



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI POLİKLİNİĞİ'NDE
TAKİP EDİLEN KRONİK HEPATİT C HASTALARINDA
IL-28B GEN POLİMORFİZİMİ VE KALICI VİRAL YANIT
İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sevil YILMAZ

Antalya, 2014



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI POLİKLİNİĞİ'NDE
TAKİP EDİLEN KRONİK HEPATİT C HASTALARINDA
IL-28B GEN POLİMORFİZİMİ VE KALICI VİRAL YANIT
İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sevil YILMAZ

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Dilara İNAN

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2014

TEŞEKKÜR

“Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları Polikliniği’nde Takip Edilen Kronik Hepatit C Hastalarında IL-28B Gen Polimorfizmi ve Kalıcı Viral Yanıt ile İlişkisinin Değerlendirilmesi” konulu araştırmayı yöneten ve çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım sayın hocam Prof.Dr. Dilara İNAN’a, tezime katkılarından dolayı Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Yrd.Doç.Dr. Aslı TOY ve Yrd.Doç.Dr. Özden ALTIOK CLARK’a, uzmanlık eğitimimin her aşamasında gösterdiği destek ve yardımlarından dolayı sayın hocam Prof.Dr. Latife MAMIKOĞLU’na ve çalışmalarında bana yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof.Dr. Filiz GÜNSEREN’e, Prof.Dr. Ata Nevzat YALÇIN’a ve Doç.Dr. Özge TURHAN’a teşekkür ederim

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım tüm değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde önemli pay sahibi olan sevgili annem ve babama, desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen eşim Harun Kemal YILMAZ’a ve canım oğlum Cihan Mert YILMAZ’a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	iii
Şekiller Dizini	v
Grafikler Dizini	vi
Tablolar Dizini	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Hepatit C Virüsü	2
2.2. Virion ve Genom Yapısı	2
2.3. HCV'nin Yaşam Döngüsü	5
2.3.1. Hücreye giriş	6
2.3.2. Protein translasyonu ve protein işlenmesi	7
2.3.3. RNA replikasyonu	8
2.3.4. Viral paketlenme ve hücreden salınım	9
2.4. HCV Enfeksiyonu Epidemiyolojisi ve Bulaş Yolları	9
2.4.1. Bulaş yolları	10
2.5. HCV Enfeksiyonunda Klinik	13
2.5.1. Akut hepatit C	13
2.5.2. Kronik hepatit C	14
2.5.3. HCV enfeksiyonunun ekstrahepatik tutulumları	15
2.6. HCV Enfeksiyonunda Tanı	16
2.6.1. Serolojik testler	16
2.6.2. Moleküler testler	17
2.6.3. HCV genotip tayini	17
2.6.4. Karaciğer biyopsisi	17
2.6.5. Non-invaziv testler	18
2.7. HCV Enfeksiyonunda İmmünpatogenez	19
2.7.1. Doğal immünite	19
2.7.2. Adaptif immünite	21
2.7.3. Humoral immün yanıt	21
2.7.4. Hücresel immün yanıt	21

2.8. Kronik Hepatit C Tedavisi	22
2.8.1. Tedaviye bağlı yan etkiler	25
2.8.2. Tedavi yanıtını etkileyen faktörler	26
3. MATERYAL ve METOD	30
3.1. Hastaların Seçimi ve Verilerin Toplanması	30
3.2. Genetik Analiz	30
3.3. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇLAR	48
7. ÖZET	49
8. ABSTRACT	51
9. KAYNAKLAR	53
10. EKLER	68
Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	68

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALT	Alaninaminotransferaz
BOC	Bosepravir
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CLDN	Claudin
DAA	Direkt Etkili antiviral Ajan
EVY	Erken Virolojik Yanıt
EGFR	Epidermal Growth Faktör Receptor
EphA2	Ephrin Type-A Receptor
EIA	Enzimimmunoassay
FKBPS	FK506- Binding Protein
FBL-2	Leucine Rich Repeat Protein
GGT	Gamaglutamiltransferaz
GTP	Guanozintrifosfat
GWAS	Genome Wide Association Study
HCV	Hepatit C Virüs
HCC	Hepatocellülercarcinom
HIV	Human Immun Deficiency Virus
HLA	Human Lökosit Antijen
HSP-90	Heat Shock Protein-90
HVY	Hızlı Viral Yanıt
HVR	Hiper Variable Region
IRES	Internal Ribozomal Entry Sites
IL28B	İnterlökin 28B
IFN	İnterferon
ISG	İnterferon Stimüle Gen
KVY	Kalıcı Viral Yanıt
LDL	Low Dansity Lipoprotein
LVP	Lipo-viral Partikül
NPCIL-1	Niemann-Pick C1-like 1 cholesterol uptake receptor
OCLN	Occludin

ORF	Open Region Frame
PTB	Pyrimidine Tract-binding Protein
PLT	Platelet
PCR	Polimeraz Chain Reaction
RIBA	Recombinant Immunblot Assay
RNA	Ribonükleikasit
RBV	Ribavirin
RdRp	RNA dependent RNA polimeraz
SRBI	Scavenger receptor B type I
TNP	Tek Nükleotid Polimorfizm
TVR	Telaprevir
UTR	Untranslated Region
VLDL	Very Low Dansity Lipoprotein

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. HCV'nin genom organizasyonu	3
2.2. HCV yaşam döngüsü	5
2.3. Dünya'da HCV prevalansı (%)	10
2.4. Hepatit C infeksiyonunun doğal seyri	13
2.5. JAK-STAT yolu aracılı IFN sinyal mekanizması	19
2.6. HCV infeksiyonunun doğal seyri	20
2.7. Farklı etnik gruplarda rs12979860 C/T allel sıklığı	27
2.8. Rs12979860, rs8099917 C/C-T/T taşıyan hastalar ve kalıcı viral yanıt oranları	29
2.9. Viral ve non-viral nedenlere bağlı HCC ve siroz olgularında C/C genotipi taşıma oranları	29
3.1. IL28B (IFNL4) geni birinci intronu içinde bulunan rs12979860 no'lu nükleotid varyantı Kromozom 19 haritası üzerindeki yeri	31
3.2. IL28B (IFNL4) geni 5' bölgesinde bulunan rs8099917 no'lu nükleotid varyantı Kromozom 19 haritası üzerindeki yeri	31
3.3. A) IL28B rs12979860 varyantındaki allellerin erime sıcaklık-floresans miktar değişimi eğrisi.	32
B) IL28B rs8099917 varyantındaki allellerin erime sıcaklık-floresans miktar değişimi eğrisi	

GRAFİKLER DİZİNİ

<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. rs12979860 genotiplerinin hasta ve kontrol grubunda dağılımı (%)	34
4.2. rs8099917 genotiplerinin hasta ve kontrol grubunda dağılımı (%)	34
4.3. Hastaların IL-28B genotiplerine göre alınan KVY oranları	35

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Histolojik skarlama sistemleri	18
2.2. KVY olumsuz etkileyen faktörler	26
4.1. Hasta ve kontrollerin demografik ve biyokimyasal özellikleri	33
4.2. Hastaların demografik, biyokimyasal ve tedavi sırasında izlenen özellikleri tedavi yanıtı ile ilişkileri	35
4.3. IL-28B genotiplerinin tedavi yanıtına göre dağılımları ve tedavi yanıtı ile ilişkileri	36
4.4. IL-28B tek gen polimorfizmlerinin kombine genotip frekansları	37
4.5. rs12979860 ve rs8099917 genotiplerinin hastaların tedavi öncesi, tedavi sırası ve tedavi sonrası özellikleri ile ilişkisi	38
4.6. Çoklu değişkenli logistik regresyon ile KVY ile ilişkili faktörler	39
4.7. Çoklu değişkenli logistik regresyon ile KVY ile ilişkili faktörler	39

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünyada 130-210 milyon kişinin hepatit C ile infekte olduğu tahmin edilmektedir. Hepatit C virüs enfeksiyonu kronik karaciğer hastalığının ana nedenlerinden biridir. Hepatit C ile infekte hastaların %70-80'inde enfeksiyon kronikleşmektedir. Kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastaların %15-25'inde siroz gelişmekte, siroz hastalarının %1-4'üne hepatosellüler karsinom eklenebilmektedir (1,2).

Kronik hepatit C'nin standart tedavisi pegile-interferon ve ribavirin kombinasyonudur. Son yıllarda bu tedaviye direkt etkili antiviral ajanların (DAA) kombinasyonu da eklenmiştir. Kalıcı viral yanıt tedavi bitiminden 24 hafta sonra saptanamaz HCV RNA düzeyi (<50 IU/ml) olarak tanımlanır (1). Yapılan çalışmalarda kalıcı viral yanıt alınmasında yaş, cinsiyet, etnik grup, vücut kitle indeksi, karaciğer fibrozis derecesi gibi konak faktörlerinin etkili olduğu gösterilmiştir. Son yıllarda KVV'ı etkileyen genetik faktörler üzerinde çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bu faktörler içinde en çok araştırılan kromozom 19 üzerinde yer alan IL28B gen bölgesinde tanımlanan tek nükleotid polimorfizmleridir. Tedavi yanıtı ile en çok ilişkilendirilen TNP rs12979860 olup iyi yanıtı genotip (CC) olan hastalarda tüm etnik gruplarda kalıcı viral yanıt 2-3 kat daha fazla saptanmıştır. rs8099917 diğer bir tedavi yanıtı ilişkili TNP olup, iyi yanıtı genotip (TT) olan hastalarda kalıcı viral yanıt 2 kat daha fazla tespit edilmiştir (3,4).

Bu araştırmada Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'nde takip edilen kronik hepatit C hastalarında IL-28B gen polimorfizmi ve kalıcı viral yanıt ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda çalışma sonunda;

- 1) Kronik hepatit C hastalarında tedavi yanıtı ile IL28B gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi saptamak,
- 2) İyi yanıtı genotipe sahip hastaları saptayarak interferon+ribavirin+DAA kombinasyonu ile yeniden tedavide kalıcı viral yanıt için öngöründe bulunabilmek,
- 3) Hepatit C tedavisine yanıt alınamama nedenlerinden birini saptamak,
- 4) Ülkemizdeki kronik hepatit C hastalarında IL28B genotiplerinin dağılımını saptayarak literatüre katkıda bulunabilmeyi hedeflemekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hepatit C Virüsü

HCV zarflı, tek pozitif sarmallı RNA virüsü olup, *Flaviviridae* ailesine dahil olan Hepacivirüs genusunda yer alır. İlk kez 1989 yılında non-A, non-B hepatit etkeni olarak şempanzelerde moleküler klonlama yöntemi ile keşfedilmiştir (5,6).

2.2. Virion ve Genom Yapısı

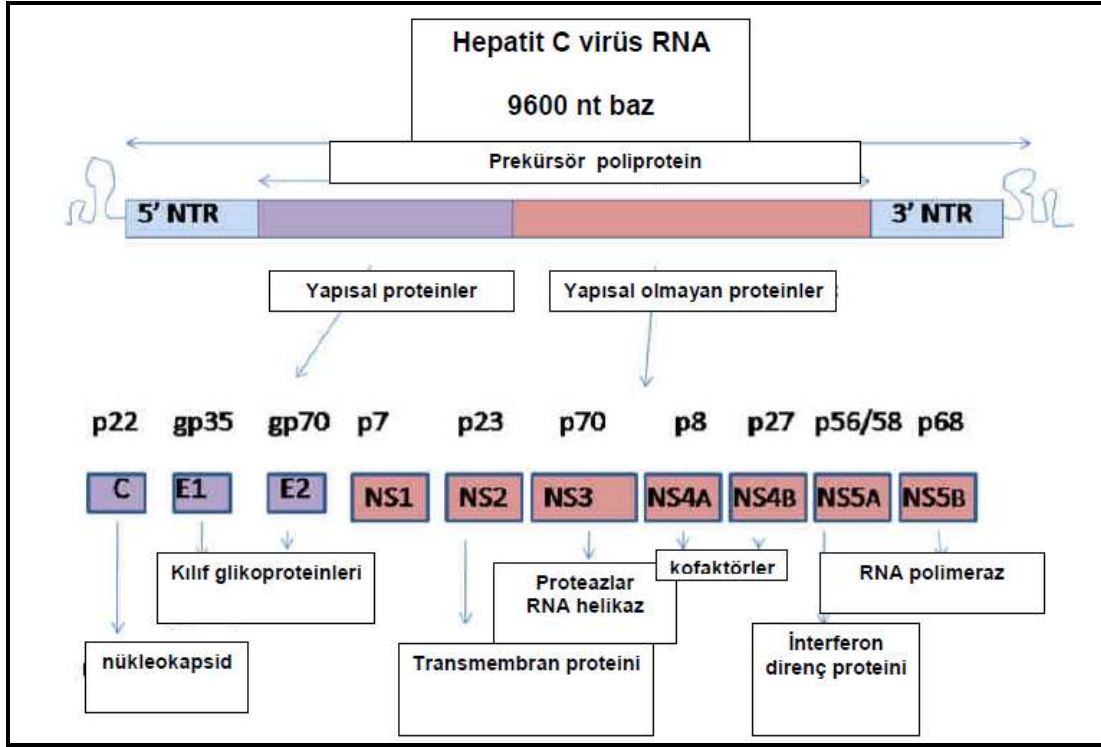
HCV virionu, E1 ve E2 zarf glikoproteinlerini taşıyan konak kaynaklı membranla çevrelenmiş nükleokapsid yapıyı içerir. HCV'nin genomu; uzun, tek bir açık okuma bölgesini “open reading frame (ORF)” içeren ve yaklaşık 9600 nükleotidden oluşan pozitif sarmallı tek zincirli RNA molekülünden oluşmaktadır. ORF 5' ve 3' uçta translasyon olmayan bölgeler “untranslating region (UTR)” arasında bulunur ve yaklaşık 3000 aminoasit uzunluğunda büyük bir polipeptidi kodlar. Bu prekürsör polipeptid daha sonra en az 10 farklı proteine bölünür. Böylece HCV genomunun yapısal ve yapısal olmayan proteinleri oluşur (7,8).

Yapısal proteinler: Kor protein, E1, E2 ve p7

Yapısal olmayan proteinler: NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A VE NS5B

HCV genomunun önemli bir özelliği yüksek derecede genetik değişkenlik göstermesidir. Genomun farklı bölgelerinde mutasyon oranı değişkendir. E1 ve E2 en değişken bölgeler iken 5'UTR ve 3'UTR nin terminal segmenti sekansları koruyan bölgelerdir. 5'UTR 341 nükleotidden oluşur ve viral RNA translasyonu için mutlak gerekli internal ribozomal entry sites (IRES) bölgesini içerir. (9,10)

HCV'nin genom organizasyonu Şekil 2.1'de sunulmuştur.



Şekil 2.1. HCV'nin genom organizasyonu.

Kor protein: HCV kor protein poliproteininin N terminal ucunda yer alan ve viral nükleokapsidi oluşturan yapıdır. Diğer proteinlere göre farklı HCV türleri arasında aminoasit sekansları en fazla korunan proteindir. Kor proteini esas olarak sitoplazmada bulunur ve lipid damlacıkları, endoplazmik retikulum ve mitokondri ile ilişkilidir. 191 aminoasitlik prekürsör proteinin post-translasyonel modifikasyonu ökaryotik hücrelerin major protein degradasyon yolu olan ubiquitin-proteasome yolu ile olmaktadır. (11-14)

Viral replikasyon için gerekli olmasının yanı sıra sinyal yollarının modülasyonu, hücresel ve viral genlerin ekspresyonu, hücresel transformasyon, apoptoz ve lipid metabolizmasında da rol alır. (15,16)

E1 ve E2 zarf proteinleri: E1 ve E2 transmembran proteinler olup N-terminal uç ektodomain ve kısa C-terminal uç transmembran bölge olmak üzere iki bölgeden oluşur. E1 192-383, E2 384-746 aminoasitten oluşur. (17-19) Uzun prekürsör poliproteininin C-terminal transmembran bölgesi membranı U şeklinde iki kez katederek protein işlenmesi aşamasının ER lümeninde gerçekleşmesine olanak sağlar (20). Olgun E1 ve E2 C-terminal uçlarından nonkovalent disülfid bağlarla bağlanarak virüsün hücre içine giriş aşamasında anahtar yapı olan E1-E2 kompleksini oluşturur (18).

E1 ve E2'nin N-terminal ucu olgunlaşma sürecinde glikozillenir. Bu glikanlar immunojenik zarf proteinlerini maskeleydiğinden virüsün konak immün yanıtı kaçıışında kritik önem taşır (21,22). E2'nin N-terminal uçtaki ilk 27 aminoasitlik kısmı yüksek değışken bölge (HVR1) olarak tanımlanmaktadır. Bu bölgedeki farklılıklar sonucunda birbirinden farklı ancak oldukça benzer türümsü adı verilen ve HCV'nin heterojenitesini sağlayan virionlar oluşur. Dolaşımdaki bu türümsülerin varlığı viral kalıcılığı sağlar (23,24).

P7 Protein: P7 protein 63 aminoasitlik küçük hidrofobik bir polipeptid olup viroporin protein ailesinde yer alır. Membran lipid tabakasında iyon kanalları oluşturarak membran geçirgenliğini sağlar (25,26).

NS2 Protein: 217 aminoasitlik transmembran proteindir. Hidrofobik N-terminal uçta ER membranına doğru uzanan üç veya dört transmembran helikal yapı oluşturur. C-terminal ucu ise sitoplazmada NS3'ün N-terminal uç bölgesi ile birlikte çinkonun kofaktörü olduğu NS2/3 sistein proteaz katalitik aktivitesini etkinleştirir. NS2, viral RNA replikasyonu için mutlaka bulunması gereken bir protein değil ancak viral replikasyon döngüsünün tamamlanması için in vitro ve in vivo gerekli olan bir proteindir (27,28).

NS3-4A Kompleks: NS3-4A kompleks viral proteinlerin işlenmesi ve RNA replikasyon aşamalarında gereklidir. N-terminal uç bölgesinin üçte birlik bölümü serin proteaz olarak görev yapar ve NS4A kofaktörü ile nonkovalent olarak bağlanarak kompleksi oluşturur. Bu kompleks NS4A N-terminal uçtan transmembran helikal yapılarla hücre membranına bağlanır (29,30).

NS3'ün C-terminal 442 aminoasitlik bölgesi helikaz-NTPaz aktivitesi gösterir. RNA replikasyonu aşamasında NS3 helikaz NTP'nin hidrolizi ile protein konformasyonuna uğrayarak nükleik asit boyunca yer değıştirir ve RNA-RNA substratlarının 3'-5' yönde çözülmesini sağlar (31).

NS4B Protein: NS4B 227 aminoasitlik integral membran proteindir. Membranda RNA replikasyonun gerçekleştiği özelleşmiş kompartmanların, membranöz cep, oluşumunu indükler (32).

NS5A Protein: NS5A membrana bağlı fosfoproteindir. Bu proteinin fosforilasyon düzeyi RNA replikasyonun etkinliğini düzenler. Bölge1 (aa 1-213), bölge 2 (aa 250-342), bölge 3 (aa 356-447) olmak üzere üç bölgeden oluşur. 1. bölgeden oluşan helikal yapılar viral-hücrel proteinler, diğer yapısal olmayan

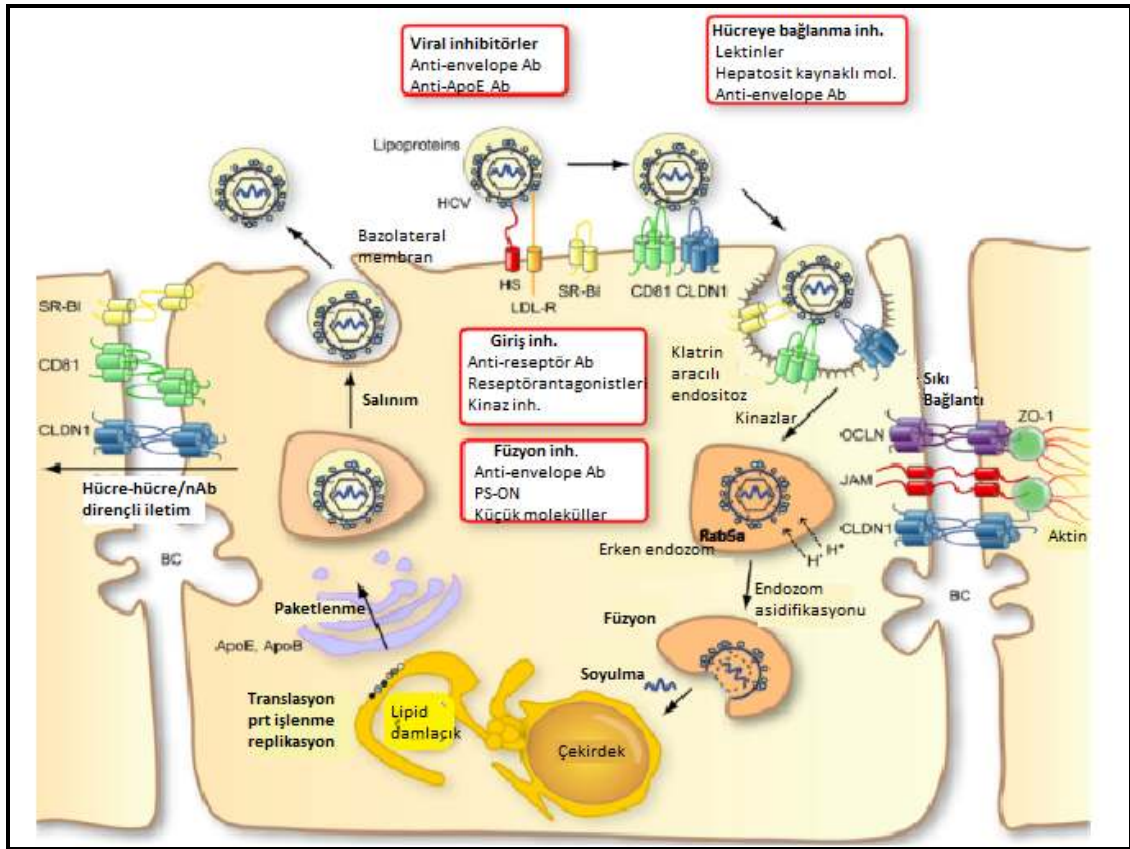
proteinler, membran ve RNA ile etkileşir. Bu etkileşimler sonucu viral replikasyon kompleksleri oluşumu ve RNA replikasyonunun regülasyonu sağlanır (33-35).

NS5B Protein: NS5B protein viral RNA bağımlı RNA polimeraz aktivitesi gösterir. C-terminal uçta 21 aminoasitlik bölgenin oluşturduğu alfa helikal transmembran yapı invitro polimeraz aktivitesi için değil ancak ER'nin sitoplazmik yüzdeki post-translasyonel hedefleme işlemi için gereklidir (36).

RdRp konfigürasyonu sağ ele benzer. Başparmak, avuç içi ve parmaklara benzeyen bölgeler içerir. Başparmak ve parmak bölgeler arasındaki geniş kapsamlı etkileşimler sonucu çok iyi sarmallanmış kapalı bir konfigürasyonda aktif bölgesi bulunur (37,38).

2.3. HCV'nin Yaşam Döngüsü

HCV'nin yaşam döngüsü Şekil 2.2'de gösterilmiştir. Yaşam döngüsü 4 basamakta tamamlanır.



Şekil 2.2. HCV yaşam döngüsü.

2.3.1. Hücreye giriş

Virüs yaşam döngüsünde ilk basamak olan hücre içine giriş 3 adımda gerçekleşir.

- 1) Hepatosit yüzeyine tutunma,
- 2) Viral parçacıkların reseptör aracılı endositozu,
- 3) Endozomal füzyon.

Bu basamakların gerçekleşebilmesi için birçok konak proteini, reseptör yapılar ve giriş faktörlerine ihtiyaç vardır (39).

Dolaşımdaki HCV partikülleri içerdikleri immunglobulin veya farklı sınıftan lipoproteinlere bağlı olarak değişik büyüklük ve yoğunlukta bulunurlar. Dolaşan virionlar kanda LDL veya VLDL 'ye direkt olarak bağlanabilir. Yüksek infektiviteye sahip HCV partikülleri VLDL ile ilişki kurar ve lipoviral parçacıkları (LVPs) oluşturur. LVPs; ApoE, ApoC1 ve ApoB içeren trigliseritten zengin lipoproteinler, viral nükleokapsid ve zarf proteinleri olan E1 ve E2 den oluşur. HCV-lipoprotein kompleksleri hem viral tutunma ve hücre içine giriş için lipoprotein reseptörlerle etkileşir, hem de bu kompleks immün yanıtı kaçıtır (40-44).

1) Hepatosit yüzeyine tutunma: Dolaşan HCV sinüzoidal kanallar aracılığı ile karaciğere gelir. Karaciğer sinüzoidal epitelial hücreleri ve kupfer hücreleri sırasıyla L-SIGN ve DC-SIGN adı verilen moleküller eksprese eder ve bu moleküller HCV E2 ile bağlanarak virüsün kandan hepatosite taşınmasını ve enfeksiyonun dolaşımla direkt bağlantısı olmayan komşu hepatositlere iletimini sağlar (45). Hepatosit bazal yüzeyde bulunan heparan sülfat, Glikozaminok-glikan ve LDL reseptör virüsün hedef hücre yüzeyinde toplanmasını sağlar. Bu toplanma aşaması sonrası viral hücre içine alım ile sonuçlanan, çeşitli koreseptörler ve giriş faktörleri ile etkileşim sonrası membranda moleküler yeniden düzenlenme oluşur (46,47).

