



T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ

TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ

**HEPATİT C VİRÜS (HCV) İLE İNFEKTE HASTALARDA
HEPATOSELÜLER KARSİNOMA (HSK) İLE İLİŞKİLİ LONG
NON-CODİNG RNA (LNCRNA)'LARIN DİREK ETKİLİ
ANTİVİRAL AJANLAR İLE TEDAVİ ÖNCESİ VE TEDAVİ
SONRASI EKSPRESYON SEVİYELERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Damla DEMİR

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mehmet DEMİR

HATAY – 2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ

HEPATİT C VİRÜS (HCV) İLE İNFEKTE HASTALARDA
HEPATOSELÜLER KARSİNOMA (HSK) İLE İLİŞKİLİ LONG
NON-CODİNG RNA (LNCRNA)'LARIN DİREK ETKİLİ
ANTİVİRAL AJANLAR İLE TEDAVİ ÖNCESİ VE TEDAVİ
SONRASI EKSPRESYON SEVİYELERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Damla DEMİR
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet DEMİR

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HEPATİT C VİRÜS (HCV) İLE İNFEKTE HASTALARDA HEPATOSELÜLER KARSİNOMA (HSK) İLE İLİŞKİLİ LONG NON-CODİNG RNA (LNCRNA)'LARIN DİREK ETKİLİ ANTİVİRAL AJANLAR İLE TEDAVİ ÖNCESİ VE TEDAVİ SONRASI EKSPRESYON SEVİYELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Damla DEMİR

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

İmza).....

Prof.Dr.Yusuf ÖNLEN
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tezin “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

(İmza).....

Prof. Dr. Hasan KAYA
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

(İmza).....

Prof. Dr. Mehmet DEMİR
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. Mehmet DEMİR
2. Prof. Dr. Muhammet Murat ÇELİK
3. Doç. Dr. Adnan TAŞ

III. İÇİNDEKİLER

IV. TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	III
V. RESİM LİSTESİ.....	IV
VI. KISALTMALAR ve SİMGELER.....	V
VII. TEŞEKKÜR.....	VIII
VIII. ÖZET.....	IX
IX. ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. Hepatit C Virüsü.....	2
2.2.1. Epidemiyoloji ve HCV Genom Yapısı.....	3
2.3. Ribonükleik asit (RNA) Alt Grupları ve Fonksiyonları	6
2.3.1. Kodlayan (Coding) RNA.....	7
2.3.2. mRNA (Messenger RNA).....	8
2.3.3. Transkripsiyon İşlemleri.....	8
2.3.5. Kısa Kodlanmayan RNA (scnRNA).....	9
2.3.6. Orta Kodlanmayan RNA.....	11
2.3.7. Uzun Kodlanmayan RNA.....	12
2.4. Hastalığın Tanısı ve Seyri.....	17
2.5. Kimlere Test Yapalım?.....	18
2.5.1. Tanı ve Test Yaklaşımı.....	19
2.5.2. Biyokimyasal Testler.....	20
2.5.3. Serolojik Testler.....	20
2.5.4. Moleküler Testler.....	22
2.5.5. Karaciğer Biyopsisi.....	22
2.6. Klinik	24
2.6.1. Akut Hepatit C Klinik Bulgular.....	24
2.6.2. Kronik Hepatit C Klinik Bulgular.....	24
2.7. Tedavi	25
2.7.1. Tedavi Öncesi Değerlendirme.....	25
2.7.2. Biyokimya Testleri.....	26
2.7.3. Genotip 1 ile Enfekte Hastalarda Tedavi.....	28
2.7.4. Genotip 2 İle Enfekte Hastalarda Tedavi.....	33
2.7.5. Genotip 3 İle Enfekte Hastalarda Tedavi.....	34
2.7.6. Genotip 4 İle Enfekte Hastalarda Tedavi.....	35
2.7.8. Özel Hasta Grupları.....	37
2.7.9. Karaciğer Transplantasyonu Sonrası Hepatit C Tedavisi.....	38
2.7.10. HBV Koenfeksiyonu Olan Hastalarda Tedavi.....	39
2.7.11. Kronik Böbrek Hastaları.....	40
2.7.12. Solid Organ Transplant Alıcıları (Böbrek Nakilli Hastalar Dahil).....	41
2.7.13. Madde Bağımlılarında HCV Tedavisi.....	41
2.7.14. HIV Koenfeksiyonu Olanlarda Hepatit C Tedavisi.....	42
2.7.15. Akut Hepatit C Tedavisi.....	46
2.8. Hepatosellüler Karsinoma Tanı Ve Tedavisi.....	48

2.8. İnterlökin-6.....	51
2.9.1. Hepatit C’de Siroz Ve HSKGelişiminde IL-6’nın İşlevi.....	53
3. MATERYAL VE METOD.....	55
3.1. Örneklerin Toplanması:.....	55
3.2. Serum Örneklerinin Eldesi:.....	55
3.3. Tam Kan Plazma Örneklerinin Eldesi:.....	56
3.4. Eş Zamanlı Pcr (Real Time-Polymerase Chain Reaction) İle Gen İfade Analizleri.....	56
3.5. RNA Eldesi.....	57
3.5.1. RNA Eldesi Protokolü.....	57
3.5.2. RNA Ölçümü.....	58
3.6. cDNA Elde Edilmesi.....	58
3.6.1. Prosedür.....	59
3.6.2. Real Time PCR protokolü.....	60
3.6.3. ELİSA çalışması.....	61
3.6.4. IL-6 Çalışma Prosedürü.....	62
3.6.5. İstatistik.....	62
4. BULGULAR.....	63
5. TARTIŞMA.....	68
6. SONUÇ.....	75
7. KAYNAKLAR.....	76
8. ÖZGEÇMİŞ.....	88

IV. TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo 1. Hepatit C Virüsü İçin Test Endikasyonları.....	18
Tablo 2. HCV Enfeksiyonunun Anti HCV ve HCV RNA Test Sonuçlarına Göre Yorumlanması.....	23
Tablo 3. Hepatit C Tedavisinde Dünyada Onaylanmış Tedaviler.....	27
Tablo 4. Gen İfade Analizleri İş Akışı.....	55
Tablo 5. Gen İfade Analizlerinde Kullanılan Malzemeler.....	55
Tablo 6. cDNA Sentezinde Kullanılan Karışım.....	57
Tablo 7. cDNA Sentezi İçin Sıcaklık Döngüleri.....	58
Tablo 8. PCR Reaksiyon Karışımı.....	59
Tablo 9. PCR İçin Reaksiyon Koşulları.....	59
Tablo 10. Çalışmaya Dahil Edilen Genlerin Listesi.....	60
Tablo 11. Çalışmada Kullanılan Malzeme ve Cihazlar.....	60
Tablo 12. IL-6 Standart Solüsyon Hazırlama Prosedürü.....	61
Tablo 13. Hastaların Hastalık Özelliklerinin Dağılımı.....	62
Tablo 14. Hastaların Tedavi Öncesi Ve Sonrası Değerlerinin Karşılaştırması.....	63
Tablo 15. Hastaların Tedavi Öncesi Ve Sonrası Gen Ekspresyonlarının Karşılaştırması.....	64
Şekil 1. Tedavi öncesi ve sonrası IL-6 değerlerinin karşılaştırması.....	64
Şekil 2. Tedavi öncesi ve sonrası ACT-B değerlerinin karşılaştırması.....	65

V. RESİM LİSTESİ

Resim 1. Hepatit C virüsünün genom organizasyonu, virüsün RNA'sı ve kodladığı proteinler.....	3
Resim 2. HCV Klinik Seyri.....	24



VI. KISALTMALAR ve SİMGELER

HAV	: Hepatit A
HBV	: Hepatit B
HCV.	: Hepatit C
NANBH	: Non Hepatit A-B
RNA.	: Ribonükleik Asit
UTR.	: Untranslated Region
ORF.	: Open Reading Frame
PCR.	: Polymerase Chain Reaction
RT	: Realtime
TMA.	:Transcription-Mediated Amplification
HVR 1	: Hypervariable Region 1
DEA.	: Doğrudan Etkili Antiviraller
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virusü
NS	: Non-Structural
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
mRNA	: Messenger RNA
tRNA	: Transfer RNA
rRNA	: Ribozomal RNA
SnRNA	: Küçük Nükleer RNA
hnRNA	: Heterojen Nükleer RNA
snoRNA.	: Küçük Nükleolar RNA
RNaseP.	: Ribonükleaz P
TER.	: Telomeraz RNA
SiRNA	: Kısa-İnterferans RNA
SncRNA.	: Küçük Kodlanmayan RNA
mncRNA	: Orta Kodlanmayan RNA
lncRNA.	: Long Non-Coding RNA
RNP	: Ribonükleoprotein
PiRNA	: piwi RNA
tiRNA	: tRNA İçeren Stres Bağımlı RNA

crasiRNA.	: Sentromer Tekrar İlişkili Small RNA
dsRNA.	: Çift İplikçili RNA
PTGS.	: Transkripsiyon Sonrası Gen Susturma
AA.	: Akseptör Heliks
D	: Dihidrouridin
T	: Timin
AC.	: Antikodon
POLII.	: RNA Polimeraz II
MALAT1	: Metastazı İle İlişkili Akciğer Adenokarsinom Transkripsiyonu 1
FSHD	: Fasioskapulohümorale Müsküler Distrofi
GK	: Gastrik Kanser
GAPLİNC	: Gastrik Adenokarsinoma Prediktif Uzun İntergenik Kodlamayan RNA
PVT 1	: Plazmasitoma Varyant Translokasyon
PRC2	: Polikom Baskılayıcı Kompleks 2
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
PAMP	: Patojen İlişkili Moleküler Model
IFN	: İnterferon
ISR	: IFN İle Uyarılmış lncRNA
BISPR.	: BST2 İnterferon İle Uyarılmış Pozitif Regülatör
ISG	: İnterferon ile Uyarılmış Gen
CSR	: HCV İle Uyarılan RNA
ALT	: Alanin Aminotransferaz
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
TMA	: Transcription-Mediated Amplification
IU	: İnternasyonal Ünite
USG	: Ultrasonografi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
AFP	: Alfa Feto Protein
RFA	: Radyofrekans Ablasyon
ARFI	: Acoustic Radiation Force Impulsion

INR	: İnternational Normalized Ratio
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
AASLD.	: American Association for the Study of Liver Diseases
TKAD.	: Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği
VHSD	: Viral Hepatit Savaşım Derneği
EASL	: European Association for the Study of the Liver
HBsAg.	: Hepatit B Yüzey Antijeni
Anti-HBS.	: Hepatit B Yüzey Antikoru
Anti-HBc IgG	: Hepatit B Core Antikoru İmmünglobülin G
OST	: Opioid Substitüsyon Tedavisi
TDF	: Tenofovir Disoproksil Fumarat
TAF	: Tenofovir Alafenamid
CRP	: C-Reaktif Protein
SAA	: Serum Amiloid A
EDTA	: Etilendiamin Tetra Asetik Asit
CREB1	: CAMP'ye Cevap Veren Element Bağlayıcı Protein 1
SIR 1	: Sessiz Bilgi Regülatörü-1
KHDAK	: Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri
BMI	: Body Mass İndex

VII. TEŞEKKÜR

İç Hastalıkları Uzmanlık eğitimim boyunca gastroenterolojiye olan ilgimin oluşmasına beni teşvik eden ve kendimi geliştirmem için bana yeni bir hedef sunan, tez danışman hocam Sayın Prof.Dr.Mehmet DEMİR'e teşekkürlerimi bir borç bilirim. Uzmanlık eğitimim süresince destek ve katkılarını esirgemeyen, başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı ve Rektör Sayın Prof. Dr. Hasan KAYA olmak üzere değerli hocalarım Sayın Doç.Dr.Muhammet Murat ÇELİK'e, Sayın Prof.Dr.Faruk Hilmi TURGUT'a, Sayın Prof.Dr.Edip UÇAR'a, Sayın Dr.Öğr.Üyesi Müge ÖZSAN YILMAZ'a, Sayın Dr.Öğr.Üyesi Eren GÜRKAN'a, Sayın Doç.Dr.Gül İLHAN'a, Sayın Dr.Öğr.Üyesi Gezmiş KİMYON'a ve Sayın Dr.Öğr.Üyesi İsa DEDE'ye teşekkürlerimi sunarım. Uzmanlık eğitimim boyunca iyi ve kötü günümde yanımda olan ve beni hep destekleyen sevgili arkadaşlarım Uzm. Dr. Feyyaz BAY, Dr.Ümran GEZİCİ GÜNEŞ, Uzm. Dr. Çiğdem ÖZTÜRK başta olmak üzere tüm asistan doktor arkadaşlarıma teşekkürlerimi bir borç bilirim. Kendileriyle tanıştığım ilk günden beri tüm samiyetleri ile bana kucağın açan, hayatıma iyilik katan ve kendilerinden çok şey öğrendiğim gizli öğretmenlerim Mustafa TURAN'a, Çiğdem SAVAŞ'a, Volkan BAŞTÜRK'e ve Gamze ARSLAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Biricik annemiz ve sevgili arkadaşım Nilgün DUMAN başta olmak üzere birlikte çalışmayı güzel hale getiren tüm hematoloji servisine teşekkürlerimi sunarım. Tezimi hazırlama sürecimde benden yardımlarını ve bilgilerlerini esirgemeyen fakültemizin değerli emektarları Sayın Sema SABUNCULAR'a, Sayın Erkan KODAZ' a ve Sayın Ahmet SAKIZCI'ya teşekkürlerimi sunarım. Tezimi hazırlarken benden desteklerini esirgemeyen Sayın Öğr.Gör.Dr.Hamza Malik OKUYAN'a, Sayın Doç.Dr.Meral URHAN KÜÇÜK'e, Dr.Ahmet BASUTÇU'ya, Dr.Betül SOYLU'ya teşekkürlerimi sunarım. Dört senelik eğitim ve çalışma hayatım boyunca bana yardımcı olan çalışma fırsatı bulabildiğim dahiliye bölümü sekreter ve hemşireleri başta olmak üzere tüm mesai arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Eğitim ailede başlar, bugüne kadar arkamda desteklerini ve üzerimden gölgelerini eksik etmeyen fedakar anneme ve babama , biricik kardeşime herkesten önce teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Dr.Damla DEMİR

VIII. ÖZET

HEPATİT C VİRÜS İLE İNFEKTE HASTALARDA HEPATOSELÜLER KARSİNOMA (HSK) İLE İLİŞKİLİ LONG NON-CODİNG RNA (LNCRNA)'LARIN DİREK ETKİLİ ANTİVİRAL AJANLAR İLE TEDAVİ ÖNCESİ VE TEDAVİ SONRASI EKSPRESYON SEVİYELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Amaç: Hepatit C virüs (HCV) ile enfekte hastalarda MALAT1 ve HOTAIR ekspresyon seviyelerinin ve interlökin-6 (IL-6) seviyelerinin direk etkili antiviraller ile tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırılarak bu seviyelerin değişip değişmediğinin değerlendirilmesi ve elde edilen veriler doğrultusunda HCV enfeksiyonun ve kronik karaciğer inflamasyonun önlenmesi konusunda yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesine katkı sağlayacak klinik verilerin toplanması çalışmamızın amacını oluşturmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji Kliniği'ne başvuran 32 kronik hepatit C hastası dahil edilmiştir. Hastalardan dört tüp kan alınarak santrifüj edilen örnekler 80°C'de saklanmıştır. Daha sonra RNA izolasyonları ve PCR yöntemi ile kantitatif uzun kodlanmayan RNA ölçümleri ve ELISA yöntemi ile IL-6 ölçümleri yapılmıştır.

Bulgular: Hastaların tedavi öncesi HCV RNA'ları pozitif idi. Tedavi sonrası 32 hastanın 31'unda HCV RNA negatif, 1 hastada pozitif idi. Tedavi öncesi ve sonrası IL-6 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma vardı ($p < 0,0001$). Hastaların tedavi öncesi ve sonrasında MALAT1 ve HOTAIR ekspresyon seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı ($p > 0,05$). Tedavi öncesi ve sonrası ACBT seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma vardı ($p < 0,0001$).

Sonuç: Çalışmamızda HOTAIR, MALAT1 ve IL-6'nın kronik hepatit C hastalarında tedavi öncesi ve sonrası değerleri karşılaştırılmış, ancak MALAT1 ve HOTAIR seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Buna karşılık IL-6 seviyelerinde tedavi sonrasında tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: HCV; Hepatosellüler Karsinoma; HOTAIR; MALAT1; IL-6

IX. ABSTRACT

THE COMPARISON OF PRE-AND POST-TREATMENT EXPRESSION LEVELS OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA (HCC) RELATED LONG NONCODING RNA (LNCRNA) IN HEPATITIS C VIRUS INFECTED PATIENTS WHO HAVE BEEN TREATED WITH DIRECT ACTING ANTIVIRAL AGENTS

Aim: The aim of this study is to collect clinical data that will contribute to the development of new treatment methods in chronic hepatitis C virus infection and preventing inflammation in liver by comparing the levels of MALAT1 and HOTAIR expression and interleukin-6 (IL-6) levels before and after treatment with direct-acting antivirals in patients infected with hepatitis C virus (HCV).

Materials and Methods: Thirty-two chronic hepatitis C patients who admitted to the Gastroenterology Clinic of Mustafa Kemal University Medical Faculty Hospital were included in the study. Four tubes of blood were collected and centrifuged samples were stored at 80°C. RNA isolation and quantitative RNA measurements by PCR and IL-6 measurements by ELISA were performed from the stored plasma samples.

Results: HCV RNAs were positive before treatment. After treatment, HCV RNA was negative in 31 of 32 patients and positive in 1 patient. There was a statistically significant decrease in IL-6 levels before and after treatment ($p=0.0001$). There was no statistically significant difference between MALAT1 and HOTAIR expression levels before and after treatment ($p>0,05$). There was a statistically significant decrease in ACBT levels before and after treatment ($p=0,0001$).

Conclusion: In our study, pre- and post-treatment values of HOTAIR, MALAT1 and IL-6 were compared in patients with chronic hepatitis C, but there was no statistically significant difference in MALAT1 and HOTAIR levels. In contrast, a statistically significant decrease was found in IL-6 levels after treatment compared to pre-treatment.

Keywords: HCV; Hepatocellular Carcinoma; HOTAIR; MALAT1; IL-6



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Hepatit C virüsü (HCV) dünya genelinin %3'ünü etkileyen kronik hepatite, karaciğer sirozu ve hepatosellüler karsinoma (HSK) gelişmesine yol açan halk sağlığı problemlerinden bir tanesidir. Son dönemde tedavideki değişimler HCV'de direk etkili antiviraller (DEA) ile %95 oranında kalıcı viral yanıt (KVY) elde edilmektedir. Yeni direkt etkili antiviraller ile tedavi deneyimleri KVY açısından umut vericidir. Bu yeni tedaviler ile virüsün 20-30 yıl içerisinde eradikasyonunun sağlanabileceği düşünülmektedir. Hepatoselüler karsinom (HSK) dünyada en sık görülen kanserlerden biridir. HSK gelişiminin başlıca risk faktörleri alkolik, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı ve viral hepatitlerdir. Gelişmiş ülkelerde en sık neden viral hepatitlerdir. HCV enfeksiyonunun antivirallerle tedavisi sonucu sağlanan KVY hepatit inflamasyonunda azalma ve fibroziste gerileme ile birlikte. Antiviral tedaviye yanıt veren hastalarda HSK insidansında azalma olduğu saptanmıştır. Hücre sitoplazmasında bulunan, 200'ün üzerinde nükleotit dizilimi olan ve protein kodlamayan RNA'lar için lncRNA terimi kullanılır. Literatürde bazı lncRNA'lar HSK gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Bunlardan en sık bilinen ve HSK ile belirgin olarak ilişkilendirilenler; HOTAIR, HULC, LINC00152, HEIH, H19, MALAT1, HOTTIP, MVIH, MEG3, LINC01419'dur. Daha önce yapılan klinik çalışmalarda belirlenen bu lncRNA'ların HSK'da artan ve azalan ekspresyon seviyelerinin çeşitli kanser mekanizmasında rol oynadıkları saptanmıştır. Kronik hepatit C enfeksiyonunun ileri dönem komplikasyonu ve ciddi bir sağlık problemi olan HSK'nın erken teşhisi ve tedaviye yanıtların değerlendirilmesi için tanısal belirteçlerin oluşturulması gerekliliği doğmuştur. HSK genetiğinin araştırılması bu konuda yapılacak çalışmalara ışık tutabilir. Bizim bu çalışmadaki amacımız kronik hepatit C'li hastalarda lncRNA düzeylerinin tedavi ile nasıl etkilendiğini araştırmak idi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Hepatit A (HAV) ve B (HBV) virüslerinin daha 1970'lerde sensitif ve spesifik yöntemlerle kolaylıkla tespit edilmelerinden sonra, bu iki viral ajanın dışında özellikle transfüzyonla bulaşabilen başka hepatit virüslerin de olabileceği düşünülmüştür. Sankar'ın kuluçka dönemi HAV ve HBV'den farklı olan bir hepatit etkeninin varlığını göstermesi yanında çeşitli epidemiyolojik, hayvan ve laboratuvar çalışmaları sonucunda bir veya daha fazla viral ajan varlığı bildirilmiştir (1).

Önceleri nonA ve nonB hepatit (NANBH) olarak isimlendirilen bu hepatit türünü 1974 yılında Prince ve ark. 'Hepatit C' olarak tanımlamışlardır (1). Ancak 1989 yılında, şimdi hepatit C virüsü (HCV) olarak tanımladığımız etkenin genomu, deneysel olarak enfekte şempanzelerin karaciğer ve plazmasından klonlanmıştır (2)

2.2. Hepatit C Virüsü

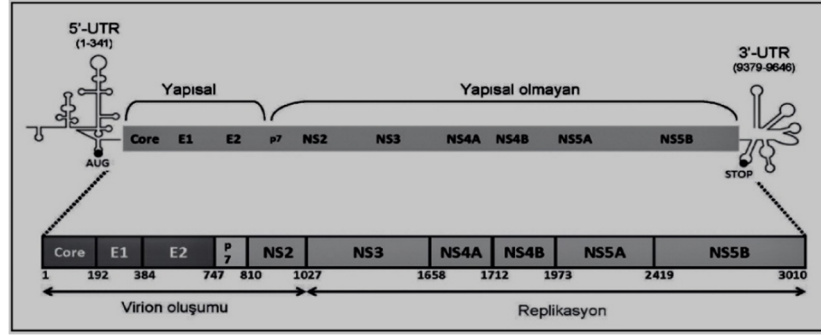
Hepatit C Virüsü Hepacivirus genusunda Flaviviridae ailesinde yer alır. Yaklaşık 50nm büyüklüğünde ve yaklaşık 9600 nükleotid içeren bir virüstür. Dış tarafında lipitten yapılmış ikozaedral simetrik bir zarf bulunur. Zarf 30-35nm çapında bir nükleokapsidi çevreler ve zarfı delen ince dikensi yapıları, 33nm'lik core proteinleri ve bunun sardığı tek zincirli pozitif polaritede ribonükleik asit (RNA) bulunduran virüstür (3). Hücre kültüründe üretilmeyişi ve serumda düşük titrelerde bulunmasından dolayı virionun özellikleri ayrıntılı olarak bilinmemektedir. Virüsün biyolojik özellikleri tam olarak tanımlanmayınca; virionun direnci, antivirallerin etkisi, epidemiyolojisi, tedavisi ve HCV aşısı ile ilgili temel çalışmalarda da çok

sınırlı kalınmıştır. Virüsün enfeksiyözitesi +4°C’de göreceli, -70°C’de kesinlikle stabildir. Enfekte plazmanın inaktivasyonu için 100°C’de 5 dakika, 82°C’de 72 saat ısıtılma, pastörizasyon, eter, kloroform, formalin veya solvent/deterjan ile muamele gibi yöntemler gerekmektedir (4). Çok sayıda genotip ve subgenotipe sahip olmaları, hızla mutasyona uğrama ve immün nötralizasyondan kaçma kapasitesine sahip olmaları, geniş çapta koruyucu aşuların formüle edilmesine engel oluşturmaktadır (5).

2.2.1. Epidemiyoloji ve HCV Genom Yapısı

Kronik Hepatit C enfeksiyonu dünya çapında yaklaşık 300 milyon kişiyi etkilemekte olup kronik karaciğer hastalığının ana nedenlerinden biri ve karaciğer naklinin en sık nedenidir (6-8).

Hepatit C virüsü 15 yıl öncesine kadar bilinmiyordu, ilk önce 1989 yılında bulunmuştur. Başlangıçta non-A non-B hepatit virüsü olarak tanımlanan virüs flaviviridea ailesinden tek sarmallı RNA virüsü yapısındadır (9). Genom tek zincirli RNA molekülüdür. 5’ ve 3’ untranslated region (UTR) ve aradatek bir open reading frame (ORF) bulunmaktadır. 5’ UTR ucu dünyadaki bütün HCV tipleri ile benzerlik göstermekte olup vireminin ve kantifikasyonunun saptanmasında önemlidir (10). 3’ UTR bölgesi HCV’nin farklı genotiplerine göre değişir ve poly U veya poly A ile sonlanır (11). Bu bölgenin virüs replikasyonunda pek etkisi olmadığına inanılmaktadır. HCV büyük tek bir polipeptid kodlar bu polipeptid sonradan virüs ve konak proteinazları tarafından kesilir ve işlevsel olarak farklı proteinler oluşur. HCV kodlayan bölge genleri şu şekilde sıralanabilir: 5’-C-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4B-NS5A-NS5B- 3’ (12). İlk kodlanan C geni ürünü olan protein kor proteindir (p22). Bu protein immünöjenik özellikte olup vücut bu proteine karşı antikor oluşturur (13).



Resim 1. Hepatit C virüsünün genom organizasyonu, virüsün RNA'sı ve kodladığı proteinler (14)

E1 ve E2 zarf proteini olan gp 35 ve gp 70'i kodlar bunlar glikozillenmiş proteinlerdir. Gp 70'in bir bölümü çok fazla genetik değişkenlik göstermektedir ve bu bölge 'hypervariableregion 1 (HVR1)' olarak adlandırılır bu bölge spesifik immünolojik B hücresi epitopuna sahiptir. Bu epitopa karşı antikor oluşmakta ve HVR1 de meydana gelen küçük mutasyonlar ile konak savunmasından kaçış olmakta böylelikle kronik hepatit oluşmaktadır (15).

