ (INR)) değeri 1,3'ün üstünde, platelet değeri 150.000'nin altında ve klinik, radyolojik veya patolojik olarak sirozla uyumlu bulguları olan hastalardan oluşturulurken, non-sirotik grup ise serum albumin düzeyi 3 gr/dl'nin üstünde, serum total bilirubin düzeyi 4 mg/dl'nin altında, protrombin zamanı (PTZ (INR)) değeri 1,3'ün altında, platelet değeri 150.000'nin üstünde olan hastalardan oluşturuldu.

Oluşturulan gruplar; İNF tedavisi almış siroz 15 kişi, İNF tedavisi almamış siroz 15 kişi, İNF tedavisi almış siroz olmayan 34 kişi ve İNF tedavisi almamış siroz olmayan grup 27 kişiden oluşuyordu.

Tablo 7: Hasta ve kontrol grubun cinse göre dağılımı

		Kontrol grubu	Hasta grubu	Toplam
Cins	Kadın	18	40	58
	Erkek	22	51	73
Toplam		40	91	131

Tablo 8: Hasta grubun tedavi ve siroz dağılımı

	Siroz	Siroz olmayan	Toplam
İNF tedavisi alan	15	34	49
İNF tedavisi almayan	15	27	42
Toplam	30	61	91

Hasta gruplar ve kontrol gruptaki kişilerden bilgilendirilmiş onamları alındıktan sonra birer biyokimya (sarı kapaklı) tüpe venöz kan alındı. Alınan venöz kanlar 3000 RPM’de 10 dakika santrüfuj edildi, serumları ayrıldı ve tüm örnekler çalışma yapılıncaya kadar -80°C’de saklandı.

Hasta gurubun yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri kaydedildi. Hemoglobin, MCV, lökosit (WBC), glukoz, platelet sayısı, PTZ (INR), ALT, AST, ALP, GGT, total protein, total bilirubin, albumin, laktat dehidrogenaz (LDH), HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HBs, HBV DNA, Anti Delta ve HDV RNA parametreleri incelendi.

Biyokimyasal parametrelerden glukoz, ALT, ALP, AST, GGT, LDH, total protein, total bilirubin, albumin, Abbott firmasının ARCHITECT C 16000 cihazında Abbott firmasının orijinal kitleri ile çalışıldı.

Tam kan incelemesi Abbott firmasının CELL-DYN Ruby cihazında Abbott firmasının orijinal kitleri ile çalışıldı.

PTZ ve INR Syemens Sysmex CA-1500 cihazında Syemens firmasının orijinal kitleri ile çalışıldı.

HBsAg (kalitatif), anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc IgG, anti-HBc IgM ve anti-HCV incelemeleri hastanemiz Mikrobiyoloji laboratuvarında MakroEIA yöntemi ile Roche firmasının Cobas e 601 cihazında (ELECSYS 2010, Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany) Roche firmasının orijinal kitleri ile çalışıldı.

Anti-HDV total düzeyi, Grifols markasının Triturus modeli ile mikroeliza yöntemi ile çalışıldı.

HBV DNA düzeyi COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV Test yöntemi ile çalışıldı (v2.0 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany). Alt sınır: 20 IU/ml, lineer aralık: 20 – 1.7x10⁸ IU/ml, 1 IU/ml = 5.82 copies/ml.

HDV RNA Roche firmasının Light Cycler 2.0 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim Germany) cihazında real time RT-PCR yöntemi ile çalışıldı. Alt sınır 100 IU/ml, lineer aralık: 100 – 4x10⁷ kopya/ml.

Total oksidan statusun (TOS), total antioksidan statusun (TAS) ölçülmesi Erel'in metoduna göre çalışıldı (131,132).

TAS ve TOS düzeyi ticari olarak ulaşılabilir olan kitlerle (Relassay R, Turkey) Erel (131,132) tarafından geliştirilmiş her iki durum için otomatize kalorimetrik ölçüm metotları kullanan Abbott Architect C16000 otoanalizör (Illinois USA) ile ölçüldü. TAS metodunda örnekteki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazoline-6-sülfonik asit) (ABST) renksiz ilk durumdaki ABTS formuna indirgenir. 660 nm' de absorbans değişimi serumdaki total antioksidan seviyesi ile ilişkilidir. Bu metot kullanılarak üretilmiş olan hidroksil radikalle başlatılan güçlü serbest radikal reaksiyonlarına karşı örnekteki antioksidatif etkisi ölçülür. Sonuçlar titrede mikro molar Trolox ekivalanı olarak ifade edilir. TOS metodunda örnekte bulunan oksidanlar ferroz iyon selator kompleksini ferrik iyonla okside eder. Asidik ortamda ferrik iyon, kromojen ile renkli bir kompleks yapar Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu örnekte bulunan total oksidan molekül miktarı ile ilişkilidir. Sonuçlar litrede mikro molar hidrojen peroksit ekivalanı olarak ifade edilir.

Oksidatif Stres İndeksi (OSI) hesaplanması

Numunelerin total oksidatif stres değerleri yüzde cinsinden total antioksidan status değerlerine oranlandı ve OSI değerleri elde edildi. Oksidatif stres indeksi hesaplanırken TAS konsantrasyonları µmol Trolox Equiv./L 'ye dönüştürülerek;

$$OSI = 100 * TOS (\mu\text{mol} / \text{L H}_2\text{O}_2) / TAS (\mu\text{Mol} / \text{L Trolox})$$
 hesaplandı.

İstatistiksel incelemeler

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiki değerlendirilmesinde SPSS(Statistical Package for Social Sciences) 17.0 paket programı kullanıldı. Sayısal değişkenin normal dağılımı söz konusu olduğunda, iki grup arasındaki fark Student's t-test kullanıldı. Sayısal değişkenin normal dağılımı söz konusu olmadığında ikili gruplar karşılaştırılırken Man

Witney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin seviyelerinin oranlarının dağılımı Ki-kare testi ile değerlendirildi. Anlamlılık d¼zeyi $p<0.05$ olarak alındı.

BULGULAR

Yaş ve cinsiyet bakımından kontrol grubu ile hasta grubu arasında istatistiki bir fark bulunmamaktadır (sırayla $p=0.214$, $p=0.92$). Hasta grubun tedavi alan- almayan ve siroz-siroz olmayan gruplarının lökosit, trombosit, albumin, hemoglobin, MCV, AST, ALT, ALP, GGT, LDH, t.bilirubin, t.protein ve glukoz değerleri ve istatistiki p değerleri tablo 9 ve 10' da gösterilmiştir.

Hasta grup ile kontrol grubun hemoglobin, lökosit, platelet, AST ve ALT değerleri karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu (tablo-9).

Hastalardan siroz ve siroz olmayan grupların karşılaştırmasında bakılan parametrelerin lökosit, trombosit, hemoglobin, albumin, AST, ALT, t.bilirubin'de istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi. MCV, glukoz, ALP, GGT, LDH ve t.protein'de istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

Hastalardan İNF tedavisi almış-almamış grupların karşılaştırmasında bakılan parametrelerin lökosit, trombosit, hemoglobin, MCV, glukoz, albumin, AST, ALP, GGT, LDH, t.protein'de istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. ALT değerinde fark mevcut olup istatistiksel derecede anlamlı değildi ($p=0.056$). Total bilirubin değerlerindeki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.004$).

Tablo -9 Hasta ve kontrol grubunun labaratuvar bulgularının karşılatırılması.