SR-BI karaciğer ve steroidogenik dokularda eksprese olan ve HDL, LDL ve okside LDL'yi bağlayarak hücre içine kolesterol alımını düzenleyen glikoproteindir. SR-BI direkt olarak HCV E2 ve HVR1 ile bağlanarak LVPs ile etkileşir ve bir sonraki basamakta HCV E2'nin CD81 ile etkileşimi için viral partikülün CD81'e transferini sağlar. (48,49) CD81 bağlanma sonrası giriş molekülüdür. Tetraspanin süperailisi üyesidir. CD81 ile etkileşim sonrası E1 ve E2 glikoproteinlerinde konformasyonel değişiklik sonucu virüsün pH-bağımlı endositoz ve füzyonu gerçekleşir (50,51).

CLDN-1 sıkı bağlantı proteinlerinden claudin ailesi üyesidir. CLDN-1 direkt olarak zarf proteinleri ile etkileşmez, CD-81 ile etkileşerek kompleks oluşturur. Bu

kompleks membranın apikal ve bazolateral bölgelerinde eksprese olur ve hücre içine alım işlemini başlatır (52,53). OCLN virüsün hücre içine girişinde diğer bir koreseptör olup, direkt HCV E2 ile etkileşim ile mi, indirekt CLDN-CD81 kompleksi aracılı mı etki gösteriyor henüz net değildir (54).

EGFR ve EphA2, hücre çoğalması ve farklılaşması, doku homeostazi, tumorigenez, hücre zehirlenmesi, hücre hareketinde rol alan hücre içine giriş faktörlerindendir. CLDN-CD81 arası etkileşimi düzenlerler (55,56).

Tfr1 tüm hücrelerde eksprese olabilen klatrin aracılı endositoz ile hücre içine demir alımından sorumlu hücre içine giriş faktörüdür. CD81 etkileşiminden sonra glikoprotein aracılı giriş aşamasında rol alır (57).

2) Reseptör aracılı endositoz; HCV partikülünün hücre içine alımı CD81-CLDN kompleksinin başlattığı klatrin ve dynamin aracılı endositoz yoluyla gerçekleşir (51).

3) Endozomal füzyon; Virüs-reseptör etkileşimleri ve ortamın düşük Ph'sının etkisiyle oluşan glikoprotein yapılarıdaki değişim füzyon ilişkili proteinlerin pre-füzyon durumdan füzyon sonrası duruma geçişini tetikler. Bu evrede özellikle E1 rol alır. Zarf proteinlerdeki konformasyonel değişim sonucu viral kapsidin sitozole salınımını sağlayan füzyon porları oluşur (58,59).

Asidik pH yanında hedef membranın kolesterol içeriği de membran füzyon kapasitesini etkiler. NPC1L1 kolesterol alım reseptörü, LVPs'nin kolesterol içeriğini etkileyerek veya kolesterol dengesini düzenleyerek etki gösteren HCV giriş faktörüdür (60,61).

Viral hücre içine giriş ve yayılımda alternatif yol; hücre'den hücreye iletim

HCV direkt olarak hücreden hücreye transfer yoluyla da komşu hücreleri infekte edebilir böylece ekstrasellüler ortamda nötralizan antikorlar ile etkileşimden kaçabilir. İnfekte hepatositte salınan viral partiküller konak faktör bağımlı mekanizmalar ile naiv hücrelere girer. Bu mekanizmalar CLDN1 ve CD81 ilişkili olabileceği gibi CD81 bağımsız yollarda tanımlanmıştır (62,63).

2.3.2. Protein translasyonu ve proteinlerin işlenmesi

HCV poliprotein translasyonu pozitif sarmallı RNA kalıp alınarak 5'UTR uçta IRES bölgesinden başlayarak ER'da gerçekleşir. IRES bölgesi 40S ribozomal alt üniteye direkt bağlanır. Bu ikili kompleks daha sonra 48S subünit oluşturmak üzere

ökaryotik başlatma faktörleri olan eIF-3 ve üçlü kompleks eIF-2: Met-tRNA: GTP ile birleşir. Takiben GTP hidrolizi ve 60S subünite bağlanma ile 80S RNA oluşur (7).

Translasyon sonucunda 3000 aa uzunluğunda tek bir poliprotein prekürsör oluşur. Bu poliprotein daha sonra hücresel sinyal peptidazlarla kor/E1, E1/E2, E2/p7, p7/NS2 bağlantı noktalarından yarıklanarak yapısal proteinler, iki adet viral peptidaz ile NS2-NS3 ve NS3-NS5B bağlantı noktalarından ardışık yarıklanma ile işlenerek yapısal olmayan proteinler oluşur (6). Proteinlerin işlenmesi aşaması NS4B ve NS5A tarafından oluşturulan membranöz ceplerde gerçekleşir. Bu yapı HCV RNA, HCV'nin yapısal olmayan proteinleri, Endoplazmik retikulum membranı ve lipid damlacıklardan oluşur (32).

2.3.3. RNA replikasyonu

HCV replikasyonu diğer (+) sarmallı RNA virüslerinde olduğu gibi NS5B RdRp'nin katalizlediği (-) sarmallı RNA'dan (+) sarmallı RNA sentezi sonrasında (+) sarmallı RNA'yı kalıp olarak kullanarak tamamlayıcı (-) sarmallı RNA'nın sentezlenmesi ile başlar. RNA sentezi ve replikasyon kompleksi oluşumu için rekombinant NS5B aktivitesi yeterli değildir, viral ve/veya konak faktörlerinin katkısı gereklidir. Replikasyon kompleksi aracılı replikasyonda subgenomik replikonlarda rol alır (64).

Hücreden bağımsız replikasyon basamağının incelendiği araştırmalarda (-) sarmallı kalıp RNA olmadan da RNA sentezinin başlayabileceği gösterilmiştir. Bu durum kalıp RNA'nın viral replikonlarla özdeşleştiğinin kanıtı olabilir (8,64,65).

HCV replikasyonunun kolesterol ve sfingolipidden zengin yağ molekülleri ile ilişkili olduğunu destekleyen kanıtlar mevcuttur. Hücrede sfingolipid sentezi inhibe edildiğinde HCV replikasyonunun önlenemediği gösterilmiştir. (66) RNA replikasyonu sırasında yapısal olmayan proteinlerin sentezi ER'da yağ molekülleri membranı ile ilişkili olarak gerçekleşir.

NS5A ile etkileşerek viral replikasyona katkıda bulunan birçok hücresel protein mevcuttur. Bunlardan VAP-A ve B hem NS5A, hem de NS5B'ye bağlanarak fonksiyonel replikasyon kompleksi oluşumuna katkıda bulunurlar. FKBP8 ve HSP-90 molekülleri de NS5A ile kompleks oluşturur. NS5A bağlayan protein olarak tanımlanan FBL2 protein degradasyonunda rol alır (8).

NS5B ile etkileşen ve replikasyona katkı sağlayan konak faktörleri de bulunur. Siklofilin B, NS5B'nin RNA bağlayıcı aktivitesini stimüle eder. p68 RNA helikaz aktivitesi gösterir. hnRNP A1 septin 6 ve 5'UTR VE 3'UTR bağlanarak protein-protein ve RNA – protein etkileşiminde rol alır. PTB ise HCV IRES aktivitesini modüle eder. Replikasyon kompleksinin bir parçası olarak RNA sentezinde rol alır (67-71).

2.3.4. Viral paketlenme ve hücreden salınım

Viral yaşam döngüsünün bu aşaması tam olarak anlaşılamamıştır, ancak iyi bilinen lipid metabolizması ile yakın ilişkili olduğudur. HCV enfeksiyonu hücrenin lipid dağılımında belirgin değişiklik yapar. Enfekte olmayan hücrelerde genelde sitoplazmada bulunan lipidler enfekte hücrelerde perinükleer bölgede birikerek viral protein ve genomla etkileşir. HCV kor ile lipid damlacıkları etkileşimi inhibe edildiğinde virüs üretimi engellenebilmektedir. Paketlenmiş virionlar VLDL sekresyon yoluyla ile yakın ilişkilidir. Oluşan paket virionlar lipoviropartiküldür. Lipid yapısı apoE ve/veya apoB içeren VLDL ve LDL benzeri yapıdadır. Bu durumun klinik yansıması histolojik olarak karaciğerde yağlanmadır (72-74).

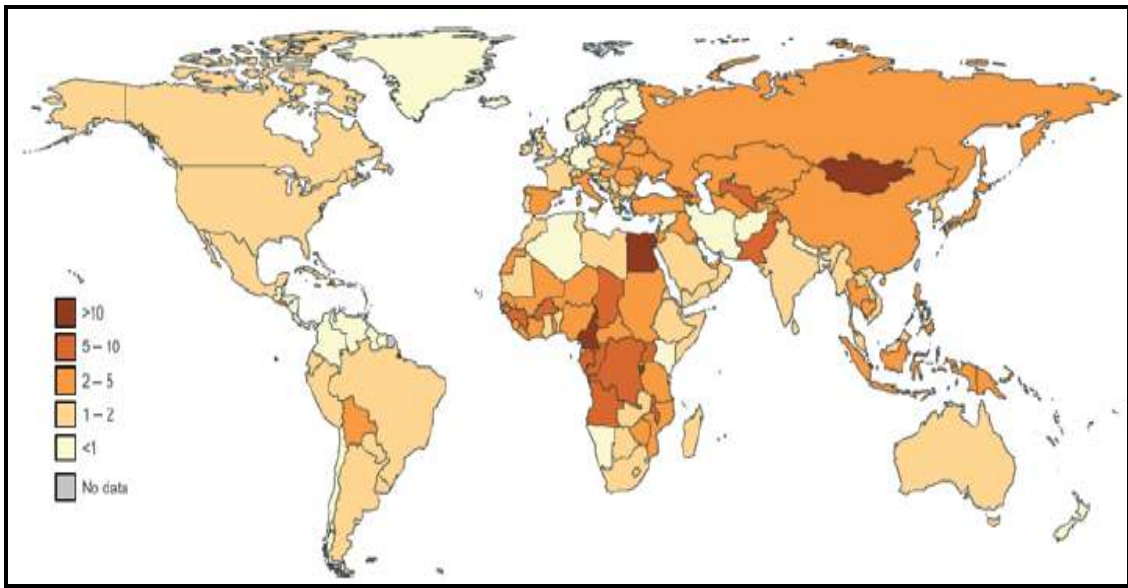
Viral partikülün hücreden salınımı ER ve golgi aparatından tomurcuklanarak sekretuar yolu izleyerek gerçekleşir. Enfekte konak dolaşımında HCV çeşitli formlarda bulunur: **i)** serbest olgun virion, **ii)** LDL ve VLDL ile bağlı virion, **iii)** immunglobulinler ile bağlı virion, **iv)** zarfsız nükleokapsid (farklı fizikokimyasal ve antijenik özelliktedir (8).

2.4. HCV Enfeksiyonu Epidemiyolojisi ve Bulaş Yolları

HCV enfeksiyonu dünya genelinde kronik karaciğer hastalığının en önemli nedenlerinden biridir. Yaklaşık olarak 160 milyon kişinin, dünya nüfusunun %2.35'i, HCV ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Dünya'daki HCV prevalansı şekil 3'te gösterilmiştir. Akut hepatit C enfeksiyonunun %70-80'i kronikleşmekte, kronik enfekte hastalarda 20-30 yıl içinde %10-20'sinde kronik karaciğer hastalığı gelişmekte, bu hastaların %1-5'inde HCC gelişmektedir (75).

Ülkemizde HCV enfeksiyonu sıklığı %0.5 ile %1.9 arasında değişmektedir (76).

HCV'nin 1'den 7'ye kadar numaralandırılan yedi tane genotipi mevcuttur, genetik yapıları %30 farklılık gösterir. Bundan daha fazla sayıda küçük harflerle temsil edilen ve genetik yapıda %20 farklılık gösteren subtipler bulunur. Genotip 1 dünyada en yaygın genotip olup, Avrupa'da 1b, Amerika'da 1a subtip yaygındır. Genotip 3a Avrupa'da i.v. ilaç bağımlıları arasında yaygın olup bu grupta genotip 4'te artmaktadır. Genotip 4 Mısır ve Orta Doğu'da, genotip 2 Akdeniz Bölgesinde, genotip 5 Güney Afrika'da, genotip 6 Hong Kong, Vietnam, Myanmar'da yaygındır. Yeni genotip olan 7 ise Kanada ve Belçika'da tanımlanmıştır (1).



Şekil 2.3. Dünya'da HCV prevalansı (%).

2.4.1. Bulaş yolları

Kan ürünleri transfüzyonu, doku-organ transplantasyonu ve damar içi uyuşturucu kullanımı HCV bulaşı için en iyi tanımlanmış risk faktörlerindendir.

A. Parenteral bulaş: Hepatit C olgularının 1/3-2/3'ünden sorumludur. Sosyoekonomik düzeyi düşük ve orta düzey ülkelerde kan transfüzyonu ve güvensiz enjeksiyon işlemleri ön planda iken, gelişmiş ülkelerde i.v. ilaç kullanımı ve seksüel temas bulaşta ilk sıralarda yer alır (77).

1. Kan ve kan ürünleri transfüzyonu: 1990 yılından önce anti-HCV taramalarının yapılmadığı dönemde bu yolla sık bulaş olmuş, yaklaşık %7-10 oranında virüsün bulaştığı gösterilmiştir. HCV ile kontamine kan ve kan ürünü alanların

%90'ından fazlasında HCV enfeksiyonu gelişir. Talasemi veya hemofili gibi çok sayıda transfüzyon yapılan hastalarda HCV enfeksiyon sıklığı daha yüksektir. Kan ve organ donörlerinde 1990'lı yılların başlarından itibaren (ülkemizde 1996 yılı) duyarlı tarama testlerinin kullanımı ile bu yollarla virüsün bulaş oranı son derece azalmıştır. Hepatit C virüsünün tarama yapılan kan örnekleriyle geçiş riski günümüzde 1/100.000'dir. Bu düşük orandaki bulaşın da nedeni muhtemelen donörde anti-HCV antikorları oluşmadan kan alınmasıdır (77,78).

2. Hemodiyaliz: Hemodiyaliz ünitelerinde anti-HCV pozitifliğinin sıklığı ülkelere göre %4-70 arasında değişir (ortalama %20) Hemodiyaliz hastalarında HCV enfeksiyonu için risk faktörleri kan transfüzyonu, hemodiyaliz süresi ve tipi, diyaliz merkezindeki HCV enfeksiyonu olan hasta sıklığıdır. CDC genel temizlik tedbirlerine uyum ve diyaliz makinelerinin uygun yöntemlerle sterilizasyonunu önermektedir (78,79).

3. Organ transplantasyonu: Organ transplant alıcıları HCV enfeksiyonu için ciddi risk taşırlar. Bu hastalarda enfeksiyon, transplantasyondan önce mevcut olan hastalığın nüksü, transplantasyon sırasında yapılan transfüzyon veya vericide varolan enfeksiyon sonucu gelişmektedir. İmmünsüprese organ alıcılarında antikor testleri HCV enfeksiyonunun prevalans ve bulaşını göstermede daha az değerlidir. Bu nedenle bu hastalarda HCV RNA testi gerekebilir (78).

4. Nozokomiyal bulaş: Yetersiz dezenfeksiyon ve kontamine aletlerin kullanımıyla olur. HCV enfeksiyon sıklığı hastanın kaldığı servise göre değişmekle birlikte %2-20 arasındadır (78).

5. Damar içi uyuşturucu kullanımı: Gelişmiş ülkelerde HCV enfeksiyonunun primer bulaş yolu damar içi uyuşturucu kullanımıdır. Bulaş riskinin en önemli nedeni steril olmayan ekipman ile enjeksiyon ve ortak enjektör kullanımıdır. Bu kişilerin %67'si 6-12 ay içinde enfekte olmaktadır. İntranazal kokain ve marihuana kullanımında risk faktörleri arasındadır (77).

B. Şüpheli parenteral bulaş

Bu grupta dövme yaptıрма, akupunktur, steril olmayan koşullarda yapılan sünnet işlemleri, diş tedavisi yer alır. HCV ile enfekte hastalardan sağlık personeline bulaş bilinmektedir ve genel popülasyona göre artmış risk söz konusudur. Sağlık personeline genelde delici, batıcı yaralanma sonucu bulaş olmaktadır. HCV'nin perkütan yolla

bulaş riskini etkileyen faktörler; inokulum miktarı, yaranın derinliği, viral yük gibi farklı parametrelerdir. Hastanede çalışanlarda anti-HCV sıklığı %1 oranında olup, bu kişilerden hastalara bulaş çok nadirdir (77,78).

C. Non-parenteral bulaş

1. Anneden bebeğe geçiş: Anti-HCV pozitif kadınlardan doğan bebeklerin yaklaşık %4-8'inde perinatal bulaş olabilir. Annede HIV ile koenfeksiyon ve üçüncü trimesterde yüksek HCV viremisi varlığında bebeğe geçiş riski 2-4 kat daha fazladır. Anne sütünde HCV gösterilmesine rağmen emzirme ile bulaş riskinin arttığını gösteren çalışma yoktur, bu nedenle emzirme kısıtlaması önerilmez (77,79).

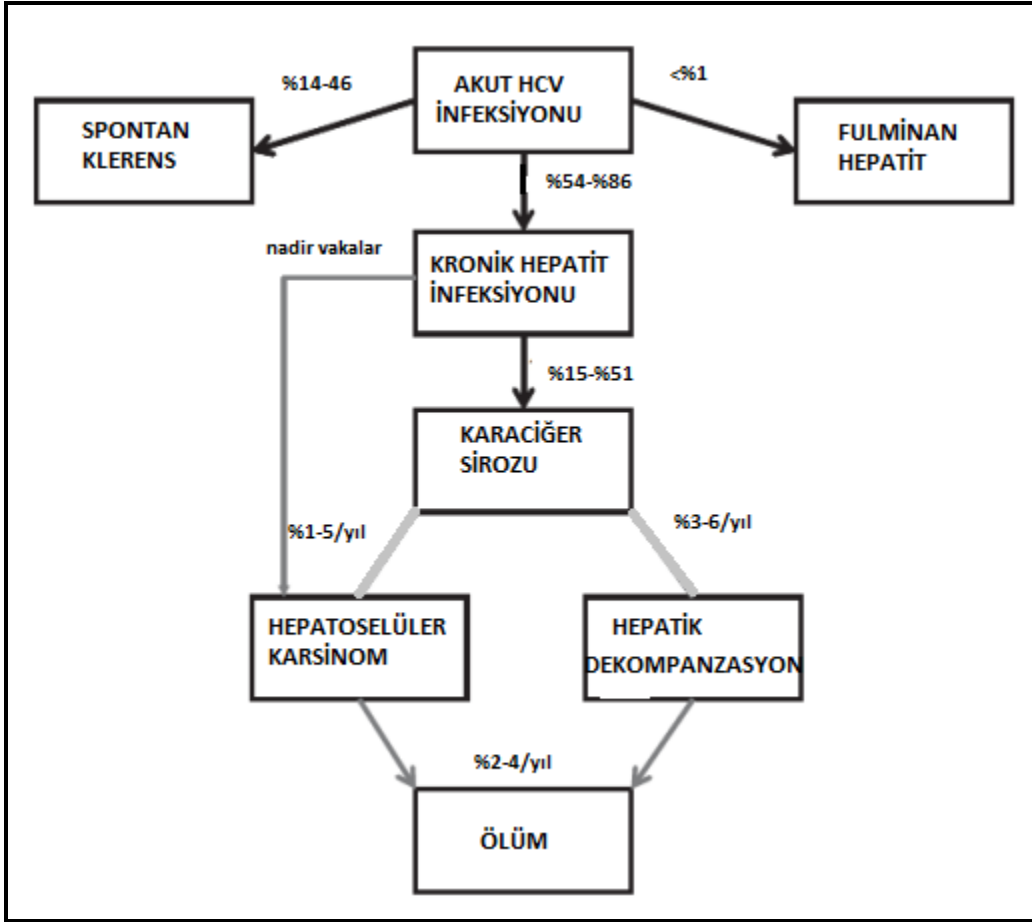
2. Cinsel yolla bulaş: HCV'nin cinsel temasla bulaş riski çok düşüktür. Uzun süreli monogamik ilişkisi olanlarda HCV bulaş riski %0-0,6 gibi son derece düşüktür. Türkiye'de şüpheli cinsel temas öyküsü çeşitli araştırmalarda %4-7 oranında bulunmuştur (75). Bulaş için ek risk faktörlerinin varlığı önemlidir.. Cinsel partnerin etkenin bulaşı açısından yüksek risk grubunda olması (homoseksüel veya biseksüel yaşam tarzı, damar içi uyuşturucu kullanımı), partner sayısının fazla olması, cinsel yolla bulaşan başka hastalıkların varlığı, HIV ile koenfeksiyon HCV'nin bulaşma olasılığını artırır (77).

3. Aile içi bulaş: HCV'de aile içi bulaş son derece düşüktür. Ülkemizde bildirilen aile içi bulaş oranları %0.4 - 4.3 arasında değişmektedir. Enfekte kişiyle temas süresi ile bulaşma riski arasında paralellik mevcuttur (78).

HCV'nin bulaş yolları ve risk faktörleri tanımlanmasına rağmen olguların %10-30'unda enfeksiyon kaynağı saptanamamaktadır.

2.5. HCV İnfeksiyonunda Klinik

Hepatit C infeksiyonunun doğal seyri Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Hepatit C infeksiyonunun doğal seyri.

2.5.1. Akut hepatit C

Akut hepatit C olgularının çoğu subklinik ve anikterik seyrettiği için akut dönemde hepatit C'nin tanınması oldukça güçtür. İnkübasyon süresi ortalama 2-12 (ortalama 7) haftadır. Kan ve kan ürünleri ile bulaşta, virüsün miktarı ile ilişkili olarak inkübasyon süresi daha kısadır. Temastan sonra, genellikle karaciğer enzimlerinin yükselmesinden 1-4 hafta önce olmak üzere, 7-21 günde kanda HCV RNA pozitifleşir. Anti-HCV antikorları virüs alındıktan 20-150 gün (ortalama 50 gün) sonra pozitifleşir. ALT yükselmesi ise genellikle 4. haftadan sonra olur (80).

Akut hepatit C'de klinik bulgular akut hepatit A ve B'ye göre daha hafiftir. Çoğunlukla asemptomatik olmakla birlikte %15-20 oranında halsizlik, iştahsızlık, kas ağrısı, bulantı, kusma, sağ üst kadranda ağrısı, sarılık, idrar renginde koyulaşma gibi

semptomlar görülebilir (78). Semptomatik hastalarda spontan klerens %25-52 arasında değişirken, asemptomatik infeksiyon varlığında bu oran %10-15 oranındadır. Semptomatik infeksiyon varlığı dışında kadın cinsiyet, 40 yaş altı, genotip 3, beyaz ırk, ko-infeksiyon olmaması, viral yükte ilk 4 haftada hızlı düşüş gibi faktörler spontan viral klerens ile ilişkilendirilmiştir. Akut HCV infeksiyonunda fulminan hepatit çok nadirdir (80-82).

Akut hepatit C tedavisinde genellikle önerilen spontan klerens için 12 hafta beklenmesi, viremi devam ederse 24 hafta pegile interferon-alfa ile tedavidir. Hızlı virolojik yanıt varlığında tedavi 12 hafta verilebilir. Akut hepatit C tedavi edildiğinde alınan kalıcı viral yanıt kronik hepatit C'ye göre daha yüksektir (80).

2.5.2. Kronik hepatit C

HCV ile enfekte kişilerin %55-85'inde hepatit C infeksiyonu kronikleşmektedir. HCV infeksiyonu genellikle asemptomatik seyrettiği için ancak siroz ya da son dönem karaciğer hastalığı geliştiğinde semptomlar ortaya çıkar. Kronik hepatit C'de en sık bildirilen semptom yorgunluktur. Karın ağrısı, bulantı, myalji, artralji, kilo kaybı gibi semptomlar da olabilir ve bu semptomlar genelde ileri fibrozis ile ilişkilidir. Serum ALT düzeyi genellikle normalin 3 katını geçmez ve karakteristik olarak dalgalı seyir gösterir. HCV enfeksiyonu geliştikten sonra hastaların %10-20'sinde 10-20 yıl sonra siroz gelişir.

Fibrozisin ilerlemesine etki eden faktörler;

İleri yaş; 40 yaş üzeri yüksek risk kabul edilmektedir. İleri yaşla birlikte fibroziste hızlanmanın mekanizması açık olmamakla birlikte karaciğer rejenarasyon yeteneğinin azalması, immün sistem değişiklikleri ve telemor kısalığı öne sürülmektedir. İleri yaştan daha önemli olarak infeksiyonun ileri yaşta kazanılmasının progresyonu hızlandığına savunan çalışmalar da mevcuttur (83,84).

Cinsiyet; Kadın cinsiyet fibrozis progresyonuna karşı koruyucudur. Burada hormonal mekanizmaların fibrozis regülasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir (82).

