

Karaciğer hastalıklarında (siroz veya hepatit) homosistein ve selenyum düzeyleri

Homocysteine and selenium levels in hepatic diseases (cirrhosis or hepatitis)

Naime CANORUÇ¹, Fikri CANORUÇ², Çetin ASLAN¹, Şerif YILMAZ², Cengiz TURGUT¹, Mehmet DURSUN², Zeki AKKUŞ³, Ebru KALE¹

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı¹, Gastroenteroloji Bilim Dalı², Biyoistatistik Anabilim Dalı³, Diyarbakır

Giriş ve amaç: Homosisteinin sentezinde ve metabolizmasında karaciğer önemli bir rol oynar. Karaciğer hasarı oluştuğunda homosisteinin metabolizmasında önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Selenyum düzeyinin karaciğer hasarında düştüğü rapor edilmektedir. Yine selenyum eksikliğinde karaciğerde önemli değişikliklerin olduğu ifade edilmekte ve patogenezdaki rolü araştırılmaktadır. Çalışmamızda karaciğer hasarında homosistein ve selenyum düzeylerinde meydana gelen değişiklikleri ve bu değişikliklere etki edebilecek faktörleri incelemeyi amaçladık. **Gereç ve yöntem:** Çalışmaya 22 kronik hepatitli (E: 12, K: 10; yaş ortalamaları: 43.90±15.02), 28 sirozlu (E: 25, K: 3; yaş ortalamaları: 42.50±16.00) hasta ile, 20 sağlıklı kontrol grubu (E: 12, K: 8; yaş ortalamaları: 36.65±8.29) dahil edildi. Etiyolojik dağılım: 36'sı Hepatit B virusu, 7'si Hepatit C virusu, 3'ü Hepatit B virusu + Hepatit D virusu, 1'i Wilson hastasıydı. Üç olgu kriptojenik sirozlu idi. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) cihazında floresan dedektörle homosistein; atomik absorpsiyon cihazında grafit modunda selenyum; Abotte Aeroset otoanalizör cihazında fotometrik yöntemle ALT, AST, GGT, albumin düzeyleri; Roche E170 modüler analitik sistem ile, kemiluminesans metodu kullanılarak B₁₂ ve folat düzeyleri çalışıldı. Metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) geni ise, hastalardan alınan tam kan örneklerinden elde edilen DNA'lar kullanılarak incelendi. **Bulgular:** Her 3 grubun yaşları arasında fark saptanmadı. Hem kronik hepatit hem de siroz grubundaki homosistein düzeylerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptandı (p=0.001). Kronik hepatit grubu ile siroz grubunun homosistein düzeyleri arasında fark saptanmadı. Öte yandan, kronik hepatit ile kontrol grubu arasında vitamin B₁₂ düzeyi açısından fark yoktu. Siroz grubunda vitamin B₁₂ düzeyinin kontrol grubundan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu izlendi. Folat düzeyi bakımından gruplar arasında fark saptanmadı. MTHFR gen mutasyonu bakımından da hasta ve kontrol grupları arasında fark saptanmadı. Her iki hastalık grubundaki selenyum düzeyinin kontrol grubundan daha düşük olduğu görüldü (p=0.001). **Sonuç:** Sonuçlarımız göstermektedir ki sirozlu ve kronik hepatitli hastalarda gözlenen hiperhomosisteinemi folat, vitamin B₁₂ eksikliği ve MTHFR gen mutasyonu ile ilgili değildir. Homosistein metabolizmasında görev alan diğer enzimlerin rollerinin olabileceği anlaşılmaktadır. Kronik hepatit ve sirozlularda belirgin selenyum eksikliğinin varlığı dikkat çekicidir.