	Hasta	Kontrol	p
	(ortalama±SD)	(ortalama±SD)	
Hemoglobin (g/dl)	13,70± 1,78	13,85± 1,16	>0,05
Lökosit (K/uL)	5,67± 1,85	8,12± 2,20	<0,001
Platelet (bin) (K/uL)	172± 71	285± 60	<0,001
AST (U/L)	58,97± 53,41	22,85± 8,04	<0,001
ALT (U/L)	48,02± 35,25	19,70± 3,937	<0,001

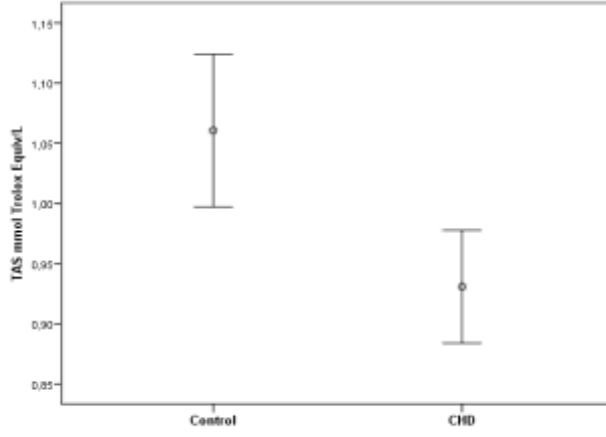
Tablo 10: Hastalardan siroz ve siroz olmayan grupların karşılaştırması

	Siroz	Siroz olmayan	p değeri
Lökosit (K/uL)	4.52(±2.14)	6.26(±1.41)	P<0.001
Hemoglobin (g/dL)	13.2(±2.01)	14.54(±1.44)	p=0.007
Platelet (K/uL)	89.89(±35.23)	214.45(±43.04)	P<0.001
MCV (fL)	87.98(±8.4)	88.54(±4.63)	p=0.449
Glukoz (mg/dL)	101(±35.30)	96.88(±21.69)	p=0.272
Albumin (g/dL)	3.64(±0.578)	3.93(±0.394)	p=0.005
AST (U/L)	61.00(±40.96)	41.71(±30.58)	p=0.003
ALT (U/L)	65.93(±50.42)	56.08(±55.94)	p=0.047
ALP (U/L)	91.20(±31.98)	83.32(±38.58)	p=0.112
GGT (U/L)	81.10(±83.37)	49.27(±25.73)	p=0.188
LDH (U/L)	197.14(±53.79)	206.66(±45.95)	p=0.491
T.protein (g/dL)	7.38(±0.783)	7.74(±0.828)	p=0.212
T.bilirubin(mg/dL)	1.11(±0.646)	0.8508(±1.009)	p=0.002

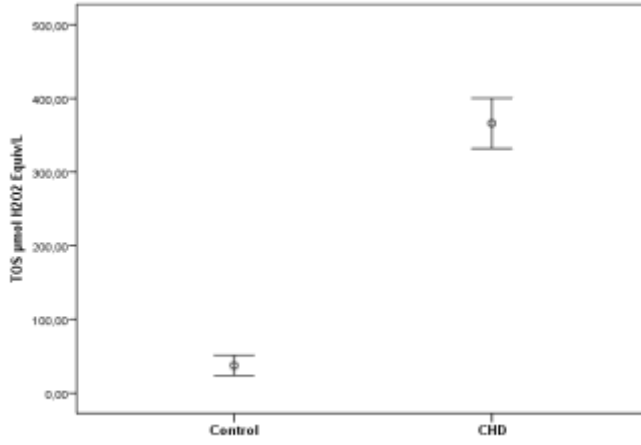
Tablo 11: Hastalardan İNF tedavisi almış ve almamış grupların karşılaştırması

	İNF tedavisi almış	İNFtedavisi almamış	p değeri
Lökosit (K/uL)	5.92(±1.72)	5.37(±2.03)	p=0.315
Hemoglobin (g/dL)	14.40(±1.51)	13.77(±1.97)	p=0.233
Platelet (K/uL)	182.86(±66.99)	159.73(±75.93)	p=0.140
MCV (fL)	88.39(±4.78)	88.30(±7.51)	p=0.331
Glukoz (mg/dL)	97.57(±28.12)	99.12(±25.69)	p=0.886
Albumin (g/dL)	3.88(±0.42)	3.77(±0.54)	p=0.327
AST (U/L)	50.20(±39.27)	45.77(±30.31)	p=0.553
ALT (U/L)	64.06(±54.34)	53.70(±53.83)	p=0.056
ALP (U/L)	83.97(±35.45)	88.42(±38.06)	p=0.360
GGT (U/L)	54.79(±35.51)	66.37(±71.00)	p=0.943
LDH (U/L)	209.30(±49.35)	196.28(±47.38)	p=0.630
T.protein (g/dL)	7.73(±1.03)	3.77(±0.239)	p=0.175
T.bilirubin(mg/dL)	0.8469(±1.06)	1.0525(±0.6748)	p=0.004

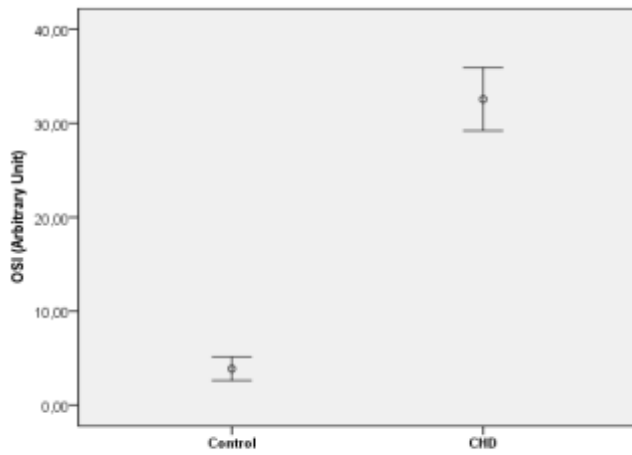
A



B



C



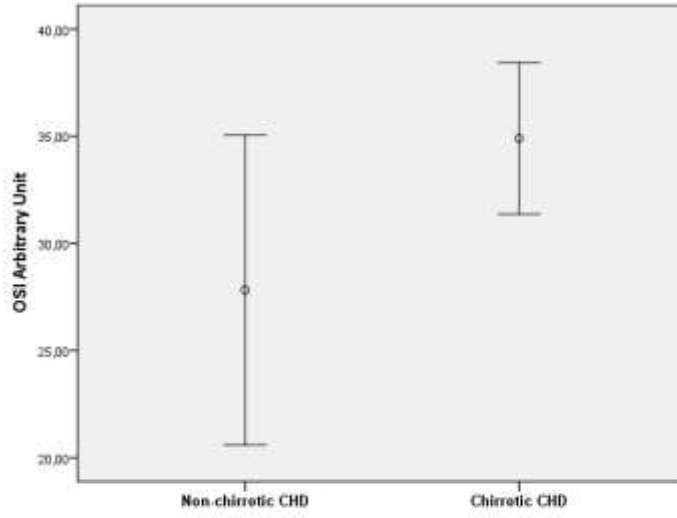
Şekil-13 A-C. Hasta ve kontrol gruplarının TAS (A), TOS(B) ve OSİ (C) değerlerinin karşılaştırılması (sırasıyla $p=0.003$, $p<0.001$, $p<0.001$)

Kronik delta hepatitli hastalarda TAS'ın ortalaması 0.9308 ± 0.2249 , TOS ortalaması: 366.13 ± 164.103 , OSİ ortalaması: 32.56 ± 16.08 iken kontrol grubunda TAS ortalaması: 1.0608 ± 0.1986 , TOS ortalaması: 37.35 ± 41.8697 , OSİ ortalaması: 3.88 ± 3.8914 ve bu sonuçlara göre hasta grup ve kontrol grup arasında istatistiki bakımından TAS, TOS ve OSİ'de anlamlı farklılık izlendi (sırasıyla $p=0.003$, $p<0.001$, $p<0.001$).

