

Viral hepatitlerde oksidatif stresin rolü

Pınar Çıragil

Çukurova Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji AD, Adana

Özet

Oksijen, yaşamın sürdürülebilirliği için gerekli olmasına rağmen, normal metabolizma sonucu üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda zarar verebilmektedir. Reaktif oksijen türlerinin çoğu oksidatif stresle ilgili, H₂O₂ veya O₂⁻ gibi radikalleridir. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu, aerobik yaşamın özelliği olan fizyolojik bir olaydır. Ancak, reaktif oksijen türleri fazla miktarda üretilir ve zararlı etkilerini önleyen faktörler engellenirse, denge bozulur ve oksidatif stres meydana gelir. Sonuçta hücrede DNA, protein, lipid, karbonhidrat ve enzim hasarı oluşmasına neden olur. Konakçı, oluşan oksidatif hasarı önlemek için süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon gibi bazı antioksidan savunma enzimlerini kullanır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda oksidan/antioksidan dengenin bozulması sonucu gelişen oksidatif stresin çeşitli hastalıklarla ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu arttıran etkili ve potansiyel bir faktör olan infeksiyonlar, insanda oksidatif stresi de tetiklerler. Viral hepatitlerin baskın tipleri olan Hepatit A virus (HAV), Hepatit B virus (HBV) ve hepatit C virus'leridir (HCV). HAV ve HBV aşı ile önlenbilmesine rağmen, HBV ve HCV herbiri hücresel hasara ikincil ciddi oksidatif hasara neden olur. Oluşan oksidatif hasar ayrıca tedaviye etkinin de azalmasını tetikler. Bu derlemede viral hepatitlerde oksidatif hasar ve oksidan/antioksidan denge gözden geçilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Viral hepatitler, oksidatif stres

The role of oxidative stress in viral hepatitis

Abstract

Although oxygen is essential for human life, some reactive oxygen species which are produced by normal metabolism may be harmful for the body. Most of the reactive oxygen species are radicals relevant to oxidative stress (e.g. H₂O₂ veya O₂⁻). The generation of reactive oxygen species are physiological and normal feature of aerobic life. However, when reactive oxygen species are produced in excess and the factors preventing their harmful effects are prohibited, the balance among these radicals' disturbed and oxidative stress take place. In return, this may cause damage of DNA, proteins, lipids, carbohydrates and enzymes in the cell. To prevent destruction caused by oxidative stress, the host uses the antioxidant defense enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione.

Geliş tarihi: 07.05.2015, **Kabul tarihi:** 20.07.2015

Yazışma adresi: Prof.Dr.Pınar Çıragil, Çukurova Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji AD, 01150, Adana, E-Posta: pinarciragil@yahoo.com, GSM: 0532 6117586

In the recent studies, it was reported that the oxidative stress developed by imbalance between oxidant/antioxidant status are relevant to some diseases. The infections which are potential and efficient factors, may enhance the production of reactive oxygen species and hence, induce oxidative stress in humans. Dominant types of viral hepatitis are hepatitis A virus (HAV), hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV). Although prophylactic immunization for HAV and HBV are available, each of all HBV and HCV causes oxidative stress secondary to cellular damage. In addition, this oxidative stress influences the response to the therapy. This review summarizes oxidative stress and oxidant/ antioxidant status in viral hepatitis.

Keywords: Viral hepatitis, oxidative stress

Oksidatif stres ve reaktif oksijen türleri

Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda reaktif oksijen türleri ve nitrojen türlerinin, hastalıkların nedenlerini oluşturan mekanizmalarda temel rol oynadıkları bildirilmektedir.