Anahtar sözcükler: Kronik hepatit, siroz, homosistein, selenyum

Background/aim: The liver has a crucial role in homocysteine synthesis and metabolism. Important changes in homocysteine metabolism occur when hepatic deficiency exists. Selenium levels have also been reported as being decreased in liver damage. Furthermore, many changes take place in the liver when selenium deficiency occurs, and the role in pathogenesis is being investigated. We aimed to search the changes in homocysteine and selenium levels in liver damage and determine the probable influencing factors. **Materials and methods:** Twenty-two chronic hepatitis (m:11, f:11, average age: 43.90±15.02), 28 cirrhotic patients (m:25, f:3, average age: 42.50±16.00) and 20 healthy subjects (m:12, f:8, average age: 36.65±8.29) were included in the study. Etiology was hepatitis B in 36, hepatitis C in 7, hepatitis B + D in 3 and Wilson disease in 1 patient. Three patients had cryptogenic cirrhosis. Homocysteine level was measured by fluorescent detector using high performance liquid chromatography (HPLC); selenium level in graphite mode by atomic absorption; AST, ALT, GGT and albumin by Abotte Aeroset autoanalyzer with photometric method; and vitamin B₁₂ and folate levels by ELECYSIS E170 using chemiluminescence method; methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene analysis in DNA of whole blood samples was done. **Results:** There was no significant difference between the three groups with respect to age. Both chronic hepatitis and cirrhotic groups had higher homocysteine levels than those of the control group (p=0.001). There was no difference in homocysteine levels between chronic hepatitis and cirrhotic groups. On the other hand, there was no difference between chronic hepatitis and control groups with respect to vitamin B₁₂ levels. Vitamin B₁₂ level was higher in the cirrhotic group than in controls and the difference was statistically significant. There was no difference between any of the groups in respect to folate levels. MTHFR gene mutation was similar in both patient and control groups. Selenium level was found to be lower in both patient groups than in the control group (p=0.001). **Conclusion:** Our results showed that hyperhomocysteinemia in chronic hepatitis and cirrhosis is not related to deficiency in folate and vitamin B₁₂ and MTHFR gene mutation. It is seen that other enzymes involved in homocysteine metabolism might play a part in this process. It is noteworthy that selenium deficiency exists in both chronic hepatitis and liver cirrhosis.

Key words: Chronic hepatitis, cirrhosis, homocysteine, selenium

GİRİŞ VE AMAÇ

Metionin metabolizmasının bir ara ürünü olan homosisteinin sentezinde ve metabolizmasında karaciğer merkezi bir rol oynar. Metioninin bü-

yük çoğunluğu bu organda metabolize olur. Karaciğer, metionin ve homosistein metabolizmasında görev alan genlerin ekspresyonunda özel

yere sahiptir. Homosisteinin metabolizmasında rol oynayan MAT (Methionine adenosyltransferase) 1A sadece karaciğerde eksprese oluyorken, BHMT (Betaine-homocysteine methyltransferase) ve CBS (Cystathionine β -synthase)'in büyük çoğunluğu karaciğerde sentezlenmektedir. Bu nedenlerle karaciğer hasarı oluştuğunda homosistein metabolizmasında önemli değişiklikler meydana gelmektedir.

Selenyum bir eser elementtir. İnsan organizmasında bir dizi biyolojik fonksiyonda rol oynamaktadır. Önemli fonksiyonlarından biri anti-oksidan özelliğidir. Bu özelliği sayesinde doku hasarında koruyucu olabileceği ifade edilmektedir. Selenyum eksikliği oluşturulan ratlarda da önemli karaciğer değişikliklerinin olduğu görülmüştür (1). Öte yandan karaciğer sirozunda selenyum eksikliğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (2).

Karaciğer hastalıklarındaki bu değişikliklerin mekanizması ve önemi henüz net hatlarıyla ortaya konamamıştır. Bundan yola çıkarak, biz de karaciğer hastalıklarındaki homosistein ve selenyum düzeylerini araştırdık. Homosistein düzeyindeki değişikliklerden sorumlu olabilecek faktörlerden vitamin B₁₂, folat düzeylerini ve MTHFR gen mutasyonu durumunu hasta ve kontrol gruplarında araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta seçimi:

Çalışmaya alınan olgular kronik hepatit, siroz ve kontrol grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Kronik hepatit ve siroz grubu Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenterohepatoloji Kliniği'nde Ocak 2002 ile Haziran 2003 tarihleri arasında takip edilen hastalardan oluşmaktaydı. Sağlıklı 20 birey kontrol grubunu oluşturdu.