Yapısal proteinlerden sonra NS proteinleri yani yapısal olmayan proteinler sentezlenir (non-structural). Bu proteinlerin proteaz özelliği gibi işlevsel özellikleri mevcuttur. HCV genomunda değişkenlik oldukça fazladır ve bu durum bir RNA virüsü olan HCV'nin RNA'ya bağımlı RNA polimeraz aktivitesinin olmaması ile ilişkilidir böylelikle genomda oluşan bozukluklar düzeltilememektedir. Bu şekilde birbirinden farklı virüslerin oluşmasına neden olmakta ve bunlar 'quasispecies' olarak adlandırılmaktadır (16). Virüsün bu şekilde tedaviye direnç sağladığı tespit edilmiştir. HCV persistansının, kompleks quasispecies ile birlikte olduğu bulunmuştur (17). Quasispecies derecesi ve HVR 1 değişkenliği ile, interferon tedavisine yanıt ilişkisi belirgindir (18). HCV'nin a ve b subtipleri ile birlikte 6 majör genotipi bulunmaktadır. Coğrafyaya göre genotipler çeşitli dağılım gösterirler. Genotip 1 dünyada en yaygın olandır, genotip 4 özellikle Batı Afrika ve Orta Doğu'da bulunurken genotip 6 en fazla Güneydoğu Asya'da bulunur (19). Genotip 1b Japonya, Güney ve Doğu Avrupa ve Güneydoğu Asya'da ana genotipi oluşturmaktadır. Ülkemizde en fazla genotip 1 tespit edilmiştir (20). Genotiplerin tedaviye yanıtta çok önemli parametreler olduğu bugün bilinmektedir, genotip 2 ve 3 ile enfekte hastalarda 1b ve 1a ile enfekte hastalara göre HCV RNA'nın serum, karaciğer, hatta mononükleer lökositlerden eradikasyonunu belirgin bir şekilde daha

fazla olmaktadır (21). İntravenöz uyuşturucu kullananların da başlıca tip 3 ve 2 daha az oranda tip 1'a ile enfeksiyona yakalandıkları gösterilmiştir. Tip 1b ise kan verilmesi sonrası ve sporadik hepatitlerde daha sık bulunmaktadır (22). Virüs sadece insan ve şempanze enfeksiyonuna neden olmaktadır HCV'yi hepatositin dışında periferik kanda mononükleer hücrelerde de bulunabilir ve bu hücrelerde replike olur. Antiviral tedaviden sonra gelişen nükste veya transplante karaciğerin reenfeksiyonunda bu hücreler önemli rol oynarlar (23).

Hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinoma (HSK) neden olmakta olup global anti-HCV prevalansı %1-3 iken (24), Türkiye'de bu oran bu oran %1.3'tür (23). HCV enfeksiyonu her yaş gurubunda görülmekle birlikte yapılan çalışmaların tümünde oran yaş ile birlikte artmaktadır, enfeksiyon özellikle 30 yaşından sonra artmaktadır (20). Kan ve kan ürünleri ile direkt perkütan temas veya enfeksiyöz vericilerden yapılan doku veya organ transplantasyonları ve intravenöz ilaç bağımlılarında ortak iğne kullanımı etkin bulaşma yolları arasında sayılmaktadır (24). Akut hepatit enfeksiyonlarının % 20'sinin kronik hepatitlerin ise % 70 sebebi HCV'dir. Akut enfeksiyon % 85 oranında kronikleşmektedir. Bu da hastalığın önemini daha da arttırmaktadır (25).

HCV enfeksiyonunda, bulaşma yolları şu şekilde sıralanabilir:

1) Meslek ile ilgili bulaşma: Enfekte hastalardan sağlık çalışanlarına % 3-8 oranında geçiş bildirilmiştir (26).

2) Kan ve kan ürünleri transfüzyonu: Ülkemizde yapılan bir çalışmada İstanbul'daki kan bankalarının 17 yıllık verileri toplanmış ve HCV pozitifliği % 0.5 olarak tespit edilmiştir (27). Günümüzde enfeksiyöz kan vericilerinin tarama testi ile elemine edilmesi nedeni ile HCV transfüzyon ile seyrek olarak bulaşmaktadır ve transfüzyona bağlı HCV enfeksiyonu riski % 0.01-0.1 arasında değişmektedir (28). HCV kontamine immünglobulin ve pıhtılaşma faktörleri gibi kan ürünlerinin intravenöz uygulamaları ile oluşan bulaşma bildirilmiştir (29). Günümüzde rekombinant pıhtılaşma ürünlerinin kullanımı ile bu durum azalmıştır.

3) Nozokomiyal bulaşma: Sağlık çalışanlarından hastalara bulaşma, hastadan hastaya bulaşma olarak tanımlanabilir. Hastane dışında yapılan medikal ve cerrahi girişimler sonucu da oluşabilir.

4) Hemodiyaliz hastalarında: Bu hasta grubunda seropozitiflik insidansı % 20-30 arasında değişmektedir (30).

5) İntravenöz ilaç bağımlılığı olanlar: Bu grupta antikor prevalansı % 80'lere ulaşmaktadır (30).

6) Cinsel yola geçiş: Oranlar henüz belli değildir ancak genital sıvılarda HCV bulunmaktadır. Tek eşli HCV pozitif partnerden bulaşma yıllık % 0-0.6 oranında değişmektedir (31). Yapılan bir çalışmada 1039 hastanın cinsel partnerleri üzerinde anti-HCV pozitifliği araştırılmış, anti-HCV pozitifliği erkeklerde % 7, kadınlarda ise % 4 olarak tespit edilmiştir. Erkek hastaların eşlerine bulaştırma riskleri daha yüksek bulunmuştur. Diğer risk faktörleri Human Immunodeficiency Virus (HIV) seropozitifliği, 28 yaşından büyük olmak, çok sayıda cinsel partnerin olması, cinsel yol ile bulaşan diğer hastalığın olması ve sigara içimi seropozitifliği etkilemektedir (32).

7) Perinatal bulaşma: Enfekte anneden bebeğe geçişin % 3,8 olduğunu bildiren yeni çalışmalar bulunmaktadır. Annede HCV ile birlikte HIV pozitif ise bu oran daha da artmaktadır (32).

8) Bulaşmanın diğer yolları: HCV RNA idrar ve tükürükte de tespit edilmiştir (33). Aile fertleri arasında düşük oranda bu şekilde bulaşın olduğu bildirilmiştir (34).

9) Aile içi bulaşma: Aile içi bulaşma özellikle virüsün endemik olduğu bölgelerde siktir .Buradaki prevalans temasın süresi özellikle hastadaki enfeksiyonun süresi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada seropozitif hemodiyaliz hastalarının aile üyeleri arasında HCV sıklığı % 7 bulunmuştur (35).

2.3. Ribonükleikasit (RNA) Alt Grupları ve Fonksiyonları

RNA protein sentezinde deoksiribonükleik asite (DNA) arabuluculuk yapan esansiyel bir biopolimerdir. Pek çok biyolojik prosesin katalizörlüğünü yapar. 5'-3' yönünde tek iplikli bir şeker fosfat iskeleti ve iskelet üzerinde yerleşmiş olan Adenin, Guanin, Sitozin ve Urasil bazlarından oluşan bir forma sahiptir (1). Bu bazlar arasında oluşan hidrojen bağları sayesinde 3 boyutlu yapılanmada çift zincirli DNA'ya göre daha esnek bir yapıda bulunur. Sonuç olarak yapısı ikincil ve üçüncül yapı düzeyinde tanımlanan protein benzeri bir hiyerarşiye sahiptir. Transkripsiyon RNA polimeraz enziminin genin promotör bölgesine bağlanmasını takiben birbirlerinden ayrılan DNA zincirlerinden birinin kalıp olarak kullanılması ve kalıba bağlı baz eşleşme prensibine dayanan bir nükleotid polimerizasyon reaksiyonlar zinciridir (36).

RNA'lar protein kodlayan (coding) ve kodlamayan (non-coding, nc) olarak iki gruba ayrılır. Bu iki grup ise kendi içerisinde boyutlarına ve fonksiyonlarına göre sınıflandırılırlar. Fonksiyonel olarak RNA'lar; Messenger RNA (mRNA), protein sentezinde görev alır; kodlanan gen veya kodlanan RNA'lar olarak bilinen ribozomal RNA'lar (rRNA), ribozom üretirler ve transfer RNA'larla (tRNA) beraber translasyon sırasında mRNA'ya yardımcı olur; tRNA, protein sentezinde üçlü aminoasit prekürsörlerini taşır; post-transkripsiyon reaksiyonlarında görev alan RNA'lar olan küçük nükleer RNA'lar (snRNA) ve heterojen nükleer RNA'lar (hnRNA) intronların ayrılmasında görev alırlar; küçük nükleolar RNA'lar (snoRNA) RNA mutasyonlarında esansiyellerdir; Ribonükleaz P (RNaseP) tRNA'lardaki prekürsör dizileri parçalayan ribozim olarak çalışırlar; Telomeraz RNA (TER) ökaryotik RNA'larda telomerlerin uzamasında görev alır; kısa interferans RNA'lar (siRNA) genlerin regülasyonunda ve susturulmasında görev alır.

RNA'lar ayrıca boyutlarına göre 3 gruba ayrılırlar; Küçük kodlanmayan RNA'lar (sncRNA), orta kodlanmayan RNA'lar (mncRNA), uzun kodlanmayan RNA'lar (lncRNA).

2.3.1. Kodlayan (Coding) RNA

Francis Crick tarafından önerilen santral dogma modelinde protein sentezinde genetik bilginin DNA'dan başlayan süreç ile proteine doğru taşındığı öne sürülmektedir. Messenger RNA'lar tek kodlanan RNA'dır ve tüm RNA'nın yaklaşık olarak % 5'ini oluşturur.

2.3.2. mRNA (Messenger RNA)

Protein sentezinin başlangıcında RNA polimerizasyon enzimi ile indüklenen mRNA genetik bilgiyi DNA'nın anlamlı (sens) iplikçiğinden üçlü kodlar halinde taşır. Bu üçlü kodlara kodon denilir ve her biri protein sentezinde kullanılacak olan aminoasitlere özgü 3'lü baz gruplarını içerir. Messenger RNA hem ökaryot hem de prokaryotlarda bulunur. Ökaryotlarda mRNA'lar monosistronik(monogenik) ve daha dayanıklı iken, prokaryotlarda polisistronik (poligenik) ve dayanıksızlardır. Kodlanan genlerde öncelikle DNA'dan immatür tek zincir mRNA olan pre-mRNA transkripsiyonu olur, sonrasında pre-mRNA'lardan fonksiyonel olan mRNA transkripsiyonu oluşur.

2.3.3. Transkripsiyon İşlemleri

5'capping (Başlıklama): Pre-mRNA 5'-ucuna translasyon başlangıç bölgesini belirleyen ve ökaryotların monosistronik olmasını sağlayan 7-metilguanozinden oluşan cap grubunun eklenmesidir.

3'poliadenilasyon: Pre-mRNA üzerindeki sinyal dizisini tanıyarak PoliA polimeraz enzimi tarafından 3'-uca DNA kalıbından bağımsız olarak poli-A kuyruğunun eklenmesidir. Bu modifikasyon sayesinde mRNA molekülünün sitoplazmaya transferi ve stabilitesi sağlanmaktadır.

Splicing: mRNA üzerindeki intronların (proteine çevrilmeyen dizi) çıkartılması ve ekzonların birbirlerine bağlanması şeklinde gerçekleşen pre-mRNA molekülünün kırılması işlemidir.

Kesilme: rRNA ve tRNA öncülleri transkripsiyon sonrasında kesilerek aktif yapılarını kazanmaktadır. Örneğin tRNA'nın yonca yaprağı şeklini kesim sonrası alması.

Kimyasal Modifikasyon: rRNA ve tRNA molekülleri kimyasal grup eklenmesiyle modifiye edilirler. Örneğin pseudouridin, dihidrouridin oluşumu

Editing: Pre-mRNA'nın guide (kılavuz) RNA aracılığı ile nükleotid düzeyinde edit edilmesidir. Bu modifikasyon tipi mRNA üzerinde gerçekleşmesi nedeniyle gen ürünü olan proteine yansımaktadır.

2.3.4. Kodlanmayan (Noncoding) RNA

Esasen kodlanmayan RNA'lar (ncRNA) protein sentezi sürecinde görev almadan fonksiyon gösteren RNA molekülleridir. Kodlanmayan RNA'ların pek çok sınıfı çeşitli biyolojik süreçlerde rol alırlar. Ribonükleoprotein (RNP) translasyonda, snoRNA'lar alternatif RNA bölünmesinin regülasyonunda, Y RNA'lar DNA replikasyonunda, enhancer RNA'lar (eRNA) kontrol gen ekspresyonunda rol alır. Daha önceleri çöp (junk) RNA'lar olarak adlandırılan ve yeni yeni tanımlanmaya başlayan miRNA, siRNA ve piwi-etkileşimli RNA'lar (piRNA) gibi epigenetik kodlanmayan RNA'lar da vardır. Bu RNA'ların otizm, Alzheimer hastalığı ve çeşitli kanserlerin metabolizmasında önem arz ettiklerine dair yapılan çalışmalar mevcuttur.

2.3.5. Kısa Kodlanmayan RNA (scnRNA)

50 nükleotidden daha kısa RNA dizileri scnRNA'lar olarak sınıflandırılırlar ve ribozomların mRNA'lara bağlanmasını aktive ve inhibe ederek mRNA translasyonunu kontrol ederler.

ScnRNA'lar, mikroRNA (miRNA), piwi-etkileşimli RNA (piRNA), kısa interferans RNA (siRNA), tRNA içeren stres bağımlı RNA (tiRNA) ve sentromer tekrar ilişkili küçük RNA'lar (crasiRNA) olarak ökaryotlarda bulunur. Ökaryotlarda sessiz gen yolaklarında, hücrenin ve genomun virüslere karşı korunmasında, mobil

tekrarlayan DNA dizilerinde, retro-element ve transpozonlarda önemli roller oynayan 3 önemli sncRNA'lar; miRNA, siRNA ve piRNA'dır.

2.3.5.1. MikroRNA (miRNA)

Üzerinde en sık çalışmalar yapılan ncRNA'lardan biri de kısa, endojen, yaklaşık olarak 22 nükleotid içeren RNA'lar olan miRNA'lardır. Hem hayvanlarda hem de bitkilerde bulunabilen bu RNA'lar evrimsel süreçte korunmuşlardır. Küçük düzenleyici moleküller olarak bağımsız bir şekilde eksprese edilir. Kendi promotorlerine sahiptir ve farklı bir transkripsiyon faktörleri seti tarafından düzenlenebilen miRNA'ların hedefi mRNA'lardır. MikroRNA'lar fonksiyonel olarak hücre proliferasyonunun diferansiyasyonunu ve apoptozisini yönetir. Kanserlerin hücre metabolizmasının regülasyonu ve tersine programlanmasıyla ilişkilidir. Bazı durumlarda deregüle mRNA'lar kanserlerle korelasyon gösterirler. Örneğin; let-7'e, miR-151p, miR-222, miR-155 ve miR-221 gibi miRNA'ların kanseröz dokularda upregüle oldukları görülmüştür. MikroRNA'lar hücre döngüsünde, gelişmesinde, sinyal iletiminde, metabolizmasında, metastazda, hücre proliferasyonunda, diferansiyasyonunda ve apoptoziste çeşitli fonksiyonlarda olduğu gözlenmiştir.

2.3.5.2. Piwi-Etkileşimli RNA (piRNA)

Piwi-etkileşimli RNA'lar yaklaşık olarak 24-32 nükleotid uzunluğunda olan esas olarak germline hücrelerde eksprese olan farklı bir miRNA sınıfıdır.

Piwi-etkileşimli RNA'ları miRNA'lardan ayıran özelliği, tüm omurgalı ve omurgasızlarda ortak olan ve daha az ikincil yapı korumasına sahip olduğu bilinen 5' üridin eğiliminin olmasıdır.

Piwi-etkileşimli RNA'lar germ hücrelerinin idamesinde, genom bütünlüğünde, mRNA stabilitesi, DNA metilasyonu, retrotranspozan kontrolü gibi genetik ve epigenetik regülasyonlarda önemlidir.

2.3.5.3. Kısa interferans RNA (siRNA)

Kısa interferans RNA'lar her biri 19-25 bp uzunlukta olan ve uçlarında 3' di-nükleotid çıktıkları bulunan ikili ipliklerden meydana gelen çift iplikçili RNA'lardır (dsRNA). Bu ipliklerden biri anlamsız, diğeri ise anlamlı ipliklerdir. Anlamsız iplik hedeflenen mRNA'nın mükemmel bir ters tamamlayıcısıdır. Kısa interferans RNA'ların bazı fonksiyon ve rolleri esas olarak transkripsiyon sonrası gen susturma (PTGS) veya translasyon inhibisyonu eksojen DNA'larda korunma epigenetik mekanizmalara katılım ve transkripsiyon susturma yoluyla genom bütünlüğünü korumaktadır.

2.3.6. Orta Kodlanmayan RNA

Orta uzunlukta 60-200 nükleotid arasında değişen uzunluklularasahiptirler. Bu grupta: transfer RNA'lar (tRNA), küçük nükleolar RNA (snoRNA), küçük nükleer RNA (snRNA) ve küçük sitoplazmik RNA (scRNA) grupları bulunur.

Transfer RNA (tRNA): Antikodon kolunun mRNA üzerindeki kodonları tanıması sayesinde tRNA'ya aminoasit kolundan bağlanan aminoasitler proteini oluşturmak üzere ribozoma transfer edilirler. Transfer RNA (tRNA) uzunluğu 76-90 nükleotid olan ortak bir RNA molekülüdür ve mRNA ile protein arasında bir adaptör molekülü olarak görev yapar. Translasyon sırasında tRNA büyüyen polipeptid zincirine bir aminoasit taşıyıcısı olarak görev görür. Bunun yanı sıra tRNA'ların retrovirüs yaşam döngüsünde protein olmayan sentetik işlemlerde yer aldığı da bilinmektedir. Transfer RNA dört heliksten (özelleşmiş kol) oluşan yonca yaprağı yapısına sahiptir. Bu dört heliks içerisinde akseptör (AA) heliks, aminoasit sentetaz tarafından yüklenen aminoasitleri taşır. Dihidrouridin (D) heliks modifiye baz olan dihidroürasili içerir. Antikodon (AC) heliks antikodonları sunan apikal bir loop içerir. Timin (T) heliks ise RNA'larda bulunmayan timin bazını içeren koldur.

2.3.6.1. Küçük nükleolar RNA (snoRNA)

Küçük nükleolar RNA'lar (snoRNA) yaklaşık 60-170 nt büyüklüğünde ve hem ilkel hem de ökaryotlarda bulunan ancak bakterilerde bulunmayan orta büyüklükteki RNA'lardan biridir.

SnoRNA biyosentezi mayalarda polistronlardan, bitkilerde ise monostronlardan kaynaklanmaktadır. Esasen snoRNA'lar rRNA ve ncRNA'lar gibi diğer RNA'ların kimyasal modifikasyonlarında yol gösterici bir rol oynarlar.

2.3.6.2. Küçük nükleer RNA (snRNA)

Küçük nükleer RNA (snRNA) ortalama 150 nükleotid büyüklüğe sahip küçük RNA'lardan biridir. Ökaryotik genomlar çeşitli kodlanamayan RNA'ları kodlarlar ve snRNA'lar intron ekleme ve diğer RNA proseslerinde önemli fonksiyonlara sahip nükleusta oldukça yoğun miktarda bulunan bir RNA sınıfıdır.

2.3.7. Uzun Kodlanmayan RNA

2.3.7.1. Uzun kodlanmayan RNA (lncRNA)

200 nükleotidden daha uzun olan transkripsiyonlu RNA'lar intronik veya intergenik DNA dizilerinden sentezlenmektedirler ve genellikle uzun kodlanmayan RNA (lncRNA) olarak sınıflandırılırlar. Bu RNA sınıfı büyük ve çeşitlidir. LncRNA'lar, mRNA'lar gibi RNA polimeraz II (Pol II) tarafından transkripte edilir, keş ucuna eklenirbirleştirilir, poliadenillenir ve ekzon-ekzon splicing bağlantıları içerirler. İlk memeli lncRNA'sı H19, 1989'da keşfedildi (5) ve bunu takiben, memelilerde X kromozom inaktivasyonunda önemli rol oynayan lncRNA Xist tespit edildi (37) Yapısına göre; doğrusal, dairesel, transkripsiyonel olarak; intergenik,

intronik, antisens, sens ve örtüşen noncoding RNA olarak ve fonksiyonlarına göre sınıflandırılırlar.

LncRNA'lar protein kodlamazlar ancak epigenetik, transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası seviyelerde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde görev alırlar. LncRNA'lar, gen ekspresyonunu ve genom yapısını düzenleme görevini birkaç şekilde yaparlar;

Tuzaklama: RNA ve proteinlere bağlanarak fonksiyonlarını değiştirebilirler.
İskelet etkisi: Kromatin modifiye edici proteinlere ve DNA bölgelerine bağlanarak sinyal bağlantılarını oluşturabilirler

Posttranskripsiyonel etki: Messenger RNA'lar ile birlikte transkripsiyonla ilişkili genlerin susturulmasını sağlayarak bu genlerin translasyon fonksiyonlarını kontrol edebilirler.

LncRNA'lar DNA, RNA ve proteinlerle birleşerek kromatin değiştirici enzimlerin oluşumuna katkı sağlarlar ve aktive olan bu enzimlerin transkripsiyonla ilişkili gen bölgelerine bağlanması ile genlerin susturulması veya aktivasyonunu sağlayarak protein sentezinde post transkripsiyonel süreçte fonksiyon gösterirler. Böylece epigenetik yapının diferansiyasyonunu sağlayabilir.

LncRNA'lar ayrıca hücre büyümesi, apoptozisde, kanser, metastaz ve X inaktivasyonu ile ilişkili olduğu yapılan pek çok çalışmayla gösterilmiştir. LncRNA'ların protein senteziyle ilgili genler üzerinde kontrollü olduğu gibi pek çok spesifik hastalıkla ilişkili genlerin, onkolojik ve tümör baskılayıcı genlerin transkripsiyonlarında da görev alırlar. Kanserlerin ve hastalıkların genetiğini anlamakla ilgili yapılan çalışmalar LncRNA'lardaki değişimin nörolojik hastalıklarla, kanser ve yaşlanma ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Bazı gen bölgelerinde bulunan spesifik lncRNA'ların ekspresyonlarındaki up ve deregulasyonlara bağlı olarak çeşitli hastalıkların ve kanserlerin gelişebildiklerinin gözlemlenmesiyle birlikte bu alanda yapılabilecek daha detaylı çalışmalar ile yeni tedavilerin geliştirebileceği konusunda umut doğmuştur. Örn.: 32. kromozomun 2q kolunda lokalize lncRNA'ların aşırı ekspresyonu prostat kanseri ile MALAT1

sıklıkla akciğer kanseri, pankreas kanseri, servikal kanser ve gastrointestinal kanserlerle ilişkilidir. Ayrıca MEG3, HOTAİR ve LincRNA-p21 onkojenik ncRNA'lardır. MEG3 ekspresyonunun kaybı veya baskılanması tümörün ilerlemesine katkı sağlayabilir (Menengioma kolorektal karsinoma ve tip 1 diyabet gibi). Otozomal dominant fasioskapulohümorale m. distrofi (FSHD) 35. Kromozomun 4 q kolunda diversiyon sonucu oluşur. Duchenne m. distrofi lncRNA ekspresyonunda deregülasyon sonucu oluşur. Gastrointestinal kanserlerde plazma LINC00152 ekspresyon seviyeleri oldukça yüksek bulunmuştur. Gastrik kanser (GK) hastalarında önemli ölçüde yükselmiştir (38).

Gastrik adenokarsinoma prediktif uzun intergenik kodlamayan RNA (GAPLINC), CD44 bağımlı hücre invazyonu ile ilişkilidir ve bu gastrik kanserde kötü prognoz göstergesidir (39).

LncRNA plazmasitoma varyant translokasyon 1 (PVT1) ekspresyon seviyelerinin artması gastrointestinal kanserlerde lenf nodu invazyonu ile ilişkilidir (40).

FENDRR, hedef genin ekspresyonunu epigenetik olarak düzenlemek için polikom baskılayıcı kompleks 2'ye (PRC2) bağlanan bir lncRNA'dır. FENDRR, fibronektin 1 ve matris metalloproteinaz (MMP2 / MMP9) ekspresyonunun down-regülasyonu yoluyla GK'da tümör invazyonunu ve lenfatik metastazını baskılamaktadır (41).

2.3.7.2. LncRNA Viral Enfeksiyon İlişkisi

Viral enfeksiyonlar, enfekte olmuş hücrenin kodlama ve kodlama yapmayan transkriptomunda güçlü değişiklikler meydana getirir. Enfekte olmuş hücreler, hücrel lncRNA'ları serbest bırakabilir ve viral ve hücrel diziler tarafından oluşturulan viral lncRNA'ları veya kimerik lncRNA'ları eksprese edebilir. Birçok virüsün viral lncRNA'ları ifade ettiği gösterilmiştir. Aslında, genomu replikasyon kapasitesine sahip bir lncRNA olan bazı bitki patojenleri (viroidler ve virüsoidler)

vardır(42). Adenovirüs, Epstein-Barr Virüs'ü, HIV, sitomegalovirüsler, flavivirüsler ve herpesvirüsler gibi hayvansal virüsler, transkripsiyon ve RNA stabilitesini etkilemek ve RNA interferansını, antiviral yanıtı, enfekte olmuş hücrenin ve viral enerjisini kontrol etmek için işlev gören kodlayıcı olmayan RNA'ları kodlar (43).

2.3.7.3. LncRNA-HCV İlişkisi

Diğer virüsler için tarif edilenlere benzer şekilde, lncRNA transkriptomu HCV ile enfekte olmuş hücrelerde değişmektedir. Hücrel lncRNA'ların deregülasyonu, HCV replikasyonuna ve viral protein ekspresyonuna veya enfeksiyona karşı indüklenen antiviral cevaba cevap verebilir. Ayrıca, viral genomdan lncRNA'lar enfekte olmuş hücrelerde de tespit edilebilir.

