



**T. C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KRONİK HEPATİT C HASTALARINDA MULTİDRUG
REZİSTANS GEN MUTASYONU**

**Dr. Meryem TİMÜÇİN
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
UZMANLIK TEZİ**

**SİVAS
2010**

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KRONİK HEPATİT C HASTALARINDA MULTİDRUG
REZİSTANS GEN MUTASYONU**

**Dr. Meryem TİMÜÇİN
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
UZMANLIK TEZİ**

**Prof. Dr. Hakan ALAGÖZLÜ
DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ**

**SİVAS
2010**

ONAY SAYFASI

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Üye: Prof.Dr.Hakan ALAGÖZLÜ

Üye: Prof.Dr.Ferhan CANDAN

Üye: Yrd.Doç.Dr.Saadettin KILIÇKAP

Bu tez, 29/07/2010 tarih ve 2010/2 sayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr.Mehmet Şencan

Tıp Fakültesi Dekanı

Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 10/02/2010 tarih ve 2010/1-2 sayılı kararı ile kabul edilerek yürürlüğe girmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu tezin oluşumunda değerli katkılarıyla çalışmamın her aşamasında beni yönlendiren Sayın Hocam Prof. Dr. Hakan Alagözlü'ye

Tez çalışmalarım sırasında değerli katkılarından dolayı, Prof. Dr. Öztürk Özdemir ve Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar'a

Uzmanlık Eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım emeklerini benden esirgemeyen Sayın hocalarım; Prof. Dr. Mehmet Şencan' a, Prof. Dr. Saniye Topçu'ya, Prof. Dr. Füsün Gültekin'e, Prof. Dr. Mansur Kayataş'a, Prof. Dr. H. Sebila Dökmetaş'a, Prof. Dr. Ferhan Candan'a, Doç. Dr. N. Özlem Yöner Saygılı'ya, Doç. Dr. Abdülkerim Yılmaz'a, Yrd. Doç. Dr. Cihat Şarkış'a, Yrd. Doç. Dr. İ. Serhat İçağasıoğlu'na, Yrd. Doç. Dr. Hilmi Ataseven'e, Yrd. Doç. Dr. Soner Şenel'e, Yrd. Doç. Dr. Saadettin Kılıçkap'a,

Eğitimim süresince aralarında olmaktan, birlikte çalışmaktan büyük zevk ve onur duyduğum tüm uzman, asistan, servis hemşiresi ve hastane çalışanları arkadaşlarıma,

Eğitim ve öğrenim hayatım boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen fedakar aileme,

Bu süreç içerisinde kendilerini çok ihmal ettiğim canımdan çok sevdiğim anlayışlı ve sabırlı eşim Hasan'a ve sevimli ve sevgili kızım Azra Başak'a sonsuz teşekkürler ediyorum....

Kronik Hepatit C Hastalarında Multidrug Rezistans

Gen Mutasyonu

Dr.Meryem Timuçin

Tıpta uzmanlık tezi

Sivas-2010

ÖZET

Hepatit C infeksiyonunda uzun dönemde siroz ve karaciğer kanseri gelişme riskinin ve mortalite oranının yüksek olması tedavi ve tedaviye yanıtızlık konusunda çalışmaların yoğun olarak devam etmesine yol açmıştır. İlaç direncini açıklayan birçok hücrenel mekanizma karakterize edilmiştir. Multidrug rezistans gen (MDR) gen ürünü olan P-glikoprotein (P-gp)'nin artmış salınımı, MDR fenotipini oluşturan mekanizmalar içinde en iyi araştırılmış olanıdır. P-gp ekspresyonunu P-gp polimorfizmi etkilemektedir ve en sık C3435T polimorfizmine rastlanmaktadır. C alleli P-gp ekspresyonunun yüksek olduğu ilaçlara ve bazı maddelere karşı oluşan dirençten sorumlu olduğu düşünölmektedir. MDR gen mutasyonu da, hepatit C'li hastalarda tedaviye yanıt oranlarını ve klinik seyri etkileyebilir.

Bu çalışmada Kronik Hepatit C hastalarında MDR gen polimorfizmi araştırıldı. Çalışmaya, tedaviye yanıtız kronik hepatit C tanısı almış 9 erkek ve 12 kadın ile hepatit C tedavisine yanıt veren 10 erkek ile 9 kadın ve nüks gösteren 5 erkek ile 10 kadından oluşan 55 kişi dahil edilmiştir. Çalışmada, üç grup MDR1 geninde C3435T allel sıklığı açısından karşılaştırılırken, hasta grubunda mutasyon saptanan, saptanmayan ve normal olan üç grup oluşturuldu. Her üç gruptaki bireyler MDR1 gen polimorfizmine göre karşılaştırıldığında gruplar arası fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Buna göre nüks gösteren bireylerde ve tedaviye cevap verenlerde daha fazla oranda heterozigotluk görülürken, tedaviye cevap vermeyen hastalarda daha fazla oranda homozigotluk saptanmıştır.

Tedaviye yanıtız Hepatit C hastalarında MDR1 gen analizinin yapılması gelecekte tedavi yönetiminde ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: Hepatit C, Multidrug Resistans gen

**Multidrug Resistance Gene Mutation Among
Chronic Hepatitis C Patients**

**Dr. Meryem Timuçin
Sivas-2010**

ABSTRACT

In a long time period, being high rate of mortality and risks of development of cirrhosis and liver cancer on Hepatitis C infection have caused to continue intensive studies on treatment and unresponsiveness to treatment. Many cellular mechanisms that explain the drug resistance have been characterized. The increased relief of P-glycoprotein (P-gp), which is gene product of Multidrug resistance gene (MDR), is the best researched one within the mechanisms forming MDR phenotype. P-gp polymorphism affects P-gp expression and C3435T polymorphism is the most frequently met. C allele is considered as it is responsible for resistance against the medicines in which the P-gp expression is high and against some materials. The gene mutation of MDR1 also affects the response rates and clinical progress on Hepatitis C patients.

In this study, polymorphism gene of MDR on Chronic Hepatitis C patients, was researched. To this study; 9 male and 12 female patients who had been diagnosed with chronic Hepatitis C and 10 male and 9 female patients who has responded to treatment of Hepatitis C and 5 male and 10 female patients who has shown relapsing, in total 55 patients were included. In the study, while three groups were compared with each other about the frequency of C3435T allele on MDR1 gene, three groups were formed from this group in which a group of patients the mutation was detected, a group the mutation wasn't detected and a group was normal. When individuals at each group were compared according to the gene polymorphism of MDR1, the difference among the groups was considered as logical ($p < 0.05$). According to this, while higher rate of heterozygote were seen on relapsing individuals and those who responded to treatment, higher rate of homozygote were detected on the patients who didn't respond to treatment.

Analyzing MDR1 gene on Hepatitis C patients who are unresponsive to treatment will open up new frontiers in its own subject.

Keywords: Hepatitis C, Multidrug Resistance Gene

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLOLAR LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. HEPATİT C VİRÜSÜ	3
2.1.1. Hepatit C Virüsünün Yapısı ve Özellikleri	3
2.1.2. HCV Genotipleri	4
2.1.3. Epidemiyoloji	4
2.1.4. Bulaşma Yolları	5
2.1.4.1. Parantral Bulaşma	5
2.1.4.2. Non-Parenteral Bulaşma	6
2.1.4.3. Diğer Bulaşma Yolları	7
2.1.5. Kimler Taranmalı?	7
2.1.6. Doğal Seyir Ve Klinik Özellikler	7
2.1.7. TANI	8
2.1.7.1. Serolojik Tanı	8
2.1.7.2. Anti-HCV	8
2.1.7.3. Nükleik Asit Testleri	9
2.1.8. TEDAVİ	9
2.1.8.1. Tedaviye Alınma Kriterleri	10
2.1.8.2. Tedaviye Kontrendikasyonlar	11
2.1.8.3. Tedavi Öncesi Değerlendirme	12
2.1.8.4. İnterferon	12
2.1.8.5. Ribavirin	14
2.1.9. KHC İnfeksiyonunda Tedavi Yanıtının Değerlendirilmesi	15
2.1.9.1. Kronik Hepatit C’de Tedaviye Cevap Kriterleri ve Tanımlamalar	16

2.1.9.2.KHC İnfeksiyonunda Kalıcı Virolojik Yanıtı Olumlu Etkileyen Faktörler.....	18
2.2. MULTİDRUG REZİSTANS GENİ.....	18
3.MATERYAL VE METOD	24
3.1.Hastaların Seçimi ve Örneklerin Toplanması.....	24
3.2.GENETİK ANALİZ.....	25
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	30
4.BULGULAR	31
5. TARTIŞMA.....	36
6. SONUÇLAR.....	46
7. KAYNAKLAR.....	47

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABC	: ATP bağlayan kaset (ATP binding cassette)
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALT	: Alanin aminotransferaz
ANA	: Anti-nükleer antikor
Anti-LKM	: Karaciğer -böbrek anti-mikrozomal antikor
Anti-SMA	: Anti düz kas antikor
EIA	: Enzyme Immuno Assay
ELISA	: Enzyme –Linked immüno sorbent assay
HAV	: Hepatit A virüsü
HBV	: Hepatit B virüsü
HCC	: Hepatoselüler Karsinom
HCV	: Hepatit C virüsü
HDV	: Hepatit D virüsü
HIV	: Human Immündeficiency virüs
IFN	: İnterferon
IU	: İnternasyonal unite
KHC	: Kronik Hepatit C
MDR	: Multi drug resistans geni
MRP	: Multi drug resistans ilişkili protein
NTR	: Nontranslated region
ORF	: Open reading frame
PRC	: Polimeraz zincir reaksiyonu
P-gp	: P-glikoprotein
Peg-İFN	: Pegylated interferon
RIBA	: Recombinant immüno blot assay
UTR	: Untranslated region

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. HCV genomunun şematik görünümü	3
Şekil 3.1. Striplerin Değerlendirilmesi	29
Şekil 4.1. Grupların kendi içlerinde MDR1 gen dağılımı.....	34

TABLULAR

Tablo 2.1.1. Kronik Hepatit C tedavisi.....	17
Tablo 2.2.1. P-gp'in Dokulardaki Hücresel Lokalizasyonu ve Fonksiyonları	21
Tablo 2.2.2. P-gp substratlarının farmakolojik etkilerine göre grublandırılması	22
Tablo 4.1. Gruplar arasındaki MDR gen polimorfizminin dağılımı	32
Tablo 4.2. Gruplara göre elde edilen genotiplerin ikişerli karşılaştırılması	33
Tablo 4.3. Hasta gruplarının histopatolojik ve laboratuvar bulgularla mutasyon arasındaki ilişki.....	35

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hepatit C virüsü (HCV) kronik viral hepatitlerin en önemli etkenlerinden biridir. Persistan HCV enfeksiyonu hafif karaciğer hasarından, siroz ve hepatoselüler karsinoma (HCC) ilerleyen ciddi kronik hepatite kadar farklı tablolar ile ilişkilidir (1, 2).

Dünyada HCV enfeksiyonu prevalansının yaklaşık %2,2–3 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Bu da dünyada yaklaşık 130 ile 170 milyon kişinin HCV pozitif olduğunu gösterir (3). Türkiye’de HCV pozitifliği %1- 2,4’tür (4). Kronik HCV enfeksiyonu karaciğer nakli endikasyonları arasında ilk sırada yer almaktadır. Kronik hepatitli hastaların %70’inde, sirozlu hastaların %25’inde HCV etyolojik neden olarak karşımıza çıkmaktadır (5). HCV’ye bağlı kronik karaciğer hastalığı olanlarda yıllık karaciğer kanseri gelişme riski %1-5’tir (6).

HCV enfeksiyonunda uzun dönemde siroz, karaciğer kanseri gelişme risklerinin ve mortalite oranının yüksek olması tedavi ve tedaviye yanıtızlık konusunda çalışmaların yoğun olarak devam etmesine yol açmıştır. Kronik C hepatiti (KHC)’nin günümüzdeki optimal tedavisi olan pegile interferon + ribavirin kombinasyonuna cevapsızlığa yol açan birçok faktör vardır. Tedaviye uyumsuzluk, yan etkilerden dolayı ilaç dozajlarında azaltma veya ilaç kesilmesi, yeterli süre tedavinin devam ettirilmemesi, şişmanlık ve tedavi sırasında alkol almak cevabı azaltan düzeltilebilecek faktörlerdendir. Buna karşılık cevapsızlığa yol açan ancak değiştirilmesi elimizde olmayan faktörler arasında genotip 1 ve 4, yüksek viral yük, yaşlılık, Human Immündeficiency virüs (HIV) ve Hepatit B virüsü (HBV) ile koinfeksiyon sayılabilir (7).

MDR1 gen mutasyonu da, hepatit C’li hastalarda tedaviye yanıt oranlarını ve klinik seyri etkileyebilir. İlaçlara yanıt ve ilaçlara bağlı yan etkiler ilaç metabolize eden enzimlerdeki genetik değişikliklere bağlı olarak aynı toplumdaki bireyler arasında farklılık gösterir. Bu fark ilaç direnci oluşturan MDR genlerinin artmış ekspresyonuna bağlı olabilir. P-glikoprotein (P-gp) insanda MDR1 geni tarafından kodlanmaktadır ve MDR’ in bir ürünüdür (8).

MDR1 geninde gösterilmiş olan ait tekli nükleotid polimorfizmlerinden C3435T (ekson 26) ve G2677T (ekson 21) polimorfizmlerinin P-gp ekspresyonunda ve/veya fonksiyonunda değişimlere neden olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (9).

MDR1 gen ürünü olan P-gp'nin artmış salınımı, MDR fenotipini oluşturan mekanizmalar içinde en iyi araştırılmış olanıdır. P-gp ekspresyonunu P-gp polimorfizmi etkilemektedir ve en sık exon 26 C3435T polimorfizmine rastlanmaktadır. Bazı allellerde P-gp ekspresyonunun yüksek olduğu, bu durumun ilaçlara ve bazı maddelere karşı oluşan dirençten sorumlu olduğu düşünülmektedir (10).

P-gp çeşitli organlarda exprese edilmektedir ve intestinal eritrositlerde, beyin kapillerlerinin endotel hücrelerinde, böbrek proksimal tübül hücrelerinde ve karaciğer kanaliküler hücrelerde ilaç dağılımı ile ilişkilidir (11).

P-gp'nin kronik hepatit C tedavisinde kullanılan ilaçların dağılımında ve bu ilaçlara karşı oluşan dirençte rolü olabilir. MDR gen mutasyonu, hepatit C'li hastalarda tedaviye yanıt oranlarını etkileyebilir özellikle bu durum Ribavirin açısından önem arz etmektedir. Bu çalışmada, kronik hepatit C hastalarında MDR geni çalışılarak Ribavirin açısından tedaviye direncin araştırılması amaçlandı.