Kronik hepatit grubundaki hastaların tümü post-viral hepatitli vakalardı (Hepatit B, Hepatit C, Hepatit D). Kronik hepatit grubunda en az 6 aydır devam eden aminotransferaz yüksekliği ve viral marker pozitifliği şartı arandı ve bu gruptaki hastaların tümünde kronik hepatit tanısı biyopsiyle kanıtlandı.

Sirozun tanısı serolojik, biyokimyasal, ultrasonografik ve endoskopik verilere göre konuldu. Siroz grubundakilerin hastalık şiddeti Child-Turcotte-Pugh skoruna göre yorumlandı. Bu sınıflamada bilirubin, albumin, protrombin zamanı, asit ve ensefalopati düzeyi göz önüne alınarak

hastalar A, B ve C şeklinde sınıflandırılırlar. A en hafif, C ise en ağır hasta grubunu oluşturdu (3).

Renal fonksiyon bozukluğu olan hastalar çalışmaya alınmadı. Hastalarda selenyum ek tedavisi almamış olmaları şartı arandı.

Çalışmaya 22 kronik hepatitli (E: 12, K: 10; yaş ortalamaları: 43,90±15,02), 28 sirozlu (E: 25, K: 3; yaş ortalamaları: 42,50±16,00) hasta ile 20 sağlıklı birey (E: 12, K: 8; yaş ortalamaları: 36.65±8.29) dâhil edildi. Etiyolojik dağılımda 36'si Hepatit B virusu, 7'si Hepatit C virusu, 3'ü Hepatit B virusu + Hepatit D virusu, 1'i Wilson hastasıydı. Üç olgu kriptojenik sirozluydu.

Metod:

Bir gecelik açlık sonrası hastaların antekubital venlerinden biri ethylenediaminetetra-acetic acid (EDTA)'li tüpe, diğeri ise düz tüpe olmak üzere toplam 10 cc kan iki tüpe alındı. EDTA'li tüpe konan kan izolasyonunda kullanıldı. Diğer tüpteki kan santrifüj edilerek serumu ayrıştırıldı. Homosistein düzeyleri High Performance Liquide Chromatography (HPLC) cihazında floresan dedektör kullanılarak saptandı; selenyum düzeyleri atomik absorpsiyon cihazında grafit modu kullanılarak tespit edildi. Otoanalizörde alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), gamma glutamil tranpeptidaz (GGT) ve albumin düzeyleri ölçüldü. Vitamin B₁₂ ve folat düzeyleri Roche E170 modüler analitik sistem ile kemiluminesans metodu kullanılarak çalışıldı (4). Metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzim geni mutasyonu için hastaların tam kan örneklerinden lökositlerin DNA'ları ayrıştırıldı ve Roche Diagnostic Corporation'ın light cyler çalışması ile mutasyon arandı.

İstatistiksel Analiz:

Her bir parametre açısından istatistiksel olarak anlamlı farkın olup olmadığı one-way anova varyans analizi testi kullanılarak araştırıldı. Anlamlı fark saptandığında gruplar arası çoklu karşılaştırma testleri uygulandı.

SONUÇLAR

Her 3 grubun yaşları arasında fark saptanmadı. Hem kronik hepatit hem de siroz grubundaki homosistein düzeylerinin kontrol grubundan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu (p=0.001), ancak kronik hepatit ile siroz grubu arasında farkın olmadığı saptandı (Tablo 1). Vitamin B₁₂ düzeyi açısından kronik hepatit ile kontrol grubu

Tablo 1. Hasta ve kontrol gruplarının Vit-B₁₂, folat, homosistein ve selenyum düzeyleri