Reaktif oksijen türlerinin çoğu serbest oksijen radikalleridir ve oksidatif hasarla ilgilidir. Reaktif oksijen türlerinin üretimi fizyolojiktir ve normal aerobik yaşamın bir özelliğidir. Reaktif oksijen türlerinin aşırı üretiminde ve bunların zararlı etkileri önlenemediğinde, oksidan/antioksidan denge bozulur ve olası hücre hasarına öncülük eden oksidatif stres meydana gelir. Bir çok hücre yeterli antioksidan savunma kapasiteleri ve onarım sistemleri sayesinde, oksidasyon sonucu hasarlanan molekülleri tanıyıp uzaklaştırır ve böylece hafif seviyedeki oksidatif strese dayanabilir. Antioksidan kapasitenin üretim ve dağılımında bozukluk olduğunda veya reaktif oksijen türlerinin fazlalığında denge bozulur. Reaktif oksijen türleri mutageniz, tümör oluşumu ve gelişimindeki rolleri ile olası karsinojenleridir. Reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi normal işlevlerini baskılayarak lipid, protein veya DNA hasarına neden olur.¹

Oksidatif stres, subklinik uniktirik hepatitten, nekroinflamatauar hepatitte (akut, tekrarlayan veya kronik), siroza ve kansere kadar değişebilen farklı parankimal hasarlara neden olur. Oksidatif stres ayrıca viral hepatitler ve insan immünyetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonlarında da baskın patojen role sahiptir.²

Bu çalışmada, son yıllarda sıklıkla belirtilen oksidatif stresin viral hepatitler ile ilişkileri incelenmiş, makale ve derlemeler incelenerek konu ile ilgili bilgiler derlenmiştir.

Viral hepatitler

Tüm viral hepatitler arasında hepatit B ve hepatit C enfeksiyonları prevalansı giderek artmaktadır. Hepadnavirüs ailesinden zarflı bir DNA virüsü olan hepatit B virusün (HBV) kuluçka süresi 25-180 gündür. Virüs başlıca perkütan yol ve çok yakın temastaki kişiler arasında vücut sıvıları ile yayılır. HBV enfeksiyonu klinik olarak; akut enfeksiyon, kronik enfeksiyon veya primer hepatosellüler karsinoma (PHK) şeklinde gözlenir. Hastaların %5-10'unda kronik hepatit gözlenirken; kronik hepatitlilerin de %10'unda siroz ve karaciğer yetmezliği gelişebilir. PHK gelişen olguların % 80'i kronik HBV enfeksiyonu ile ilişkilidir.³

Flavivirüs ailesinin bir üyesi olan hepatit C virus (HCV) zarflı bir RNA virüsüdür. HCV genomu 3 yapısal (kor, E1, E2) ve 7 yapısal olmayan (p7, NS2, NS3, NS4A, NS5A, NS5B) 10 proteini kodlamaktadır. Bu proteinler HCV'nin yaşam döngüsü ve replikasyonunda rol oynarlar. HCV'ün kuluçka süresi 11-150 gün arasında değişebilir ve başlıca bulaş yolu enfekte kan ve kan ürünleridir. HCV enfeksiyonu post transfüzyon hepatitlerinin asıl nedenidir; alıcıların %5-10'unda gelişebilir. Akut veya kronik HCV enfeksiyonları şeklinde gelişebilir. HCV ile bulaşlı kan transfüzyonunun 1-3 haftalarında viremi gözlenebilir ve akut enfeksiyonun zirvesinde en yüksek seviyeye ulaşır. Akut enfeksiyonun asemptomatik

olabilmesinin yanında, kronik hepatit C enfeksiyonu sonrasında siroz ve hepatik karsinoma gelişebilir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre akut hepatit C hastalarının %80'inde kronik hepatit C, %20'sinde siroz ve %1-5'inde hepatik karsinoma gelişmektedir.²⁻⁴

HBV ve Oksidatif Stres

Son yıllarda viral enfeksiyonların patogenezinin reaktif oksijen türlerinin üretimi ile ilişkisi olabileceğini gösteren çalışmalar dikkati çekmektedir. 1990'ların ortalarında araştırmacılar kronik hepatitlerde oksidatif stres oluştuğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yine bazı deneysel çalışmalarda, kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin hücre hasarında, DNA ve RNA hasarlanmasına rolü olduğu gösterilmiştir.⁵⁻⁷

