

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI**

**HEPATİT C TEDAVİSİ SONRASINDA NON-İNVAZİV
FİBROZİS BELİRTEÇLERİNDE GÖRÜLEN DEĞİŞİMİN SİROZ
YA DA HCC GELİŞİMİNİ PREDİKTE ETMEDEKİ
DEĞERLİLİĞİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. MERVE HİLAL TEPE

2016-2020

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI**

**HEPATİT C TEDAVİSİ SONRASINDA NON-İNVAZİV
FİBROZİS BELİRTEÇLERİNDE GÖRÜLEN DEĞİŞİMİN SİROZ
YA DA HCC GELİŞİMİNİ PREDİKTE ETMEDEKİ
DEĞERLİLİĞİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. MERVE HİLAL TEPE

DANIŞMAN

DOÇ. DR. AHMET TARIK EMİNLER

2016-2020

ONAY

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 03/01/2019 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



Tarih:
29/01/2020
Merve Hilal TEPE
İmza

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı uzmanlık eğitim sürem içinde bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım klinik şefimiz Prof.Dr.Ali TAMER ve Prof.Dr.Mustafa İhsan USLAN'a, tezimin son halini almasında ve yazım aşamasında yardımcı olan Doç.Dr.Ahmet Tarık EMİNLER'e, tüm bilim dallarında görev yapmakta olan kıymetli hocalarıma, kliniğimizin uzmanlarına, asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz hemşire ve personeline teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

Dr. Merve Hilal Tepe



İÇİNDEKİLER

ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	v
ŞEKİLLER.....	vi
TABLOLAR	vii
ÖZET.....	viii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Giriş.....	3
2.2. Hepatit C Virüsü	3
2.2.1. HCV yapısal proteinleri	5
2.2.2. HCV yapısal olmayan proteinleri.....	7
2.2.3. HCV yaşam döngüsü	10
2.3. Hepatit C Enfeksiyonu Tipleri	11
2.3.1. Akut hepatit C	11
2.3.2. Kronik hepatit C.....	12
2.4. Hepatit C Epidemiyolojisi.....	12
2.5. Hepatit C Enfeksiyonu Tanısı	13
2.6. Hepatit C Tedavisi.....	14
2.7. Hepatoselüler Karsinom (HCC).....	15
2.8. Siroz	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Araştırmanın Tipi	17
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı.....	17
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi	17
3.4. Araştırmaya Dahil Edilme ve Edilmeme Kriterleri	17
3.4. Araştırmanın Değişkenleri	17
3.5. Uygulanan Yaklaşım ve Yöntemler	18

3.6. Verilerin Değerlendirilmesi	19
4. BULGULAR	20
4.1. Hastaların Bireysel Özellikleri	20
4.2. Hastaların Tanı Anında HCV Bulguları.....	20
4.3. Tedavi Öncesi İnvaziv Olmayan Bulguların Dağılımları	21
4.4. Tedaviye İlişkin Bulgular.....	22
4.5. Tedavi Sonrası İnvaziv Olmayan Bulgular	23
4.6. Tedavi Öncesi İnvaziv Olmayan Bulguların Tanı ile İlişkisi.....	23
4.7. Tedavi Öncesi İnvaziv Olmayan Bulguların Fibrozis Tanısı ile İlişkisi.....	24
4.8. Tedavi Sonrası İnvaziv Olmayan Bulguların Tanı ile İlişkisi.....	25
4.9. Tedavi Sonrası İnvaziv Olmayan Bulguların Fibrozis Tanısı ile İlişkisi.....	25
4.10. Tedavi Öncesi ve Sonrasında İnvaziv Olmayan Bulgulardaki Değişimler...	26
4.11. Tedavi Sonrası Duruma Göre İnvaziv Olmayan Belirteçlerin Farkı	26
4.12. Tedavi Sonrası Hastalık Durumuna Göre Diğer Parametrelerin Değerlendirilmesi.....	27
4.13. Tedavi Öncesi Karaciğer Görünümü ile İnvaziv Olmayan Belirteçlerin İlişkisi.....	28
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	29
KAYNAKÇA	34

KISALTMALAR

AASLD	: Amerikan Karaciğer Hastalığı Araştırmaları Birliği
ALT	: Alanin transferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
CHC	: Kronik Hepatit C
DAA	: Doğrudan etki eden antiviral
ER	: Endoplazmik Retikulum
HBV	: Hepatit B Virüsü
HCC	: Hepatoselüler karsinom
HCV	: Hepatit C Virüsü
IFN	: Interferon
ISDR	: İnterferon-a duyarlılık belirleyici bölge
KVY	: Kalıcı viral yanıt
NAT	: Nükleik ve Amplifikasyon testleri
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PKA	: Protein kinaz A
PT	: Protrombin zamanı
RNA	: Ribonükleik Asit

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Hepatit C 'nin genomik yapısı.....	4
Şekil 2.2. HCV virüsünün yapısı (a: elektron mikroskobu görüntüsü, b: model..... gösterimi)	11



TABLULAR

Tablo 2.1. HCV yapısında bulunan proteinler ve görevleri (19).....	5
Tablo 4.1. Hastaların bireysel özellikleri	20
Tablo 4.2. Hastaların tanı anında HCV bulguları.....	21
Tablo 4.3. Tedavi öncesi invaziv olmayan bulgular.....	22
Tablo 4.4. Tedaviye ilişkin bulgular.....	22
Tablo 4.5. Tedavi öncesi invaziv olmayan bulguların tanıya göre farkı	24
Tablo 4.6. Tedavi öncesi fibrozis varlığı ile invaziv olmayan bulguların..... değerlendirilmesi.....	24
Tablo 4.7. Tedavi sonrası invaziv olmayan bulguların tanı ile ilişkisi.....	25
Tablo 4.8. Tedavi sonrası fibrozis varlığı ile invaziv olmayan bulguların değerlendirilmesi.....	26
Tablo 4.9. Tedavi öncesi ve sonrasında invaziv olmayan bulgulardaki değişimler	26
Tablo 4.10. Tedavi sonrası duruma göre invaziv olmayan belirteçlerin farkı.....	27
Tablo 4.11. Tedavi öncesi karaciğer görünümü ile invaziv olmayan belirteçlerin ilişkisi	28

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonu, en ciddi küresel sağlık sorunlarından biri olup insidansı artmaktadır. Hastalığın ilerlemiş formları karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinomadır (HCC). Karaciğer biyopsisi, nekroinflamatuvar aktivitenin ve fibrozunun derecelendirilmesinde hala altın standart olarak kabul edilmesine rağmen, yüksek maliyetine ek olarak bazı teknik sınırlamalar ve riskler sunmaktadır. Buna dayanarak çalışmamızda hepatit C hastalarında tedavi başlangıcı ve sonunda değerlendirilen 5 invaziv olmayan yöntemin; siroz, dekompanasyon, HCC veya ölüm gibi hastalık ilerlemesini göstermedeki prediktif değerliliklerini ortaya koymak amacıyla amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Araştırma kapsamında tedavi alan Hepatit C hastalarının (n:80) arşiv dosyaları incelenerek tedavi öncesi ve sonrasındaki non-invaziv skorlama testleri ile ilişkili klinik verileri kaydedilmiştir. Daha sonra FI, APRI, CDS, FCI ve FIB4 invaziv olmayan test skorları tedavi öncesi ve sonrası için gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Dört gözlü tablo yöntemi ile de siroz ve fibrozis grupları kendi içinde prediktif açıdan değerlendirilmiştir.

BULGULAR: Çalışma sonucunda fibrozis açısından en güçlü prediktif değer APRI yöntemi ile belirlenmiştir (%85 pozitif prediktif değer, %96 negatif prediktif değer). Tedavi öncesinde ve sonrasında hepatik dekompanasyon olan olgularda daha yüksek skorlar tespit edilmiştir. Fibrozis hastalarında invaziv olmayan yöntem skorlarında fark tespit edilmemiştir. Tedavi sonrasında FI ve CDS artarken APRI de azalma saptanmıştır. Trombosit, portal ven çapı, hastalık yaşı, takip süresi parametreleri tedavi sonrası hastalığın kötüleşmesine dair fark göstermemiştir ($p>0,05$).

SONUÇ: Fibrozis için prediktif değeri en güçlü olan test APRI 'dir. Daha yüksek APRI skoru karaciğer hasarındaki artışı ifade ederken daha erken evredeki fibrozis için daha düşük değer önerilmektedir. Bu durum CDS, FI, FIB4 testleri için de geçerlidir.

Anahtar Kelimeler: Siroz, Fibrozis, Hepatoselüler karsinom, Hepatik dekompanasyon, invazv olmayan yöntemler

SUMMARY

INTRODUCTION AND OBJECTIVE: Hepatitis C virus (HCV) infection is one of the most serious global health problems and its incidence is increasing. The advanced forms of the disease are liver cirrhosis (LC) and hepatocellular carcinoma (HCC). Although liver biopsy is still considered the gold standard in grading necroinflammatory activity and fibrosis, it offers some technical limitations and risks in addition to its high cost. Based on this, in our study, it was aimed to reveal the predictive values of the disease in the form of cirrhosis, decompensation, HCC or death with 5 non-invasive methods evaluated at the beginning and end of treatment in hepatitis C patients.

MATERIAL AND METHOD: Within the scope of the research, archive files of patients in three different groups (cirrhosis, hepatic decompensation, HCC) (n: 80) were examined and clinical data related to non-invasive scoring tests (before and after treatment) were recorded. Then, FI, APRI, CDS, FCI and FIB4 noninvasive test scores were compared statistically between the groups before and after treatment. The cirrhosis and fibrosis groups were evaluated predictively in the four-eyed table method.

RESULTS: As a result of the study, the strongest predictive value for fibrosis was determined by the APRI method (85% positive predictive value, 96% negative predictive value). Higher scores were detected in patients with hepatic decompensation before and after treatment. There was no difference in non-invasive method scores in patients with fibrosis. After treatment, FI and CDS increased, while APRI decreased. The parameters of platelet, portal vein diameter, disease age, duration of follow-up did not show any difference in worsening of the disease after treatment ($p > 0.05$).

CONCLUSION: The test with the strongest predictive value for fibrosis is APRI. A higher APRI score indicates an increase in liver damage, while a lower value is recommended for earlier stage fibrosis. This also applies to CDS, FI, FIB4 tests.

Keywords: Cirrhosis, Fibrosis, Hepatocellular carcinoma, Hepatic decompensation, non-invasive methods.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonu, en ciddi küresel sağlık sorunlarından biridir. HCV enfeksiyonunun insidansı artmaktadır ve dünya çapında 185 milyondan fazla insan enfekte olmaktadır (1). Ayrıca, her yıl yaklaşık 370000 HCV ile enfekte birey karaciğer kaynaklı nedenlerle ölmektedir. HCV ile ilişkili karaciğer hastalığı, birkaç on yıl boyunca sinsi bir şekilde ilerleyebilir. Hastalığın ilerlemiş formları karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinomadır (HCC). HCV ile kronik olarak enfekte olmuş kişilerin yaklaşık % 20-30'unda 15-25 yıl sonra siroz gelişeceği tahmin edilmektedir (1).

Siroz hemen hemen tüm kronik karaciğer hastalıklarının sonucunda görülmektedir. Kompense siroz olarak adlandırılan asemptomatik bir fazı, portal hipertansiyonun komplikasyonları, yani dekompanse siroz olarak adlandırılan asit, varis kanaması ve hepatik ensefalopati gibi komplikasyonların gelişmesi izlemektedir. Bu geçiş yılda % 5-7 oranında gerçekleşmektedir. Son zamanlarda yapılan bir sistematik derleme, HCV ile enfekte siroz hastalarında % 2,8- 11,7 oranında hepatik dekompanseasyona, % 1,8-8,3 oranında HCC 'a ilerlediğini ve bu hastaların % 2,7-6,7 'sinin ise her yıl karaciğer transplantasyonu yapıldığı ya da öldüğünü belirtmektedir (2). Antiviral tedavinin yokluğunda HCV ile ilişkili sirozu olan hastaların % 67-91'i HCC veya karaciğer yetmezliği gibi karaciğer kaynaklı nedenlere bağlı olarak ölmektedir. (3, 4).

Kronik hepatit C'de karaciğer fibrozisi ve inflamasyonu dinamik süreçlerdir. Çok uzun zaman önce yapılan çalışmalar, çok az septa (METAVIR düzey F2'ye karşılık gelen ve daha yakın zamanda anlamlı fibroz olarak adlandırılan) ile portal alanların ötesine uzanan fibrozisin siroza ilerlemede bir miktar artışla ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu güvenlik ve etkililik sorunları karşısında, fibrozis evrelemesi, olumsuz risk-yarar oranını belirterek tedaviye rehberlik etmektedir (5).