Doku kültürü ile enfekte olmuş hücrelerde viral RNA'nın transkriptomik analizi, yarı-türler üreten nokta mutasyonlarında zenginleştirilmiş yüksek viral genom seviyelerini gösterir. Viral genomun ana iç delesyonları veya füzyonları tespit edilmemiştir. Bunun yerine, IRES dizisinin 5' ucunu kaybeden HCV subgenomik RNA'ları vardır, bu da bilinmeyen fonksiyonun kodlayıcı olmayan RNA'ları olabileceğini gösterir. Bu subgenomik RNA'lar, hücrel bir eksoribonükleaz olan XRN1'in etkisiyle üretilir (44). XRN1 aracılı bozunma etkili değildir, çünkü viral RNA'nın 5' ucuna bağlanan miR-122, kısmen HCV replikasyonunda miR-122'nin oynadığı ana role yol açan genomu korur (45). Bazı durumlarda, HCV ile enfekte olmuş hücrelerde bazı lncRNA'ların düzensizliğinin, saf viral replikasyon ve viral protein ifadesinden ziyade antiviral cevabın uyarılmasından mı kaynaklandığını ayırt etmek zordur. Genel bir kural olarak, antiviral cevap tarafından düzensizleştirilmiş lncRNA'lar, birkaç virüse, farklı patojen ilişkili moleküler modellere (PAMP) ve/veya interferonlara (IFN) cevap olarak değiştirilebilirler. IFN ile muamele edilmiş hücrelerin transkriptom analizi, HCV enfeksiyonundan sonra seviyeleri de artan birçok IFN ile uyarılmış lncRNA'ların (ISR'ler) tanımlanmasını sağlamıştır. Bunlar arasında NR1R, ISR2, ISR8, lncISG15 ve BST2 interferon ile uyarılmış pozitif regülatör (BISPR) bulunur(46). İlginç bir şekilde bunların tamamı, HCV ve diğer virüslerin replikasyonunu etkileyen interferon ile uyarılmış genlere (ISG) çok yakın

olan genomda bulunur. NRIR CMPK2'nin yanında ve viperin / RSAD'ın yanındadır; ISR2, GBP kümesinin bir komşusudur, ISR8, IRF1 transkripsiyon faktörünün kuyruğunda bulunur, lncISG15, ISG15'e ve BISPR'den BST2'ye çok yakındır.

IFN ile indüklenen lncRNA'lar arasında, IFN veya PAMP'ler ile kuvvetli bir şekilde ve HCV enfeksiyonu ile kuvvetli bir şekilde indüklenenler, özellikle belirtilmeyi hak eder. HCV enfeksiyonundan sonra indüklenen lncRNA'lara, HCV ile uyarılan RNA'lar (CSR) denir (47). Bunlar: CSR3, CSR6, CSR7, CSR20, CSR31 / NEURL3 ve CSR32'dir.

Diğer virüslerle enfeksiyon, bu CSR'lerin ekspresyonunu, HCV ile enfeksiyondan daha ılıman seviyelerde olmasına rağmen indükler. CSR3, 7 ve 31, adenovirüs, influenza ve HCV ile enfeksiyondan sonra, tercihen IFN yolunu bloke etmeyen mutant versiyonlarıyla indüklenir; CSR6, yalnızca adenovirüs ve HCV'ye yanıt olarak indüklenir. CSR32/EGOT hariç, bu lncRNA'ların HCV enfeksiyonu ile ilgili işlevleri hakkında çok az şey bilinmektedir.

CSR32/EGOT (eozinofil granül onkojenik transkript), birkaç evrimsel korunmuş ve termodinamik açıdan stabiltüm plasental memelilerde bulunan bir lncRNA'dır(48). EGOT ilk önce, tercihli olarak toksik eozinofil proteinlerin ekspresyonunu düzenlemeye yaradığı olgun eozinofillerde eksprese edilen bir lncRNA olarak tanımlanmıştır (49, 50). Bununla birlikte, insan transkriptomunun GTEX analizi EGOT'un meme ve vajina, pankreas, hipofiz ve böbrek korteksinde tercihli olarak eksprese edildiğini belirtirken, TCGA analizi EGOT'un karaciğerde, akciğerde ve tiroit kansinomlarında daha fazla regüle edildiğini ve prostat, meme ve böbrek malignitelerinde azaldığını ve düşük seviyelerin kötü prognozla korele olduğu gösterir (51).

EGOT, antiviral cevaba cevap olarak indüklenen bir proviral lncRNA'dır . Hücre hatlarında ve HCV ile enfekte olmuş hastaların karaciğerinde HCV ile enfeksiyondan sonra indüklenen bir poliadenile edilmiş kodlayıcı olmayan RNA olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, EGOT'un inhibisyonu, bazıları zaten HCV girişini, replikasyonunu veya salıverilmesini bloke ettiği tarif edilen GBP1, ISG15, Mx1,

BST2, ISG56, IFI6 ve IFITM1 dahil olmak üzere birçok ISG seviyesinin artmasına neden olur (52).

Onkojenik lncRNA'ların ekspresyonunun neden olduğu proliferatif ortamın, HCV replikasyonu için predispozan faktör olabileceği düşünülmektedir. Buna karşılık, bu lncRNA'lar, HCV ile enfekte hastalarda HSK gelişimine katkıda bulunabilecek hücre bölünmesini ve diğer kanserojen yollarını indükleyebilirler. HSK ile ilişkili pekçok lncRNA daha önceki klinik çalışmalarda saptanmıştır. Yang ve ark., HOTAIR'nin aşırı ekspresyonunun karaciğer nakli hastalarında HSK rekürrensi için bağımsız bir prognostik faktör olduğunu ve tümörde yüksek HOTAIR ekspresyonu olan hastaların, düşük HOTAIR ekspresyonuna sahip olanlara göre önemli ölçüde daha kısa süreli nüksüz sağkalıma sahip olduklarını gözlemişlerdir (53). Bir lncRNA olan HULC'nin, HSK ve diğer metastatik karaciğer kanserlerinde, karaciğer kanseri hücre dizilerinde aşırı eksprese edildiği bilinmektedir (54-56). HSK ile ilişkili bu lncRNA'ların onkolojik etkilerinin HCV progresyonu veya regresyonuna nasıl yanıt vereceği konusunda daha önce yapılmış klinik çalışmalar bulunmamaktadır.

2.4. Hastalığın Tanısı ve Seyri

Hepatit C'nin akut dönemde tanınması oldukça güçtür. Bunun en önemli nedeni olguların çoğunun anikterik ve subklinik seyretmesidir. İkterik olgular akut hepatit C olgularının % 25'inden azdır. Bu olguların bile bir kısmının akut hepatit C olduğu anlaşılabilir değildir. Çünkü tanıda kullanılan anti-HCV antikorları ancak ikterin başlamasından sonra saptanabilir düzeye gelmektedir. Bu devrede tanıserumda HCV RNA'nın saptanmasıyla konur.

Hepatit C virüsü (HCV) için tanısal testleri iki kategoriye ayrılabiliriz (57):

- Hepatit C antikorlarını tespit eden serolojik testler.
- HCV RNA'yı tespit eden veya ölçen moleküler testler.

Genotip testi, serum fibröz panelleri ve karaciğer biyopsisi gibi diğer araştırmalar tedavi ve prognoz cevabını öngörmede yardımcı olabilir (57).

2.5. Kimlere Test Yapalım?

Kronik HCV enfeksiyonu için test, genellikle anormal aminotransferazlar veya diğer klinik bulgular yoluyla karaciğer hastalığı kanıtı bulunan hastalarda veya HCV enfeksiyonu ile ilişkili ekstrahepatik bulgulara sahip olanlarda (örneğin, miks kriyoglobulinemi veya porfiria kutanea tarda gibi) yapılır. Ek olarak, klinik maruziyet için bireysel risk faktörlerine sahip olmaları veya 1945-1965 arasında doğanlar da dahil olmak üzere yüksek enfeksiyon prevalansı olan belirli demografik gruplara ait olmaları durumunda, klinik bulgulardan bağımsız olarak bazı hastalarda kronik HCV enfeksiyonu taraması yapılması önerilir (57) (Tablo 1).

Tablo 1. Hepatit C virüsü için test endikasyonları (57)

1.Klinik şüph

- Karaciğer hastalığının klinik veya biyokimyasal kanıtları (örneğin, sürekli yükselmiş alanin aminotransferaz)
- Aşağıdakiler dahil kronik HCV enfeksiyonunun ekstrahepatik bulguları:
 - Porphyria cutanea tarda
 - Miks kriyoglobulinemi
 - Liken planus
 - Nekrotik akral eritem
 - Açıklanamayan artrit veya yanlış pozitif romatoid faktör
 - Sjögren sendromu / sicca semptomları
 - Membranoproliferatif glomerülonefrit
 - İdiopatik trombositopenik purpura

2.Yasadışı enjeksiyon veya intranasal ilaç kullanım öyküsü, sadece bir kez olsa bile

3.Potansiyel olarak kontamine olmuş kan ürünlerinin veya dokularının alınması

4.Yüksek risk grubuna ait olma

- HIV ile enfekte birey
- Erkeklerle ilişkiye giren erkekler
- Hemodiyaliz hastaları
- Mahkumlar
- Prevalansı yüksek olan ülkede yaşamak

4.HCV potansiyel olarak maruz kalan diğer gruplar

- HCV ile enfekte olmuş anne doğumu
- HCV ile enfekte olmuş bir bireyle mevcut cinsel ortaklık

-
- Enjektör yaralanması veya HCV ile enfekte olmuş kana mukozal maruz kalma
-

5. Transfer geçiş

- Organ bağışı
-

*HCV: hepatit C virüsü; HIV: İnsan immün yetmezlik virüsü.

Anti-HCV testi araştırılması gereken gruplar (58):

- HCV ile enfekte anneden doğan bebekler (doğumdan 18 ay sonra)
- HCV pozitif kan ile perkutan veya mukozal teması olan sağlık alışanları
- Tarama testleri kullanıma girmeden önce kan ve kan ürünü transfüzyonu yapılanlar
- Kan ve kan ürünlerini sürekli kullanan hastalar (hemofili gibi)
- HIV veya HBV enfeksiyonu olanlar
- Hemodiyaliz hastaları
- Kan, organ veya doku vericileri
- Organ transplantasyonu yapılanlar
- Başka bir nedenle açıklanamayan transaminaz yüksekliği olanlar
- Damar içi ilaç kullanma alışkanlığı olanlar

2.5.1. Tanı ve Test Yaklaşımı

HCV enfeksiyonunun tanısı genellikle temel reaktif bir HCV antikor testi ve HCV RNA varlığını tespit eden pozitif bir moleküler testlerle konur. Kronik HCV için başlangıç tanısal değerlendirme tipik olarak bir antikor testiyle başlar. Reaktif veya eşdeğer antikor testinden sonra HCV RNA testi yapılmalıdır.

Hepatit C tanısı vücutta virüsün varlığının gösterilmesi ile tanı konulmaktadır. Bunun için en sık antikor gösterilmesine dayalı serolojik testler, viral RNA gösterilmesine dayanan nükleik asit testleri ve karaciğer biyopsisi kullanılmaktadır (57).

2.5.2. Biyokimyasal Testler

Kronik HCV enfeksiyonu olan hastalar arasındaki serum alanin aminotransferaz (ALT) seviyelerinde geniş bir değişkenlik geniş bir değişkenlik vardır. HCV enfeksiyonuna sahip bireylerin 1/3'ünde ALT normaldir (59). Aminotransferaz seviyeleri ile karaciğer histolojisi arasında genellikle zayıf bir korelasyon vardır (60).

Hepatit C virüs enfeksiyonu tanısında biyokimyasal yöntemlerle karaciğer hasarının gösterilmesi önemlidir. Kronik enfeksiyonda ALT düzeylerinin dalgalanmalarla seyredebileceği unutulmamalıdır. Geçici biyokimyasal remisyon ile persistan ALT normalliğini ayırmak zor olmaktadır. Kronik hepatitli olguların yaklaşık % 30'unda ALT düzeyi normal, % 40'ında ise yükselme iki kattan az olmaktadır. Bilirubin ve albümin düzeyleri, protrombin zamanı gibi diğer biyokimyasal testler de tanıda kullanılabilir (60).

2.5.3. Serolojik Testler

Hepatit C virüs enfeksiyonu tanısı için bugün kullanılan en pratik yöntem antikor aranmasıdır. Ayrıca üçüncü ve dördüncü kuşak testler serokonversiyonu daha kısa sürede saptayabilmektedirler (61). Elisa testinin duyarlılıkları EIA-1 %70-80, EIA-2 % 92-95, EIA-3 % 97 (62).

Tarama testlerindeki bu gelişmeler ile kan donörlerinin taranması sonucu, transfüzyona bağlı HCV enfeksiyonu azalmaktadır. Virüs alındıktan 4-10 hafta sonra antikorlar kanda tespit edilebilmektedir. İmmüsuprese kişilerde, HIV enfeksiyonu olanlarda, hemodiyaliz hastalarında kanda antikor saptanmayabilir. HCV'ye karşı oluşan IgM tipi antikorların saptanmasının, akut enfeksiyon göstergesi olarak değeri bulunmamaktadır. Akut dönemde IgM saptanmayabildiği gibi, geç dönemde ortaya çıkabilmekte, kaybolmakta ya da uzun süre boyunca, yani herhangi bir zamanda

saptanabilmektedirler (61). Rutin olarak anti-HCV taranmasına gerek yoktur, tanımlanmış risk faktörü saptanan olgularda yapılmalıdır.

Aspartat aminotransferaz (AST) - trombosit oranı indeksi (APRI), AST seviyesine ve trombosit sayısına dayanır ve hesaplanması kolaydır. APRI, AST yüksekliği (laboratuvar için normalin üst sınır AST seviyesi) ve mm³ başına trombosit sayısı 1000'e bölünerek hesaplanır (63).

$$APRI = (AST \text{ yüksekliği} / \text{trombosit sayısı}) \times 1000$$

FibroTest, FibroSure ve ActiTest- FibroTest ve FibroSure, sırasıyla Avrupa ve Amerika'da farklı isimler altında pazarlanan aynı tescilli testlerdir. ActiTest, FibroTest'in bir modifikasyonudur. Testler öncelikle hepatit B ve C hastalarında çalışılmıştır (64, 65).

Anti-C100-3 akut enfeksiyonda en geç ortaya çıkan antikordur. Anti-C22c ve antiC33c hastalığın akut döneminde ilk ortaya çıkan antikorlardır. Anti-NS5 biraz daha geç ortaya çıkar (15).

FibroTest, alfa-2-makroglobulin, alfa-2-globulin (haptoglobulin), gama globülin, apolipoprotein A1, gama glutamil transferaz (GGT) ve toplam bilirubinin değerlendirilmesini içerir (66). Ayrıca hastanın yaşı ve cinsiyeti de dikkate alınır. Tek tek testlerden elde edilen sonuçlar birleştirilir ve hafif fibröz (F0-F1), belirgin fibröz (F2-F4) veya belirsiz bir fibrozis hastasını sınıflandırmak için kullanılır. Anlamli fibrozun saptanması için duyarlılık yaklaşık olarak % 60-75'tir ve özgüllüğü sırasıyla yaklaşık % 80-90'dır (64, 65, 67). Bir çalışmada, hastalığın ciddiyeti, hastaların yaklaşık % 46'sında hafif veya anlamli olduğu doğru bir şekilde tanımlanmıştır (65).

ActiTest, ALT içeren ve hem karaciğer fibrozunu hem de nekroinflamatuvar aktiviteyi yansıtan FibroTest'in bir modifikasyonudur. ActiTest, histolojik inflamasyonla ilişkili daha ileri fibrozisin tanımlanmasını iyileştiriyor gibi görünmektedir (68). Pegile interferon tedavisi ile tedavi edilen kronik HCV hastaları, ActiTest ve FibroTest skorlarında, tedavi edilen bir kontrol grubuyla

karşılaştırıldığında, tedaviye yanıtın izlenmesinde bir rolü destekleyen bir gelişme göstermektedir (69). Toplam 1570 hastayı içeren bir meta-analiz, bu testlerin kronik HCV'li hastalarda karaciğer biyopsisine güvenilir alternatifler olduğu sonucuna varılmıştır (65).

2.5.4. Moleküler Testler

Diğer bir tanı yöntemi moleküler tekniklerle HCV RNA'nın dolayısıyla vireminin tespit edilmesidir. HCV RNA tayini HCV enfeksiyonu tanısında en duyarlı yöntemdir ve altın standart olarak kabul edilmektedir (70). Akut hepatit C'de aminotransferazların yükselmesi ve anti-HCV pozitifleşmesinden önce serumda tespit edilebilmektedir. Kronik enfeksiyonu olan hastaların çoğunda viremi sürekli, bir kısmında aralıklı gelişmektedir (71).

Aminotransferazları normal asemptomatik taşıyıcıda HCV RNA pozitif bulunabilmektedir (70). HCV RNA tespitinde kalitatif ya da kantitatif testler kullanılmaktadır. Kalitatif HCV RNA testleri klasik Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Real-time (RT) PCR yada Transcription-Mediated Amplification (TMA) tekniğine dayanmaktadır. Standardizasyonu sağlamak amacıyla viral yükün internasyonal ünite (IU) olarak verilmesi önerilmektedir. Viral yük, karaciğerdeki inflamasyon ve fibrozisin şiddeti ile de bağlantılı bulunmamaktadır (72). Klinikte HCV RNA, akut enfeksiyonda serokonversiyon öncesinde tanı koymada, antikor oluşturamayan kronik hepatitli hastaların, yenidoğan enfeksiyonlarının tanısında, antikor pozitif hastalarda vireminin araştırılmasında ve antiviral tedavinin izlenmesinde kullanılmaktadır (73).

2.5.5. Karaciğer Biyopsisi

Genellikle kronik karaciğer hastaların ilk değerlendirmesinde önerilmektedir. Biyopsi karaciğer patolojilerinin diğer nedenlerinin dışlanması, nekroz ile inflamasyonun derecelendirilmesi ve fibrozisin evrelendirilmesi için gerekli

olmaktadır. Fibrozis derecesinin belirlenmesi tedavi açısından önem taşımaktadır. Transaminaz düzeyleri dikkate alınmaksızın başlangıçta karaciğer biyopsisi yapılması tedaviye karar vermek için yol gösterici olmaktadır. Ayrıca biyopsi yağlanma derecesi, safra yollarında hasar olup olmadığı ve varsa demir birikimi gibi diğer hepatit etkenlerinin ekarte edilmesinde de fikir vermektedir (70).

Az ya da hiç fibrozisi olmayan ve sıklıkla tedavisiz izlenen hastaların karaciğer hasarının izleminde de karaciğer biyopsisi yer almaktadır. Böyle hastalarda 4-5 yılda bir biyopsi tekrarı uygun görülmektedir. Karaciğer biyopsisi hastalığın şiddetinin belirlenmesinde altın standart olmasına rağmen kullanımında bazı sınırlamalar bulunmaktadır. En önemlileri biyopsi sırasında yeterli miktarda örnek alınamaması, karaciğerin farklı bölgelerinin farklı histolojik aktiviteye sahip olması yer almaktadır. Bu işlemin ağrı, kanama, hemobiliya, biliyer peritonit, organ yaralanmaları, arteriyovenöz fistül, enfeksiyon, biyopsi sonrası karsinoid kriz, biyopsi iğnesinin kırılması, pankreatit gibi komplikasyonları bulunmaktadır. Karaciğer biyopsisinde mortalite oranı % 0,01, komplikasyon oranı ise % 0.06-0,32 civarındadır (74). Bu nedenle karaciğerdeki fibrozis ve nekroinflamasyonu gösteren, biyopsiye alternatif invaziv olmayan yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır (75).

Tablo 2. HCV Enfeksiyonunun Anti-HCV ve HCV RNA Test Sonuçlarına Göre Yorumlanması (76)

Test Sonucu	Yorum	İşlem
Hepatit C virüsü (HCV) antikoruna aktif değil	HCV enfeksiyonu yoktur	Örnekte HCV antikoruna yoktur olarak sonuç verilir yada başka bir test tekrarlanır. Eğer HCV bulaş şüphesi varsa HCV RNA testi yapılmalıdır. Hasta enfeksiyonunun pencere döneminde olabilir.
Hepatit C virüsü antikoruna aktif	HCV enfeksiyonu var denilebilir	HCV enfeksiyonu geçiriliyor olabilir yada örneğin alınması transportu ve işlenmesi ile ilgili yanlış pozitif sonuç olabilir

Hepatit C virüsü antikorları HCV enfeksiyonu var aktif HCV RNA pozitif	Tedaviye başlanmalı
Hepatit C virüsü antikorları HCV enfeksiyonu yoktur aktif HCV RNA negatif	İşlemler tekrarlanır. Örnek tekrar istenir ve anti HCV testi tekrarlanır. Sonuç pozitif ise HCV RNA farklı bir firma ile çalışılır. Enfeksiyondan sonra plazmada viral RNA kaybolmasına rağmen anti HCV varlığı sürebilir

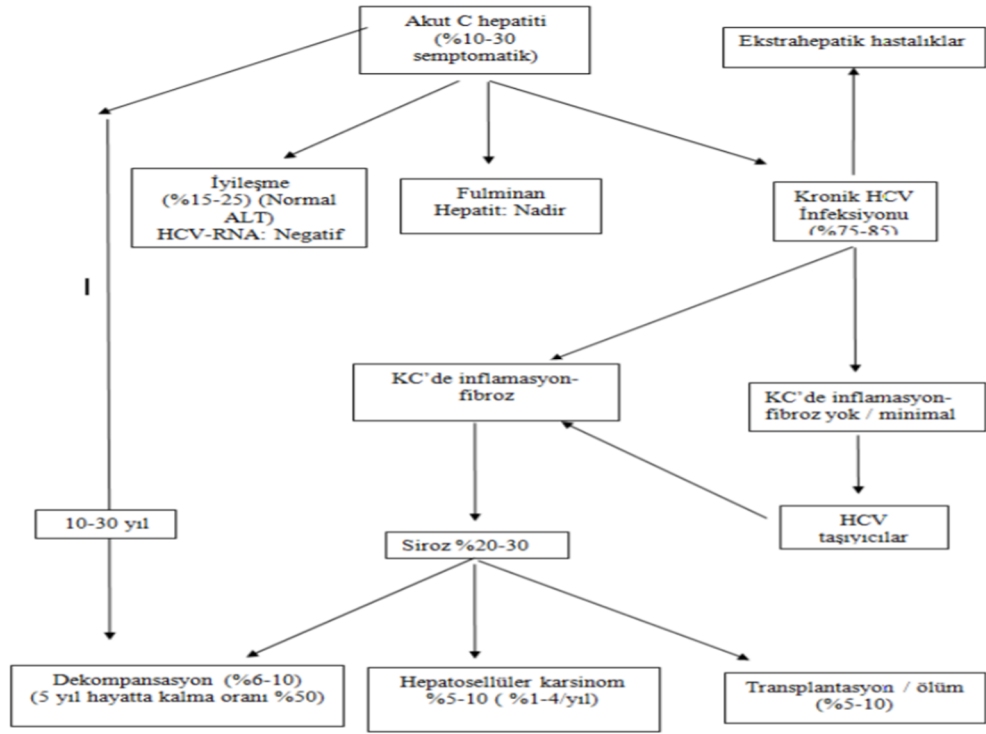
2.6. Klinik

2.6.1. Akut Hepatit C Klinik Bulgular

Semptomatik olanlar da sıklıkla hafif semptomlarla anikterik seyir gösterir. Klinik bulgular akut hepatit A ve B'ye göre daha hafiftir. Halsizlik, bulantı, sağ üst kadranda ağrısı, idrarda koyulaşma ve ciltte sarılık görülür.

2.6.2. Kronik Hepatit C Klinik Bulgular

Hafif bir halsizlik ve yorgunluk dışında klinik bulgu yoktur. Dekompansé siroz gelişirse; özofagus varisi, asit, koagülasyon bozuklukları, ensefalopati görülebilir. Hastalığın uzun seyrinde hepatoselüler karsinoma gelişebilir.



Resim 2. HCV Klinik Seyri

2.7. Tedavi

(Tedavi Kısmı Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği (TKAD) Hepatit C Tedavi Kılavuzu-Nisan 2019 Referans Alınmıştır.)

2.7.1. Tedavi Öncesi Değerlendirme

Hepatit C virüsü ile enfekte olan her hasta hepatit C tedavisi yönündendeğerlendirilmelidir. Karaciğer dışı sebeplerle veya nakil dışı hepatoselüler kanser (HSK) nedeniyle yaşam beklentisi bir seneden az olan hastalar dışındaki bütün hastalar tedavi edilmelidir. MELD \geq 18 ve karaciğer nakli 6 aydan kısa sürede yapılabilecek hastaların tedavisi nakil sonrasına ertelenebilir.

Tedaviden önce HCV genotipi ve genotip 1 olanlarda subtip tayiniyapılmalıdır.

Tedavi şekli ve süresi genotip ve subtip'e göre değişmektedir. Genotip ve subtip tayini için 5' transkripsiyon olmayan bölge ve 'core' kodlayan bölge veya NS5B kodlayan bölgeyi analiz eden bir test kullanılmalıdır. Genotip 1 olan hastalarda subtip tayini yapılamadığı takdirde hastalar G1a ile enfekte gibi tedavi edilmelidir. Nadiren miks genotipler saptanabilir, bu durumlarda tedavide pangenotipik rejimler tercih edilmelidir.