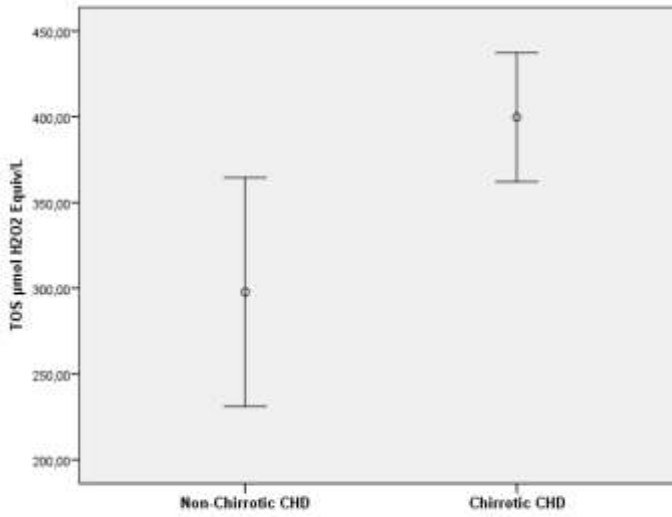
Kronik delta hepatitli hastalarda oluşturulan subgruplarda ise sonuçlar şu şekildeydi. Sirozlu olan hasta grubu ile siroz olmayan hasta grubu karşılaştırıldığında; Sirozlu grupta TAS ortalaması: 0.9169 ± 0.2317 , TOS ortalaması: 399.7613 ± 146.68 OSİ ortalaması: 34.899 ± 13.7911 , siroz olmayan grupta ise TAS ortalaması: 0.9590 ± 0.2113 , TOS ortalaması: 297.7527 ± 178.453 , OSİ ortalaması: 27.8279 ± 19.3583 değerlerine ulaşıldı ve istatistiki karşılaştırmada TAS anlamlı değilken, TOS ve OSİ 'de anlamlı farklılık tespit edildi (sırayla $p=0.410$, $p=0.006$, $p=0.025$).

Bir diğer karşılaştırma olan İnterferon (İNF) tedavisi almış grup ile tedavi almamış grup arasındaydı. İNF tedavisi alan grupta; TAS ortalaması: 0.9474 ± 0.2184 , TOS ortalaması: 360.1526 ± 177.825 , OSİ ortalaması: 32.6914 ± 17.544 İNF tedavisi almayan grupta ise; TAS ortalaması: 0.9165 ± 0.2316 , TOS ortalaması: 371.2573 ± 153.054 , OSİ ortalaması: 32.4628 ± 14.9052 değerlerine ulaşıldı. Tedavi bakımından istatistiki farklılık gözlenmedi (sırayla $p=0.676$, $p=0.714$, $p=0.937$).

A



B



Şekil-14: Sirotik ve non-sirotik grupların TOS (şekil-A) ve OSİ (şekil-B) değerlerinin karşılaştırılması (sırayla p=0.006, p=0.025)

V. TARTIŞMA

HBV ile infekte kişilerde HDV seroprevalansı dünya genelinde %0,5-20 arasındaki oranlarda değişiklik göstermektedir (27). Ülkemizde yapılan meta-analizde inaktif HBV taşıyıcılarında 1980- 1990 yılları arasında %7.4 olan HDV sıklığının 2001-2009 yılları arasında %1.4'e gerilediği bildirilmiştir (1). Aynı çalışmada Güneydoğu Anadolu bölgesindeki siroz ve hepatoselüler kanser vakalarının neredeyse yarısından kronik hepatit D (KHD) sorumlu olduğu gösterilmiştir.

HDV infeksiyonunun patogenezi, tam olarak açıklanamamıştır. Bu hastalarda da hepatit B ve hepatit C'li hastalardaki gibi hepatosellüler hasarın, immün cevap ile gelişmesi olasıdır. Delta hepatitinin kronik fazında infekte hepatositler çevresinde inflamatuvar hücrelerin ve değişik antikorların gösterilmesi, patogenezi immun cevabın da rolü olduğunu düşündürmüştür (34, 35). Ciddi ve hızlı progresyon göstermesi delta virüsünü yüksek patojenik virüs haline dönüştürmektedir. HDV infeksiyonlu hastaların %70'inde siroz gelişmektedir. Genellikle siroza ilerleyiş 5-10 yıl kadar devam etse de bunların yaklaşık %15'inde ilk birkaç yıl içinde görülmektedir (30, 37, 38).

Uygun koşullar altında hücreler oksidatif stresin seviyesini kontrol altında tutan ve oksidatif ile antioksidatif ürünler arasındaki dengeyi sürdüren özel moleküler stratejilerle donatılmıştır. Oksidan ve antioksidan ajanlar arasındaki anormallikler kendini oksidatif stres olarak gösterir. Reaktif oksijen türünleri karaciğerin mitokondri ve P450 sistemi aracılığıyla endoplazmik retikulumunda primer olarak üretilmektedir (133). Oksidatif stress birçok karaciğer hastalığında önemli rol oynamaktadır. Redoks durumu inflamatuvar, metabolik ve proliferatif karaciğer hastalıklarının seyrinde katkıda bulunmaktadır. Karaciğer hastalıklarının hem etiyopatogenezini açıklayabilmek hem de karaciğer hasarının derecesini tanımlamak ve tedaviye yanıtı izlemek için oksidatif stresin durumu araştırılabilir (133). Kronik viral (B ve C) hepatitler, alkolik olmayan steatohepatit (NASH) ve otoimmün hepatitlerde oksidatif stresin önemi birçok çalışmada gösterilmiştir (134-140). Bizim literatür taramalarımız dahilinde kronik hepatit D' de oksidatif stresle ilgili yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır (1 Ocak 2015 tarihine kadar PubMed veri tabanında).

Duygu ve arkadaşlarının çalışmasında TOS ve OSI değerleri kronik hepatit B'li hastalarda inaktif taşıyıcılar ve sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı

derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Aynı çalışmada TAS ve seruloplazmin seviyeleri ise kronik hepatit B grubunda en düşük düzeyde saptanmıştır (kontrol grubuna göre, $p<0.001$) (134).

Bölükbaş ve arkadaşları hepatit B virüs enfeksiyonlu hastalarla (inaktif taşıyıcı, kronik hepatit ve sirozlu grup) sağlıklı kontrol grubunda oksidatif stresi araştırmışlardır. Antioksidan yanıt sirotik hastalarda, kontrol ve inaktif taşıyıcılara kıyasla belirgin düşük saptanmıştır (sırasıyla $p=0.008$ ve $p=0.008$). Total peroxit düzeyi ve oksidatif stres indeksi, kontrol ve inaktif taşıyıcılara kıyasla sirozlu hastalarda (her iki grup, $p<0.001$) ve kronik hepatitli hastalarda (her iki grup, $p<0.001$) belirgin yüksek saptanmıştır. Bu çalışmada ayrıca serum ALT seviyeleri ile total peroksit seviyeleri ve oksidatif stres indeksi arasında sadece kronik hepatit grubunda pozitif korelasyon saptanmıştır (sırasıyla $p=0.002$, $r=0.519$ ve $p=0.008$, $r=0.453$) (135). Bu çalışmada TAS ölçüm işlem bizim çalışmamız ile aynı metodu kullanmıştır. Onların kronik hepatit B'li siroz olmayan ve siroz olan grupların TAS ortalaması sırasıyla 1.58 ve 1.36 $\mu\text{Mol/L}$ Trolox iken bizim kronik hepatit D'li siroz olmayan ve siroz olan gruplarımızda sırasıyla 0.93 ve 0.91 $\mu\text{Mol/L}$ Trolox olarak bulunması hepatit D virusunun oksidatif strese ek katkısı bulunduğu yönünde değerlendirilebilir.