Akut karaciğer hasarında ve hepatik inflamasyonda hücre ölümünü tetikleyen asıl toksik aracının, nötrofiller ve Kupffer hücrelerinde üretilen reaktif oksijen türleri olduğu bildirilmiştir.⁸ Bir çok araştırmacı HBV'ün oksidatif stresi tetiklediğini ve kronik karaciğer hastalığı olan HBV ile enfekte olgularda oksidatif stres varlığını bildirmişlerdir.⁹⁻¹¹ HBV enfeksiyonu olan olgularda lipid peroksidasyonunun hepatosit hasarının bir nedeni olduğu ve ayrıca oksidatif stresin bir belirteci olan malondialdehit seviyesinin (MDA) arttırdığı gösterilmiştir.^{12,13} Oksidatif stresin bir parametresi olan total peroksit seviyesinin, asemptomatik taşıyıcılarla karşılaştırıldığında, kronik hepatitli olgularda anlamlı derecede yüksek olması oksidatif stresin hepatik hasarlanmada önemli rolü olduğunu göstermektedir. Oksidatif stres ayrıca hastalığın şiddetiyle de ilgilidir. HBV enfeksiyonu olan olgularda lipid peroksidasyonu ve oksidatif DNA hasarı artmıştır.¹

Kronik enfeksiyon sırasında, HBV DNA parçaları konak DNA'sı ile, tercihen 17. kromozomla, mutasyonlar oluşturmak üzere birleşir. Bu birleşen parçalar sıklıkla, hepatokarsinogenezle ilişkili, hepatit B virüs X protein (HBx) veya kesik preS proteinlerini kodlarlar.¹⁴ HBx, lipid peroksidasyonunu tetikler, ve sonuçta insan

hepatoblastoma hücre dizisinde, (HepG2) tümör nekrozis faktor- α ekspresyonu artar.¹⁵ Ayrıca Pre-S mutant taşıyan transgenik farelerin karaciğerinde oksidatif DNA hasarı da olduğu ve HBx farelerin karaciğerlerinde ve HepG2-HBx hücrelerinde reaktif oksijen türleri seviyelerinin arttığı gözlenmiştir.¹⁶

Aerob organizmaların, reaktif oksijen türlerine karşı, hücreleri koruyucu enzimatik ve enzimatik olmayan süperoksit iyonlarını detoksifiye eden süperoksit dismütaz (SOD), katalaz ve hücresele peroksidazları detoksifiye eden glutatyon peroksidaz (GSH) gibi çeşitli defans mekanizmaları vardır. Yapılan çalışmalarda, kronik hepatit B enfeksiyonlarında CAT ve SOD aktivitelerinin kontrol gruplarına oranla arttığının gözlenmesinin, oksidatif strese yanıt olarak değerlendirilebileceği belirtilmektedir.^{9,10,17} Akut ve kronik aktif viral hepatitlerde, belirgin olarak azalmış plazma GSH seviyesinin iyileşme sürecinde arttığı gözlenmiştir.¹⁸ Böylece, yüksek dozlarda primer antioksidanlar başlangıç tedavisinde kullanılabilir. Bunun yanında, akut veya kronik HBV veya HCV olgularında, oksidatif komponentlerin arttığını ve/veya antioksidanların azaldığını gösteren çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır.¹⁹⁻²¹

Chrobot ve ark.²² nın kronik HBV ve HCV enfeksiyonu olan çocuklarda düşük SOD ve katalaz aktiviteleri ve artmış lipid peroksidasyonunu gözledikleri çalışma yetersiz antioksidan defans olarak değerlendirilebilir. Viral hepatitler ve oksidatif denge arasındaki ilişkiler Tablo 1'de özetlenmiştir.

HCV ve Oksidatif Stres

Kronik hepatit C enfeksiyonlarında oksidatif stres oluşumu 1990'ların başında saptanmıştır. Hepatit C enfeksiyonu olan olguların karaciğer biyopsileri ve kan hücrelerinde reaktif oksijen türleri değişik parametrelerle gösterilir. Bu parametreler: 1) reaktif oksijen türleri ölçümü, 2) antioksidanların ölçümü, 3) antioksidan defans enzimleri düzeyleri ve aktiviteleri, 4) biyolojik moleküllerle reaktif oksijen türleri ürünleri etkileşimidir.