Karaciğer hastalığının evresi tayin edilmelidir. İleri karaciğer hastalığının varlığı tedavi süresini ve rejimini ve tedavi sonrası prognoz ve takibi belirler. İleri karaciğer hastalığını belirlemede klinik belirteçler, laboratuvar bulguları ve invaziv olmayan yöntemler tercih edilmelidir. İnvaziv olmayan yöntemler kan değerlerinin ölçümlerine dayanan APRI, Fib-4 gibi testlerdir. Ayrıca görüntülemeye dayanan elastografi yöntemleri kullanılabilir. Bunlar arasında "strain" elastografi (Acoustic Radiation Force Impulsion (ARFI)), 'transient' elastografi, MR elastografi sayılabilir. Eğer yöntemler arasında uyumsuzluk varsa veya klinikle bağdaşmayan bulgular elde edilirse; başka bir karaciğer hastalığının varlığının ayırt edilmesi gerekirse (otoimmün karaciğer hastalıkları veya steatohepatit gibi) karaciğer biyopsisi yapılmalıdır. Sirotik hastaların kompanse veya dekompanse olup olmadıkları belirlenir. Assit varlığı, hepatik ensefalopati, sarılık (Total bilirubin >3 mg/dl) ve özofagus varis kanamasının varlığı dekompanseasyonun belirtileridir. Hastaların Child-Pugh skorları ve MELD-Na skorlarının hesap edilmesi gerekir. Özellikle sirotik hastalarda uygun yöntemlerle HSK'nın varlığı sorgulanmalıdır.

2.7.2. Biyokimya Testleri

Son 3 ay içinde tam kan sayımı, international normalized ratio (INR), açlık şekeri, kreatinin, glomerüler filtrasyon hızı (GFR), albümin, AST, ALT, alkalen fosfataz, GGT, bilirubin düzeyleri ölçülmelidir. Hastanın kliniğinin gerektirdiği diğer testler de yapılmalıdır.

Eşlik eden hastalıklar araştırılmalıdır. Hepatit B ve HIV koenfeksiyonu araştırılmalıdır. Alkol kullanımı sorgulanmalı, varsa kısıtlanmalıdır. Karaciğeri

etkileyebilecek bütün durumlar gözden geçirilmelidir. Bu bağlamda, kalp yetmezliği, böbrek bozuklukları, ilaç kullanımı, diyabet ve obezite, otoimmünite ve karaciğeri ilgilendiren genetik bozukluklar araştırılmalıdır. Eğer bazı hastalara tedavi için öncelik verilecekse ileri karaciğer hastalığı olanlar, ekstrahepatik tutulumu olanlar, hepatit C bulaştırma riski yüksek olanlara öncelik verilmelidir. Hasta hepatit A ve hepatit B için bağışık değilse hepatit A ve hepatit B aşılımları yapılmalıdır. Siroz ise pnömokok aşısı yapılmalıdır.

Hastalara hastalıkları ile ilgili bilgi verilmelidir. Hastalara hastalığın bulaşma şekilleri ve hijyen tedbirleri konusunda bilgi verilmelidir. Hastaların izolasyonu konusundaki yanlış inanışlar düzeltilmelidir. Kullanılacak antiviral ajanların gebelikte kullanımı net olarak ortaya konulmadığı için antiviral tedavi sırasında gebeliğin engellenmesi konusunda hasta bilinçlendirilmelidir.

Hastaların kullandığı ilaçlar sorgulanmalıdır. Hastaların kullandığı ilaçlar sorgulanmalı ve ilaç etkileşimleri araştırılmalıdır. Kullanılması zorunlu olmayan ilaçlar (Proton pompa inhibitörleri ve statinler gibi) kesilebilir. Kontrendike olan ilaçların yerine mutlak endikasyonları varsa benzer etkiye sahip diğer ilaçlar verilmelidir. Böbrek yetmezliği, dekompanse olma gibi bazı ilaçlar için kontrendikasyon sayılan durumlar bilinmeli ve hastalar bu yönden değerlendirilmelidir.

Daha önce DEA tedavisi almamış hastalarda bazal direnç mutasyonlarına bakmaya gerek yoktur. American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) bazı durumlarda bazal direnç bakılmasını önermektedir. Ancak böylesi durumlarda alternatif tedaviler var olduğu için TKAD ve Viral Hepatit Savaşım Derneği (VHSD) bazal direnç bakmak yerine dirençten etkilenmeyen alternatif tedavi yapılmasını önermektedir. European Association for the Study of the Liver (EASL) da eldeki tek tedavi rejiminin direnç mutasyonunun varlığına göre optimize edilmesi gerektiği durumlar hariç, bazal direnç mutasyonlarının bakılmasını önermemektedir.

AASLD'ye göre bazal direnç bakılması gereken durumlar şunlardır:

G1a ile enfekte hastalarda;

- Daha önce tedavi almamış hastalarda Grazoprevir + Elbasvir verilecekse
- Daha önce tedavi almış ve Sofosbuvir + Ledipasvir verilecekse

G3 ile enfekte hastalarda;

- Daha önce tedavi almamış ve siroz
- Daha önce tedavi almış ve siroz olan / olmayan bütün hastalarda eğer Sofosbuvir+Daclatasvir veya Sofosbuvir+Velpatasvir verilecekse bazal Y93H mutasyonu bakılmalıdır.

Tedavi verilemeyen hastalar izlenmelidir.

İlaç	İçeriği	Kullanım şekli	Türkiye'deki durumu
Sovaldi	Sofosbuvir 400 mg	Günde 1 (sabah)	*
Harvoni	Sofosbuvir 400 mg + Ledipasvir 90 mg	Günde 1 (sabah)	*
Viekirax	Paritaprevir 75 mg+ritonavir 50 mg+Ombitasvir 12.5 mg	Günde 2 tablet birden (sabah)	*
Exviera	Dasabuvir 250 mg	Günde 2 (sabah 1, akşam 1)	*
Daklinza	Daclatasvir 30 mg veya 60 mg	Günde 1 (sabah)	†
Olysio	Simeprevir 150 mg	Günde 1 (sabah)	‡
Zepatier	Grazoprevir 100 mg+Elbasvir 50 mg	Günde 1 (sabah)	*
Epclusa	Sofosbuvir 400 mg+Velpatasvir 100 mg	Günde 1 (sabah)	§
Vosevi	Sofosbuvir 400 mg+Velpatasvir 100 mg + Voxilaprevir 100 mg	Günde 1	*
Maviret	Glecaprevir 100 mg+Pibrentasvir 40 mg	Günde 3 tablet 1 defada (yemekten sonra)	*
Rebetol, Copegus, Viron, Viranis	Ribavirin 200 mg	<75 kg olanlarda 1000 mg/gün ≥75 kg olanlarda 1200 mg/gün	*

Tablo 3. Hepatit C Tedavisinde Dünyada Onaylanmış Tedaviler

*: Ruhsatları var; †: Ruhsatı iptal edildi; ‡: Ruhsatı askıda; §: Türkiye'de yok

2.7.3. Genotip 1 ile Enfekte Hastalarda Tedavi

2.7.3.1. Genotip 1a (G1a) ile Enfekte Hastalarda Tedavi

2.7.3.1.1. G1a, Daha Önce Tedavi Almamış Hastalarda Tedavi

Siroz Olmayanlarda Tedavi

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta (HCV RNA düzeyi < 6 milyon IU/ml 8 hafta)
- Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir + Ribavirin 12 hafta,
- Glecaprevir + Pibrentasvir 8 hafta,
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 8 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir + Ribavirin 16 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta (77)

Kompanse Siroz Olanlarda Tedavi

- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta
- Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir + Ribavirin 24 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir + Ribavirin 16 hafta (HCV RNA ≤ 800.000 IU/ml ise Ribavirin'siz 12 hafta)
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta (78-80)

2.7.3.1.2. G1a Daha Önce Peginterferon+Ribavirin Tedavisi Kullanan Ve Tedaviye Cevapsız Olan Hastalarda Tedavi

Siroz Olmayanlarda Tedavi

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta
- Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir + Ribavirin 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 8 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 8 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir + Ribavirin 16 hafta (HCV RNA ≤ 800.000 IU/ml ise Ribavirin'siz 12 hafta)
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta

- Sofosbuvir +Velpatasvir 12 hafta

Kompanse Siroz Olanlarda Tedavi

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta
- Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir + Ribavirin 24 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir + Ribavirin 16 hafta (HCV RNA \leq 800.000 IU/ml ise Ribavirin'siz 12 hafta) (81)

2.7.3.2. Genotip 1b (Gb1) İle Enfekte Hastalarda Tedavi

2.7.3.2.1. Daha Önce Tedavi Almamış G1b Hastalarda Tedavi

Siroz Olmayanlarda Tedavi:

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta (HCV RNA düzeyi $<$ 6 milyon IU/ml ise 8 hafta tedavi verilebilir)
- Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir 12 hafta (\leq F2 olanlarda 8 hafta kullanılabilir)
- Grazoprevir + Elbasvir 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 8 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 8 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta (82)

Kompanse Siroz Olanlarda Tedavi

- Sofosbuvir + Ledipasvir
- Paritaprevir + Ritonavir+Ombitasvir+Dasabuvir 12 hafta

- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir +Voxilaprevir 12 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta (78)

2.7.3.2.2. Daha Önce Peginterferon + Ribavirin Tedavisi Kullanan ve Tedaviye Cevapsız Olan G1b Hastalarda Tedavi

Siroz Olmayanlarda Tedavi

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta
- Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 8 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 8 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta (81)

Kompanse Siroz Olanlarda Tedavi

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta
- Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta (83)

2.7.3.2. Genotip 1 ile Enfekte DEA Kullanmış Olan Hastaların Tedavisi

DEA ile yeniden tedavi düşünülen hastalarda yeniden HCV genotip analizi ve NS5A kullanmış olan hastalarda RAS direnç testi yapılması tedavinin

etkinliği için gereklidir. DEA ile yeniden tedavi, deneyimli merkezlerde yapılmalıdır (84).

2.7.3.3. Genotip 1 ile Enfekte Sofosbuvir ± Peginterferon ± Ribavirin Tedavisi Başarısız Olmuş Hastaların Tedavisi

Siroz Olmayanlarda Tedavi

- Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirin 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir 12 hafta (Genotip 1a ile enfekte olanlarda HCV RNA ≤800 000 IU/ml ise 12 hafta. HCV RNA >800 000 IU/ml olanlarda ribavirinli 16 hafta) (85).

Kompanse Siroz Olanlarda Tedavi

- Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirin 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir 12 hafta (Genotip 1a ile enfekte olanlarda HCV RNA ≤800 000 IU/ml ise 12 hafta. HCV RNA >800 000 IU/ml olanlarda ribavirinli 16 hafta)
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta (G1b ile enfekteyse) (86).

2.7.3.4. Genotip 1 İle Enfekte Proteaz İnhibitörü + Peginterferon+Ribavirin Tedavi Kombinasyonlarına Cevap Vermemiş Olan Hastalarda Tedavi

Siroz Olmayanlarda

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir 12 hafta (G1a ile enfekte olanlarda tedavi süresi 16 hafta)
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta (85)

Kompanse Siroz Olanlarda

- Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirin 12 hafta, Ribavirinsiz 24 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir + Ribavirin 12 hafta (G1a ile enfekte olanlarda tedavi süresi 16 hafta)
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirin 12 hafta, Ribavirinsiz 24 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta

2.7.3.5. NS5A İnhibitörlü Tedavi Kullanıp Cevapsız Olan Hastalarda Tedavi

- Glecaprevir + Pibrentasvir 16 hafta (Proteaz inhibitörü kullanmamışsa) (Proteaz inhibitörü kullanmışsa Sofosbuvir ile beraber kullanılmalıdır)
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta

2.7.4. Genotip 2 İle Enfekte Hastalarda Tedavi

2.7.4.1. Daha Önce Tedavi Almamış veya Peginterferon + Ribavirin Tedavisine Cevapsız Olmuş Hastalarda Tedavi

Siroz Olmayanlarda Tedavi

- Glecaprevir + Pibrentasvir 8 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 8 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta

Kompanse Siroz Olanlarda Tedavi

- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta

2.7.4.2. DEA Kullanmış Olan Hastalar

- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta

2.7.5. Genotip 3 İle Enfekte Hastalarda Tedavi

2.7.5.1. Daha Önce Tedavi Almamış Hastalarda Tedavi

Siroz Olmayanlarda Tedavi

- Glecaprevir + Pibrentasvir 8 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 8 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta

Kompanse Siroz Olanlarda Tedavi

- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir +Voxilaprevir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirin 12 hafta, Ribavirinsiz 24 hafta

2.7.5.2. Peginterferon + Ribavirin Kullanmış Olan Hastalar

Siroz Olmayanlarda Tedavi

- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta,
- Sofosbuvir + Velpatasvir+Voxilaprevir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir+ Daclatasvir +Ribavirin 12 hafta

Kompanse Siroz Olanlarda Tedavi

- Glecaprevir + Pibrentasvir 16 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir+Voxilaprevir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir+Ribavirin 24 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir+Ribavirin 12 hafta

2.7.5.3. DEA Kullanmış Olan Hastalar

- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta (Siroz ve NS5A kullanmış ise Ribavirinli 12 hafta)

2.7.6. Genotip 4 İle Enfekte Hastalarda Tedavi

2.7.6.1. Daha Önce Tedavi Almamış Hastalarda Tedavi

Siroz Olmayan Ve Kompanse Siroz Olan Hastalar

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta

- Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Ribavirin 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 8 hafta (sirozlarda 12 hafta)
- Sofosbuvir+ Velpatasvir + Voxilaprevir 8 hafta (sirozlarda 12 hafta)
- Grazoprevir + Elbasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir +Velpatasvir 12 hafta

2.7.6.2. Tedavi Kullanmış Olan Hastalar

2.7.6.3. Siroz Olmayan Ve Kompanse Siroz Olan Hastalar

- Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirin 12 hafta (Ribavirinsiz 24 hafta)
- Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Ribavirin 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta
- Grazoprevir + Elbasvir + Ribavirin 12 hafta (HCV RNA>800.000 IU/ml ise 16 hafta)
- Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirin 12 hafta (Ribavirinsiz 24 hafta)
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta

2.7.6.4. DEA kullanmış olan hastalar

- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta

2.7.7. Genotip 5 ve 6 ile Enfekte Hastalarda Tedavi

2.7.7.1. Daha Önce Tedavi Almamış Hastalar

Siroz Olmayanlarda Tedavi

- Glecaprevir + Pibrentasvir 8 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 8 hafta
- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta

Kompanse Siroz Olanlarda Tedavi

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta
- Glecaprevi + Pibrentasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta

2.7.7.2. Peginterferon + Ribavirin Kullanmış Olan Hastalar

Siroz Olmayan ve Kompanse Siroz Olan Hastalar

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 8 hafta (siroz olanlarda 12 hafta)
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 8 hafta (siroz olanlarda 12 hafta)
- Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirin 12 hafta (Ribavirinsiz 24 hafta)
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta

2.7.7.3. DEA Kullanmış Olan Hastalar

Siroz Olmayan Ve Kompanse Sirozlu Hastalar

- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 12 hafta

2.7.8. Özel Hasta Grupları

2.7.8.1. Dekompanse Siroz Hastalarının Tedavisi

MELD \geq 18 olup 6 ay içinde karaciğer nakli olabileceklerde tedavinin nakil sonrasına ertelenmesi daha uygundur. Proteaz inhibitörleri ve içeren ilaçlar dekompanse sirozlarda kontrendikedir. Ribavirin 600 mg başlanması, tolere edildikçe yükseltilmesi tavsiye edilir.

Aşağıdaki ilaçlar kullanılmaz:

- Simeprevir (Olysio)
- Paritaprevir (Viekirax)
- Grazoprevir (Zepatier)
- Glecaprevir (Maviret)
- Voxilaprevir (Vosevi)

2.7.8.2. Genotip 1, 4, 5, 6 İle Enfekte Hastaların Tedavisi

- Sofosbuvir + Ledipasvir (Ribavirinle 12 hafta, Ribavirinsiz 24 hafta)
- Sofosbuvir + Velpatasvir (Ribavirinle 12 hafta, Ribavirinsiz 24 hafta)
- Sofosbuvir + Daclatasvir (Ribavirinle 12 hafta, Ribavirinsiz 24 hafta) (Sadece G1 ve G4 ile enfekte olanlarda)
- Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirin 24 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Ribavirin 24 hafta

2.7.8.3. Genotip 2, 3 İle Enfekte Olanlarda Tedavi

- Sofosbuvir + Velpatasvir + Ribavirin 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirin 12 hafta (Ribavirinsiz 24 hafta)
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Ribavirin 24 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirin 24 hafta

2.7.9. Karaciğer Transplantasyonu Sonrası Hepatit C Tedavisi

HCV rekürrensi olan tüm hastalar tedavi edilmelidir. Tedaviye olabildiğince erken başlanmalıdır. Hastalar stabil hale geldikten sonra, tercihen transplantasyon sonrası üçüncü aydan itibaren tedavi başlanmalıdır. Ribavirin kullanılacaksa tedavi süresi 12 haftadır, 600 mg dozda başlanmalı ve tolerans durumuna göre dozu ayarlanmalıdır. Antiviral tedavi sırasında immunosüpresif tedavi dozu düzenlenmeli

ve kan düzeyleri yakından izlenmelidir. Kadavra donör havuzunu genişletmek amacıyla anti-HCV pozitif ve HCV RNA pozitif kadavra karaciğer HCV RNA pozitif alıcılara kullanılabilir.

2.7.9.1. Genotip 1, 4, 5, 6 Hastalarda Tedavi (Siroz Olmayan veya Kompanse Siroz Olan Hastalar)

- Sofosbuvir + Ledipasvir + Ribavirin 12 hafta (Ribavirinsiz 24 hafta)
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta, siroz ise Ribavirinli 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta (GFR <30 ml/dakika olanlarda) Takrolimus serum seviyeleri takip edilir, gerekirse doz ayarı yapılır, siklosporin >100 mg/günlük dozlarda kullanılmaz)
- Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirin 12 hafta (Ribavirinsiz 24 hafta)

2.7.9.2. Genotip 2 Hastalar (Siroz Olmayan, Kompanse veya Dekompanse Siroz Olan Hastalar)

- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta (dekompanse sirozlarda kullanılmaz)
- Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirin 12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta, siroz ise Ribavirinli 12 hafta

2.7.9.3. Genotip 3 İle Enfekte Hastalar (Siroz Olan, Kompanse veya Dekompanse Siroz Olan Hastalar)

- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta (Dekompanse sirozlarda kullanılmaz)
- Sofosbuvir + Daclatasvir+Ribavirin 24 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir+Ribavirin 12 hafta (Dekompanse ise 24 hafta)

2.7.10. HBV Koenfeksiyonu Olan Hastalarda Tedavi

Kronik B hepatiti için tedavi kriterlerini karşılayanlarda HBV için antiviral tedavi başlanır. HBV tedavisi endikasyonu olmayan HBsAg pozitif hastalarda HCV tedavisi sırasında ve tedavi bitiminden 3 ay sonrasına kadar HBV reaktivasyonu riskine karşı HBV DNA takibi yapılır. Yakından takip edilemeyecek hastalarda entekavir veya tenofovir başlanması ve Hepatit C tedavisi bittikten 3 ay sonrasına kadar kullanılması uygundur. Hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) negatif olan ve hepatit B yüzey antikoru (anti-HBs) ve/veya Hepatit B core antikoru immünglobülin G (anti-HBc IgG) pozitif olan hastalarda HBV reaktivasyonu nadir olup DEA tedavi sırasında aralıklı olarak serum ALT takibi yapılmalıdır.

2.7.11. Kronik Böbrek Hastaları

- GFR \geq 30 ml/dk/1.73 m² olan hastalar diğer hastalar gibi tedavi edilirler. Tedavi sırasında renal fonksiyonlar yakın izlenmelidir.
- GFR <30 ml/dk/1.73 m² olan veya hemodiyalize giren hastalarda zamanı belirlenebilen böbrek nakli planlanıyorsa, tedavi nakil sonrasına ertelenebilir. Bu tedaviler deneyimli merkezlerde yapılmalıdır.
- G1, 2, 3, 4, 5, 6 ile enfekte hastalarda Glecaprevir + Pibrentasvir 8-12 hafta
- G1a'da Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir + Ribavirin (200 mg/gün) 12 hafta (Hb <10 g/dl veya tedavi sırasında <8.5 g/dl olursa ribavirin kullanılmamalı, tedavi 24 haftaya uzatılmalıdır.)
- G1b'de Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir 12 hafta
- G4'te Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Ribavirin (200 mg/gün) 12 hafta (Hb <10 g/dl veya tedavi sırasında <8.5 g/dl olursa ribavirin kullanılmamalıdır. tedavi 24 haftaya uzatılmalıdır.)
- G1 ve G4 ile enfekte olan hastalarda Grazoprevir + Elbasvir 12 hafta (G1a'da 16 hafta daha uygundur).

2.7.12. Solid Organ Transplant Alıcıları (Böbrek Nakilli Hastalar Dahil)

Solid organ transplant alıcılarında DEA tedavi yaşam beklentilerine göre transplant öncesi ve sonrası uygulanabilir. Transplant öncesi antiviral tedavide yukarıda belirtilen genel kurallar geçerlidir. Transplantasyon sonrası dönemde ise;

Tüm genotiplerde:

- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta
- Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirin 12 hafta • Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta

Genotip 1, 4, 5, 6 ile enfekte olanlarda:

- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta

Genotip 1, 2, 3, 4, 5, 6 ile enfekte hastalarda GFR<30 ml/dakika

- Glecaprevir + Pibrentasvir 12 hafta

2.7.13. Madde Bağımlılarında HCV Tedavisi

Avrupa'da, HCV yükünün üçte ikisini damar içi madde bağımlıları oluşturmaktadır. Damar içi madde kullanan kişiler arasında kronik HCV enfeksiyonunun görülme sıklığı yaklaşık % 40'tır. Ülkemizde de bağımlılık tedavi merkezlerinde tedavi gören hastalarda HCV prevalansı % 45 olarak bildirilmiştir.

HCV enfeksiyonu olan madde bağımlılarının tedavisinin amacı, HCV ile ilişkili morbidite ve mortalitenin azaltılması yanında, ortak enjektör kullanımı nedeni ile oluşabilecek bulaşma riskini engellemektir. Damar içi madde bağımlılarında risk yüksek olduğundan HCV testi en az yılda bir kez yapılmalıdır. Opioid Substitüsyon Tedavisi (OST) alan madde bağımlısı hastalar arasında, DEA tedavisinin güvenli ve etkili olduğu, metadon veya buprenorfin doz ayarlaması gerektirmediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, opioid toksisitesi veya yoksunluk belirtileri için yakın izlem yapılmalıdır.

2.7.13.1. Önerilen İlaçlar

- Elbasvir + Grazoprevir 12 hafta
- Sofosbuvir + Ledipasvir 12 hafta
- Paritaprevir + Ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir 12 hafta
- Glecaprevir + Pibrentasvir 8-12 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 12 hafta

1.7.14. HIV Koenfeksiyonu Olanlarda Hepatit C Tedavisi

HIV koenfeksiyonu olan hastalarda karaciğer hastalığı ilişkili morbidite ve mortalite, HCV ile monoenfekte hastalara göre daha sıktır. HIV ile koenfekte HCV hastalarında ileri evre fibrozis ve siroz, karaciğer dışı organ disfonksiyonları ve mortalite, koenfeksiyonu olmayan hastalardan daha sıktır. Olası bu riskleri ortadan kaldırmak için HCV tedavisi önceliklendirilmelidir. Herhangi bir nedenle HCV enfeksiyonunun tedavisi ertelenirse, karaciğer hastalığı, kılavuzda önerildiği şekilde rutin aralıklarla izlenmelidir. HIV/HCV koenfekte hastalarda tedavi önerileri, tedavinin etkinliği ve yan etki oranları, HCV monoenfekte hastalardan farklı olmamakla birlikte DEA'lar ile antiretroviral ilaçlar (ART) arasındaki etkileşim için dikkatli olunmalıdır. Her ne kadar HIV ile enfekte tüm hastalara tedavinin geciktirilmeden başlanması önerilmekte ise de HIV/HCV koenfeksiyonunun varlığı ART başlamanın aciliyetini artıran durumlar arasındadır.

2.7.14.1. Tedavi Zamanlaması:

2.7.14.1.1. Antiretroviral Tedavi (ART) Başlanmamış Hastalar:

CD4 hücre sayısından bağımsız olarak HIV ve HCV tedavisinin birlikte başlanması önerilmekle beraber, CD4 hücre sayısı $<200/mm^3$ olanlara öncelikli olarak ART başlanması, $>200/mm^3$ olan olgularda öncelikle DEA ile HCV tedavisinin yapılması önerilir.

ART naif hastalarda ART'ye bağlı potansiyel ilaç toksisitesinin değerlendirilmesi, ART ile sağlanan immün restorasyon ve HIV RNA süpresyonunun teorik olarak HCV üzerindeki olumlu etkilerini artırma etkilerinden dolayı, genellikle ART başlandıktan 4-6 hafta sonra HCV'ye yönelik tedavi başlanması önerilmektedir. CD4 hücre sayısı $>500/mm^3$ olan hastalarda ART, HCV tedavisi tamamlanana kadar ertelenebilir.

HIV/HCV koenfeksiyonunda HCV tedavisi verilecek hastalarda, ART 'ye başlanırken veya değiştirilirken, ilaçlar arasındaki ciddi etkileşimler nedeniyle ilaç seçimleri dikkatli yapılmalı ve olası ilaç etkileşimleri mutlaka kontrol edilmelidir.

2.7.14.1.2. ART Deneyimli Hasta:

ART önce başlanan HIV RNA negatif olan hastalarda DEA başlanmadan önce potansiyel ilaç etkileşimleri göz önünde bulundurularak ART uygun şekilde değiştirilebilir. ART değişikliği sonrası yeni tedavi rejiminin etkinliğini görmek amacıyla 2-8. haftada HIV RNA kontrol edilmelidir. Olası ilaç etkileşimlerinden kaçınmak için HCV tedavisi tamamlandıktan sonra değiştirilmiş ART'ye en az 2 hafta süreyle daha devam edilmesi önemlidir.

ART alan ve viral süpresyon sağlanamayan hastalarda hastanın antiviral öyküsü ve direnç profiline göre en az iki ya da üç HIV'e etkili ajan içeren yeni ART seçilmeli ve tedaviye başlandıktan 4-6 hafta sonra ilaç tolerabilitesi ve yan etkileri gözlemlendikten sonra HCV tedavisi başlanmalıdır. HCV tedavisi için önceden başlanmış olan ART'ye ara verilmemelidir.