Güler ve arkadaşlarının çalışmasında kronik hepatit B hastalarında Alanin aminotransferaz (ALT), miyeloperoksidaz (MPO), malonildialdehit (MDA) seviyeleri inaktif taşıyıcı ve kontrole kıyasla yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p<0.001$, $p=0.001$, $p=0.000$). Ayrıca bu çalışmada DNA düzeyleri ile ALT, MPO, MDA arasında pozitif korelasyon saptanmıştır; ALT için $r=0.295$, $p=0.001$; MDA için $r=0.244$, $p=0.006$ ve MPO için $r=0.183$, $p=0.038$). Oksidatif stres Aktif ve inaktif kronik hepatitli grup arasında belirgin iken antioksidan düzeyde anlamlı fark saptanmamıştı (136).

Namıduru ve arkadaşlarının çalışmasında kronik hepatit B ve C hastalarında kontrol grubuna kıyasla belirgin yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Antioksidan miyeloperoksidaz ise kronik hepatit hastalarında belirgin düşük saptanmıştır ($p<0.001$). Fakat oksidatif stres ile karaciğer nekroinflamatuvar aktivite, fibrozis ve viral yükünde herhangi bir ilişki saptanmamıştır (137).

Araştırmalarımız dahilinde literatürde kronik hepatit D' de oksidatif stres ile ilgili çalışmaya rastlanmadı. Sonuçlarımız kronik hepatit B ve C ile ilgili literatür çalışmalarında gösterildiği gibi kronik hepatit D hastalarında da oksidatif stres varlığını ortaya koymuştur.

Bizim çalışmamızdaki gibi sirozlu hastaların (HBV bağlı siroz) dahil edildiği tek çalışma Bölükbaş ve arkadaşlarının çalışmasıdır. Bölükbaş ve arkadaşlarının çalışmasında (135) HBV bağlı siroz grubunda sadece inaktif taşıyıcı ve kontrol grubuna göre TOS ve OSI belirgin olarak yüksek bulunmuşken kronik hepatit B grubuyla istatistiksel fark saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda HDV' ye bağlı siroz grubunun TOS ve OSI değerleri hem siroz olmayan kronik hepatit D grubu hem de kontrol grubuna kıyasla belirgin yüksek saptanmıştır.

Koruk ve arkadaşlarının biyopsiyle tanı almış olan NASH' li hastalarda yaptıkları çalışmada; oksidatif ajan olarak serum malonildialdehit ve nitrik oksid, antioksidan olarak serum glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, ve süperoksit dismutaz düzeylerine bakmışlar. NASH'li hastalarda malonildialdehit, nitrik oksid, glutatyon düzeyleri kontrole kıyasla belirgin yüksek iken diğer antioksidanlar ise kontrol grubuna kıyasla normal veya düşük düzeyde saptanmıştır. Bu gözlem nedeniyle antioksidan defansın bozukluğunun patogeneizde önemli rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir (139).

Madan ve arkadaşlarının çalışmasında ise NASH' li hastalarda kronik viral hepatit ve sağlıklı kontrollere nazaran oksidatif stres belirteçlerini belirgin yüksek saptamışlardır (140).

Görenek ve arkadaşları kronik hepatit C hastalarının antioksidan enzim seviyelerinin düşüklüğüyle ilişkili oksidatif stres altında olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca pegile interferon + ribavirin kombinasyon tedavisini takiben bu bozulmanın sağlıklı kontrol seviyelerine geldiğini göstermişlerdir (138).

Kronik hepatit C hastalarında interferon alfa tedavisine antioksidan ajanların eklenerek yapılan kontrollü çalışmada; vitamin E eklenen grup vitamin E eklenmeyen gruplara (sadece interferon alfa ve interferon alfa + N-asetilsistein) oranla viral yükte belirgin azalma ($p < 0.028$) ve tam yanıt sağlanma şansında 2.4 kat artış (%95 CI; 1.05-5.5) elde edildi (141).

Birçok çalışmada tokoferol karaciğer fibrogenezisinde önemli rol oynayan bir sitokin olan transforming growth faktör (TGF)- β ' nın inhibitörü ve antioksidan olarak onu etkilemesi sonucunda NASH' de karaciğerin biyokimyası ve histolojik lezyonlarında düzelleme sağladığı gösterilmiştir (142). Hasegawa ve arkadaşları 1 yıl süreyle 300 mg/gün tokoferol verilen, 12 NASH' li hastayla yaptıkları çalışmanın sonucunda serum TGF- β

seviyelerinin azaldığını, biyokimyasal belirteçler ve hepatik patolojik bulguların düzeldiğini gösterdiler (143). Kawanaka ve arkadaşlarının çalışmasında on NASH hastası 6 ay süreyle 300 mg/gün tokoferol ile tedavi edildi. Tedavi neticesinde ALT ve gamma glutamil transferaz düzeylerinde anlamlı düşme sağlandı. Ayrıca oksidatif stres belirteçlerinde (thioredoxin ve tiobutirik asit) azalma elde edildi (144). Vitamin C ve E'nin 12 ay süreyle birlikte verildiği başka bir çalışmada; NASH'li hastaların serum ALT, thioredoxin, yüksek sensitif CRP düzeyleri ve karaciğer histolojilerinde düzelmeye izlenmiştir (145).

Dikici ve arkadaşlarının çalışmasında akut ve kronik hepatit B hastalarında kontrollere kıyasla oksidatif stresin (serum malondialdehit ve konjuge dienler) arttığı antioksidanların (serum β -karoten ve glutatyon) azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada kronik hepatit B hastalarının alfa-interferon tedavisi sonrası bu bozulmaların normale döndüğünü göstermişlerdir (146).

Chiou ve arkadaşlarının çalışmasında hızlı viroloji yanıt elde edilemeyenlerde hızlı virolojik yanıt elde edilen hastalara kıyasla tedavi başlangıcında ve tedavinin 24. haftasında oksidatif stres belirtecini (tiobutirik asit reaktif substans) anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). Ayrıca kalıcı virolojik yanıt elde edilen hastalarda kalıcı virolojik yanıt elde edilemeyen hastalara kıyasla tedavi bitiminden sonraki dördüncü hafta TAS düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.01$) (147).

Bizim çalışmamızda kullandığımız Erel yöntemi, eşzamanlı olarak oksidan ve antioksidan kapasiteyi belirleyerek total antioksidan yanıtı ortaya koyan yeni bir sistemdir. Bu sistemin bugün için ulaşılabilen diğer sistemlere göre; güvenilir ve sensitif olması, ucuz ve basit olması, tamamen kolay ve otomatik ölçüm yapması, bilirubin, serum lipidleri ve antikoagulanlar gibi serum içeriğinden etkilenmemesi en büyük avantajlarıdır (125).