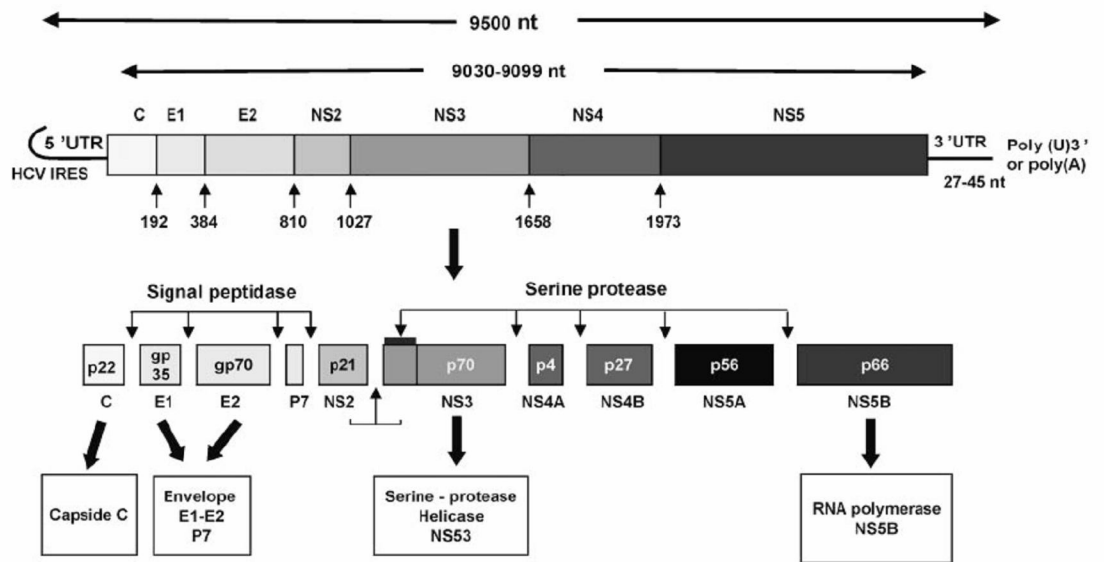
2.GENEL BİLGİLER

2.1.HEPATİT C VİRÜSÜ

2.1.1.Hepatit C Virüsünün Yapısı ve Özellikleri

HCV, 40–50 nm büyüklüğünde, yaklaşık 9400 nükleotidden oluşan, pozitif sarmal RNA içeren, zarflı bir virüstür. Hücre kültüründe üretilmeyişi ve serumda düşük titrelere bulunması nedeni ile özellikleri tam olarak bilinmemektedir.

Hepatit C virus genomu, 3' ve 5' uçlarında iki adet translasyona uğramayan bölge “untranslated region” (UTR) bulundurur. Bu iki uç arasında, büyük bir prekürsör proteini kodlayan ve 9000’den fazla nükleotidden oluşan bir “open reading frame” (ORF) bulunur. ORF yaklaşık 3010 aminoasit uzunluğunda büyük bir poliprotein kodlar (12). ORF’nin 5’ ve 3’ uçlarında 230 ve 341 nükleotidlerinde “nontranslated region” (NTR) vardır. 5’ ve 3’ NTR’nin her ikisi de poliprotein çevrilmesi ve genom replikasyonu için gerekli RNA yapısını içerir. Etkenin pozitif RNA virüsü olarak değerlendirilmesinin sebebi mRNA görevi yapabilen tek sarmallı bir RNA içermesidir (12). Virüsün yapısı, genomik organizasyonu ve replikasyon siklusu Flaviviridae ailesinin bir üyesi olduğunu desteklemektedir ve günümüzde Hepacivirus adı altında ayrı bir genusta sınıflandırılmaktadır (13).



Şekil 2.1. HCV genomunun şematik görünümü

2.1.2.HCV Genotipleri

Tüm genom dizileri belirlenmiş HCV suşları incelendiğinde, virüsün genomu boyunca, hemen hemen tüm bölgeleri kapsayan, DNA ya da protein dizisi benzerlikleri göze çarpmış ve bunları grup ve alt gruplar halinde sınıflandırmak mümkün olmuştur. Bu sınıflandırma genotiplerin ortaya çıkmasına yol açmıştır (12).

HCV'nin 6 genotip ve 80'den fazla alt tipi mevcuttur. Genotipler 1'den 6'ya kadar rakamlarla, alt tipler ise a, b, c... gibi küçük harflerle ifade edilir. Genotip 1b'nin üç ana alt tipi (W: Worldwide, J: Japan ve NJ: Non-Japan) bulunmaktadır (14). Majör genotipler arasında en az %33 genetik varyasyon bulunur. Genotiplerin coğrafi dağılımında da farklılıklar bulunmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Batı Avrupa'da genotip 1a ve 1b en yaygındır. Akdeniz ülkelerinde en sık genotip 1b olduğu bildirilmektedir. Daha sonra genotip 2 ve 3 gelir. Diğer genotipler, Mısır'da genotip 4, Güney Afrika'da genotip 5, Güneydoğu Asya'da genotip 6 sıktır (15).

Ülkemizde de değişik gruplar değişik zamanlarda HCV genotiplerini belirlemek amacıyla çalışmalar yapmışlar ve baskın genotipi 1b (%68–94) olarak bulmuşlardır (16).

2.1.3. Epidemiyoloji

HCV enfeksiyonunun neden olduğu C tipi viral hepatit dünyanın ve ülkemizin önemli sağlık sorunlarından biridir. Dünya genelinde 170 milyon insanın HCV ile enfekte olduğu bildirilmektedir. Bir başka ifade ile dünya nüfusunun %2,2-3'ü HCV ile enfektedir. Gelişmiş ülkelerde akut hepatitlerin %20'sinden, kronik hepatitlerin ise %70'inden, son dönem sirozun %40'ından, hepatoselüler karsinomanın %60'ından sorumludur. Ülkemizde HCV enfeksiyonu sıklığı batı toplumlarından farklı değildir ve toplum taramalarında HCV enfeksiyonu prevalansı %1–2,4 civarında saptanmıştır (4). Ülkemizde bölgeler arasında HCV enfeksiyonu sıklığı açısından da fark bulunmamıştır (17).

2.1.4.Bulaşma Yolları

2.1.4.1. Parantral Bulaşma

1. Meslek İle İlgili Bulaşma

Kaza ile infekte hastada kullanılan kontamine iğnenin sağlık çalışanının cildine batması en önemli risk faktörü olabilir Prospektif çalışmalarda anti-HCV pozitif kan ile kontamine iğnenin batması ile gelişen yaralanmalarda ortalama enfeksiyon riski hastane personeline yaklaşık %3–4 dolayındadır (18). ABD'de sağlık çalışanlarının genelinde bildirilen anti-HCV seroprevalansı %1,4 iken bu oran diyaliz ünitesinde çalışanlarda %2, ilaç bağımlılarının tedavi edildikleri kliniklerde çalışanlarda %10 ve hastane cerrahları arasında ise %0,9'dur (19). Kanın sağlam deriye temasıyla bulaşma söz konusu değildir. Dahası ortopedi, genel cerrahi ve oral cerrahi doktorlarında bile HCV enfeksiyonu prevalansı genel popülasyondan daha yüksek değildir, yaklaşık %1–2 civarındadır (20).

2. Kan ve Kan Ürünleri Transfüzyonu

Transfüzyonla ilişkili anti-HCV insidansı İngiltere'de %0,5, ABD'de %3–4, Tayvan'da %13 oranında bildirilmiştir (21). Talasemi veya hemofili gibi çok sayıda transfüzyon yapılan hastalarda HCV enfeksiyon sıklığı daha yüksektir. Kan donörlerinin tüm dünyada 1990 yılından sonra ülkemizde ise 1996 yılından sonra anti-HCV ile test edilmesi, transfüzyona bağlı HCV enfeksiyonunun sıklığını azaltmıştır (22). HCV yayılımındaki bir diğer önemli risk faktörü, güvenli olmayan terapötik injeksiyondur. Dünyada kontamine injeksiyona bağlı yılda yaklaşık 2 milyon yeni HCV enfeksiyonunun geliştiği tespit edilmiştir (23).

3. Nosokomiyal Bulaşma

Hepatit C virüsünün hastane ortamından bulaşması nosokomiyal bulaşma olarak tanımlanır ve genellikle HCV ile kontamine kan, kan ürünleri veya infekte solid organın transplantasyonu sonucu bulaşma olmaktadır. HCV ile infekte donör organlarının kullanılması sonucu alıcıların %24-48'inde HCV enfeksiyonu geliştiği bildirilmiştir (24).

4. Hemodiyaliz Hastaları

Hemodiyaliz tedavisi altında olan hastalarda HCV enfeksiyonu sıklığı genel popülasyona göre oldukça yüksek oranlarda saptanmıştır. Hemodiyaliz hastalarında kronik karaciğer hastalığının en sık nedeni HCV enfeksiyonudur. Bu hasta grubunda

prevalans yaklaşık %8'dir (25). Viral Hepatitle Savaşım Derneği'nin epidemiyolojik analiz sonuçlarına göre hemodiyaliz olgularında anti-HCV pozitiflik oranı %41,5'tir. Türk Nefroloji Derneği verilerine göre ise bu oran %21,3'tür (26). Ayaktan periton diyaliz yapılan hastalarda anti-HCV pozitiflik oranı %6,8 bulunmuştur. Hemodiyaliz hastalarında HCV enfeksiyonu için risk faktörleri kan transfüzyonu, transfüze edilen kan miktarı ve hemodiyaliz süresini içermektedir (27).

5. İntravenöz İlaç Bağımlılığı

Gelişmiş ülkelerde HCV enfeksiyonunun primer bulaş yolu damar içi uyuşturucu ilaç kullanımınıdır. Yeni tanı konmuş HCV enfeksiyonlu olguların çoğunda damar içi ilaç kullanımı saptanmakta ve bu yol virüs bulaşımının yaklaşık %60'undan sorumlu tutulmaktadır. İntravenöz ilaç kullanan 716 hasta üzerinde yapılan çalışmada anti HCV seroprevalansı %64,7 olarak saptanmıştır (28).

2.1.4.2. Non-Parenteral Bulaşma

1.Cinsel Yolla Bulaşma

Hepatit C virüsü cinsel yolla bulaşmaktadır, ancak bunun hangi oranda gerçekleştiği bilinmemektedir. Erken yaşta cinsel aktiviteye başlama, çok sayıda cinsel partner, cinsel temas ile bulaşan diğer hastalıkların varlığı ve prezervatif kullanmama ile HCV enfeksiyonu ilişkili bulunmuştur (29).

2.Perinatal Bulaşma (Vertikal)

Hepatit C virüsünün perinatal geçişi düşük oranlardadır. İnfekte gebeden virüsün bebeğe bulaşma riski sezeryan ve vajinal yol gibi doğum şekli ile ilişkili bulunmamıştır. Bununla beraber virüsün bebeğe bulaş riskini azaltmak için fetal skalp monitörizasyonuna ve membran rüptüründen sonra travayın uzamasına izin verilmemelidir. İnfekte annelerin bebeklerinde anti-HCV testi doğumdan 18 ay sonra bakılmalıdır. Daha erken dönemde tanı konulması isteniyorsa HCV-RNA testi çalışılabilir. Emzirme ile virüs bebeğe bulaşmaz (30, 31).

3. İntrafamilial (Horizontal) Bulaşma

Hepatit C virüsünün aile içi bulaşması birçok çalışmada bildirilmiştir. HCV'nin aile içi bulaş oranı sağlıklı kan donörlerindeki bulaş oranından farklı değildir. Fakat anti-HCV pozitif indeks olgular ile temas süresi hastalığın aile içi geçişinde önemli bir faktör olabilir. (32).

2.1.4.3. Diğer Bulaşma Yolları

Tıraş bıçağı ve diş fırçası gibi kişisel malzemelerin ortak kullanımı, perkütan yolla bulaşmaya neden olabilir. Dövme, “piercing” (deldirme), cildi kesme, sünnet töreni, kozmetik veya töresel uygulamalarda kullanılan kontamine aletlerin HCV'nin bulaştırılmasındaki rolü tam olarak aydınlatılmamıştır. Hastane dışında yapılan tedavi uygulamaları (akupunktur ve varikoz ven skleroterapisi vb.), intranazal kokain kullanımı, estetik amaçlı tedaviler ve profesyonel manikür/pedikür, istatistiki olarak HCV riskini artıran faktörler olarak belirlenmiştir (20).

2.1.5. Kimler Taranmalı?

Yüksek risk: Multipl kan ve kan ürünü transfüzyonu alanlar, intravenöz ilaç kullananlar

Orta risk: Uzun süreli hemodiyaliz tedavisi, multipl seksüel partner, cinsel temasla geçen hastalık öyküsü, transplantasyon (İnfekte organ ile transplantasyon) öyküsü

Düşük risk: Dövme öyküsü, akupunktur, HIV enfeksiyonu, Nosokomial enfeksiyon (cerrahi tedavide infekte cihazların kullanımı), intrafamiliar bulaş.

Çok düşük risk: Sağlık çalışanında iğne batması, kontrol edilmiş kan ve kan ürünleri ile bulaşma (33).

2.1.6. Doğal Seyir Ve Klinik Özellikler

HCV enfeksiyonunun doğal seyrine baktığımızda akut enfeksiyon geçiren kişilerin yaklaşık %15'inin virüsü atarak tamamen düzeldiğini, kalan %85'inde ise enfeksiyonun kronikleştiğini görürüz. Kronik HCV enfeksiyonlu hastaların %20-30'unda özellikle ileri yaşlarda siroz gelişir. Sirozlu hastaların %75'inde yavaş bir seyir görülse de, sirozlu hastaların %25'inde hepatoselüler kanser, transplantasyon ihtiyacı veya ölüm ortaya çıkar. Hastalık hepatit C virüsü ile karşılaşılmasını takiben, 2 -24 hafta arasında değişen bir ara dönemden sonra başlamaktadır. Başlangıç dönemi hastaların büyük bir kısmında belirtisizdir. Bu nedenle de hepatit C de akut evrenin tespit edilmesi oldukça nadirdir (6). Hepatit C'de, enfeksiyona maruz

kalınmasından kronik hepatit gelişmesine kadar geçen ortalama süre 10 yıl, siroz gelişmesine kadar 20 yıl, hepatoselüler karsinom gelişmesine kadar da 30 yıl olmasına karşın, ilk kez hepatoselüler karsinom ile prezente olan ve hatta onun bile tesadüfen ortaya çıktığı hastalar vardır (34).

2.1.7. Tanı

2.1.7.1. Serolojik Tanı

Serum transaminazlarının yüksek olması genellikle inflamasyon ve fibrozis ile uyumlu olmakla birlikte, normal olması karaciğer hasarının olmadığını göstermez. Kronik HCV'li hastaların %30'u sürekli olarak normal ALT'ye sahiptir. Ayrıca kronik enfeksiyonda ALT düzeylerinin dalgalanmalarla seyredebileceği unutulmamalıdır. Serum transaminazlardaki yükseklik anti-HCV tarama testi yapılması gerekliliğini doğurur. HCV enfeksiyonunun serolojik tanısında bugün en çok kullanılan tanı yöntemi antikor aranmasıdır (35).