Antiviral tedavinin amacı, viremiyi ortadan kaldırmak ve kronik HCV enfeksiyonu ile ilişkili uzun süreli komplikasyonları önlemektir. Geçmiş uygulamalarda, antiviral tedaviden önce karaciğer biyopsisi önerilmekteydi; çünkü tedavi öncelikle hastalığın ilerlemesi için daha yüksek risk altındaki hastalara hedeflenmekteydi. Biyopsi, karaciğer histolojisini değerlendirmek için referans

standart olarak kalmasına rağmen, örnekleme hatasına tabidir ve kanama, şiddetli ağrı ve enfeksiyon gibi komplikasyonlara sahiptir. Ek olarak, antiviral tedavilerin etkinliğinin artması, hastalığın ilerlemesi için daha düşük risk altındaki hastaları kapsayacak şekilde tedavi endikasyonlarının genişlemesine yol açmış ve bu da, invaziv bir testle ayrıntılı tedavi öncesi prognostik bilgi elde etme ihtiyacını sorgulamaktadır. Bu nedenle, antiviral tedaviden önce HCV ile enfekte tüm hastalarda biyopsi önerilmemektedir. Bununla birlikte, mevcut antiviral tedavilerle ilişkili yan etkiler ve maliyetler göz önüne alındığında, karaciğer fibrozunun derecesinin bilinmesi hala önemli bilgiler sağlayabilir ve daha bilinçli tedavi kararlarına olanak vermektedir. İdeal olarak, karaciğer fibrozunu değerlendirmek için yöntemlerin, hastaları potansiyel zararlara ve biyopsi rahatsızlığına maruz bırakmadan gerçekleşmesi beklenmektedir. Karaciğer biyopsisine alternatif olarak birçok testin tek başına ya da kombinasyonlar şeklinde kullanımının faydalı olabileceği öne sürülmüştür (6).

Bu bilgilere dayanarak biz bu çalışmamızda tedavi alan hepatit C hastalarında tedavi başlangıcı ve sonunda değerlendirilen 5 invaziv olmayan yöntemin, siroz, dekompanseasyon, HCC veya ölüm gibi hastalık seyrindeki progresyonu tahmin etmede prediktif değerliliklerini ortaya koymayı amaçladık. Literatürde özellikle Türk toplumunda yapılmış benzer bir çalışma olmaması, araştırmanın özgünlüğü ile güçlü bir yön teşkil etmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Giriş

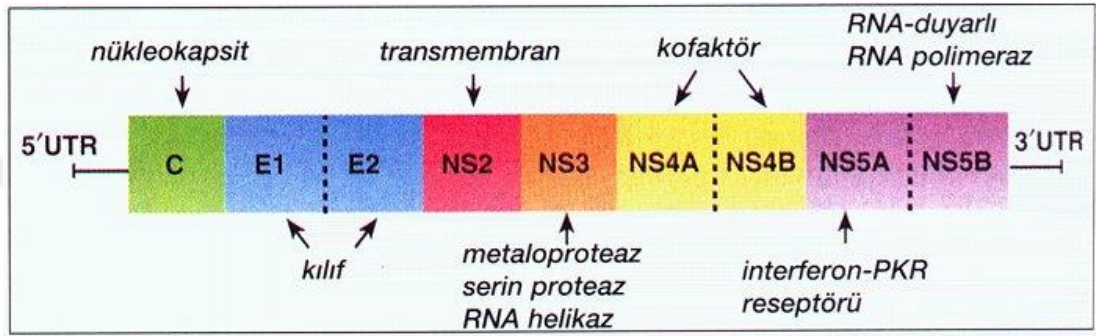
Hepatit C virüsü (HCV), dünya üzerinde kronik karaciğer hastalıkları etyolojileri içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Varlığı ilk olarak 1975 yılında Feinstone ve arkadaşları tarafından ortaya koyulmuştur. Transfüzyonla ilişkili hepatit vakalarının çoğunun hepatit A virüsü veya hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonları ile ilişkili olmadığı bulunmuş ve NonA-nonB hepatit hastalığı olarak tanımlanmıştır (7). Yapılan hayvan çalışmaları neticesinde bu hastalardaki hepatitin küçük bir zarflı yapıda ajandan kaynaklandığı gösterilmiştir (8, 9). İlk olarak 1989'da, Houghton ve arkadaşları, deneysel olarak enfekte olmuş bir şempanzeden toplanan yüksek titre örneklerini kullanarak HCV'nin genomunu (HCV-1 suşunu) klonlamış ve bunun sonucunda tanı testlerinin geliştirilmesi sağlanmıştır (10).

Hepatit C virüsü enfeksiyonunun akut hepatit, kronik hepatit, siroz ve karaciğer kanseri ile ilişkili olduğu bilinmektedir (11). Virüs tanımlandıktan sonra, hasta virüslerinin laboratuvarında kültürlenememesi gibi çok büyük zorluklara rağmen, HCV'nin genetik heterojenitesi ve karmaşık yaşam döngüsünü anlamak ve deneysel rekombinant hücre kültürü sistemlerinin geliştirilmesi için yoğun gayret sarf edilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda kan tarama programlarının geliştirilmesinde, hastaların tedavisinde, virüsün çoğalmasının durdurulmasında ve böylece bulaşın önlenmesinde çok ciddi gelişmeler sağlanmıştır (12). Bununla birlikte, mevcut terapi rejimlerinin optimize edilmesinde, direnç probleminin sınırlandırılmasında ve bireyselleştirilmiş tedavi sağlanmasındaki zorluklar devam etmektedir (13, 14). HCV'ye karşı geliştirilmiş hala bir aşı yoktur ve bu durum, HCV'nin dünya çapında kontrolü için sorun teşkil etmektedir (15).

2.2. Hepatit C Virüsü

Hepatit C virüsü, Flaviviridae ve hepus virüs cinsine ait küçük bir zarflı RNA virüsüdür. HCV genomik RNAsı viryonu oluşturmak için iki viral glikoprotein (E: *envelope*, zarf; E1 ve E2) içeren bir lipit iki tabakası ile sarılı, pozitif polariteye sahip küçük, tek sarmallı özelliktedir (16). HCV genomu yaklaşık 9.600 nükleotitten oluşmaktadır. HCV açık okuma çerçevesi (ORF) 'nin translasyonu sonucu 3.000 aminoasitlik bir poliprotein oluşmaktadır. Bu poliprotein, konağın ve viral

proteazların kombinasyonu ile viral partikül üretimine dahil olan üç yapısal proteine (kor ve zarf glikoproteinleri E1 ve E2); viral işlenmeye ve replikasyona izin veren yedi yapısal olmayan proteine (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A ve NS5B) ayrılmaktadır (17). Genomun iyi şekilde korunmuş 5' UTR bölgesi, 341 nükleotid uzunluğunda olup tüm HCV suşlarında benzerlik göstermektedir. Viremi tespitinde bu bölge hedeflenmektedir. HCV 'nin genomik yapısı Şekil 2.1. 'de yer almaktadır.



Şekil 2.1. Hepatit C 'nin genomik yapısı (18)

HCV 'nin yapısında yer alan bu yedi yapısal/ yapısal olmayan proteinin görevleri Tablo 2.1. 'de yer almaktadır.

Tablo 2.1. HCV yapısında bulunan proteinler ve görevleri (19)

Protein	Aminoasit pozisyonu	Proteinin moleküler kütlesi	Virionun yapısında bulunma	Antijen	İşlev
Kor	1-199	p21	evet	c 22	nükleokapsid
E1	192-383	gp37	evet	-	Membran glikoproteini
E2	384-746	gp61	evet	-	Membran glikoproteini
p7	747-809	p7	evet?	-	İyon kanalları
NS-2	810-1026	p23	evet?	-	Metalloproteaz Transmembran protein
NS-3	1027-1657	p68	hayır	c 33c	Serin proteaz Helikaz NTPaz
NS-4A	1658-1711	p6	hayır	c 100-3	Serin proteaz kofaktörü
NS-4B	1712-1972	P26	hayır	-	«Membranimsı ağ» oluşumu
NS-5A	1973-2420	p56	hayır	NS-5	Fosfoprotein
NS-5B	2421-3011	p65	hayır	NS-5	RNA bağımlı RNA polimeraz

2.2.1. HCV yapısal proteinleri

2.2.1.1 Kor proteini

HCV kor proteini, viral nükleokapsidi oluşturan oldukça korunmuş bir bazik proteindir. Kor proteini, HCV'nin ilk 191 amino asidinden oluşur ve hidrofobiklik temelinde üç alana bölünebilmektedir. Alan 1 (amino asitler 1 - 117), iki kısa hidrofobik bölgeye sahip temel kalıntılar içerir. Alan 2 (amino asitler 118 - 174) daha az baziktir ve daha fazla hidrofobiktir ve C-terminusu p21'in sonundadır. Alan 3 (amino asitler 175 - 191) yüksek oranda hidrofobiktir ve E1 zarf proteini için bir sinyal dizisi olarak işlev görür (20). Kor proteini viral RNA'yı alan 1 (amino asitler 1 - 74) üzerinden bağlayabilir. Kor proteini, endoplazmik retikulum (ER), lipid damlacıkları, mitokondri ve nükleus ile ilişkilendirilen sitosolik membran bağlı proteindir. Kor proteini doğrudan veya dolaylı olarak hepatokarsinogenez ve steatoz hepatit ile ilişkilidir (21, 22). HCV çekirdek proteini sayısız hücresel protein ile

etkileşime girer ve gen transkripsiyonu, lipit metabolizması, apoptoz ve çeşitli sinyal yolları gibi konak hücre fonksiyonlarını etkiler (23).

2.2.1.2. Zarf glikoproteinleri

HCV, iki "zarf proteini" E1 ve E2'den oluşur. Bu proteinler yüksek oranda glikozile edilir ve hücre girişinde önemli bir rol oynar. E1 proteini, füzojenik alt birim olarak görev yapar ve E2 proteini, HCV zarfının reseptör bağlama alt birimi olarak işlev görür. HCV'nin E1 zarf glikoproteini 4 ila 5 N-bağlı glikanı içerir ve E2 zarf glikoproteini 11 N-glikozilasyon alanına sahiptir (24). Bununla birlikte, glikozilasyon bölgelerinin sayısı genotipe göre değişmektedir. E1 ve E2'deki glikozilasyon bölgeleri yüksek oranda korunmuştur ve karmaşık, yüksek mannozlu yan zincirlerin bir karışımını içerir. HCV glikanları zarf glikoprotein katlanmasında ve HCV E1-E2 komplekslerinin oluşumunda, virüs ile reseptör etkileşimlerinde ve antijenik varyasyonda önemli bir rol oynar (25).

Zarf proteinlerinin, hücre zarı reseptörü proteinlerinin tanınmasıyla hücre girişine aracılık ettiği düşünülmektedir. Ancak, yakın zamana kadar, enfeksiyöz hücre tabanlı sistemlerin bulunmamasından dolayı bu alanda araştırma yapmak daha zor olmuştur. Virüs psödopartikülünün birleşmesi için bir retroviral vektörün kullanılmasıyla enfeksiyöz HCV psödopartikülleri (HCVpp) üreten hücrelerin gelişimi, hücre reseptörlerinin tanımlanmasına yardımcı olmuştur. Ayrıca, HCVpp, anti-E2 monoklonal antikoları ile nötralize edilebilir (26).

E2, antikoları nötrleştirici hedef oldukları için mutasyon için sabit seçim altında olan iki hiper-değişken bölge (HVR) olarak HVR1 ve HVR2 içerir. Birçok çalışma HVR1'in genetik heterojenitesini vurgulayarak bu özelliğin, virüsün immün sistemden kaçışını ve kronik enfeksiyon oluşumunu kolaylaştırmasını sağladığını göstermektedir. Bununla birlikte, deneysel olarak enfekte olmuş bir şempanzede, HVR'de değişiklik olmamasına rağmen kronik enfeksiyon bildirilmiştir (27).

2.2.1.3. P7 protein

P7, HCV E2 ve NS2 genleri arasında bulunan 63 amino asitlik bir polipeptittir. P7, ER'da yer alan membranlara yayılan bir proteindir. P7'nin bölünmesine, konakçı hücrenin ER sinyal peptidazları aracılık eder. P7'nin iki transmembran alanı (TMD'ler) bir sitoplazmik loop ile bağlanır ve ER lümenine

doğru yönlendirilir. Aynı zamanda, P7'nin karboksil-terminal TMD'sinin, ana sinyal peptidazları tarafından uygun bölünme için NS2'nin ER lümenine translokasyonunu destekleyen bir sinyal sekansı olarak işlev görebileceği gösterilmiştir. Bu proteinler, virüs enfeksiyonunda önemli bir rol oynayan iyon kanallarını oluşturur (28). HCV P7 proteini, viroporinler adı verilen bir grup proteininkine benzer özelliklere sahiptir.

2.2.2. HCV yapısal olmayan proteinleri

2.2.2.1. NS2

NS2 proteini, 21-23 kDa bir transmembran proteindir. NS2 proteini, *in vitro* ve *in vivo* olarak viral replikasyon döngüsünün tamamlanması için gereklidir (29). NS2, ER membranına yerleştirilen üç veya dört transmembran helezonu oluşturan yüksek hidrofobik N-terminal artıkları içerir. NS2'nin C-terminal kısmı sitoplazmada bulunur ve NS2/3 oto proteaz aktivitesinde NS3'ün N-terminal alanı ile birlikte önemli bir rol oynar. NS2-3'e, ekzojen çinko tarafından proteaz aktivitesini uyardığı ve EDTA gibi şelatlama ajanlarının proteaz aktivitesini inhibe edebildiği gözlemlere dayanarak metaloproteaz adı verilmiştir. Esansiyel olduğu bilinen çinko, NS3 yapısını aktif bölgede stabilize etmek için yapısal olarak görev yapabilmektedir. Bölgenin analizi, etkin NS2-3 ayrılması için amino asit gereksinimlerinin HCV suşları arasında değişiklik gösterdiğini ancak bölünmeyi engellemek için hem NS2'de hem de NS3'te kesilmenin gerekli olduğunu göstermiştir (30). NS2'nin C-terminal alanının kristal yapısı aydınlatılmış olup iki kompozit aktif bölge içeren dimerik bir proteaz olarak belirlenmiştir (31).