ART alan ve viral süpresyon sağlanamayan hastalarda hastanın antiviral öyküsü ve direnç profiline göre HIV'e etkili en az iki ya da üç ajan içeren yeni ART

seçilmeli ve tedaviye başlandıktan 4-6 hafta sonra ilaç tolerasyonu ve yan etkileri gözden geçirildikten sonra HCV tedavisi başlanmalıdır.

Yukarıda da belirtildiği gibi, HIV/HCV koenfekte hastalarda tedavi önerileri monoenfekte hastalardan farklı olmamakla birlikte, değerlendirilmesi gereken en önemli parametre ilaç etkileşimleridir. Genel olarak abakavir+lamivudin+dolutegravir kombinasyonu, etkileşimde olmadığı tüm DEA'larla güvenle kullanılabilir.

2.7.14.2. HCV Tedavisi İle HIV Antiretroviral İlaç Etkileşimleri Önerileri

Glecaprevir (300 Mg)/Pibrentasvir (120 Mg) Kombinasyonu

Glecaprevir/pibrentasvir, klinik olarak anlamlı etkileşime sahip olmayan antiretroviral ilaçlarla kullanılmalıdır: abakavir, emtrisitabin, enfuvirtid, lamivudin, raltegravir, dolutegravir, rilpivirin ve tenofovir. Glecaprevir/pibrentasvir + elvitegravir/kobisistatin güvenliği hakkındaki sınırlı veriler göz önüne alındığında, HIV/HCV ile koenfekte edilmiş hastaların hepatotoksisite için izlenmesi önerilmektedir.

Elbasvir/Grazoprevir Kombinasyonu

Abakavir, emtrisitabin, enfuvirtid, lamivudin, raltegravir, dolutegravir, rilpivirin ve tenofovir ART'leri ile birlikte belirgin klinik etkileşim olmaksızın kullanılabilir.

Sofosbuvir/Velpatasvir kombinasyonu

Çoğu ART ile birlikte sorunsuz bir şekilde kullanılabilir. Ancak efavirenz, etravirin veya nevirapin ile birlikte kullanılmamalıdır. Çünkü velpatasvirin,tenofovir disoproksil fumarat (TDF) ile birlikte kullanımı durumunda tenofovir düzeyini artırma potansiyeli vardır ve böbrek fonksiyonlarının yakın izlenimi gerektirir, GFR <60 ml/dk olan hastalarda kullanımından kaçınılmalıdır. Sofosbuvir/velpatasvir tedavisi alan hastalarda kobisistat veya ritonavir içeren ART

rejimi birlikte kullanılacağı zaman, tenofovir alafenamid (TAF), TDF'e alternatif oluşturabilir.

Sofosbuvir (400 Mg)/Velpatasvir (100 Mg) / Voksilaprevir (100 Mg) Kombinasyonu

Önemli etkileşime sahip olmayan antiretroviral ilaçlarla kullanılmalıdır: dolutegravir, emtrisitabin, enfuvirtid, lamivudin, rilpivirin ve raltegravir gibidir. Bu tedavi, TDF olarak verildiğinde tenofovir seviyelerini artırma potansiyeline sahip olduğundan, birlikte kullanım renal fonksiyonun dikkate alınmasını zorunlu kılar ve eGFR <60 ml/dk olan kişilerde kaçınılmalıdır. Sofosbuvir/velpatasvir/voksilaprevir ve TDF alan hastalarda eşzamanlı olarak dozaj döneminde renal izleme önerilmektedir.

Önerilmeyen Durumlar

- HCV tedavisi için antiretroviral tedavinin kesilmesi / ara verilmesi önerilmez.
- Elbasvir/grazoprevir kobisistat, efavirenz, etravirin, nevirapin veya herhangi bir HIV proteaz inhibitörü ile kullanılmamalıdır.
- Glecaprevir/pibrentasvir; atazanavir, ritonavir içeren antiretroviral rejimlerle, efavirenz veya etravirin ile birlikte kullanılmaz.
- Sofosbuvir/velpatasvir; efavirenz, etravirin veya nevirapin içeren antiretroviral rejimlerle birlikte kullanılmaz.
- Sofosbuvir/velpatasvir/voksilaprevir; ritonavir-boosted atazanavir, efavirenz, etravirin veya nevirapinle birlikte kullanılmaz.
- Sofosbuvir-temelli rejimler tipranavir ile birlikte kullanılmaz.
- Paritaprevir/ritonavir/ombitasvir ve dasabuvir; darunavir, efavirenz, ritonavir-boosted lopinavir, ritonavir-boosted tipranavir, etravirin, nevirapin, kobisistat veya rilpivirin ile birlikte kullanılmaz.
- Paritaprevir/ritonavir/ombitasvir ± dasabuvir, antiretroviral tedavi almayan HIV/HCV koenfekte bireylerde kullanılmaz.

2.7.15. Akut Hepatit C Tedavisi

- Genotip 1, 4, 5, 6 ile enfekte olanlarda Sofosbuvir + Ledipasvir 8 hafta
- Genotip 1b ile enfekte olanlarda Paritaprevir/ritonavir + Ombitasvir + Dasabuvir 8 hafta kullanılabilir.

Bütün genotiplerde:

- Glecaprevir + Pibrentasvir 8 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir 8 hafta
- Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir 8 hafta

Akut C hepatiti tanısı konduğunda hemen DEA tedavisi başlanmalıdır.

2.7.15.1. Etkinlik Takibi

Doğrudan etkili antivirallerin çok yüksek etkinlikleri olduğu için ve kısa süre kullanıldıkları için tedavi sırasında etkinliği önceden kestirecek ara değerlendirmeler yapılması gerekmemektedir. Erken HCV RNA değerlerinin cevapsızlığı ön gördürdüğüne dair veri yoktur. Bu nedenle etkinlik takibi tavsiye edilmemektedir. Ancak hastaların tedavi uyumunu değerlendirmek için ve çok az oranda olabilecek breakthrough'yu yakalayabilmek için tedavinin 4'üncü haftası veya az öncesinde HCV RNA düzeyine bakılması uygun olabilir. HCV RNA pozitif olanlarda 6'ncı haftada ölçüm tekrarlanabilir. Etkinlik takibi tavsiye edilmediğine göre tedaviye başlamadan önce bakılan HCV RNA düzeyinden sonra sadece tedavi sonrası 12 veya 24 haftada HCV RNA bakılması yeterlidir. Tedaviye cevap vermeyenlerde daha sonraki tedavi denemelerinin tam cevapsızlar ve nüksler bakımından fark edip etmediği de bilinmemektedir. Bu konudaki veriler elde edilene kadar TKAD ve VHSD tedavi sonunda HCV RNA bakılmasının uygun olacağı görüşündedir.

2.7.15.2. Yan Etki Yönünden Takip

Etkinlik için takip edilmese bile ilaçların yan etkileri ve ilaç etkileşimleri yönünden tedavi sırasında hastalar takip edilmelidir. DEA ilaçların en sık karşılaşılan yan etkileri halsizlik, baş ağrısı ve kaşıntıdır. Paritaprevir, Ritonavir, Ombitasvir, Dasabuvir kombinasyonunda bilirubin ve ALT yükselmeleri görülebilir. Ama tedavide değişiklik yapacak düzeyde değildir. Böbrek fonksiyonları bozuk olan ve Sofosbuvir kullanan hastalar bu yönden de takip edilmelidir.

Ribavirinli tedavi kullanan hastalarda 2, 4, 8 ve 12. haftalarda hemoglobinin düzeyi bakılmalıdır. Eğer anemi geliştirse takip sıklığı artırılabilir.

Proteaz inhibitörleri karaciğer fonksiyonları bozuk olanlarda kullanılmamalıdır. Bu nedenle siroz hastalarında kullanıldıklarında karaciğer yetmezliği açısından dikkat edilmelidir. Dekompanse sirozlarda zaten kontrendikedirler.

DEA tedavisi sırasında gebelik kesinlikle engellenmelidir. Ribavirin kullananlarda tedavi bittikten 6 ay sonrasına kadar gebeliğe müsaade edilmemelidir.

2.7.15.3. Tedavi Sırasında İlaç Değişiklikleri

DEA için ilaç doz ayarlaması yoktur. Eğer ALT >10 kat yükselme, sepsis ya da açıklanamayan ciddi bir yan etki oluşursa tedavi tam olarak kesilmelidir. Ribavirin tedavisi sırasında gelişebilecek anemi için ribavirin doz ayarlaması yapılmalıdır.

2.7.15.4. İlaç Uyumu

Hastalar ilaçlarını düzenli kullanma konusunda ısrarla uyarılmalıdırlar. Hasta yakınlarından da yardım alınabilir. Alkol ve uyuşturucu kullananlarda psikiyatri desteği alınabilir. Düzenli ilaç kullanılmaması breakthrough ve cevapsızlık ve ilaç

direnç mutasyonlarının seçilmesine neden olabilir. Sonraki tedavileri de tehlikeye atabilir.

2.8. Hepatosellüler Karsinoma Tanı ve Tedavisi

Hepatosellüler karsinoma (HSK), hepatositlerden köken alan ve karaciğerin en sık rastlanan primer malign tümördür. İnsidansı 20-200/100000 arasındadır. En sık görülen 5. kanserdir. Kanser ilişkili ölümlerde 3. sırada yer alır. Dünya genelinde yılda 250 bin ile 1 milyon arasında insanın ölümüne yol açar (87).

Hepatosellüler karsinomun en büyük risk faktörü sirozdur. Ülkemizde sirozun en sık nedenleri viral hepatitler (HBV, HCV) ve alkoldür. Bunların dışında hepatoma riskini arttıran diğer faktörler; erkek cinsiyet, nonalkolik karaciğer yağlanması, diyabetes mellitus, sigara kullanımı, hemokromatozis, alfa-1antitripsin eksikliğidir (88).

Hepatosellüler karsinom gelişimindeki en önemli olay karaciğerdeki rejenerasyondur. Etken ne olursa olsun karaciğerde ilk önce inflamasyon görülür. İnflamasyondan sonra sırasıyla nekrozis, fibrozis ve rejenerasyon gelişir. Fibrozis ve rejenerasyon sirozun en önemli patofizyolojik göstergeleridir. Rejenerasyon nodüllerinden sırayla displastik nodül, erken hepatoma ve mutlak hepatoma gelişir. Hepatosellüler karsinom tanısında; görüntüleme yöntemleri, biomarkerlar ve biyopsi kullanılır. Görüntüleme yöntemleri olarak kontrast ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans (MR)'dan yararlanır. Biomarker olarak alfa fetoprotein (AFP) değerine bakılır. Biyopsi tüm tetkiklere rağmen tanı konulamazsa devreye sokulacak yöntemdir.

Sirotik zeminde karaciğerde nodül saptanan bir hastada uygulanacak tanı yöntemi:

- Lezyon 1 cm'nin altındaysa 3 ay arayla USG ile takip edilir. Ek bir tanısal işleme gerek yoktur. Üç ay arayla yapılan kontrollerde lezyonun büyüklüğüne göre daha sonraki aşamalar uygulanır.

- Lezyon 1-2 cm arasında ise üç kontrastlı teknikten (kontrast USG, BT ve MR) en az iki tanesinde hepatoma lehine bulgu varsa hepatoma tanısı konur. Eğer üç kontrastlı teknikten en az iki tanesinde hepatoma lehine bulgu yoksa karaciğer biyopsisi yapılır.
- Lezyon 2 cm'den büyükse üç kontrastlı teknikten (kontrast USG, BT ve MR) bir tanesi hepatoma lehine ise veya AFP değeri 200 ng/ml den yüksekse hepatoma tanısı konur. Aksi durumunda biyopsi yapılır (89).

Hepatomada radyolojik olarak; USG'de, 5 cm'den küçük lezyonlar homojen hipoekoik görünümündedirler. Lezyon büyüdükçe ekojenitesi artabilir. Büyük boyutlu lezyonlarda nekroz ve fibröz nedeniyle heterojen yapıda eko örneği verebilirler ancak hipoekoik görünüm baskındır. Çevre parankimden keskin sınırla ayrılır. Kapsüllü olgularda kitle etrafında hipoekoik halo görülür (90). Kontrastsız bilgisayarlı tomografide lezyon genellikle hipodens görülür. Kontrastlı kesitlerde tümör içindeki arteriportal şantlar nedeniyle arteriyel fazda erken portal opaklaşma veya tümöre komşu normal karaciğer parankimi içerisinde kama şeklinde erken kontrast tutulumu izlenir. Portal venöz fazda heterojen kontrast tutulumu vardır, yer yer kontrastı az tutan yerler vardır. Geç fazda tümör normal karaciğere göre hipodens görülür. Tümör kapsülü % 90 üzerinde kontrast tutar (91). Lezyon T1 ağırlıklı MRG'de hipointens iken, T2 ağırlıklı MRG'de hiperintens görülür. Erken tanı ve tarama, neden ne olursa olsun sirozu olan tüm hastalara yapılır. Bunların dışında kronik HBV ve HCV enfeksiyonu olanlar, alkol kullananlar, ailesinde HSK öyküsü olanlar gibi risk faktörleri taramaya alınır. Tarama 6 ayda bir yapılan USG ve AFP ile yapılmaktadır. Tarama esnasında lezyon saptanırsa lezyonun büyüklüğüne göre tanısal işlemlere başvurulur.

Hepatoselüler karsinomanın tedavi seçiminde en önemli faktör hastanın karaciğer rezervidir. HSK'nın tedavi seçenekleri beş grupta incelenir. Uygun vakalarda beş yıllık yaşam cerrahi tedavi alanlarda % 60-70 iken perkutan girişimlerde % 40-50 arasındadır (92). Rezeksiyon hepatoselüler karsinomlu hastalarda temel tedavi yöntemlerindedir. Sirozu olmayan veya kompanse erken evre sirozda ilk tedavi seçeneğidir (93). İleri evre karaciğer sirozu olanlarda ve geniş rezeksiyon yapılanlarda postoperatif karaciğer yetersizliği olasılığı artmaktadır.

Hastalarda postoperatif karaciğer yetersizliğini gösteren en önemli kriter Child sınıflamasıdır. Child A ve B'de rezeksiyon yapılabilirken Child C'li hastalarda rezeksiyon kontrendikedir. Ayrıca operasyon öncesi bilirübini yüksek ve portal hipertansiyon bulguları (varis, trombositopeni) olan hastalar rezeksiyonu tolere edememektedirler.

Operasyon öncesi kalacak karaciğer dokusunun volümü hesaplanmalıdır. Sirozu olmayan hastalarda % 25, sirozu olan hastalarda % 50'den fazla karaciğer dokusu kaldığında rezeksiyon sonrası hastalar işlemi tolere edebilmektedir (94). Karaciğer transplantasyonu, karaciğer fonksiyonları ileri derecede bozuk olan ve rezeksiyon yapılmayan hastalarda uygulanır. Bu tedavide hem hepatoma hem de altta yatan siroz hastalığı tedavi edilir. Hasta seçiminde Milan kriterleri uygulanmaktadır. Burada tek tümör varlığında tümör boyunun 5 cm'den küçük olması, çok sayıda tümörü olanlarda sayının en fazla 3 ve her birinin büyüklüğünün 3 cm'den küçük olması gerekmektedir. Bu kriterlere uyan olgularda transplantasyon tedavisinde başarılı sonuçlar alınmıştır (95). Child A sirozu olanlarda rezeksiyonla transplantasyon aynı oranda başarı sağladığı için bu hastalara rezeksiyon, Child B ve C'de ise karaciğer transplantasyonu tercih edilmektedir.

Perkütan alkol enjeksiyonu yönteminde doku içine perkutan yolla verilen alkol koagülasyon nekrozuna yol açar. Alkol enjeksiyonunun avantajı uygulamasının kolay ve maliyetinin ucuz olmasıdır. Alkol enjeksiyonunun komplikasyonları; apse, karaciğer fonksiyonlarında artma, periton içine kanama, hidrotoraks, bilioma ve kolanjittir. Alkol enjeksiyonu özellikle tümör çapı 3 cm'den küçük olan hastalarda oldukça etkindir ve başarı oranı % 90'dır. 3 cm'den büyük lezyonlarda oran % 50'ye kadar düşmektedir.

Radyofrekans Ablasyon (RFA) yöntemi bir çeşit termal ablasyon yöntemidir. Perkütan, laparoskopik, açık cerrahi yöntemlerle uygulanabilir. En sık perkütan yolla, USG veya bilgisayarlı tomografi (BT) eşliğinde uygulanır. RFA en etkin olduğu tümör boyutu 5 cm'nin altında olanlardır, ancak 5 cm'den büyük çaplı tümörlerde de uygulanır. Uygulama için tümör sayısının önemi yoktur. Aşırı hepatik tümör yükü, Child C siroz, portal ven trombozu ve aktif enfeksiyon RFA için

kontrendikasyonlardır. 3 cm'ye kadar olan tümörlerde perkütan alkol enjeksiyonuyla, RFA eşit başarı oranına sahipken, 3 cm'den büyük tümörlerde RFA, alkol enjeksiyonundan daha etkili bulunmuştur. Livraghi ve ark. 3 cm üstü 126 lezyonda RFA uyguladı ve % 47.6 oranında tam nekroz sağlayabildiler (96). Tam nekroz 3-5 cm infiltrasyonsuz HSK için % 71 iken, 5 cm üstünde yalnızca % 25 bulunmuştur (97). Transarteriyel girişimler üç başlıkta toplanır, bunlar; Transarteriyel embolizasyon, transarteriyel kemoperfüzyon ve transarteriyel kemoembolizasyon (TACE) yöntemleridir. Bu yöntemler özellikle cerrahi girişimlerin ve perkütan işlemlerin yapılamadığı hastalarda uygulanabilen tedavi yöntemleridir. Bu tedavi yöntemleri özellikle karaciğer transplantasyon listesinde bekleyen hastalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Transarteriyel kemoembolizasyon'da kullanılan embolizan ajanlar jelatin ve lipiodoldür. Kemoteropatik ajanlardan doksorubisin, mitomisin ve sisplatin kullanılır. TACE'de % 15-55 arasında kısmi yanıt saptanmıştır. Bu yöntemde işlem sonrasında karın ağrısı, ateş yüksekliği, halsizlik, bulantı ve kusma gibi belirtiler ortaya çıkabilir. Bunların dışında gastrik ve duodenal ülserler gelişebilir. Karaciğer rezervi iyi olan, damar invazyonu ve metastazı olmayan hastalarda işlem başarıyla uygulanır. Uygun olmayan hastalarda karaciğer yetmezliği ve hepatorenal sendrom görülebilir (98).

HSK kısmi kemosensitif olduğu için radyoterapi ve kemoterapinin etkinliği sınırlıdır. Kemoterapide doksorubisin, sisplatin, ifosfamid, karboplatin, etoposid, 5-florourasil, vinkristin, adriamisin ve siklofosfamid kullanılır (99). Son çalışmalarda sorafenib gibi tirozin kinaz inhibitörlerinin etkili olduğu gösterilmiştir (100).

2.8. İnterlökin-6

İnterlökin-6 (IL-6), enflamasyonda ve B hücre olgunlaşmasında aktif olan endojen bir kimyasaldır. Bir immün protein olmasının yanı sıra, aynı zamanda bir pirojendir ve otoimmün, enfeksiyöz veya enfeksiyöz olmayan hastalıklarda ateşten sorumludur. Akut veya kronik, iltihaplanma olan her yerde vücutta üretilir. Bu, travma, yanıklar, kanserler ve enfeksiyon gibi durumları içerir. İnflamatuar gen ürünlerinin transkripsiyonunu indüklemek için interlökin-6 reseptörü alfa ile

etkileşime girer. İnterlökin-6, iltihaplanma ile ilişkili bir çok kronik hastalık koşulunda yer almaktadır.

Enfeksiyonlar ve doku yaralanmaları gibi çevresel stres faktörlerine cevap olarak hızlı ve geçici bir IL-6 ekspresyonu üretilir. Bu ifade bir alarm sinyali tetikler ve strese karşı konak savunma mekanizmalarını etkinleştirir. Stres kaynağının konakçıdan uzaklaştırılması, IL-6 aracılı sinyal iletimi kaskadı aktivasyonunun, ligand kaynaklı içselleştirme ve gp130'un bozulması ve SOCS'nin alımı gibi negatif düzenleyici sistemler tarafından durdurulması ile takip edilir (101). Ve aynı zamanda, IL-6 mRNA'nın regnaz-1 ile parçalanması ve IL-6 üretiminin sonlandırılmasına yol açar. Çoğunlukla bilinmeyen etiyolojinin düzensiz ve kalıcı IL-6 üretimi, çeşitli hastalıkların gelişmesine yol açar. IL-6'nın hastalık gelişimi ile olan bu ilişkisi ilk önce kardiyak miksoma vakasında gösterilmiştir. Ateş, antinükleer faktör pozitifliği olan poliartrit, yüksek CRP düzeyi ve hipergamaglobülinemi ile başvuran bir hastanın miksoma dokularından elde edilen sıvı kültürü, IL-6'nın inflamasyon ve otoimmüneye katkıda bulunabileceğini öne sürenbilgileriçermektedir (102, 103). Daha sonraki çalışmalar, IL-6 üretiminin düzensizliğinin, romatoid artrit sinovyal hücrelerinde (103), Castleman hastalığının şişmiş lenf düğümlerinde (104) ve miyelom hücrelerinde (103) ortaya çıktığını göstermiştir.

IL-6 enflamasyonun ilk aşamasında lokal bir lezyonda sentezlendikten sonra, kan dolaşımından karaciğere hareket eder, bunu takiben C-reaktif protein (CRP), serum amiloid A (SAA), fibrinojen, haptoglobin ve α 1-antichymotrypsin gibi çok çeşitli akut faz proteinlerinin hızlı bir şekilde indüklenmesi sağlanır (105). Öte yandan, IL-6, fibronektin, albümin ve transferrin üretimini azaltır. IL-6 ayrıca taşıyıcılarının kontrolü ile serum demir ve çinko seviyelerinin düzenlenmesinde de rol oynar. Serum demiri için, IL-6 demir taşıyıcı ferroportin l'in bağırsak üzerindeki etkisini bloke eden ve dolayısıyla serum demir seviyelerini azaltan hepcidin üretimini indükler (106). Bu, IL-6 hepcidin ekseninin kronik iltihaplanma ile ilişkili ferritin düşüklüğü ve anemiden sorumlu olduğu anlamına gelir. IL-6 ayrıca, çinkonun hepatositler tarafından alımını sağlayan ZIP14 ekspresyonunu artırır ve bu nedenle inflamasyonda görülen çinko düşüklüğünü indükler (107). IL-6 kemik

iliğine ulaştığında, megakaryosit olgunlaşmasını arttırır ve böylece trombositlerin serbest bırakılmasına neden olur (108). Akut faz protein seviyelerindeki bu değişiklikler ve kırmızı kan hücresi ve trombosit sayısı rutin klinik laboratuvar incelemelerinde inflamasyonun şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılır.

Ayrıca, IL-6, saf CD4+ T hücrelerinin spesifik farklılaşmasını destekler, böylece herediter kazanılmış bağışıklık yanıtında önemli bir işlev gerçekleştirir. İnterlökin-6'nın, immünoglobülin (Ig) sentezini ve özellikle IgG4 üretimini düzenleyen T foliküler yardımcı hücre farklılaşmasının yanı sıra IL-21 (109) üretimini de arttırdığı gösterilmiştir. IL-6 ayrıca CD8+ T hücrelerinin sitotoksik T hücrelerine farklılaşmasını da indükler (110). IL-6'nın, aktif B hücrelerinin antikor üreten plazma hücrelerine farklılaşmasını indükler ve böylece IL-6'nın sürekli olarak aşırı sentezi sonucu hipergamaglobülinemi ve otoantikor üretimi olur.

2.9.1. Hepatit C'de Siroz Ve HSK Gelişiminde IL-6'nın İşlevi

Hepatoselüler karsinom (HSK) en yaygın beşinci kanser olup, dünyada kanserden ölümlerde üçüncü sırada bulunur. Viral hepatitler HSK'nın en sık görülen sebepleridir. Kronik hepatit C virüs enfeksiyonu olan hastalarda önemli bir ölüm nedeni olan HSK, her yıl yaklaşık bir milyon ölümden sorumludur (111).

Epidemiyolojik kanıtlar, HCV ile kalıcı enfeksiyonun, HSK gelişimi için büyük bir risk olduğunu göstermiştir. HSK'da altta yatan mekanizma fibrozis ve siroz gelişimine bağlıdır. Karaciğer sirozu, çeşitli kronik karaciğer hastalıklarından kaynaklanan karaciğer hasarının son ortak patolojisidir. Her ne kadar karaciğer sirozu nedenleri çok faktörlü olsa da, hepatositlerin dejenerasyonu ve nekrozu, karaciğer parankiminin fibrotik dokular ve rejeneratif nodüllerle değiştirilmesi ve karaciğer fonksiyonunun kaybı gibi tüm karaciğer sirozu vakalarında ortak olan bazı patolojik özellikler vardır. Sirozun prekürsörü olarak fibrozis, tüm kronik karaciğer hastalıklarının siroz gelişiminde önemli bir patolojik süreçtir (112). Fibrozis kronik inflamasyonun bir sonucudur.