	Kr.hepatit	Siroz	Kontrol	F değeri	P değeri
Vit-B ₁₂	247,5±75,93	389,5±180,8	291,6±121,9	6,930	<0,05
Folat	3,710±2,088	4,941±1,824	4,195±2,153	2,396	>0,05
Homosistein	55,12±46,32	46,95±36,01	12,77±5,605	10,26	<0,001
Selenyum	19,97±16,84	25,99±17,11	61,50±31,60	21,67	<0,001

Tablo 2. Kronik hepatit, siroz ve kontrol gruplarının Vit-B₁₂, folat, homosistein ve selenyum açısından karşılaştırmaları

	Gruplar	p değeri	Test
Vit-B ₁₂	Kr.hepatit-siroz	<0,05	tamhane
	Kr.hepatit-kontrol	>0,05	dunnett
	Siroz-kontrol	<0,05	dunnett
Folat	Kr.hepatit-siroz	>0,05	dunnett
	Kr.hepatit-kontrol	>0,05	dunnett
	Siroz-kontrol	>0,05	dunnett
Homosistein	Kr.hepatit-siroz	>0,05	tamhane
	Kr.hepatit-kontrol	<0,001	dunnett
	Siroz-kontrol	<0,001	dunnett
Selenyum	Kr.hepatit-siroz	>0,05	tamhane
	Kr.hepatit-kontrol	<0,001	dunnett
	Siroz-kontrol	<0,001	dunnett

arasında fark olmadığı, ancak siroz grubunda vitamin B₁₂ düzeyinin kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu gözlemlendi. Folat düzeyi açısından gruplar arasında fark saptanmadı (Tablo 2). Metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) gen mutasyonu tayini için 15'i kronik hepatit, 15'i siroz, 20'si kontrol grubundan olmak üzere toplam 50 hasta çalışıldı. Kronik hepatit grubunda 6 (%40) heterozigot, 1 (%6.6) homozigot; siroz grubunda 4 (%26.6) heterozigot, 2 (%13.3) homozigot; kontrol grubunda 7 heterozigot (%35), 1 (%5) homozigot gen mutasyonu tespit edildi (Tablo 3). MTHFR gen mutasyonu açısından hasta ve kontrol grupları arasında fark saptanmadı. Her iki hastalık grubundaki selenyum düzeyinin kontrol grubundan daha düşük olduğu görüldü (p=0.001) (Tablo 1).

Tablo 3. MTHFR mutasyon oranları (%)

	Normal	Heterozigot	Homozigot
Kr. hepatit	53	40	6
Siroz	60	26	13
Kontrol	60	35	6

TARTIŞMA

Karaciğerde nekroinflamatuvar aktivitenin altı aydan daha fazla devam ettiği durumlarda (fib-

rozisin olup olmadığına bakılmaksızın) kronik hepatitten söz edilmektedir. Tüm karaciğerde fibrozis ve rejenerasyon nodülleri ile karakterize sonuç karaciğer hastalığı ise siroz olarak ifade edilmektedir. Kronik hepatit ve dolayısıyla karaciğer sirozundan sorumlu birçok etyolojik faktör vardır. Bölgemizde özellikle viral hepatit B prevalansının yüksek olmasından ötürü (5), etyolojide en önemli payı bu virus oluşturmaktadır. Karaciğer hastalıklarında homosistein ve selenyum düzeylerinde önemli değişiklikler olmaktadır ve bu değişikliklerin nasıl oluştuğu tam olarak bilinmediği gibi, mevcut değişikliklerin patolojideki rolleri de henüz netlik kazanmamıştır.