2.2.2.2. NS3

NS3, çok işlevli aktiviteye sahip 67 kDa proteindir. NS3 N-terminali serin proteaz aktivitesine sahiptir ve C-terminali NTPase / helikaz aktivitesine sahiptir. NS3 proteini, NS4A proteini ile birlikte ER membranı ile bağlanmıştır. HCV NS3 proteazı, NS3-4A, 4A-4B, 4B-5A ve 5A-5B arasındaki kesilmede yer alan N-ucunda 185 amino asidi ile sonlanır (32). HCV NS3'ün katalitik etkinliği, üç amino asit rezidüsü His-1083, Asp-1107 ve Ser-1165'ten kaynaklanmaktadır. His-1083 ve Ser-1165'in alanin ile değiştirilmesi, NS3'ün protein yapısını etkilemeden HCV poliproteininin NS3 kesilimini ortadan kaldırmaktadır (33). NS3 proteini ayrıca protein kinaz A'nın (PKA) katalitik alt birimi ile etkileşime giren kısa bir konsensüs

dizisi içermektedir. Bu etkileşim, PKA'nın katalitik alt ünitesinin sitoplazmada tutulmasına ve nükleusa girmesini engellemesine neden olmaktadır. PKA, hedef protein fonksiyonunu değiştiren fosfat grupları ekleyerek hücre içi proteinleri değiştirmektedir. Bu nedenle, NS3 / PKA etkileşimleri hücre içi sinyalleşmeyi deregüle edebilmektedir. NS3 serin proteazı son zamanlarda RIG-I ve TLR3 sinyalini inhibe ederek innat (doğuştan gelen, kazanılmış olmayan) hücrel konak savunmasını etkilediği ortaya çıkmıştır. NS3'ün NTPase / helikaz alanı, NS3 proteininin C-terminal 465 rezidülerinde bulunmaktadır (34).

NS3 NTPaz / helikaz aktivitesinin enzimatik aktivitesi, RNA replikasyonu için vazgeçilmezdir. Replikasyon sırasındaki varsayılan işlevler, çoğaltılmış çift sarmallı RNA ara maddelerinin çözülmesi, RNA sekonder yapılarının elimine edilmesi veya genomun nükleik asit bağlayıcı proteinlerden ayrılması olabilir. Bu enzimin moleküler mekanizmalarının anlaşılmasındaki son gelişmeler, yeni bir antiviral strateji olarak spesifik bir inhibisyonu sağlayabilir (35).

2.2.2.3. NS4A

NS4A, NS3 proteini için bir kofaktör olarak görev yapan 54 amino asitlik bir proteindir. NS4A proteini, yüksek oranda hidrofobik olan bir N-terminale sahiptir ve delesyon analizi, NS3'ün ER membranına hedeflenmesinde rol oynadığını göstermiştir (Dabral, Khera and Kaul, 2014). Son 20 amino asidin, ER membranı üzerindeki NS3 / NS4A kompleksini bağlayan bir transmembran heliksi oluşturduğu önerilmiştir. NS4A, NS5A'nın fosforilasyonu için de gereklidir ve NS5A ile doğrudan etkileşime girebilmektedir. Delesyon analizi, NS5A'nın merkezindeki bir amino asit bölgesinin (amino asitler 2135 ila 2139) NS5A'nın NS4A'ya bağlı fosforilasyonu için gerekli olduğunu göstermiştir (34, 35).

2.2.2.4. NS4B

NS4B, diğer viral proteinlerin alımı için önemli bir rol oynayan küçük bir hidrofobik 27 kDa proteindir. Topoloji çalışmaları NS4B'nin 4 transmembran alanı içerdiğini tespit etmiştir. NS4B sitoplazmik C-terminali ve N-terminali, çoğu ER lümenine bakan çift bir topolojiye sahiptir (36). NS4B, NS4A ile etkileşime girerek dolaylı olarak NS3 ve NS5A ile etkileşmektedir. NS4B proteininin, ER'yi hedef alan ve ER membranında diğer yapısal olmayan proteinlerle birlikte lokalize olan bir integral

membran proteini olduğu tespit edilmiştir (37). Elektron mikroskobu çalışmaları, NS4B'nin ER'de morfolojik değişikliklere neden olduğunu ve yapıyı membran yapı olarak adlandırılan bir yapı oluşturduğunu göstermiştir. Tüm viral proteinler, bu bölgeye lokalize olduğundan replikasyon kompleksi oluşumu için bir alan ortaya koymaktadır (38). Ek immünofloresan çalışmaları NS4B'nin bu odaklarda oligomerizasyona bağlı olarak hareket kabiliyetini azalttığını göstermiştir (39). NS4B proteini, transgenik farelerin karaciğerlerinde sitopatik veya onkojenik etkiler göstermemiştir (40).

2.2.2.5. NS5A

NS5A, viral replikasyonda, hücre sinyal yollarının modülasyonunda ve interferon cevabında önemli rol oynayan hidrofilik bir fosfoproteindir. NS5A, hiçbir transmembran alanı içermez. NS5A'nın membran birlikteliğine N-terminalinde lokalize edilmiş benzersiz bir amfipatik alfa sarmalının aracılık ettiği belirlenir. NS5A replikasyonda önemli bir rol oynar. İlk çalışmalar, NS5A'nın replikasyon komplekslerinde varlığını öneren diğer viral proteinlerle ilişkisini göstermiştir (41). Amfipatik sarmalın mutasyonu membran ilişkisini bozmakta ve replikon içeren hücrelerin oluşumunu önlemektedir. NS5A'daki mutasyonlar, viral replikasyon ve bir replikon hücre çizgisi oluşturmak için çok önemlidir. N-terminalin yapısal analizi, NS5A'nın yapısal bütünlük için önemli bir rol oynayan temel bir çinko koordinasyon motifi içerdiğini göstermiştir (42).

NS5A, IFN yanıtını modüle etmedeki potansiyel rolü nedeniyle başlangıçta büyük ilgi görmüştür. NS5A, virüsün interferon tedavisine direncini veren bir bölge içerir. İnterferon-a duyarlılık belirleyici bölge (ISDR) olarak adlandırılan bu bölgenin daha sonra doğrudan IFN-a ile uyarılmış bir gen ürünü olan PKR protein kinazı ile etkileşime girdiği bulunmuştur. PKR protein kinazı, sonunda protein sentezinin durmasıyla sonuçlanan çift sarmallı RNA'ya bağlanarak aktive edilir. ISDR'deki dizilerin, HCV 'nin IFN-a tedavisine duyarlılığını veya direnci için prediktif bir belirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (43).

2.2.2.6. NS5B

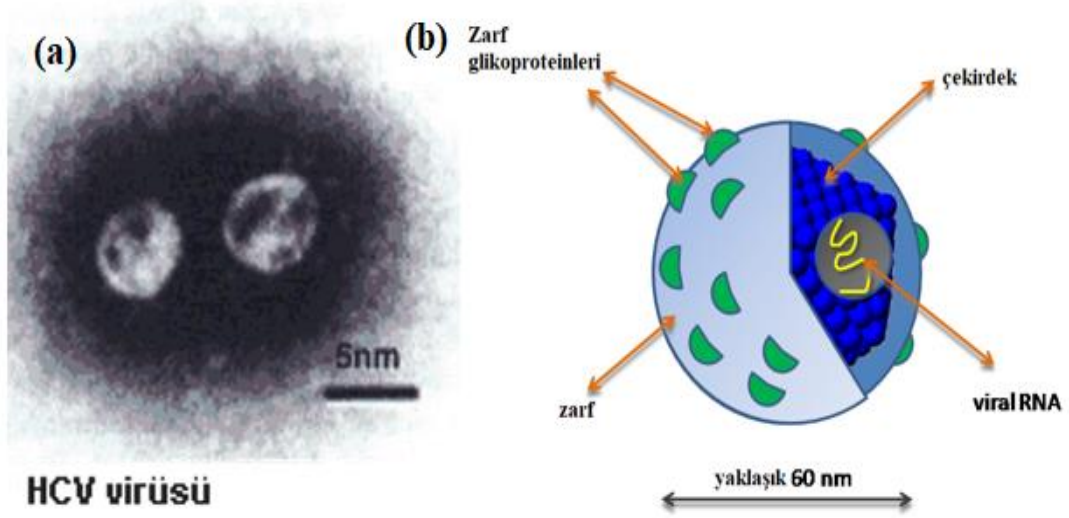
NS5B, 65 kDa boyutunda bir proteindir. NS5B, RNA bağımlı RNA polimeraz görevi görür ve yeni RNA genomunun sentezinde önemli bir rol oynar.

Dizi analizi çalışması, GDD'nin bir amino asit motifini polimeraz aktivitesi için önemli bir rol oynadığını tanımlamıştır. NS5B'nin yapısal organizasyonu tamamen çevrelenmiş bir aktif bölgeyi çevreleyen parmak, avuç içi ve başparmak alt alanları ile tipik bir 'sağ el' polimeraz şeklindedir. Replikasyon, genomu bir şablon olarak kullanarak tamamlayıcı bir eksi-iplikli RNA sentezi ve bu eksi-iplikli RNA ara maddesini takiben genomik artı iplikli RNA sentezi yoluyla ilerler. HCV replikazının merkezi bileşeni olan NS5B, antiviral müdahale için ana hedef olarak ortaya çıkmıştır (44).

2.2.3. HCV yaşam döngüsü

Genotipler arasındaki nükleotit sekans farklılığına rağmen, halihazırda tanınan tüm HCV genotipleri hepatotropik ve patojeniktir. HCV yaşam döngüsü, viryonun hepatositler üzerindeki spesifik reseptörlerine bağlanması ile başlar (45). Virüs reseptör kompleksi ile bağlandıktan sonra nükleokapsidini konak hücrenin sitoplazmasına saldırdığı önerilmektedir. Bir başka deyişle HCV endositoz ile hücre içine alınır. Virüs daha sonra genomik RNA'sını serbest bırakmak için kılıfsız hale gelir ve HCV genomik RNA, sitoplazmada hem poliprotein translasyonu hem de replikasyon için kullanılır. HCV replikasyonu, viral yapısal olmayan proteinleri ve hücre proteinleri içeren “replikasyon kompleksi” içinde gerçekleşir (46). HCV, özellikle, enfekte olmamış hastaların hepatositlerinde replike olurken çoğalmasının karaciğere özgü microRNA-122'ye (miR-122) bağlı olduğu bulunmuştur (47).

In vitro ve *in vivo* olarak üretilen virüs partiküllerinin, elektron mikroskobu ile gözlemlendiği üzere 40-80 nm arasında olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. HCV virüsünün yapısı (a: elektron mikroskobu görüntüsü, b: model gösterimi) (18)

Yirmi yıldan uzun süren çalışmalar, viral RNA ve proteinlerin özellikleri de dahil olmak üzere, HCV yaşam döngüsünün daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Bu çaba, hassas tanılama araçlarının ve HCV enfeksiyonlarına karşı etkili antiviral tedavilerin geliştirilmesini kolaylaştırmaktadır.

2.3. Hepatit C Enfeksiyonu Tipleri

2.3.1. Akut hepatit C

Akut hepatit C virüsü enfeksiyonu % 70 asemptomatik seyrettiğinden dolayı nadir görülen bir klinik durumdur. Genel olarak, akut HCV'li tüm hastaların yaklaşık % 25'i sarılık gösterir ve % 10 ila 20'si gastrointestinal semptomlar (bulantı, kusma veya karın ağrısı) geliştirir (48).

Akut HCV enfeksiyonu ile ilgili genel veri eksikliğinin nedenleri çok faktörlüdür. Bunlar; (1) asemptomatik veya tanınmayan erken enfeksiyonların göreceli olarak yüksek yüzdesi, (2) genel popülasyonda enfeksiyon için bir rezervuar oluşturan kronik taşıyıcılara dair büyük ölçekli tanımlamaların bulunmaması (3) kan transfüzyonu gibi, kontrollü klinik ortamlarda meydana gelen akut enfeksiyon sayısındaki azalma.

Teşhis için öncelikle olası bulaş risk faktörlerinin ortaya konulması önemlidir. Yüksek Alanin Aminotransferaz (ALT) düzeyi ile birlikte erken dönemde pozitif

HCV RNA seviyeleri ve ilerleyen zamanda ortaya çıkan pozitif bir HCV antikor testi ile tanı konulmaktadır.

Akut hepatit C enfeksiyonu olan hastalar için uygun tedavi rejimi 24 hafta boyunca peg-interferon (Peg-IFN) tedavisidir. İlk üç ayda HCV enfeksiyonunu kendiliğinden gerileyen ve yok olan birçok kişi vardır, bu nedenle hastaları gereksiz ilaçlara ve yan etkilere maruz bırakmadan önce bir süre beklemek daha iyidir (49). Bazı çalışmalar, hastalığın başlamasından 8 ila 12 haftalık bir süreçte tedaviyi geciktirme stratejisini kullanmış ve etkileyici kalıcı viral yanıt (KVY) oranları korunmuştur (50).

2.3.2. Kronik hepatit C

Kronik hepatit C (KHC), dünyadaki kronik karaciğer hastalığının ana nedenlerinden biri olmaya devam etmekte ve minimal değişikliklerden, ciddi fibrozis, siroz ve hepatoselüler karsinom gelişimi gibi komplikasyonlara kadar değişen bir klinik spektruma sahiptir (51). Karaciğer fibrozis evresinin doğru belirlenmesinin prognostik, terapötik ve izleme amaçlı önemli etkileri vardır (52). Dünya üzerinde 130-170 milyon insanın enfekte olduğu, dünya nüfusunun % 2 ila 3'ünü etkilediği tahmin edildiğinden küresel öneme sahip bir hastalıktır.