Genetik faktörler; Farklı etnik gruplarda IL28B genotip tiplerinin dağılımının farklı olmasına bağlı olarak fibrozis progresyonu ve nekroinflamatuvar aktivite düzeylerinde farklılık olabilir. (85) HLA klas I ve II başta olmak üzere bazı spesifik gen polimorfizmleri fibrozis progresyon derecesini etkilemektedir (86).

Serum ALT düzeyi; Kronik hepatit C seyrinde izlenen ALT dalgalanmaları ilerleyici fibrozis için risktir, ancak normal ALT düzeyleri ilerleyici fibrozis riskini dışlamaz (87). Viral yükün karaciğer hasar derecesi ile ilişkisi yoktur (88).

Karaciğerde yağlanma; Karaciğer yağlanması kronik hepatit C'nin histolojik bulgularından biridir. Hepatik steatoz fibrozis derecesi ile yakın ilişkilidir. HCV'nin kendisi de steatozu tetikleyerek non-alkolik steatohepatit (NASH) yapabilir. 78 HCV enfeksiyonu NASH için risk faktörü olan insülin direncine neden olabilir (89).

Alkol tüketimi; Günlük 50 gr üzeri alkol tüketimi HCV enfekte hastalarda siroz gelişimini belirgin olarak arttırmaktadır (90). Kahve tüketimi ise hem karaciğer fibrozis derecesini hem hepatik steatoz gelişimini azaltır (91).

HBV veya HIV koenfeksiyonu: HBV veya HIV ile koenfeksiyon varlığı karaciğer fibrozis progresyonunu hızlandırmaktadır.

Kronik hepatit C'nin en iyi prognostik göstergesi karaciğer histolojisidir. Orta ya da şiddetli nekroinflamasyonu veya fibrozisi olan hastalarda 10-20 yıl sonra siroza ilerleme ihtimali yüksektir. Kompanse siroz gelişen hepatit C olgularında 10 yıllık yaşam oranı %80 dolayında, mortalite ise yılda %2-6 oranındadır. Bu hastaların yılda %3-6'sında dekompanse, %1-4'ünde ise HCC gelişir (81).

2.5.3. HCV enfeksiyonunun ekstrahepatik tutulumları

HCV'nin göstermiş olduğu lenfotropizm immünolojik bozuklukların patogeneğinde önemlidir. HCV immün sistem üzerine yaptığı kronik stimulus sonucu klonal B-lenfosit artışı ve buna bağlı olarak artmış otoantikor ve immünkompleks oluşumuna neden olur. 87 HCV ile enfekte kişilerin %40-74'ünde hayatları boyunca en az bir ekstrahepatik tutulum gözlenir. Kronik hepatit C seyrinde tanımlanan birçok otoimmün veya lenfoproliferatif hastalığın bazılarının enfeksiyon ile ilişkisi güçlü bir şekilde gösterilmişken bazıları zayıf ilişki gösterir (91).

Bu hastalıkların en iyi tanımlanmış olanı esansiyel mikst kriyoglobulinemidir. B-hücrelerinin benign proliferasyonu sonucu oluşan 37°C altında serumda çöken, dolaşan immünkompleksler olan kriyopresipitat ile karakterize hastalıktır. Sadece %5 hastada vaskülit ile seyreden ciddi tabloya yol açar, ki bu durumda membranoproliferatif glomerülonefrit izlenebilir. HCV ilişkili artrit, Sjögren sendromu ve immünotrombositopeni'de hastalık seyrinde izlenebilen diğer sistemik otoimmün

hastalıklardandır. Tiroid bozuklukları, diabetes mellitus ve otoimmün hepatit organ spesifik otoimmün tutulumları yansıtır (90).

HCV enfeksiyonu metabolik yolları da birçok yönden etkilemektedir. En önemli etki insülin sinyal yollarında yaptığı değişikliklere bağlı olarak görülen insülin direncidir. İnsülin direncinin tetiklediği tip 2 diabetle beraber ortak etki hepatik yağlanma bunun sonucunda izlenen hepatik fibroziste progresyondur. HCV lipid metabolizmasını etkileyerek serum kolesterol ve trigliserit düzeylerinde düşmeye neden olur (89,92).

Otoimmünite dışında izlenen ekstrahepatik tutulumlar arasında porpfiria kutanea tarda, liken planus, idiyopatik pulmoner fibrozis, Mooren tip korneal ülser, fibromyalji, non-hodgkin lenfoma sayılabilir (93).

2.6. HCV Enfeksiyonunda Tanı

2.6.1. Serolojik testler

HCV enfeksiyonu tanısında ilk basamak serumda EIA ile antikor tayinidir. Günümüzde kullanılan üçüncü kuşak testlerde kor, NS3, NS4 ve NS5 bölgelerinden multipl rekombinant HCV antijenleri içermektedir. Bu özellik artmış spesifite ve sensitivite sağlar (94).

HCV tanısında kullanılan serolojik testlerin birçok dezavantajı vardır; 1) Enfeksiyon ile HCV antikorlarının saptanabilir olduğu süre uzundur, 2) Düşük riskli popülasyonda pozitif prediktif değer düşüktür. Yanlış pozitiflik otoimmün hastalığı olanda ve kronik HCV olan annenin bebeğinde olabilir, 3) İmmünkompromize ve hemodiyalize giren hastalarda yetersiz antikor yanıtı nedeniyle yanlış negatiflik olabilir. Akut enfeksiyon durumu da diğer bir yanlış negatiflik nedenidir (95,96).

Doğrulama testleri: Rekombinant immunblot assay (RIBA) testi EIA'dan daha spesifiktir, düşük riskli popülasyonda anti-HCV pozitifliğinin doğrulanmasında kullanılabilir. Anti-HCV pozitif HCV-RNA negatif saptanan durumlarda RIBA negatifliği anti-HCV antikorun yalancı pozitifliğini gösterir. RIBA pozitif ise lisanslı iki veya daha fazla testte HCV RNA negatifliği gösterilmesi geçirilmiş enfeksiyonu destekler (96).

HCV kor antijen tayini ve kantifikasyon: HCV infekte hastalarda kor antijen tayini yapılabilir ve düzeyi HCV RNA düzeyi ile koreledir. Moleküler testlere göre

daha ucuz ve uygulanması daha kolaydır. Üç durumda HCV RNA'ya alternatif olarak kullanılabilir; 1) Aktif infeksiyonu geçirilmiş infeksiyondan ayırmada, 2) HCV infeksiyonunun pencere döneminde tanımlamada, 3) Yüksek riskli seronegatif hastalarda infeksiyon tayininde. Tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde HCV RNA tayini testlerin yerini alamasa da kaynakların sınırlı olduğu durumlarda destekleyici test olarak kullanılabilir (97,98).

2.6.2. Moleküler testler

HCV antikor pozitif hastalarda aktif infeksiyonun saptanmasında <50 IU/ml düzeyde viremiyi saptayabilen hassas moleküler testler kullanılmalıdır. Akut infeksiyonun tayininde HCV RNA'nın 1-3 haftada saptanabilir olması nedeniyle erken tanıda kullanılır. Kronik HCV infeksiyonunun teyitinde, 6 ay sonra saptanabilir düzeyde RNA tayini ile kullanılır. Kantitatif testlerin antiviral tedavi yanıtının değerlendirilmesinde yeri vardır.

Avrupa ve Amerika rehberlerinde önerilen Real-time revers transkripsiyon PCR (RT-PCR) yöntemidir. Proteaz inhibitörlerini içeren ve tedavi yanıtı rehberliğindeki algoritmalar nedeniyle ≤ 25 IU/ML kantifikasyonu yapan testler kullanılmalıdır (95).

2.6.3. HCV genotip tayini

Genotip tayini tedavi süresinin belirlenmesi ve ilaç dozu tayini için gereklidir. Referans yöntem kor/E1 veya NS5B bölgesi ve takip eden bölgelerin genom sekanslanmasıdır. Subtip tayini epidemiyolojik çalışmalar için ve proteaz inhibitörlü tedavi alacak hastalarda subtip spesifik direncin saptanmasında önem kazanır. <%5 hastada genotip belirlenemeyebilir, benzer oranlarda birden fazla genotip söz konusu olabilir (99).

2.6.4. Karaciğer biyopsisi

Fibrozis evrelemesinde kabul edilen altın standart yöntem karaciğer biyopsisidir. Karaciğerdeki inflamasyonun derecesi ve fibrozisin yaygınlığını belirlemek için kullanılan skorlama sistemlerinden en yaygın kullanılanları METAVIR ve ISHAK skorlama sistemleri Tablo 2.1'de gösterilmiştir (96).

Son yıllarda etkin tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi nedeniyle biyopsi gerekliliği birçok dezavantajı olması nedeniyle tartışmalı hale gelmiştir. Karaciğer

biyopsisi invaziv bir işlemdir, kanama başta olmak üzere komplikasyonlar gelişebilir. Pahalı ve zaman alıcı, 6-24 saat hasta gözetimi gerektiren bir yöntemdir. Örneklem hataları ve sonuçları değerlendirmede patologlar arası değişkenlik söz konusudur. Viral hepatitlerde karaciğerin her bölgesi aynı oranda etkilenmediği için tek bir biyopsi örneği fibrozis derecesini yansıtamayabilir. Bu nedenle alınan örneğin en az 20-25 mm boyutlu olması ve en az 11 portal alan içermesi önerilmektedir. Önerilen bu uzunluk bile karaciğerin ancak 1/50.000'ini yansıtmaktadır (100).

Tablo 2.1. Histolojik skorelama sistemleri.

Histolojik bulgu	ISHAK	METAVIR
Fibrozis yok	0	0
Bazı portal alanlarda fibröz genişleme	1	1
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme	2	1
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve nadir köprüleşme	3	2
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve sık köprüleşme	4	3
Şiddetli köprüleşme ve nadir nodül	5	3
Siroz	6	4

2.6.5. Non-invaziv testler

KC biyopsisinin sınırlılıkları nedeniyle alternatif non-invaziv testler geliştirilmiştir. Bu testler özellikle fibrozis spektrumunun iki ucu olan minimal fibrozis ve siroz varlığında yararlıdır, orta dereceli fibrozu saptamada yetersiz kalabilir (95).

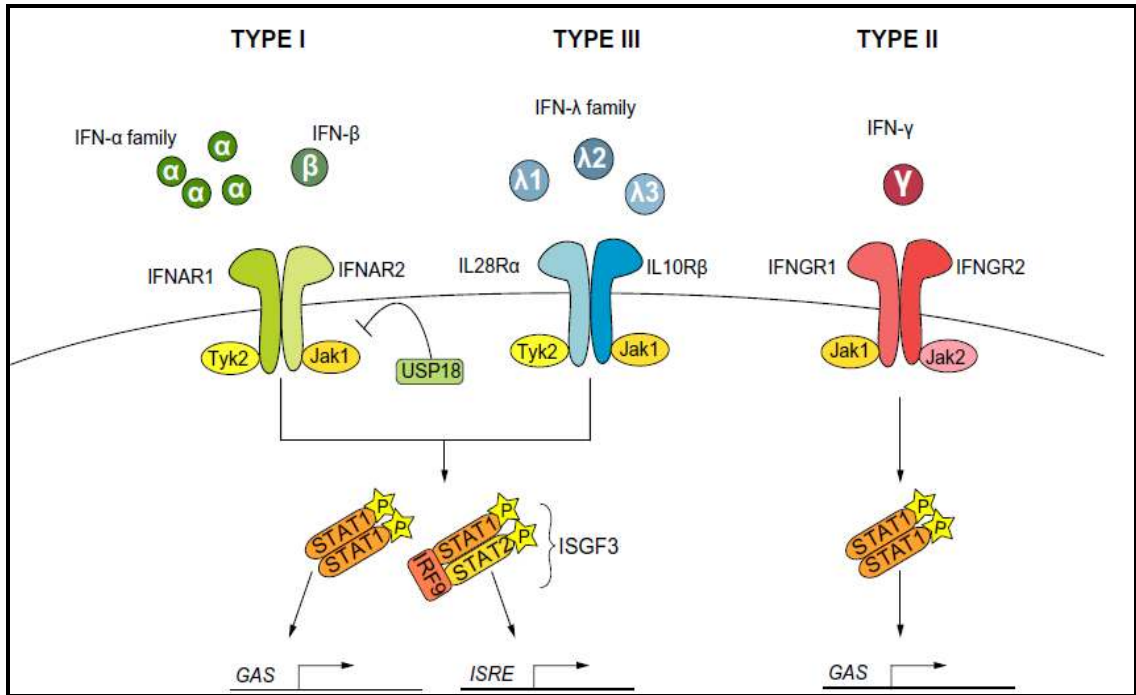
Transient elastografi (fibroscan); En yaygın ve validasyonu yapılan alternatif yöntemdir. Karaciğer fibrozis derecesi ile korele olan karaciğer sertliğini ölçer. Ağrısız, hızlı sonuç veren, analizi kolay bir yöntemdir. Periyodik olarak uygulanabilmesi nedeniyle fibrozis ilerlemesi veya tedavi yanıtı ile fibrozisin gerilemesi takip edilebilir. Yapılan ölçüm kilopascal olarak verilir. Obez hastalarda bile iyi sonuçlar alınabilir (95).

Yapılan çeşitli metaanalizlerde fibroscan tanısal performansı sirozda ≥ 0.90 , orta dereceli fibrozu saptamada $0.80 - < 0.90$ olarak saptanmış, sensitivite ve spesifite ise sırasıyla belirgin fibroziste %72 ve %82, sirozda %83-%87 ve %89-%95 olarak bulunmuştur (101,102).

2.7. HCV İnfeksiyonunda İmmünpatogeneze

2.7.1. Doğal immünite

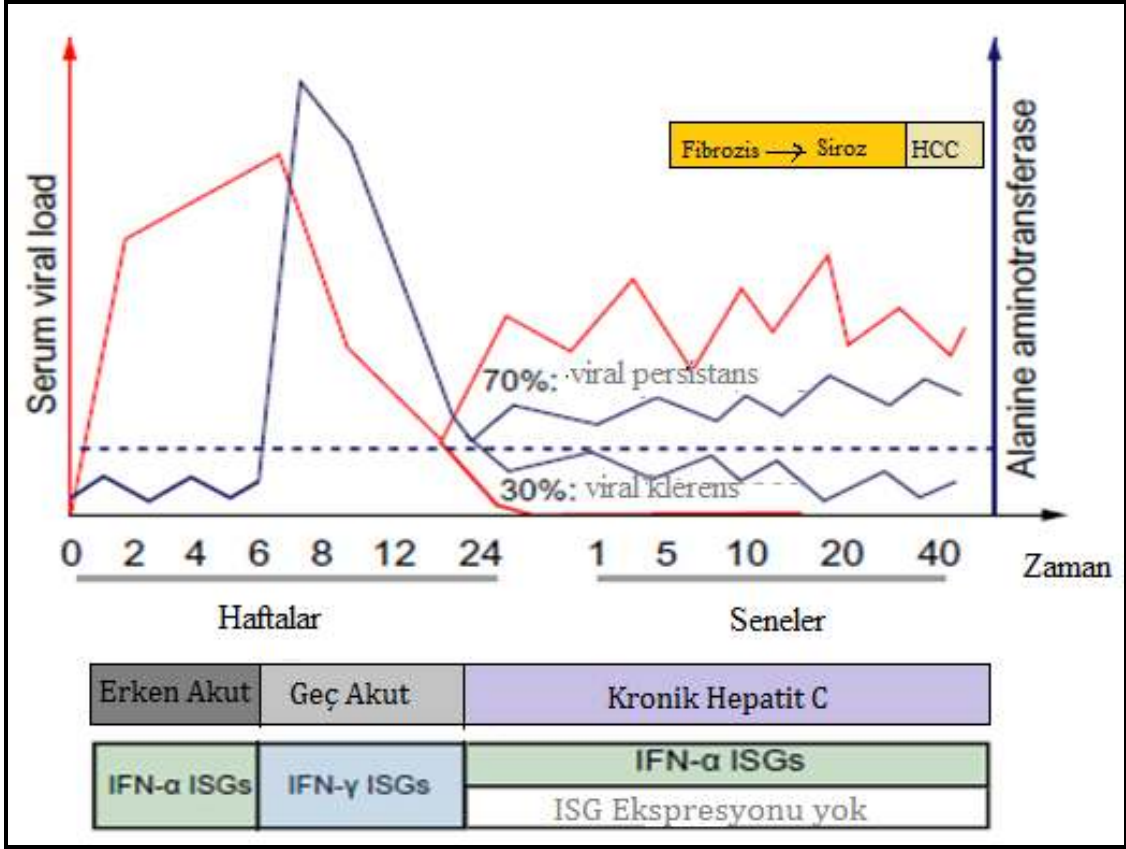
HCV ile infeksiyon sonrası ilk günlerde doğal immünitenin HCV ile güçlü etkileşimi sonrası makrofaj, dentritik hücreler ve NK hücrelerinden IFN salınımı olur. JAK-STAT yolu aracılı IFN sinyal mekanizması Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Makrofaj ve dentritik hücrelerden tip I IFN (IFN α ve β) ve tip III IFN (IFN λ 1 λ 2 ve λ 3; IL29, IL28A ve IL28B) salınır. NK ve CD8+ T hücrelerden ise Tip II IFN (IFN- γ) salınır (2).



Şekil 2.5. JAK-STAT yolu aracılı IFN sinyal mekanizması.

IFN- α ve IFN- β 'nin bağlandığı reseptör IFN- α reseptördür (IFNAR) IFN- λ IL-10 ile ortak olarak kullandığı IL-10R2 ve IL28B α reseptörü ile etkileşir. IFN- γ ise yaygın olarak eksprese olan IFN- γ reseptörüne (IFNGR) bağlanır. Tüm IFN -reseptör etkileşimleri hücre yüzeyindeki sinyalleri çekirdeğe Jak-STAT sisteminin aktivasyonu ile iletir. Bu reseptörlerin hücre içi bölümü janus kinaz ailesi tarafından tirozin rezidülerinden fosforillenir. Tüm IFN tiplerinin aktive ettiği STAT- 1 IFN stimüle genler (ISGs) içindeki gamma aktive sekans (GAS) bileşenine bağlanır. Tip I ve tip III IFN ayrıca IFN-stimüle gen faktör aracılı ISRE ile bağlanır. Bu yolağın Ubikitin spesifik peptidase 18 (USP18) gibi negatif düzenleyicileri mevcuttur (103,104).

HCV infeksiyonun doğal seyri Şekil 2.5'te gösterilmiştir.



Şekil 2.6. HCV infeksiyonun doğal seyri.

Akut HCV infeksiyonunun ilk 4-8 haftalık dilimi olan erken akut fazda tip I veya tip III IFN salınımı olur. ISG güçlü bir şekilde indüklenir ancak bu viral klerens için yeterli değildir, bu olayın nedeni belli değildir. Özellikle viral yükü de yüksek olan hastalarda bu fazda doğal IFN yanıtı HCV'ye karşı etkin değildir, (105) Daha sonra başlangıçtan 6-10 hafta sonra CD8+ T hücrelerinin karaciğere göçü ile IFN- γ salınımı baskın hale gelir. Bu dönem geç akut faz olup 2-6 hafta sürer ve artmış transaminaz düzeyi ve klinik olarak bazen gelişebilen sarılık izlenir. HCV ile infekte hastaların %30'unda viral replikasyon CD8+ T hücreleri tarafından infekte hücrelerin lizisi ve IFN- γ aracılı non-sitolitik mekanizma ile güçlü bir şekilde baskılanır ve spontan klerens gelişir (106).

Kalan %70'in yarısında tekrar tip I ve tip III IFN baskın hale gelir, endojen IFN sistem aktivasyonu sonucu yüzlerce ISG indüklenir. Bu grup hastada peg-IFN ile tedavi sonrası ISG ekspresyonunda daha fazla artış olmaz ve bu hastalarda nadiren

kalıcı viral yanıt alınır. Diğer yarısında ise karaciğerde çok az ISGs aktivasyonu olur veya hiç aktifleşmez. Bu hasta grubunda ise peg-IFN tedavisi sonrası 4 saat içinde ISG indüksiyonu gelişir ve kür şansı yüksek olan gruptur (107).

2.7.2. Adaptif immünite

Adaptif immüitenin patojenlerle savaşan iki kolu mevcuttur. Birincisi antiviral aktivite gösteren nötralizan ve non-nötralizan antikorlardan oluşan humoral immünite, ikincisi efektör ve düzenleyici rolleri olan sitotoksik T lenfosit ve CD4 T yardımcı hücrelerden oluşan hücresel immünitedir. T hücreleri HCV ile infekte hepatositleri direk olarak öldürür veya non-sitolitik şekilde virüsün temizlenmesine neden olan sitokinler salgırlar (108).

2.7.3. Humoral immün yanıt

Nötralizan antikorların HCV klerensindeki yeri tartışmalıdır. Antikorlar virüsün yapısal ve yapısal olmayan proteinlerine karşı ancak majör olarak E1 ve E2 zarf proteinlerine karşı oluşurlar, başlıca hedefi tüm HCV genomu içinde en değişken bölge olan HVR-1 bölgesidir. Çok sayıda HVR-1 varyantı ile reaksiyon veren antikor varlığı bu antikorların korunmada etkili olmayacağını düşündürmektedir. Söz konusu sonuçlar aşı çalışmalarını olumsuz etkilemektedir (109).

HCV'nin hipogamaglobülinemik hastalarda kontrol altına alınabildiğini gösteren çalışmaların varlığı antikorların HCV kontrolünde minör rolü olduğunu düşündürmektedir ve viral klerenste tek başlarına yetersizdirler. Ancak akut infeksiyon sırasında viral infektiviteyi nötralize etmekte majör rollerinin olabileceğini gösteren kanıtlarda mevcuttur. Kazara aynı HCV suşuna maruz kalan bayanlarda nötralizan antikorlar doğal bağışıklık sağlamıştır (108). Bununla beraber çoğu akut infeksiyon döneminde antikorlar saptanmaz, kronik infeksiyon döneminde yüksek titrede saptanırlar. Kronik dönemde gecikmiş ve etkin olmayan antikorların varlığı viral kaçış mutasyonlarını indükleyerek viral mutantların seçimine yol açabilirler (110).

2.7.4. Hücresel immün yanıt

Viral klerensin sağlandığı akut hepatit C hastalarında HCV'ye özel CD8+ T hücre aktivasyonu ve IFN - γ salınımı saptanmıştır. Antijen sunan hücre aktivasyonu ve CD8+ T hücre yanıtı indüksiyonu ve yanıtın devamı için anahtar hücre CD4+ T

hücreleridir. Bazı hastalar bu yanıtı uzun yıllar devam ettirebilirken bazı hastalarda viral kaçış mutasyonları, T hücre tüketimi ve kaybı, immün düzenleyici sitokinlerin salınımı, immün modülatör Treg hücre indüksiyonu nedeniyle kalıcı viral klerens sağlanamaz veya rekürrens izlenir (111).

HCV spesifik CD4+T hücreleri IFN- γ salınım ve çoğalma yeteneğini kaybettiğinde fiziksel delesyona uğrar. CD8+ T hücre epitoplarında izlenen kaçış mutasyonları kronik viral persistansta major rolü oynar. Özellikle HLA bağlanma bölge mutasyonları tolere edilemez (108).

CD4+CD25++ fenotipe sahip regülatör T hücreleri(Treg) adı verilen hücreler self toleransın sürdürülmesi için gerekli hücrelerdir, eksikliklerinde ciddi otoimmün sendromlar tanımlanmıştır. FOXP3 transkripsiyon faktör Treg fenotipin ana indükleyicisidir. FOXP3+CD4+CD25++ Treg hücreler iki tiptir. Timüs derive subtip otoimmünitenin önlenmesinde rol alırken, antijen spesifik T hücre kaynaklı subtip enfeksiyon hastalıkları ve malignitelerde rol oynar. Spesifik immün yanıtın down-regülasyonunu virüs spesifik CD4+ ve CD8+ T hücre yanıtını baskılayarak gösterir. İmmün aracılı doku hasarının sınırlandırılmasını sağlar. Kronik hepatit C’de Treg hücrelerinin periferik kanda ve karaciğerde artmış olduğu saptanmıştır (112). IL-10 üreten Tr1 hücreleri ve TGF- β üreten Th3 hücreleri de kronik viral pesistansta rol oynar (111).

CD8+ T hücre tüketiminde major rol alan immünregülatör moleküller olarak PD-1 ve CTLA-4 tanımlanmıştır. PD-1 antikorlarının kullanıldığı in vitro araştırmalarda CD8+ T hücrelerden salınan IFN - γ üretiminin baskılandığı gösterilmiştir (108).

2.8. Kronik Hepatit C Tedavisi

Kronik hepatit C tedavisinde amaç, HCV ilişkili karaciğer hastalıkları olan siroz, HCC ve bunlara bağlı mortaliteyi ve karaciğer dışı tutulumları önleyebilmek için HCV’yi eradike etmektir. HCV eradikasyonu ise kalıcı viral yanıtın alınması ile mümkün olur. KYY tedavi sonu ve tedavi bitiminden 6 ay sonra duyarlı testler ile serumda saptanamaz HCV RNA düzeyinin sağlanmasıdır. Uzun dönem izlem çalışmalarında KYY elde edilen hastaların %99’unda enfeksiyonun kesin olarak eradikasyonundan söz edilebilir (1).