Homosistein sülfür içeren bir aminoasit olup metionin metabolizmasının bir ara ürünüdür. Homosisteini substrat olarak kullanan 3 enzim vardır [methionine synthase (MS), Betaine-homocysteine methyltransferase (BHMT) ve Cystathionine β-synthase (CBS)]. MS ve BHMT homosisteini tekrar methionine dönüştürüyorlarken, CBS homosisteini transsülfürasyon yoluna sokmaktadır. S-Adenosylmethionine (SAM), methioninin ilk metaboliti olup homosisteinin bu metabolik yollar arasındaki akışını modüle eder. Artan SAM düzeyleri CBS'yi aktive ederken, MS ve BHMT'nin aktivitelerini inhibe eder. Remetilasyon veya transsülfürasyondaki bozulma hiperhomosisteinemiye neden olur. Bu durum MS, CBS veya Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) (MS'nin sentezindeki kofaktör) enzimlerindeki genetik defektten dolayı gelişebilir. Vitamin B6 (CBS'nin kofaktörü), folat, vitamin B₁₂ (MS'in kofaktör ve kosubstratı)'nin eksikliği ve renal fonksiyonlardaki bozulma hiperhomosisteinemi ile sonuçlanabilir. Homosisteinin sentezinde ve metabolizmasında karaciğer merkezi bir rol oynar. Metioninin büyük çoğunluğu bu organda metabolize olur. Karaciğer, metionin ve homosistein metabolizmasında görev alan genlerin ekspresyonunda özel bir yapıya sahiptir. Metionini SAM'a dönüştüren 2 tür MAT geninden biri olan MAT1A sadece karaciğerde ifade edilir. Öte yandan BHMT ve CBS'nin sentezi de temelde karaciğer ile sınırlıdır. Bu nedenlerdendir ki karaciğer hasarı

oluştığında homosistein metabolizmasında önemli değişiklikler meydana gelmektedir (6, 7). Çalışmamızda kronik hepatit grubu ile siroz grubunda serum homosistein düzeylerini yüksek bulduk. Hasta grupları arasında homosistein düzeyleri açısından fark saptanmadı, fakat hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar saptandı. García-Tevijano ve arkadaşları ile Bosty-Westphal ve arkadaşları da yaptıkları çalışmalarda homosistein düzeyini çalışmamızdaki veriler ile uyumlu biçimde karaciğer sirozunda yüksek bulmuşlardır (6, 8). Ventura ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise siroz grubunda hiperhomosisteinemi saptamış olmalarına rağmen, kronik hepatit grubunda bunu saptamamışlardır. Çalışmamızda ise kronik hepatit grubunda da homosistein düzeyi yüksek bulunmuştur (9). Ferre ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, nonalkolik sirozlulardaki homosistein düzeyi kontrol grubundan farklı bulunmamış, oysa alkole devam eden sirozlulardaki homosistein düzeyi kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur (10). Daha önce de söz edildiği gibi folat ve vitamin B₁₂, homosistein metabolizmasında önemli görevler üstlenirler. Biz de çalışmamızda bunları inceledik. Çalışmamızdaki her iki hasta grubu ile kontrol grubu arasında folat düzeyi açısından fark bulunamadı. Karaciğer sirozunda folat düzeyinde düşüklük başka çalışmalarda saptanmıştır (8, 10). Fakat bulunan düşüklük ile homosistein düzeyi arasında korelasyon saptanmamıştır. Bu nedenle folat eksikliğinin çok önemli olmadığı yorumları yapılmıştır. Karaciğer sirozunda gelişen hiperhomosisteinemiden folat eksikliğinin sorumlu olmadığı görüşü çalışmamızdaki bulgularla da desteklenmektedir.

Çalışmamızda vitamin B₁₂ düzeyini hasta grubunda kontrol grubundan daha yüksek bulduk. Bu bulgu daha önce bu konuda yapılmış çalışmalarını teyit eder niteliktedir (7, 8, 10). Sirotik hastalardaki yüksek plazma vitamin B₁₂ düzeyinin muhtemelen hepatosellüler sızma veya hücreye kötü penetrasyon ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir (11). Bu durum intrasellüler vitamin B₁₂ düzeyini düşürür. Homosisteinin metyonine remetilasyonunu vitamin B₁₂ bağımlı metyonin sentez yapmaktadır. Hücre içi vitamin B₁₂ düzeyindeki düşüş bunu engelleyebilir (8). Plazma metilmalonik asit konsantrasyonu intrasellüler vitamin B₁₂ eksikliğinin spesifik bir göstergesidir (12). Sirozlularda plazma metilmalonik asidin yüksek olması, intrasellüler vitamin B₁₂ eksikliğini