Yapılan birçok ilaç denemesine rağmen kronik hepatit D'de tek tedavi seçeneği hala pegile interferon tedavisidir. Bu tedavi ile sağlanan virolojik yanıt oranları ise yaklaşık %30 seviyelerinde kalmaktadır (2).

VI. SONUÇ

Çalışmamızda kronik hepatit D hastalarında kontrol grubuna kıyasla oksidatif durumdaki artış ve antioksidan kapasitedeki azalma istatistiksel olarak anlamlı derecede belirgin bulunmuştur. Kronik hepatit D hastaları kendi arasında değerlendirildiğinde siroz grubunda siroz olmayan gruba kıyasla oksidatif durumda artış ve antioksidan kapasitede azalma belirgin olarak saptanmış olup istatistiksel farklılık ise sadece oksidatif durumdaki artışta gözlenmiştir. Bizim çalışmamızdaki kısıtlayıcı faktör kronik hepatit B hastalarının dahil edilmemesi olmuştur. Kronik hepatit B'li hastaları kronik hepatit D'li hastalarla kıyaslanabilecek şekilde dizayn edilecek çalışmanın neticesinde hepatit B ve Delta virüslerinin oksidatif stres üzerine etkileri ayrı ayrı değerlendirilebilecektir. Bu bulguları destekleyecek yeni, büyük çalışmalara ihtiyaç vardır.

VII. KAYNAKLAR

- 1- Değertekin H, Yalçın K, Yakut M. The prevalence of hepatitis delta virus infection in acute and chronic liver diseases in Turkey: an analysis of clinical studies. *Turk J Gastroenterol.* 2006 Mar;17(1): 25-34.
- 2- Uhl P, Fricker G, Haberkorn U, Mier W. Current status in the therapy of liver diseases. *Int J Mol Sci.* 2014 Apr 30;15(5): 7500-12.
- 3- Ha HL, Shin HJ, Feitelson MA, Yu DY. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2010 Dec 28;16(48): 6035-43.
- 4- 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 Oct 31; 5:95.
- 5- Duygu F, Karsen H, Aksoy N, Taskin A. Relationship of oxidative stress in hepatitis B infection activity with HBV DNA and fibrosis. *Ann Lab Med.* 2012 Mar;32(2): 113-8.
- 6- Venturini D, Simão AN, Barbosa DS, Lavado EL, Narciso VE, Dichi I, Dichi JB. Increased oxidative stress, decreased total antioxidant capacity, and iron overload in untreated patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci.* 2010 Apr;55(4):1120-7.
- 7- Duygu F, Koruk ST, Karsen H, Aksoy N, Taskin A, Hamidanoglu M. Prolidase and oxidative stress in chronic hepatitis C. *J Clin Lab Anal.* 2012 Jul;26(4): 232-7.
- 8- Rizzetto M, Canese MG, Arico S et al. Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (d/anti-d) associated to hepatitis B virus in liver and serum of HBsAg carriers. *Gut* 1977; 18: 997-1003.46
- 9-Wang K.S, Q.L.Choo, A.J. Weiner, J.H et al. Structure, sequence and expression of hepatitis delta viral genome. *Nature* 1986; 323: 508-514
- 10- Wang, J. G, S. M. Lemon. Hepatitis delta virus antigen forms dimers and multimeric complexes in vivo. *J.virol.*1993; 67: 446-454
- 11-Smedile A, Rizzetto, Mgerin JL. Advances in hepatitis D virus biology and disease. *Prog Liver Dis* 1984;12:157-75.

- 12-Radjef N, Gordien E, Ivaniushina V, et al. Molecular phylogenetic analyses indicate a wide and ancient radiation of African hepatitis delta virus, suggesting a delta virus genus of at least seven major clades. *J Virol* 2004;78: 2537-44
- 13-Makuwa M, Caron M, Souquiere S, et al. Prevalence and genetic diversity of hepatitis B and delta viruses in pregnant women in Gabon: molecular evidence that hepatitis delta virus clade 8 originates from and is endemic in central Africa. *J Clin Microbiol* 2008;46: 754-6
- 14-Shakil AO, Hadziyannis S, Hoofnagle JH, et al. Geographic distribution and genetic variability of hepatitis delta virus genotype I. *Virology* 1997;234:160-7
- 15-Wu JC, Cgoo KB, Chen CM, et al. Genotyping of hepatitis D with restriction-fragment length polymorphism and relation to outcome of hepatitis D. *lancet* 1995;346:939-41
- 16-Lee CM, Changchien CS, Chung JC, Liaw YF. Characterization of a new genotype II hepatitis delta virus from taiwan. *J Med Virol* 1996;49:145-54
- 17-Watanabe H, Nagayama K, Enomoto N, et al. Chronic hepatitis delta virus infection with genotype IIb variant is correlated with progressive liver disease. *J Gen Virol* 2003;84: 3275-89
- 18-Casey JL, Brown TL, Colan EJ, et al. A genotype of hepatitis d virus that occurs in northern South America. *Prog Natl Acad Sci USA* 1993;90: 9016-20
- 19-Su C. W. et al. Genotypes and viremia of hepatitis B and D viruses are associated with outcomes of chronic hepatitis D patients. *Gastroenterology* 2006;Volume 130:1625–1635
- 20- Kiesslich D, Crispim MA, Santos C et al. Influence of hepatitis B virus (HBV) genotype on the clinical course of disease in patients coinfecting with HBV and hepatitis delta virus. *J Infekt Dis* 2009;199: 1608-11
- 21 -Hsu SC, Syu W Jr, Sheen IJ, et al. Varied assembly and RNA editing efficiencies between genotypes I and II hepatitis D virus and their implications. *Hepatology* 2002;35:665-72
- 22-Lin FM, Lee CM, Wang TC, Chao M. Initiation of RNA replication of cloned taiwan-3 isolate of hepatitis delta virus genotype II in cultured cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;306:966-72

- 23-Buti M, Homs M, Rodriguez-frias F,et al. Clinical outcome of acute and chronic hepatitis delta over time: a long-term follow-up study. *J Viral Hepat* 2011;18:434-42
- 24- Niro GA, Casey JL, Gravinase et al. Intrafamilial transmission of hepatitis delta virus; molecular evidence. *J Hepatology* 1999; 30(4):564-9
- 25- Mele A. et al. Acute hepatitis delta virus infection in Italy: incidence and risk factors after the introduction of the universal anti hepatitis B vaccination campaign. *Clin. Infect. Dis.*2007; 44:e17–e24
- 26- Navascues CA, Rodriguez M, Sotorrio NG et al. Epidemiology of hepatitis D virus Infection: changes in the last 14 years. *Am J Gastroenterol* 1995; 90:1981–4.
27. Sagnelli E, Stroffolini T, Ascione A et al. Decrease in HDV endemicity in Italy. *J Hepatol* 1997; 26:20–4.
28. Degertekin H, Yalcin K, Yakut M. et al. The prevalence of hepatitis delta virus infection in acute and chronic liver diseases in Turkey: an analysis of clinical studies. *Turk J Gastroenterology* 2006; 17:25–34.
29. Le Gal F, Castelneau C, Gault E et al. Hepatitis D virus infection – not a vanishing disease in Europe – Reply. *Hepatology* 2007; 45:1332–3.
- 30-Polish LB, Gallagher M, Fields HA, Hadler SC. Delta hepatitis: molecular biology and clinical and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev.* 1993 Jul;6(3):211-29.
- 31-Wu JC, Chen, TZ, Huang, YS, et al. Natural history of hepatitis D viral superinfection: Significance of viremia detected by polymerase chain reaction. *Gastroenterology* 1995; 108:796.
- 32- Hepatitis D. World Health Organization, 2001.