HCV ilişkili kompanse karaciğer hastalığı olan tedavi naif hastalar, tedavi olmak isteyen ve tedaviye herhangi bir kontrendikasyonu olmayan hastalar tedavi edilmelidir. İleri evre fibrozis (Metavir F3-F4) olan ve klinik olarak belirgin ekstrahepatik tutulum olan hastaların tedavisi geciktirilmemelidir. Minimal fibrozis olan veya fibrozis olmayan hastalarda geliştirilmekte olan tedavi seçenekleri beklenebilir (1).

1990 yılında ‘interferon monoterapisi’ ile başlatılan tedavilerden sonra, 1998’de tedaviye ribavirinin eklenmesi ile bu hastaların tedavilerinde daha iyi yanıt alındığı gözlenmiştir. İzleyen yıllarda gerçekleştirilen araştırmalar sonunda ‘Peg-IFN ve ribavirin kombinasyon tedavisi’ kronik hepatit C için standart tedavi olarak uygulanmaya başlanmıştır. Bu tedavi ile yapılan farklı araştırmalarda genotip-1 hastalarda %40-46, genotip-2 ve genotip-3 hastalarda %76-82, genotip 4 hastalarda ise %43-70 oranlarında kalıcı viral yanıtı ulaşılmıştır (113-118).

Hastaların tedaviye yanıtlarının değerlendirilmesinde kullanılan tanımlamalar mevcuttur (1,119).

Hızlı virolojik yanıt (HVY): Tedavinin 4. haftasında HCV-RNA’nın negatifleşmesidir.

Erken virolojik yanıt (EVY): Tedavinin 4. haftasında saptanabilir HCV-RNA düzeyi olup 12. haftada HCV-RNA’nın negatifleşmesidir.

Gecikmiş virolojik yanıt (GVY): HCV-RNA’nın 12. haftada >2 log düşmesi ve 24. haftada negatifleşmesidir.

Tedavi sonu yanıt (TSY): Tedavi sonunda ALT düzeyinin normal olması biyokimyasal yanıt, HCV-RNA’nın negatifleşmesi virolojik yanıt olarak tanımlanır.

Kalıcı virolojik yanıt (KVY): Hem tedavi bitiminde hem de tedaviden sonraki 24 haftalık izlem sonunda HCV-RNA’nın negatif olmasıdır.

Tam yanıtsızlık: Tedavinin 12. haftasında HCV-RNA’nın 2 log IU/ml’den daha az düşüş göstermesidir.

Alevlenme (breakthrough): Tedavi devam ederken HCV-RNA negatifleşen hastada HCV-RNA’nın pozitifleşmesi veya 1 log IU/ml artış olmasıdır.

Relaps (nüks): Tedavi sonunda virolojik yanıt alınıp, tedavi kesildikten sonra HCV RNA’nın yeniden pozitifleşmesidir.

Parsiyel(kısmi) yanıt: HCV-RNA’nın 12. haftada 2 log azalmasına rağmen 24. haftada saptanabilir düzeyde olmasıdır.

Telaprevir tedavisinde kullanılan yeni tanımlama;

Genişletilmiş hızlı virolojik yanıt: Tedavinin hem 4., hem de 12. haftasında HCV RNA'nın negatif saptanmasıdır.

Kronik hepatit C'nin tedavisinde kullanılan standart ikili kombinasyon, pegile interferon- α 2a (180 μ g/haftada bir) veya 2b'nin (1,5 μ g/kg, haftada bir) ribavirin ile kombinasyonudur. HCV genotip-2 ve genotip-3 olgularında ribavirin dozu 800 mg/gün, genotip-1 ve 4'te ise kilo bazlı olarak 1000-1200 mg'dır. Tedavi süresi HCV genotip-2 ve genotip-3 olgularında 24 hafta, genotip 1 ve 4 hastalarda 48 haftadır. Genotip-1 hastalarda HVY alındıysa ve başlangıç HCV RNA düzeyi < 400.000 IU/ml ise tedavi süresi 24 haftaya kısaltılabilir. GUY alınan hastalarda ise tedavinin 72 haftaya uzatılmasının KUY oranlarını arttıracakı belirtilmektedir. Genotip 2 ve 3 hastalarda ileri fibrozis ve tedavi yanıtını olumsuz etkileyecek kofaktörler yoksa HVY alınması ve HCV RNA < 400.000 IU/ml olması koşulu ile tedavi 16 haftaya kısaltılabilir (1).

Günümüzde HCV tedavisinde FDA onayı almış NS3/4A serin proteaz inhibitörü olan iki ajan boceprevir ve telaprevirdir. AASLD 2012 rehberi önerilerine göre tedavi naiv genotip -1 hastalarda 4 hafta PegIFN/RBV ikili öncü tedavi sonrası 24-44 hafta 3x 800 mg dozda boceprevir ile üçlü tedavi önerilmektedir. Bu tedavi KUY oranları %38'den %63-66'ya yükselmektedir. Hasta siroz değilse ve 8. ve 24. hafta HCV RNA değerleri (-) ise 4 hafta ikili öncü tedavi sonrası üçlü 24 hafta tedavi yeterlidir. HCV RNA'nın 8. ve 24. haftada (-) olduğu hastalarda KUY %96'ya ulaşabilmektedir. 12. hafta HCV RNA > 100 IU/ml veya 24. haftada saptanabilir RNA düzeyi varlığında tedavi kesilmelidir (120).

Genotip 1 hastalarda tedavide telaprevir kullanılacaksa 12 hafta 3x750 mg telaprevir ile kombine PegIFN/RBV sonrası 12-36 hafta ikili kombinasyon verilmelidir. Bu hastalarda KUY oranları %69-75 oranında olabilmektedir. Siroz olmayan hastalarda 4. ve 12. hafta HCV RNA düzeyleri saptanamaz düzeyde ise tedavi süresi 24 haftaya kısaltılabilir ve bu hasta grubunda KUY %83'e çıkmaktadır. Eğer RNA düzeyi 4. veya 12. haftada >1000 IU/ml ve/veya 24. haftada saptanabilir düzeyde ise tedavi sonlandırılmalıdır (120).

Sirozlu hastalarda hem boceprevir, hem telaprevir ile kombine üçlü tedavi süresi 48 hafta olmalıdır.

Daha önce PegIFN/RBV ile tedavi sonrası relaps gelişmiş veya tedaviye kısmi yanıtı genotip -1 hastalarda boceprevir veya telaprevir ile kombine PegIFN/RBV tedavisi önerilir. Relaps gelişen hastalarda BOC ile tedavi sonrası KVV %75, TVR ile KVV %83/88 oranında, kısmi yanıtı hastalarda BOC tedavisi ile KVV %52, TVR ile KVV %54-59'dur. Önceki ikili tedaviye primer yanıtsız hastalarda ise telaprevir ile kombine üçlü tedavi, önerilir. KVV oranı %29/33'tür. Relaps gelişmiş veya kısmi yanıtı hastalarda tedavi yanıt rehberli yaklaşımla tedavi süresi kısa tutulabilirken, primer yanıtsız hastalarda 48 hafta tedavi önerilmektedir. Tedaviyi kesme endikasyonları tedavi naiv hastalarda geçerli kurallar ile aynıdır (120).

Genotip 1 dışı hastalarda PI'lü kombinasyon ile tedavi endikasyonu bulunmamaktadır.

2.8.1. Tedaviye bağlı yan etkiler

Peg IFN- α injeksiyonu sonrası sıklıkla grip benzeri semptomlar gelişebilir. Parasetamol ile bu semptomlar kontrol edilebilir ve 4-6 hafta sonra azalır. Hastalar ciddi halsizlik, sinirlilik, depresyon, uyku bozuklukları, cilt döküntüsü ve dispne açısından takip edilmelidir.

Peg IFN- α ve ribavirin hematolojik yan etki olarak anemi, nötropeni, trombositopeni ve lenfopeni yapabilir. Bu parametreler tedavinin ilk 1, 2, ve 4. haftasında daha sonra 4-8 hafta aralarla kontrol edilmelidir. Hem BOC, hem de TVR anemi riskini arttırmaktadır.

PegIFN - α dozu ciddi depresyon, nötrofil sayısı $< 750/\text{mm}^3$ ve platelet $< 50.000/\text{mm}^3$ olduğunda azaltılmalıdır. PegIFN- $\alpha 2a$ 'da 180 μg 'dan 135 μg 'a ve sonra 90 μg 'a, pegIFN- $\alpha 2b$ 'de 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'dan 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'a sonra 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'a azaltılabilir. Major depresyon varlığında, nötrofil $< 500/\text{mm}^3$ ve platelet $< 25.000/\text{mm}^3$ ise IFN- α kesilmelidir. Nötrofil ve platelet sayısı yükselirse IFN- α düşük dozdan tekrar başlanır (1).

ALT düzeyinde 10 kat artış izlenirse veya ciddi bakterial infeksiyon gelişirse nötrofil sayısına bakılmaksızın tedavi geciktirilmeden kesilmelidir.

Hb $< 10 \text{ mg/dl}$ olduğunda ribavirin dozu 200 mg azaltılır. PI'lü kombine tedavide anemi riski fazladır, başlangıç Hb değeri düşük olanda ve Hb'de hızlı düşüş varlığında erken doz ayarlama yapılması önemlidir. Hb $< 8.5 \text{ mg/dl}$ ise ribavirin kesilmelidir. Alternatif olarak pegIFN- α ve ribavirini yüksek dozda verebilmek için büyüme faktörleri verilebilir.

Dermatolojik yan etkiler hem ikili, hem de PI içeren rejimlerde sık görülür. TVR kullanan hastaların yaklaşık yarısında cilt döküntüsü görülür. Bunların %90'ından fazlasında döküntü grade1-2 olup, ilerlemez. TVR bağlı gelişen döküntülerin %6'sı tedaviyi bırakmayı gerektirir ve semptomlar çoğunlukla ilacı bıraktıktan sonra geriler. Grade-3 döküntü varlığında TVR hemen kesilir, 7 gün içinde iyileşme gözlenmezse ribavirin IFN ile birlikte veya tek başına kesilir. Ciddi kutanöz reaksiyon mevcutsa ilaçların hepsi hemen kesilir. TVR ve BOC dozlarında azaltma yapılamaz, yan etki nedeniyle kesilirse bir daha aynı tedavi şemasında tekrar başlanmaz (1).

2.8.2. Tedavi yanıtını etkileyen faktörler

KVY çok sayıda faktör tarafından etkilenmektedir. Bu faktörler konağa ve konakçıya ait faktörler olarak iki grup halinde incelenebilir (121-123).

KVY olumsuz etkileyen faktörler Tablo 2.2'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. KVY olumsuz etkileyen faktörler.

Konağa ait faktörler	Virüse ait faktörler
<i>IL-28B polimorfizmi</i>	Genotip-1
İleri derecede karaciğer fibrozu	Tedavi sürecindeki viral kinetik
>40 yaş	
Erkek cinsiyet	
Beden kitle indeksinin artması	
İnsülin direnci	
Hepatosteatoz	
Afrika kökenli Amerikalı olma (IL-28B ile ilişkili olabilir)	

HCV enfeksiyonunun seyri sırasında konak faktörlerinin incelenmesine yönelik olarak yapılan 'Genome-wide association study' (GWAS) çalışmalarında, hepatit C tedavisine cevapla ilgili tek nükleotide ait polimorfizmler (single nucleotide polymorphisms –SNPs) bulunmuştur (125).

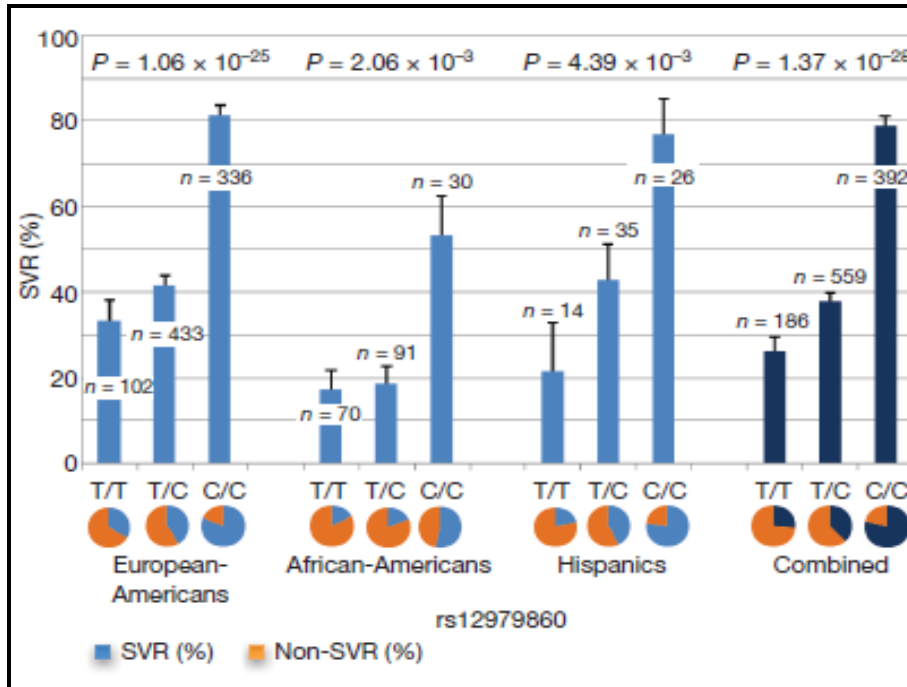
IL-28B'nin tedaviye yanıt ile en fazla ilişki gösteren TNP varyantları rs12979860 ve rs8099917'dir. Bu TNP'ler 19. kromozom üzerinde IL-28B'yi kodlayan genin 3 kilobaz (kb) ve 8 kb yukarısında (upstream) saptanmıştır (5,34). Kalıcı viral yanıtla ilişkili bulunan bu SNP'ler dışında 6 başka SNP daha bulunmaktadır; ancak bunların etkinlikleri rs12979860 etkinliği olduğunda ortadan kalkmaktadır. Sonuçta bu

TNP'lerin kalıcı viral yanıtla olan ilişkisi, IL-28B ile ilişkili genomik bölgelerin IFN cevabı ile yakın ilişkili olduğuna işaret etmektedir (125,126).

IL-28B polimorfizminin viral yük ile ilişkisi: IL-28B polimorfizminin HCV-RNA düzeyi ve viral yük üzerine etkileri, çeşitli çalışmalarla araştırılmıştır. Bu çalışmalar farklı sonuçlar ortaya koymuştur. Bazı çalışmalarda tedaviye daha iyi yanıt veren rs12979860 C/C varyantı taşıyan hastalarda HCV-RNA düzeyinin daha yüksek olduğu saptanırken (4,126) bazılarında fark saptanamamıştır (122). IL28B polimorfizmi ve viral yükü KVV'ı etkileyen bağımsız faktörler olarak değerlendirmek gerekmektedir.

İrklar ve IL-28B polimorfizmi arasındaki ilişki: Hepatit C infeksiyonunun tedaviye yanıtı ırklara özgü farklılıklar göstermektedir. Farklı etnik grupların tedaviye yanıtını inceleyen çalışmalarda rs12979860 C/C alleli taşıma sıklığı yüksek popülasyonlarda tedavi başarı oranının daha yüksek olduğu görülmektedir. Yapılan bir çalışmada Doğu Asyalılarda C/C allel görülme sıklığı %95, Avrupalılarda %75, Afrikalılarda %42 bulunmuştur. Bu bulgular Asyalılarda tedaviye yanıtın yüksek olmasını açıklayabilir (123,125,127).

Farklı etnik gruplarda rs12979860 C/C ve C/T allel sıklığı Şekil 2.7'de gösterilmiştir (4).



Şekil 2.7. Farklı etnik gruplarda rs12979860 C/T allel sıklığı.

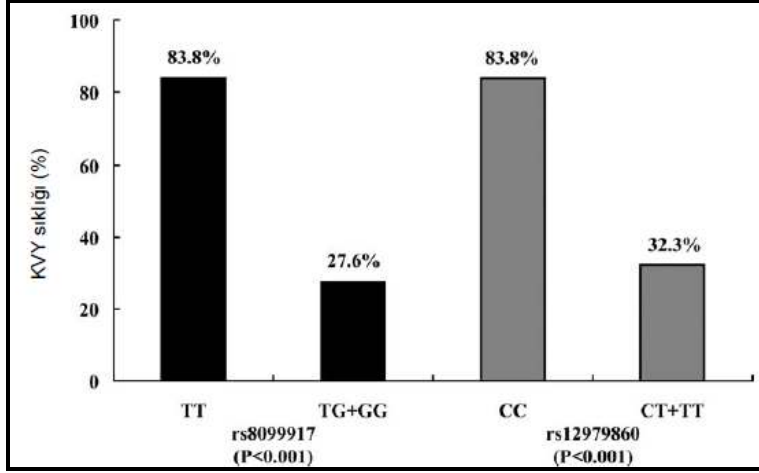
IL-28B polimorfizmi ve spontan klirens: IL-28B polimorfizmi akut ve kronik viral hepatitin spontan klirensi üzerinde de etkili bulunmuştur. Spontan klirens tespit edilenlerde C/C allel sıklığı daha yüksek orandadır. C/C allellilerde spontan klirens %52 iken, C/T allellilerde %26, T/T allellilerde ise %22 olmuştur. Bu anlamda HCV enfeksiyonunun doğal klirensi ile ilişkili bulunan en önemli ve en güçlü genetik etkinin IL-28B polimorfizmi olduğu ileri sürülmektedir (125,128).

IL-28B polimorfizmi ve genotip-1 olan hastalarda PegIFN/RBV tedavisine yanıt: PegIFN/RBV tedavisi alan hastalarda tedaviye yanıt oranlarına bakıldığında iki olumlu allel taşıyanlarda (C/C genotip), diğer iki alleli taşıyanlara göre (C/T ve T/T genotip) daha yüksek bulunmuştur. Yapılan farklı çalışmalarda C/C alleli taşıyan genotip-1 hastalarda kalıcı viral yanıt oranı %70'lere kadar ulaşmaktadır (125,129,130).

IL-28B polimorfizmi ve genotip-2 ve genotip-3 olan hastalarda PegIFN/RBV tedavisine yanıt: IL-28B polimorfizmi farklı genotipler üzerinde farklı etki gösterir. Genotip-1 hastaların aksine genotip-2 ve genotip-3 olan hastalarda tedavi sonrası kalıcı viral yanıt üzerine IL-28B polimorfizminin etkinliği sınırlıdır. Tedavi sonrası takiplerde sadece hızlı virolojik yanıt sağlanamayan hasta grubunda kalıcı viral yanıt ile ilişkili bulunmuştur (131,132).

IL-28B polimorfizmi ve proteaz inhibitörü / PegIFN / RBV üçlü tedavisine yanıt: Kronik hepatit C hastalarında yüksek viral yük, siyah ırk, ilerlemiş fibrozis varlığı gibi tedaviye yanıtın zor olduğu durumlarda pegIFN/RBV tedavisine telaprevir veya boceprevir eklenmesi ile kalıcı viral yanıt oranlarında artış görülmektedir. Yapılan çalışmalarda Telaprevir + pegIFN/RBV alan hastalarda kalıcı viral yanıt, IL-28B rs12979860 C/C genotipi taşıyan hastalarda %83, T/T genotipi taşıyanlarda %32 olarak saptanmıştır (133-135).

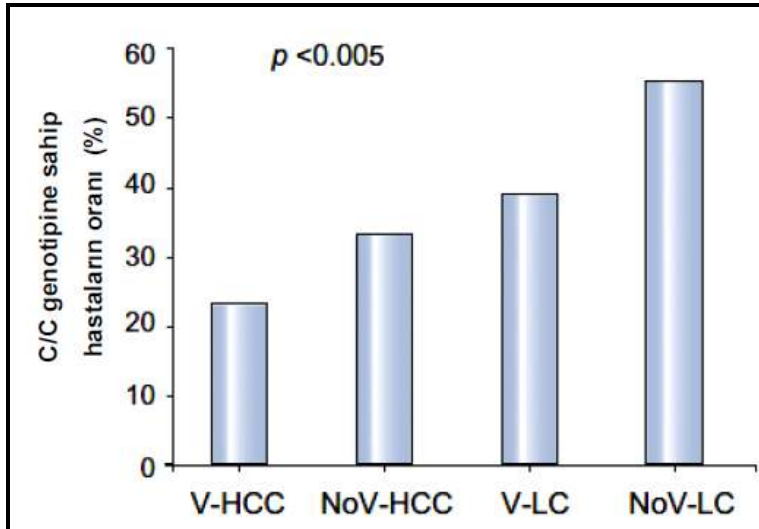
Boceprevir çalışmalarında C/C allellilerde KVV %82, T/T allellilerde %55 bulunmuştur (38). Proteaz inhibitörü / peginterferon / ribavirin üçlü tedavisi alan rs12979860, rs8099917 C/C – T/T taşıyan hastalar ve kalıcı viral yanıt oranları Şekil 2.8'de gösterilmiştir. Proteaz inhibitörleri, PegIFN ve RBV ile kombine edildiğinde IL-28B C/C ve T/T genotipine sahip hastalarda belirgin iyileşme ve kalıcı viral yanıtta anlamlı yükselme görülmektedir (134,135).



Şekil 2.8. Rs12979860, rs8099917 C/C-T/T taşıyan hastalar ve kalıcı viral yanıt oranları (135).

IL-28B rs12979860 polimorfizmi ile siroz ve HCC ilişkisi: HCV'ye bağlı siroz hastalarında, hafif şiddette hepatit C infeksiyonu veya HBV ilişkili siroz olan hastalarla karşılaştırıldığında IL-28B rs12979860 T/T genotipi daha sık görülmektedir. Yine benzer şekilde HCC olan hastalarda da T/T genotipi daha sıktır (136). Şekil 2.9'da viral ve non-viral nedenlere bağlı HCC ve siroz olgularında C/C genotipi taşıma oranları görülmektedir.

Özellikle HCV'ye bağlı siroz olgularında T/T genotipine sahip olanlarda HCC gelişme riskinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (136).



Şekil 2.9. Viral ve non-viral nedenlere bağlı HCC ve siroz olgularında C/C genotipi taşıma oranları (V-HCC: viral nedenlere bağlı HCC, NoV-HCC: non-viral nedenlere bağlı HCC, V-LC: viral nedenlere bağlı karaciğer sirozu, NoV-LC: non-viral nedenlere bağlı karaciğer sirozu).

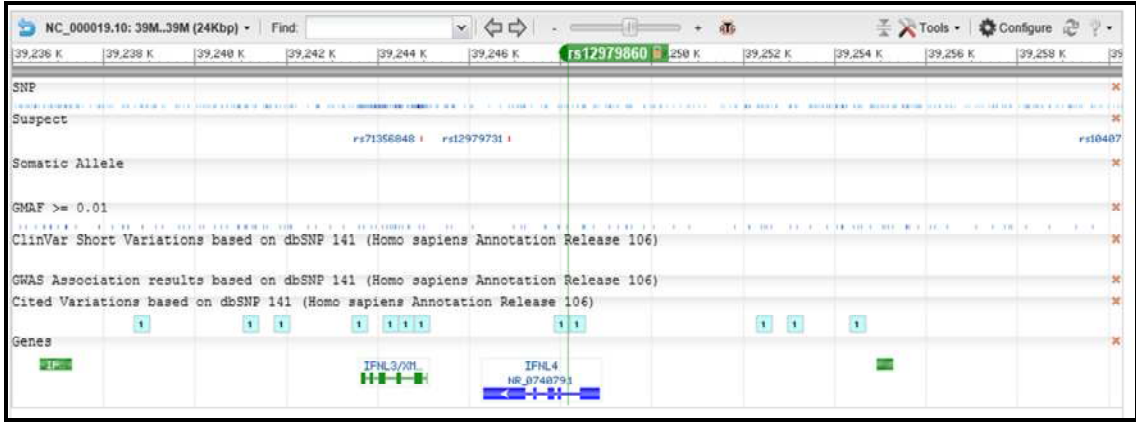
3. MATERYAL ve METOD

3.1. Hastaların Seçimi ve Verilerin Toplanması

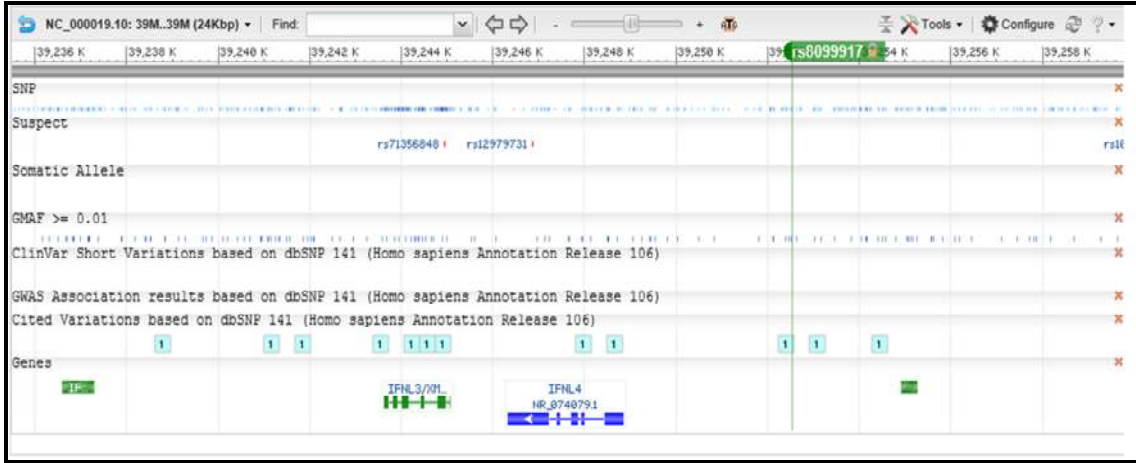
Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'nde takipli kronik hepatit C hastaları retrospektif olarak incelenerek yapıldı. Kronik hepatit C hastaları içinden 2006 ile 2013 yılları arasında pegIFN+RBV tedavisi almış ve tedavi bitiminden sonra en az 6 ay süreyle takip edilmiş genotip-1 HCV ile infekte 18-65 yaş arası 40 erişkin hasta seçildi. Bu hastalardan HBV ve HIV ile koinfekte olanlar çalışmaya alınmadı. Genotip analizi için ayrıca HCV ile infekte olmayan 26 kontrol rastgele seçildi. Hastaların demografik özellikleri, tedavi öncesi ALT, GGT, PLT ve viral yük değerleri, tedavi süresince ve sonrasında tedavi yanıtı ile ilişkili parametreler olan EVY, KVV, relaps, tedaviye yanıtı olma verilerine polikliniğimizde kronik hepatit C hastaları için özel olarak tutulan hasta takip kartlarından ve Medi-hasta bilgisayar ağından ulaşıldı. Hastaların IL28B gen polimorfizmlerinin belirlenebilmesi için hastalar polikliniğimize rutin kontrolleri için geldiklerinde bilgilendirilmiş gönüllü olur formlarına onamları (Ek-1) alındıktan sonra EDTA'lı tüplere kan örnekleri alınarak tıbbi genetik laboratuvarında saklanmaları sağlandı. Tüm hastaların kan örnekleri toplandıktan sonra genetik analizleri yapıldı. Hastaların tedavi öncesi ve tedavi sırasında izlenen parametreler, genotip analiz sonuçları ve KVV ile ilişkileri retrospektif olarak değerlendirildi.