2.1.7.2. Anti-HCV

Tarama testi olarak kullanılır. HCV enfeksiyonlarının tanısı, tek başına HCV enzim immünassay kullanılarak güvenilir bir şekilde yapılması, her zaman mümkün olmamaktadır. "Enzyme-Linked Immunoassay (ELISA) veya "Enzyme Immunoassay" (EIA) olarak adlandırılan yöntemde rekombinant HCV antijenleri kullanılarak antikor araştırılır. İlk kuşak testler (EIA-1), tek bir rekombinant HCV klonundan elde edilmiştir. NS3 geninin bir kısmı ile NS4 geni ürününün tamamını içermişlerdir. Duyarlılık ve özgüllükleri düşük olup, serokonversiyonu saptamada yetersiz kalmışlardır. İkinci kuşak ELISA testleri (EIA-2), kor ve NS3 bölgelerinden ek rekombinant proteinler içermektedirler. Üçüncü kuşak testlerde (EIA-3) NS5'ten bir rekombinant protein eklenmiştir. EIA-3 testi ile EIA-2'ye göre serokonversiyon daha kısa sürede saptanır ve duyarlılık daha fazladır (36). Bu yöntem ile teması takiben 6-8 hafta içinde antikor saptanabilir. Anti-HCV İmmüngloblin M (IgM) antikorlarının araştırılması klinik açıdan gerekli değildir. Akut dönemde IgM saptanamayabildiği gibi, geç dönemde ortaya çıkabilmekte, kaybolmakta ya da uzun süre boyunca saptanabilmektedir. Yani HCV'ye özgül IgM'ler, HCV enfeksiyonu sırasında herhangi bir zamanda saptanabilmektedirler Anti-HCV testleri özellikle

prevalansın düşük olduğu toplumlarda yüksek oranda yalancı pozitif sonuçlara yol açmaktadır. Bu nedenle analitik antikor testleri ile doğrulama testlerinin yapılması önerilmektedir. Doğrulama testi olarak en sık kullanılan aynı kuşaktan ELISA testlerinde kullanılan aynı antijenlere sahip RIBA (recombinant immunoblot assay) testleridir (37). Gerek RIBA, gerekse benzer testlerde tek bir antijene bağlanma sınır değeri olarak değerlendirilir. Bu tür sonuçlar alındığında, HCV RNA' nın polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile doğrulanması gerekir.

2.1.7.3.Nükleik Asit Testleri:

HCV-RNA; HCV enfeksiyonunun tanısında kullanılan en duyarlı yöntemdir ve tanıda altın standart olarak kabul edilmektedir. HCV-RNA tespitinde kalitatif ve kantitatif testler kullanılabilir. Kalitatif HCV-RNA testleri klasik Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), real-time PCR ya da transkripsiyon aracılı amplifikasyon tekniğine dayanır (38). Kalitatif testler ile 50 IU/mL ve üzerindeki viral yük tespit edilebilir ve kantitatif testlere göre daha duyarlıdır. PCR ile kantitatif HCV-RNA daha az duyarlı olup, 1000 kopya/ml'ye kadar virüs düzeyini tespit edebilmektedir. Son olarak branched-DNA tekniği (Dallanmış problemler-Branched DNA (Quantiplex HCV RNA, Chiron Diagnostics) testi): Bu test bir işaret (signal) çoğaltma yöntemidir en az duyarlı olanıdır ve 200.000 kopya/ml üzerinde güvenli sonuç verebilmektedir. Ancak, kantitatif ölçümler içinde aynı sonuçlara ulaşmada en başarılı olanıdır (39, 40)

2.1.8. Tedavi

Günümüzde kronik hepatit C'nin tedavisinde Pegylated interferon (PegIFN) ve ribavirin kombine edilerek uygulanmaktadır. KHC tedavisinde etkin olan ilk ilaç interferon alfa'dır. İnterferonlar (IFN), virüsün hücre içine girişini ve viral RNA ile protein sentezini inhibe ederler. Bir hücre virüs ile enfekte olunca, IFN genleri aktive olur ve ekstrasellüler sıvıya IFN salgılar. Buradan yayılarak diğer hücrelerin yüzeyindeki reseptörlerine bağlanırlar ve antiviral etkiyi başlatırlar. IFN-reseptör kompleksi, antiviral genleri aktive ederek antiviral maddelerin üretimi ile virüs

replikasyonun baskılanmasını sağlar. IFN'lar doğal savunmanın bir parçasıdır. Başlıca üç IFN tanımlanmıştır: IFN- α , IFN- β ve IFN- γ . IFN- α makrofaj ve özellikle de lenfositlerde yapılmaktadır. IFN- α ve IFN- β birbirleriyle %40–50 homoloji gösterir. IFN- α içinde yer alan konsensus IFN sentetik tip bir IFN'dir ve KHC tedavisinde etkilidir (41).

İkinci önemli ilaç ribavirindir. Ribavirin karaciğer dışı dokularda (monosit, makrofaj ve dentritik hücreler) birikerek etkili olması, buralarda HCV'nin replikasyonunun inhibisyonunu ve klirensini dolayısıyla nüksün önlenmesini sağlayabilir.

Kronik C hepatit tedavisinde önemli gelişme PegIFN'un elde edilmesidir. Bu ilaç sayesinde IFN'un yarılanma ömrü uzatılmıştır. Standart interferonun pegilasyonu ile geliştirilen peginterferonlar haftada tek doz kullanılabilirler. 40 kd mono-metoksi Peg ile IFN'nın birleştirilmesinden PegIFN- α 2a, 12 kd mono-metoksi PEG ile IFN'nın birleştirilmesiyle PegIFN- α 2b oluşturulmuştur (42).

Erişkin ve ileri dönem sirozu olmayan tüm HCV hastalarının muhtemel tedavi adayı olarak değerlendirilmesi gerektiği belirtilmekle birlikte, bu tanımlamaya 70 yaşın altında, 18 yaşın üzerinde olmak üzere yaş sınırlamaları da dahil edilebilir. Tedavi adayı olarak alınan bu hastalarda tedavinin planlamasında genotip, hasta uyumu ve isteği, komorbid hastalıkları, alışkanlıkları değerlendirilmeli, tedavinin potansiyel faydası hastalığın potansiyel riskinden daha ağır bastığında tedavi önerilmelidir (42).

2.1.8.1. Tedaviye Alınma Kriterleri

1. Tedavinin uygun olduğu grup

- 18 yaş ve üzerinde olmak
- Yüksek ALT düzeyleri
- Karaciğer biyopsisinde orta-şiddetli nekroinflamatuvar aktivite ve fibrozisin olması
- Kompanse karaciğer hastalığı (total serum bilirubini < 1.5 g/dl, INR < 1.5, albümin > 3,4g/dl, trombosit sayısı > 75000/mm³, geçirilmiş veya mevcut ensefalopati, asit veya varis kanaması olmaması)

– Hematolojik ve biyokimyasal değerleri tedaviye uygun sahip hastalar (hemoglobin; erkek > 13 gr/dl, kadın > 12 gr/dl, nötrofil sayısı > 1500 /ul, trombosit > 75000 /ul, serum kreatinin < 1,5 mg/dl, albümin > 3,4 gr/dl, total bilirubin < 1,5 mg/dl)

- Depresyon tanısı olmasına rağmen hastalığı kontrol altında olanlar
- Tedavi uyumunun yeterli olacağı düşünülen hastalar (39).

2. Tedaviye hasta temelinde karar verilecek durumlar

– ALT düzeyinin sürekli normal olması

– Daha önceki tedavilere (klasik interferon alfa veya klasik interferon alfa ile ribavirin kombinasyonu veya pegile interferon alfa) yanıtız veya relaps gelişen olgular

– Alışkanlık bırakma programlarına isteği olan intravenöz ilaç ve alkol bağımlıları

– Karaciğer biyopsisinde nekroinflamatuvar aktivite ve fibrozisin olmaması veya hafif olması

- Akut hepatit C infeksiyonu
- HIV ile koinfeksiyon
- 18 yaş altında olma durumu
- Kronik böbrek hastalığı
- Karaciğer transplant alıcıları (39).

2.1.8.2.Tedavi Kontrendikasyonları

Kesin kontrendikasyonlar

Ventriküler disritmi, kontrol altında olmayan iskemik kalp hastalığı, kardiyomyopati, kontrol altına alınamayan psikozlar veya epilepside IFN verilmemelidir. Didanosine veya zidovudine alan HIV hastalarında pankreatit ve anemi riski nedeniyle, teratojenik olduğu için hamilelerde Ribavirin kullanımı önerilmez.

Kuvvetli Ancak Kesin Olmayan Kontrendikasyonlar

Alkolikler, karaciğer dekompanseasyonu, koroner arter hastalığı, karaciğer dışı solid organ transplantasyonudur.

Kısmi Kontrendikasyonlar

Şiddetli depresyon, epilepsi (tedavi ile kontrol altına alınmış hastalarda uygulanabilir), talasemili hastalar (düzenli kan transfüzyonu ile tedaviye alınabilir), son dönem böbrek yetmezliği (PegIFN monoterapisi verilebilir), transplant sonrası (IFN ve Ribavirin nüks olmaksızın başarılı sonuçlar alınabilir), damar içi ilaç kullananlar (tedavi düşünülebilir), otoimmün hastalıklar kısmi kontrendikasyon olan hastalardır (42).

2.1.8.3. Tedavi Öncesi Değerlendirme

Tedavi verilmesi planlanan olgularda tedavi öncesi dönemde eşlik eden durumlara ilişkin değerlendirme yapılmalıdır. Başlangıç testleri; Hepatit A virüs serolojisi, hepatit B virüs serolojisi, HIV serolojisi, tiroid fonksiyon testleri, ANA, anti-SMA ve anti-LKM1, serum kreatinin ve idrarda protein, kan şekeri ve lipit profili, ferritin ve transferrin saturasyonu, kadın hastalar için gebelik testi, psikiyatrik değerlendirme yapılmalıdır (42).

2.1.8.4. Interferon

IFN ilk defa virüsün tanımlanmasından 3 yıl önce 1986 yılında nonA-nonB hepatitin tedavisinde uygulanmıştır. Tek başına IFN tedavisinde kalıcı cevap oranı yaklaşık %10–20 iken, 1998 yılında başlanan IFN+Ribavirin uygulaması ile tek başına IFN uygulamasına göre iki katın üzerinde kalıcı cevap sağlanmıştır. Böylece bu kombinasyon uzun süre standart tedavi olarak uygulanmıştır. Hepatit C tedavisinde önemli gelişme PegIFN'un elde edilmesidir. Bu ilaç sayesinde IFN'un yarılanma ömrü uzatılmıştır. PegIFN (PegIFN-alfa 2a,PegIFNalfa2b) + Ribavirin tedavisi ile genotip 1 hastalarında %46- %50, genotip 2–3 hastalarında %70–80, genotip 4 hastalarında %70 kalıcı cevap sağlanmaktadır (43).

IFN'lar doğrudan etkili antiviral ajanlar değildir, ancak virüsle karşılaşan hücrelerden çok sayıda efektör proteinin yapımını uyarırlar. Etkinin başlangıcı hızlıdır. Antiviral etki virüs ve hücre tipine bağlı olarak viral penetrasyonun veya tomurcuklanmanın, mRNA'nın sentez veya metilasyonunun, viral proteinlerin

translasyonunun engellenmesiyle sağlanır. IFN'ların etkisi ile ortaya çıkan proteinler arasında en iyi bilinenleri 2'-5' oligoadenilat sentetaz, RNA bağımlı protein kinaz veya protein kinaz ve Mx proteinidir.

2'-5' oligoadenilat sentetaz: Üç ayrı birimden oluşur, 2'-5' oligoadenilat sentetaz, endonükleaz RNA'az, 2'-5' oligoadenilat fosfodiesteraz. Bu sistem hem hücrel hem de viral tek zincirli RNA'yı bölmek için latent hücrel endoribonükleazları aktive eden adenilat oligomerlerinin yapımına neden olur. RNA'az tüm çift zincirli RNA'ları inhibe ederek viral yükü azaltır.

Protein Kinaz: Protein sentezinde görev yapan ökaryotik başlatma faktör-2 (eIF-2)'yi fosforile ve aktive ederek viral protein sentezini inhibe eder.

Mx proteini: Gerçek etki şekli tam olarak bilinmemektedir (44).

PegIFN polietilen glikol isimli bir molekül eklenmesiyle kimyasal değişikliğe uğrayan bir IFN'dir. Bu değişiklik sonrasında PegIFN'nin yarı ömrü uzamakta ve haftada birkez kullanılması ile sabit bir kan düzeyi sağlanabilmektedir. Pegilasyon sayesinde IFN α -2a'nın 6-9 saat olan yarı ömrü 72-96 saate çıkarken, IFN α -2b'nin serum yarı ömrü 7-9 saatten 40 saate çıkar Standart IFN'de kan düzeyi haftada 3 kez yapılan enjeksiyonlara bağlı olarak oynamalar gösterebilmektedir. Çünkü haftada 3 kez uygulama ile bazı günlerde serumda antiviral etkiyi gerçekleştirebilecek INF etkisi kalmamaktadır. Hepatit C virüsü kısa süreli yarı ömre sahip olup, çok hızlı bir çoğalma yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, dalgalanan serum INF- α düzeyleri ilaç direncinin gelişmesine ve dolayısıyla virüsün tekrar aktive olmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle pegIFN HCV inhibisyonunda daha etkili olup tedavi sonrası kalıcı yanıtı da arttırmaktadır. Kullanım kolaylığı ve daha etkili olması nedeni ile pegIFN hem monoterapi hem de kombinasyon tedavisinde standart IFN'nin yerini almıştır (45).

IFN çeşitli vücut sıvılarında inaktivasyon, hücrel "uptake" ve özellikle böbrek, karaciğer, kalp, iskelet kası ve akciğer gibi organlardan metabolize edilerek atılır. Az miktarda biyolojik aktif IFN idrarla atılır. IFN tedavisi verilen hastalarda yan etkiler sık görülür. Yan etkiler birkaç hafta sonra azalır veya kaybolur. Tedavinin kesilmesine bile sebep olabilir.

İnterferon yan etkileri: Grip benzeri semptomlar, kemik iliği baskılaması (trombositopeni, nötropeni), psikiyatrik (anksiyete, konsantrasyon güçlüğü,

depresyon, deliryum, uyku bozukluğu, oryantasyon bozukluğu, libido azalması, intihara eğilim, psikoz), otoimmün bozukluk (otoantikör oluşumu, hipertiroidi, hipotiroidi), saç dökülmesi, döküntü, ishal, kilo kaybı, nöbet, duyma kaybı, pankreatit, interstisyel pnömoni, enjeksiyon yerinde kızarıklık, kaşıntı görülür.