Tablo 1. Viral hepatitlerin oksidatif denge üzerine etkileri (Kaynak 8'den alınarak düzenlenmiştir)

| Oksidatif denge kısımları | Viral hepatit etkileri |
|--|-----------------------------|
| Düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar | <i>Azalmış glutasyon</i> |
| Lipid peroksidasyonu | <i>Yükselmiş MDA düzeyi</i> |
| Enzimatik antioksidanlar | <i>Katalaz ekspresyonu</i> |

Karaciğer biyopsileri ve lenfositlerde yapılan reaktif oksijen türleri ölçümlerinin kronik hepatit C enfeksiyonlarında yükseldiği gözlenmiştir.⁵

HCV diğer hepatit virüslerinden daha fazla reaktif oksijen türleri üretmektedir ve hepatit A,B,E hastaları ile karşılaştırıldığında kronik hepatit C hastalarının %80'inde kronik hastalık gelişimi gözlenmektedir.²³ Farklı deneysel sistemlerle yapılan çeşitli çalışmalar HCV kor protein ekspresyonunun oksidatif stresi tetiklediğini göstermiştir.⁸ HCV kor proteini olan, viral nükleokapsit proteininin karaciğerde oksidatif stresi arttırdığı bulunmuştur.²⁴ Ayrıca, özellikle NS3, NS5A gibi yapısal olmayan proteinler ve E1, E2 ve NS4B proteinler de oksidatif stresle ilgilidir.²⁵ (Tablo 2)

HCV proteinlerinin tümü için transgenik olan farelerde ssDNA hasarının arttığı gözlenmiştir. HBx'e benzer biçimde oksidatif stresi tetikleyici rolleri yanında, HCV kor ve NS3, NS5A proteinlerinin oksidatif lezyonların tamirine zararlı etkileri olabilir.⁸

HCV enfeksiyonu, oksidatif stresin de katkıda bulunduğu çeşitli hepatik ve hepatik olmayan bozukluklarla ilişkilidir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, HCV'nin indüklediği oksidatif stresin karaciğer hasarına yol açtığı kabul edilmiştir. Örneğin, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) değerleri serum oksidatif stres belirteçleri ile pozitif ilişkilidir.²⁶ Oksidatif stres kronik HCV

enfeksiyonu olan olgularda hepatosellüler karsinomu (HSK) da tetiklemektedir. HCV'ün indüklediği oksidatif stresin kanserojen potansiyeli olduğu HCV kor-transgenik farelerde yapılan deneylerle kanıtlanmıştır. Bu hayvanlarda inflamasyon olmadan gelişen HSK değişikliklerinde oksidatif stres belirteçlerinin yükseldiği gösterilmiştir.⁵

Bugünkü bilgiler reaktif oksijen türlerinin genom RNA stabilitesini etkilemeden virüs replikasyonunu inhibe ettiğini göstermekle beraber; reaktif oksijen türleri viral genom kaçışa olanak sağlar.⁵

Tüm radikaller arasında, hidroksil radikalleri, 8-hidroksideoksi guanozin (8-OHdG) oluşumundan sorumlu olan en reaktif radikallerdir. 8-OHdG'in DNA replikasyonu sırasında G-C'nin A-T'e transversiyonunu indüklediği bilinmektedir. Bu nedenle, 8-OHdG, karsinogeneze öncülük eden DNA hasarında bir belirteç olarak değerlendirilebilir. HVC enfeksiyonu olan karaciğer dokusunda 8-OHdG pozitif hepatosit sayısının, HBV enfeksiyonu olanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğunun gözlenmesi; kronik HCV enfeksiyonunun karaciğerde daha ileri düzeyde hepato karsinogenezde, hepatik 8-OHdG düzeyleri etkili bir belirteç olarak kullanılabilir.²⁷ Sağlıklı kontrol grubuna oranla, HCV enfeksiyonu olan olgularda 8-OHdG düzeylerinin dört kat arttığı, ve HVC enfeksiyonunun HBV'den daha yüksek düzeylerde oksidatif stresi tetiklediği gösterilmiştir.²⁸

Tablo 2. Oksidatif stresle ilişkili HCV proteinleri (Kaynak 24'den alınarak düzenlenmiştir)

| HCV Proteinleri | Etkileri |
|--------------------------------------|---|
| Kor protein, NS3, NS5A, E1, E2, NS4B | Oksidatif stresi artırır |
| Kor protein, NS5A, NS3 | ROT yükselmesine yol açan mitokondr glutatyon oksidasyonu |