3.2. Genetik Analiz

Hastalar ve kontrollerden periferik kan örnekleri EDTA lı tüplere alındı ve silika kolon yöntemi ile DNA eldesi gerçekleştirildi (QIAamp® DNA Blood Kit, Qiagen). DNA miktarı-kalitesi spektrofotometrik olarak incelendi ve DNA örnekleri -20°C'de saklandı. *IL28B* (*IFNL4*, ref seq: NM_001276254) gen bölgesinde birinci intron içinde yer alan rs12979860 (NC_000019.10:g.39248147C>T; NM_001276254.2:c.151-152G>A) ve *IL28B* geninin 5' yukarı bölgesinde yer alan rs8099917 (NC_000019.10:g.39252525T>G) adlı varyant bölgelerindeki nükleotid değişimleri kantitatif PCR yöntemiyle incelendi (RotorGene®, Qiagen).

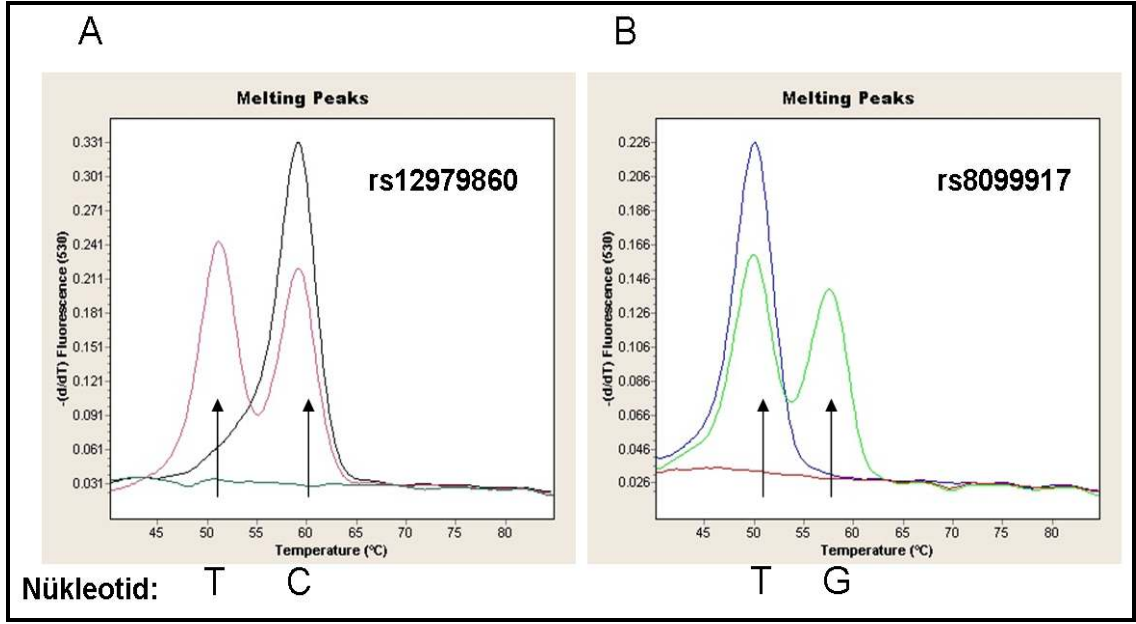


Şekil 3.1. IL28B (IFNL4) geni birinci intronu içinde bulunan rs12979860 no'lu nükleotid varyantı Kromozom 19 haritası üzerindeki yeri.



Şekil 3.2. IL28B (IFNL4) geni 5' bölgesinde bulunan rs8099917 no'lu nükleotid varyantı Kromozom 19 haritası üzerindeki yeri.

DNA dizisindeki normal ve varyant nükleotidlere özgü, farklı ayrışma sıcaklıkları olan ve kırmızı floresan boya ile işaretli probler kullanılarak hastaların *IL28B* geni haplotipleri belirlendi. (LightSNiP® *rs12979860 IL28B*, LightSNiP® *rs8099917 IL28B*, TIB MOLBIOL) (Şekil 3.3.A ve 3.3B). *IL28B* rs12979860 varyantındaki T allel probu 54° C'de, C allel probu ise 61° C'de; *IL28B* rs8099917 varyantındaki T allel probu 51° C'de, G allel probu ise 58° C'de ayrışmakta ve DNA örneklerinin genotiplenmesi gerçekleştirilmektedir.



Şekil 3.3. A) IL28B rs12979860 varyantındaki allellerin erime sıcaklık-floresans miktar değişimi eğrisi. B) IL28B rs8099917 varyantındaki allellerin erime sıcaklık-floresans miktar değişimi eğrisi.

3.3. İstatistiksel Analiz

Veriler bilgisayar ortamına girildikten sonra SPSS 15.0 istatistik paket programı ile değerlendirilmiştir. Parametrik değerlerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U test, non-parametrik değerlerin karşılaştırılmasında ise Ki kare test ve gerektiğinde Fisher'in exact testi uygulandı. Tedavi öncesi ve tedavi sırası izlenen parametrelerin KVVY ilişkisi tek değişkenli ve çok değişkenli logistik regresyon analizi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

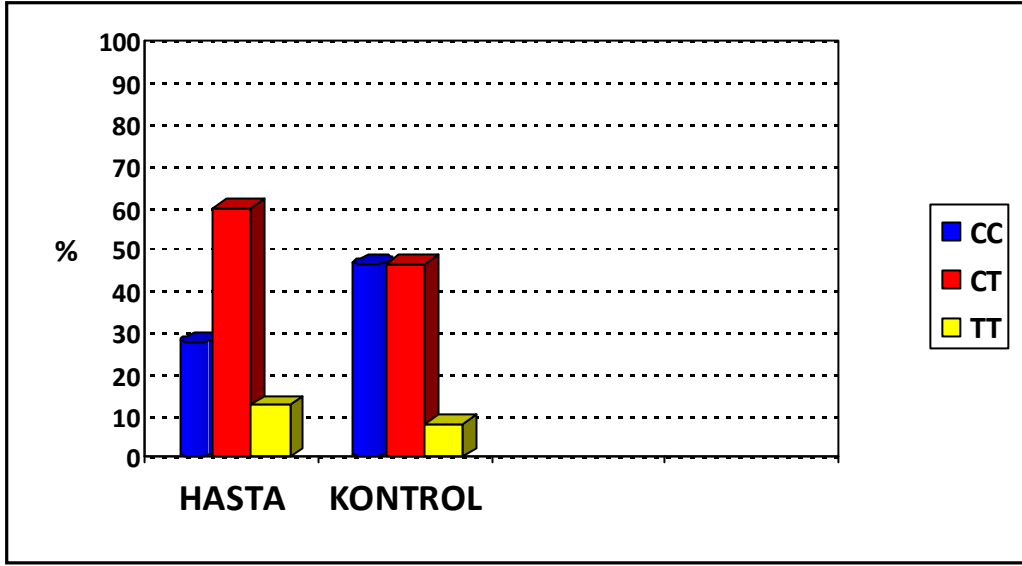
4. BULGULAR

Çalışmaya genotip-1 hepatit C virüsü ile infekte 40 hasta ve hepatit C virüsü ile infekte olmayan 26 kontrol dahil edildi. Hasta ve kontrol grubunun demografik ve biyokimyasal özellikleri Tablo 4.1’de sunuldu. Hasta grubunun yaş ortalaması 43.97 ± 12.66 olup, hastaların 21’i (%52.5) erkek, 19’u (%47.5) kadındı. Kontrol grubunun yaş ortalaması 46 ± 15.9 olup, kadın ve erkek sayısı 13’tü (%50). Hasta ve kontrol gruplarında yaş ortalamaları ve cinsiyet açısından anlamlı fark saptanmadı.

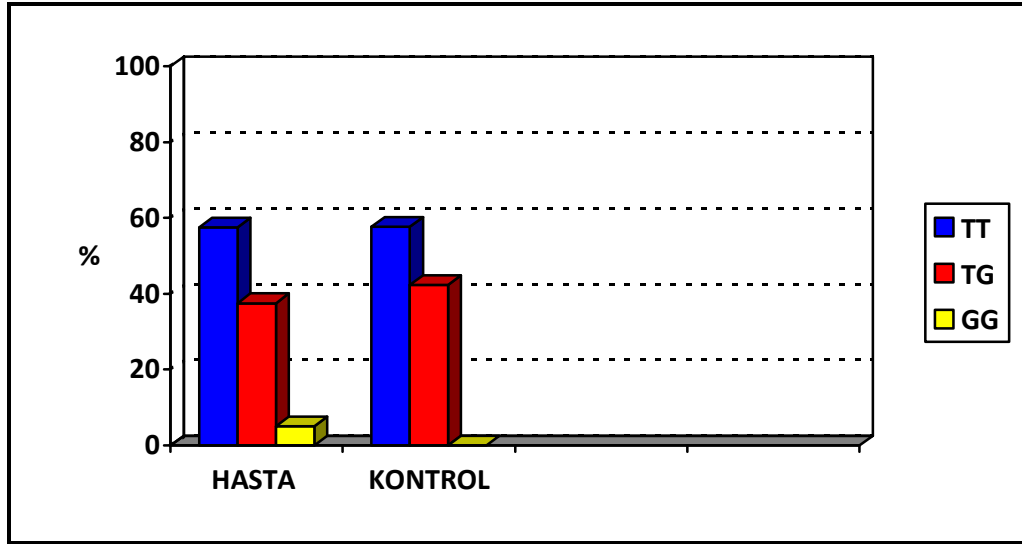
Tablo 4.1. Hasta ve kontrollerin demografik ve biyokimyasal özellikleri.

Değişken	Hasta (n=40)	Kontrol (n=26)
Yaş (ort $\pm$ SS)	43.97 ± 12.66	46.00 ± 15.97
Cinsiyet (n)	21 (E) 19 (K)	13 (E) 13 (K)
Viral Yük (10^6 IU/ml)	3.72 ± 7.97	
ALT (ort)	50.24 ± 24.96	
GGT (ort)	39.79 ± 34.45	
PLT ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	22.36 ± 8.86	
Steatoz n (%)	12 (%30)	

Hasta ve kontrol grubunun IL-28B genotip dağılımları Grafik 4.1 ve 4.2’de gösterildi. Hasta grubunda en sık görülen rs12979860 genotipi %60 oranı ile CT, rs8099917 genotipi %57.5 oranı ile TT’dir. Hasta ve kontrol grupları arasında rs12979860 ve rs8099917 genotip dağılımları açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.291$ ve $p=0.498$).



Grafik 4.1. rs12979860 genotiplerinin hasta ve kontrol grubunda dağılımı (%).



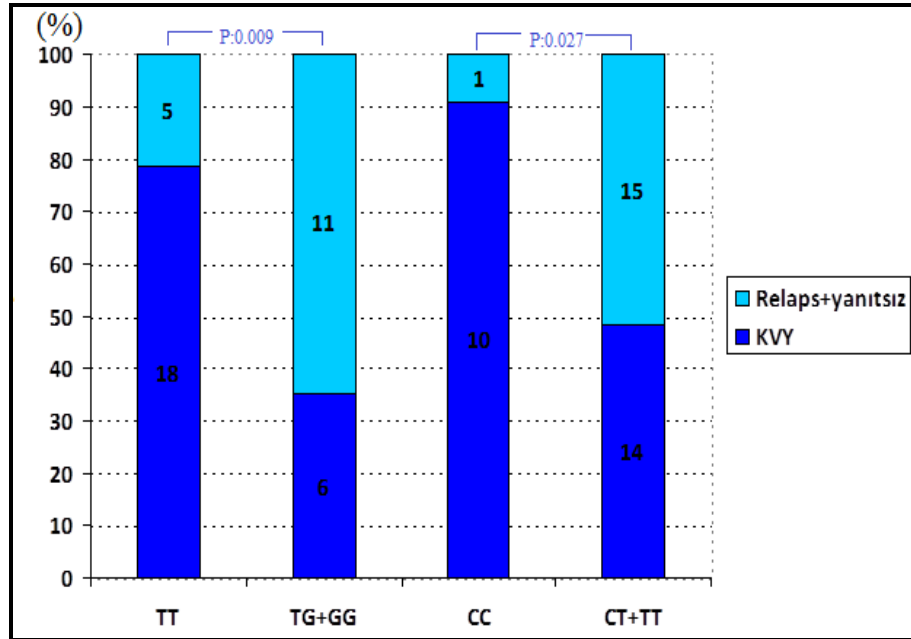
Grafik 4.2. rs8099917 genotiplerinin hasta ve kontrol grubunda dağılımı (%).

HCV ile infekte 40 hastanın demografik, biyokimyasal ve tedavi sırasında gözlenen özelliklerinin tedavi yanıtı ile ilişkileri Tablo 4.2’de sunuldu. Hastaların %60’ında KVV alındı. Çalışmamızda KVV alınan ve alınmayan gruplar arasında yaş, cinsiyet, ALT, GGT, trombosit sayısı, steatoz ve viral yük açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). EVY açısından iki grup arasındaki durum değerlendirildiğinde ise anlamlı farklılık saptandı ($p=0.002$). KVV alınan grupta tüm hastalarda aynı zamanda EVY yanıt mevcut iken, KVV alınmayan relaps olan veya yanıtsız grupta hastaların 7’sinde (%58.3) EVY yanıt alındı.

Tablo 4.2. Hastaların demografik, biyokimyasal ve tedavi sırasında izlenen özelliklerin tedavi yanıtı ile ilişkileri.

Değişken	KVY (n=24)	Relaps+yanıtsız (n=16)	P değeri
Yaş (ort±SS)	41.33±13.55	47.94±10.38	0.084
Cinsiyet (n)	13 (E) 11 (K)	8 (E) 8 (K)	0.796
Viral yük (10^6 IU/ml)	4.63±9.50	2.14±4.06	0.217
ALT (ort)	53.95±22.86	43.75±28.12	0.134
GGT (ort)	28.76±16.58	59.08±48.11	0.103
PLT ($\times 10^4$ /mm ³)	23.52±8.41	20.32±9.61	0.359
Steatoz n (%)	8 (%66.7)	4 (%33.3)	0.860
EVY n (%)	23 (100)	7 (58.3)	0.002

Hastaların IL-28B genotiplerine göre alınan KVY oranları grafik 3'te verildi. rs12979860 polimorfizmine göre CC genotipi taşıyanlarda KVY oranı %90.9 iken, %9.1'inde KVY alınmadı. CC dışı genotipte KVY oranı %48.3 iken, %51.7'sinde KVY alınmadı. CC genotip taşıyanlarda KVY alınma oranı anlamlı olarak yüksek bulundu. (p=0.027) rs 8099917 polimorfizmine göre TT genotipi olanlarda KVY oranı %78.3 olup, TT dışı genotipi olanların %64.7'sinde KVY alınmadı. TT genotipi taşıyan hastalarda KVY alınma oranı anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.009).



Grafik 4.3. Hastaların IL-28B genotiplerine göre alınan KVY oranları.

Hastaların IL-28B genotiplerinin tedavi yanıtına göre dağılımları ve tedavi yanıtı ile ilişkileri Tablo 4.2’de sunuldu. KVV alınan hasta grubunda TT genotip sıklığı KVV alınmayan gruba göre anlamlı olarak yüksekti. (KVV alınan grupta %75, KVV alınmayan grupta %31.2) bu durumun benzeri olarak KVV alınan grupta CC genotip sıklığı KVV alınmayan gruptan anlamlı olarak yüksekti (KVV alınan grupta %41.7, KVV alınmayan grupta %6.2). CC genotip taşıyan hastalar ile karşılaştırıldığında CT genotip taşıyanlarda KVV alınamama riski artmış olarak bulundu.. (odds ratio [OR] =8.5 %95 güven aralığı [GA]= 0.93-76.89, P=0.034), TT genotip taşıyanlarda da CC genotip taşıyan hastalara göre KVV alınamama riski artmış olarak bulundu (odds ratio [OR] =40 %95 güven aralığı [GA]=1.98-80.71, P=0.013). CT ve TT genotip birlikte değerlendirildiğinde T varyant genotipler (CT+TT) içinde CC genotip taşıyan hastalara göre artmış bir KVV alınamama riski mevcuttu (odds ratio [OR] =10.7 %95 güven aralığı [GA]= 1.21-94.8, P=0.014). C ve T alel taşıyan hastalar karşılaştırıldığı zaman da T alel taşıyanlarda C alel taşıyanlara göre artmış bir KVV alınamama riski söz konusudur. (odds ratio [OR] =3.21 %95 güven aralığı [GA]= 1.26- 8.17, P=0.012). Bu bulgular T ve G alel taşıyıcıları içinde söz konusu olup, G alel taşıyanlarda T alel taşıyanlara göre KVV alınamama riski artmış olarak bulunmuştur. (odds ratio [OR] =3.51 %95 güven aralığı [GA]= 1.19-10.29, P=0.018).

Tablo 4.3. IL-28B genotiplerinin tedavi yanıtına göre dağılımları ve tedavi yanıtı ile ilişkileri.

Değişken	KVV (n=24) n (%)	Relaps+ Yanıtsız (n=16) n (%)	KVV ile Relaps+Yanıtsız OR (%95 GA)	P değeri
TT	18 (75)	5 (31.2)	1.0 Referans	-
TG	5 (20.8)	10 (62.5)	7.2 (1.67-31.03)	0.006*
GG	1 (4.2)	1 (6.2)	3.6 (1.19-68.30)	0.430
TG+GG	6 (25)	11 (68.8)	6.6 (1.62-26.87)	0.006*
T alel	41 (85.41)	20 (62.5)	1.0 Referans	-
G alel	7 (14.58)	12 (37.5)	3.51 (1.19-10.29)	0.018*
CC	10 (41.7)	1 (6.2)	1.0 Referans	-
CT	13 (54.2)	11 (68.8)	8.5 (0.93-76.89)	0.034*
TT	1 (4.2)	4 (25)	40 (1.98-80.71)	0.013*
CT+TT	14 (58.3)	15 (93.8)	10.7 (1.21-94.8)	0.014*
C alel	33 (68.7)	13 (40.6)	1.0 Referans	-
T alel	15 (31.2)	19 (59.4)	3.21 (1.26- 8.17)	0.012*

IL-28B tek gen polimorfizmlerinin kombine genotip frekansları Tablo 4.4’de gösterildi. Çalışmamızda rs12979860 CC genotipi taşıyan hastaların hepsinin rs8099917 genotipi TT olarak saptandı ve bu hastaların %90.9’unda KVV mevcuttu. rs12979860 CT genotipi taşıyan hastaların rs8099917 genotipi %50’sinde TT, %50’sinde TG olarak saptandı. CT-TT genotiplerini taşıyan 12 hastanın %66.7’sinde KVV alınmışken, CT-TG genotip taşıyan 12 hastanın %41.7’sinde KVV mevcuttu, ancak bu fark anlamlı olarak saptanmadı ($p=0.207$). rs12979860 TT genotipi taşıyan hastaların rs 8099917 genotipi %60’ında TG, %40’ında GG olarak saptandı. TT-TG genotiplerini taşıyan hiçbir hastada KVV alınmazken, TT-GG taşıyan 2 hastanın 1’inde (%50) KVV mevcuttu, ancak aradaki fark anlamlı olarak saptanmadı ($p=0.40$).

Tablo 4.4. IL-28B tek gen polimorfizmlerinin kombine genotip frekansları.

rs12979860	rs8099917			TOPLAM
	TT n (%)	TG n (%)	GG n (%)	
CC n (%)	11 (27.5)	0 (0)	0 (0)	11 (27.5)
CT n (%)	12 (30)	12 (30)	0 (0)	24 (60)
TT n (%)	0 (0)	3 (7.5)	2 (5)	5 (12.5)
TOPLAM	23 (57.5)	15 (37.5)	2 (5)	40 (100)

rs12979860 ve rs8099917 genotiplerinin hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası özellikleri ile ilişkisi Tablo 4.5’de sunuldu. rs12979860 genotipleri arasında yaş, cinsiyet, ALT, GGT, PLT, steatoz varlığı ve EVY açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). rs8099917 genotipleri arasında yaş, cinsiyet, ALT, GGT, PLT, steatoz varlığı açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$) ancak rs8099917 TT genotipte EVY oranı anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p=0.009$). Hem CC, hem de TT genotipli hastalarda KVV oranı anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p=0.027$ ve $p=0.009$).

Tablo 4.5. rs12979860 ve rs8099917 genotiplerinin hastaların tedavi öncesi, tedavi sonrası ve tedavi sonrası özellikleri ile ilişkisi.

Değişkenler	rs12979860			rs8099917		
	CC	CT+TT	p	TT	TG+GG	p
Yaş (Yıl±SS)	46.1±15.8	44.0±13.0	0.97	43.7±14.4	49.2±25.7	0.49
ALT (Ort)	53.6±28.7	48.7±23.7	0.77	51.0±25.0	49.2±25.7	0.90
GGT (Ort)	42.6±42.1	38.5±31.5	0.65	33.3±31.8	48.5±37	0.50
PLT (Ort)	20.7±7.2	23.0±9.5	0.26	21.2±6.5	23.9±11.5	0.43
Viral yük	5.4±4.6	2.9±9.0	0.04	5.72±10.1	1.01±1.07	0.03
Erkek cinsiyet (%)	81.8	41.4	0.02	65.2	35.3	0.06
Steatoz (%)	50	70.8	0.24	68.4	60.0	0.61
EVY (%)	100	79.2	0.15	100	66.7	0.009
KVY (%)	90.9	48.3	0.027	78.3	35.3	0.009

KVY alınmasına etki eden faktörlerin rölatif katkıları logistik regresyon ile değerlendirildi ve Tablo 4.6. ve Tablo 4.7’de gösterildi. rs8099917 TT genotipin etkisi yaş, cinsiyet, ALT, plt ve viral yük düzeltilerek değerlendirildiğinde KVY alınmasına katkı sağlayan en önemli faktör olarak saptandı. rs12979860 CC genotipte aynı şekilde yaş, cinsiyet, ALT, plt ve viral yük düzeltilerek değerlendirildiğinde bu faktörler içerisinde yaş KVY alınmasına katkı sağlayan en önemli faktör olarak saptandı. rs12979860 CC genotipin katkısı anlamlılık düzeyine ulaşmasa da, p değerinin anlamlılık düzeyi sınırında olması ($p=0.051$) ve odds oranının 15.86 olması nedeniyle daha fazla sayıda hasta üzerinde değerlendirme yapılırsa bu ilişki anlamlı düzeye erişebilir. Bu sonuç tedavi öncesi KVY tahmininde rs8099917 TT genotipin en önemli prediktif faktör olduğunu göstermektedir. (OO=61.66 %95 GA=2.27-1671.3, $P=0.014$) 40 yaş üstü olmak KVY alınmasını olumsuz etkilerken, tedavi öncesi ALT yüksekliği KVY tahmininde prediktif bir faktör olarak değerlendirilebilir (OO=27.1 %95 GA=1.40-522.7 $P=0.029$).

Tablo 4.6. Çoklu değişkenli logistik regresyon ile KVV ile ilişkili faktörler.