Kronik enflamasyonda, enflamatuvar hücreler, apoptoz düzensiz olduğu için genişledikleri, farklılaştığı ve sonra ölemedikleri bir bölgeye doğru hareket eder. Bu etkilerin ana düzenleyicisi NF-kB'dir. Neoplazinin ortaya çıkması için, büyüme sinyallerinde kendine yeterlilik, büyüme engelleyen sinyallere cevap vermeme, apoptozdan kaçınma yeteneği, sınırlanmamış çoğalma yeteneği, dokuyu istila etme ve yayılma ve devam eden anjiyogenez içerir çeşitli elemanlar gerekir. Bu elementlerin çoğu NF-kB aktivasyonunun bir sonucu olarak mevcuttur. Bir büyüme sinyali olarak, IL-6 apoptozu bloke edebilir ve bu nedenle, neoplazinin ortaya çıkmasında aktif NF-kB'nin efektör bir sinyalidir (113). Hepatit A, hepatit B ve hepatit C virüsleri ile enfekte olan akut hepatit enfeksiyonu geçiren akut viral hepatitli 12 hasta ile yapılan bir çalışmada IL-1 α , IL-1 β , IL-6 ve TNF- α sitokinlerinin serum seviyelerinin önemli ölçüde arttığını ve bu değişikliklerin viral enfeksiyon tipinden bağımsız olduğunu göstermektedir (114). Yapılan bir çalışmada plazma TNF-alfa, IL-6 ve endotoksin düzeyleri sirozlu hastalarda sağlıklı kişilere göre anlamlı derecede yüksek olduğu ve bu yüksek seviyelerin seviyeleri karaciğer disfonksiyonunun ciddiyeti ile ilişkili olarak kademeli olarak arttığı saptanmıştır (115).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada IL-6 düzeyleri, karaciğer sirozu olan hastalarda, diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek ve IL-6 ile SİL-2R düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur. Ayrıca, tüm gruplarda, PTZ değeri 16 sn. üzerinde, kronik hepatit B ve C'li hastalarda Knodell grade 8'in ve evre 1'in altında ve sirozlu hastalarda Child C grubunda olanlarda, IL-6 anlamlı derecede yüksek bulunmuştur(116).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Örneklerin Toplanması:

Bu çalışma Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji kliniğine başvuran kronik hepatit C hastaları üzerinde yapılmıştır. Çalışmaya dair alınan tüm izinler alınarak proje etik kurula sunulmuştur ve 2018/109 sayılı etik kurul kararıyla onay almıştır. Gebeler, 18 yaş altı çocuklar ve hepatosellüler kanserli olgular çalışmaya dahil edilmemiştir. Hastalardan gönüllü esasına dayanarak hastaların ön kollarından doktor gözetiminde, kan alma hemşiresi tarafından iki adet sarı kapaklı serum separtör tüpüne ve iki adet mor kapaklı etilendiamin tetra asetik asitli (EDTA) tüpe tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında (seçilen tedaviye göre 8-12 hafta sonra) kan alındı. Alınan bu örnekler RNA eldesine ön hazırlık aşaması için, aynı gün içerisinde hızlı bir şekilde +4°C de muhafaza edilerek sigma 3-30K cihazı ile santrifüj edildi. Elde edilen plazma ve serum örnekleri -80°C de saklandı. Tam kandan serum ve plazma eldesi aşağıdaki protokole göre yapıldı.

3.2. Serum Örneklerinin Eldesi:

- Sarı kapaklı serum separatör tüpüne kan alındı.
- Örneklerin +4 °C’de 3500 devir (rpm) ile 5 dakika santrifüj edildi.
- Elde edilen süpernatant kısmın 2 mm’lik steril mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
- Serum örneklerinin -80°C’de saklandı.

3.3. Tam Kan Plazma Örneklerinin Eldesi:

- Mor kapaklı EDTA'lı tüplere kan alındı.
- Örneklerin +4°C'de 3000 devir (rpm) ile 10 dakika santrifüj edildi.
- Elde edilen süpernatant kısmın 2 mm'lik steril mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
- Plazma örneklerinin 80°C'de saklandı.

3.4. Eş Zamanlı Pcr (Real Time-Polymerase Chain Reaction) İle Gen İfade Analizleri

Elde edilen serum ve plazma örneklerinden RNA elde edilmesi ve gen ekspresyon analizleri aşağıda belirtilen Tablo 4'deki iş akışına göre 5 aşamada yapıldı:

Tablo 4. Gen İfade Analizleri İş Akışı

1. RNA eldesi: Serum ve plazma örneklerinden RNA izolasyonu yapılması
2. RNA ölçümü: Elde edilen RNA'lardan spektrofotometrik miktar ve kalite ölçümlerinin yapılması
3. cDNA elde edilmesi: Elde edilen RNA'lardan üretici firmanın protokolüne göre cDNA sentezi yapılması
4. Real Time PCR: Real Time PCR yöntemi ile Sybr Green boyası kullanılarak gen ifade analizlerinin yapılması
5. Verilerin analizi: QIAGEN'in çevrimiçi sitesi (DATA Analysis Center) aracılığıyla verilerin analizinin yapılması

Bu yöntemde kullanılan bazı laboratuvar malzemeleri aşağıdaki Tablo5'de belirtilmiştir.

Tablo 5. Gen ifade analizlerinde kullanılan malzemeler

Kullanılan Malzeme & Cihaz	Marka	Katalog No
miRNAeasy Serum / Plazma kit	Qiagen	217184
RT² First Strand Kit	Qiagen	330404
RT² Sybr Green qPCR Mastermixes	Qiagen	
Nuclease-Free Water	Qiagen	

Nuclease-Free tp ve pipetler	Qiagen
Real Time Cihazı	Rotor-gene
Multiskan Go Spektrofotometresi	Thermo Scientific

3.5. RNA Eldesi

Tam kandan serum ve plazma eldesi sonunda toplam RNA izolasyonu miRNeasy Serum/Plazma Kit (Katalog no: 217184 QIAGEN, Almanya) kullanılarak yapılmıştır. Toplam RNA eldesi üretici firmanın önerdiği protokol doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

3.5.1. RNA Eldesi Protokolü

- Daha önceden elde edilmiş ve ependorflarda -80°C 'de saklanan örnekler oda sıcaklığına getirildi.
- 200 μl örnek alınarak 2mm'lik steril ependorfa aktarıldı ve üzerine 1000 μl QIAzol Lysis Reagent eklendi ve pipetaj yapılarak homojen bir karışım elde edildi.
- Elde edilen bu karışım oda sıcaklığında (15°C - 25°C) 5 dakika inkübe edildi
- Başlangıç rnek hacmi ile aynı olacak şekilde 200 μl kloroform karışımın içerisine eklendi ve 15 saniye pipetaj yapılarak karıştırıldı.
- Elde edilen bu karışım 2-3 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Karışım inkübasyondan sonra $12000 \times g$ $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika santrifüj edildi.
- Karışımın st sıvı fazının tamamını içerecek şekilde alınan numune yeni toplama tüpüne pipet ile aktarıldı. Elde edilen numune volümünün 1,5 katı olacak şekilde (600 μl sıvı faz/900 μl etanol) 900 μl %100'lk etanol numunenin üzerine eklendi ve pipetaj yapılarak iyice karıştırıldı.
- 700 μl 'lik örnek pipet ile çekilerek 2 mm'lik RNeasy MinElute spin tüpüne aktarıldı. Tüpün kapağı kapatılarak $8000 \times g$ 'de 15 saniye oda sıcaklığında santrifüj edildi.
- Kalan rnek hacmi ile 8. basamak tekrar edildi.

- RNeasy MinElute spin tüpü içerisine 700 µl Buffer RWT eklendi ve tüpün kapağı kapatılarak oda sıcaklığında 8000 x g'de 15 saniye santrifüj edildikten sonra toplama kabında kalan sıvı atıldı.
- RNeasy MinElute spin tüpü içerisine 500 µl Buffer RPE eklendi ve tüpün kapağı kapatılarak oda sıcaklığında 8000 x g'de 15 saniye santrifüj edildikten sonra toplama kabında kalan sıvı atıldı.
- RNeasy MinElute spin tüpü içerisine 500 µl %80 etanol eklendi ve tüpün kapağı kapatılarak oda sıcaklığında 8000 x g'de 2 dakika santrifüj edildikten sonra toplama kabındaki sıvı atıldı.
- RNeasy MinElute spin tüpü 2 mm'lik yeni bir toplama tüpünün içerisine yerleştirildi ve toplama tüpünün kapağı açık kalacak şekilde yüksek hızda oda sıcaklığında 5 dakika santrifüj edildi.
- RNeasy MinElute spin tüpü 1,5 mm'lik yeni bir toplama tüpünün içerisine yerleştirildi ve spin kolon membranın tam ortasına denk gelecek şekilde 14 µl RNase-free water eklendi. Tüpünün kapağı kapatılarak oda sıcaklığında yüksek hızda 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpünde biriken sıvı total RNA'yı içermekteydi.

3.5.2. RNA Ölçümü

Elde edilen RNA'lar kalite ve miktar tayini için Thermo Scientific, MultiskanGo cihazı ile spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.6. cDNA Elde Edilmesi

Tamamlayıcı DNA (complementary DNA, cDNA) sentezi QIAGEN RT² HT First Strand Kit (Katalog no: 330404, QIAGEN, Almanya) kullanılarak yapıldı. cDNA sentezi üretici firmanın önerdiği protokole göre yapılmıştır. cDNA sentezi reaksiyonu aşağıdaki gibi hazırlandı.

Tablo 6. cDNA sentezinde kullanılan karışım

Komponent	Miktar
-----------	--------

RNA	25ng-2 µg
Buffer GE	2 µl
Nuclease-free water	Değişken
Toplam hacim	10 µl

3.6.1. Prosedür

- RT2 First Strand Kit içeriğın tamamen dibe çökmesi için 10- 15 saniye kadar vortex cihazı ile karıştırıldı.
- RNA örnekleri için genomik DNA eliminasyon karışımı tablo... da açıklandığı gibi hazırlandı.
- Buffer GE ve RNase Free Water (RNaz içermeyen su) miktarları örnek sayısına göre belirlendi ve bir tüpte hazırlanan karışımdan 10 µl alınarak ayrı ayrı 0.2 mm'lik PCR tüplerine aktarıldı. Daha sonra her tüpe 10 µl RNA eklendi. Böylelikle reaksiyon için son hacim 20 µl oldu.
- Daha sonra elde edilen numuneler 42°C'de 5 dakika ve bunu takiben 4°C'de 1 dakika inkübe edildi.
- Numuneler inkübe edildikten sonra tablo 7'de anlatıldığı gibi reverse transkripsiyon karışımı hazırlandı. NRT kontrol hazırlamak için RE3 reverse transkripsiyon karışımı uygun miktardaki Nuclease-Free Water ile değiştirildi.
- 10 µl reverse transkripsiyon karışımı her biri genomik DNA eliminasyon karışımı içeren tüplere eklendi ve homojen bir karışım elde edilmesi için pipetaj yapıldı.
- Elde edilen numuneler 37 °C 'de 60 dakika, hemen sonrasında 95 °C'de 5 dakika ve takiben 4°C'de inkübe edildikten sonra reaksiyon durduruldu.
- Numuneler inkübe edildikten sonra her bir reaksiyon tüpüne 91 µl Nuclease-free Water eklendi ve homojen bir karışım elde edilmesi için pipetaj yapıldı.
- Real-time PCR protokolü uygulandı

Tablo 7. cDNA sentezi için sıcaklık döngüleri

Sıcaklık	Süre
37 °C dakika	60
95 °C	5 dakika
4 °C	∞

3.6.2. Real Time PCR protokolü

Aşağıdaki tablo 10'da belirtilen genlerin ifade analizleri qRT-PCR yöntemiyle Rotor Gene 600 cihazı (QIAGEN Rotor-Gene Q) kullanılarak yapıldı. Gen ifade analizleri için RT² SYBR Green qPCR Mastermix, RT² lncRNA qPCR Assay kiti kullanıldı.

- RT² SYBR Green qPCR Mastermix, RT² lncRNA qPCR Assay ve DNA sentez reaksiyonu içeriğın dibe çökmesi için 10-15 saniye kadar vortex cihazı ile karıştırıldı.
- Tablo 10'da açıklandığı gibi PCR komponentleri nükleaz içermeyen steril tüpler içerisinde hazırlandı.
- Tüplerin içindeki PCR komponentleri kısa süreli santrifüj edildikten sonra real-time cihazına konuldu.
- Cihazın ayarları tablo 9'de açıklandığı gibi düzenlendi.

Tablo 8. PCR reaksiyon karışımı.

Komponent	1 reaksiyon için hacim
Nuclease-free water	10,5 µl
SYBR Green qPCR Mastermix	12,5 µl
cDNA	1 µl
RT ² lncRNA qPCR Assay	1 µl
Toplam hacim	25 µl

Reaksiyonun toplam hacmi 25 µl olacak şekilde reaksiyon tüplerine aktarıldı. Reaksiyon koşulları aşağıdaki tabloda belirtilmiştir. Gen ifade analizinde kullanılan primerler QIAGEN firmasından hazır olarak satın alınmıştır.

Tablo 9. PCR için reaksiyon koşulları

Döngü	Süre	Sıcaklık
1	10 dakika	95 °C
40	15 saniye	95 °C
40	30-40 saniye	55 °C
40	30 saniye	72°C

Tablo 10. Çalışmaya dahil edilen genlerin listesi

Gen	Açık Adı	İşlevi
MALAT1	Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1	HCC'de nakil sonrası nükle ilişkili
HOTAIR	HOX Transkript Antisense RNA	HCC'de nükle ilişkili
ACTB	Actin Beta	Housekeeping gen

Hastalardan alınan kan örneklerinden elde edilen plazma ve serum örneklerinden rastgele seçilen 2 hastaya ait olan numuneler çalışma öncesi test aşamasında çalışılarak gen ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldı ve bu değerlendirilme doğrultusunda plazma örnekleri daha uygun bulunarak tüm hastalarda alınan plazma örnekleri ana çalışmada kullanıldı.

3.6.3. ELİSA çalışması

Human interlökin 6 (IL-6) seviyelerinin ölçümü çift antikorlu sandviç prensibine dayalı enzime-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile yapıldı. Bu çalışmada SunRed Human (IL-6) ELISA kiti (Katalog no :201-12-00919) kullanıldı. Çalışmanın ön hazırlık aşamasında yapılan testlerde rastgele seçilen iki hastanın plazma ve serum örnekleri çalışılarak değerlendirildi ve plazma örneklerinden elde edilen veriler daha uygun görülerek tüm hastaların plazma örnekleri ana çalışmada kullanıldı. Çalışmada kullanılan malzeme ve cihazlar aşağıdaki tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Çalışmada kullanılan malzeme ve cihazlar

Çalışmada kullanılan malzeme ve cihazlar	
Standart (320ng/L)	0,5 ml
Standart dilüsyonu	3 ml
Microelisa Stripplate	12wellx8strip
Str-HRP-Conjugate Reagent	6 ml
30xwash solüsyonu	20 ml
Biotin-IL-6 Ab	1ml
Chromogen solution A	6 ml
Chromogen solution B	6 ml
Stop solution	6 ml
Tablo 11. Çalışmada kullanılan malzeme ve cihazlar(Devamı)	
Çalışmada kullanılan malzeme ve cihazlar	

37 °C inkübatör
Standart enzim okuyucu
Pipet ve disposable pipet uçları
Distile su
Disposable tüpler
Absorban kâğıt

3.6.4. IL-6 Çalışma Prosedürü

- Aşağıda gösterilen tablo 12'deki hazırlanma koşullarına göre 5 adet standart solüsyon hazırlandı. Çalışılacak örnek sayısına göre 1 adet blank kuyucuk olacak şekilde kuyucuklar numaralandırıldı.
- Standart kuyucukların her birine 50 µl standart eklendi, test kuyucuklarına örneklerden 40 µl ve 10 µl IL-6 antikoru eklendi ve nazikçe karışım çalkalanarak homojenite sağlandıktan sonra 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
- 30xwashing konsantrasyonu distile su ile 30 kat dilüe edildi.
- İnkübasyon tamamlandıktan sonra hazırlanan yıkama solüsyonu ile her bir kuyucuk içerisine eklendi kalan su sallanarak döküldü. Bu işlem 5 defa tekrar edildi.
- Yıkama işleminden sonra her bir kuyucuk içerisine önce 50 µl chromogen A solüsyonu daha sonra 50 µl chromogen B solüsyonu eklenerek kapama membranı ile kuyucukların üstü kapatılarak 37 °C'de 10 dakikada inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyon eklenerek reaksiyon durduruldu. (Kuyucuklardaki sıvının renginin maviden sarıya dönüştüğü gözlemlendi.)
- Stop solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içerisinde, blank kuyucuk sıfır kabul edilerek 450 nm dalga boyunda optik yoğunluk (OD) ölçümü yapıldı.

Tablo 12. IL-6 standart solüsyon hazırlama prosedürü

160 ng/L	Standart No.5	120 µl Orijinal standart + 120 µl standart dilüsyon
80 ng/L	Standart No.4	120 µl standart no.4 + 120 µl standart dilüsyon
40 ng/L	Standart No.3	120 µl standart no.3+ 120 µl standart dilüsyon
20 ng/L	Standart No.2	120 µl standart no.2+ 120 µl standart dilüsyon
10 ng/L	Standart No.1	120 µl standart no.1+ 120 µl standart dilüsyon

3.6.5. İstatistik

Verilerin bilgisayara girilmesi ve hesaplanmasında istatistiksel istatistik paket programı SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Program, for Windows 20.0) kullanıldı. Veriler SPSS Paket Program 20.0 sürümü analiz edildi. Tanımlayıcı

verilerin sunumunda sayı, yüzde, ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk Testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uymayan bağımlı grupların değerlendirmesinde Wilcoxon Testi, normal dağılıma uyan bağımlı grupların karşılaştırmasında bağımlı gruplarda İki Ortalama Arasında Farkın Önemlilik Testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 32 hasta dahil edildi. Tedavi sonrasına toplam 32 hasta ulaşmıştır. Katılımcıların yaş ortalaması $58,4 \pm 18,5$ yıl, ortancası 59,5 (minimum: 22, maksimum: 90) yıldır. Hastaların %71,9'ü ($n=23$) non sirotik, %28,1'si ($n=9$) sirotiktir. Hastaların %75,0'i ($n=24$) genotipi 1b, %3,1'inin ($n=1$) 2, %12,5'sinin ($n=4$) 3 ve %9,4'sinin ($n=3$) genotipi 4'tür. Hastaların %6,3'ünde ($n=2$) HbsAg pozitif, %93,8'inde ($n=30$) HbsAg negatiftir (Tablo 13).

Tablo 13. Hastaların hastalık özelliklerinin dağılımı

	n (%)
Siroz	
Sirotik	9 (28,1)
Non sirotik	23 (71,9)
Genotip	
1b	24 (75,0)
2	1 (3,1)
3	4 (12,5)
4	3 (9,4)
HbsAg	
Pozitif	2 (6,3)
Negatif	30 (93,8)

HbA1c	
6,5 altı	22 (68,7)
6,5 ve üzeri	10 (31,3)

%. sütun yüzdesi. HbsAg: Hbs Antijen, HbA1c: Hemogloblin A1c

Hastaların tedavi öncesi HCV RNA'ları pozitifdir. Tedavi sonrası 32 hastanın 31'unda HCV RNA negatif, 1 hastada pozitifdir.

Hastaların tedavi öncesi ve sonrasında total bilirubin, direk bilirubin ortalamaları arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Hastaların tedavi öncesi IL-6 ortalaması $44,4\pm 67,2$; ortancası 16,6'dır (3,6-282,6). Tedavi sonrası IL-6 ortalaması $33,5\pm 66,7$; ortancası 16,6'dır (3,6-282,6). Tedavi öncesi ve sonrası bu fark anlamlıdır ($p<0,0001$) (Tablo 14).

Tablo 14. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırması

	Tedavi öncesi		Tedavi sonrası		p
	ortalama\pmss	Ortanca (min- maks)	ortalama\pmss	Ortanca (min- maks)	
Total bilirubin (n=32)	0,8 \pm 0,3	0,7 (0,3-1,8)	0,8 \pm 0,4	0,7 (0,4-1,9)	0,356*
Direk bilirubin (n=32)	0,3 \pm 0,1	0,2 (0,1-0,7)	0,3 \pm 0,2	0,2 (0,1-1,3)	0,585
Kreatinin (n=32)	0,9 \pm 0,8	0,7 (0,4-4,5)	0,9 \pm 0,8	0,8 (0,5-4,7)	0,176
INR (n=32)	1,0 \pm 0,1	1,0 (0,9-1,4)	1,1 \pm 0,2	1,0 (0,7-2,3)	0,421
Hemoglobin (n=32)	13,2 \pm 2,2	13,2 (6,7-17,4)	12,9 \pm 1,7	13,3 (7,1-16,0)	0,312
Platelet (n=32)	193903,2 \pm 73719,4	196000,0 (45000-318000)	209870,9 \pm 73616,0	211000,0 (76000-391000)	0,121*
IL-6 (n=32)	44,4 \pm 67,2	16,6 (3,6-282,6)	33,5 \pm 66,7	4,4 (0,0-287,7)	<0,0001

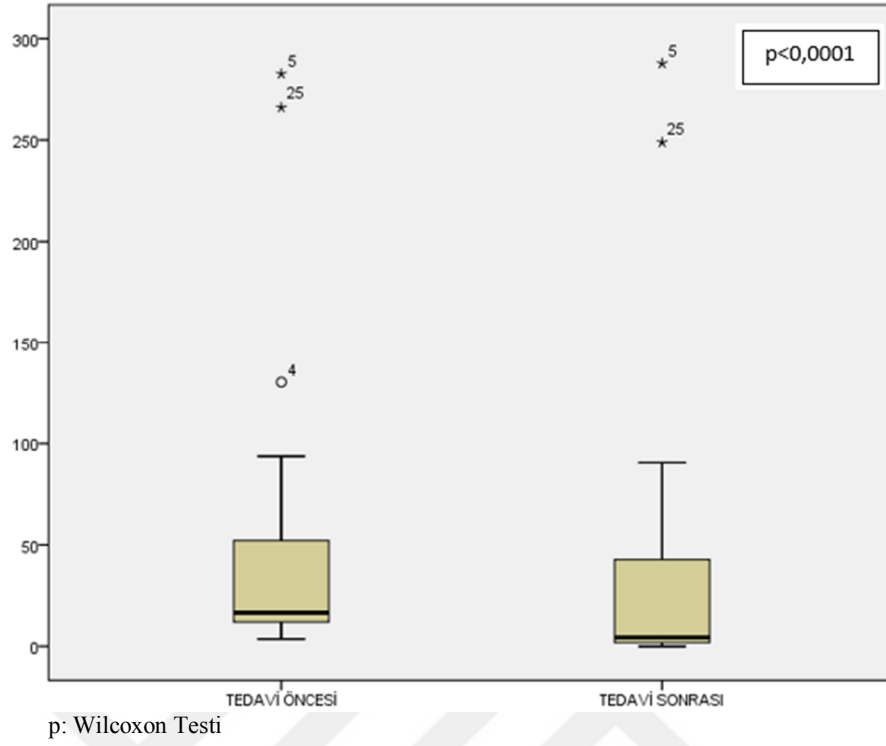
ss: standart sapma, p: Wilcoxon Testi, p*: Bağımlı gruplarda ortalama arasında farkın önemlilik testi, IL-6 :İnterlökin-6, INR: international normalized ratio

Hastaların tedavi öncesi ve sonrasında MALAT 1 ve HOTAIR ortalamaları arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Hastaların tedavi öncesi ACT B ortalaması $22,2\pm3,2$; ortancası 22,1'dir (min:13,8-maks:30,9). Tedavi sonrası ACT B ortalaması $18,2\pm2,5$; ortancası 17,5'tir (13,8-26,2). Tedavi öncesi ve sonrası bu fark anlamlıdır ($p<0,0001$) (Tablo 15).

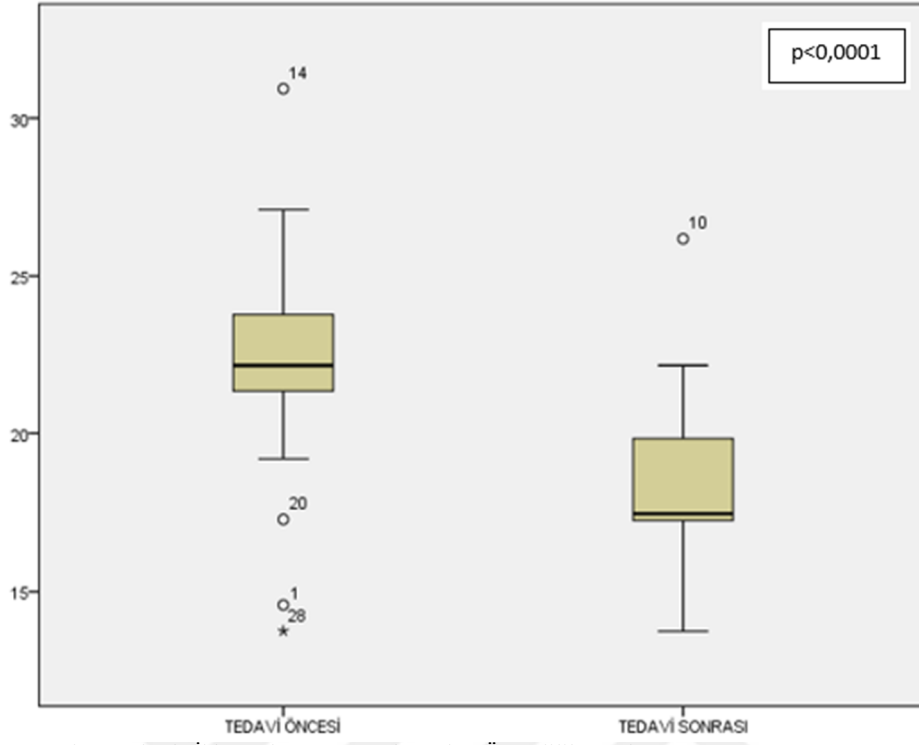
Tablo 15: Hastaların tedavi öncesi ve sonrası gen ekspresyonlarının karşılaştırması

	Tedavi öncesi		Tedavi sonrası		p
	ortalama±ss	Ortanca (min-maks)	ortalama±ss	Ortanca (min-maks)	
MALAT 1 (n=11)	29,5±3,9	28,9 (23,1-36,4)	28,5±1,1	28,7 (26,3-29,9)	0,374
HOTAIR (n=13)	29,8±2,9	28,8 (28,0-38,6)	27,1±7,6	28,9 (1,9-30,7)	0,861
ACT B (n=31)	22,2±3,2	22,1 (13,8-30,9)	18,2±2,5	17,5 (13,8-26,2)	<0,0001

MALAT 1: Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1, HOTAIR : HOX Transcript Antisense RNA, ACT B : Actin Beta



Şekil 1. Tedavi öncesi ve sonrası IL-6 değerlerinin karşılaştırması



p: Bağımlı Gruplarda İki Ortalama Arasında Farkın Önemlilik Testi

Şekil 2. Tedavi öncesi ve sonrası ACT-B değerlerinin karşılaştırması

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda kronik hepatit C ile enfekte hastalarda tedavi etkinliğinin hepatosellüler kanser üzerine etkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Hepatosellüler kanser genetiğinde yeri olan bazı lncRNA'ların tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon seviyelerinin karşılaştırılarak HSK'nın erken teşhis ve tedavisinde bu spesifik lncRNA'ların faydalı olup olamayacağını belirlemeyi hedefledik. Bu amaçla HOTAIR ve MALAT1 lncRNA'larının tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir.