İnterferona bağlı ateş, halsizlik, kas ağrısı, artralji, üşüme titreme gibi yan etkiler ilk dozda şiddetlidir, daha sonra şiddeti azalır. Genellikle 1–2 gün sürer, nadiren 2 haftadan uzun devam edebilir Asetaminofen kullanımı semptomların hafiflemesinde yararlıdır. Hastalar bol sıvı almalıdır. IFN ve PegIFN tedavisi verilen olgular yan etkiler açısından klinik ve laboratuvar olarak izlenmelidir (45).

2.1.8.5.Ribavirin

Ribavirin, DNA ve RNA virüslerine karşı geniş spektrumlu aktiviteye sahip guanozin analogudur. İn vivo olarak orta derecede ve geçici olarak HCV replikasyonunu inhibe eder.

Ribavirinin Etki Mekanizması;

- 1- Virüse karşı konağın hücresel immünesinin aktive edilmesi,
- 2- Hücre içi guanozin trifosfat havuzunun azalması, böylece inozin monofosfat dehidrogenaz enzim blokajı yoluyla viral replikasyonun azalması,
- 3- RNA'ya bağımlı RNA polimerazın inhibisyonu,
- 4- HCV genomu üzerinde hatalar meydana getiren bir RNA mutajeni olarak görev yapmasıdır (44).

Ribavirin karmaşık farmakokinetik özelliklere sahiptir. Oral alımı takiben gastrointestinal sistemden aktif olarak emilir. Daha sonra hızlı ve yoğun bir şekilde vücuttaki tüm hücrelere girer. Eliminasyon fazı sırasında plazma konsantrasyonu azaldığı için ribavirin hücre içinden hücre dışına geçerek ekstraselüler konsantrasyonu dengeler. Ribavirin hücre içinde fosforillenir ve ribavirin trifosfat baskın bir metabolit olarak birçok hücre tipinde bulunur. Fosforile ribavirin atılamayacağı için hücrelerden salınmadan önce defosforile olur. Defosforilizasyon kinetiği belirlenememiştir, fakat bu işlem oldukça yavaştır. Bu yavaş eliminasyon profili dışında ribavirin eritrositler içinde birikir. Ribavirinin eritrositlerdeki yarılanma ömrü 40 gündür. Eritrositler diğer hücrelerden farklı olarak

defosforilasyon enzimlerinden yoksundur, ribavirini defosforile edemez ve bu nedenle ribavirin eritrositler içinde birikir. Bunun sonucu olarak eritrosit yarıömrü kısalır ve hemolize neden olur. Ribavirin 200 mg lık tabletler halinde bulunmaktadır. Günümüzde uygulanan doz 1000–1200 mg arasında kiloya göre değişmektedir. <75kg olan hastalarda 1000 mg >75 kg olan hastalarda ise 1200 mg doz 12 saat arayla günde 2 kez kullanımı önerilmektedir (46).

Ribavirin teratojeniktir. Tedavi verilecek olan hasta ve eşine tedavi süresince hamile kalmaması konusunda uyarı yapılmalıdır ve bu süre boyunca doğum kontrol yöntemlerinden birisi uygulanmalıdır. Ribavirin eritrositlerde birikmesi nedeni ile hemodiyaliz hastalarında kullanımı kontrendikedir. Ribavirin kesin kontrendikasyonları arasında hemoglobinopati ve kalp yetmezliği de bulunmaktadır.

Ribavirin yan etkileri:

Hemolitik anemi, akciğerde konjesyon, kuru öksürük, dispne, kaşıntı, döküntü, gut, bulantı, ishal, teratojenite görülür. Bunlar içinde en önemlisi ve en çok tedaviyi sınırlayanı hemolitik anemidir. Ribavirin tedavisi sırasında %10 olguda doza bağımlı, geri dönüşümlü hemolitik anemi görülür. Eritrositlere girdikten sonra ribavirin, aktif formuna fosforile olur ve adenosin trifosfatın tüketilmesine yol açan bu durum, antioksidan mekanizmaların bozulmasına ve böylelikle membran oksidatif hasarına ve bunu takip eden retikuloendotelial sistem tarafından eritrositin yıkımına yol açar. İlk 4–8 haftada hemoglobin düzeyinde 2–3 g/dL düşme olabilir. Hemoglobin düzeyi 10 g/dL'nin altında tedavi yarıya indirilir, 8,5 g/dL'nin altında tedavi kesilir (47).

2.1.9. KHC İnfeksiyonunda Tedavi Yanıtının Değerlendirilmesi

Tedavi süresince ve tedavi sonrası dönemde biyokimyasal, virolojik ve tedaviye bağlı yan etkiler açısından çok iyi bir izlem gereklidir.

Biyokimyasal izlem

—Tedavi boyunca her ay, tedaviden sonra ilk altı ay süresince iki ayda bir, daha sonra yanıt veren hastalarda yılda bir ya da iki kez transaminazlara bakılmalıdır.

Virolojik izlem

—Genotip 1 ile infekte hastalarda başlangıçta kantitatif HCV-RNA düzeyi tespit edildikten sonra, onikinci haftada, tedavi sonunda ve tedavi bittikten sonraki yirmidördüncü haftada tekrar HCV-RNA bakılmalıdır.

—Genotip 2 veya 3 ile infekte olgularda ise tedavinin başında, tedavi bittikten sonraki 24. haftada HCV-RNA testi yapılmalıdır.

Tedaviye ilişkin yan etkilerin izlemi

— Tiroid fonksiyon testlerine 3 ayda bir, eğer daha önce fonksiyon bozukluğu saptanmışsa ayda bir bakılmalıdır.

— Hematolojik yan etkiler için ilk ay her hafta daha sonra ayda bir tam kan sayımı yapılmalıdır (39).

2.1.9.1. Kronik Hepatit C’de Tedaviye Cevap Kriterleri ve Tanımlamalar

Hızlı virolojik yanıt: Tedavinin dördüncü haftasında HCV-RNA’nın 50 IU/mL altına inmesidir.

Erken virolojik yanıt: Tedavinin onikinci haftasında HCV-RNA düzeyinin en az iki logaritma azalması veya negatifleşmesidir.

Yavaş virolojik yanıt: HCV-RNA’nın onikinci haftada en az iki logaritma düşmesi, ancak yirmidördüncü haftada negatifleşmesidir.

Tedavi sonu yanıt: ALT düzeylerinin normal olması (biyokimyasal yanıt), HCV-RNA’nın negatifleşmesi (virolojik yanıt)

Kalıcı virolojik yanıt: Hem tedavi bitiminde hem de tedaviden sonraki yirmidört haftalık izlem sonunda HCV-RNA’nın negatif devam etmesidir.

Yanıtsızlık: Tedavi süresince HCV-RNA’nın pozitif kalmasıdır.

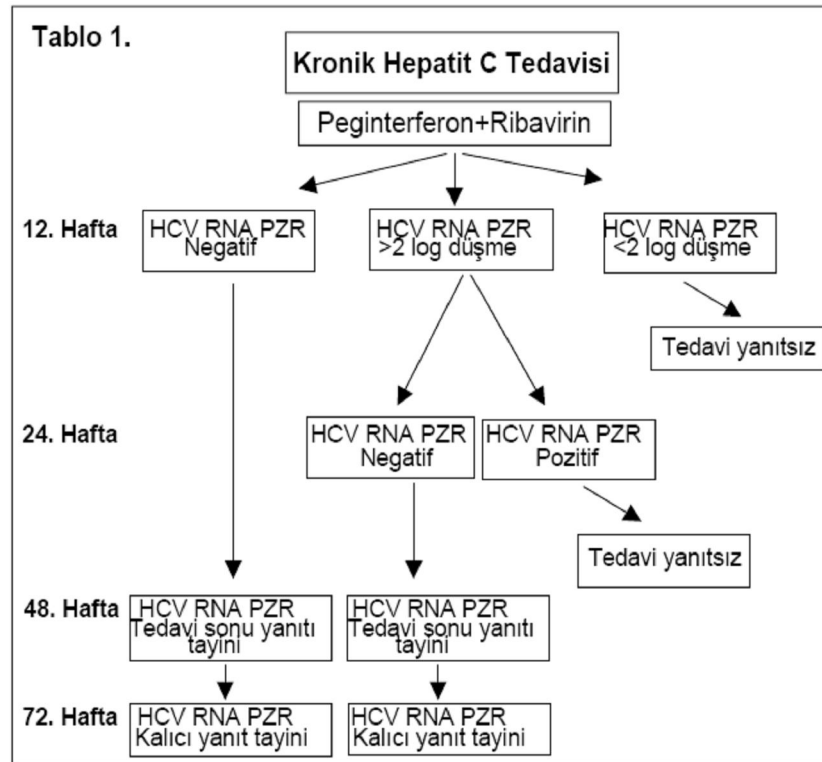
Kısmi yanıt: HCV-RNA düzeyinde iki logaritmadan fazla düşme olması fakat saptanamayan düzeylere inmemesidir.

Relaps: Tedavi sonu virolojik yanıt alınıp tedavi kesildikten sonra HCV-RNA’nın yeniden pozitifleşmesidir.

Tedavi altında alevlenme (breakthrough): Yanıtlı hastada tedavi devam ederken ALT yükselmesi ve HCV-RNA’nın pozitifleşmesidir (39,48).

KHC tedavisinde pegIFN ve ribavirin kombinasyonu tedavi süresi ve tedavi yanıtı genotipe ve virolojik yanıtla ilgili olarak değişmektedir. Tedavinin 12. haftasında erken viral yanıt alındığı takdirde tedavi süresi genotip 1 hastalarında 48 haftaya tamamlanır, genotip 2 ve 3 hastalarında 24 haftalık tedavi yeterli görülmektedir. 12. haftada PCR ile HCV-RNA negatifleşmemiş fakat 2 log düşmüş hastalarda da tedaviye devam edilerek 24. haftada HCV-RNA değerine tekrar bakılır. Bu hastaların tedavilerinin 24. haftasında HCV-RNA halen pozitif ise kalıcı yanıt beklenmemektedir. Tedavinin 12. haftasında HCV-RNA 2 log düşen hastaların tedavilerinin 24. haftasında HCV-RNA negatifleştiyse genotip 1 hastaların tedavileri 48 haftaya tamamlanır. Tedavi sonunda HCV-RNA negatif olan hastalar tedavi sonu yanıtı elde edilen hasta grubunu oluşturur. Tedavi sonu viral yanıt elde edilen bu olgularda, tedavinin bitiminden 24 hafta sonra yine HCV-RNA değerine bakılır ve HCV-RNA negatif kalmaya devam eden hastalarda kalıcı viral yanıt alınmış kabul edilir. Erken viral yanıt almamayan hastaların kalıcı viral yanıt şansı sadece %3 olmaktadır ve tedavinin devamı maliyet-etkin olmadığı için önerilmemektedir (49).

Tablo 2.1.1.Kronik Hepatit C tedavisi



2.1.9.2. KHC İnfeksiyonunda Kalıcı Virolojik Yanıt Olumlu Etkileyen Faktörler

Tedavi öncesi dönem

- 40 yaş altında olmak
- Kadın cinsiyet
- GGT düşüklüğü
- Vücut ağırlığının 75 kg'dan daha az olması
- Biyopside fibrozisin hafif olması (Histolojik aktivite indeksi ≤ 1)
- Karaciğer biyopsisinde steatoz olmaması
- Genotip 2 veya 3 infeksiyonu
- HCV RNA düzeyi 2 milyon kopya/ml veya 600 000 IU/mL'nin altında olması

Tedavi dönemi

- Erken virolojik yanıt alınması (12. haftada viral yükte 2 log azalma)
- Hastanın tedaviye uyumlu olması (43).

2.2. MULTİDRUG REZİSTANS GENİ

İlaç direncini açıklayan birçok hücresel mekanizma karakterize edilmiştir. Bu mekanizmalar, insan multi-drug rezistans ilişkili protein (MRP) tarafından ilaçların artan atılımı, ilaç hedeflerindeki değişimleri ve bileşiklerin artan detoksifikasyonunu içermektedir. MDR ürünü olan P-gp artmış salınımı bir MDR fenotipini oluşturur. Homozigot MDR fenotipini gösteren hücrelerde, bazı proteinlerin salınmasında artış olduğu bulunmuştur. Bunlardan biri; MDR-1 gen ürünü olan P-gp hücre membranında transmembranal olarak yerleşmiş olup substratlarının hücre dışına taşınmasını sağlayan ATP bağımlı bir taşıyıcı protein olarak görev yapar (8). P-gp oral ve intravenöz yoldan alınan ilaçların biyoyararlanımını azaltan faktörlerden biridir. İlaçların emilimini azaltabildiği gibi ilaçları dolaşımdan alarak safra ve intestinal lümene hepatositler ve enterositler yolu ile atmaktadır. Bundan dolayı, P-gp aktivitesini etkileyen ilaçlar birlikte uygulandıklarında bu ilaçların biyoyararlanımlarının değişebileceği düşünülmelidir (8).

MDR gen ailesi, ATP-bağlayan-kaset (ATP-bindingcassette=ABC) taşıyıcılar süper ailesinin bir alt üyesidir. ABC taşıyıcıları, ATP bağımlı transport görevini üstlenir. Toksik bileşiklerin atılması, besinlerin alınması, iyon ve peptitlerin taşınması ve hücre sinyal iletiminde görev alırlar (50).

MDR cDNA'nın klonlanması ile yapılan çalışmalar, insanda 2 küçük gen ailesi tarafından kodlandığını ortaya koymuştur. MDR1 ilaç transportunda görevli glikoproteinleri kodlayan genlerken, MDR2 ve MDR3 ilaç transportunda rol almayan glikoproteinleri kodlayan genleri içerir. P-gp'i kodlayan genler, 7. kromozomun 21q1 bandında yer alır. Memeli P-gp'i tek zincirli bir proteindir. Yaklaşık 1280 aminoasitten oluşur. Ağırlığı yaklaşık 141.462 daltondur. P-glikoprotein yapımının artması, hücre içi ilaç konsantrasyonunun azalması ile sonuçlanabilir (51).

MDR1 geninde gösterilmiş olan ait tekli nükleotid polimorfizmlerinden C3435T (ekson 26) ve G2677T (ekson 21) polimorfizmlerinin P-gp ekspresyon miktarında ve/veya fonksiyonunda değişimlere neden olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (9).

P-gp ekspresyonunu P-glikoprotein polimorfizmi etkilemektedir ve en sık exon 26 C3435T polimorfizmine rastlanmaktadır. P-gp ekspresyonunun yüksek olduğu durumlarda ilaçlara ve bazı maddelere karşı oluşan dirençten sorumlu olduğu düşünülmektedir (52). P-gp bu fonksiyonunu, membran permeabilite regülasyonu ile değil, hücre içinden dışına doğru ATP bağımlı pompa görevi yaparak sağlamaktadır (53).

P-gp'nin fosforilasyonu, ilaçların hücre dışına atılım mekanizmalarını regüle eder. P-gp eksprese eden hücreler, bir konsantrasyon gradiyentine karşı ilaç atabilir. P-gp aracılı ilaç transportu, membran potansiyelindeki elektriksel değişikliklerden etkilenmez ve bir proton gradiyentinden ve/veya membran boyunca proton hareketinden bağımsızdır (51).