Faktörler	KVV alınan ile KVV alınmayan hastalar		
	Odds oranı	%95 GA	p değeri
Yaş	0.62	0.04 – 1.07	0.056
Cinsiyet	2.50	0.03 – 26.31	0.444
ALT	27.10	1.40 – 522.7	0.029
PLT	4.49	0.15 – 127.2	0.378
Viral yük	1.88	0.13 – 25.59	0.634
rs8099917 (TT)	61.66	2.27 – 1671.3	0.014

Tablo 4.7. Çoklu değişkenli logistik regresyon ile KVV ile ilişkili faktörler.

Faktörler	KVV alınan ile KVV alınmayan hastalar		
	Odds oranı	%95 GA	p değeri
Yaş	0.09	0.01 – 0.93	0.043
Cinsiyet	2.80	0.34 – 22.67	0.333
ALT	7.54	0.94 – 60.02	0.056
PLT	2.34	0.17 – 30.67	0.517
Viral yük	2.35	0.26 – 20.84	0.440
r12979860 (CC)	15.86	0.98 – 256.0	0.051

5. TARTIŞMA

Kronik hepatit C'nin standart tedavisi olan pegIFN+RBV tedavisi ile genotip 1 ve 4 hastalarda %50'nin altında, genotip 2 ve 3 hastalarda %70-90 arasında değişen oranlarda KVV alınmaktadır. Tedavi süresinin belirlenmesi ve tedavi sonuçlarının tahmininde karaciğer fibrozisinin derecesi, HCV genotip, tedavi sırası viral kinetikler gibi konağa ve virusa ait parametreler kullanılmaktaydı. Yakın zaman önce HCV enfeksiyonunun spontan ve tedavi ilişkili klerensi ile güçlü ilişkisi olan IFN- λ 3'ü kodlayan IL28B gen bölgesi yakınında tek nükleotid polimorfizmler dört adet GWAS çalışması ile tanımlandı. GWAS çalışmalarının yayımlanmasından sonra IL28B tek gen polimorfizmlerinin önemini ve tedavi yanıtı tahminindeki yerini araştıran birçok çalışma yapıldı, bu polimorfizmleri saptamaya yönelik ticari kitler geliştirildi (1). Biz de bu çalışma ile Türk toplumunda IL28B tek gen polimorfizmlerinin dağılımı ve kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalarda tedavi yanıtı ile ilişkisini saptamayı hedefledik.

Çalışmamızda hasta grubunda en sık görülen rs12979860 genotipini %60 oranı ile CT oluşturmaktaydı. Genotip dağılım oranlarımız ve en sık saptanan genotip tipleri Marabita ve ark. (137) Cavalcante ve ark. (138) Ferreira ve ark. (139) bulguları ile uyumlu iken Ge ve ark. (4), Thompson ve ark. (122) bulguları ile farklılık göstermekteydi. Genotip frekanslarında izlenen bu farklılığın nedeni çalışmalara alınan hasta popülasyonunun farklı etnik kökenden olması nedeniyle genetik özelliklerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Türk toplumunda Şimşek ve ark. (140) ile Kandemir ve ark. (141) yaptığı çalışmalarda da en sık saptanan rs12979860 genotipi CT'dir. Türk popülasyonda daha çok sayıda hasta içeren çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olmasına rağmen baskın genotipin CT olduğunu söyleyebiliriz. Çalışmamızda bakılan diğer genotip rs8099917'de ise en sık %57.5 oranı ile TT genotip saptandı. Bu sonuç Japon, İsveç, Avustralyalı ve Brezilyalı popülasyonla diğer bir deyişle beyaz ırkta yapılan çalışmaların sonuçları ile benzerdi (137,142,143). Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında rs12979860 ve rs8099917 genotip dağılımları açısından anlamlı farklılık saptanmadı.

Çalışmamızda rs12979860 polimorfizmine göre CC genotipi taşıyanlarda KVV oranı %90.9 iken, CC dışı genotipte KVV oranı %48 olarak saptanmıştır. CC genotipi taşıyanlarda KVV alınma oranı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.027$). Ge ve

ark (125) yaptığı çalışmada 871 beyaz ırk, 191 Afrikan-Amerikan ve 75 Hispanik hastadan Avrupalı-Amerikan toplulukta KVV oranı CC genotipte %82, CC dışı genotipte %38 olarak saptanmış. CC genotipte Hispaniklerde KVV iki kat, Afrikan-Amerikanlarda KVV üç kat daha fazla alındığı saptanmış. Daha sonra Thompson ve ark. (122) bu etnik grupları daha ayrıntılı değerlendirdiği araştırmasında Afrikan-Amerikanlarda CC genotipte bile KVV oranının diğer ırklara göre daha düşük olması başka henüz bilinmeyen veya saptanamayan gen varyantlarının etkisinin olabileceği şeklinde yorumlanmış. Tersine bir değerlendirme yapılacak olursa CC genotip frekansı en yüksek topluluk Asya kökenliler olup, aynı zamanda KVV oranı en yüksek olan ırktır, beyaz ırk ve Hispanikler orta frekansta, Afrikan- Amerikanlar düşük frekansta CC genotip taşırlar.

Çalışmamızda rs8099917 polimorfizmine göre TT genotipi olanlarda KVV oranı %78.3 olup TT dışı genotipi olanların %64.7'sinde KVV alınamamıştır. TT genotipi taşıyan hastalarda KVV alınma oranı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.009$). Tanaka ve ark. (143) yaptığı çalışmada TT genotip ile KVV arasında güçlü ilişki tanımlamışlardır. Suppiah ve ark.'da (142) en yüksek KVV oranını TT genotip taşıyan hastalarda saptamışlar ve G alel varlığını tedavi yanıtızlığının en güçlü prediktif faktörü olarak tanımlamışlardır. Bizim çalışmamızda da G alel varlığı KVV alınamama riskini 3.5 kat arttırmaktadır ve bu oran istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.018$). Balagopal ve ark. (123), Fukuhara ve ark. (144) Shebl ve ark. (145) da yaptığı çalışmalarda CC veya TT genotip taşıyanlarda KVV oranını anlamlı düzeyde yüksek saptamışlardır.

Araştırmamızda rs12979860 polimorfizme ait CC dışı genotiplerin CC genotipe göre KVV alınamama oranları karşılaştırıldığında CT genotip taşımanın CC genotip taşımaya göre KVV alınamama riskini 8.5 kat, TT genotip taşımanın ise CC genotip taşımaya göre KVV alınamama riskini 40 kat, T alel taşımanın C alel taşımaya göre KVV alınamama riskini 3.2 kat arttırdığı saptanmış olup bu riskler istatistiksel olarakta anlamlı bulunmuştur. rs12979860 TT genotip ve T alel bulundurmayı tedavi yanıtızlığının prediktif faktörleri olarak tanımlayabiliriz. rs8099917 genotiplerine baktığımızda GG genotip taşıyanlarda tedavi yanıtızlığı açısından artmış risk tanımlayamadık ancak bunun GG genotip taşıyan sadece 2 hastamız olması nedeniyle anlamlılık düzeyine ulaşmadığını düşünmekteyiz. Çünkü G alel taşımayı T alel taşıma ile karşılaştırdığımızda G alel taşıyanlarda tedavi yanıtızlığı açısından 3.5 kat artmış

risk saptadık. Cavalcante ve ark. (138), yaptıkları çalışmada T alel sıklığını yüksek bulmuşlar ve KVV ile ilişkilendirmişler, G alel sıklığını ise düşük saptamış ve tedavi yanıtı ile ilişkilendirmişlerdir. Rs12979860 CC genotip frekansını %24 olarak saptamışlar ve Mccarthy ve ark. (126) yaptığı çalışmada olduğu gibi CC genotipi HCV genotip 1'de KVV için güçlü prediktif faktör olarak tanımlamışlardır. Kandemir ve ark.'nın 6 çalışmasında CC genotipi olan hastalarda EVY oranını %67.7, KVV oranını %86.7 olarak anlamlı düzeyde yüksek bulmuşlardır.

Araştırmamıza sadece genotip 1 hastalar dahil edilmiştir ancak literatürde genotip 1 dışı hastalar ile yapılan çalışmalarda mevcuttur. Chen ve ark (146) yaptığı metanaliz sonucunda genotip 1 veya 4 hastalarda CC genotipi olanlarda T alel taşıyanlara göre anlamlı oranda daha yüksek KVV oranı olduğu sonucu çıkarılmıştır. Schreiber ve ark. (147) yaptığı metanalizde genotip 2 ve 3'te CC genotip taşıma ile KVV arasında zayıf bir ilişki olduğu sonucuna varmışlar. Sousa ve ark. (148) ise yaptıkları metanalizde HCV genotip 2 ve 3 için hem rs12979860 CC, hem de rs8099917 TT genotip taşıma ile KVV yanıt arasında genotip 1 ile olan ilişkiye oranla üç kat daha az güçlü bir ilişki olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Jia ve ark. (149) metanalizlerinde, Moghaddam ve ark. (150) ise yapmış oldukları çalışmalarında genotip 2 ve 3 için CC genotip ile KVV arasında herhangi bir ilişki saptamamışlardır.

Çalışmamızda genotipler ve EVY arası ilişki değerlendirildiğinde rs12979860 CC ve rs8099917 TT genotipi taşıyan hastaların hepsinde EVY alınmış olup, yalnızca rs8099917 TT genotip ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.009$) Çalışmamızda HVY yanıtı az sayıda hastada bakıldığından KVV'a etkisi değerlendirilememiştir ancak literatürde genotipler ve HVY ilişkisini araştıran çalışmalar mevcuttur. Thompson ve ark. (122) rs12979860 CC genotip taşıyanlarda HVY ve EVY yanıt oranının yüksek olduğunu tanımlamışlar. KVV için prediktif faktör olma açısından karşılaştırıldıklarında ise CC genotipin yüksek sensitivite ve yüksek negatif prediktif değer taşıdığı ancak HVY'nin en yüksek pozitif prediktif değer taşıdığı ve yüksek spesifite taşıdığını bulmuşlardır. Bu nedenle CC genotip HVY alınamayan hastalarda KVV alınması ile güçlü ilişki gösterir. HVY alınan hastalarda KVV genotipten bağımsız olarak yüksektir. Ramos ve ark. (151) çalışmalarında Suppiyah ve ark. (142) ile Balagopal ve ark (124) çalışmalarında olduğu gibi KVV ve gHVY ile IL28B major genotipler arasında anlamlı ilişki saptamışlardır.

Kronik HCV infeksiyonun patogeneğinde hastaların IFN tedavisine yanıtta karaciğerde ISG (İnterferon stimüle gen) ekspresyonun önemli yere sahiptir. (152,153). IL28B'nin KVV alınmasına etkisinin nasıl olduğu açık değildir, ancak olası mekanizmalardan biri ISG üzerine olan etkisidir. Yapılan çalışmalarda CC genotipe sahip kişilerde karaciğerde ISG ekspresyonunun düşük olduğu saptanmıştır (153,154). ISG ekspresyonu yüksek olan kişilerde immün sistemin IFN yanıtının maksimal olduğu bu nedenle dışarıdan IFN verilmesinin immün sistemi daha fazla uyaramaması nedeniyle düşük tedavi yanıtı olduğu düşünülmektedir (152).

Çalışmamızda rs12979860 ile rs8099917 arasındaki uyum değerlendirildiğinde rs12979860 CC genotipi taşıyan hastaların hepsinin rs8099917 genotipi TT olarak saptandı ve bu hastaların %90.9'unda KVV mevcuttu. rs12979860 CT genotipi taşıyan hastaların rs8099917 genotipi %50'sinde TT, %50'sinde TG olarak saptandı. CT-TT genotiplerini taşıyan 12 hastanın %66.7'sinde KVV alınmışken CT-TG genotip taşıyan 12 hastanın %41.7'sinde KVV mevcuttu, ancak bu fark anlamlı olarak saptanmadı ($p=0.207$). rs12979860 TT genotipi taşıyan hastaların rs8099917 genotipi %60'ında TG, %40'ında GG olarak saptandı. TT-TG genotiplerini taşıyan hiçbir hastada KVV alınmazken, TT-GG taşıyan 2 hastanın 1'inde (%50) KVV mevcuttu, ancak aradaki fark anlamlı olarak saptanmadı. Ramos ve ark 16 yaptığı çalışmada her iki genotipin birlikte KVV yanıt üzerine etkisini anlamlı düzeyde saptayamamışlardır. Yapılan birçok çalışmada rs12979860 ile rs8099917 arasındaki uyum gösterilmiştir. Jung ve ark. (156) yaptığı çalışmada rs12979860 CC genotip olanların %100'ü rs8099917 genotip TT, rs12979860 CT genotip olanların %91.3'ü rs8099917 genotip TG olarak saptanmış ve iki TNP arasında yakın ilişki varlığı olarak yorumlanmış. Faruki ve ark. (157) yaptığı çalışmada farklı etnik gruplarda iki TNP arasındaki uyumun farklı olduğu bildirilmiş. Doğu-Asya popülasyonunda %99, güney-Asya popülasyonunda %61, Avrupa popülasyonunda %69, Hispanik popülasyonda %71, African-American popülasyonda ise %22 olarak bulunmuştur.

Tedavi yanıtını etkileyen birçok konağa ait ve viral faktörler tanımlanmıştır. Cinsiyet, 40 yaş altı, tedavi öncesi düşük HCV RNA düzeyi, fibrozis yokluğu, HCV genotip 2-3 kalıcı viral yanıtı olumlu etkileyen faktörlerdendir. (158) Çalışmamızda bizde yaş, cinsiyet, tedavi öncesi viral yük, ALT, GGT, PLT, Steatoz durumunun KVV ile ilişkisini değerlendirdik. Tek değişkenli analizde bu değişkenler ile KVV arasında

ilişki saptanmazken, çok değişkenli logisitik regresyon analizi yaptığımızda ALT değeri yüksek olma, 40 yaş altı olma ile KVY arasında anlamlı ilişki saptandı.

Literatüre baktığımızda yüksek ALT düzeyi ve nekroinflamatuvar aktivite varlığının tedavi yanıtına olumlu katkısı olduğunu bildiren birçok yayın mevcuttur (115,131,159-161), ancak nekroinflamatuvar aktivite yüksek olsa da, genotip 1 hastalarda IL28B ile fibrozis derecesi arasında ilişki olmadığını vurgulayan çalışmalar mevcuttur (115,137,162).

Ge ve ark tarafından yapılan ilk GWAS çalışmasında iyi yanıt göstergesi IL28B genotiplerde aynı zamanda yüksek HCV bazal değeri olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu genotip 1, 2, 3 ve 4'ü içeren farklı çalışmalarla desteklenmiştir (126,132,165,167). Bizim çalışmamızda da CC veya TT genotipleri taşıyan hastalarda bazal viral yük daha yüksek bulunmuştur. Thompson ve ark ise hastaları düşük ve yüksek viral yüke sahip olanlar diye grupladıklarında rs12979860 CC frekansını benzer bulmuşlardır (122). Çalışmalardaki farklı sonuçlar IL28B genotipleri ve bazal viral yük miktarının KVY'ın birbirinden bağımsız ve güçlü prediktif faktörleri olduğu şeklinde açıklanabilir (3).

Yüksek GGT düzeyinin KVY'a olumlu katkısı olduğu ve IL28B major genotipleri ile GGT düzeyi arasında anlamlı ilişki olduğunu gösteren çalışmalar (161,165) mevcut olmasına rağmen çalışmamızda GGT düzeyi ile KVY arasında bir ilişki ve genotiplere göre GGT değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı.

Çalışmamızda KVY olan veya CC genotip taşıyan hastalarda steatoz varlığı daha az oranda olmasına rağmen aradaki ilişki anlamlı olarak saptanmadı, ancak literatürde bu ilişkiyi anlamlı olarak bulan birçok çalışma mevcuttur. Tillman ve ark. (166) IL28B CT/TT genotipte steatoz sıklığını daha fazla saptamışlar ancak steatoz varlığında KVY alınmama arasında anlamlı ilişki saptayamamışlar. Bu ilişkiyi IL28B genotip etkisini steatoza göre düzeltilerek değerlendirdiklerinde ilişkinin anlamlılık düzeyine çok yaklaştığını bu nedenle steatozun KVY alınma şansını düşürmesinin IL28B CC genotipte düşük oranda steatoz görülmesi ile açıklanamayacağını etkilerinin birbirinden bağımsız olduğunu belirtmişlerdir. Sarrazin ve ark. (132) ile Doebling ve ark. (167) hem genotip 1, hem genotip 2-3 hastalar için CC genotipte daha az oranda steatoz varlığını desteklemişlerdir. IL28B major genotiplerde steatoz oranının düşük olması yanında yüksek LDL ve yüksek kolesterol düzeyi varlığı tedavi öncesi düşük ISG ekspresyonu ve düşük IFN aktivitesinin de göstergesidir (3). Steatoz varlığının KVY alınma şansını düşürdüğünü destekleyen çalışmalar mevcuttur (168,169).

Araştırmamızda steatozu karaciğer USG bulgularına göre değerlendirmemiz nedeniyle veya hasta sayısının az olması nedeniyle KVV ile anlamlı ilişki saptayamamış olabiliriz.

Çalışmamızda kronik hepatit C infeksiyonu siroza ilerlemiş hasta yoktu ve hastalara fibrozis düzeyini belirlemek amacıyla karaciğer biopsisi yapılmadı. Literatürde IL28B polimorfizminin fibrozis ilerlemesi ile ilişkisini değerlendiren araştırmalar bulunmaktadır. Nouredin ve ark. (85) yaptığı çalışmalarında CC genotipli hastalarda TT genotipe göre daha düşük ISHAK fibrozis skoru saptarken, daha yüksek HAI skoru ve periportal-portal nekroinflamasyon saptamışlardır. Genotipler arasında fibrozis ilerlemesi açısından anlamlı fark saptamamışlar, IL28B CC genotipin bir taraftan yüksek viral klerens sağlayan diğer taraftan daha fazla nekroinflamasyona neden olan güçlü bir antiviral immün yanıtla ilişkili olduğunu ancak fibrozis progresyonu ile ilişkili olmamasının fibrojenezi destekleyen başka bağımsız faktörlerin varlığını desteklediğini belirtmişlerdir (85). İleri yaş, erkek cinsiyet, BMI yüksek olması, insülin direnci, günlük > 30 g alkol tüketimi, eş zamanlı HIV infeksiyonu varlığı bu faktörlerden en önemli olanlarıdır.

Bu çalışma retrospektif bir çalışma olduğundan IL28B genotiplerin sadece tedavi sonrası yanıt üzerine etkisi değerlendirilebildi. Literatürde IL28B genotiplerin HCV'nin spontan klerensinde de rol oynadığı, hangi hastalarda spontan klerensi beklememiz hangi hastalarda beklemeden hızla tedaviye başlayacağımız konusunda da öngöründe bulunmayı sağladığını destekleyen çalışmalar bulunmaktadır. Thomas ve arkadaşlarının (128) 1008 hastanın yer aldığı kohort çalışmalarında rs12979860 CC genotipte ırktan bağımsız ve diğer spontan klerense etkileyen faktörlerin etkisi düzeltildikten sonra 3 kat daha fazla spontan klerens geliştiğini bulmuşlardır. Rauch ve arkadaşları ise spontan klerens ile en güçlü ilişkiyi rs8099917 TT genotipte saptamışlar ve TG/GG genotiplere göre 1.7-3.1 kat artmış spontan klerens saptamışlardır (163).

Tillmann ve ark 190 kişilik Alman kohortlarında CC genotipte spontan klerens oranını daha yüksek bulmuşlar, CT/TT genotipe sahip hastalarda ise klinik olarak sarılık izlenenlerde spontan klerensi daha yüksek saptamışlardır. Bu bulgunun klinik yansıması asemptomatik CC dışı genotipli hastalarda spontan klerens beklentisinin düşük olması nedeniyle tedavinin geciktirilmeden başlanması şeklindedir (170).

Kronik hepatit C'nin standart tedavisi pegIFN+RBV olmasına karşın son yıllarda kullanım için onay almış IFN'lu ve IFN'suz tedavi rejimleri gündemdedir. NS3/4A

serin protez inhibitörleri olan BOC ve TVR + pegIFN+RBV üçlü tedavi rejimleri ile yapılan çalışmalarda KVY %40–45 oranlarından %68–79 oranlarına çıkmaktadır (171,172). Bu tedavi rejiminde IL28B genotiplerin yeri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. SPRINT-2 çalışması tedavi naiv hastalarda BOC ile yapılan üçlü tedavi sonrası IL28B genotiplerin KVY ile ilişkisini değerlendirmişlerdir. CC genotipe sahip hastaların %97'sinde, yüksek KVY alınacağını ve BOC'e dirençli HCV varyantlarının seçim riskinin düşük olacağını ifade eden 4 haftalık lead in fazı sonrası HCV RNA'da ≥ 1 log düşüş sağlanmıştır. CC genotipli hastalar T alel taşıyan hastalara göre tedavi süresi kısa tutulabilecek hasta kriterlerini daha fazla oranda karşılamaktaydı (%89'a karşın %52) Logistik regresyon modelinde IL 28B genotipler KVY ile bağımsız ilişkili faktör olarak tanımlanmış ancak KVY katkısı standart tedaviye oranla daha zayıf bulunmuş (173). TVR ile yapılan üçlü tedavinin KVY'a katkısının değerlendirildiği ADVANCE çalışmasında da IL28B genotiplerin BOC çalışması ile benzer bulgular bulunmuş, CC genotipe sahip hastalarda KVY oranı daha yüksek ancak standart tedaviye oranla daha zayıf ilişki saptanmış. Her iki çalışmada da IL28B genotipine bakılmaksızın HVY en önemli prediktif faktör olarak bulunmuş (174). Tedavi deneyimli hastaların üçlü tedavi ile KVY sonuçlarının değerlendirildiği RESPOND-2 ve REALİZE çalışmalarında IL28B genotipleri ile KVY varlığı arasında anlamlı bir ilişkisi saptanamamış (175).

Tedavi naiv Genotip 1 hastalarda NS3 proteaz inhibitörü simeprevir ile kombine pegIFN+RBV tedavisinin 12 hafta verildiği hastalarda IL28B genotiplerin KVY etkisinin araştırıldığı QUEST-1 çalışmasında da CC genotipte KVY anlamlı oranda yüksek saptanmış (175).

327 tedavi naiv genotip 1,4,5 ve 6 hastalarda NS5B polimeraz inhibitörü sofosbuvir ile kombine pegIFN+RBV tedavisinin verildiği hastaların değerlendirildiği NEUTRINO çalışmasında IL28B CC genotip KVY için bağımsız prediktör faktör olarak saptanmış. CC genotipte %98 olan KVY, T alel taşıyıcılarında %87 olarak saptanmış (175).

Araştırmamızın en önemli iki kısıtlılığı hasta sayısının az olması ve retrospektif olmasıdır. Hasta sayısının az olması nedeniyle genotip dağılımında major genotip dışı genotiplerin etkisini tek tek değil gruplayarak değerlendirdik. KVY alınmayan hastalarda genotiplerin etkisini relaps ve yanıtız olanlar için ayrı ayrı değerlendiremedik. Retrospektif olması nedeniyle RVR ve karaciğer biopsi ile fibrozis

derecesinin KVV'a etkisini ve IL28B genotiplerin bu faktörlere etkisini saptayamadık. Türk toplumunun IL28B genotip dağılımını araştıran az sayıda çalışma olması nedeniyle genotip frekanslarının doğrulanmasına katkı sağladık.

Tüm bu literatür bilgileri ve literatür verilerini destekleyen özellikle IL28B rs8099917 TT genotipe sahip olmanın KVV oranını arttırdığını gösteren araştırmamız ışığında kronik hepatit C tedavi yönetiminde IL28B genotiplerinin yerini vurgulamamız gerekmektedir. Şunu da unutmamak gerekir ki IL28B genotipi KVV'ı etkileyen tek faktör olmadığından genelleme yapmak yerine hasta özelinde karar verilmesinin daha doğru olduğunu düşünmekteyiz. IL28B major genotipe sahip hastalarda yeni tedavi seçeneklerinin maliyetlerinin yüksek olması, üçlü tedavilerde yan etki riskinin daha fazla olması nedeniyle standart tedavi beklenmeden başlanabilir, minör genotip taşıyan hafif-orta fibrozis saptanan hastalarda KVV alınma şansının daha yüksek olduğu tedavi seçenekleri beklenebilir.

6. SONUÇLAR

Kronik hepatit C tedavisinde amaç, HCV ilişkili karaciğer hastalıkları olan siroz, HCC ve bunlara bağlı mortaliteyi ve karaciğer dışı tutulumları önleyebilmek için HCV'yi eradike etmektir. HCV eradikasyonu ise kalıcı viral yanıtın alınması ile mümkün olur. Uzun dönem izlem çalışmalarında KVV elde edilen hastaların %99'unda infeksiyonun kesin olarak eradikasyonundan söz edilebilir. Kronik hepatit C tedavisinin uzun süreli olması ve tedavide kullanılan ilaçlara bağlı yan etkilerin fazla olması nedeniyle tedaviye başlama zamanı ve kullanılacak ajan seçimi önemlidir. Bu nedenle KVV alınmasına etki eden faktörlerin araştırıldığı birçok çalışma mevcuttur. Günümüzde konağa genetik faktörlerden üzerinde en çok çalışılan IL28B gen polimorfizmleridir.