HCV tedavisinin başarısı kalıcı viral yanıt (KVY) (Tedavinin bitiminden sonraki 12.ve 24. haftalarda virüsün olmaması) ile değerlendirilmektedir. HCV enfeksiyonunun antivirallerle tedavisi sonucu sağlanan KVY hepatit inflamasyonunda azalma ve fibroziste gerileme ile birlikte olduğu daha önceki çalışmalarda belirlenmiştir. Antiviral tedaviye yanıt veren hastalarda HSK insidansında azalma olduğu saptanmıştır (117).

Actin Beta (ACTB) altı farklı aktin proteininden birini kodlayan hücre hareketliliği, yapısı, bütünlüğü ve hücreler arası sinyalleşme ile ilgili yüksek oranda korunan proteindir. Kodlanmış protein, kasılma düzeneğinin ve her iki şekilde eksprese edilen kas-dışı iki iskelet aktinlerinden birinin temel bir bileşenidir. Bu gendeki mutasyonlar, insan hastalarda belirgin bir yüz görünümü ile zihinsel engellilikle karakterize edilen Baraitser-Winter sendromu 1'e neden olur (118). İnsan genomunda bu genin sayısız psödojenleri tanımlanmıştır. ACTB bir protein kodlama genidir. Aynı zamanda housekeeping proteini olarak da bilinen Actin Beta, PCR ve Western blotlamada diğer genler için hücrelerin bütünlüğü, protein yıkımı ve genellikle yükleme kontrolü olarak kullanılır. PCR'nin düzgün yorumlanması için yükleme kontrolleri önemlidir. Protein yüklemesinin jel boyunca aynı olduğunu teyit ederek tespit edilen protein seviyelerini normalleştirmek için kullanılabilirler.

Bizim çalışmamızda kronik hepatit C hastası olan 32 hastanın direk etkili antivirallerle tedavi öncesi ve sonrası HOTAIR ve MALAT1 ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldı. Alınan örneklerin ve elde edilen sonuçların uygunluğunun kontrolünün yapılması açısından ACTB housekeeping gen olarak kullanıldı. Çalışmaya katılan tüm hastalardan alınan kan örneklerinden elde edilen plazma numunelerinden RNA izolasyonu yapıldı. RNA izolasyonu sonrası qPCR ile RNA miktar tayini yapıldı.

Çalışmamızda tedavi öncesi ve sonrası 32 hastada plazmadan ACTB ekspresyonu sağlandı; tedavi öncesi ve sonrası veriler karşılaştırıldığında anlamlı fark elde edildi. Çalışmamızda tedavi öncesi ve sonrası 13 hastada plazmadan HOTAIR ekspresyonu sağlandı; tedavi öncesi ve sonrası veriler karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Yine aynı grupta MALAT1 ekspresyonu tedavi öncesi ve sonrası 11 hastanın plazmasında saptandı; tedavi öncesi ve sonrası veriler karşılaştırıldığında matematiksel olarak azalma vardı ancak çalışılabilen örnek sayısı az olduğundan dolayı istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Geng ve ark. yaptığı bir çalışmada HOTAIR ekspresyonunun HSK dokusunda, komşu kanserli olmayan dokularda olduğundan daha yüksek olduğunu bildirmiştir (119). Yang ve ark., HOTAIR dahil uzun ncRNA'ların, in vivo HSK tümörlerinde yüksek seviyelerde ifade edildiğini bildirmiştir (120). Kogo ve ark., ilerlemiş kolorektal kanserli (KRK) hastalarda, HOTAIR'nin kanserli dokularda kanserli olmayan dokulardan daha fazla ifade edildiği hastalarda klinik önemini bildirilmiştir. Chen ve ark., MALAT1'in HSK dokularında ve hücre çizgilerinde yüksek regüle olduğunu ve MALAT1'in HSK hastaları için prognostik bir gösterge olabileceğini göstermiştir (121).

Ishibashi ve ark. HSK'da yüksek HOTAIR ekspresyonunun kötü prognoz ve metastazla ilişkili olduğu ve HOTAIR ekspresyonu ile tümör boyutu arasında anlamlı bir korelasyonun bulunduğu saptanmıştır (122). Geng ve ark. HOTAIR'i aşırı eksprese eden HSK'lı hastalarda, hepatektomi sonrası HSK nüksü riskinde artışın olduğu ve ayrıca HOTAIR aşırı ekspresyonu ile lenf nodu metastazı riski artışı arasında da bir korelasyon varlığı göstermişlerdir. Yang ve ark., HOTAIR'nin aşırı ekspresyonunun karaciğer nakli hastalarında HSK rekürrensi için bağımsız bir

prognostik faktör olduğunu ve tümörde yüksek HOTAIR ekspresyonu olan hastaların, düşük HOTAIR ekspresyonuna sahip olanlara göre önemli ölçüde daha kısa süreli nüksüz sağkalıma sahip olduklarını gözlemişlerdir. Ayrıca HSK hücrelerinde, HOTAIR'nin RNA etkileşimi ile susturulması, hücre yaşayabilirliğinin ve invazyonunun azalmasına, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) kaynaklı apoptoza duyarlı hale getirilmesine ve kanser hücrelerinin sisplatin ve doksorubisine karşı kemoterapötik duyarlılığının artmasına neden olduğunu saptamışlardır (53). Kim ve ark., HOTAIR'nin meme kanseri ve HSK'daki bulgularını doğrulayan pankreas kanseri çalışmaları ile HOTAIR ekspresyonunun, pankreas kanserlerinde, kanserli olmayan pankreas dokusundan daha yüksek olduğunu ve daha agresif tümörlerle ilişkili olduğunu göstermiştir. Pankreas kanseri hücrelerinde HOTAIR'nin susturulmasının, hücre proliferasyonunu azalttığı, hücre döngüsünün ilerlemesini inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği bu çalışmayla saptanmıştır (123).

Nakagawa ve ark., yüksek HOTAIR ekspresyonun, ilerlemiş lenf nodu metastazı veya lenf-vasküler invazyon ile ve küçük hücre dışı akciğer kanserli (KHDAK) hastalarda hastalıklı kısa aralıklarla korele olduğunu gözlenmişlerdir (124). Nie ve ark., 160 (% 56.87) parafine gömülü nazofarengeal karsinomun (NFK) biyopsi örneğinin 91'inde HOTAIR seviyelerinin yüksek olduğunu ve tümörde yüksek HOTAIR ekspresyon seviyeleri olan NFK hastalarında genel sağkalım oranının düşük HOTAIR ekspresyon seviyelerine göre daha kötü prognozlu olduğunu göstermişlerdir (125). Li ve ark., laringeal skuamöz hücreli kanserde HOTAIR ekspresyon seviyelerini, karşılık gelen komşu kanserli olmayan dokulardakinden anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ve yüksek dereceli histolojik tanı veya ileri klinik aşamada olan hastalarda yüksek HOTAIR ekspresyonu tespit etmişlerdir (126). Cui ve ark., Over tümör dokusunda HOTAIR ekspresyonunun normal over dokusundakinden daha yüksek olduğunu saptamışlardır (127).

LncRNA metastazı ile ilişkili akciğer adenokarsinom transkripsiyonu 1'in (MALAT1) çeşitli kanser türlerinde anormal şekilde baskılandığı bildirilmiştir. Önceki çalışmalar MALAT1'in birçok tümör hücresinin farklılaşma, proliferasyon, apoptoz ve göçünde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (128-131). MALAT1'in

akciğer kanserinde metastazı teşvik ettiğine (132); kolorektal kanser metastazında hücre proliferasyonu, göç ve istila regülasyonuna katıldığına (133, 134); artmış karaciğer tümörü nüksü riski (135, 136) ve meme kanseri metastazı (137) ile ilişkili olduğuna dair klinik bilgiler mevcuttur. Ayrıca, MALAT1'in HSK gelişiminde onkolojik rolü olduğuna dair bulgular da bildirilmiştir (138, 139). Hou ve ark., MALAT1'in, sessiz bilgi regülatörü-1'i (SIR-1), miRRNA miR204 yoluyla düzenleyerek HSK hücrelerinin migrasyonunu ve invazyonunu desteklediğini keşfetmişlerdir (139).

Malakar, HSK'lı fareler üzerinde yapılan deneyde cRNA MALAT1 ekspresyonunu yüksek olarak bulmuştur (140). Chen ve ark., MALAT1'in HSK dokularında ve hücre çizgilerinde yüksek regüle olduğunu ve MALAT1'in HSK hastaları için prognostik bir gösterge olabileceğini göstermiştir (121). Siddique ve ark., 63 kolorektal kanser hastasının ve 40 sağlıklı kontrol grubunun dahil edildiği bir başka çalışma, MALAT1, CCAT1 ve PANDAR ekspresyonunun, kontrollere kıyasla kolorektal kanserli hastalarda sırasıyla 1.86, 4.54 ve 4.68 kat artan seviyelerle anlamlı şekilde arttığını göstermişlerdir (141).

Bütün bu veriler sonucunda çalışmamızda MALAT1 ve HOTAIR'nin tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon seviyelerinde anlamlı fark olmaması, doku örneklerinde bulunan genetik yüke kıyasla plazma örneklerinde genetik yükün daha az olmasından kaynaklı olarak plazmada ekspresyonunun zayıf olabileceği ve bu sebeple kan örneklerinden muhafaza edilen genetik materyalin doku örneklerinde bulunan genetik potansiyelin çokluğuna karşın çevresel koşullara bağlı olarak stabilitesinin ve dayanıklılığının daha düşük olabileceği ve çalışılabilen örnek sayısının az olması ile açıklanabileceğini düşünmekteyiz. Karşılaştırılan sonuçlar üzerindeki matematiksel gerilemenin, literatürde direk etkili antiviral tedavilerin hepatosellüler kanser gelişimini teşvik ettiği üzerine yapılan klinik çalışmalara karşıt bir sonuç oluşturabileceği, bu sebepten, doku örnekleri ve daha fazla sayıda hasta ile yapılabilecek çalışmalar ile istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilebileceği kanısındayız.

Çalışmamıza dahil olan kronik hepatit C hastalarında tedavi öncesi ve sonrası IL-6 seviyelerini karşılaştırdık. IL-6 seviyelerinin belirlenmesinde ELISA yöntemini kullanıldı. Tedavi öncesi IL-6 ortalaması $44,4 \pm 67,2$; tedavi sonrası ortalaması $33,5 \pm 66,7$ olarak bulundu. Tedavi öncesi ve sonrası değerler karşılaştırıldığında bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Tedavi sonrasında tedavi öncesine IL-6 seviyelerinde azalma mevcut idi

Enflamatuvar sitokin, interlökin-6 (IL-6), HSK gelişiminin kritik bir aracıdır. İki farklı yoldan sinyal gönderebilir; klasik ve trans-sinyal yoludur. Birçok araştırmacı, yüksek bir CRP seviyesi veya yüksek interlökin-6 seviyelerinin sistemik bir enflamatuvar yanıtın varlığının HSK dahil olmak üzere kanser birçok tipteki hastalarda kötü bir sonuç ile ilişkili olduğunu göstermiştir (142). IL-6 klasik sinyalleşmesi doğuştan gelen ve edinilen bağışıklık için önemliyken, IL-6 trans sinyalleşmesi hızlandırılmış karaciğer rejenerasyonu ve birkaç kronik enflamatuvar patolojiyle bağlantılı olmuştur. Bununla birlikte, karaciğer tümörleri oluşumundaki etkisi henüz ele alınmamıştır. DNA hasarına bağlı hepatosit apoptozunu p53'ü baskılayarak önler ve β -katenin aktivasyonunu ve tümör proliferasyonunu artırır. İkincisi, IL-6 trans-sinyalizasyonu doğrudan tümör anjiyogenezini teşvik etmek için endotel hücre proliferasyonunu indükler (143). Bergmann ve arkadaşları HSK'lı fareler üzerindeki çalışmada Bu nedenle, IL-6 sinyalleşmesinin toplam spesifik inhibisyonu, tümörün başlatılmasını engellemek ve IL-6 klasik sinyalleme odaklı koruyucu immün yanıtlardan ödün vermeden tümörün ilerlemesini azaltmıştır. Cilt 1 Uluslararası Kanser Dergisi'nin 1. sayısında, Ohishi ve arkadaşları, yüksek serum IL-6 seviyelerinin, HSK için belirlenmiş diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak artan bir HSK riski ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Serum IL-6 düzeylerinin, HBV ve HCV enfeksiyonu, alkol tüketimi, sigara içme alışkanlığı, Body Mass Index (BMI) ve radyasyona maruz kalma durumundan bağımsız olarak artmış HSK riski ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Alt grup analizlerinde, artmış serum IL-6 seviyeleri ve artmış HSK riski arasında daha güçlü bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. Porta ve arkadaşları IL-6, HSK için umut verici bir tümör markörü olarak kabul edilebilir olduğunu öner sürdüler

Porta, Bergman ve Ohishi arkadaşlarının yaptığı verilere göre IL-6'nın HSK ile arasındaki anlamlı ilişki baz alınarak, elde ettiğimiz sonuçlara göre HCV'nin tümör gelişimi üzerindeki etkilerinin tedavi ile azalabileceğini ummaktayız. HCV ile interlökin-6 (IL-6) seviyelerinin DEA'ler ile tedavi sonrası azalmış olmasının HCV enfeksiyonunun ve kronik karaciğer inflamasyonun önlenmesi konusunda IL-6 inhibisyonu üzerinden etki edebilecek biyolojik ajanların geliştirilebilmesine katkı sağlayabileceği kanısındayız.

Çalışmamıza dahil edilen hastalara genotip, klinik evre ve daha önce antiviral tedavi alıp almama durumlarına göre; 24 hafta SOF/LDV veya 12 hafta OBV/PTV-r/DSV tedavileri verildi. Hastalardan tedavinin 0. günü, 12. hafta, 24. hafta ve 36. haftalarda HCV RNA serum seviyeleri ölçüldü. Hastaların tedavi öncesi HCV RNA'ları pozitif idi. Tedavi sonrası 32 hastanın 31'unda HCV RNA negatif, 1 hastada pozitif olarak ölçüldü. Çalışmamızın KVY oranı % 96,8 olarak belirlendi.

Doğrudan etkili antiviraller (DEA) kronik hepatit C enfeksiyonunun tedavisinde son yıllarda çığır aşmıştır. DEA'lar HCV replikasyon işleminin farklı bölgelerini hedef alan moleküllerin kombinasyonuna dayanır ve oral preparatlar olması dolayısı ile kullanım kolaylığı vardır. Üç DEA sınıfı mevcuttur: proteaz inhibitörleri (anti-NS3/4A), RNA'ya bağımlı polimeraz inhibitörleri (anti-NS5B) ve anti-NS5A inhibitörleri, bunlar farklı antiviral potens ve bariyer ile karakterize edilir ve bu nedenle dirençleri farklı tedavi programları tedavi rejimleri hala büyük ölçüde HCV genotipine ve karaciğer hastalığının evresine bağlıdır, süresi 12 hafta ile 24 hafta arasında değişmektedir, ancak genel tedavi etkinliği, çoğu hasta grubunda yaklaşık % 95'e çıkmıştır.

ABD, Avrupa, Kanada ve İsrail'de yapılan HCV hedef çalışması, sofosbuvir/ledipasvir (SOF/LDV) ile tedavide KVY oranlarının % 99'a çıkardığını gösterirken (159), İtalya ve İspanya'nın diğer gerçek yaşam verileri ombitasvir+paritaprevir+ritonavir/dasabuvir (OBV/PTV-r/DSV) tedavisinin HCV G1a ve G1b'de sırasıyla KVY oranlarını % 93-97 ve % 96 olarak rapor edilmiştir (144-146). Fransa ve Almanya'dan gelen büyük kohortlar, sofosbuvir/daclatasvir (SOF / DCV) kombinasyonunun tüm genotiplerde güvenlik ve etkinliğini, % 91-99

arasında değişen KVV oranları olarak rapor etmişlerdir (147). OBV/PTV-r/DSV tedavisi verilen genotip 1a ve genotip 1b hastalarını kapsayan TURQUOISE-II çalışmasına göre 12 hafta tedavi alan 208 hastanın toplam 191'inde tedavi sonrası 12. Haftada % 91.8, 24 hafta tedavi alan 172 hastanın toplam 165'inde tedavi sonrası 12. Haftada % 95.9 oranında KVV sağlandığı rapor edilmiştir (148). Tedavi naif genotip 1 hastaların dahil edildiği ION-1 çalışmasında, 12 haftalık SOF /LDV alan grupta % 99; 12 hafta boyunca SOF /LDV + ribavirin alan grupta % 97 ; 24 haftalık SOF /LDV alan grupta % 98; ve 24 hafta boyunca SOF /LDV + ribavirin alan grupta % 99 oranlarıyla KVV elde edildiği raporlanmıştır (77).

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar dünya genelinde yapılan kohort çalışmalarında saptanan KVV12'ye göre oranları ile uyum göstermektedir. Bu durum direk etkili antiviraller ile yüksek oranlarda etkin tedavi sonuçlarına ulaşıldığı ve hepatit C tedavisinin geleceğinin umut verici olduğu sonucuna varılmaktadır.

Çalışmamızda olguların yaş ortalaması 58,4±18,5 yıl idi. Hastaların %71,9'ü non sirotik, %28,1'si sirotik idi. Hastaların %75,0'i genotip1b, %3,1'i genotip 2, %12,5'i genotip 3 ve %9,4'ü genotip 4 idi. Hastaların %6,3'inde HbsAg pozitif, %93,8'inde HbsAg negatif idi Hastaların tedavi öncesi ve sonrasında total bilirubin ve direk bilirubin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Literatürde, Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika'da sıklıkla genotip 1a saptanırken; Japonya, Güney ve Doğu Avrupa'da ise en yaygın genotip, 1b olarak saptanmıştır. ABD'de kronik hepatit C hastalarının %71'i genotip 1 olarak bulunmuştur. Genotip 2, tüm dünya genelinde genotip 1'e göre daha az sıklıkla saptanmaktadır. İskoçya ve Güneydoğu Asya ülkelerinde sıklıkla genotip 3 olgularına rastlanmaktadır. Bozdayı ve ark., ülkemizde yaptıkları çalışmalarda HCV'li olgularda en sık saptanan genotip, genotip 1b'dir (149-151). Bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde edilen verilerle korelasyon göstermektedir.

6. SONUÇ

Kronik hepatit C'li hastalarda lncRNA düzeylerinin tedavi ile nasıl etkilendiğini araştırdığımız bu çalışmada, kronik hepatit C'li toplam 32 hastada tedavi öncesi ve sonrası MALAT1, HOTAIR, ACTB, IL-6, total bilirubin, direk bilirubin, platelet sayısı, kreatin, INR ve hemoglobin seviyeleri karşılaştırılmıştır.

Hastaların tamamında tedavi öncesi HCV RNA pozitif idi. Tedavi sonrası 32 hastanın 31'inde HCV RNA negatif bir hastada HCV RNA pozitif idi.

Hastaların tedavi öncesi ve sonrasında total bilirubin, direk bilirubin, kreatin, INR, hemoglobin, platelet sayısı ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası IL-6 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Bu literatürdeki araştırma sonuçları ile benzerlik göstermekteydi. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası ACTB seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası MALAT1 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası HOTAIR seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Sonuç olarak kronik hepatit C'li hastalarda direk etkili antiviral tedavisi ile IL-6 seviyelerinde gerileme olduğu, ancak MALAT1 ve HOTAIR seviyelerinde tedavi öncesi ve sonrası değerler ile karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişkinin olmadığı saptanmıştır. Çalışma grubumuzdaki vaka sayısının nispeten az olması veya doku örneklerine göre kan örneklerinde MALAT1 ve HOTAIR ekspresyonunun zayıf olması istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşılamamasının sebebi olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Prince A, Grady G, Hazzi C, Brotman B, Kuhns W, Levine R, et al. Long-incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis-B virus. *The Lancet*. 1974;304(7875):241-6.
2. Hancı O. Kronik hepatit C hastalarında pyrosekanslama yöntemi ile hepatit C virusu (HCV) genotiplerinin belirlenmesi/Detection of hepatitis c virus (HCV) genotypes by pyrosequencing in chronic HCV patients. 2014.
3. Nicot F, Kamar N, Rostaing L, Izopet J. Occult Hepatitis C Virus Infection: Where are We Now? *Liver Biopsy in Modern Medicine: IntechOpen*; 2011.
4. Bozkurt İ, Aygen B, Yıldız O, Gökahmetoğlu S. Bölgemizdeki hemodiyaliz hastalarında hepatit C virusu infeksiyonunun sıklığı ve epidemiyolojik özellikleri. *Klinik Dergisi*. 2011;24(3):167-72.
5. Campo D.S., Dimitrova Z., Yokosawa J., Hoang D., Perez N.O., Ramachandra S. & Khudyakov Y. Hepatitis C Virus Antigenic Convergence NCBI DOI: 10.1038/srep00267
6. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *New England journal of medicine*. 1999;341(8):556-62.
7. Powell D, Abramson B, Balint J, Belle S, Bloomer J, Diehl A, et al. National Institutes of Health consensus development conference panel statement: Management of hepatitis C. *Hepatology*. 1997;26(3 SUPPL.).

8. Seeff LB, Buskell-Bales Z, Wright EC, Durako SJ, Alter HJ, Iber FL, et al. Long-term mortality after transfusion-associated non-A, non-B hepatitis. *New England Journal of Medicine*. 1992;327(27):1906-11.
9. Alter H, Holland P, Morrow A, Purcell R, Feinstone S, Moritsugu Y. Clinical and serological analysis of transfusion-associated hepatitis. *The Lancet*. 1975;306(7940):838-41.
10. Bukh J, Purcell RH, Miller RH. Sequence analysis of the 5'noncoding region of hepatitis C virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1992;89(11):4942-6.
11. Han J, Shyamala V, Richman K, Brauer M, Irvine B, Urdea M, et al. Characterization of the terminal regions of hepatitis C viral RNA: identification of conserved sequences in the 5'untranslated region and poly (A) tails at the 3'end. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1991;88(5):1711-5.
12. Kato N. Molecular virology of hepatitis C virus. *Acta Medica Okayama*. 2001;55(3):133-60.
13. Dourakis S, Brown J, Kumar U, Karayiannis P, Kernoff P, Chiba J, et al. Serological response and detection of viraemia in acute hepatitis C virus infection. *Journal of hepatology*. 1992;14(2-3):370-6.
14. Ergünay K., Abacıoğlu H. Hepatit c virusunun genomik varyasyonları ve kliniğe etkileri *Mikrobiyol Bul* 2015; 49(4): 625-635
15. Kato N, Sekiya H, Ootsuyama Y, Nakazawa T, Hijikata M, Ohkoshi S, et al. Humoral immune response to hypervariable region 1 of the putative envelope glycoprotein (gp70) of hepatitis C virus. *Journal of virology*. 1993;67(7):3923-30.
16. *Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology*. Tan SL eNUHB 2006. ISBN-10: 1-904933-20-3 ISBN-13: 978-1-904933-20-5
17. Chen S, Wang Y-M. Multigene tracking of quasispecies in viral persistence and clearance of hepatitis C virus. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2005;11(19):2874.
18. Kanazawa Y, Hayashi N, Mita E, Li T, Hagiwara H, Kasahara A, et al. Influence of viral quasispecies on effectiveness of interferon therapy in chronic hepatitis C patients. *Hepatology*. 1994;20(5):1121-30.
19. Pybus O, Charleston M, Grupta S, Rambaut A, Holmes EC, Harvey PH. *Science*. 2001;292:2323-5.

20. Çizmeci Z. Kronik Hepatit C Enfeksiyonlu Hastalarda Hepatit C Virüs Genotiplerinin Dağılımı Türk Mikrobiyol Cem Derg 46(1):27-32, 2016 doi:10.5222/TMCD.2016.027
21. Gil B, Qian C, Riezu-Boj JI, Civeira MP, Prieto J. Hepatic and extrahepatic HCV RNA strands in chronic hepatitis C: different patterns of response to interferon treatment. *Hepatology*. 1993;18(5):1050-4.
22. Pawlotsky I, Tsakiris L, Roudot-Thoroval F, Pellet C, Stuyver L, Duval J, et al. Relationship between HCV genotypes and routes of contamination in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 1994;21(suppl 1):38.
23. Bukh J, Miller RH, Purcell RH, editors. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Seminars in liver disease*; 1995: © 1995 by Thieme Medical Publishers, Inc.
24. Alter M, Gerety R, Smallwood L, Sampliner R, Tabor E, Deinhardt F, et al. Sporadic non-A, non-B hepatitis: frequency and epidemiology in an urban US population. *Journal of Infectious Diseases*. 1982;145(6):886-93.
25. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *The Lancet*. 2001;358(9286):958-65.
26. Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, Nakano Y, Furuta S, Nishioka K, et al. Hepatitis C in hospital employees with needlestick injuries. *Annals of internal medicine*. 1991;115(5):367-9.
27. Kocak N, Hepgul S, Ozbayburtlu S, Altunay H, Ozsoy M, Kosan E, et al. Trends in major transfusion-transmissible infections among blood donors over 17 years in Istanbul, Turkey. *Journal of international medical research*. 2004;32(6):671-5.
28. Kara I, Yilmaz M, Sari Y, Duzen S, Usul Y, Isikoglu B. Seroprevalence and risk factors of HCV in dialysis patients in a university hemodialysis center of Southeast Anatolia, Turkey. *Dial Transplant*. 2001;30(11):748-55.
29. Bresee JS, Mast EE, Coleman PJ, Baron MJ, Schonberger LB, Alter MJ, et al. Hepatitis C virus infection associated with administration of intravenous immune globulin: a cohort study. *Jama*. 1996;276(19):1563-7.
30. Touzet S, Kraemer L, Colin C, Pradat P, Lanoir D, Bailly F, et al. Epidemiology of hepatitis C virus infection in seven European Union countries: a critical analysis of the literature. HENCORE Group. (Hepatitis C European Network for Co-operative Research. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2000;12(6):667-78.