Anti-HCV pozitif olan hastalar, serumdaki RNA miktarını ölçen ve devam eden HCV enfeksiyonunu gösteren serum HCV RNA için test edilmelidir. Genellikle, HCV RNA serum veya plazmadan ekstrakte edilir ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifiye edilir (53). Pozitif HCV RNA'sı olan bireyler, karaciğer biyopsisi veya invaziv olmayan yöntemlerle fibrozisin derecesini değerlendirmek için hastalık evrelemesine tabi tutulmalıdır. Ek olarak, KHC'li hastalarda HCV genotipi aydınlatılmalıdır. Birden 6 'ya kadar olan genotipler, kronik viral enfeksiyonda en yaygın olanıdır, ayrıca alt tiplere ve suşlara ayrılır (54, 55).

2.4. Hepatit C Epidemiyolojisi

Hepatit C, dünya nüfusunun yaklaşık % 3'ünü enfekte eder. Tüm dünyada 130-150 milyon kişiye Hepatit C virüsü bulaşmış ve her yıl 350.000 ila 500.000 kişi Hepatit C'ye bağlı karaciğer hastalıkları nedeniyle ölmüştür. Yapılan vizyon çalışmaları Hepatit C'nin 2020'de en yüksek görülme oranına sahip olacağını öngörmektedir. (56). Son çalışmalar 1990'dan 2005'e kadar seropozitif anti-HCV

antikorları olan kişilerin sıklığının % 2,3'den % 2,8'e yükseldiğini bildirmiştir (1). En yüksek HCV prevalansı (>% 3,5) Doğu Asya, Kuzey Afrika ve Orta Doğu bölgelerinde bildirilmiştir (1). Hepatit C virüsü için mevcut epidemiyolojik verilerin çoğu, popülasyon temelli çalışmalardan elde edilmiştir (57). Amerika Birleşik Devletleri (% 1,8), Almanya (% 0,6), Kanada (% 0,8), Fransa (% 1,1) ve Avustralya (% 1,1) gibi gelişmiş ülkeler Doğu Asya ve Kuzey Afrika'ya göre daha düşük HCV prevalansına sahiptir. Türkiye'de Hepatit C prevalansı %1-1,9 arasında bildirilmiştir. Belirtilen çalışmalara göre, HCV enfeksiyonu tüm dünyada coğrafi varyans ve geniş sıklığa sahiptir. Dünyada HCV enfeksiyonu prevalansının epidemiyolojik değerlendirmesi hastalığın önlenmesi ve hastaların tedavisi için gerçekten etkili olmuştur. Bu değerlendirme ayrıca gelecekteki HCV bulaşının olası kontrolünde etkili olacaktır.

2.5. Hepatit C Enfeksiyonu Tanısı

HCV enfeksiyonu tanısı direkt ve indirekt yöntemlerle yapılmaktadır. İndirekt yöntemler Hepatit virüslerine karşı salınan immünoglobülinlerin ölçülmesini içermektedir. Mevcut enfeksiyon için Anti-HCV IgM ve daha eski enfeksiyon için Anti-HCV IgG gibi antikorlar bu ölçümlere örnektir. Direkt yöntemde, virüs antijenleri saflaştırılıp nükleoid asit ile tespit edilmektedir. Genel olarak, HCV enfeksiyonunu doğrulamak için tarama ve rekombinant immünoblot testleri için hızlı immünolojik testler kullanılmaktadır. İlk olarak HCV enfeksiyonu, anti-HCV antikorlarının tespiti ile teşhis edilmiştir. HCV-RNA testi ise Hepatit C hastalarında tanı ve virüs replikasyonu için en değerli testtir. En az 50 uluslararası HCV birimi (IU/ml) bulunan hastalarda pozitifdir ve HCV-RNA, HCV'ye maruz kaldıktan bir ila iki hafta sonra enfeksiyonu teşhis edebilir. Hastalarda HCV enfeksiyonunun tanısı ve takibinde laboratuvar değerlendirmeleri yapılmaktadır. HCV antikorlarının saptanmasında serolojik testler, HCV-RNA'nın saptanmasında ve değerlendirilmesinde moleküler testler kullanılmaktadır (58). Sadece yüksek riskli hastaların taranması önerilmektedir. Amerikan Karaciğer Hastalığı Araştırmaları Birliği (AASLD), kan ve kan ürünleri alan kişiler, intravenöz uyuşturucu bağımlıları, diyaliz hastaları, anormal karaciğer enzimleri olan talasemik ve hemofilik hastalar, HCV enfekte annelerin bebekleri gibi belirli gruplar için HCV taramasını önermektedir (59). Serolojik deneyler, üç kuşak anti-HCV immünoglobülinine

yönelik enzim immünoassay (EIA) olarak biliniyordu. Buna göre ilk kuşak % 80 duyarlılığa, ikinci kuşak % 95 duyarlılığa sahip olup HCV girişinden 30 ila 90 gün sonra tespit imkanı sağlamaktadır. Üçüncü nesil testler, ikinci nesil antijenlere eklenen ve % 97'ye yakın hassasiyete sahip olan yapılandırılmamış bir proteini (NS5) ortaya çıkarmıştır (Richter, 2002). ALT ve aspartat aminotransferaz (AST), karaciğer durumunu değerlendirmek için kullanılır. HCV enfeksiyonu şüphesi olan hastalar, EIA antikoru olan anti HCV ve hassas bir test olan HCV-RNA ile değerlendirmelidir (60).

Anti-HCV antikoru olmayan hastalarda HCV-RNA varlığı, akut Hepatit C'yi işaret etmektedir (60). Kronik Hepatit C'nin klinik ve biyolojik semptomları olan hastalarda, HCV enfeksiyonunun teşhisi için hem anti-HCV antikoru hem de HCV-RNA gerekmektedir.

2.6. Hepatit C Tedavisi

Kronik hepatit C için tedavinin amacı, komplikasyon gelişimini sınırlandırması veya önlemesi gereken virüsün yok edilmesidir. Kalıcı viral yanıt (KVY) olarak tanımlanan başarılı tedavinin tanımı, tedavinin kesilmesinden 12 hafta sonra serumda HCV RNA negatifliğinin gösterilmesidir (60). Bu son nokta, virüsün uzun süreli yok edilmesinin öngörüsüdür. Peginterferon ve ribavirin kombinasyonu, virüsün suşundan bağımsız olarak, kronik hepatit C'li hastalar için son 10 yıla kadar bakım standardı olmuştur Bu rejim, HCV genotip 2 veya 3 enfeksiyonu olan hastalarda %70-80'lik sürekli virolojik yanıt oranları ve diğer genotiplerden herhangi biri olan hastalarda ise %45 ila %70 KVY oranlarıyla sonuçlanmakta idi. Ancak son 10 yıl içerisinde Hepatit C tedavisinde çığır açan “Direkt Etkili Antiviral” ilaçlar hastalardaki KVY oranlarını daha kısa süreli ve yan etkisi az tedavi ile % 95 ve üzerine çıkartmıştır. Bu ilaçlar Hepatit C virüs replikasyonu sırasındaki protein sentezini çeşitli seviyelerde inhibe ederek replikasyonu durdurmaktadır. NS3/4A, NS 5A ve NS 5B bölgelerine etkili antiviral ilaç kombinasyonları şeklinde uygulanan bu ilaç rejimleri içerisinde şu anda ülkemizde bulunan kombinasyonlar:

- Sofosbuvir/ ledipasvir
- Grazoprevir/elbasvir
- Paritaprevir/ombitasvir/ritonavir ve Dasabuvir'dir.

Bu tedavi rejimlerinden herhangi bir tanesi hastanın Genotipi, Siroz durumu, daha önce tedavi alıp almadığı ve biyopsi sonucuna göre belli süreler (3-6 ay) hastaya verilmekte ve tedavi bittikten 3 ay sonra KVV durumu kontrol edilmektedir.

Kronik HCV 'li hastalarda fibrozis evresi invaziv olmayan biyokimyasal algoritmalar (APRI, FIB4 skoru) ya da elastografik teknikler ile belirlenmektedir. Elastografinin hepatik sirozun diyagnozundaki duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %83-87 ve %89-95 'dir. HCV genotip 1 olan ve daha önce tedavi almamış olan hastalarda, hastanın kompanse hepatik sirozunun olup olmadığına bakılmaksızın aşağıdaki antiviral tedavi rejimleri uygulanabilmektedir.

2.7. Hepatoselüler Karsinom (HCC)

Hepatoselüler Karsinom (HCC) dünyada en yaygın görülen beşinci kanser türüdür. Her yıl 600.000'den fazla yeni vaka teşhis edilmektedir. Endüstriyel ülkelerde, HCV enfeksiyonu ve alkol bağımlılığı tipik olarak siroz ve HCC 'ye yol açar. Son zamanlarda, endüstriyel ülkeler artan HCC insidansı oranı nedeniyle HCC'ye daha fazla farkındalık sağlayacak girişimlerde bulunmaktadır. Asya ve Afrika ülkelerinde bu sorun, sağlık hizmetlerinin yetersizliğinden kaynaklanmaktadır. HCV ile ilişkili HCC 'nin hemen hepsi karsinojen bir defektir ve deneysel modeller, kor protein ve NS3'ün onkojenik bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. HCC vakalarının % 85'inden fazlası gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir. ABD'de HCC insidansı üç kat artmıştır. Japonya'da HCV, popülasyonun % 70'inden fazlasında HCC'nin ana nedenidir. Fransa ve Belçika gibi bazı ülkelerde, alkollü içecekler HCC'de önemli bir rol oynamaktadır. Bilinçsiz alkol kullanımı aynı zamanda sirozda (% 60'dan fazla) ve HCC vakalarının % 25 ila % 35'inde büyük bir rol oynar. Asya ülkeleri arasında, özellikle Doğu bölgelerinde HCC insidansı, sanayi ülkelerinden daha yüksektir. Bu yüksek oranın HBV'nin aflatoxin ile maruz kalmasından kaynaklandığı anlaşılmaktadır. HCC hastalar için finansal yükte bir artışa neden olmaktadır. HCV ile ilişkili HCC'li hastaların hemen hemen hepsinin tanı zamanında siroz mevcuttur.

Son yıllarda HCC insidansı iki katına çıkmıştır. HCC ile ilişkili mortalite oranı da artmış olup Amerika'da beş yıllık HCC hastalarının sağkalım oranı% 13'ten daha az olmuştur. Hızlı tanı, hastaların aldığı tedavinin etki ve yararı üzerinde

yardımcı olabilmektedir. Güncel radyolojik yöntemler kesitsel görüntüleme ve biyopsi olmuştur. Biyopsi, görüntülemenin tanı kriterlerine yardımcı olamadığı durumlarda kullanılır.

2.8. Siroz

Siroz, karaciğerin normal lobüler organizasyonunun değiştirilmesine yol açan kronik bir inflamasyona ikincil olan, karaciğerin fibrozu ve nodül oluşumu ile karakterizedir. Viral enfeksiyonlar, toksinler, kalıtsal durumlar veya otoimmün süreçler dahil olmak üzere çeşitli etkenler karaciğere zarar verebilmektedir. Her inflamasyon ile karaciğer, başlangıçta işlevini kaybetmeden skar dokusu (fibroz) oluşturmaktadır. Uzun süredir devam eden bir inflamasyondan sonra, karaciğer dokusunun çoğunda oluşan fibrozis neticesinde işlev kaybına ve siroz gelişimine yol açmaktadır. Kronik karaciğer hastalıkları genellikle siroza ilerlemektedir. Günümüzde sirozun en yaygın nedenleri HCV, alkolik karaciğer hastalığı ve Non-Alkolik steatohepatittir (63).

Kronik HCV 'li hastalarda HCV 'nin tanısı ve taranması için güçlü belirteçlerin belirlenmesi ve HCV'li HCC'li hastalarda tedavi için hedef moleküllerin tanısı önemlidir. Karaciğerin kronik hastalarda enflamasyonu sirozda ilerleyebilir. Siroz iki şekilde görülebilmektedir: kompanse (karaciğer fonksiyonu bozulmaz) ve dekompanse (karaciğer fonksiyonu bozulur).

Sirozu olan hastalarda assit, hemoraji ve hepatik ensefalopati gelişerek dekompanse siroza dönüşebilir ve bu da karaciğer fonksiyonlarında bozulmaya neden olabilir. Dekompanse sirozu olan hastalar tipik olarak karaciğer nakli gerektirir. Bazı Doğu Asya ülkelerinde Hepatit C prevalansına göre, 32.3 milyondan fazla insan HCV'den muzdariptir ve bu hastaların üçte birinde ana morbiditeler ve son olarak karaciğer transplantasyonuna neden olan siroz ve komplikasyonlar yaşamıştır. HCV ile ilişkili dekompanse sirozlu hastaların% 50'sinden fazlası beş yıl içerisinde karaciğer nakli olmadan ölmektedir. Bu hastalar, karaciğer transplantasyonundan sonra, hastalığın ilerlemesinin önlenmesi, karaciğer fonksiyonunun iyileştirilmesi ve hepatit nüksünün önlenmesi için uygun tedaviye ihtiyaç duymaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

Tedavi alan hepatit C hastalarında tedavi başlangıcı ve sonunda değerlendirilen 5 invaziv olmayan yöntemin; siroz, dekompanasyon, HCC veya ölüm gibi hastalık ilerlemesini göstermedeki prediktif değerliliklerini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilen bu çalışma, retrospektif klinik bir araştırmadır.