Ekspresyon çalışmalarının yanında, ekspresyon seviyelerini etkileyen faktörlerin başında gelen polimorfizm çalışmaları da eş zamanlı olarak hız kazanmıştır. Günümüze kadar pek çok yayında MDR1 geninde en sık rastlanılan polimorfizmlerden C3435T ve G2677AT'nin MDR1 ekspresyonunu etkilediği

bildirilmiştir. Bu çalışmaların aynı zamanda etnik çeşitlilik gösterdiği ve farklı ırklardaki polimorfizmlerin etkilerinde değişiklik olduğu gözlenmiştir (54).

P-gp'nin normal dokulardaki ekspresyonu hücreleri toksik maddelerden korumaktadır. P-gp insanda böbreküstü bezlerinde yüksek oranda eksprese olurken, solunum epiteli, mide, kolon, pankreas, plasenta ve prostatda orta seviyede, beyin, kemik iliği, özofagus, kalp, düz kas, timus ve deride ise düşük seviyede eksprese olmaktadır (55). Özellikle ince bağırsak, santral sinir sistemi, karaciğer ve böbrek gibi ilaç emilimi, dağılımı ve atılımında rol oynayan dokularda yüksek oranda eksprese edilmesi P-gp'in substratı olan ilaçların farmakokinetiğinde ve toksikokinetiğinde kritik bir rol oynayabilme özelliği kazandırmaktadır. Aralarında çeşitli antineoplastikler, HIV proteaz inhibitörleri, immüsupresanlar, kardiyovasküler sistem ilaçları ve antimikrobiyal ilaçlar gibi klinik pratikte sıkça kullanılan ilaçların da bulunduğu birçok ilaç molekülü P-gp substratı olma özelliği göstermektedir. Günlük aldığımız gıdaların bileşenleri ve çevresel olarak maruz kaldığımız ksenobiyotiklerde P-gp substratı, aktivatörü ya da inhibitörü olabilmektedir. Bu bileşikler, P-gp'in dokulardaki aktivitesinde değişikliğe yol açabilmekte ve substratı olan ilaç ya da bileşenlerin farmakokinetik ve toksikokinetik parametrelerinde klinik açıdan önemli sonuçlara yol açabilecek değişiklikler (tedavi edici etkinliklerinde azalma veya toksik etkilerinde artış) meydana getirebilmektedirler (56,57).

P-gp'nin dokulardaki lokalizasyonu ve fonksiyonları Tablo 2.2.1 gösterilmiştir (58).

Tablo 2.2.1.P-gp'in Dokulardaki Hücresel Lokalizasyonu ve Fonksiyonları

Doku	Lokalizasyon	Fonksiyon
İnce barsak ve kolon	Epitel hücreleri apikal membran	İlaçların barsak içine sekresyonu
Karaciğer	Hepatosit kanaliküler membran	İlaçların safra içine sekresyonu
Böbrek	Proksimal tübül epitelial hücrelerinin apikal membranı	İlaçların tübül lümenine sekresyonu
Testis	Kapiller kan damarlarının endotelial hücreleri	Kan-testis bariyeri
Plasenta	Trofoblast	Ksenobiotiklerden Fetüsü korumak
SSS	Kan-beyin bariyerini oluşturan endotel hücrelerin luminal membranı	Ksenobiotiklerden SSS'i korumak

P-gp, substrat spesifitesi yüksek olan bir proteindir, diğer bir deyişle, birbirinden fiziksel ve kimyasal yönden çok farklı ilaçlar P-gp ile taşınabilmektedir. P-gp substratları farmakolojik etki kalıbına göre gruplandırılabilir. Bu şekildeki bir gruplandırma Tablo 2.2.2.'de sunulmaktadır (56).

Tablo 2.2.2. P-gp substratlarının farmakolojik etkilerine göre gruplandırılması

SUBSTRAT		İNHİBİTÖR	
Antiasitler	B-adrenoreseptör antagonistleri	Immunosupresanlar	Diverse İnhibitörleri
Simetidin	Carvedilol	Siklosporin-A	Verapamil
Ranitidin	Bunitrolol	Sirolimus	Kinidin
Antibiyotikler	Celiprolol	Takrolimus	Siklosporin
Eritromisin	Talinolol	Opioidler	Ketokanazol
Tetrasiklin	Rezerpin	Lorepamid	
Rifampisin	Ca kanal blokerleri	Morfin	
Levofloksasin	Diltiazem	Fentanil	
Antiemetikler	Mibefradil	Pentazosin	
Ondansetron	Antiaritmikler	Steroidler	
Antitümör ajanları	Digoksin	Deksametazon	
Paclitaxel	Digitoksin	Metilprednizolon	
Doksarubisin	Antihistaminikler	Aldesteron	
Daunorubisin	Feksofenadin	Progesteron	
Vinblastin	Terfenadin	Hidrokortizon	
Vinkristin	HIV Proteaz inhibitörleri	Kortizol	
Aktinomisin-d	Indinavir	Kortikosteron	
Etoposid	Nefinavir	Diğerleri	
Amprenavir	Saquinavir	Kolşisin	
Docetaxel		Fenotiazinler	
Imatinib		Ivermectin	
Teniposide		Domperidon	

P-gp inhibitörü ilaçlar, P-gp molekülüne bağlanmak için substrat ilaçla yarışır ve substrat ilacın yerine Pgp'ye bağlanırlar (kompetitif inhibisyon). Ancak bu mekanizmanın yanısıra hücre membranının bütünlüğünü bozarak (örn. Tween 80) ve ATP'az inhibisyonu yapılarak da (örn. kuersetin) P-gp inhibe edilebilir. P-gp inhibitörü ilaçların, tümör hücrelerindeki P-gp'yi inhibe etmesi ve antikanser ilaçların bu hücrelerde akümüasyonlarını artırması nedeniyle, P-gp inhibitörleri MDR modülatörleri veya tersine çevirici ajanlar olarak da adlandırılmakta ve böylece MDR modülatörleri, P-gp'yi inhibe etme kapasiteleri ile farmakodinamik etkilerden yoksun olma özellikleri göz önünde tutularak ilaçların etkinliklerini artırmak için prelinik çalışmalarda denenmektedirler (59).

MDR1 polimorfizmi değişik ilaç seviyeleri ile ilişkili bulunmasının dışında, Parkinson hastalığı, inflamatuvar barsak hastalıkları, serebral arter anevrizmalarının

da neden olduğu refrakter epilepsiler, HIV tedavisi sırasındaki CD4 hücre yenilenmesi gibi birçok hastalıkta anlamlı olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (8).

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamız; Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı ve Genetik Bilim Dalı'nda, 2009 ile 2010 tarihleri arasında Kronik Hepatit C nedeniyle tedavi edilen hastalarda MDR Gen polimorfizminin araştırılması amacıyla yapıldı. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan 29.05.2009 tarih ve 2009-06/22 numaralı kararı ile onay alınarak yapılan bir çalışmadır.

Çalışmaya, kronik hepatit C tanısı almış tedaviye yanıtız 21 hasta (9 erkek ve 12 kadın) ile kronik hepatit C tedavisine yanıt veren 19 hasta (10 erkek 9 kadın) ve nüks gösteren 15 hastadan (5 erkek 10 kadın) oluşan 55 kişi dahil edilmiştir. Çalışmada üç grup MDR1 geninde C3435T allel sıklığı açısından karşılaştırılırken, hasta grubunda mutasyon saptanan, saptanmayan ve normal olan üç grup oluşturuldu. Bu üç grupta, mutasyonun karaciğerdeki histopatolojik bulgular, fonksiyon testleri ve virolojik parametrelerle ilişkisi karşılaştırıldı.

3.1. HASTALARIN SEÇİMİ VE ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

ELISA yöntemi ile belirlenmiş anti-HCV pozitif ve PCR yöntemi ile belirlenen anlamlı HCV-RNA düzeyi (>50 IU/ml) olan hastalar çalışmada yer aldı. Hasta grubundan onay alınarak periferik kan örnekleri 1 ml EDTA içeren tüplerde biriktirilerek -20 C'de toplandı. Çalışmaya dahil edilen seropozitif HCV hastaları HAV, HBV, HDV ve HIV açısından seronegatifti.

Çalışmaya alınan hastalar; birinci grup, Kronik C hepatitinin tedavisi sırasında erken dönemde, yani 12. haftada HCV-RNA titresinde hiç düşme olmayan veya 2 log'dan daha az düşme olan hastalar tedaviye cevapsız (non responder) hastalar olarak kabul edildi. İkinci grup, 12 ay kronik hepatit C tedavisi almış tedavi sonu ALT değerleri normale gelmiş ve HCV-RNA titresini negatifleşmiş olan tedaviye cevap veren hastalar (responder) olarak kabul edilirken, üçüncü grup tedavi almış, tedavi sonunda HCV-RNA negatif hale gelmiş ancak 6 ay içinde HCV RNA tekrar pozitif hale gelmiş hasta grubundan (nüks) oluşturuldu.

3.2. GENETİK ANALİZ

Kullanılan cihaz ve kimyasallar

- 1) Hibridizasyon cihazı (profiblot T48, Tecan)
- 2) Thermal Cycler (Applied Biosystems, 2720)
- 3) Kuru ısı bloğu (CHB-202, Bioer)
- 4) Santrifüj (micro 120, Heltich)
- 5) 1000'lik, 200'lük ve 10'luk mikropipetler (Eppendorf ve Gilson)
- 6) DNA izolasyon kiti (Invitex, Invisorb spin Blood Kit)
- 7) PGX-HIV Strip Assay PCR ve hibridizasyon kiti (Vienna Lab)
- 8) Elektroforez (Biorad, midi)
- 9) Güçkaynağı (Biorad)
- 10) Taq DNA polimeraz (Fermentas)
- 11) Ethidium Bromide (EtBr)
- 12) TAE tamponu (Applichem)
- 13) Agaroz (Nu micropor, Prona)
- 14) Otoklav indikatörü
- 15) Tüp (K3-EDTA, Vacuette)
- 16) Eppendorf tüp (1.5, 2 ve 0.2 ml, Sarstedt)
- 17) Mikropipet uçları (beyaz, sarı ve mavi, Biosphere Filtler Tips)
- 18) Etil alkol (Merck)
- 19) Yükleme boyası (Fermentas)

DNA İzolasyonu

Bütün hastalardan genomik DNA izolasyonu periferik kan dokusundan yapıldı. Bunun için Invisorb Spin Blood DNA İzolasyon kiti kullanıldı. Yaklaşık 200ul periferik kan dokusunun kullanıldığı teknik sonrasında 30-50 ng/ μ l ultrapür DNA izole edilmektedir. (A260:A280 oranı 1,7-2 arası). İzolasyon için kullanılan kit içeriği aşağıdaki gibidir;

- 1) proteinaz K, 1ml (10ug/ μ l)
- 2) Lysis Buffer A, 15ml
- 3) Binding Buffer B6, 30ml
- 4) Eluotion Buffer D, 15ml
- 5) Yıkama tamponu I, 30ml (kullanmadan önce 30 ml %100'lük etil alkol eklenir.)
- 6) Yıkama tamponu II, 18ml (kullanmadan önce 42ml %100'lük etil alkol eklenir.)
- 7) 2.0ml'lik toplama tüpleri , 100 adet
- 8) 1.5ml'lik toplama tüpleri
- 9) Filtreler

Kan Dokusundan DNA İzolasyonu Protokolü

Çalışmadan önce örnek sayısına yetecek kadar eluotion buffer D 56°C'ye ısıtıldı. Kodlaması yapıldıktan sonra 1,5' luk ependorf tüpe 200 ul EDTA'lı kan, 200ul lysis buffer A ve 20 ul proteinaz K konuldu. Kapağı kapatılarak tüp 10 sn vortekslendi ve 56°C'de 10 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüp ortamında 400ul binding buffer B6 tüpe eklendi, 3-4 kez pipetaj yapıldıktan sonra lizatın tamamı filtreli toplama tüpüne aktarıldı. Filtre toplama tüpü daha sonra 3 dakika (dk) oda sıcaklığında inkübe edildi ve 12 000rpm'de 2 dk santrifüj edildi.

Filtre yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, üzerine 500ul wash buffer I eklendi ve 12000rpm'de 2 dk santrifüj edildi. Filtre üzerine 800ul wash buffer II eklenerek ve 12 000 rpm'de 1dk santrifüj edildi. Filtre üçüncü kez olarak 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, 14 000rpm'de 5dk santrifüj edilerek yıkama

tamponlarından gelen alkolden arındırıldı. Alkolden tamamen arındırmak için filtre dördüncü ve son kez yeni 1,5'lik tüpe yerleştirildi ve 3 dk kapağı açık biçimde oda sıcaklığında bekletildi.

Daha sonra filtre membranının tam ortasında 200µl eluotion buffer-D eklendi,5 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Filtreli tüp 10.000rpm'de 1 dk santrifüj edildi,filtredeki DNA çözültüsü tüpe toplama tüpüne aktarıldı, etiketlendi ve -20°C'de çalışmak üzere muhafaza edildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

MDR1 geninin amplifikasyon için Vienna Lab PGX-HIV PCR amplifikasyon kiti kullanıldı.Kit bir amplifikasyon karışımı (MDR1 gen bölgesine ait biyotin işaretli primerler, ve diğer amplifikasyon için gerekli bileşenleri içerir)ve taq DNA polimeraz tamponundan oluşmaktadır.

PCR mastermiks,her hasta için etiketlenmiş 0.2 ml ependorf tüp ortamı;

Amplifikasyon karışımı	: 15µl
Taq DNA polimeraz seyreltici tapon	: 4,6µl
Taq DNA polimeraz	: 0,4µl
Kalıp DNA	: 5µl
Toplam hacim	: 25µl şeklinde hazırlandı.

Multipleks PCR koşulları aşağıdaki gibi ayarlandı:

95°C 'de.....2dk (ilk denaturasyon)

95°C'de.....15sn (denaturasyon)

56°C'de30 sn (bağlanma)

72°C'de.....30 sn (uzama)

72°C'de.....3dk (son uzama)

Elde edilen PCR ürünleri strip test tekniğinde değerlendirilmek üzere +4°C'de saklandı.

Agaroz Jel Elektroforezi

Hibridizasyon işleminden önce elde edilen PCR ürünleri (4 µl) öncelikle %1'lik elektroforezde başarılı amplifikasyonlar açısından değerlendirildi. Başarılı amplifikasyon elde edilen PCR ürünlerinden 10 µl ürün Souther Blot analiz için kullanıldı.

Revers-Hibridizasyon (Southern Blot)

Southern Blot analiz için Revers-hibridizasyon ProfiBlot T48 (Tecan) hibridizasyon cihazı kullanıldı. Revers-hibridizasyon, biyotin işaretli primerler çoklu (multiplex) polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında oluşan ürünlerin nitrosellüloz membranlar (stripler) üzerindeki kendi komplementer zincirlerine bağlanması ve bir konjugat-substrat reaksiyonu oluşturması esasın dayanan bir tekniktir.