gösterir. Çalışmamızda bulduğumuz yüksek vitamin B₁₂ düzeyi intrasellüler vitamin B₁₂ düzeyini yansıtmıyor olabilir. Bu nedenle sirotik hastalarda gözlenen hiperhomosisteinemiden vitamin B₁₂'nin intrasellüler eksikliğinin sorumlu olup olmadığı yorumu, plazma metil malonik asit konsantrasyonu ölçülmediği için yapılamamaktadır.

Daha önce Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) enziminin homosistein metabolizmasındaki öneminden söz etmiştik. MTHFR genindeki mutasyonlar hiperhomosisteinemiye neden olabilmektedirler. Çalışmamızda 15 kronik hepatitli hastanın 6 (%40)'sında heterozigot, 1 (%6.6)'inde homozigot; 15 sirozlu hastanın 4 (%26.6)'ünde heterozigot, 2 (%13.3)'sinde homozigot; 20 kontrol bireyinden 7 (%35)'sinde heterozigot, 1 (%5)'inde homozigot gen mutasyonu tespit edildi. Bir çalışmada kronik alkol alanlarda homozigot (TT) MTHFR mutasyonu %18 bulunmuştur (7). Gen mutasyonunun normal popülasyondaki oranı ise %12 dolayındadır (11). Çalışmamızda kronik hepatit ve siroz grupları ile kontrol grubu arasında MTHFR enzim geni mutasyonu açısından fark bulunmaması, mevcut hiperhomosisteineminin MTHFR mutasyonu ile ilişkili olmadığını göstermektedir.

Hepatik fibrozis, karaciğer parankiminin ve biliyer sistemin hasarı sonucu oluşmaktadır. Birçok reaktif oksijen türleri hepatik hasarın meydana gelmesine katkıda bulunurlar (14). Açığa çıkan oksijen radikalleri lipidleri, proteinleri ve nükleik asitleri direkt hasara uğrattırır, inflamasyonu stimüle ederler, transkripsiyon faktörlerini etkileyerek gen ekspresyonunu artırır veya azaltır ve sitokin salınımını uyararak fibroblastların sayısını ve kollajen üretimini artırır (15). Organizma reaktif oksijen türlerinin etkilerini antagonize eden çeşitli antioksidanlara sahiptir. Selenyum antioksidan olarak vücutta önemli görevler üstlenmiştir. Selenyum eksikliğinde doku hasarları oluşabilmektedir. Nitekim selenyum eksikliği oluşturulan ratlarda önemli karaciğer değişikliklerinin olduğu görülmüştür (1). Hayvan çalışmalarında selenyumun hepatik fibrozisi geriletmediği gösterilmiştir (16). Karaciğer hastalıkları ile selenyum arasında ileri sürülen bu ilişkiden ötürü biz de çalışmamızda karaciğer hastalığı olanlarda selenyum düzeylerini araştırdık ve hem sirozda hem de kronik hepatitte serum selenyum düzeylerinin kontrol grubundan daha düşük olduğunu saptadık. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu bulgu daha önce yapılan

çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (2, 17). Burk ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sirozlu hastalarda selenyum eksikliğini saptamışlardır. Fakat selenyum havuzunun önemli bir komponenti olan ve diğer selenyum havuzlarının (selenoprotein P ve selenometyonin) aksine büyük oranda böbreklerden sentezlenen glutatyon peroksidazın aktivitesinin arttığını saptamışlardır. Bu artışın selenyumun eksikliğini kompanse ettiği ve bu nedenle selenyum eksikliğinin önemli

bir problem oluşturmadığını rapor etmişlerdir (18).