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Bu araştırma 2019- 2020 yılları arasında Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Hepatoloji polikliniğinde gerçekleştirilmiştir.

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Bu araştırmanın evrenini Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Hepatoloji polikliniğinde HCV tanısı ve tedavisi almış olan hastalar oluşturmaktadır. Bu evren dahilinde araştırmaya dahil edilme kriterlerini karşılayan ve invaziv olmayan parametrelerine erişilebilen 80 hasta örnekleme oluşturmuştur.

3.4. Araştırmaya Dahil Edilme ve Edilmeme Kriterleri

Araştırmaya dahil edilen hasta grubu Anti-HCV pozitif olup bu nedenle tedavi almış hastaları içermektedir. Araştırmaya dahil edilen bireyler 18 yaş üzeridir. Retrospektif bir çalışma olması nedeniyle hastaların sözlü, yazılı ve bilişsel becerileri kriterler dahiline alınmamıştır. İlgili karaciğer rahatsızlığına dair tedavi öncesi ve sonrası verilerine ulaşılabilir vakalar çalışmaya dahil edilmiştir. Retrospektif olarak sağkalım bilgilerine ulaşılan hastalar araştırmaya dahil edilmiştir.

3.4. Araştırmanın Değişkenleri

Bağımlı değişkenler: Tanı anında ve tedavi sonrasında HCV-RNA değeri, tedavi öncesi karaciğer yağlanması olup olmaması, tedavi öncesi ve sonrası platelet, albümin, bilirubin değerleri, FI skoru, AST-Platelet indeksi (APRI) skoru, CDS skoru (Cirrhosis Discriminant Score-Bonacini Score), FIB-4 indeksi ve Fibrozis-Siroz indeksi (FCI) skoru

Bağımsız değişkenler: Yaş, cinsiyet, tanı grubu, sağkalım, takip süresi

3.5. Uygulanan Yaklaşım ve Yöntemler

Araştırma kapsamında ayrı tanı gruptaki hastaların arşiv dosyaları incelenerek tedavi öncesi ve sonrasındaki non-invaziv skorlama testleri ile ilişkili klinik verileri kaydedilmiştir. Buna göre değerlendirilen testler şunlardır:

- FI skoru:

FI score (fibrosis indeks) = $8 - 0.01 \times \text{platelet sayısı (} 10^9 \text{ /L)} - \text{albumin (g/dl)}$

<3,3 F0-1, F2, F3

≥3,3 F4

- APRI skoru (AST-Platelet index): [AST/AST'nin üst referans limit değeri]/Platelet sayısı [10^9 /L)]×100 ifade etmektedir. Buna göre;

APRI skoru <0,5: Az olasılıkta fibrozis ya da siroz

APRI skoru >0,5 - <1: Fibrozis belirsiz, az olasılıkta siroz

APRI skoru >1 - <1,5: Fibrozis yüksek olasılık, siroz belirsiz

APRI skoru >1,5 - <2: Fibrozis yüksek olasılık ama siroz belirsiz

APRI skoru >2: Belirgin ve yüksek olasılıkta fibrozis ve siroz

- CDS skoru (Cirrhosis Discriminant Score-Bonacini Score): Bu değerlendirme Platelet Skoru + ALT/ AST oranı skoru + INR skorunu içermektedir. Buna göre;

CDS skoru: 0-7, daha az olasılıkta siroz

CDS skoru :8- 11, yüksek olasılıkta siroz ifade etmektedir.

CDS skoru 7 'den büyük olduğunda %90 spesifite ile sirozu öngörebilmektedir.

(Otomatik hesaplaması; https://www.merckmanuals.com/medical-calculators/CirrhosisProbability_MC.htm internet adresinden yapılabilmektedir.)

- FIB-4 indeksi: :Yaş (yıl) X AST (U/L) / [Platelet sayısı (10^9 /L)×(ALT)^{1/2} (U/L)] olarak formüle edilmiştir.

FIB-4 < 1,45: Az olasılıkta siroz

FIB-4 >1,45 ve <3,25: Belirsiz

FIB-4 > 3,25: Yüksek olasılıkta sirozu göstermektedir.

Tanısal eşik değerleri %94,7 oranında negatif prediktif değer ve %73,4 duyarlılık ile %82,1 pozitif prediktif değer ve %98,2 spesifite teşkil ettiği ifade edilmektedir (6).

- FCI (Fibrosis-cirrhosis index): [(ALP × Bilirubin) / (Albumin × Platelet sayısı)] olarak ifade edilmektedir.

<0,12 eşik değeri fibrozisi dışlamak için %81,7 düzeyinde negatif prediktif değere sahiptir.

>0,19 eşik değeri ise ileri düzeyde fibrozis tanısı için %82,5 düzeyinde pozitif prediktif değere sahiptir (64).

Bu invaziv olmayan skorlamalar ile duyarlılık ve özgüllük yüzdeleri bulunarak testin değeri bulunmuştur. %50 duyarlılık ve %50 özgüllük içeren test yararlıdır, eğer duyarlılık ve özgüllük yüzdeleri toplamı > 170 ise yararlı bir test olarak nitelendirilebilir. Toplamda >190 olan testler tanısal gücü oldukça yüksek testler olarak önerilmektedir.

3.6. Verilerin Değerlendirilmesi

Analiz için SPSS programı 24.0 versiyonu kullanılmıştır. Hasta verilerinin frekans ve dağılımları bulunduktan sonra tedavi öncesi ve sonrasında gruplar arasında değerlendirilen 5 invaziv olmayan skorların ortalamaları karşılaştırılmıştır. Bunun için parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis seçilmiştir. Fibrozis varlığına göre iki grup arasındaki karşılaştırma parametrik bağımsız değişkenler t testi ile ele alınmıştır. Aynı skorlamaların tedavi öncesi sonrası değişimleri eşleşmiş örnekler t testi ile ele alınmıştır. p değeri 0,05 'den küçük olanlar istatistiksel anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Bireysel Özellikleri

Araştırmaya dahil edilen 80 hastanın 42 'si (%52,5) kadın, 38 'i (%47,5) erkektir. 80 hastanın yaşları 32 ile 82 arasında değişmekte olup ortalama $63,44 \pm 10,00$ 'dır. Hastalık tanısı ile tedavi sonrası takibe kadar geçen süre; bir başka deyişle hastalık yaşı ise 0 ile 20 yıl arasında ortalama $4,23 \pm 5,52$ yıldır. Hastaların 10 'u diyabetes mellitus (%5) tanısı almıştır. Alkol kullanan yalnızca bir hasta (%1,3) bulunmuştur (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Hastaların bireysel özellikleri

	Min- Maks	Ortalama\pmSD
Yaş	32-82	$63,44 \pm 10,00$
Hastalık yaşı	0-20 (yıl)	$4,23 \pm 5,52$
	N	%
Cinsiyet		
Kadın	42	52,5
Erkek	38	47,5
DM		
Var	10	12,5
Yok	70	87,5
Alkol		
Var	1	1,3
Yok	79	98,8

4.2. Hastaların Tanı Anında HCV Bulguları

Hastaların HCV tanısı aldıkları yaş 22 ile 76 arasında değişmekte olup, ortalama $53,49 \pm 11,47$ 'dir. Tanı anındaki HCV RNA değerleri de 0 – 80576280 IU/ml aralığında ve ortalama $3034183,8 \pm 9556194,3$ IU/ml 'dir. Tedavi almadan önceki tanımlara göre HCV RNA değerleri incelendiğinde, 75 siroz tanılı hastada 0 ile 80576280 IU/ml arasında ve ortalama $3059708,5 \pm 9849090,5$ IU/ml olarak

bulunmuştur. Dekompansasyon olan ve tedavi almamış 4 hastada ise 667907 ile 7470000 IU/ml ve ortalama $3103882,3 \pm 3221274,7$ IU/ml dir. Tedavi almamış bir HCC hastasında ise 841040,0 IU/ml'dir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Hastaların tanı anında HCV bulguları

	Tüm hastalar (n:80)	Siroz (n:75)	Dekompansasyon (n:4)	HCC (n:1)
HCV tanı yaşı	53,48 $\pm 11,47$	52,88 $\pm 11,40$	63,25 $\pm 10,37$	60,00
HCV RNA değeri (IU/ml)	3034183,8 $\pm 9556194,3$	3059708,5 $\pm 9849090,5$	3103882,3 $\pm 3221274,7$	841040,0

4.3. Tedavi Öncesi İnvaziv Olmayan Bulguların Dağılımları

Hastaların tedavi öncesi tanı gruplarına bakıldığında 75 hasta siroz (%93,8), 4 hasta Dekompansasyon (%5,0), 1 hasta HCC (%1,2) tanısı almıştır. Hastaların 31 'inde (%38,8) fibrozis bulgusu bulunmamış ya da minimal fibrozis tespit edilmiştir, 30 hastada fibrozis saptanmıştır (%37,5). 19 hastada ise ileri düzeyde fibrozis bulgusu vardır (%23,8). Tedavi öncesinde hastaların 18 'inde (%22,5) karaciğer yağlanması vardır. Trombosit düzeyi ise 50700 ile 364000 arasında ortalama $199148,75 \pm 80536,8$ 'dir. Tedavi öncesi APRI skoru 0,09 ile 4,24 arasında ortalama $0,96 \pm 0,87$ 'dir. Buna göre 31 hasta az olasılıkla fibrozis ya da siroz (%38,8), 25 hasta belirsiz fibrosiz, az olasılıkla siroz (%31,3), 9 hasta yüksek olasılıkla fibrozis, belirsiz siroz (%11,3), 3 hasta yüksek olasılık fibrosiz ama siroz belirsiz (%3,8) ve 12 hasta belirgin ve yüksek olasılıkla fibrozis ve siroz (%15,0) kategorisindedir. CDS skoru 1 ile 9 arasında değişmekte olup ortalama $4,89 \pm 1,74$ 'dür. Buna göre 75 hasta az olasılıkla siroz (%93,8), 5 hasta yüksek olasılıkla siroz (%6,3) 'dur. Tedavi öncesi FIB4 skoru 0,36 ile 14,48 arasında ortalama $2,84 \pm 2,42$ değerindedir. Buna göre 29 hasta az olasılıkla siroz (%36,3), 25 hasta belirsiz (%31,3), 26 hasta yüksek olasılıkla siroz (%32,5) kategorisindedir. Son olarak FCI indeksi 0,01 ile 2,70 arasında ve ortalama $0,22 \pm 0,37$ 'dir (Tablo 4.3.).

Tablo 4.3. Tedavi öncesi invaziv olmayan bulgular

	Minimum- Maksimum	Ortalama±SD
APRI	0,09-4,24	0,96±0,87
CDS	1-9	4,89±1,74
FIB4	0,36-14,48	2,84±2,42
FCI	0,01-2,70	0,22±0,37

4.4. Tedaviye İlişkin Bulgular

Hastaların 71 'i (%88,8) tedavi almıştır. Buna göre 28 hasta (%35) pegile (peg) IFN ve ribavirin, 22 hasta (%27,5) sofosbuvir - ledipastir (HARVONİ), 9 hasta (%11,3) omitasvir- paritaprevir – ritonavir (VİEKİRAX) + dasabuvir (EXVİERA) tedavisi almıştır. Bunların dışında peg IFN, peg IFN ve boseprevir, viekirax + exviera+ ribavirin, peg IFN + ribavirin + boseprevir tedavisi alan ya da önceden almış olan hastalar da bulunmaktadır. Tedavi alan hastaların 73 'ü tedaviye yanıt verirken (%91,2), 7 'si (%8,8) anti-viral tedaviye yanıt vermemiştir. Bir başka deyişle 7 hastada (%8,8) tedavi intoleransı vardır (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Tedaviye ilişkin bulgular

	N	%
Tedavi		
Alan	71	88,8
Almayan	9	11,2
Tedavi intoleransı		
Var	7	8,8
Yok	93	91,2
Antiviral tedavi yanıtı		
Var	73	91,2
Yok	7	8,8

4.5. Tedavi Sonrası İnvaziv Olmayan Bulgular

Tedavi sonrasında 69 hasta siroz (%86,3), 4 hasta hepatik Dekompansasyon (%5,0), 2 hasta HCC (%2,5) tanınsındadır. Beş hasta ise ex olmuştur (%6,3). Tedavi sonrası FI skoru 0,11 ile 5,67 arasında ortalama $2,84 \pm 1,22$ değerindedir. Buna göre 25 hastada fibrozis tanısı yok ya da minimaldir (%31,3). Tedavi sonrası siroz olan hastalarda FI skoru $2,62 \pm 1,17$; Dekompansasyon olan hastalarda $4,77 \pm 0,65$; $3,74 \pm 0,02$ ve ex olan hastalarda $3,70 \pm 0,66$ 'dır. Yirmi altı hasta fibrozistir (%32,5) ve 29 hastada ileri düzeyde fibrozis söz konusudur (%36,3). APRI skoru 0,14 ile 3,16 arasında değişmekte, ortalama $0,68 \pm 0,60$ değerindedir. Buna göre 45 hasta az olasılıkta fibrozis ya da siroz (%56,4), 17 hasta fibrozis belirsiz ve az olasılıkta siroz (%21,3), 13 hasta yüksek olasılık fibrozis ve siroz belirsiz (%16,3), 5 hasta da belirgin ve yüksek olasılıkta fibrozis ve siroz kategorisindedir (%6,3). CDS skoru 2,00 ile 10,00 aralığında ve ortalama $5,65 \pm 1,51$ bulunmuştur. CDS skoruna göre, 71 hasta daha az olasılıkla siroz (%88,8), 9 hasta ise yüksek olasılıkla siroz (%11,2) kategorisindedir. Tedavi sonrası FIB4 değeri, 0,55 ile 15,38 aralığında değişmekte ve ortalama $3,05 \pm 2,58$ 'dir. Bu değere göre 23 hasta az olasılıkta siroz (%28,7), 33 hasta belirsiz (%41,3) ve 24 hasta yüksek olasılıkta siroz (%30,0) kategorisindedir. FCI indeksi 0 ile 4,0 arasında ortalama $0,254 \pm 0,51$ 'dir. Tedavi sonrasında 37 hastada fibrozis bulunurken (%46,3), 43 hastada ise yoktur (%53,7).