Revers Hibridizasyon basamakları ve kullanılan solüsyonlar

Strip test tekniğinde Revers Hibridizasyon 3 temel basamaktan ibarettir;

1) Strip üzerindeki problemler ve PCR ürünlerinin bağlanması-hibridizasyon

Cihazın örnek yükleme bölgesinde (treys) yüklenen 10µl PCR ürünü kitle birlikte sağlanan 10µl DNAT (NaOH içerikli bir denatürasyon solüsyonu) solüsyonu kullanılarak denatüre edildi. Treys strip yerleştirildi. Denatüre PCR ürünü ve strip, cihazın sallanan platformunda, 45°C de sıcaklıkta (yaklaşık) 1 ml hibridizasyon tamponu ile 20 dk inkübe edilerek strip PCR ürünü hibridizasyonu sağladı. Hibridizasyon solüsyonu aspire edilerek ortamdan uzaklaştırıldı.

2) Yıkama

Hibridizasyon sonrasında ortamda bulunması istenmeyen PCR ürünleri ve nonspesifik bağlanma yapan oligonükleotidler kuvvetli bir yıkayıcı olan yıkama solüsyonu A (1ml) ile 45°C'de 15 dakikalık üç yıkama periyodu ile ortamdan uzaklaştırıldı.

3) Renk Oluşumu

Stripler oda sıcaklığında 1ml konjugat solüsyonu ile 15dk inkübe edilerek konjugat solüsyonu içinde bulunan streptavidin-alkalan fosfataz, biyotin işaretli hibrit DNA fragmentlerine bağlanması sağlandı.

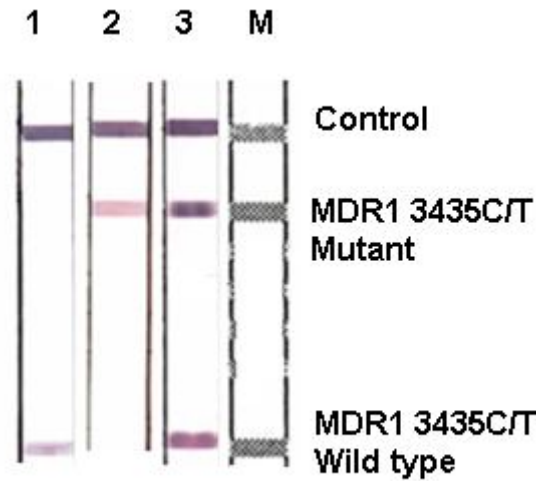
Konjugat solüsyonunun artıkları daha yumuşak bir yıkama solüsyonu olan yıkama solüsyonu B ile 10,5 ve 5 dakikalık üçer periyotta temizlendi. Strip üzerindeki

hibridize olmuş bantların görülür hale gelebilmesi için ortalama 1 ml alkalan fosfatazın substratı olan nitro blue tetrazolium (NBT) ve 5-bromo-4-kloro-3-indolil fosfatdan (BCIP) oluşan renk geliştiricisi (color developer) eklendi, oda sıcaklığında 15 dk inkübasyona tabi tutuldu Strip son olarak distile su ile yıkandı, kağıt havlu ile özenle kurutulduktan sonra değerlendirme tablosuna (Collector) özenle yerleştirildi.

Striplerin Değerlendirilmesi:

Her stripin üst tarafında kırmızı ve alt tarafında yeşil bir belirteç bulunmaktadır. Bunun dışında hibridizasyon sonrası stiplerin değerlendirmeye alınabilmesi için kontrol bantının oluşmuş olması gerekmektedir. Kontrol bantları oluşmamış stripler değerlendirilmeye alınmadı.

Yabani tip gen bölgelerine ait prob stripin alt kısmına, mutant gen bölgelerine ait prob ise stripin üst kısmında sinyal verecek şekilde dizayn edilmişlerdir. Hibridizasyon sonrası yabani tip bantların mevcut olduğu ve mutant gen bölgelerine ait bantların bulunmadığı bir strip profili hastanın mutasyona sahip olmadığını gösterir. Mutant gen bölgelerinde ait bantlardan sinyal alınıyorsa sinyal alınan mutasyonun yabani tip kodonuna bakılarak saptanan mutasyonun homozigot ya da heterozigot olma durumuna karar verilir. Mutasyonun yabani tip gen bölgesini gösteren bantın mevcut olması mutasyon **heterozigot**, mevcut olmaması durumunda ise **homozigot** olarak değerlendirilir



Şekil 3.1. Striplerin Değerlendirilmesi

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmamızın verileri SPSS (ver:14,0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi, Man Whitney U testi, çok gözlü düzenlerde ki-kare testi ve Wilcoxon testi kullanılmış. Verilerimiz tablolarda aritmetik ortalama \pm standart sapma, birey sayısı ve yüzdesi şeklinde belirtilip yanılma yüzdesi 0.05 olarak alınmıştır.

4.BULGULAR

Çalışmaya alınan hastalar; birinci grup, Kronik C hepatitinin tedavisi sırasında erken dönemde, yani 12. haftada HCV-RNA titresinde hiç düşme olmayan veya 2 log'dan daha az düşme olan hastalar tedaviye cevapsız (non responder) hastalar olarak kabul edildi. İkinci grup, 12 ay kronik hepatit C tedavisi almış tedavi sonu ALT değerleri normale gelmiş ve HCV-RNA titresini negatifleşmiş olan tedaviye cevap veren hastalar (responder) olarak kabul edilirken üçüncü grup tedavi almış, tedavi sonunda HCV-RNA negatif hale gelmiş ancak 6 ay içinde HCV-RNA tekrar pozitif hale gelmiş hasta grubundan (nüks) oluşturuldu.

Birinci gruptaki hastaların yaş ortalamaları $59,1 \pm 10,84$ olup birinci gruptaki hastaların %57,1'i kadın %47,92'u erkekten oluştu. İkinci grubun yaş ortalamaları $51,68 \pm 11,03$ ve ikinci gruptaki hastaların %47,4'ü erkek, % 52,6'sı kadındı. Üçüncü grup hastaların yaş ortalamaları $60,07 \pm 8,37$ olup üçüncü gruptaki hastaların %66,7 'si kadın %33,3'ü erkekti. Cinsiyet ve yaş yönünden gruplar arası fark önemsizdir ($X^2 = 2,53$, $p = 0,112$, $p > 0,05$).

Her üç grup arasında MDR1 CC (Wild type), CT (heterozigot) ve TT (homozigot) gen mutasyonları karşılaştırıldı. Tedaviye cevap vermeyen grupta 3 hastada (%14,2) MDR1 CC (Wild type), 9 hastada (%42,9) MDR1 CT (Heterozigot), 9 hastada (%42,9) MDR1 TT (Homozigot) gen mutasyonları saptandı. Tedaviye cevap veren grupta 6 hastada (%31,6) MDR1 CC(Wild type), 13 hastada (%68,4) MDR1 CT (Heterozigot) gen mutasyonları saptandı. Nüks gösteren grupta 2 hastada (%13,3) MDR1 CC (Wild type), 13 hastada (%86,7) MDR1 CT (Heterozigot) gen mutasyonları saptandı.

MDR1 TT (Homozigot) gen mutasyonları ve MDR1 CT (Heterozigot) gen mutasyonları yönünden gruplar değerlendirildiğinde sadece tedaviye yanıt vermeyen hasta grubunda anlamlı derecede MDR1 TT (Homozigot) gen mutasyonu olduğu görüldü. ($p=0,05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Gruplar arasındaki MDR gen polimorfizminin dağılımı

Genotip	Tedaviye cevap vermeyen (n:21)	Tedaviye cevap veren (n:19)	Nüks (n:15)
CC (Wild Type)	3 (%14.2)	6 (%31.6)	2 (%13.3)
CT (Heterozigot)	9 (%42.9)	13 (%68.4)	13 (86.7)
TT (Homozigot)	9 (%42.9)	0	0
Toplam	21 (%100)	19 (%100)	15 (%100)

$$X^2 = 19.26 \quad p = 0.001 \quad P < 0.05 \text{ Önemli}$$

Birinci grupta 9 hastada (%42,9) homozigot mutasyon, 9 hastada heterozigot mutasyon (%42,9), 3 hastada normal allel (%14,3) tespit edildi. İkinci grupta 13 hastada heterozigot (%68,4) mutasyon tespit edilirken, 6 hastada normal allel (%31,6) idi. Üçüncü grupta 13 hastada heterozigot (%86,7) mutasyon tespit edilirken, 2 hastada normal allel (%13,3) tespit edildi.

Her üç gruptaki bireyler genotiplere göre ikişerli olarak yüzde farkları karşılaştırıldı. Buna göre grup 1 ile grup 2 arasındaki en yüksek fark TT (homozigot) gen mutasyonunda izlendi (%42,9) ve bu fark anlamlı olarak bulundu ($p = 0.005$). Grup 2 ile grup 3 kendi aralarında karşılaştırıldığında en yüksek fark CT (heterozigot) genotipinde izlenmiş olup (%22,3) arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p = 0.010$). Grup 1 ile grup 3 kendi aralarında karşılaştırıldığında en yüksek fark CT (heterozigot) ve TT (homozigot) genotiplerinde görülmüş olup istatistiksel olarak karşılaştırma yapıldığında arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p = 0.213$). (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Gruplara göre elde edilen genotplerin ikişerli karşılaştırılması

P< 0.05 Önemli

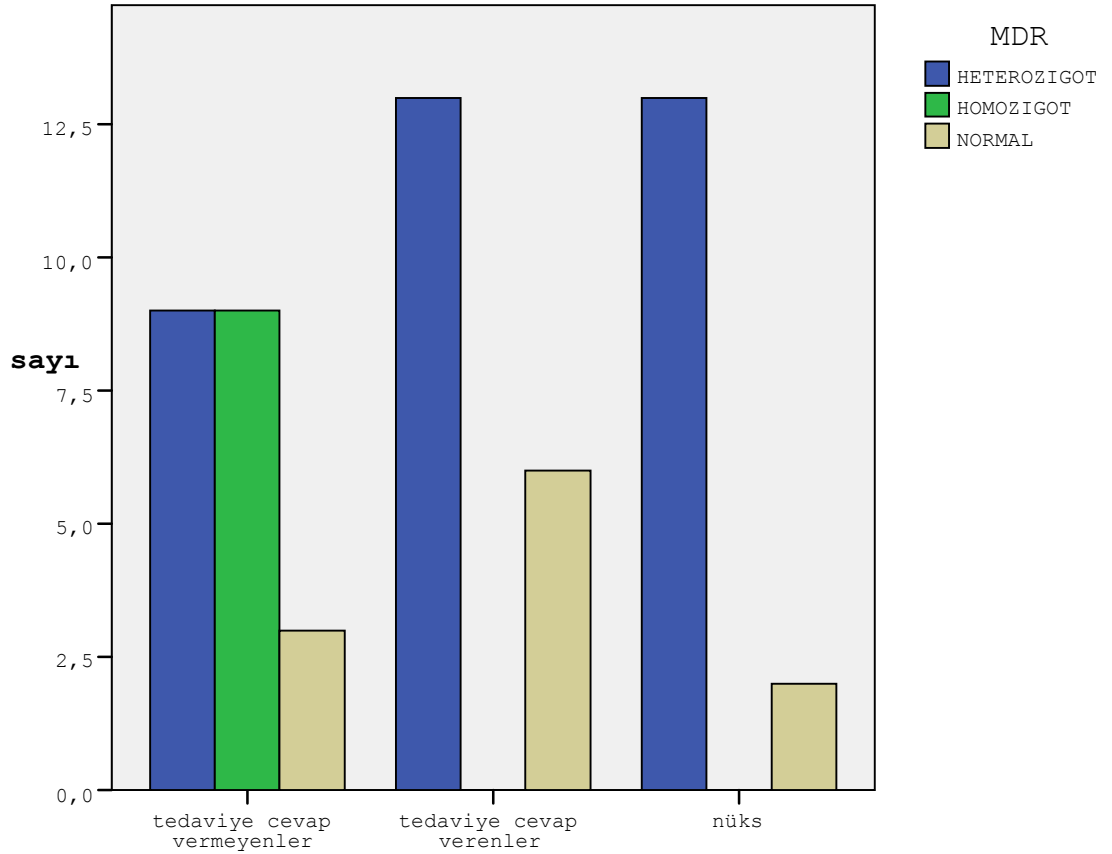
	Grup 1-2	p*	Grup 1-3	p**	Grup 2-3	p**
	% Fark					
CC	17.4	0.05	0.9	0.213	18.3	0.010
CT	15.5		43.8		22.3	
TT	42.9		42.9		0	

p* : Grup 1 ile 2 arasındaki fark

p** : Grup 1 ile 3 arasındaki fark

p***: Grup 2 ile 3 arasındaki fark

Her üç gruptaki bireyler MDR1 gen polimorfizmine göre karşılaştırıldığında gruplar arası fark anlamlı bulunmuştur (p<0.05). Buna göre nüks gösteren bireylerde ve tedaviye cevap verenlerde daha fazla oranda heterozigotluk görülürken, tedaviye cevap vermeyen hastalarda daha fazla oranda homozigotluk saptanmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1.Grupların kendi içlerinde MDR1 gen dağılımı

Tedaviye cevap vermeyen hasta grubunda tedavi öncesi viral yük (HCV-RNA) $4.7 \times 10^6 \pm 1.0 \times 10^6$ IU/ml şeklindeyken; tedaviye cevap veren hasta grubunda $2.7 \times 10^6 \pm 5.4 \times 10^5$ IU/ml ve nüks gösteren grupta ise $5.7 \times 10^6 \pm 1.0 \times 10^6$ IU/ml idi. Çalışmaya alınan gruplar arasında tedavi öncesi viral yük değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan fark önemsiz bulunmuştur ($p=0,366$).

Gruplar tedavi sonrası HCV-RNA değerlerine göre karşılaştırıldığında tedaviye cevap vermeyen hastalarda viral yük $4.5 \times 10^6 \pm 1.3 \times 10^7$ IU/ml, nüks gösteren grupta $4.6 \times 10^6 \pm 7.4 \times 10^6$ IU/ml şeklindeyken tedaviye yanıt veren grupta 0 şeklindeydi. Bu grup tedaviye tamamen cevap verdiği için yalnız tedaviye yanıt vermeyen ve nüks grup tedavi sonrası viral yük açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark önemsiz bulunmuştur ($p=0.213$).

Tedaviye cevap vermeyen hasta grubunda Histolojik aktivite indeksi (HAI) (5.65 ± 1.22) iken tedaviye cevap veren hasta grubunda (5.66 ± 1.53) ve nüks grubunda ise (5.10 ± 2.60) olarak saptandı ve aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0.396$).

Gruplar fibrozis açısından karşılaştırıldığında tedaviye cevap vermeyen grupta 2.25 ± 1.83 şeklindeyken tedaviye cevap veren grupta 2.38 ± 2.09 ve nüks gösteren grupta da 2.40 ± 2.11 olarak tespit edildi. Ancak aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0.999$).