Sonuç itibarıyla, yaptığımız çalışmada kronik hepatit ve sirozlarda homosistein düzeyinin arttığını saptadık. Kesin olmamakla birlikte, bu artışın vitamin B₁₂, folat eksikliği ve MTHFR genindeki defektlerin sorumlu olmadığı kanaati doğmuştur. Yine çalışmamızdaki bulgularla siroz ve kronik hepatitte selenyum düzeylerinin düştüğü teyit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Al-Bader A, Abul H, Hussain T et al. Selenium and liver cirrhosis. *Mol Cell Biochem* 1998 Aug; 185(1-2): 1-6.
2. Navarro-Alarcon M, Lopez-Ga de la Serrana H, Perez-Valero V et al. Selenium concentrations in serum of individuals with liver diseases (cirrhosis or hepatit): relationship with some nutritional and biochemical markers. *Sci Total Environ* 2002 May 27; 291(1-3): 135-41.
3. Yu As, Keeffe EB. Liver transplantation. *Hepatology*. [edited by] David Zakim, Thomas D. Boyer. 4th edition. Elsevier Science, Saunders. 2003; Vol. II: 1617-56.
4. Bablok W, et al. General regression procedure for method transformation. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1988; 26: 783-90.
5. Dursun M, Ertem M, Özekinci T, et al. Hepatit B seroprevalence and risk factors in adult population of Southeast Anatolia: Community based study. 20. National Gastroenterology Week, Abstracts book. 2003: PB06/9.
6. García-Tevijano ER, Berasain C, Rodríguez JA, et al. Hyperhomocysteinemia in Liver Cirrhosis Mechanisms and Role in Vascular and Hepatic Fibrosis. *Hypertension*. 2001; 38: 1217.
7. De la Vega MJ, Santolaria F, Gonzalez-Reimers E, et al. High prevalence of hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: the importance of the thermolabile form of the enzyme methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Alcohol* 2001 Oct; 25(2): 59-67.
8. Bopsy-Westphal A, Petersen S, Hinrichsen H, et al. Increased plasma homocysteine in liver cirrhosis. *Hepatology* 2001 May 1; 20(1): 28-38.
9. Ventura P, Rosa MC, Abbati G, et al. Hyperhomocysteinemia in chronic liver diseases: role of stage disease, vitamin status and methylenetetrahydrofolate reductase genetics. *Liver International* 2005; 25: 49-56.
10. Ferre N, Gomez F, Camps J, et al. Plasma homocysteine concentrations in patients with liver cirrhosis. *Clin Chem*. 2002 Jan; 48(1): 183-5.
11. Lambert D, Benhayoun S, Adjalla C, et al. Alcoholic cirrhosis and cobalamin metabolism. *Digestion*. 1997; 58(1): 64-71.
12. Stabler SP, Lindenbaum J, Allen RH. The use of homocysteine and other metabolites in the specific diagnosis of vitamin B-12 deficiency. *J Nutr*. 1996 Apr; 126(4 Suppl): 1266S-72S.
13. Brattstrom L, Zhang Y, Hurtig M, et al. A common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation and longevity. *Atherosclerosis*. 1998 Dec; 141(2): 315-9.
14. Czuczajko J, Halota W, Zachara BA et al. [Plasma selenium concentration, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activities in patients with chronic liver diseases] *Pol Merkuriz Lek*. 2002 Oct; 13(76): 312-5. (A)
15. Ho AV, Kaplan J. Liver injury resulting from iron. Iron metabolism and pathophysiology. *Cell Biology, Biochemistry, and Physiology of liver function*. *Hepatology*. [edited by] David Zakim, Thomas D. Boyer. 4th edition. Elsevier Science, Saunders. 2003; Vol. I: 424-5.
16. Wasser S, Lim GY, Ong CN et al. Anti-oxidant ebselen causes the resolution of experimentally induced hepatic fibrosis in rats. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001 Nov; 16(11): 1244-53.
17. Thuluvath PJ, Triger DR. Selenium in chronic liver disease. *J Hepatol*. 1992 Mar; 14(2-3): 176-82.
18. Burk RF, Early DS, Hill KE, et al. Plasma selenium in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 1998 Mar; 27(3): 794-8.