31. Abdel Raouf Abou El-Azm M, El-Batae H, Mabrouk M, Raheem AA. Hepatitis C Virus Inter-Spousal Transmission Could be a Gate to Reduce Intrafamilial Spread and High Prevalence of HCV in Egypt.
32. Donahue JG, Nelson KE, Mufioz A, Vlahov D, Rennie LL, Taylor EL, et al. Antibody to hepatitis C virus among cardiac surgery patients, homosexual men, and intravenous drug users in Baltimore, Maryland. *American Journal of Epidemiology*. 1991;134(10):1206-11.
33. Liou TC, Chang TT, Young KC, Lin XZ, Lin CY, Wu HL. Detection of HCV RNA in saliva, urine, seminal fluid, and ascites. *Journal of medical virology*. 1992;37(3):197-202.
34. Knöll A, Helmig M, Peters O, Jilg W. Hepatitis C virus transmission in a pediatric oncology ward: analysis of an outbreak and review of the literature. *Laboratory investigation*. 2001;81(3):251.
35. Mondello P, Patti S, Vitale MG, D'Accardo AM, Spanó C. Anti-HCV antibodies in household contacts of patients with cirrhosis of the liver—preliminary results. *Infection*. 1992;20(1):51-2.
36. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition 2002 ISBN-10: 0-8153-3218-1 ISBN-10: 0-8153-4072-9
37. Turgut Coşan D, Yağcı E, Kurt H. 2018 , Epigenetikten Kansere Uzanan Çizgiler: Uzun Kodlamayan RNA'lar, *Osmangazi Tıp Dergisi*,40(3):114-121 Doi: 10.20515/otd.440958
38. Li Q, Shao Y, Zhang X, Zheng T, Miao M, Qin L, et al. Plasma long noncoding RNA protected by exosomes as a potential stable biomarker for gastric cancer. *Tumor Biology*. 2015;36(3):2007-12.
39. Hu Y, Wang J, Qian J, Kong X, Tang J, Wang Y, et al. Long noncoding RNA GAPLINC regulates CD44-dependent cell invasiveness and associates with poor prognosis of gastric cancer. *Cancer research*. 2014;74(23):6890-902.
40. Ding J, Li D, Gong M, Wang J, Huang X, Wu T, et al. Expression and clinical significance of the long non-coding RNA PVT1 in human gastric cancer. *OncoTargets and therapy*. 2014;7:1625.
41. Xu T-p, Xia R, Liu X-x, Sun M, Yin L, Chen W-m, et al. Decreased expression of the long non-coding RNA FENDRR is associated with poor prognosis in gastric cancer and FENDRR regulates gastric cancer cell metastasis by affecting fibronectin1 expression. *Journal of hematology & oncology*. 2014;7(1):63.

42. Shimura H, Masuta C. Plant subviral RNAs as a long noncoding RNA (lncRNA): analogy with animal lncRNAs in host–virus interactions. *Virus research*. 2016;212:25-9.
43. Fortes P, Morris KV. Long noncoding RNAs in viral infections. *Virus research*. 2016;212:1-11.
44. Moon C, Jung KS, Baatarkhuu O, Park JY, Kim BK, Kim SU, et al. Lower incidence of hepatocellular carcinoma and cirrhosis in hepatitis C patients with sustained virological response by pegylated interferon and ribavirin. *Digestive diseases and sciences*. 2015;60(2):573-81.
45. Terrier B, Lapidus N, Pol S, Serfaty L, Ratziu V, Asselah T, et al. Vitamin D in addition to peg-interferon-alpha/ribavirin in chronic hepatitis C virus infection: ANRS-HC25-VITAVIC study. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2015;21(18):5647.
46. Barriocanal M, Carnero E, Segura V, Fortes P. Long non-coding RNA BST2/BISPR is induced by IFN and regulates the expression of the antiviral factor tetherin. *Frontiers in immunology*. 2015;5:655.
47. Carnero E, Barriocanal M, Prior C, Unfried JP, Segura V, Guruceaga E, et al. Long noncoding RNA EGOT negatively affects the antiviral response and favors HCV replication. *EMBO reports*. 2016;17(7):1013-28.
48. Rose D, Hiller M, Schutt K, Hackermüller J, Backofen R, Stadler PF. Computational discovery of human coding and non-coding transcripts with conserved splice sites. *Bioinformatics*. 2011;27(14):1894-900.
49. Hui L, Bakiri L, Stepniak E, Wagner EF. p38 α : a suppressor of cell proliferation and tumorigenesis. *Cell cycle*. 2007;6(20):2429-33.
50. Agarwal V, Bell GW, Nam J-W, Bartel DP. Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *elife*. 2015;4:e05005.
51. Li S, Łabaj PP, Zumbo P, Sykacek P, Shi W, Shi L, et al. Detecting and correcting systematic variation in large-scale RNA sequencing data. *Nature biotechnology*. 2014;32(9):888.
52. Valadkhan S, Fortes P. Regulation of the Interferon Response by lncRNAs in HCV Infection. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9:181.
53. Yang Z, Zhou L, Wu L-M, Lai M-C, Xie H-Y, Zhang F, et al. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Annals of surgical oncology*. 2011;18(5):1243-50.

54. Panzitt K, Tschernatsch MM, Guelly C, Moustafa T, Stradner M, Strohmaier HM, et al. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA. *Gastroenterology*. 2007;132(1):330-42.
55. Matouk IJ, Abbasi I, Hochberg A, Galun E, Dweik H, Akkawi M. Highly upregulated in liver cancer noncoding RNA is overexpressed in hepatic colorectal metastasis. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2009;21(6):688-92.
56. Wang J, Liu X, Wu H, Ni P, Gu Z, Qiao Y, et al. CREB up-regulates long non-coding RNA, HULC expression through interaction with microRNA-372 in liver cancer. *Nucleic acids research*. 2010;38(16):5366-83.
57. American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis - 2017
58. Köse Ş, Ece G, Şamlıoğlu P, Topaloğlu S. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde düşük düzeyde anti-hepatit C pozitifliği saptanan örneklerin HCV RNA düzeylerinin değerlendirilmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg*. 2011;68(4):191-6.
59. Conry-Cantilena C, VanRaden M, Gibble J, Melpolder J, Shakil AO, Viladomiu L, et al. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *New England Journal of Medicine*. 1996;334(26):1691-6.
60. Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of Aminotransferases to Liver Histological Status in Chronic Hepatitis C 1. *American Journal of Gastroenterology*. 1995;90(8).
61. Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud Kraemer L, Bailly F, Trepo C, et al. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *Journal of viral hepatitis*. 2001;8(2):87-95.
62. Hoofnagle JH, Carithers Jr RL, Shapiro C, Ascher N. Fulminant hepatic failure: summary of a workshop. *Hepatology*. 1995;21(1):240-52.
63. Wai C-T, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38(2):518-26.
64. Myers RP, Benhamou Y, Imbert-Bismut F, Thibault V, Bochet M, Charlotte F, et al. Serum biochemical markers accurately predict liver fibrosis in HIV and hepatitis C virus co-infected patients. *Aids*. 2003;17(5):721-5.

65. Rossi E, Adams L, Prins A, Bulsara M, de Boer B, Garas G, et al. Validation of the FibroTest biochemical markers score in assessing liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clinical chemistry*. 2003;49(3):450-4.
66. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *The Lancet*. 2001;357(9262):1069-75.
67. Salkic NN, Jovanovic P, Hauser G, Brcic M. FibroTest/Fibrosure for significant liver fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis B: a meta-analysis. *The American journal of gastroenterology*. 2014;109(6):796.
68. Halfon P, Imbert-Bismut F, Messous D, Antoniotti G, Benchetrit D, Cart-Lamy P, et al. A prospective assessment of the inter-laboratory variability of biochemical markers of fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest) in patients with chronic liver disease. *Comparative hepatology*. 2002;1(1):3.
69. Poynard T, Bruix J, Schiff ER, Diago M, Berg T, Moreno-Otero R, et al. Improved inflammatory activity with peginterferon alfa-2b maintenance therapy in non-cirrhotic prior non-responders: A randomized study. *Journal of hepatology*. 2013;58(3):452-9.
70. 16th ed. New York: McGraw-Hill. 2005:1858-1869. Dienstag JL. Isselbacher KJ. *Chronic hepatitis*.
71. Kalayci R, ÖZBEK E, Temiz H, Muratoglu S, Celen MK. The Evaluation of HBV, HCV, HIV and Syphilis Screening Test Results of Police School Students. *Viral Hepatit Dergisi*. 2010;15(1).
72. Deveci Ö, Tekin A, Günbay SS, Kılıç D, Kaygusuz S, Ağalar C, et al. Kan bağışçılarında HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve VDRL testi sonuçlarının değerlendirilmesi. *J Clin Exp Invest www.clinexpinvest.org* Vol. 2011;2(4).
73. Karakuş A. Naiv kronik hepatit C hastalarında metabolik parametreler, hastanın demografik özellikleri ile viral yük ve histolojik faktörlerin ilişkisi. 2016.
74. McMullan LK, Grakoui A, Evans MJ, Mihalik K, Puig M, Branch AD, et al. Evidence for a functional RNA element in the hepatitis C virus core gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(8):2879-84.
75. AKHAN S. (2008). Hepatit C virüsü. In: Topçu WA SG, Doğanay M. (eds), *Enfeksiyon, hastalıkları ve mikrobiyoloji* (3. Baskı) Nobel Tıp Kitabevleri Ğ, ss. 1911-28.
76. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. 2003.

77. Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, Chojkier M, Gitlin N, Puoti M, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *New England Journal of Medicine*. 2014;370(20):1889-98.
78. Reddy KR, Bourlière M, Sulkowski M, Omata M, Zeuzem S, Feld JJ, et al. Ledipasvir and sofosbuvir in patients with genotype 1 hepatitis C virus infection and compensated cirrhosis: an integrated safety and efficacy analysis. *Hepatology*. 2015;62(1):79-86.
79. Kowdley KV, Gordon SC, Reddy KR, Rossaro L, Bernstein DE, Lawitz E, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for 8 or 12 weeks for chronic HCV without cirrhosis. *New England Journal of Medicine*. 2014;370(20):1879-88.
80. Feld JJ, Kowdley KV, Coakley E, Sigal S, Nelson DR, Crawford D, et al. Treatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *New England Journal of Medicine*. 2014;370(17):1594-603.
81. Afdhal N, Reddy KR, Nelson DR, Lawitz E, Gordon SC, Schiff E, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for previously treated HCV genotype 1 infection. *New England Journal of Medicine*. 2014;370(16):1483-93.
82. Pilot-Matias T, Tripathi R, Cohen D, Gaultier I, Dekhtyar T, Lu L, et al. In vitro and in vivo antiviral activity and resistance profile of the hepatitis C virus NS3/4A protease inhibitor ABT-450. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015;59(2):988-97.
83. Curry M, Modi A, Pungpapong S, Leise M, Aqel B, Llewellyn J, et al. Realworld effectiveness of ledipasvir/sofosbuvir (LDV/SOF) in treatment-experienced cirrhotic genotype 1 patients with chronic hepatitis C: a comparative analysis of Gilead sponsored trials with 4 real-world cohorts. *Journal of Hepatology*. 2016;64(2):S797.
84. Bourlière M, Bronowicki J-P, De Ledinghen V, Hézode C, Zoulim F, Mathurin P, et al. Ledipasvir-sofosbuvir with or without ribavirin to treat patients with HCV genotype 1 infection and cirrhosis non-responsive to previous protease-inhibitor therapy: a randomised, double-blind, phase 2 trial (SIRIUS). *The Lancet Infectious Diseases*. 2015;15(4):397-404.
85. Osinusi A, Kohli A, Marti MM, Nelson A, Zhang X, Meissner EG, et al. Re-treatment of chronic hepatitis C virus genotype 1 infection after relapse: an open-label pilot study. *Annals of internal medicine*. 2014;161(9):634-8.
86. Wyles D, Pockros P, Morelli G, Younes Z, Svarovskaia E, Yang JC, et al. Ledipasvir+sofosbuvir plus ribavirin for patients with genotype 1 hepatitis C virus previously treated in clinical trials of sofosbuvir regimens. *Hepatology*. 2015;61(6):1793-7.

87. Muñoz N, Bosch X. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Neoplasms of the Liver*: Springer; 1987. p. 3-19.
88. Bosch FX, Ribes J, Díaz M, Cléries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology*. 2004;127(5):S5-S16.
89. Bruix J, Llovet JM. Major achievements in hepatocellular carcinoma. *The Lancet*. 2009;373(9664):614-6.
90. Minami Y, Kudo M, Chung H, Kawasaki T, Yagyu Y, Shimono T, et al. Contrast harmonic sonography-guided radiofrequency ablation therapy versus B-mode sonography in hepatocellular carcinoma: prospective randomized controlled trial. *American Journal of Roentgenology*. 2007;188(2):489-94.
91. Ma Y ZX, Li XY, Zhang L, Su HH, Zhan CY. [Value of computed, Ke tamriidaddoshcNFY, 2008;28(12):2235-8 DXXBD.
92. Blum HE, Spangenberg HC. Hepatocellular carcinoma: an update. *Arch Iran Med*. 2007;10(3):361-71.
93. Belghiti J, Regimbeau J, Durand F, Kianmanesh A, Dondero F, Terris B, et al. Resection of hepatocellular carcinoma: a European experience on 328 cases. *Hepato-gastroenterology*. 2002;49(43):41-6.
94. Shoup M, Gonen M, D'Angelica M, Farnagin WR, DeMatteo RP, Schwartz LH, et al. Volumetric analysis predicts hepatic dysfunction in patients undergoing major liver resection. *Journal of gastrointestinal surgery*. 2003;7(3):325-30.
95. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *New England Journal of Medicine*. 1996;334(11):693-700.
96. Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S, Meloni F, Ierace T, Solbiati L, et al. Hepatocellular carcinoma: radio-frequency ablation of medium and large lesions. *Radiology*. 2000;214(3):761-8.
97. Livraghi T, Solbiati L, Meloni F, Ierace T, Goldberg SN, Gazelle GS. Percutaneous radiofrequency ablation of liver metastases in potential candidates for resection: The "test of time" approach. *Cancer*. 2003;97(12):3027-35.
98. Takayasu K, Arii S, Ikai I, Omata M, Okita K, Ichida T, et al. Prospective cohort study of transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma in 8510 patients. *Gastroenterology*. 2006;131(2):461-9.
99. Evans AE, Land VJ, Newton WA, Randolph JG, Sather HN, Tefft M. Combination chemotherapy (vincristine, adriamycin, cyclophosphamide, and 5

- fluorouracil) in the treatment of children with malignant hepatoma. *Cancer*. 1982;50(5):821-6.
100. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc J-F, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *New England journal of medicine*. 2008;359(4):378-90.
 101. Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T. The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis Research & Therapy*. 2002;4(3):S233.
 102. Akira S, Isshiki H, Sugita T, Tanabe O, Kinoshita S, Nishio Y, et al. A nuclear factor for IL-6 expression (NF-IL6) is a member of a C/EBP family. *The EMBO journal*. 1990;9(6):1897-906.
 103. Kawano M, Hirano T, Matsuda T, Taga T, Horii Y, Iwato K, et al. Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myelomas. *Nature*. 1988;332(6159):83.
 104. Yoshizaki K, Matsuda T, Nishimoto N, Kuritani T, Taeho L, Aozasa K, et al. Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castleman's disease. *Blood*. 1989;74(4):1360-7.
 105. Heinrich PC, Behrmann I, Serge H, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochemical journal*. 2003;374(1):1-20.
 106. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *The Journal of clinical investigation*. 2004;113(9):1271-6.
 107. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2014;6(10):a016295.
 108. Delneste Y, Lassalle P, Jeannin P, Joseph M, Tonnel A, Gosset P. Histamine induces IL-6 production by human endothelial cells. *Clinical & Experimental Immunology*. 1994;98(2):344-9.
 109. Nurieva R, Yang XO, Martinez G, Zhang Y, Panopoulos AD, Ma L, et al. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature*. 2007;448(7152):480.
 110. Okada M, Kitahara M, Kishimoto S, Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T. IL-6/BSF-2 functions as a killer helper factor in the in vitro induction of cytotoxic T cells. *The Journal of Immunology*. 1988;141(5):1543-9.

111. de Oliveria Andrade LJ, D'Oliveira A, Junior RCM, De Souza EC, Silva CAC, Parana R. Association between hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Journal of global infectious diseases*. 2009;1(1):33.
112. Zhou W-C, Zhang Q-B, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2014;20(23):7312.
113. Simpson RJ, Hammacher A, Smith DK, Matthews JM, Ward LD. Interleukin-6: Structure-function relationships. *Protein Science*. 1997;6(5):929-55.
114. Torre D, Zeroli C, Giola M, Ferrario G, Fiori GP, Bonetta G, et al. Serum levels of interleukin-1 α , interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor in patients with acute viral hepatitis. *Clinical Infectious Diseases*. 1994;18(2):194-8.
115. Lee F, Lu R, Tsai Y, Lin H, Hou M, Li C, et al. Plasma interleukin-6 levels in patients with cirrhosis relationship to endotoxemia, tumor necrosis factor- α , and hyperdynamic circulation. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1996;31(5):500-5.
116. Yazmacı E., Göral V., Colpan L., Kara I.H., Dursun M. kronik karaciğer hastalığında serum interlökin-1b, solübl interlökin-2 reseptörü, interlökin-6 ve tümör nekrozis faktör-a düzeyleri Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji, Biyokimya Bilim Dalları ve Hemodializ Ünitesi, Diyarbakır.
117. Gigi E, Lagopoulos VI, Bekiari E. Hepatocellular carcinoma occurrence in DAA-treated hepatitis C virus patients: Correlated or incidental? A brief review. *World journal of hepatology*. 2018;10(9):595.
118. Drazic A, Aksnes H, Marie M, Boczkowska M, Varland S, Timmerman E, et al. NAA80 is actin's N-terminal acetyltransferase and regulates cytoskeleton assembly and cell motility. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018;115(17):4399-404.
119. Geng Y, Xie S, Li Q, Ma J, Wang G. Large intervening non-coding RNA HOTAIR is associated with hepatocellular carcinoma progression. *Journal of International Medical Research*. 2011;39(6):2119-28.
120. Yang F, Zhang L, Huo Xs, Yuan Jh, Xu D, Yuan Sx, et al. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans. *Hepatology*. 2011;54(5):1679-89.
121. Chen L, Yao H, Wang K, Liu X. Long non-coding RNA MALAT1 regulates ZEB1 expression by sponging miR-143-3p and promotes hepatocellular carcinoma progression. *Journal of cellular biochemistry*. 2017;118(12):4836-43.

122. Ishibashi M, Kogo R, Shibata K, Sawada G, Takahashi Y, Kurashige J, et al. Clinical significance of the expression of long non-coding RNA HOTAIR in primary hepatocellular carcinoma. *Oncology reports*. 2013;29(3):946-50.
123. Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, Johnson G, Frank J, Burghardt R, et al. HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. *Oncogene*. 2013;32(13):1616.
124. Nakagawa T, Endo H, Yokoyama M, Abe J, Tamai K, Tanaka N, et al. Large noncoding RNA HOTAIR enhances aggressive biological behavior and is associated with short disease-free survival in human non-small cell lung cancer. *Biochemical and biophysical research communications*. 2013;436(2):319-24.
125. Nie Y, Liu X, Qu S, Song E, Zou H, Gong C. Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker for nasopharyngeal carcinoma progression and survival. *Cancer science*. 2013;104(4):458-64.
126. Li D, Feng J, Wu T, Wang Y, Sun Y, Ren J, et al. Long intergenic noncoding RNA HOTAIR is overexpressed and regulates PTEN methylation in laryngeal squamous cell carcinoma. *The American journal of pathology*. 2013;182(1):64-70.
127. Cui L, Xie X, Wang H, Chen X, Liu S, Hu L. Expression of long non-coding RNA HOTAIR mRNA in ovarian cancer. *Sichuan da xue xue bao Yi xue ban= Journal of Sichuan University Medical science edition*. 2013;44(1):57-9.
128. Tian X, Xu G. Clinical value of lncRNA MALAT1 as a prognostic marker in human cancer: systematic review and meta-analysis. *BMJ open*. 2015;5(9):e008653.
129. Tian W, Du Y, Ma Y, Gu L, Zhou J, Deng D. MALAT1-miR663a negative feedback loop in colon cancer cell functions through direct miRNA-lncRNA binding. *Cell death & disease*. 2018;9(9):857.
130. Wang X, Li M, Wang Z, Han S, Tang X, Ge Y, et al. Silencing of long noncoding RNA MALAT1 by miR-101 and miR-217 inhibits proliferation, migration, and invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2015;290(7):3925-35.
131. Yang M-H, Hu Z-Y, Xu C, Xie L-Y, Wang X-Y, Chen S-Y, et al. MALAT1 promotes colorectal cancer cell proliferation/migration/invasion via PRKA kinase anchor protein 9. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2015;1852(1):166-74.
132. Tano K, Mizuno R, Okada T, Rakwal R, Shibato J, Masuo Y, et al. MALAT1 enhances cell motility of lung adenocarcinoma cells by influencing the expression of motility-related genes. *FEBS letters*. 2010;584(22):4575-80.

133. Xu C, Yang M, Tian J, Wang X, Li Z. MALAT-1: a long non-coding RNA and its important 3' end functional motif in colorectal cancer metastasis. *International journal of oncology*. 2011;39(1):169-75.
134. Ji Q, Liu X, Fu X, Zhang L, Sui H, Zhou L, et al. Resveratrol inhibits invasion and metastasis of colorectal cancer cells via MALAT1 mediated Wnt/ β -catenin signal pathway. *PloS one*. 2013;8(11):e78700.
135. Lai M-c, Yang Z, Zhou L, Zhu Q-q, Xie H-y, Zhang F, et al. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Medical oncology*. 2012;29(3):1810-6.
136. Lin R, Maeda S, Liu Ca, Karin M, Edgington T. A large noncoding RNA is a marker for murine hepatocellular carcinomas and a spectrum of human carcinomas. *Oncogene*. 2007;26(6):851.
137. Yang L, Lin C, Liu W, Zhang J, Ohgi KA, Grinstein JD, et al. Erratum: NcRNA-and Pc2 methylation-dependent gene relocation between nuclear structures mediates gene activation programs (*Cell* (2011) 147 (773-788)). *Cell*. 2013;155(2).
138. Wu Y, Huang C, Meng X, Li J. Long noncoding RNA MALAT1: insights into its biogenesis and implications in human disease. *Current pharmaceutical design*. 2015;21(34):5017-28.
139. Toraih EA, Ellawindy A, Fala SY, Al Ageeli E, Gouda NS, Fawzy MS, et al. Oncogenic long noncoding RNA MALAT1 and HCV-related hepatocellular carcinoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;102:653-69.
140. Malakar P, Shilo A, Mogilevsky A, Stein I, Pikarsky E, Nevo Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 promotes hepatocellular carcinoma development by SRSF1 upregulation and mTOR activation. *Cancer research*. 2017;77(5):1155-67.
141. Guo X, Liu J, You L, Li G, Huang Y, Li Y. Association between adiponectin polymorphisms and the risk of colorectal cancer. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2015;19(1):9-13.
142. Kinoshita A, Nishino H. IL-6, a promising tumor marker and prognostic indicator in patients with HCC? *Journal of Tumor*. 2014;2(6):142-4.
143. Bergmann J, Müller M, Baumann N, Reichert M, Heneweer C, Bolik J, et al. IL-6 trans-signaling is essential for the development of hepatocellular carcinoma in mice. *Hepatology*. 2017;65(1):89-103.
144. Perelló C, Carrión J, Ruiz Antorán B, Crespo J, Turnes J, Llaneras J, et al. Effectiveness and safety of ombitasvir, paritaprevir, ritonavir±dasabuvir±ribavirin: An early access programme for Spanish patients

- with genotype 1/4 chronic hepatitis C virus infection. *Journal of viral hepatitis*. 2017;24(3):226-37.
145. Calleja JL, Crespo J, Rincón D, Ruiz-Antorán B, Fernandez I, Perelló C, et al. Effectiveness, safety and clinical outcomes of direct-acting antiviral therapy in HCV genotype 1 infection: Results from a Spanish real-world cohort. *Journal of hepatology*. 2017;66(6):1138-48.
146. Petta S, Marzioni M, Russo P, Aghemo A, Alberti A, Ascione A, et al. Ombitasvir, paritaprevir, and ritonavir, with or without dasabuvir, plus ribavirin for patients with hepatitis C virus genotype 1 or 4 infection with cirrhosis (ABACUS): a prospective observational study. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2017;2(6):427-34.
147. Pol S, Bourlière M, Lucier S, Hézode C, Dorival C, Larrey D, et al. Safety and efficacy of daclatasvir-sofosbuvir in HCV genotype 1-mono-infected patients. *Journal of hepatology*. 2017;66(1):39-47.
148. Poordad F, Hezode C, Trinh R, Kowdley KV, Zeuzem S, Agarwal K, et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin for hepatitis C with cirrhosis. *New England Journal of Medicine*. 2014;370(21):1973-82.
149. Bozdayi AM, Aslan N, Bozdayi G, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B, C and D viruses in Turkish patients *Arch Virol*. 2004; 149(11): 2115-29.
150. Abacioglu YH, Davidson F, Tuncer S, et al. The distribution of hepatitis C virus genotypes in Turkish patients. *J Viral Hepat*. 1995; 2(6); 297-301.
151. Altuglu I, Soyler I, Ozacar T, Erensoy S. Distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with chronic hepatitis C infection in Western Turkey. *Int J Infect Dis*. 2008; 12(3): 239-44.

8. ÖZGEÇMİŞ

Dr. Damla Demir 06.01.1989 tarihinde Hatay'ın İskenderun ilçesinde doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini; Mithat Paşa İlköğretim Okulu (1994-1999),

Namık Kemal İlköğretim Okulu (1999-2003), İstiklal Makzume Anadolu Lisesi'nde (2003-2007) tamamladı. 2014 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi'nden mezun oldu. Mecburi hizmetini Şırnak Beytüşşebap Devlet Hastanesinde 2015 yılında yaptı. Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilimdalı'nda 2015 yılından beri başladığı eğitimini hala sürdürmektedir.