Gruplara ait ALT değerleri karşılaştırıldığında tedaviye cevap vermeyen grup ile tedaviye cevap veren grup arası farklılık ile tedaviye cevap veren grup ile nüks gösteren grup arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p=0.017$).

Hasta gruplarının mutasyon, histopatolojik ve bazı laboratuvar değerler arasındaki ilişki Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Hasta gruplarının histopatolojik ve laboratuvar bulgularla mutasyon arasındaki ilişki

HCV hasta grubu	Tedaviye cevap vermeyen	Tedaviye cevap veren	Nüks	P
Viral yük (IU/ml)	$4.7 \times 10^6 \pm 1.01 \times 10^6$	$2.7 \times 10^6 \pm 5.45 \times 10^5$	$5.7 \times 10^6 \pm 1.02 \times 10^6$	0,366
HAI	5.65 ± 1.22	5.66 ± 1.53	5.10 ± 2.60	0.396
Fibrozis	2.25 ± 1.83	2.38 ± 2.09	2.40 ± 2.11	0.999
ALT	62.57 ± 44.39	32.84 ± 28.10	60.20 ± 50.70	0.017

5. TARTIŞMA

Hepatit C virusu, dünya çapında 170 milyondan fazla enfekte kişiyle kronik karaciğer hastalığının başta gelen nedenidir. Virüse maruz kalan kişilerde çoğunlukla (%50-80) fibrozis, siroz ve/veya hepatoselüler karsinoma neden olan kronik hepatit gelişimiyle sonuçlanan kronik enfeksiyon gelişir. Ancak kronik inflamasyonun şiddeti ve hastalığın progresyon hızı oldukça değişkendir. Kronik hepatit C hastalarının (KHC) %20-30'u, 20-30 yıllık süre içerisinde siroza ilerlerken bunların %1-5 de zaman içinde HCC gelişebilmektedir (6).

KHC enfeksiyonu tedavisinde primer amaç HCV'nin eradikasyonudur. Daha önceleri tedaviye yanıtı takipte transaminaz düzeylerinin normale inmesi hedeflenmekte iken şimdi HCV-RNA'nın serumdan kaybolması temel alınmaktadır. Tedaviye rağmen yine de relapslar görülebilmekte ve karaciğer dokusundan HCV RNA'nın kaybolması yok denecek kadar az olmaktadır. Bundan dolayı KHC hastaları için kronik hepatitten siroza ilerlemeyi ve karaciğerdeki inflamasyonu geciktirmek, karaciğer kanseri gelişme riskini, karaciğer transplantasyonu gereksinimi ile ekstrahepatik belirtileri azaltmak ve diğer kişilere bulaşı önlemek gibi sekonder tedavi hedefleri ortaya konmuştur (60).

Hepatit C nin güncel standart tedavisini ilk olarak interferon alfa 2a ve 2b oluşturmuştur. Daha sonra ribavirinin bulunuşu ile tek başına klasik interferonun elde ettiği %10 luk kalıcı virolojik cevap oranı % 40 lara kadar çıkmıştır. İnterferonlar ilk defa virüsün tanımlanmasından 3 yıl önce 1986 yılında nonA-nonB hepatitin tedavisinde uygulanmıştır. Tek başına IFN tedavisinde kalıcı cevap oranı yaklaşık %10–20 iken, 1998 yılında başlanan IFN+Ribavirin uygulaması ile tek başına IFN uygulamasına göre iki katın üzerinde kalıcı cevap sağlanmıştır. Böylece bu kombinasyon uzun süre standart tedavi olarak uygulanmıştır. Kronik C hepatit tedavisinde önemli gelişme PegIFN'un elde edilmesidir. Bu ilaç sayesinde IFN'un yarılanma ömrü uzatılmıştır (42).

Artan klinik çalışmalar, PegIFN'nin standart IFN'den daha etkin olduğunu göstermiştir. Bu nedenle PegIFN, hepatit C tedavisinde standart IFN'nin yerini almıştır.

KCH'li hastalarda Fried ve ark.(43) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada 48 hafta uygulanan standart IFN ribavirin kombinasyonu ile pegIFN ribavirin kombinasyonu karşılaştırılmış olup kalıcı virolojik yanıtın pegIFN kullanılmasıyla % 44'ten % 56'ya çıktığı görülmüştür. Yine bu çalışmada genotip 2 veya 3 ile enfekte hastalarda pegIFN ribavirin kombinasyonu ile kalıcı yanıtın %76'ya ulaştığı bildirilmiştir (43).

Tüm çalışmalar PegIFN ve ribavirin kombine tedavisinin, PegIFN monoterapisine belirgin üstünlüğünü göstermiştir. Bu nedenle hepatit C tedavisi mutlaka kombine olmalıdır. Halen kronik hepatit C de standart tedavi PegIFN α + Ribavirin kombinasyonudur. Tedavinin hedefi tedavi bitiminden 24 hafta sonra HCV-RNA'nın saptanamadığı kalıcı cevabın elde edilmesidir. PegIFN (PegIFN-alfa2a, PegIFNalfa2b) + Ribavirin tedavisi ile genotip 1 hastalarında %46- %50, genotip 2-3 hastalarında %70-80, genotip 4 hastalarında %40-50 kalıcı cevap sağlanmaktadır (42).

Kronik hepatit C'de antiviral tedavinin etkinliği artmış olsa da, mevcut tedavilere yanıt alınmaması hala yaygın olarak karşılaşılan bir durumdur. Tedaviye yanıtı etkileyen bazı faktörler bulunmaktadır. Tedaviye yanıtı olumsuz yönde etkileyen faktörler HCV genotip1 ve 4, obezite, yüksek viral yük, 40 yaşından büyük olma, erkek cinsiyet, histolojide ciddi ve belirgin fibrozis veya siroz saptanması, ırk, yüksek serum ferritin düzeyleri iken genotip 2-3 kadın cinsiyet, düşük viral yük ise tedaviye yanıtı olumlu olarak etkileyen önemli faktörlerdir. Alkol tüketimi HCV enfeksiyonunu kötü yönde etkiler ve progresyonu artırır. Yoğun alkol alan hastalarda kalıcı viral yanıt oranları azalmaktadır. İdeal olarak hastaların günde 10g'dan daha az alkol almaları önerilir (61).

Bütün bunların dışında başarı tedaviye uyumla da ilgilidir uyum arttıkça tedavi yanıtı artar. Bazı hasta uyumsuzluğu tedavinin toksik yan etkileri nedeni ile olabilir bu durumda örneğin ilaç dozu azaltılabilir ancak uyum da asıl olan odak ilaç değil hastanın kendisidir. Hutchison ve ark. (62) yaptıkları bir çalışmada tedaviye

uyumun yanıt üzerindeki etkisini değerlendirdiler. Kombinasyon tedavisi alan hastalar, analiz için iki gruba ayrıldı;

1) 80/80/80 alt grubu: tedaviye uyumu %80 olan hastalar (yani total IFN dozunun \geq %80'ini, ribavirin dozunun \geq %80'ini, tedavi süresinin \geq %80'ini tamamlayan).

2) <80/<80/80 alt grubu: doz indirimi yapılan hastalar (ilaçlardan biri ya da ikisini < %80 alan, tedavi süresinin \geq %80'ini tamamlayan). Planlanan ilaç dozunun ve tedavi süresinin %80'ini tamamlamak, bir tedaviye uyum kriteri olup, HIV, antihipertansif ve oral uygulanan kanser ilacı tedavileri gibi diğer farmasötik ajanların etkinliğini değerlendiren tanımlardan alınmıştır. Tedaviye uyumun, özellikle tedavisi en zor hasta grubu olan genotip 1 ile infekte hastalarda, kalıcı viral yanıtı belirgin olarak artırdığı saptandı. Bu durum, genotip 2 veya 3 ile infekte hastalarda belirgin olarak gözlenmedi. Erken doz indirimi ve kalıcı yanıt oranlarının düşmesi arasında bir yakınlaşma gözlenmiş olup, bu yakınlaşma tedavinin geç aşamalarında doz indirimi gerekmiş olan hastalarda daha az belirgindi (62).

Obesite ve steatoz da tedaviye yanıtızsızlığı etkileyen faktörlerdendir. Adinolfi ve ark. (63) yaptıkları bir çalışmada, steatozun kronik hepatit C'de karaciğer hasarının progresyonunu hızlandırdığı ve HCV genotip ve visseral obeziteyle ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Visseral obezite ve genotip 3a'nın steatozun gelişiminde rol oynadığını, steatozun kronik hepatit C'de fibrozisin hızlanmasında ve karaciğer nekroinflamatuvar aktivitesinin artışında en önemli kofaktör olduğunu belirtmişlerdir. Vücut kitle indexinin genotip 1 ile infekte hastalarda steatozla ilişkili olduğunu bulmuşlardır (63).

Ayrıca hiperinsülinemi, interferonun etkisine direnç oluşturduğundan dolayı, HCV tedavisine alınan cevabı azaltır. Çünkü hiperinsülinemi, interferonun etkisini azaltabilir. Olasılıkla insülin direnci hepatik steatoz gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Poynard ve ark(64) tarafından 1428 naiv HCV'li hasta üzerinde yapılan bir çalışmada steatoz, yüksek trigiserid seviyesi, yüksek vücut kitle indeksi, yaş ve fibrozis derecesinin tedaviye yanıtızsızlıkla ilişkisi gösterilmiştir (64).

P-gp'nin kronik hepatit C tedavisinde kullanılan ilaçların dağılımında ve bu ilaçlara karşı oluşan dirençte rolü olabilir. MDR1 gen mutasyonu, hepatit C'li hastalarda tedaviye yanıt oranlarını etkileyebilir özellikle bu durum Ribavirin

açısından önem arz etmektedir. Bilindiği üzere interferona karşı bilinen bir direnç gelişimi yoktur. MDR1 geni ve P-glikoproteininin ilaç direncini artırdığı ve ilaçlara kişinin yanıtını değiştirdiği bilindiğinden kişilerin ilacı metabolize edebilme kapasitesini tahmin etmede kullanılabilir.

P-gp ilk defa Çin'de 1976 yılında Juliano&Ling tarafından hamster yumurtalık hücrelerinde kolşisin rezistansı için yapılan kültürde tespit edilmiş. 10 yıl sonra karsinoma hücrelerinden insan P-gp proteinini kodlayan ve MDR1 olarak adlandırılan bir gen izole edilmiştir (65).

Hastaların çeşitli MDR1 substratlarına karşı farklı tepkiler vermesini sağlayan MDR1 geninin 26. eksonunda yer alan C3435T polimorfizmi ilaç direnci açısından önemlidir. Bu polimorfizmin, MDR1 geninde herhangi bir aminoasit değişikliğine neden olmadan, MDR1 geni mRNA ekspresyonu ve P-gp aktivitesini çeşitli mekanizmalarla etkilediği düşünülmektedir. Bu mekanizmalardan ilkinde, C3435T polimorfizmi ile MDR1 geninde bulunan diğer polimorfizmler (promotor/enhancer bölgede bulunanlar, T129C veya G2677T/A gibi) arasında bir ilişki olduğu belirtilmektedir (66). İkinci mekanizmada, MDR1 C3435T polimorfizminin translasyonel etkinliği azaltabileceğinden söz edilmektedir. Üçüncü mekanizmada ise, bu polimorfizmin mRNA'nın işlenmesini ve translasyonel kontrolü değiştirdiği belirtilmiştir. Aynı zamanda C3435T polimorfizminin posttranskripsiyonel modifikasyonları etkilediği veya mRNA'nın işlenmesinde önemli olduğu düşünülen bir dizi ile bağlantılı olabileceği de düşünülmektedir. Bu polimorfizmin P-gp ekspresyon/ aktivitesini değiştirmesi kişinin tedaviye yanıtını etkileyerek ilaç direncinin gelişimine sebep olmaktadır (66).

İn vivo ve in vitro çalışmalar; P-gp'nin ilaçların emilim, dağılım, metabolizma ve itrahi ile ilaç-ilaç etkileşimlerinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Bununla ilgili invivo ve invitro çalışmalar mevcuttur. P-gp modülasyonu birçok hastalığın tedavisinde ilaçların etkinliğini artıracaktır ve ilaçların oral kullanımındaki yetersiz yanıt ortadan kalkacaktır.

P-gp normal sağlıklı hücrelerde böbrek, karaciğer ve gastrointestinal kanalın taşıyıcı epitelinde, farmakolojik bariyer fonksiyonu olan kan-doku bariyerinde (kan-beyin, kan-testis, kan-plesanta) , erişkin kök hücrelerinde immün sistem hücrelerinde çeşitli fizyolojik fonksiyonlara aracılık etmektedir;

1. Besinlerle alınan doğal toksinlerin emiliminin engellenmesi ve sistemik dolaşıma geçen doğal toksinlerin atılması.
2. Böbrek üstü bezlerinde, gebelikteki endometriümdan ve plasentadan kortizol, aldosteron ve kortikosteronun hücre dışına taşınması,
3. Kemik iliği hücreleri ve hematopoetik sistem hücrelerinin farklılaşmasından sorumlu peptidlerin hücre dışına taşınması
4. Hücre şişmesi ile aktive olan klor kanallarının aktivitesinin düzenlenmesi
5. Fosfotidilkolin gibi bazı fosfolipitlerin taşınması (50).

İlaç direnci olan hücrelerde MDR gen amplifikasyonu olup, RNA'larında yüksek oranda P gp'nin yapıldığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda insan P-gp'nin normalde karaciğer, böbrekler, ince ve kalın barsaklar, beyin, testis, kas dokusu, plasenta ve adrenal bezlerde eksprese olduğu ve tüm bu dokuları zararlı ekzojen toksik maddelere ve metabolitlere karşı koruduğu gösterilmiştir. Testis ve beyinde kapiller endotel hücre yüzeyinde bulunan P-gp, substratların ekstravasküler boşluğa transportunu sınırlandırır. Enterositlerin fırça membranında lokalize intestinal P-gp, substratların emilimini sınırlar P-gp fizyolojik açıdan kan beyin bariyeri geçirgenliğinin tayininde önemli rol oynadığı gibi birçok ilacın enerjiye bağımlı şekilde alımında da etkili olabilmektedir. Renal proksimal tübüllerin luminal membranında ve hepatositlerin biliyer kanaliküllerinde bulunan P-gp, toksik maddelerin idrar, safra ve barsak lümenine salgılanmasını hızlandırır (67–69).

Farmakogenetik çalışmalar, MDR1 geninin polimorfizmi ile P-gp'nin ekspresyonunun değişik etnik gruplarda farklılıklar gösterdiğini ispatlamışlardır (58). Şimdiye kadar MDR1 geninin 50 tek nükleotid polimorfizmi ve 3 insersiyon/delesyon polimorfizmi bulunmuştur. En sık görülen polimorfizim exon 26 da bulunan C3435T polimorfizmidir. Bu mutasyon şimdiye kadar tanımlanmış tek sessiz polimorfizmdir. Bu polimorfizm değişik insan dokularında değişen oranlarda P-gp ekspresyonunu etkileyebilir (70).