- 33- Macagno S, Smedile A, Caredda F, Ottobrelli A, Rizzetto M. Monomeric (7S) immunoglobulin M antibodies to hepatitis delta virus in hepatitis type D. *Gastroenterology*. 1990 Jun;98(6):1582-6
- 34-Cole SM, Gowans EJ, Macnaughton TB, Hall PD, Burrell CJ. Direct evidence for cytotoxicity associated with expression of hepatitis delta virus antigen. *Hepatology*.1991;13(5): 845-51.
- 35-Verme G, Amoroso P, Lettieri G, Pierri P, David E, Sessa F, Rizzi R, Bonino F, Recchia S, Rizzetto M. A histological study of hepatitis delta virus liver disease. *Hepatology*. 1986 Nov-Dec;6(6):1303-7.
- 36-Bichko V, Netter HJ, Wu TT, Taylor J. Pathogenesis associated with replication of hepatitis delta virus. *Infect Agents Dis*. 1994 Apr-Jun;3(2-3):94-7.
- 37-David Zakim, Thomas D. Boyer. *Hepatology A Textbook of Liver Disease*. In: Nair S, Perillo RP. *Hepatitis B and D. Hepatitis B and D*. 4th edn. Vol2 Saunders Company, Philadelphia. 2003;2: 959-1016.
- 38-Denniston KJ, Hoyer BH, Smediler A, et al. Cloned fragment of the Hepatitis delta virus genome: Sequence and diagnostic application. *Science* 1986; 232:873-875.
- 39-Wang D, Pearlberg J, Liu YT, Ganem D. Deleterious effects of hepatitis delta virus replication on host cell proliferation. *J Virol* 2001;75: 3600-3604.
- 40-Nisini R, Paroli M, Accapezzato D, Bonino F, Rosina F, Santantonio T, et al. Human CD4+ T-cell response to hepatitis delta virus: identification of multiple epitopes and characterization of T-helper cytokine profiles. *J Virol* 1997;71: 2241-2251.
- 41-Huang YH, Tao MH, Hu CP, Syu WJ, Wu JC. Identification of novel HLA-A*0201-restricted CD8+ T-cell epitopes on hepatitis delta virus. *J Gen Virol*.2004 ct;85(Pt 10):3089-98.
- 42-Farci P, Orgiana G, Coiana A, Peddis G, Mandas A, Lai ME, et al. Epidemiology of HDV infection in Sardinia, an island with a high endemicity for HBV: A multicenter study. In: Gerin JL, Purcell RH, Rizzetto M, editors. *Progres in clinical and biological research, the hepatitis delta virus*. New York: Alan R. Liss, 1991. pp.40-50.

- 43-Sakugawa H, Nakasone H, Nakayoshi T, Kawakami Y, Yamashiro T, Maeshiro T, et al. Hepatitis B virus concentrations in serum determined by sensitive quantitative assays in patients with established chronic hepatitis delta virus infection. *J Med Virol* 2001;65: 478-484
- 44-Smedile A, Rosina F, Saracco G, Chiaberge E, Lattore V, Fabiano A, et al. Hepatitis B virus replication modulates pathogenesis of hepatitis D virus in chronic hepatitis D. *Hepatology* 1991;13: 413-416.
- 45-Straub PO, Mams MP 'Hepatitis C and D, Retroviruses and Autoimmune Manifestations' *J Autoimmunity* 2001; 16: 275-285.
- 46-Ottobrelli A, Marzano A, Smedile A, Recchia S, Salizzoni m, Cornu C, et al. Patterns of hepatitis delta virus reinfection and disease in liver transplantation. *Gastroenterology* 1991;101:1649-1655.
- 47-Erden E, Hepatit Delta Virüs İnfeksiyonunda Histopatoloji. Degertekin H, Yalçın K, (editörler). *Türkiye'de Delta Virüs İnfeksiyonu*, 2005: 24-29.
- 48-Zignego AL, Deny P, Feray C, Ponzetto A, Gentilini P, Tiollais P, Bréchet C. Amplification of hepatitis delta virus RNA sequences by polymerase chain reaction: a tool for viral detection and cloning. *Mol Cell Probes*. 1990 Feb;4(1):43-51.
- 49- Hsieh TH, Liu CJ, Chen DS, Chen PJ. Natural course and treatment of hepatitis D virus infection. *J Formos Med Assoc*. 2006 Nov;105(11):869-81. Review.
- 50- Niro GA, Rosina F, Rizzetto M. *J Viral Hepat*. 2005 Jan;12(1):2-9.
- 51- Farci P. Delta hepatitis: an update. *J Hepatol*. 2003;39 Suppl 1:S212-9. Review.
- 52- Smedile, A, Farci, P, Verme, G, et al. Influence of delta infection on severity of hepatitis B. *Lancet* 1982; 2: 945.
- 53- Govindarajan, S, De Cock, KM, Redeker, AG. Natural course of delta superinfection in chronic hepatitis B virus-infected patients: Histopathologic study with multiple liver biopsies. *Hepatology* 1986; 6: 640.

- 54- Polish LB, Gallagher M, Fields HA, Hadler SC. Delta hepatitis: molecular biology and clinical and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev.* 1993 Jul;6(3):211-29.
- 55-Wu JC, Chen, TZ, Huang, YS, et al. Natural history of hepatitis D viral superinfection: Significance of viremia detected by polymerase chain reaction. *Gastroenterology* 1995; 108:796.
- 56-Gerin JL, Casey JL, Purcell RH. Hepatitis delta virus. In: Hollinger FB, Purcell RH, Gerin JL, et al. eds. *Viral hepatitis*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:169-82.
- 57-Purcell RH, and Gerin JL. Hepatitis delta virus. In: Fields BN, Knipe DM, and Howley PM, EDS. *Fields Virology*, 3rd ed. Philadelphia, Lippincott-Raven, 1996, 2819-2829.
- 58-Bonino F, Smedile A. Delta antigen (type D) hepatitis. *Semin Liver Dis* 1986;6: 28- 33.
- 59-Smedile A, Dentico P, Zanetti A, Sagnelli E, Nordenfelt E, Actis GC, Rizzetto M. Infection with the delta agent in chronic HBsAg carriers. *Gastroenterology*. 1981 Dec;81(6):992-7.
- 60-Balik I, Onul M, Tekeli E, Caredda F. Epidemiology and clinical outcome of hepatitis D virus infection in Turkey. *Eur J Epidemiol.* 1991 Jan;7(1):48-54.
- 61-Govindarajan S, Chin KP, Redeker AG, Peters RL. Fulminant B viral hepatitis: role of delta agent. *Gastroenterology*. 1984 Jun;86(6):1417-20.
- 62-Casey JL, Niro GA, Engle RE, Vega A, Gomez H, McCarthy M, Watts DM, Hyams KC, Gerin JL. Hepatitis B virus (HBV)/hepatitis D virus (HDV) coinfection in outbreaks of acute hepatitis in the Peruvian Amazon basin: the roles of HDV genotype III and HBV genotype F. *J Infect Dis.* 1996 Nov;174(5):920-6.
- 63-Flodgren E, Bengtsson S, Knutsson M, Strebkova EA, Kidd AH, Alexeyev OA, Kidd-Ljunggren K. Recent high incidence of fulminant hepatitis in Samara, Russia: molecular analysis of prevailing hepatitis B and D virus strains. *J Clin Microbiol.* 2000;38(9):3311-6.
- 64-Wu JC, Choo, KB, Chen, CM, et al. Genotyping of hepatitis D virus by restriction fragment length polymorphism and relation to outcome of hepatitis D. *Lancet* 1995; 346:939.