4.6. Tedavi Öncesi İnvaziv Olmayan Bulguların Tanı ile İlişkisi

Tedavi öncesi tanı grubu ile invaziv olmayan skorlamalar normal dağılım göstermediği için parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırma yapılmıştır. Buna göre APRI skoru gruplar arasında fark göstermezken ($p=0,094$), FI değeri ($p=0,009$), FİB4 değeri ($p=0,017$), FCI değeri ($p=0,030$) ve CDS değeri ($p=0,013$) istatistiksel anlamlı fark göstermiştir. Buna göre CDS, FIB4, FCI ve FI değerleri hepatik dekompanseasyon görülen hastalarda en yüksektir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Tedavi öncesi invaziv olmayan bulguların tanıya göre farkı

	Siroz (n=75)	Dekompanstasyon (n=4)	HCC (n=1)	p
FI	2,43±1,07	4,45±0,67	1,94	0,009*
APRI	0,92±0,81	1,87±1,51	0,37	0,094
CDS	4,80±1,72	7,00±0,00	3,00	0,013*
FIB4	2,61±2,03	7,50±4,68	1,28	0,017*
FCI	0,18±0,24	0,97±1,18	0,04	0,030*

*p<0,05

Tedavi öncesi FIB4 testinin siroz değerlendirilmesi için duyarlılığı %32 iken özgüllüğü %100 bulunmuştur. Buna göre özgüllük ve duyarlılık toplamı 132 olduğundan test yararlı bulunmamıştır.

Tedavi öncesi CDS testinin siroz için duyarlılığı oldukça düşük bulunmuştur (%6,25) ancak özgüllüğü %100'dür. Test 106,25 toplam özgüllük ve duyarlılık ile yararlı değildir.

4.7. Tedavi Öncesi İnvaziv Olmayan Bulguların Fibrozis Tanısı ile İlişkisi

Tedavi öncesi fibrozis olup olmaması ile invaziv olmayan değerlerin arasındaki fark bağımsız değişkenler t testi ile değerlendirildiğinde, gruplar arasında FI, APRI, CDS, FIB4 ve FCI skorları açısından istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0,05). (Tablo 4.6.)

Tablo 4.6. Tedavi öncesi fibrozis varlığı ile invaziv olmayan bulguların değerlendirilmesi

	Fibrozis var (n=37)	Fibrozis yok (n=43)	F	p
FI	2,36±0,89	2,67±1,30	8,210	0,223
APRI	1,05±0,94	0,88±0,79	2,189	0,388
CDS	4,78±1,65	4,98±,83	0,406	0,625
FIB4	2,73±2,55	2,34±2,34	0,086	0,705
FCI	0,19±0,44	0,23±0,30	0,117	0,614

Dört gözlü tabloya göre tedavi öncesinde fibrozis için APRI testinin duyarlılığı %94,87, özgüllüğü %87,76 bulunmuştur. Özgüllük ve duyarlılık değerlerinin toplamı 182,63 değeri ile test yararlı (>170) bulunmuştur.

4.8. Tedavi Sonrası İnvaziv Olmayan Bulguların Tanı ile İlişkisi

Tedavi sonrası tanı grubu ile invaziv olmayan skorlamalar normal dağılım göstermediği için parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırma yapılmıştır. Buna göre FI değeri (p=0,002), APRI skoru (p=0,026), CDS değeri (p=0,048), FİB4 değeri (p=0,034) ve FCI değeri (p=0,008) istatistiksel anlamlı fark göstermiştir. Buna göre tedavi sonrasında da APRI, CDS, FİB4, FCI ve FI değerleri hepatic dekompanasyon görülen hastalarda en yüksektir.

Tablo 4.7. Tedavi sonrası invaziv olmayan bulguların tanı ile ilişkisi

	Siroz (n=69)	Dekompanasyon (n=4)	HCC (n=2)	Ölüm (n=5)	p
FI	2,64±1,16	4,77±0,65	3,74±0,02	3,70±0,66	0,002*
APRI	0,61±0,54	1,38±0,58	0,84±0,75	1,12±0,79	0,026*
CDS	5,48±1,39	7,50±0,58	6,00±2,83	6,40±2,30	0,048*
FİB4	2,70±2,11	7,58±5,39	4,57±4,41	3,70±2,19	0,034*
FCI	0,164±0,21	1,45±1,80	0,50±,57	0,45±0,45	0,008*

*p<0,05

4.9. Tedavi Sonrası İnvaziv Olmayan Bulguların Fibrozis Tanısı ile İlişkisi

Tedavi sonrası fibrozis olup olmaması ile invaziv olmayan değerlerin arasındaki fark bağımsız değişkenler t testi ile değerlendirildiğinde, gruplar arasında FI, APRI, CDS, FİB4 ve FCI skorları açısından istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0,05). (Tablo 4.8.)

Tablo 4.8. Tedavi sonrası fibrozis varlığı ile invaziv olmayan bulguların değerlendirilmesi

	Fibrozis var (n=37)	Fibrozis yok (n=43)	F	p
FI	2,66±1,23	3,00±1,20	0,002	0,214
APRI	0,67±0,55	0,70±0,62	0,084	0,796
CDS	5,27±1,40	5,97±1,54	0,197	0,036*
FIB4	2,61±2,53	3,43±2,59	1,861	0,161
FCI	0,26±0,68	0,25±0,30	0,400	0,919

*p<0,05

4.10. Tedavi Öncesi ve Sonrasında İnvaziv Olmayan Bulgulardaki Değişimler

Tedavi öncesi ve sonrası invaziv olmayan bulgulardaki değişimler eşleşmiş örnekler t testine göre karşılaştırıldığında FI (p=0,005), APRI (p=0,001) ve CDS (p=0,0001) değerlerinde anlamlı fark görülmüştür. Buna göre tedavi sonrasında FI ve CDS değerleri yükselirken, APRI değerinde azalma görülmüştür (Tablo 4.9.)

Tablo 4.9. Tedavi öncesi ve sonrasında invaziv olmayan bulgulardaki değişimler

	Tedavi öncesi	Tedavi Sonrası	p
FI	2,52±1,14	2,84±1,22	0,005*
APRI	0,96±0,86	0,68±0,59	0,001*
CDS	4,89±1,74	5,65±1,51	0,0001*
FIB4	2,84±2,42	3,05±2,58	0,233
FCI	0,22±0,37	0,25±0,51	0,228

*p<0,05

4.11. Tedavi Sonrası Duruma Göre İnvaziv Olmayan Belirteçlerin Farkı

Hastaların takip süreleri değerlendirildiğinde, tedavi sonrası durumu kötüleşen (ex, nakil, Dekompansasyon, HCC ya da siroz gelişen) hastaların (n: 8) 3 ila 206 ay arası ortalama 60,88±69,28 ay takip edildiği; durumu kötüleşmeyen hastaların (n: 72) ise 1 ile 220 ay arasında ortalama 51,94±64,42 ay takip edildiği

görülmüştür. Takip süresi bakımından gruplar arası istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,713$).

Mann Whitney U parametrik olmayan test ile durumu kötüleşen ve kötüleşmeyen hastalar arasında invaziv olmayan belirteçlerin skorları karşılaştırıldığında tedavi sonrası FIT ($p=0,004$), APRI ($p=0,012$), FIB4 ($p=0,038$) ve FCI ($p=0,001$) skorlarında fark tespit edilmiştir. Buna göre durumu kötüleşen hastalarda tedavi sonrasında FI, APRI, FIB4 ve FCI skorları daha yüksektir ($p<0,05$) (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Tedavi sonrası duruma göre invaziv olmayan belirteçlerin farkı

	Durumu kötüleşen	Durumu kötüleşmeyen	p
FI	3,94±0,68	2,72±1,21	0,004*
APRI	1,11±0,62	0,64±0,57	0,012*
CDS	6,75±1,83	5,53±1,43	0,062
FIB4	4,20±2,20	2,92±2,60	0,038*
FCI	0,60±0,49	0,22±0,50	0,001*

* $p<0,05$

4.12. Tedavi Sonrası Hastalık Durumuna Göre Diğer Parametrelerin Değerlendirilmesi

Mann Whitney U parametrik olmayan teste göre hastalık yaşı ile tedavi sonrası hastalık durumu arasında bir fark görülmemiştir ($p=0,119$). Bir diğer Mann Whitney U analizine göre tedavi öncesi HCV RNA değeri ile tedavi sonrası hastanın durumuna göre karşılaştırma yapıldığında istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir ($p=0,939$). Durumu kötüleşen hastaların tedavi öncesi HCV RNA değeri ortalama $690591±261019$ iken, durumu kötüleşmeyen hastaların tedavi öncesi HCV RNA değeri ortalama $10628330±1328541$ 'dir. Hastalık yaşı açısından karşılaştırma yapıldığında durumu kötüleşen ve kötüleşmeyen hastalar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0,249$) (sırasıyla; $5,76±2,03$ ve $5,48±0,66$). Mann Whitney U parametrik olmayan teste göre trombosit değerlerine bakıldığında tedavi sonrasında durumu kötüleşen ya da kötüleşmeyen hastalar arasında tedavi öncesi trombosit değerleri ($p=0,335$) ve tedavi sonrası trombosit değerleri açısından ($p=0,515$)

istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. Ki-kare testine göre diyabet olup olmama durumu ile tedavi sonrası hastanın durumunun kötüleşip kötüleşmemesi arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0,271). Tedavi öncesi portal ven çapı ile tedavi sonrası hastalığın kötüleşip kötüleşmemesi arasındaki ilişki Fisher Ki-kare testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel anlamlı ilişki bulunmamıştır (p=0,471).

4.13. Tedavi Öncesi Karaciğer Görünümü ile İnvaziv Olmayan Belirteçlerin İlişkisi

Tedavi öncesi karaciğer görünümü ile tedavi öncesi invaziv olmayan belirteçler arasındaki fark parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi ile istatistiksel olarak değerlendirildiğinde FI (p=0,009), FIB4 (p=0,0001) ve FCI (p=0,019) değerleri arasında anlamlı fark tespit edilmiştir (p<0,05). Buna göre tedavi öncesi sirotik karaciğerde FI ve FIB4 skorları en yüksek, hepatosteatoz karaciğerde de en düşük düzeydedir. FCI skoru ise kabagranüler karaciğer görünümünde en yüksek, hepatosteatoz karaciğerde en düşük ortalama göstermiştir.

Tablo 4.11. Tedavi öncesi karaciğer görünümü ile invaziv olmayan belirteçlerin ilişkisi

	Normal	Kabagranüler	Sirotik	Hepatosteatoz	F	p
FI	2,21±1,10	3,15±0,78	3,69±0,40	2,07±1,00	3,905	0,009*
APRI	1,04±1,04	1,08±0,73	0,88±0,40	0,58±0,45	0,919	0,462
CDS	4,64±1,77	5,57±1,72	6,00±1,00	4,13±1,36	2,523	0,055
FIB4	2,35±1,93	3,24±1,66	4,15±1,01	1,70±0,91	8,291	0,0001*
FCI	0,15±0,19	0,28±0,28	0,19±0,10	0,09±0,09	3,322	0,019*

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya çapında hepatit C virüsü, kronik karaciğer hastalıklarının ana nedenlerinden biridir. Bu hastalığın hepatik belirtileri arasında inflamasyon, fibrozis ve siroz vardır (65). Bu karaciğer hastalığının yönetimi ve takibinde karaciğer fibrozisin evrenmesi çok önem taşımaktadır. Karaciğer biyopsisi, nekroinflamatuvar aktivitenin ve fibrozunun derecelendirilmesinde hala altın standart olarak kabul edilmesine rağmen, yüksek maliyetine ek olarak bazı teknik sınırlamalar ve riskler sunmaktadır (örnekleme hatası, intra ve inter -gözlemci değişkenliği, iyatrojenik yaralanmalar) (66, 67). Bu sınırlamalar göz önüne alındığında hepatik fibrozis tanı ve derecelendirmesinde invaziv olmayan metotlara ihtiyaç duyulmaktadır.

Buna dayanarak çalışmamızda hepatit C hastalarında tedavi başlangıcı ve sonunda değerlendirilen 5 invaziv olmayan yöntem ile siroz, dekompanasyon, HCC veya ölüm şeklindeki hastalık seyrindeki prediktif değerliliklerinin ortaya koyulması amaçlanmıştır. Bu amaçla HCV tanılı 42 kadın, 38 erkek olmak üzere 80 hastada invaziv olmayan skorlamalar değerlendirilmiştir. Hastaların 75 kişiden oluşan büyük çoğunluğu tedavi öncesinde siroz tanısı almıştır. Tedavi sonrasında siroz tanılı hasta sayısı 69 olup, beş olgu ex olmuş ve bir olgu da HCC 'a progresyon göstermiştir. Değerlendirilen FI, APRI, CDS, FIB4 ve FCI skorları klinik pratikte sıklıkla ele alınmaktadır.