Araştırmamızda bizde IL28B polimorfizmleri içerisinde üzerinde en çok araştırma yapılan ve KVV ile ilişkileri en iyi tanımlanan rs12979860 ve rs8099917 genotiplerini çalıştık. Hem rs12979860 hem de rs8099917 major genotipler ile KVV alınma oranı arasında anlamlı ilişki saptadık. Ülkemizde bu konu ile ilgili az sayıda çalışma olması nedeniyle Türk toplumunun rs12979860 ve rs8099917 genotip dağılımını saptadık. Hasta grubunda en sık görülen rs12979860 genotipi %60 oranı ile CT olup CC genotip %27.5, TT genotip %12.5 oranında, en sık görülen rs8099917 genotipi %57.5 oranı ile TT olup TG genotip %37.5, GG genotip %5 oranında saptandı. Genotip dağılım oranlarımız hem Türk çalışmaların sonuçları, hem de beyaz ırk ile yapılan diğer birçok çalışmanın verileri ile paralellik göstermekteydi.

Takip ettiğimiz kronik hepatit C hastaları içinde KVV alınamayan hastalarda tedavi başarısızlığının nedenlerinden birini saptayarak bu hastalarda daha sonraki tedavi aşamalarında izleyeceğimiz yol hakkında öngörude bulunabiliriz. Bu doğrultuda IL28B major genotipe sahip hastalarda yeni tedavi seçeneklerinin maliyetlerinin yüksek olması, üçlü tedavilerde yan etki riskinin daha fazla olması nedeniyle standart tedavi beklenmeden başlanabilir, minör genotip taşıyan hafif-orta fibrozis saptanan hastalarda KVV alınma şansının daha yüksek olduğu tedavi seçenekleri beklenebilir. Ancak IL28B genotipi KVV'ı etkileyen tek faktör olmadığından genelleme yapmak yerine hasta özelinde karar verilmesinin daha doğru olduğu sonucuna vardık.

7. ÖZET

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'nde Takip Edilen Kronik Hepatit C Hastalarında IL-28B Gen Polimorfizmi ve Kalıcı Viral Yanıt ile İlişkisinin Değerlendirilmesi

Kronik hepatit C'nin standart tedavisi pegIFN+RBV olmasına karşın son yıllarda kullanım için onay almış IFN'lu ve IFN'suz tedavi rejimleri gündemdedir. Tüm tedavi rejimleri için kalıcı viral yanıt tedavi bitiminden 24 hafta sonra saptanamaz HCV RNA düzeyi (<50 IU/ml) olarak tanımlanır. Son yıllarda KVV'ı etkileyen genetik faktörler üzerinde çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bu faktörler içinde en çok araştırılan kromozom 19 üzerinde yer alan IL28B gen bölgesinde tanımlanan tek nükleotid polimorfizmleridir. Yapılan çalışmalarda rs12979860 ve rs8099917 major genotipe sahip hastalarda KVV alınma oranı yüksek olarak saptanmıştır.

Bu çalışmada Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'nde takip edilen kronik hepatit C hastalarında IL-28B gen polimorfizmi ve kalıcı viral yanıt ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2006 ile 2013 yılları arasında pegIFN+RBV tedavisi almış ve tedavi bitiminden sonra en az 6 ay süreyle takip edilmiş genotip-1 HCV ile infekte 18-65 yaş arası 40 adet erişkin hasta çalışma için seçildi. Hastalardan genotip analizi için onamları alındıktan sonra kan örnekleri toplandı. Genotip analizleri, hastaların tedavi öncesi biyokimyasal, demografik özellikleri ve tedavi sırasında izlenen özellikleri ile KVV arası ilişki retrospektif olarak değerlendirildi. Hasta grubunda en çok izlenen rs12979860 genotipi CT %60 oranında, en sık izlenen rs8099917 genotipi olan TT ise %57.5 oranında saptandı. Tek değişkenli analizlerde KVV alınan grupta KVV alınmayan gruba göre EVY anlamlı olarak yüksek saptandı. rs12979860 CC genotipte CC dışı genotiplere göre KVV anlamlı olarak yüksek saptandı. rs8099917 genotipte TT dışı genotiplere göre EVY ve KVV anlamlı olarak yüksek saptandı. Çoklu değişkenli logistik regresyon analizde KVV ile ilişki rs8099917 TT genotip ve ALT ile anlamlı olarak saptandı.

Çalışmamız sonucunda Türk toplumunun IL28B genotip dağılımını saptayarak beyaz ırkın verileri ile uyumlu olduğunu gösterdik. Tedavi öncesinde KVV için öngöründe bulunurken IL28B genotipinin göz önünde bulundurulabileceğini

düşünmekteyiz. Ancak her hastayı KVV‘ı etkileyen diğer özellikleriyle birlikte değerlendirip tedavi planına hasta özelinde karar vermeliyiz.

Anahtar kelimeler: HCV, rs12979860, rs8099917, KVV.

8. ABSTRACT

Evaluation of the Association Between IL28B Polymorphisms and Sustained Virologic Respond in Patient with Chronic Hepatitis C Who Were Followed at Akdeniz University Infectious Disease Department

Although the standart treatment of chronic hepatitis C is pegIFN+RBV, new treatment regimens with or without IFN was approved in recent years. For all treatment regimens sustained virologic response is defined as an undetectable HCV RNA level (<50 IU/ml) 24 weeks after the end of therapy. In recent years studies on genetic factors that affect SVR has been started. The most researched in these factors that identified in the IL28B gene on chromosome 19 is single nucleotide polymorphisms. In studies patients who have rs12979860 and rs8099917 major genotype, detected the probability of receiving SVR was high.

In this study we aimed to demonstrate the association between IL28B gene polimorphisms and sustained virologic response in patient with chronic hepatitis C who were followed at Akdeniz University Infectious Disease Department.

Fourty HCV genotype-1 infected adult patients aged 18-65 who have taken pegIFN+RBV treatment and have followed at least 6 months after the end of therapy were selected in this study. For genotype analysis of patients blood samples were collected after informed consent. The relationship between genotype analysis, pretreatment biochemical and demographic characteristics, monitored features during treatment and SVR were retrospectively evaluated. The most common rs12979860 genotype in patients is CT with a ratio of 60%, the TT genotype of rs8099917 with a ratio of 57.5%, respectively. In univariate analysis EVR was significantly higher in patients receiving SVR than non SVR. SVR was significantly higher in 12979860 CC genotype compared to non CC. EVR and SVR was significantly higher in rs8099917 TT genotype compared to non TT. Multivariate logistic regression analysis showed a significant association with SVR was observed only with rs8099917 TT genotype and ALT.

In our study we determine the distribution of IL28B genotype of Turkish Society and we showed the datas are compatible with the White race. Before the treatment to predict SVR we think IL28B genotypes may be taken into consideration. However, we

must evaluate each patient together with other features that affect SVR and treatment decision for patients must be decided in private.

Key words: HCV, rs12979860, rs8099917, SVR.

9. KAYNAKLAR

- 1) EASL Clinical Practice Guidelines. Management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014; 60: 392-420.
- 2) Heim MH. Innate immunity and HCV. *J Hepatol* 2013; 58: 564–74.
- 3) Lange CM, Zeuzem S. IL28B single nucleotide polymorphisms in the treatment of hepatitis C. *J Hepatol* 2011; 55: 692-701.
- 4) Ge D, Fellay J, Thompson AJ. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461: 399-401.
- 5) Bartenschlager R, Penin F, Lohmann V, Andre P. Assembly of infectious hepatitis C virus particles. *Trends Microbiol* 2011; 19: 95-103.
- 6) Chang W.K, Kyong-Mi C. Hepatitis C virus; virology and life cycle. *Clinical and Molecular Hepatology Review* 2013; 19: 17-25.
- 7) Gastaminza P, Dryden KA, Boyd B, Wood MR, Law M, Yeager M, Chisari FV. Ultrastructural and biophysical characterization of hepatitis C virus particles produced in cell culture. *J Virol* 2010; 84: 10999-11009 [PMID: 20686033 DOI:10.1128/JVI.00526-10]
- 8) Suzuki T, Ishii K, Aizaki H, Wakita T. Hepatitis C viral life cycle. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007; 59: 1200–12.
- 9) Friebe P, Lohmann V, Krieger N, Bartenschlager R. Sequences in the 5'nontranslated region of hepatitis C virus required for RNA replication, *J Virol* 2001; 75(24): 12047–57.
- 10) Jopling L, Yi M, Lancaster AM, Lemon SM, Sarnow P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA, *Science* 2005; 309 (5740): 1577–81.
- 11) Yasui K, Wakita T, Tsukiyama-Kohara K. The native form and maturation process of hepatitis C virus core protein. *J Virol* 1998; 72(7): 6048–55.
- 12) McLauchlan J, Lemberg MK, Hope G. Intramembrane proteolysis promotes trafficking of hepatitis C virus core protein to lipid droplets. *EMBO J* 2002; 21: 3980-8.
- 13) Suzuki R, Tamura K, Li J. Ubiquitin-mediated degradation of hepatitis C virus core protein is regulated by processing at its carboxyl terminus, *Virology* 2001; 280(2): 301–9.
- 14) Shirakura M, Murakami K, Ichimura T. E6AP ubiquitin ligase mediates ubiquitylation and degradation of hepatitis C virus core protein. *J Virol* 2007; 81(3): 1174–85.

- 15) Suzuki T, Suzuki R. Maturation and assembly of hepatitis C virus coreprotein, in: Kalitzky M, Borowski P (eds.), *Molecular Biology of the Flavivirus*, Horizon Bioscience, Norfolk UK 2006; 295–311.
- 16) Ait-Goughoulte M, Hourieux C, Patient R. Core protein cleavage by signal peptidepeptidase is required for hepatitis C virus-like particle assembly. *J Gen Virol* 2006; 87: 855–60.
- 17) Vieyres G, Thomas X, Descamps V, Duverlie G, Patel AH, Dubuisson J. Characterization of the envelope glycoproteins associated with infectious hepatitis C virus. *J Virol* 2010; 84: 10159–68.
- 18) Ciczora Y, Callens N, Penin F, Pecheur EI, Dubuisson J. Transmembrane domains of hepatitis C virus envelope glycoproteins: residues involved in E1E2 heterodimerization and involvement of these domains in virus entry. *J Virol* 2007; 81: 2372–81.
- 19) Op De Beeck A, Cocquerel L, Dubuisson J, Biogenesis of hepatitis C virus envelope glycoproteins. *J Gen Virol* 2001; 82 (Pt 11): 2589–95.
- 20) Cocquerel L, Op de Beeck A, Lambot M. Topological changes in the transmembrane domains of hepatitis C virus envelope glycoproteins, *EMBO J* 2002; 21(12): 2893–902.
- 21) Goffard A, Callens N, Bartosch B, Wychowski C, Cosset FL, Montpellier C, et al. Role of N-linked glycans in the functions of hepatitis C virus envelope glycoproteins. *J Virol* 2005; 79: 8400–9.
- 22) Helle F, Goffard A, Morel V, Duverlie G, McKeating J, Keck ZY, et al. The neutralizing activity of anti-hepatitis C virus antibodies is modulated by specific glycans on the E2 envelope protein. *J Virol* 2007; 81: 8101–11.
- 23) Guan M, Wang W, Liu X, Tong Y, Liu Y, Ren H, et al. Three different functional microdomains in the hepatitis C virus hypervariable region 1 (HVR1) mediate entry and immune evasion. *J Biol Chem* 2012; 287: 35631–45 [PMID: 22927442 DOI: 10.1074/jbc.M112.382341]
- 24) Uebelhoer L, Han JH, Callendret B, Mateu G, Shoukry NH, Hanson HL, et al. Stable cytotoxic T cell escape mutation in hepatitis C virus is linked to maintenance of viral fitness. *PLoS Pathog* 2008; 4: e1000143.
- 25) Sakai A, Claire MS, Faulk K, Govindarajan K, Emerson SU, Purcell RU, Bukh J. The p7 polypeptide of hepatitis C virus is critical for infectivity and contains functionally important genotype-specific sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(20): 11646–51.
- 26) Pavlovic D, Neville DC, Argaud O, Blumberg B, Dwek RA, Fischer WB, Zitzmann N. The hepatitis C virus p7 protein forms an ion channel that is

- inhibited by long-alkyl-chain iminosugar derivatives. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(10): 6104–8.
- 27) Kolykhalov A, Mihalik K, Feinstone SM, Rice MC. Hepatitis C virus encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3' nontranslated region are essential for virus replication in vivo. *J Virol* 2000; 74: 2046–51.
 - 28) Lorenz C, Marcotrigiano J, Dentzer TG, Rice CM. Structure of the catalytic domain of the hepatitis C virus NS2-3 protease, *Nature* 2006; 442(7104): 831–5.
 - 29) De Francesco R, Migliaccio G. Challenges and successes in developing new therapies for hepatitis C. *Nature* 2005; 436(7053): 953–60.
 - 30) Wolk B, Sansonno D, Krausslich DH, Dammacco F, Rice CM, Blum HE, Moradpour D. Subcellular localization, stability, and transcleavage competence of the hepatitis C virus NS3-NS4A complex expressed in tetracycline-regulated cell lines. *J Virol* 2000; 74(5): 2293–304.
 - 31) Kwong D, Kim JL, Lin C. Structure and function of hepatitis C virus NS3 helicase. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000; 242: 171–96.
 - 32) Egger D, Wolk B, Gosert B, Bianchi L, Blum HE, Moradpour D, Bienz K. Expression of hepatitis C virus proteins induces distinct membrane alterations including a candidate viral replication complex. *J Virol* 2002; 76(12): 5974–84.
 - 33) Tellinghuisen TL, Marcotrigiano J, Rice CM. Structure of the zinc binding domain of an essential component of the hepatitis C virus replicase. *Nature* 2005; 435(7040): 374–9.
 - 34) Shimakami T, Hijikata M, Luo H, Ma YY, Kaneko S, Shimotohno K, Murakami S. Effect of interaction between hepatitis C virus NS5A and NS5B on hepatitis C virus RNA replication with the hepatitis C virus replicon. *J Virol* 2004; 78(6): 2738–48.
 - 35) Dimitrova M, Imbert I, Kieny MP, Schuster C. Protein–protein interactions between hepatitis C virus nonstructural proteins. *J Virol* 2003; 77(9): 5401–14.
 - 36) Moradpour D, Brass V, Bieck E. Membrane association of the RNA-dependent RNA polymerase is essential for hepatitis C virus RNA replication. *J Virol* 2004; 78(23): 13278–84.
 - 37) Bressanelli S, Tomei L, Rey FA, De Francesco R. Structural analysis the hepatitis C virus RNA polymerase in complex with ribonucleotides. *J Virol* 2002; 76(7): 3482–92.
 - 38) Butcher SJ, Grimes JM, Makeyev EV, Bamford DH, Stuart DI. A mechanism for initiating RNA-dependent RNA polymerization. *Nature* 2001; 410(6825): 235–40.

- 39) Zhu YZ, Qian XJ, Zhao P, Qi ZT. How hepatitis C virus invades hepatocytes: The mystery of viral entry, *World J Gastroenterol* 2014; 20(13): 3457-67.
- 40) Gastaminza P, Cheng G, Wieland S, Zhong J, Liao W, Chisari FV. Cellular determinants of hepatitis C virus assembly, maturation, degradation, and secretion. *J Virol* 2008; 82: 2120-9 [PMID: 18077707 DOI: 10.1128/JVI.02053-07]
- 41) Nielsen SU, Bassendine MF, Burt AD, Martin C, Pumeechockchai W, Toms GL. Association between hepatitis C virus and very-low-density lipoprotein (VLDL)/LDL analyzed in iodixanol density gradients. *J Virol* 2006; 80: 2418-28 [PMID: 16474148 DOI: 10.1128/JVI.80.5.2418-2428.2006]
- 42) Icard V, Diaz O, Scholtes C, Perrin-Cocon L, Ramière C, Bartenschlager R, Penin F, Lotteau V, André P. Secretion of hepatitis C virus envelope glycoproteins depends on assembly of apolipoprotein B positive lipoproteins. *PLoS One* 2009; 4: e4233 [PMID: 1915 6195 DOI: 10.1371/journal.pone.0004233]
- 43) Bartenschlager R, Penin F, Lohmann V, André P. Assembly of infectious hepatitis C virus particles. *Trends Microbiol* 2011; 19: 95-103 [PMID: 21146993 DOI: 10.1016/j.tim.2010.11.005]
- 44) Felmlee DJ, Hafirassou ML, Lefèvre M, Baumert TF, Shuster C. Hepatitis C virus, cholesterol and lipoproteins—impact for the viral life cycle and pathogenesis of liver disease. *Viruses* 2013; 5: 1292-324 [PMID: 23698400 DOI: 10.3390/v5051292]
- 45) Lozach PY, Lortat-Jacob H, de Lacroix de Lavalette A, Staropoli I, Fong S, Amara A, et al. DC-SIGN and L-SIGN are high affinity binding receptors for hepatitis C virus glycoprotein E2. *J Biol Chem* 2003; 278: 20358-66 [PMID: 12609975 DOI: 10.1074/jbc.M301284200]
- 46) Barth H, Schnober EK, Zhang F, Linhardt RJ, Depla E, Boson B, et al. Viral and cellular determinants of the hepatitis C virus envelope–heparan sulfate interaction. *J Virol* 2006; 80: 10579–90.
- 47) Jiang J, Cun W, Wu X, Shi Q, Tang H, Luo G. Hepatitis C virus attachment mediated by apolipoprotein E binding to cell surface heparan sulfate. *J Virol* 2012; 86: 7256-67 [PMID: 22532692 DOI: 10.1128/JVI.07222-11]
- 48) Rhainds D, Brissette L. The role of scavenger receptor class B type I (SR-BI) in lipid trafficking. Defining the rules for lipid traders. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 39-77 [PMID:14592533 DOI: 10.1016/S1357-2725(03)00173-0]
- 49) Zahid MN, Turek M, Xiao F, Thi VL, Guérin M, Fofana I, et al. The post binding activity of scavenger receptor class B type I mediates initiation of hepatitis C

- virus infection and viral dissemination. *Hepatology* 2013; 57: 492- 504 [PMID: 23081796 DOI: 10.1002/hep.26097]
- 50) Flint M, von Hahn T, Zhang J, Farquhar M, Jones CT, Balfe P, et al. Diverse CD81 proteins support hepatitis C virus infection. *J Virol* 2006; 80: 11331- 42 [PMID: 16943299 DOI: 10.1128/JVI.00104-06]
 - 51) Sharma NR, Mateu G, Dreux M, Grakoui A, Cosset FL, Melikyan GB. Hepatitis C virus is primed by CD81 protein for low pH-dependent fusion. *J Biol Chem* 2011; 286: 30361-76 [PMID: 21737455 DOI: 10.1074/jbc.M111.263350]
 - 52) Evans MJ, von Hahn T, Tscherne DM, Syder AJ, Panis M, Wolk B, et al. Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. *Nature* 2007; 446: 801–5.
 - 53) Cukierman L, Meertens L, Bertaux C, Kajumo F, Dragic T. Residues in a highly conserved claudin-1 motif are required for hepatitis C virus entry and mediate the formation of cell–cell contacts. *J Virol* 2009; 83: 5477–84.
 - 54) Benedicto I, Molina-Jimenez F, Bartosch B, Cosset FL, Lavillette D, Prieto J, et al. The tight junction-associated protein occludin is required for a post binding step in hepatitis C virus entry and infection. *J Virol* 2009; 83: 8012–20.
 - 55) Lupberger J, Zeisel MB, Xiao F, Thumann C, Fofana I, Zona L, et al. EGFR and EphA2 are host factors for hepatitis C virus entry and possible targets for antiviral therapy. *Nat Med* 2011; 17: 589-95 [PMID: 21516087 DOI: 10.1038/nm.2341]
 - 56) Schneider MR, Wolf E. The epidermal growth factor receptor ligands at a glance. *J Cell Physiol* 2009; 218: 460-6 [PMID:19006176 DOI: 10.1002/jcp.21635]
 - 57) Martin DN, Uprichard SL. Identification of transferrin receptor 1 as a hepatitis C virus entry factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 10777-82 [PMID: 23754414 DOI: 10.1073/pnas.1301764110]
 - 58) Haid S, Pietschmann T, Pécheur EI. Low pH-dependent hepatitis C virus membrane fusion depends on E2 integrity, target lipid composition, and density of virus particles. *J Biol Chem* 2009; 284: 17657-67 [PMID: 19411248 DOI: 10.1074/jbc.M109.014647]
 - 59) Stiasny K, Fritz R, Pangerl K, Heinz FX. Molecular mechanisms of flavivirus membrane fusion. *Amino Acids* 2011; 41: 1159-63 [PMID: 19882217 DOI: 10.1007/s00726-009-0370-4]
 - 60) Sainz B, Barretto N, Martin DN, Hiraga N, Imamura M, Hussain S, et al. Identification of the Niemann-Pick C1-like 1 cholesterol absorption receptor as a new hepatitis C virus entry factor. *Nat Med* 2012; 18: 281-5 [PMID: 22231557 DOI:10.1038/nm.2581]

- 61) Lupberger J, Felmlee DJ, Baumert TF. Cholesterol uptake and hepatitis C virus entry. *J Hepatol* 2012; 57: 215-7 [PMID:22387665 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.008]
- 62) Timpe JM, Stamataki Z, Jennings A, Hu K, Farquhar MJ, Harris HJ, et al. Hepatitis C virus cell–cell transmission in hepatoma cells in the presence of neutralizing antibodies. *Hepatology* 2008; 47: 17–24.
- 63) Zeisel MB, Fofana I, Kremer SF, Baumert TF. Hepatitis C virus entry into hepatocytes: Molecular mechanisms and targets for antiviral therapies. *J Hepatol* 2011; 54: 566-76.
- 64) Lai VC, Dempsey S, Lau JY, Hong Z, Zhong W. In vitro RNA replication directed by replicase complexes isolated from the subgenomic replicon cells of hepatitis C virus. *J Virol* 2003; 77(3): 2295–300.
- 65) Hardy RW, Marcotrigiano J, Blight KJ, Majors JE, Rice CM. Hepatitis C virus RNA synthesis in a cell-free system isolated from replicon-containing hepatoma cells. *J Virol* 2003; 77(3): 2029–37.
- 66) Sakamoto H, Okamoto K, Aoki M. Host sphingolipid biosynthesis as a target for hepatitis C virus therapy. *Nat Chem Biol* 2005; 1(6): 333–7.
- 67) Watashi K, Ishii N, Hijikata M, Inoue D, Murata T, Miyanari Y, Shimotohno K. Cyclophilin B is a functional regulator of hepatitis C virus RNA polymerase. *Mol Cell* 2005; 19(1): 111–22.
- 68) Goh PY, Tan JY, Lim SP, Tan YH, Lim SG, Fuller-Pace F, Hong W. Cellular RNA helicase p68 relocalization and interaction with the hepatitis C virus (HCV) NS5B protein and the potential role of p68 in HCV RNA replication. *J Virol* 2004; 78(10): 5288–98.
- 69) Kim S, Seol SK, Song OK, Park JH, Jang SK. An RNA-binding protein, hnRNP A1, and a scaffold protein, Septin 6, facilitate hepatitis C virus replication. *J Virol* 2007; 81(8): 3852–65.
- 70) Murakami K, Abe M, Kageyama Y, Kamoshita N, Nomoto A. Down regulation of translation driven by hepatitis C virus internal ribosomal entry site by the 3' untranslated region of RNA. *Arch Virol* 2001; 146(4): 729–41.
- 71) Aizaki H, Choi KS, Liu M, Li YJ, Lai MM. Polypyrimidine-tract-binding protein is a component of the HCV RNA replication complex and necessary for RNA synthesis. *J Biomed Sci* 2006; 13(4): 469–80.
- 72) Targett-Adams P, Boulant S, Douglas MW, McLauchlan J. Lipid metabolism and HCV infection. *Viruses* 2010; 2: 1195-217.
- 73) Popescu CI, Rouille Y, Dubuisson J. Hepatitis C virus assembly imaging. *Viruses* 2011; 3: 2238-54.