Sonuç ve Öneriler

HBV ve HCV patogeneğinde oksidatif stresin rolü olduğu konusunda bir şüphe yoktur. Kronikleşme oranları da dikkate alındığında bu enfeksiyonları tanımlayabilecek, hepatosit hasarını gösteren, oksidatif stres belirtçlerinin (örn: MDA) gösterilmesi tedavi aşamalarında bir gelişme sağlayabilecektir. Kronik HBV ve HCV hastalarının serum ve idrar örneklerinde artmış MDA düzeylerinin gösterildiği çalışmalar bu hipotezi destekler niteliktedir.^{9,10}

Oksidatif hasar virüsle ilişkili HSK gelişiminde yardımcı rol oynamaktadır. Bu nedenle, viral HBV ve HCV proteinlerinin yaptığı oksidatif DNA lezyonlarını onarma yeteneği olan hücrelerin ekspresyonu ile ilgili daha ileri çalışmalara gereksinim vardır. Gelecekte, bu virüslerin, konak hücre DNA'sının oksidatif strese yanıt olarak onarım yollarını nasıl ayarladığının anlaşılabilmesi, kronik karaciğer hastalıklarının önlenmesi ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde yol gösterici ve paha biçilmez değerde olacaktır.

Antioksidanların, virüs replikasyonunu ve virüse bağlı oksidan hasarı azaltması, oksidatif hasara yanıt olarak yükselmeleri, özellikle hepatit B ve hepatit C virüslerine karşı kullanılacaklarının bir kanıtıdır. Antioksidanlar dört farklı şekilde kullanılabilir: 1) HCV replikasyonunu zayıflatma, 2) karaciğer enzim düzeylerini düzenleme, 3) karaciğer hücre hasarına karşı koruma, 4) antiviral interferon tedavisini daha etkili hale getirme.²⁵

Oksidatif DNA hasarı oluşturarak onkogeneze neden olan bu virüsler için, kronik taşıyıcılara antioksidan tedavilerin

uygulanması, kronik enfeksiyonu ve karaciğer kanser insidansını azaltmaya yardımcı olabilecektir. Yakın gelecekte ulaşılabilir hedef ise tamamen eradikasyon olabilir.

Kaynaklar

1. Ha LH., Shin HJ., Feitelson MA., Yu YD. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2010;28:16(48):6035-6043.
2. Stehbens WE. Oxidative stres in viral hepatitis and AIDS. *Experimental and Molecular Pathology* 2004;77:121-132.
3. Robinson WS. Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R.eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia Pennsylvania, Churchill Livingstone 2005;1652-1685.
4. Thomas LD., Lemon SM. Hepatitis C. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R.eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia Pennsylvania, Churchill Livingstone 2005;1736-1760.
5. Ivanov AV., Bartosch B., Smirnova OA., Isagulians MG., Kocherkov SN. HCV and oxidative stress in the liver. *Viruses* 2013;5(2):439-469.