- 65-Saracco G, Macagno S, Rosina F, Rizzetto M. Serologic markers with fulminant hepatitis in persons positive for hepatitis B surface antigen. A worldwide epidemiologic and clinical survey. *Ann Intern Med.* 1988 Mar;108(3):380-3.
- 66- Rizetto M. The delta agent. *Hepatology* 1983;3: 729-37.
- 67- Zachou K. et al. Quantitative HBsAg and HDV RNA levels in chronic delta hepatitis. *Liver Int.* 2010; 30(3):430-7
- 68 -Fattovich, G. et al. Influence of hepatitis delta virus infection on progression to cirrhosis in chronic hepatitis type B. *J. Infect. Dis.*1987; 155:931–935
- 69- Uzunalimoglu O. et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma in Turkey. *Dig. Dis. Sci.*2001; 46:1022–1028
- 70- Su C. W. et al. Genotypes and viremia of hepatitis B and D viruses are associated with outcomes of chronic hepatitis D patients. *Gastroenterology* 2006;Volume 130:1625–1635
- 71- Smedile A, Farci P, Verme G et al. Influence of delta infection on severity of hepatitis B. *Lancet* 1982; 2:945–7.
- 72- Rizzetto M, Verme G, Recchia S et al. Chronic hepatitis in carriers of hepatitis B surface antigen, with intrahepatic expression of the delta antigen. An active and progressive disease unresponsive to immunosuppressive treatment. *Ann Intern Med* 1983; 98:437–41.
- 73- Saracco G, Rosina F, Brunetto MR et al. Rapidly progressive HBsAg-positive hepatitis in Italy. The role of hepatitis delta virus infection. *J Hepatol* 1987;Volume 5:274–848
- 74- Fattovich G, Giustina G, Christensen E et al. Influence of hepatitis delta virus infection on morbidity and mortality in compensated cirrhosis type B. The European Concerted Action on Viral Hepatitis (Eurohep). *Gut* 2000; 46:420–6.
- 75-Poynard T, Mathurin P, Lai CL et al. A comparison of fibrosis progression in chronic liver diseases. *J Hepatol.* 2003; 38(3):257-65.

- 76-Foster GR, Goldin RD. Combined _nfections. In: Foster GR, Goldin RD, eds. Management of Chronic Viral Vepatitis, 2nd ed. London: Taylor and Francis 2005:99-110
- 77-Yalçın K, Kronik Delta Virüs _nfeksiyonunda Klinik Özellikler ve Tanı. Degertekin H, Yalçın K, (editörler). Türkiye’de Delta Virüs _nfeksiyonu, 2005:52-66.
- 78- Alavian SM, Alavian SH. Hepatitis Delta Virus Infection; Iran, Middle East and Central Asia. Hepatitis Monthly 2005; 5:137-143.
- 79- DiBisceglie AM, Negro F. Diagnosis of hepatitis Delta Virus _nfection. Hepatology 1989; 10:1014-1016.
- 80- Hosoglu S, HDV enfeksiyonunun klinigi ve tanısı. Tabak F, Balık _, Tekeli E, (editörler) Viral Hepatit 2007:270-274.
- 81- Hsu SC, Syu WJ, Ting LT, Wu JC. Immunohistochemical differentiation of hepatitis D virus genotypes. Hepatology 2000; 32:1111-1116
- 82- Madejon A, Castillo I, Bartolome J, Melero M, Campillo ML, Porres JC, Moreno A, Carreno V. Detection of HDV-RNA by PCR in serum of patients with chronic HDV infection. J Hepatol 1990; 11:381-384
- 83-Samuel D, Zignego AL, Reynes M et al. Long-term clinical and virological outcome after liver transplantation for cirrhosis caused by chronic delta hepatitis. Hepatology 1995; 21:333.
- 84- Yurdaydin, C. et al. Famciclovir treatment of chronic delta hepatitis. J. Hepatol.2002; 37:266–271
- 85- Lau, D. T. Et al. Lamivudine for chronic delta hepatitis. Hepatology 1999; 30:546-549
- 86- Uchida T, Taira M, Shikata T, Moriyama M, Tanaka N, Okubo H, Arakawa Y. Histological difference between complete responders and non-responders to interferon therapy of the livers of patients with chronic hepatitis C. Acta Pathol Jpn. 1993 May; 43(5):230-6.

- 87- Blanchet M, Sureau C. et al .Analysis of the cytosolic domains of the hepatitis B virus envelope proteins for their function in viral particle assembly and infectivity. *J. Virol.* 2006; 80:11935–11945
- 88- Pugnale P, Paziienza V, Guilloux K et al. Hepatitis delta virus inhibits alpha interferon signaling. *Hepatology* 2009; 49:39849
- 89- Rosina F, Pintus C, Meschievitz C et al. Randomized controlled trial of a 12 month course of recombinant human interferon –alpha in chronic delta (Type D) hepatitis: a multicenter Italian study. *Hepatology* 1991; 13:1052.
- 90- Farci P. et al. Treatment of chronic hepatitis D with interferon alfa 2a. *N Engl J Med*1994; 330:88–94
- 91- Farci P. et al. Longterm benefit of interferon alpha therapy of chronic hepatitis D: regression of advanced hepatic fibrosis. *Gastroenterology* 2004 126:1740–1749
- 92- Erhardt, A. Et al. Treatment of chronic hepatitis delta with pegileylated interferon alpha2b. *Liver Int.*2006; 26:805–810
- 93-Niro G. A, Rosina F, Rizzetto, M. Treatment of hepatitis D. *J. Viral Hepat.* 2005; 12: 29
- 94- Niro G. A. et al. Pegylated interferon alpha 2b as monotherapy or in combination with ribavirin in chronic hepatitis delta. *Hepatology* 2006; 44:713–720
- 95- Wedemeyer H. et al. 72 week data of the HIDIT 1 trial: A multicenter randomised study comparing pegileinterferon alpha 2a plus adefovir vs. pegileinterferon alpha 2a plus placebo vs. adefovir in chronic delta hepatitis. *J. Hepatol.* 2007; 46:S4
- 96- Wedemeyer H, Yurdaydin C. et al. Delta hepatitis in *Handbuch Hepatitis B: Diagnostic, Verlauf, Therapi* 2007; 296:31-40
- 97- Lange CM, Zeuzem S. IL28B single nucleotide polymorphisms in the treatment of hepatitis C. *J Hepatol.* 2011;55(3):692-701.