- 74) Huang H, Sun F, Owen DM, Li W, Chen Y, Gale M Jr, et al. Hepatitis C virus production by human hepatocytes dependent on assembly and secretion of very low-density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 5848-53.
- 75) Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 107-15.
- 76) Özgüneş N, Saltoğlu N, Esen Ş, Yılmaz H. Hepatit C virüsü. *Viral Hepatit* 2013. Ed. Tabak F, Tosun S. İstanbul Medikal Yayıncılık 1. Baskı 2013; 317-35.
- 77) World Health Organization. Guidelines for the Screening, Care and Treatment of Persons with Hepatitis C Infection April 2014: www.who.int
- 78) Tekeli M, Birengel S. Kronik hepatitlerin epidemiyolojisi. *Kronik Hepatitlerin Tanı ve Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar*, Ed. Köksal İ, Leblebicioğlu H. Bilimsel Tıp Yayınevi 2009; 11-25.
- 79) Mauss S, Berg T, Rockstroh JK, Sarrazin C, Wedemeyer H. Short Guide to Hepatitis C. The Flying Publisher 2014.
- 80) Maheshwari A, Ray S, Thuluvath PJ. Division of Gastroenterology and Hepatology. Acute Hepatitis C. *Lancet* 2008; 372: 321-32.
- 81) Maasoumy B, Wedemeyer H. Natural history of acute and chronic hepatitis C. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2012; 26: 401-12.
- 82) Yüksel O. Akut Hepatit C. *Viral Hepatit* 2013, Ed. Tabak F, Tosun S. İstanbul Medikal Yayıncılık 1. Baskı 2013; 337-42.
- 83) Pradat P, Voirin N, Tillmann H, Chevallier M, Trepo C. Progression to cirrhosis in hepatitis C patients: an age-dependent process. *Liver Int* 2007; 27(3): 335-9.
- 84) Svrtlih N, Jevtovic D, Simonovic J, Delic D, Dokic L, Gvozdenovic E, et al. Older age at the time of liver biopsy is the important risk factor for advanced fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 2007; 54(80): 2324-7.
- 85) Nouredin M, Wright EC, Alter H. Association of IL28B genotype with fibrosis progression and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C: a longitudinal analysis. *Hepatology* 2013; 58: 1548-57.
- 86) Marcolongo M, Young B, Dal Pero F, Fattovich G, Peraro L, Guido M, et al. A seven-gene signature (cirrhosis risk score) predicts liver fibrosis progression in patients with initially mild chronic hepatitis C. *Hepatology* 2009; 50(4): 1038-44.
- 87) Puoti C, Guarisco R, Spilabotti L, Bellis L, Mitidieri Costanza O, Dell'Unto O, et al. Should we treat HCV carriers with normal ALT levels? The '5Ws' dilemma. *J Viral Hepat* 2012; 19(4): 229-35.

- 88) Maylin S, Laouenan C, Martinot-Peignoux M, Panhard X, Lapalus M, Nicolas-Chanoine MH, et al. Role of hepatic HCV RNA level on the severity of chronic hepatitis C and response to antiviral therapy. *J Clin Virol* 2012; 53(1): 43–7.
- 89) Bugianesi E, Salamone F, Negro F. The interaction of metabolic factors with HCV infection: does it matter? *J Hepatol* 2012; 56(1): 56–65.
- 90) Calvaruso V, Craxi A. Immunological alterations in hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2013; 19(47): 8916-23.
- 91) Zignego A, Ferri C, Pileri S, Caini P, Bianchi F. Extrahepatic manifestations of Hepatitis C Virus infection: a general overview and guidelines for a clinical approach. *Dig Liver Dis* 2.
- 92) Bose SK, Ray R. Hepatitis C virus infection and insulin resistance. *World J Diabetes* 2014; 5(1): 52-8.
- 93) Çelik İ, Akbulut A. Kronik hepatit C enfeksiyonu. *Kronik Hepatitlerin Tanı ve Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar*. Ed. Köksal İ, Leblebicioğlu H. Bilimsel Tıp Yayınevi 2007; 121-35.
- 94) Alborino F, Burighel A, Tiller FW, van Helden J, Gabriel C, Raineri A, et al. Multicenter evaluation of a fully automated third-generation anti-HCV antibody screening test with excellent sensitivity and specificity. *Med Microbiol Immunol* 2011; 200: 77-83 [PMID: 20865278 DOI:10.1007/s00430-010-0171-0]
- 95) Saludes V, González V, Planas R, Matas L, Ausina V, Martró E. Tools for the diagnosis of hepatitis C virus infection and hepatic fibrosis staging. *World J Gastroenterol* 2014; 20(13): 3431-42.
- 96) Köksal İ, Leblebicioğlu H. *Kronik Hepatitlerin Tanı ve Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar*, Bilimsel Tıp Yayınevi 2009; 188-96.
- 97) Park Y, Lee JH, Kim BS, Kim do Y, Han KH, Kim HS. New automated hepatitis C virus (HCV) core antigen assay as an alternative to real-time PCR for HCV RNA quantification. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 2253-56 [PMID: 20351215 DOI: 10.1128/JCM.01856-09]
- 98) Vermehren J, Susser S, Berger A, Perner D, Peiffer KH, Allwinn R, et al. Clinical utility of the Architect HCV Ag assay for early treatment monitoring in patients with chronic hepatitis C genotype 1 infection. *J Clin Virol* 2012; 55: 17-22 [PMID: 22698697 DOI: 10.1016/j.jcv.2012.05.008]
- 99) González V, Gomes-Fernandes M, Bascuñana E, Casanovas S, Saludes V, Jordana-Lluch E, et al. Accuracy of a commercially available assay for HCV genotyping and subtyping in the clinical practice. *J Clin Virol* 2013; 58: 249-53 [PMID: 23731847 DOI: 10.1016/j.jcv.2013.05.005]
- 100) Erdem H. *Karaciğer İğne Biyopsisi Viral Hepatit* 2013, İstanbul Medikal Yayıncılık Bilimsel Eserler Dizisi 1. Baskı 2013; 183-7.

- 101) Tsochatzis EA, Gurusamy KS, Ntaoula S, Cholongitas E, Davidson BR, Burroughs AK. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a metaanalysis of diagnostic accuracy. *J Hepatol* 2011; 54: 650-9 [PMID: 21146892 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.033]
- 102) Stebbing J, Farouk L, Panos G, Anderson M, Jiao LR, Mandalia S, et al. A meta-analysis of transient elastography for the detection of hepatic fibrosis. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 214-9.
- 103) Darnell Jr JE. STATs and gene regulation. *Science* 1997; 277: 1630–5.
- 104) Zhou Z, Hamming OJ, Ank N, Paludan SR, Nielsen AL, Hartmann R. Type III interferon (IFN) induces a type I IFN-like response in a restricted subset of cells through signaling pathways involving both the Jak-STAT pathway and the mitogen-activated protein kinases. *J Virol* 2007; 81: 7749–58.
- 105) Major ME, Dahari H, Mihalik K, Puig M, Rice CM, Neumann AU, et al. Hepatitis C virus kinetics and host responses associated with disease and outcome of infection in chimpanzees. *Hepatology* 2004; 39: 1709–20.
- 106) Neumann-Haefelin C, Thimme R. Success and failure of virus-specific T cell responses in hepatitis C virus infection. *Dig Dis* 2011; 29: 416–22.
- 107) Makowska Z, Heim MH. Interferon signaling in the liver during hepatitis C virus infection. *Cytokine* 2012; 59: 460–6.
- 108) Larrubia JR, Moreno-Cubero E, Lokhande MU, García-Garzón S, Lázaro A, Miquel J, et al. Adaptive immune response during hepatitis C virus infection, *World J Gastroenterol* 2014; 20(13): 3418-30.
- 109) Edwards VC, Tarr AW, Urbanowicz RA, Ball JK. The role of neutralizing antibodies in hepatitis C virus infection. *J Gen Virol* 2012; 93: 1-19 [PMID: 22049091 DOI: 10.1099/ vir.0.035956-0]
- 110) Zeisel MB, Cosset FL, Baumert TF. Host neutralizing responses and pathogenesis of hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2008; 48: 299-307 [PMID: 18508291 DOI: 10.1002/ hep.22307]
- 111) Diepolder HM. New insights into the immunopathogenesis of chronic hepatitis C, *Antiviral Research* 2009; 82: 103–9.
- 112) Ebinuma H, Nakamoto N, Li Y, Price DA, Gostick E, Levine BL, et al. Identification and in-vitro expansion of functional antigen-specific CD25+FoxP3+ regulatory T-cells in hepatitis C virus infection. *J Virol* 2008; 82(10): 5043-53.
- 113) Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358(9286): 958-65.

- 114) Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M. Peginterferon alfa-2a (40 kilodaltons) and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004; 140(5): 346-55.
- 115) McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML, Muir AJ, Galler GW, McCone J, et al. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2009; 361: 580-93.
- 116) Manns M, Zeuzem S, Sood A, Lurie Y, Cornberg M, Klinker H, et al. Reduced dose and duration of peginterferon alfa-2b and weight-based ribavirin in patients with genotype 2 and 3 chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2011; 55: 554-63.
- 117) Marcellin P, Cheinquer H, Curescu M, Dusheiko GM, Ferenci P, Horban A, et al. High sustained virologic response rates in rapid virologic response patients in the large real-world PROPHECY cohort confirm results from randomized clinical trials. *Hepatology* 2012; 56: 2039-50.
- 118) De Nicola S, Aghemo A, Rumi MG, Galmozzi E, Valenti L, Soffredini R, et al. Interleukin 28B polymorphism predicts pegylated interferon plus ribavirin treatment outcome in chronic hepatitis C genotype 4. *Hepatology* 2012; 55: 336-42.
- 119) Viral Hepatit Savaşım Derneği. III. Viral Hepatit Tanı ve Tedavi Rehberi Aralık 2011.
- 120) Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. An Update on Treatment of Genotype 1 Chronic Hepatitis C Virus Infection: 2011 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *AASLD Practice Guideline*.
- 121) Clark PJ, Thompson AJ, McHutchison JG. IL28B genomic-based treatment paradigms for patients with chronic hepatitis C infection: the future of personalized HCV therapies. *Am J Gastroenterol* 2011; 106(1): 38-45.
- 122) Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, Ge D. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2010; 139(1): 120-9.e18.
- 123) Abacıoğlu H. HCV Enfeksiyonlarının Tedavi Başarısında Viral Faktörlerin Önemi. *ANKEM Derg* 2012; 26 (Ek 2): 150-6.
- 124) Balagopal A, Thomas DL, Thio CL. IL28B and the Control of Hepatitis C Virus Infection. *Gastroenterology* 2010; 139(6): 1865-76.
- 125) Thomas E. Genome-Wide Association Studies: "SNPing" Away at Liver Disease. *Gastroenterol Hepatol* 2011; 7(6): 407-9.

- 126) McCarthy JJ, Li JH, Thompson A. Replicated association between an IL28B gene variant and a sustained response to pegylated interferon and ribavirin. *Gastroenterology* 2010; 138: 2307–14.
- 127) Yu ML, Dai CY, Huang JF, Chiu CF, Yang YH, Hou NJ, Lee LP, et al. Rapid Virological Response and Treatment Duration for Chronic Hepatitis C Genotype 1 Patients: A Randomized Trial. *Hepatology* 2008; 47(6): 1884-93.
- 128) Thomas DL, Thio CL, Martin MP. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009; 461(7265): 798-801.
- 129) Halfon P, Bourliere M, Ouzan D, Maor Y. A single IL28B genotype SNP rs12979860 determination predicts treatment response in patients with chronic hepatitis C Genotype 1 virus. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23(10): 931-5.
- 130) Lin CY, Chen JY, Lin TN, Jeng WJ. IL28B SNP rs12979860 Is a Critical Predictor for On-Treatment and Sustained Virologic Response in Patients with Hepatitis C Virus Genotype-1 Infection. *PLoS One* 2011; 6(3): e18322.
- 131) Mangia A, Thompson AJ, Santoro R, Piazzolla V. IL28B polymorphism determines treatment response of patients with hepatitis C genotypes 2 or 3 who do not achieve a rapid virologic response. *Gastroenterology* 2010; 139(3): 821-7, 827.
- 132) Sarrazin C, Susser S, Doehring A, Lange CM. Importance of IL28B gene polymorphisms in hepatitis C virus genotype 2 and 3 infected patients. *J Hepatol* 2011; 54(3): 415-21.
- 133) Cooper CL, Druyts E, Thorlund K, Nachega JB, El Khoury AC, O'Regan C, Mills EJ. Boceprevir and telaprevir for the treatment of chronic hepatitis C genotype 1 infection: an indirect comparison meta-analysis. *Ther Clin Risk Manag* 2012; 8: 105-30.
- 134) Kwo PY. Phase III results in Genotype 1 native patients: predictors of response with boceprevir and telaprevir combined with pegylated interferon and ribavirin. *Liver Int* 2012; 32(1): 39-43.
- 135) Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, et al. Amino Acid Substitution in Hepatitis C Virus Core Region and Genetic Variation Near the Interleukin 28B Gene Predict Viral Response to Telaprevir with Peginterferon and Ribavirin. *Hepatology* 2010; 52(2): 421-9.
- 136) Fabris C, Falletti E, Cussigh A, Bitetto D. IL-28B rs12979860 C/T allele distribution in patients with liver cirrhosis: Role in the course of chronic viral hepatitis and the development of HCC. *J Hepatol* 2011; 54(4): 716-22.
- 137) Marabita F, Aghemo A, de Nicola S, Rumi MG, Cheroni C, Scavelli R, et al. Genetic variation in the interleukin-28B gene is not associated with fibrosis

- progression in patients with chronic hepatitis C and known date of infection. *Hepatology* 2011; 54: 1127-34.
- 138) Cavalcante LN, Abe-Sandes K, Angelo ALD, Machado TMB, Lemaire DC, Mendes CMC, et al. IL28B polymorphisms are markers of the therapy response and are influenced by genetic ancestry in chronic hepatitis C patients from an admixed population. *Liver Int* 2012; 32: 476-86.
 - 139) Ferreira PRA, Santos C, Côrtes R, Reis A, Tenoren SB, Silva MH, et al. Association between IL28B gene polymorphisms and sustained virological response in patients coinfecting with HCV and HIV in Brazil. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 509-10.
 - 140) Şimşek H, Alp A, Yilmaz B, Balaban YH, Altun B, Uzun O, et al. The frequency, the association with treatment response and spontaneous remission of IL28B polymorphisms (rs12979860, rs8099917) among HCV patients. *National Hepatology Congress, Ankara* 2011; 53.
 - 141) Kandemir A, Arabul M, Alper E, Çelik M, Aslan F, Akay HS, Unsal B. The effects of IL28B polymorphism on sustained viral response in patients with HCV. *National Hepatology Congress, Ankara* 2011; 14.
 - 142) Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009; 41(10): 1100-4.
 - 143) Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009; 41(10): 1105-9.
 - 144) Fukuhara T, Taketomi A, Motomura T, Okano S, Ninomiya A, Abe T, et al. Variants in IL28B in liver recipients and donors correlate with response to peg-interferon and ribavirin therapy for recurrent hepatitis C. *Gastroenterology* 2010; 139: 1577-85.
 - 145) Shebl FM, Maeder D, Shao Y, Prokunina-Olsson L, Schadt EE, O'Brien TR. In the absence of HCV infection, interferon stimulated gene expression in liver is not associated with IL28B genotype. *Gastroenterology* 2010; 139: 1422-4.
 - 146) Chen Y, Xu HX, Wang LJ, Liu XX, Mahato RI, Zhao YR. Meta-analysis: IL28B polymorphisms predict sustained viral response in HCV patients treated with pegylated interferon-alpha and ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36(2): 91-103.
 - 147) Schreiber J, Moreno C, Garcia BG, Louvet A, Trepo E, Henrion J, et al. Meta-analysis: the impact of IL28B polymorphisms on rapid and sustained virological response in HCV-2 and -3 patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 4.

- 148) Sousa MJ, Rodríguez AF, Fulgencio MG, Álvarez MG, Resino S. Meta-analysis: implications of interleukin-28B polymorphisms in spontaneous and treatment related clearance for patients with hepatitis C. *BMC Medicine* 2013; 11: 6.
- 149) Jia Z, Ding Y, Tian S, Niu J, Jiang J. Test of IL28B polymorphisms in chronic hepatitis C patients treated with PegIFN and ribavirin depends on HCV genotypes: Results from a meta-analysis. *PLoS ONE* 2012; 7: e45698.
- 150) Moghaddam A, Melum E, Reinton N, Ring-Larsen H, Verbaan H, Bjoro K, Dalgard O. IL28B genetic variation and treatment response in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection. *Hepatology* 2011; 53: 746–54.
- 151) Ramos JA, Ramo AA, Hoffmann L. A single nucleotide polymorphism, rs129679860, in the IL28B locus is associated with the viral kinetics and a sustained virological response in a chronic, monoinfected hepatitis C virus genotype-1 Brazilian population treated with pegylated interferon-ribavirin Rio de Janeiro 2012; 107(7): 888-92.
- 152) Sarasin-Filipowicz M, Oakeley EJ, Duong FH, Christen V, Terracciano L, Filipowicz W, Heim MH. Interferon signaling and treatment outcome in chronic hepatitis C. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 7034–9.
- 153) Chen L, Borozan I, Feld J, Sun J, Tannis LL, Coltescu C, et al. Hepatic gene expression discriminates responders and nonresponders in treatment of chronic hepatitis C viral infection. *Gastroenterology* 2005; 128: 1437–44.
- 154) Honda M, Sakai A, Yamashita T. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2010; 139: 499–509.
- 155) Urban TJ, Thompson AJ, Bradrick SS. IL28B genotype is associated with different expression of intrahepatic interferon stimulated genes in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010; 52: 1888–96.
- 156) Jung YK, Kim JH, Ahn SM. Role of Interleukin 28B-related Gene Polymorphisms in Chronic Hepatitis C and the Response to Antiviral Therapy in Koreans. *J Clin Gastroenterol* 2013.
- 157) Faruki H, Albrecht J, Morrison P. Genotype frequencies of IL28B genetic polymorphisms rs12979860 and rs8099917 in a large genetic database of various ethnic/racial origin individuals. *Hepatology* 2011; 54(suppl): 816A.
- 158) Mizokami M. Discovery of critical host factor, IL-28B, associated with response to hepatitis C virus treatment. *J Gastroenterol and Hepatol* 2012; 27: 425–9.
- 159) Freeman AJ, Marinos G, Ffrench RA, Lloyd AR. Intrahepatic and peripheral blood virus-specific cytotoxic T lymphocyte activity is associated with a response to combination IFN-alpha and ribavirin treatment among patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2005; 12: 125-9.

- 160) Berg T, Sarrazin C, Herrmann E, Hinrichsen H, Gerlach T, Zachoval R, et al. Prediction of treatment outcome in patients with chronic hepatitis C: significance of baseline parameters and viral dynamics during therapy. *Hepatology* 2003; 37: 600-9.
- 161) Abe H, Ochi H, Maekawa T, Hayes CN, Tsuge M, Miki D, et al. Common variation of IL28 affects gamma-GTP levels and inflammation of the liver in chronically infected hepatitis C virus patients. *J Hepatol* 2010; 53.
- 162) Thompson AJ, Clark PJ, Fellay J, Muir AJ, Tillmann HL, Patel K, et al. IL28B genotype is not associated with advanced hepatic fibrosis in chronic hepatitis C patients enrolled in the IDEAL study. *Hepatology* 2010; 52 (Suppl.1): 437.
- 163) Rauch A, Kutalik Z, Descombes P, Cai T, Di Iulio J, Mueller T, et al. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. *Gastroenterology* 2010; 138(4): 1338–45.
- 164) Stattermayer AF, Stauber R, Hofer H, Rutter K, Beinhardt S, Scherzer TM, et al. Impact of IL28B Genotype on the Early and Sustained Virologic Response in Treatment-Naïve Patients With Chronic Hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9 (4): 344–50.
- 165) Villela-Nogueira CA, Perez RM, de Segadas Soares JA, Coelho HS. Gamma-glutamyl transferase (GGT) as an independent predictive factor of sustained virologic response in patients with hepatitis C treated with interferon-alpha and ribavirin. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 728-30.
- 166) Tillmann HL, Patel K, Muir AJ. Beneficial IL28B genotype associated with lower frequency of hepatic steatosis in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2011; 55: 1195–200.
- 167) Doehring A, Hofmann WP, Schlecker C, Zeuzem S, Susser S, Geisslinger G, et al. Screening for IL28B gene variants identifies predictors of hepatitis C therapy success. *Antivir Ther* 2010; 15(8): 1099–106.
- 168) Kurosaki M, Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, et al. A predictive model of response to peginterferon ribavirin in chronic hepatitis C using classification and regression tree analysis. *Hepatology* 2010; 51: 251–60.
- 169) Nelson DR, Benhamou Y, Chuang WL, Lawitz EJ, Rodriguez-Torres M, Flisiak R, et al. Randomized trial of peginterferon alfa-2b for the treatment of patients with chronic hepatitis C virus genotype 2 or 3. *Gastroenterology* 2010; 139: 1267–76.
- 170) Tillmann HL, Thompson AJ, Patel K. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice. *Gastroenterology* 2010; 139(5): 1586–92. 92 e1

- 171) Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 2405–16.
- 172) Poordad F, McCone J Jr, Bacon BR. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 1195–206.
- 173) Poordad F, Bronowicki JP, Gordon SC. Factors that predict response of patients with hepatitis C virus infection to boceprevir. *Gastroenterology* 2012; 143: 608–18.
- 174) Jacobson IM, Calett I, Marcellin P. Telaprevir substantially improved SVR rates across all IL28B genotypes in the ADVANCE trial. *J Hepatol* 2011; 54(Suppl.): 542–3.
- 175) Stattermayer AF, Scherzer T, Beinhardt S. Review article: genetic factors that modify the outcome of viral hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 1059–70.

10. EKLER

Ek 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu.

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Katılımcı / Gönüllünün Protokol Numarası:

1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

- a. Araştırmanın Adı: ‘Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği’nde takip edilen kronik hepatit C hastalarında IL-28B gen polimorfizmi ve kalıcı viral yanıt ile ilişkisinin değerlendirilmesi’ adlı bir bilimsel araştırmadır.
- b. Araştırmanın İçeriği: Kronik hepatit C hastalarından alınan kan örneğinde IL-28B gen polimorfizmi denilen testin Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı ve Tıbbi Genetik bölümünce yapılması ve hastaların daha önce aldıkları tedaviye yanıtla olan ilişkisinin değerlendirilmesi.
- c. Araştırmanın Amacı: Kronik hepatit C hastalarında gen polimorfizmi testini yaparak daha önce polikliniğimizde aldıkları tedavi sonrası kalıcı viral yanıt ile ilişkisini değerlendirmek, kalıcı viral yanıt alınma olasılığının yüksek olduğu grup hastaları belirleyerek tedavinin olası yan etkileri ve maliyetinin azaltılmasını sağlamak.
- d. Araştırmanın Öngörülen Süresi: 6 ay
- e. Araştırmaya Katılması Beklenen Katılımcı / Gönüllü Sayısı: 70
- f. Araştırmada İzlenecek Deneysel İşlemler: Yok

2. Gönüllünün/Katılımcının Uygulama Sırasında Karşılaşabileceği Riskler ve Rahatsızlıklar:

Yukarıda açıklanan araştırma sırasında uygulanacak olan işlemlerin bana aşağıda belirtilen riskleri ve rahatsızlıkları getirebileceğinin bilincindeyim:

Araştırma için 1 tüp kan örneği alınması yeterlidir. Herhangi bir ilaç tedavisi verilmeyecektir. Bu nedenle olası rahatsızlık sadece kan alınan yerde morluk oluşabilmesidir.

3. Gönüllüler/Katılımcılar İçin Araştırmadan Beklenen Yarar:

Kalıcı viral yanıt alınamayan hastalarda yanıt alınamama nedenlerinden biri saptanmış olacak ve pegile interferon+ribavirin+proteaz inhibitörlü tedaviye aday olan hastalarda kalıcı viral yanıt için öngörüle bulunularak bu konuda literatüre katkı sağlanması hedeflenmektedir.

4. Araştırma Konusundaki Soruların Cevaplandırılması:

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile haklarım konusunda bilgi almak için aşağıda belirtilen kişiyle bağlantı kurmam yeterli olacaktır.

Adı- Soyadı: Sevil YILMAZ

Telefon: 05058841592

5. Zararların Karşılanması:

Bu çalışmaya katıldığım için zarar göreceğim olursam, gerekli olan tıbbi bakımın sorumlu araştırmacı tarafından yerine getirileceği, uygulanan işleme bağlı olarak gelişebilecek her tür hasara (sakatlanma ve ölüm dahil) karşı güvencede olduğum, masraflarımın karşılanacağı bana bildirildi.

6. Araştırma Giderleri:

Araştırma kapsamındaki bütün işlemler için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

7. Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma:

- a. Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.
- b. Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.
- c. Sorumlu araştırmacıya haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.
- d. Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle ya da araştırma prosedürüne bağlı olarak onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.
- e. Araştırma ile ilgili ve benim araştırmaya katılmaya devam etme isteğimi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde zamanında bilgilendirileceğim anlatıldı.

8. Gizlilik:

a. Çalışma süresince tutulan bütün kayıtlar ve dosya bilgileri gerektiğinde kullanılabilir. Bu çalışmadan elde edilen bilgiler, verilere gereksinimi olan öteki ülkelerin hükümetlerine ve ilgili birimlerine iletilebilir. Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

b. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniği'nde takip edilen kronik hepatit C hastalarında IL-28B gen polimorfizmi ve kalıcı viral yanıt ile ilişkisinin değerlendirilmesi adlı araştırma kapsamında alınan kan örneğimin

- a) Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum
- b) İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum
- c) Hiçbir şekilde kullanılmasına izin vermiyorum....

9. Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye / katılımcıya verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni kendi anadilimde okudum ya da bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Çalışmaya katılmadığım ya da katıldıktan sonra çekildiğim durumda, hiçbir yasal hakkımdan vazgeçmiş olmayacağım. Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün / Katılımcının Adı- Soyadı:

Yaş ve Cinsiyeti:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

.....

Tarih:

Velayet ya da vesayet altında bulunanlar için;

Veli ya da Vasinin Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası):

.....

.....

Tarih:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının

Adı- Soyadı : Dr. Sevil Yılmaz

İmzası :

Tarih :

Onam alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı- Soyadı :

İmzası :

Görevi :

Tarih :