Hepatit tedavisi, laboratuvar testleri, biyopsi sonuçları ile ilgili veriler, standart prosedür ve kılavuzun kullanımına göre belirlenmektedir. Mevcut kohort hastaları arasında klinik tedavi, transplante edilen %3'lük ve daha önce hepatik dekompanasyona ilerlemiş olan, tedavi edilmemiş, hala enfekte olmuş hastaların %7'si için komplike olabilmektedir. Bu hastalar arasında canlı ve uzun süreli viral tedavi yanıtı (KVY) bulunmayanların, neredeyse yarısının daha önceki interferon temelli tedavilerinin başarısızlıkla sonuçlandığı, bu da bazı verilerin ek morbidite riski taşıyabileceğini göstermiştir (68). Çalışmamızda da IFN temelli tedavilerin yanı sıra birçok farklı tedavi rejimleri almış ya da almakta olan 71 hastanın %91,3 'ü anti-viral yanıt vermiştir.

Prediktif değerlendirme sadece siroz ve fibrozis için yapılmıştır. Bunun nedeni dekompanasyon, HCC ve ölüm şekilde kategorize edilen olgu sayılarının

istatistiksel analiz için normal dağılım göstermemesi ve yeterli olmamasıdır. Bu nedenle parametrik olmayan Kruskal Wallis testi ile gruplar arası ortalamalar karşılaştırılmıştır. Prediktif olarak tedavi öncesinde fibrozis için APRI %94,9 duyarlılık, %87,8 özgüllük ile yüksek prediktif değere sahip olarak tespit edilmiştir (%85 pozitif prediktif değer %96 negatif prediktif değer). Diğer testler yeterince yüksek duyarlılık ve özgüllükte değildir (<%50).

Tedavi öncesinde CDS, FIB4, FCI ve FI değerleri hepatik dekompanseman görülen hastalarda en yüksektir. HCC olan bir olguda siroz tanılı olgulardan da düşük değerler dikkat çekmektedir. Bu nedenle skorların artış göstermesi progresyonu kesin olarak göstermemektedir. Ancak HCC olgusunun sadece bir tane olması istatistiksel bir değerlendirme için uygun değildir. Retrospektif olarak 575 kronik HCV hastasını fibrozis (F3) veya siroz (F4) şeklinde iki grup dahilinde APRI ve FBI ile değerlendiren bir çalışmada, APRI için 0,65, FIB4 için 1,63 eşik değerlerinin siroz için prediktif olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda siroz olgularında APRI ortalaması 0,92, FIB4 ortalaması 2,61 'dir. Buna göre literatürde belirtilen eşik değerinin üzerinde ve uyumludur. Ancak belirtilen çalışmada, çalışmamızdaki gibi hepatik dekompanseman değerlendirmesi yer almamaktadır (69). Fibrozis ve siroz hastalarının (n:157) değerlendirildiği bir çalışmada siroz için FCI eşik değeri ≥ 1.25 olarak belirtilmiştir. Bu değer duyarlılığı ve pozitif prediktif değeri sırasıyla %86 ve %100 bulunmuştur (70). Çalışmamızda tedavi öncesi fibrozis hastalarında FCI değeri 0,19, tedavi sonrasında 0,26 bulunmuştur. Siroz hastalarında ise tedavi öncesinde 0,18 ve tedavi sonrasında 0,16 bulunmuştur. Buna göre çalışmadaki değerler literatürdeki eşik değerinin çok altındadır.

Tedaviden önce karaciğer hastalığı şiddetinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Siroz veya ileri fibrozis (F3) olan hastalar, tedavi rejiminin seçimi ve tedavi sonrası prognoz fibrozun evresine bağlı olduğundan özellikle önemlidir (71). Çalışmamızda tedavi öncesindeki fibrozis varlığına göre invaziv olmayan test skorları arasında anlamlı fark görülmemiştir. Kronik HCV li 84 karaciğer hastasının dahil edildiği bir çalışmada, yüksek CDS, FI ve FIB4 'ün ileri fibrozisi tanımlamak üzere en iyi non-invaziv değerlendirme olduğu gösterilmiştir ($F \geq 3$) (72).

Literatürde siroz için birçok prediktif APRİ eşik değeri tanımlanmıştır. Sistemik bir derlemede daha düşük eşik değerinin (1) %76 duyarlılık ve %76 özgüllük gösterdiği belirtilmiştir. Ancak bu eşik değerinin pozitif prediktif değeri %32 düzeyinde düşüktür. Eşik değerin 2 olarak alınmasının ise daha yüksek spesifiklik (%91) ancak daha düşük duyarlılık (%49) gösterdiği belirtilmiştir. Bunlara dayanarak siroz için en uygun prediktif değer 0,5 'in altı ya da 1,5 'un üzeri olarak belirtilmiştir (65, 73). Çalışmamızda APRİ skoru siroz hastalarında tedavi öncesi ortalama 0,92; tedavi sonrasında ise daha düşük olarak 0,61 bulunmuştur. Bu azalma siroz olasılığının tedavi sonrası azaldığını düşündürmektedir.

Tedavi öncesi ve sonrası invaziv olmayan bulgulardaki değişimler ele alındığında tedavi sonrasında FI ve CDS değerleri yükselirken, APRİ değerinde anlamlı azalma görülmüştür. CDS skorundaki artış yüksek olasılıktaki sirozu ifade etmektedir. APRİ skoru azaldıkça ise fibrozis ya da siroz olasılığı azalmakta ya da belirsiz hale gelmektedir. Hem siroz hem de hepatik dekompanasyon gruplarında bu azalma dikkat çekmektedir. Buna göre tedavi ile siroz ya da fibrozis olasılığı APRİ 'ye göre azalmaktadır. CDS ve APRİ testleri bu anlamda birbiriyle çelişmektedir. Ancak prediktif açıdan APRİ testi daha yararlı bulunmuştur.

Tedavi sonrasında da APRİ, CDS, FIB4, FCI ve FI değerleri hepatik dekompanasyon görülen hastalarda en yüksektir. Papadoupoulos 'un çalışmasında (69), siroz için 1,63 FIB4 eşik değeri önerilmiştir. Çalışmamızda ise hepatik dekompanasyona ilerleyen hastalarda FIB4 ortalaması 7,58 düzeyindedir. Sirozun gelişiminin erken aşaması olan fibrozis olgularında ise bu değer 2,61 'dir. Bu durum FIB4 skorunun karaciğer hasarındaki artış ile birlikte arttığını düşündürmektedir.

Çalışma bulgularımıza göre durumu kötüleşen hastalarda tedavi sonrasında FI, APRİ, FIB4 ve FCI skorları daha yüksektir. FI skoru değerlendirildiğinde her iki grupta da fibrozis varlığını belirten bir durum söz konusudur. Her ne kadar durumu kötüleşen hastalarda bu skor daha yüksek olsa da skor aralığı bakımından fark teşkil etmemektedir. Durumu kötüleşen hastalarda APRİ skoruna göre yüksek olasılıkla fibrozis ve belirsiz siroz olduğu anlaşılırken durumu kötüleşmeyen hastalarda da bu skor 0,5 ile 1 arasında olması nedeniyle fibrozis belirsiz ve az olasılıkla sirozu göstermektedir. Bu durum APRİ nin prognoz açısından uygun bir belirteç olduğunu

göstermektedir. FIB4 'de APRİ ile benzer bir prognostik biyobelirteç özelliği göstermiştir. Öyle ki, durumu kötüleşen hastalarda 3,25 üzerindeki ortalama skor değerine göre yüksek olasılıkta siroz olarak değerlendirme yapılabilirken, durumu kötüleşmeyen hastalarda 2,92 ile bu durum "belirsiz" kategorisinde kalmaktadır. Son olarak FCI bakımından ortalamalar açısından istatistiksel anlamlı fark görülse de kategorik bakımdan anlamlı bir fark vermemektedir. Literatürde çalışma bulgumuzla uyumlu olarak FIB4 skoru yüksek olan (>3,25) hastaların hepatosellüler karsinoma ilerleme riskini arttırdığı, bir başka ifade ile hastalık durumunun kötüleştiği gösterilmiştir (74).

Platelet düzeyinin HCV hastalarında tek başına serumda değerlendirilmesinin karaciğer fibrozu ve siroz için invaziv olmayan bir serum belirteci olabileceği belirtilmektedir. Ayrıca sadece fibrozisi predikte etmek için değil aynı zamanda evreleri ile korelasyonu açısından da önemli olduğu gösterilmiştir (70). Buna dayanarak çalışmamızda tedavi öncesi portal ven çapının tedavi sonrası hastalığın kötüleşip kötüleşmemesi ile ilişkisi görülmemiştir. Trombosit değerlerine bakıldığında tedavi sonrasında durumu kötüleşen ya da kötüleşmeyen hastalar arasında tedavi öncesi trombosit değerleri ve tedavi sonrası trombosit değerleri açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. Amano ve arkadaşlarının çalışmasında (68), düşük düzeydeki platelet değerlerinin HCC rekürens riskini belirgin şekilde arttığı belirtilmiştir. Ancak çalışmamızda HCC progresyonu açısından benzer bir bulgu bulunmamaktadır.

Düşük fibrozis skorları tıbbi tedavi için uygun adaylar olabilmekte ve FIB-4 skorları düşük kalmaya devam ederse karaciğer biyopsisi gerektirmeyebilmektedir. Şiddetli fibrozis / siroz skorları halinde, son dönem karaciğer hastalığına başka klinik veya görüntüleme belirtileri olmadığı sürece sirozun doğrulanması için karaciğer biyopsisine ihtiyaç duyulabilmektedir (64). Çalışmamıza göre tedavi öncesi sirotik karaciğerde FI ve FIB4 skorları en yüksek, hepatosteatoz karaciğerde de en düşük düzeydedir. FCI skoru ise kabaganüler karaciğer görünümünde en yüksek, hepatosteatoz karaciğerde en düşük ortalama göstermiştir.

Bu retrospektif çalışma, sirozdaki hepatik dekompanseasyona, HCC ve ölüme kadar progresyonu invaziv olmayan yöntemler ile değerlendiren ilk çalışma olması

ile güçlü yöne sahiptir. Literatürdeki çalışmalar çoğunlukla sadece fibrozis ve siroz olgularını kapsamaktadır. Ancak çalışmamızdaki zayıf yön ise hepatik dekompanseasyon, HCC ve ölüm gruplarındaki olgu sayılarının yetersiz olmasıdır. Bu nedenle prediktif testler istatistiksel anlamda güçlü değildir.



KAYNAKÇA

1. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. (2013). Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 57(4):1333–42. doi: 10.1002/hep.26141.
2. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, Houghton M, Choo QL. (1989). Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med*. 321: 1494–1500
3. Wilt TJ, Shamliyan T, Shaikat A, Taylor BC, MacDonald R, Yuan JM, Johnson JR, Tacklind J, Rutks I, Kane RL. (2008). Management of chronic hepatitis B. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 174:1–671.
4. Schwartz JM, Reinus JF. (2012). Prevalence and natural history of alcoholic liver disease. *Clin Liver Dis*. 16:659–666.
5. Mendes CL, Stucchi R, Vigani AG. (2018). Diagnosis and staging of fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison and critical overview of current strategies. *Hepatic Medicine: Evidence and Research* 10: 13–22
6. Chou R, Wasson N. (2013). Blood tests to diagnose fibrosis or cirrhosis in patients with chronic Hepatitis C Virus Infection. *Annals of Internal Medicine*. 158:807-820.
7. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV. (1975). Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med*. 292: 767–770
8. Houghton, M. (2009). The long and winding road leading to the identification of the hepatitis C virus. *J Hepatol*. 51: 939–948
9. Farci, P., Bukh, J., and Purcell, R.H. (2005). Natural history and experimental models of hepatitis C. *Viral Hepatitis*. in: H.C. Thomas, S. Lemon, A.J. Zuckerman (Eds.) third ed. Blackwell Publishing Ltd., Oxford. p.439–467
10. Choo QL, Kuo G, Weiner A, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. (1989). Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 244: 359–362

11. Bukh J, Miller RH, Kew MC, Purcell RH. (1993). Hepatitis C virus RNA in southern African blacks with hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 90: 1848–1851
12. Pawlotsky, J.M. (2016). Hepatitis C virus resistance to direct-acting antiviral drugs in interferon-free regimens. *Gastroenterology*. 151: 70–86
13. Asselah, T., Boyer, N., Saadoun, D., Martinot-Peignoux, M., and Marcellin, P. (2016). Direct-acting antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection: optimizing current IFN-free treatment and future perspectives. *Liver Int*. 36: 47–57
14. Pawlotsky, J.M., Feld, J.J., Zeuzem, S., and Hoofnagle, J.H. (2015). From non-A, non-B hepatitis to hepatitis C virus cure. *J Hepatol*. 62: S87–S99
15. Shoukry NH. (2018). Hepatitis C vaccines, antibodies, and T cells. *Frontiers in immunology*. 9:1480. doi:10.3389/fimmu.2018.01480
16. Catanese MT, Uryu K, Kopp M, Edwards TJ, Andrus L, Rice WJ, Silvestry M, Kuhn RJ, Rice CM. (2013). Ultrastructural analysis of hepatitis C virus particles. *Proc Natl Acad Sci USA*. 110:9505–9510.
17. Gottwein JM, Bukh J. (2008). Cutting the gordian knot-development and biological relevance of hepatitis C virus cell culture systems. *Adv Virus Res*. 71: 51–133
18. Tuncer, K. (2013). Günümüzde Hepatit C. İnternet adresi: <http://drkoray.com/gastroenterohepatoloji/gunumuzde-hepatit-c> (Erişim tarihi: 27.02.2019)
19. Kaya, A. (2014). Kronik Hepatit C Virus İnfeksiyonu Uzun Süreli İzlem Sonuçları. Dokuz Eylül Üniversitesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi.
20. Bukh J, Purcell RH, Miller RH. (1994). Sequence analysis of the core gene of 14 hepatitis C virus genotypes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 91: 8239-8243. 10.1073/pnas.91.17.8239
21. Hope RG, Murphy DJ, McLauchlan J. (2002). The domains required to direct core proteins of hepatitis C virus and GB virus-B to lipid droplets share common features with plant oleosin proteins. *J Biol Chem*. 277: 4261-4270. 10.1074/jbc.M108798200