6. Moriya K., Nakagawa K., Santa T., Shintani Y., Fuje H., Miyoshi H., et al. Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 2001;61:4365-4370.
7. 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- α treatment. *Clin Biochem* 2005;38:1141-1144.
8. Higgs MR., Chouteau P., Lerat H. Liver let die'oxidative DNA damage and hepatotropic viruses. *J General Virol* 2014;95:991-1004.
9. Ciragil P., Kurutas EB., Kokoglu OF., Aral M. Oxidative Stress in patients with chronic hepatitis B and C. *Balkan Med J* 2011;28: 300-303.
10. Kökoğlu Ö.F., Uçmak H., Kurutaş E.B., Kuzhan N., Toprak R., Çetinkaya A., Kantarçeken B., Atalay F. Oxidative stress biomarkers in urine of patients with hepatitis B and C. *Balkan Med J* 2012;29:39-42.
11. Bölükbaş C., Bölükbaş F.F., Horoz M., Aslan M., Çelik H., Erel O. Increased oxidative stress associated with the severity of the liver disease in various forms of hepatitis B virus infection. *BMC Infect Dis* 2005;5:95.
12. Rosser B.G., Gores G.J. Liver cell necrosis: cellular mechanism and clinical implications. Special Reports and Reviews. *Gastroenterol* 1995;108:252-275.
13. Jain S.K., Pemberton P.W., Smith A., McMahon R.F., Borrows P.C., Aboutwerat A, et al. Oxidative stress in chronic hepatitis C: not just a feature of late stage disease. *J Hepatol* 2002;36:805-811.
14. Ding D., Lou X., Hua D., Yu W., Li L., Wang J., Gao F., Zhao N., Ren G. Recurrent targeted genes of hepatitis B virus in the liver cancer genomes identified by a next generation sequencing-based approach. *PLoS Genet* 2012;8, e1003065.
15. Yi Y.S., Park S.G., Byeon S.M., Kwan Y.G., Jung G. Hepatitis B virus x protein induces TNF-alpha expression via down regulation of selenoprotein P in human hepatoma cell line, HepG2. *Biochem Biophys Acta* 2003;1638:249-256.
16. Hsieh Y.H., Su I.J., Wang H.C., Chang W.W., Lei H.Y., Laim D., Chang W.T., Huang W. pre-S mutant surface antigens in chronic hepatitis B virus infection induce oxidative stress and DNA damage. *Carcinogenesis* 2004;25:2023-2032.
17. Duygu F., Karsen H., Aksoy N., Taşkın A. Relationship of oxidative stress in hepatitis B infection activity with HBV DNA and fibrosis. *Ann Lab Med* 2012;32:113-118.
18. Shigesawa T., Sato C., Marumo F. Significance of plasma glutathion determination in patients with alcoholic and non-alcoholic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1992;7,7-11.
19. Dikici I., Mehmetoğlu I., Dikic N., Bitirgen M., Kurban S. Investigation of oxidative stress and some antioxidants in patients with acute and chronic viral hepatitis B and effect of interferon-treatment. *Clin Biochem* 2005;38:1141-1144.
20. Osman H.G., Gabr O.M., Lotfy S., Gabr S. Serum levels of bcl-2 and cellular oxidative stress in patients with viral

- hepatitis. *Indian J Med Microbiol* 2007;25:323-329.
21. Demirdağ K., Yılmaz S., Özdarendeli A., Özden M., Kalkan A., Kılıç S.S. Levels of plasma malondialdehyde and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with chronic hepatitis B. *Hepatogastroenterol* 2003;50:766-770.
 22. Chrobot F.M., Szaflarska-Szizepank A, Drew A.G. Antioxidant defence in children with viral hepatitis B and C. *Med Sci Monit* 2000;6(4):713-718.
 23. Farinati F., Cardin R., Mana N., Della Ribera G., marafin C., Lecis E., Burra P., Floreani A., Cecchetto A., Naccarato R. Iron storage, lipid peroxidation and glutathione turnover in chronic anti-HCV positive hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22(4):449-456.
 24. Koike K. Hepatitis C virus contributes to hepatocarcinogenesis by modulating metabolic and intracellular signaling pathways. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22(Suppl 1):S108-S111.
 25. Paracha UZ, Fatima K, Alqahtani M, Chaudhary A, Abuzenadah A, Damanhour G, Qadri I. Oxidative stress and hepatitis C virus. *Virology Journal* 2013;10:251:1-9.
 26. Vendemiale G, Grattagliano I, Portincasa P, Serviddio G, Palasciamo G, Altomare E. Oxidative stress in symptom-free HCV carriers: relation with ALT flare-up. *Eur J Clin Invest* 2001;31,54-63.
 27. Fujita N, Sugimoto R, Ma N, Tanaka H, Iwasa M, Kobayashi Y, Kawanishi S, Watanabe S, Kaito M, Takei Y. Comparison of hepatic oxidative DNA damage in patients with chronic hepatitis B and C. *J Viral Hepatitis* 2008;15,498-507.
 28. Farinati F, Cardin R, Bortolami M, Burra P, Russo FP, Rugge M, Guido M, Sergio A, Naccarato R. Hepatitis C virus: from oxygen free radicals to hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat* 2007;14,821-829.