- 98--Rizzetto M, Canese, MG, Gerin, JL, et al. Transmission of the hepatitis B virus associated delta antigen to chimpanzees. J Infect Dis 1980; 141: 590.
- 99-Degertekin H, Dünyada ve Türkiye’de HDV epidemiyolojisi. Degertekin H, Yalçın K, (editörler). Türkiye’de Delta Virüs İnfeksiyonu, 2005: 36-44.
- 100-Dugan LL, Choi WD. Excitotoxicity, free radicals, and cell membrane changes. Ann Neurol. 1994;35:17-21.
- 101- Nokhrin SM, Weil JA, Howarth DF. Magnetic resonance in systems with equivalent spin-1/2 nuclides. Part 1. Journal of Magnetic Resonance. 2005;174:209- 218.
- 102- Nokhrin SM, Weil JA, Howarth DF. Magnetic resonance in systems with equivalent spin-1/2 nuclides. Part 2: Energy values and spin states. Journal of Magnetic Resonance. 2008;193:1-9.
- 103- Erden M. Serbest radikaller. T Klin Tıp Bilimleri 1992;12:201-207.
- 104- Kavas GÖ. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. Türkiye klinikleri. 1989;9(1):1-8.
- 105- Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: mimoza yayınları, 1995:1-73.
- 106- Collen Smith, PhD at al. Oksijen toksitesi ve serbest radikal örsentisi. Marks’ Temel Tıbbi Biyokimyası. Güneş tıp kitabevleri. 2. baskı:62
- 107- Şimşek F. Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve lipid peroksidasyonu. TKlin J Pediatr. 1999;8:42-47.
- 108- Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksitleri ve organizmada prooksidan antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. Klinik Gelişim 1998;11:336-341.
- 109- Somogyi A, Rosta K, Pusztai P, Tulassay Z, Nagy G. Antioxidant measurements. Physiol Meas. 2007;28(4):41-55.
- 110- Schmidley JW. Free radicals in central nervous system ischemia. Stroke.1990;25:712.

- 111-Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. T Özal Tıp Merkezi Dergisi. 1997;4(4):453-461.
- 112- Çekmen BM ve ark. Nitrik oksit (NO) ve nitrik oksit sentaz (NOS)'ın fizyolojik ve patolojik özellikleri. T Klin Pediatri. 2001;10:226-236.
- 113- Marletta A. Nitric oxide synthase structure and mechanism. The Journal of Biological Chemistry. 1993;268(17):12231-12234.
- 114- Calabrese V, Bates ET, Stella AMG. NO synthase and NO-dependent signal pathways in brain aging and neurodegenerative disorders: The role of oxidant/antioxidant balance. Neurochemical Research. 2000;25:1315-1341.
- 115-Jurcau A. Acute cerebral ischemia and oxidative stres. Romanian journal of Neurology. 2008;2(2):45-56.
- 116- Halliwell B. Reactive oxygen species and central nervous system. Journal of Neurochemistry. 1992;59:1609-1623.
- 117- Roth E, Manhart N, Wessner B. Assessing the oxidative status in critically ill patients. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2004;7:161-168.
- 118- Chan PH. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism. 2001;21:2-14. 63
- 119- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. 1995;41(12):1819-1828.
- 120- Adachi T. ve ark. Quantitative and qualitative changes of extracellular-superoxide dismutase in patients with various diseases. Clinica Chimica Acta. 1994;229:123-131.
- 121- Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of Oxidant and Antioxidant Enzyme Expression and Function in Vascular Cells. Hypertension. 2004;44:1-6.
- 122-Schulz B.J, Lindenau J, Seyfried J,Dichgans J. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. Eur. J. Biochem. 2000;267:4904-4911.

- 123-Ullegaddi R ve ark. Antioxidant Supplementation With or Without B-Group Vitamins After Acute Ischemic Stroke: A Randomized Controlled Trial. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 2006;30(2):108-114.
- 124- Şener G, Yeğen Ç.B.İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim*. 5-13.
- 125- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*.2005;9:1-9.
- 126- Işık A, Selek Ş. Total Antioxidant Response and Oxidative Stress in Patients with Rheumatoid Arthritis. *F. Ü. Sağ. Bil. Derg.* 2007;21(2):67-73.
- 127- Işık A, Selek Ş. Total Antioxidant Response and Oxidative Stress in Patients with Behçet's Disease. *F. Ü. Sağ. Bil. Derg.* 2006;20(6):415-421.
- 128- Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*. 2004;37:277-285.
- 129- Gür M ve ark. The effect of coronary angioplasty on oxidative and antioxidative status. *Türk Kardiyol. Dern. Arş.* 2007;35(1):21-27.
- 130- Banerjee K.A. ve ark. Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Molecular and Cellular Biochemistry*.2003;253:307-312.
- 131- Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions, *Clin Biochem* 37 (2004), pp. 112-119
- 132- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005 Dec;38(12):1103-11
- 133- Cichoż-Lach H, Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2014 Jul 7;20(25):8082-91.
- 134- Fazilet Duygu ,Hasan Karsen, Nurten Aksoy, Abdullah Taskin. Relationship of Oxidative Stress in Hepatitis B Infection Activity with HBV DNA and Fibrosis. *Ann Lab Med*. 2012 Mar;32(2):113-118.

- 135- 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 Oct 31;5:95.
- 136- Selma Ates Guler, Fatma Inanc Tolun, Hasan Ucmak, Gulcan Haskaya, Melike Yavuz. Relationship between antioxidant capacity and oxidative stress in patients with chronic hepatitis B. *Adv Lab Med Int.* 2014; 4(1): 17-25.
- 137- Emine S. Namıduru, Mustafa Namıduru, Mehmet Tarakçıoğlu, Mustafa Tanrıverdi. Levels of Malondialdehyde, Myeloperoxidase and Nitrotyrosine in Patients with Chronic Viral Hepatitis B and C. *Adv Clin Exp Med* 2012, 21, 1, 47–53.
- 138- Görenek Levent, Acar Ali, Aydın Ahmet, Eyigun Can Polat, Çetinkaya Aytaç, Eken Ayse, Sayal Ahmet. Oxidative stress and antioxidant defense in patients with chronic hepatitis C patients before and after pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin therapy. *Journal of Translational Medicine.* 2006, 4:25.
- 139- 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 Winter;34(1):57-62.
- 140- Madan K, Bhardwaj P, Thareja S, Gupta SD, Saraya A. Oxidant stress and antioxidant status among patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J Clin Gastroenterol.* 2006 Nov-Dec;40(10):930-5.
- 141- Look MP, Gerard A, Rao GS, Sudhop T, Fischer HP, Sauerbruch T, Spengler U. *Antiviral Res.* 1999 Sep;43(2):113-22. Interferon/antioxidant combination therapy for chronic hepatitis C--a controlled pilot trial.
- 142- Medina J, Moreno-Otero R. Pathophysiological Basis for Antioxidant Therapy in Chronic Liver Disease. *Drugs* December 2005, Volume 65, Issue 17, pp 2445-2461
- 143- Hasegawa T, Yoneda M, Nakamura K, Makino I, Terano A. Plasma transforming growth factor-beta1 level and efficacy of alpha-tocopherol in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001 Oct;15(10):1667-72.

- 144- Kawanaka M, Mahmood S, Niiyama G, Izumi A, Kamei A, Ikeda H, Suehiro M, Togawa K, Sasagawa T, Okita M, Nakamura H, Yodoi J, Yamada G. Control of oxidative stress and reduction in biochemical markers by Vitamin E treatment in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Hepato Res.* 2004 May;29(1):39-41.
- 145-Kawanaka M, Nishino K, Nakamura J, Suehiro M, Goto D, Urata N, Oka T, Kawamoto H, Nakamura H, Yodoi J, Hino K, Yamada G. Treatment of nonalcoholic steatohepatitis with vitamins E and C: a pilot study. *Hepat Med.* 2013 Mar 4;5:11-6.
- 146- 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 Dec;38(12):1141-4. Epub 2005 Nov 21.
- 147- Chiou YL1, Chen YH, Ke T, Ko WS. The effect of increased oxidative stress and ferritin in reducing the effectiveness of therapy in chronic hepatitis C patients. *Clin Biochem.* 2012 Nov;45(16-17):1389-93.