22. Lerat H, Honda M, Beard MR, Loesch K, Sun J, Yang Y, Okuda M, Gosert R, Xiao SY, Weinman SA, Lemon SM. (2002). Steatosis and liver cancer in transgenic mice expressing the structural and nonstructural proteins of hepatitis C virus. *Gastroenterology*.122: 352-365. 10.1053/gast.2002.31001
23. Tellinghuisen TL, Rice CM. (2002). Interaction between hepatitis C virus proteins and host cell factors. *Curr Opin Microbiol.* 5: 419-427. 10.1016/S1369-5274(02)00341-7
24. Drummer HE, Maerz A, Poubourios P. (2003). Cell surface expression of functional hepatitis C virus E1 and E2 glycoproteins. *FEBS Lett.* 546: 385-390. 10.1016/S0014-5793(03)00635-5
25. Goffard A, Callens N, Bartosch B, Wychowski C, Cosset FL, Montpellier C, Dubuisson J. (2005). Role of N-linked glycans in the functions of hepatitis C virus envelope glycoproteins. *J Virol.* 79: 8400-8409. 10.1128/JVI.79.13.8400-8409.2005
26. Bartosch B, Bukh J, Meunier JC, Granier C, Engle RE, Blackwelder WC. (2017). Overall Structural Model of NS5A Protein from Hepatitis C Virus and Modulation by Mutations Confering Resistance of Virus Replication to Cyclosporin A. *Emerson Biochemistry.* 56(24):3029-3048. doi: 10.1021/acs.biochem.7b00212.
27. Dustin LB, Cashman SB, Laidlaw SM. (2014). Immune control and failure in HCV infection--tipping the balance. *Journal of leukocyte biology.* 96(4): 535-48.
28. Atoom AM, Taylor NG, Russell RS. (2014). The elusive function of the hepatitis C virus p7 protein. *Virology.* 462-463:377-87. doi: 10.1016/j.virol.2014.04.018.
29. Pietschmann T, Kaul A, Koutsoudakis G, Shavinskaya A, Kallis S, Steinmann E, Abid K, Negro F, Dreux M, Cosset FL, Bartenschlager R. (2006). Construction and characterization of infectious intragenotypic and intergenotypic hepatitis C virus chimeras. *Proc Natl Acad Sci USA.* 103: 7408-7413.
30. Kohli A, Shaffer A, Sherman A, Kottlilil S. (2014). Treatment of hepatitis C: a systematic review. *JAMA.* 312(6):631-40. doi: 10.1001/jama.2014.7085.

31. Lorenz IC, Marcotrigiano J, Dentzer TG, Rice CM. (2006). Structure of the catalytic domain of the hepatitis C virus NS2-3 protease. *Nature*. 442: 831-835. 10.1038/nature04975
32. Raney, K. D., Sharma, S. D., Moustafa, I. M., & Cameron, C. E. (2010). Hepatitis C virus non-structural protein 3 (HCV NS3): a multifunctional antiviral target. *The Journal of biological chemistry*. 285(30): 22725-31.
33. Feng DY, Sun Y, Cheng RX, Ouyang XM, Zheng, H. (2005). Effect of hepatitis C virus nonstructural protein NS3 on proliferation and MAPK phosphorylation of normal hepatocyte line. *World journal of gastroenterology*. 11(14): 2157-61.
34. Gale M Jr, Foy EM. (2005). Evasion of intracellular host defence by hepatitis C virus. *Nature*. 436: 939-945. 10.1038/nature04078
35. Levin MK, Gurjar M, Patel SS. (2005). A Brownian motor mechanism of translocation and strand separation by hepatitis C virus helicase. *Nat Struct Mol Biol*. 12: 429-435. 10.1038/nsmb920
36. Lundin M, Lindstrom H, Gronwall C, Persson MA. (2006). Dual topology of the processed hepatitis C virus protein NS4B is influenced by the NS5A protein. *J Gen Virol*. 87: 3263-3272. 10.1099/vir.0.82211-0
37. Hugle T, Fehrman F, Bieck E, Kohara M, Krausslich HG, Rice CM, Blum HE, Moradpour D. (2001). The hepatitis C virus nonstructural protein 4B is an integral endoplasmic reticulum membrane protein. *Virology*. 284: 70-81. 10.1006/viro.2001.0873
38. Egger D, Wolk B, Gosert R, Bianchi L, Blum HE, Moradpour D, Bienz K. (2002). Expression of hepatitis C virus proteins induces distinct membrane alterations including a candidate viral replication complex. *J Virol*. 76: 5974-5984. 10.1128/JVI.76.12.5974-5984.2002
39. Gretton SN, Taylor AI, McLauchlan J. (2005). Mobility of the hepatitis C virus NS4B protein on the endoplasmic reticulum membrane and membrane-associated foci. *J Gen Virol*. 86: 1415-1421. 10.1099/vir.0.80768-0
40. Wang AG, Moon HB, Kim JM, Hwang SB, Yu DY, Lee DS. (2006). Expression of hepatitis C virus nonstructural 4B in transgenic mice. *Exp Mol Med*. 38: 241-246

41. He Y, Staschke KA, Tan S. Editor: Tan SL. (2006). Hepatitis C Viruses: Genomes and molecular biology. Norfolk (UK): Horizon Bioscience; Chapter 9 HCV NS5A: A Multifunctional Regulator of Cellular Pathways and Virus Replication
42. Badillo A, Receveur-Brechot V, Sarrazin S, Cantrelle FX, Delolme F, Fogeron ML, Molle J, Montserret R, Bockmann A, Bartenschlager R, Lohmann V, Lippens G, Ricard-Blum S, Hanouille X, Penin FSU, Cosset FL, Purcell RH. (2003). In vitro assay for neutralizing antibody to hepatitis C virus: evidence for broadly conserved neutralization epitopes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 100: 14199-14204. 10.1073/pnas.2335981100
43. Cordek DG, Bechtel JT, Maynard AT, Kazmierski WM, Cameron CE. (2011). Targeting the NS5A protein of HCV: an emerging option. *Drugs of the future*. 36(9): 691-711.
44. De Francesco R, Migliaccio G. (2005). Challenges and successes in developing new therapies for hepatitis C. *Nature*. 436: 953-960. 10.1038/nature04080
45. Zhu YZ, Qian XJ, Zhao P, Qi ZT. (2014). How hepatitis C virus invades hepatocytes: the mystery of viral entry. *World J Gastroenterol*. 20:3457–3467.
46. Gu M, Rice CM. (2013). Structures of hepatitis C virus nonstructural proteins required for replicase assembly and function. *Curr Opin Virol*. 3:129–136.
47. Wieland S, Makowska Z, Campana B, Calabrese D, Dill MT, Chung J. (2014). Simultaneous detection of hepatitis C virus and interferon stimulated gene expression in infected human liver. *Hepatology*. 59: 2121–2130
48. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease - Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recommendations and reports (1998): Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports. *Centers for Disease Control*. 47(RR19):1–39.

49. Gerlach JT, Diepolder HM, Zachoval R, Gruener NH, Jung MC, Ulsenheimer A, Schraut WW, Schirren CA, Waechtler M, Backmund M, Pape GR. (2003). Acute hepatitis C: high rate of both spontaneous and treatment-induced viral clearance. *Gastroenterology*. 125(1):80–88.
50. Wiegand J, Deterding K, Cornberg M, Wedemeyer H. (2003). Treatment of acute hepatitis C: the success of monotherapy with (pegylated) interferon alpha. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 62(5):860–865
51. Reggiardo MV, Fay F, Tanno M. (2012). Natural history of hepatitis c virus infection in a cohort of asymptomatic post-transfused subjects. *Annals of Hepatology*. 11(5):658–666.
52. European Association for Study of the Liver. (2014) EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2014. Geneva, Switzerland: EASL.
53. Liang TJ, Ghany MG. (2013). Current and future therapies for hepatitis C virus infection. *The New England Journal of Medicine*. 368(20):1907–1917. doi: 10.1056/nejmra1213651.
54. Murphy DG, Willems B, Deschênes M, Hilzenrat N, Mousseau R, Sabbah S. (2007). Use of sequence analysis of the NS5B region for routine genotyping of hepatitis C virus with reference to C/E1 and 5' untranslated region sequences. *Journal of Clinical Microbiology*. 45(4):1102–1112. doi: 10.1128/jcm.02366-06.
55. Sy T, Jamal MM. (2006). Epidemiology of hepatitis C virus (HCV) infection. *International Journal of Medical Sciences*. 3(2):41–46.
56. Hajarizadeh B, Grebely J, Dore GJ. (2013). Epidemiology and natural history of HCV infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 10(9):553–62. doi: 10.1038/nrgastro.2013.107.
57. Wasley A, Alter MJ. (2000). Epidemiology of hepatitis C geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Diss*. 20(1):1–16.
58. Pawlotsky JM. (2002). Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology*. 36(5 Suppl 1):S65–73. doi: 10.1053/jhep.2002.36815

59. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. (2009). Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*. 49(4):1335–74. doi: 10.1002/hep.22759.
60. Chevaliez S, Pawlotsky JM. (2007). Hepatitis C virus: virology, diagnosis and management of antiviral therapy. *World J Gastroenterol*. 13(17):2461–6.
61. Zeuzem S. (2017). Treatment Options in Hepatitis C. *Deutsches Arzteblatt international*. 114(1-02): 11–21. doi:10.3238/arztebl.2017.0011
62. Feld JJ, Jacobson IM, Hézode C, Asselah T, Ruane PJ, Gruener N, Abergel A, Mangia A, Lai CL, Chan HL, Mazzotta F, Moreno C, Yoshida E, Shafran SD, Towner WJ, Tran TT, McNally J, Osinusi A, Svarovskaia E, Zhu Y, Brainard DM, McHutchison JG, Agarwal K, Zeuzem S. (2015). ASTRAL-1 Investigators. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 1, 2, 4, 5, and 6 Infection. *N Engl J Med*. 373(27):2599-607.
63. Naveau S, Perlemuter G, Balian A. (2005). Epidemiology and natural history of cirrhosis. *Rev Prat*. 55(14):1527-32.
64. Younis Y, Baiomy H, El-Shawaf I, Said EM. The Fibrosis-Cirrhosis Index (FCI) for staging of liver fibrosis in Chronic Hepatitis C. (2016). *Afro-Egyptian Journal of Infectious and Endemic Diseases*. 6: 7-15.
65. Houot M, Ngo Y, Munteanu M, Marque S, Poynard T. (2016). Systematic review with meta-analysis: direct comparisons of biomarkers for the diagnosis of fibrosis in chronic hepatitis C and B. *Aliment Pharmacol Ther*. 43:16–29.
66. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pylsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER. (2002). Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*. 97(10):2614-8.
67. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. (2003). Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol*. 2003;39(2):239-44.

68. Amano H, Tashiro H, Oshita A, Kobayashi T, Tanimoto Y, Kuroda S, Tazawa H, Itamoto T, Asahara T, Ohdan H. (2011). Significance of platelet count in the outcomes of hepatectomized patients with hepatocellular carcinoma exceeding the Milan criteria. *J Gastrointest Surg.* 15(7):1173-81. doi: 10.1007/s11605-011-1538-2.
69. Papadopoulos N, Vasileiadi S, Papavdi M, Sveroni E, Antonakaki P, Dellaporta E, Deutsch M. (2019). Liver fibrosis staging with combination of APRI and FIB-4 scoring systems in chronic hepatitis C as an alternative to transient elastography. *Annals of gastroenterology*, 32(5):498–503. doi:10.20524/aog.2019.0406
70. Ahmad W, Ijaz B, Javed FT, Gull S, Kausar H, Sarwar MT, Asad S, Shahid I, Sumrin A, Khaliq S, Jahan S, Pervaiz A, Hassan S. (2011). A comparison of four fibrosis indexes in chronic HCV: development of new fibrosis-cirrhosis index (FCI). *BMC Gastroenterol.* 11:44. doi: 10.1186/1471-230X-11-44.
71. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. (2018). *J Hepatol.* 69:461–511.
72. Andrés-Otero M, De-Blas-Giral I, Puente-Lanzarote JJ, Serrano-Aulló T, Morandeira MJ, Lorente S, Lou-Bonafonte JM. (2016). Multiple approaches to assess fourteen non-invasive serum indexes for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Clin Biochem.* 49(7-8):560-5. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2015.12.017.
73. Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis:a systematic review. *Hepatology.* 46:912–921.
74. Tamaki N, Kurosaki M, Matsuda S, Muraoka M, Yasui Y, Suzuki S, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Izumi N. (2014). Non-invasive prediction of hepatocellular carcinoma development using serum fibrosis marker in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenter.* 49(11):1495-503.