Ekspresyon çalışmalarından sonra P-gp'nin ekspresyon seviyelerini etkileyen polimorfizmlerin araştırılması gündeme gelmiştir. P-gp aktivitesinin değişebilirliği (polimorfizmler, inhibitörler ve indüktörler aracılığıyla) ve proteinin anatomik lokalizasyonları, substratı olan ilaçların farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini etkilemekte bazı ilaçlara direnç oluşumuna neden olmaktadır. P-gp

aktivitesinin değiştirilebilir olması, proteinin aktivitesinin artması ile direnç gelişen ilaç tedavilerine P-gp modölatörlerinin (ya da inhibitörlerinin) eklenebileceği konusundaki araştırmaları hızlandırmıştır (59).

MDR1 geninde ilk polimorfizm olan Gly185Val 1989 yılında insan adrenal hücrelerinde saptanmıştır. Daha sonra ise ilk sistematik tarama Hoffmeyer ve ark.(71). tarafından 2000 yılında 28 ekzonun taranması ile yapılmıştır. P-gp ekspresyonunu etkilediği rapor edilen ilk polimorfizm, ekzon 26'da bulunan ve herhangi bir aminoasit değişikliğine yol açmayan C3435T polimorfizmidir. Bu çalışmada TT3435 genotipi taşıyanlarda diğer genotipleri taşıyanlara göre duedonumda 2 kat daha düşük MDR1 ekspresyonu ve %50 daha yüksek plazma digoksin seviyeleri saptanmıştır (71).

Japon toplumunda yapılan çalışmalarda ise 3435. pozisyonda T aleli taşıyanlarda P-gp ekspresyonu artmış olarak saptanmıştır (72). Nakamura ve ark. (73). Sağlıklı bireylerden duedonum biyopsi materyalleri üzerinde yaptığı çalışmada, real-time RT-PCR metodu ile TT3435 genotipini taşıyanların CC3435 veya CT3435 genotiplerini taşıyanlara oranla daha yüksek MDR1 mRNA seviyeleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca, MDR1 mRNA konsantrasyonları ile CYP3A4 arasında ilişki saptanması üzerine, TT3435 genotipini taşıyan bireylerde CYP3A4 substratı olan maddelerin daha düşük duedenal emilime uğradıkları sonucuna varılmıştır (73).

P-gp yapımının artması, hücre içi ilaç konsantrasyonunun azalması ile sonuçlanabilir. P-gp kanserli hücrelerde gereğinden fazla üretilmekte ve bunun sonucunda; akut myelositer lösemide olduğu gibi tedaviyi ve prognozu kötü yönde etkilemektedir (74).

P-gp'nin yapılma miktarı ve fonksiyon bütünlüğü; farmakogenetiğini ve ilaçlarla etkileşimini etkileyebilir. Bu nedenle tedavi süresince, ilaç etkinliğinde ve toksisitesinde önemli bir rol oynamaktadır.

řu anki bilgimize göre literatürde HCV tedavisinde MDR1 gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu bilgiler ışığında; bu çalışmada kronik hepatit C hastalarında MDR1 gen polimorfizmi çalışıldı ve tedaviye yanıtızlıkta hastalarında bu gen mutasyonun sıklığı Kronik Hepatit C tedavisine yanıt veren bireylerle karşılaştırıldı.

Bu çalışmada hepatit C tedavisine yanıt vermeyen 21 hasta, tedaviye yanıt veren 19 hepatit C hastası ve nüks gösteren 15 hepatit C hastasının MDR1 gen polimorfizmlerinden P-gp ekspresyonu üzerine C3435T polimorfizmleri ile ilaç direnci araştırılmıştır.

Birinci grup hastaların yaş ortalamaları $59,1 \pm 10.8$ birinci gruptaki hastaların %57,1'i kadın %47,9'u erkek iken İkinci grubun yaş ortalamaları 51.68 ± 11.03 . İkinci gruptaki hastaların % 52,6'sı kadın, %47,4'ü erkek ve üçüncü grup hastaların yaş ortalamaları 60.07 ± 8.37 üçüncü gruptaki hastaların %66,7'si kadın %33,3'ü erkekti. Cinsiyet ve yaş yönünden gruplar arası fark önemsizdir ($X^2 = 2.53$, $p = 0.112$, $p > 0.05$).

Birinci grupta 9 hastada (%42,9) homozigot mutasyon, 6 hastada heterozigot mutasyon (%42,9), 3 hastada normal allel (%14,3) tespit edildi. İkinci grupta 13 hastada heterozigot (%68,4) mutasyon tespit edilirken, 6 hastada normal allel (%31,6) idi. Üçüncü grupta 13 hastada heterozigot (%86,7) mutasyon tespit edilirken, 2 hastada normal allel (%13,3) tespit edildi. .

Her üç gruptaki bireyler MDR1 gen polimorfizmine göre karşılaştırıldığında gruplar arası fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Buna göre nüks gösteren bireylerde ve tedaviye cevap verenlerde daha fazla oranda heterozigotluk görülürken, tedaviye cevap vermeyen hastalarda daha fazla oranda homozigotluk saptanmıştır. Bu durum İnterferon + Ribavirin tedavisine yanıt vermeyen hastalar hakkında MDR1 TT genotipi prediktif bir gen olabilir.

Tischler ve ark.(75) MDR1'in beyin dokusundaki artmış ekspresyonunu göstererek antiepileptik ilaçların beyin dokusuna geçişinin sınırlandırılması sonucu epilepsi hastalarındaki ilaca cevapsızlığı açıklamışlardır. Fokal kortikal displazili olgularda saptanan beyin kan damarlarını çevreleyen glial hücrelerdeki artmış P-gp ekspresyonu, ikinci bir bariyer olarak düşünülmektedir (75).

Renal transplant geçirmiş siklosporin tedavisi altındaki hastaların CC, CT ve TT genotip dağılımları ile terapötik konsantrasyonunu sağlamaları için gereken siklosporin A dozu ve akut rejeksiyon hızları karşılaştırıldığında herhangi bir fark saptanmamıştır. İlaçların toksik etkileri ile genotipik dağılımları arasındaki ilişki değerlendirildiğinde TT genotipinin siklosporin nefrotoksitesi gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir (76).

Hem ekspresyon çalışmalarında, hem de ekspresyon üzerine polimorfizmlerin etkilerini araştıran çalışmalarda karşıt bulgular bulunması, bu çalışmaların farklı toplumlarda yapılmış olması nedeni ile polimorfizmlerin etkilerinin etnik farklılık göstermesi ile açıklanabilir (66).

P-gp'nin klinik olarak önemi çoklu ilaç direncini engellemek ve yenmek üzerine kuruludur. Yapılan çalışmalar P-gp'nin fonksiyonel aktivitesini inhibe etmek ve/veya ekspresyonunu inhibe etmek üzerinedir. İlk kez Tsurua ve ark (77) yaptığı bir çalışmada MDR fenotipine sahip P-gp pozitif fare lösemik hücrelerinde trifluperazon ve verapamil kullanımı ile vinkristinin hücre içinde biriktiği gösterilmiş ve P-gp ilişkili çoklu ilaç direncinin tersine çevrilebileceği gösterilmiştir (77).

Yine bu konuda özellikle anti MDR-1 oligonükleotidleri ile P-gp ekspresyonu ve fonksiyonunun azaltılması veya staurosporin gibi protein kinaz C inhibitörleri ile MDR-1'in ekspresyonunun azaltılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır (78).

Kalsiyum kanal blokerleri, kalmodulin inhibitörleri, immunosupressif ajanlar, kinolonlar, indol alkaloidleri, deterjanlar, steroidler, ve antiöstrojenler gibi birçok toksik olmayan ilaçlar ile P-gp'nin pompalama görevi inhibe edilerek sitostatik ilaçların hücre içinde birikme fonksiyonlarının geri döndürülebildiği gösterilmiş, bazıları tedavide kullanılmaya başlanmıştır. İnsanlardaki klinik çalışmalar göstermiştir ki, bir P-gp substratı olan digoksin ile P-gp inhibitörü olan kinidin eş zamanlı kullanıldığında, kinidin digoksinin serum konsantrasyonunu arttırmıştır (79).

P-gp substratının bilinen örneklerinden olan rifampin P-gp'i artırır ve bu da digoksin ve talinolol gibi ilaçların plazma konsantrasyonlarını azaltır. Bu eş zamanlı kullanılan ilaçların, P-gp fonksiyonunu modifiye ettiğini gösterir. Tedavide sıkça kullanılan P-gp substratlarının bu durumu ilaç-ilaç etkileşimi konusunda potansiyel bir sorun oluşturmakta ve önem arz etmektedir (66).

MDR-1 (P-gp) ekspresyonu gösteren tümörlerde en çok denenen yaklaşım, verapamil veya siklosporin A ile P-gp ilaç atım fonksiyonunun blokajıdır. Dirençli myeloma, lenfoma ve AML'de verapamil veya siklosporin uygulananın kür oranlarını değiştirmediği ancak başlangıçtaki yanıtın ve histolojik sonuçların daha iyi olmasını sağladığı gösterilmiştir (51).

Adriamisine dirençli osteosarkom hücre kültürlerine siklosporin, verapamil ve trifluoperazin uygulanarak kemoterapi direncinin değiştirilmesi denenmiş ve verapamil ile trifluoperazinin, P-gp pozitif hücrelerde adriamisine olan direnci ortadan kaldırdığı gözlenmiştir (80).

MDR1 C3435T genotipleri arasındaki ilişkiler, P-gp ekspresyonu ve fonksiyonu, çoklu ilaç direncinin yanısıra hastalıklarla da ilişkili bulunmuştur. Genotip-bağımlı P-glikoprotein ekspresyonunun belirli bir hastalığa katkıda bulunduğu hipotezi kabul edilebilir (66).

Schwab ve ark (81) 3435TT olgularında bariyer fonksiyonun bozulması sonucu ülseratif kolit gelişiminin mümkün olabileceğini rapor etmişlerdir. Dahası onların çalışması MDR1 3435T genotipine sahip bireylerin ülseratif kolite yakalanma riskinin 2 kat arttığını göstermektedir. Bu genotipe sahip bireylerde daha az olan P-gp ekspresyonu intestinal bakterilere karşı savunmayı azaltmakta ve ülseratif kolit gelişimi için bir zemin hazırlamaktadır (81).

MDR1 genotipi AIDS'te hastalık riski ve tedavi sonucu açısından önemlidir çünkü bu hastalığın tedavisinde kullanılan HIV proteaz inhibitörleri P-gp'nin substratlarıdır. Dahası P-gp aynı zamanda CD56, CD8, CD4, CD19 pozitif hücreler ve diğer periferik kan mononükleer hücrelerinde eksprese olmaktadır. CD4 hücrelerinde HIV proteaz inhibitörlerinin hücre içi konsantrasyonları ve tedavi etkinliği değişik P-gp ekspresyonlarından etkilenmektedir. Doğrusu, birkaç çalışmada MDR1 genotipi ile antiretroviral tedavi güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Fellay ve onun yanındakiler 3435TT genotipine sahip hastalarda; 6 aylık antiretroviral tedavi sonrasında, belirgin CD4+ hücre artışı saptamışlardır bu hastalarda CT veya CC genotiplerine sahip olan bireylere göre daha az belirgin olan viral enfeksiyonu göstermişler. Sonuç olarak HIV tedavisinde TT genotipinin daha iyi cevap ve daha az oranda virus direnci ile veya C alelinin viral ve immun cevapta başarısızlıkla ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (82).

MDR1 tek nükleotid polimorfizmleri kan beyin bariyeri bölgelerindeki beyin kapillerinin endotelial hücrelerin etkileyerek, parkinson hastalığı için bir risk faktörü oluşturabilir. Parkinsonlu hastalar ile pestisite maruz kalmış, C3435T polimorfizmi arasında belirgin bir ilişki bulunmuştur (83).

Furuno ve ark. (84). parkinson hastalığının başlangıcındaki vakaların birçoğunun, 3435TT genotipindeki popülasyondan olduğunu göstermiştir. Bu nedenle MDR1 tek nükleotid polimorfizmleri kan beyin bariyerindeki hücrelerde P-gp ekspresyonunu düzenleyerek, potansiyel nörotoksik ajanların artmasına ve sonucunda parkinson hastalının erken başlangıcına ya da direk parkinson hastalığına neden olmaktadır (84).

Sonuç olarak insan MDR1 gen polimorfizmi P-gp ekspresyonunu değiştirip etkinlik ve toksisite açısından değişik klinik sonuçlara yol açabilir ve tedavinin bireyselleştirilmesi esnasında rasyonel doz ayarlaması açısından yön gösterici olabilir.

Bu tez çalışması tedaviye yanıtızlıkta MDR mutasyonunun önemini vurgulamaktadır. Tedaviye yanıtız Hepatit C hastalarında MDR1 genine ait C3435T polimorfizminin karşılaştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmaya katılan hasta sayısı az olmakla birlikte elde edilen ilk verilerde nüks gösteren bireylerde ve tedaviye cevap verenlerde daha fazla oranda heterozigotluk görülürken tedaviye yanıt vermeyen Hepatit C'li hasta grubunda istatıksel olarak anlamlı derecede MDR1 TT (Homozigot) gen mutasyonu olduğu görüldü. (p=0.05)

Ancak bu bulguların daha büyük serilerde çalışılması gerekmektedir. Bizim çalışmamızda her iki grup istenilen düzeyde tedaviye yanıt vermeyen hastalardı. Bu sonucun MDR mutasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülebilir.

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışması tedaviye yanıtızlıkta MDR mutasyonunun önemini vurgulamaktadır. Kronik Hepatit C hastalarında MDR1 genine ait C3435T polimorfizminin karşılaştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmaya katılan hasta sayısı az olmakla birlikte elde edilen ilk verilerde nüks gösteren bireylerde ve tedaviye cevap verenlerde daha fazla oranda heterozigotluk görülürken tedaviye yanıt vermeyen Hepatit C'li hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede MDR1 TT (Homozigot) gen mutasyonu olduğu görüldü. (p=0.05)

Ancak bu bulguların daha büyük serilerde çalışılması gerekmektedir. Bizim çalışmamızda her iki grup istenilen düzeyde tedaviye yanıt vermeyen hastalardı. Bu sonucun MDR mutasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülebilir.

Bu ön verilerden yola çıkılarak daha geniş hasta gruplarında tekrarlanacak olan analizler, halen ilaç tedavisine yanıtızlık sorununu içinde barındıran Kronik Hepatit C yönetiminde hem direnç patogeneziini açıklamamıza hem de bu yolla özellikle tedaviye yanıt vermeyen hastalarda neler yapılması gerektiği konusuna ışık tutacaktır. Bu konuda literatürde yer alan bilgi eksikliği de göz önüne alınırsa bu çalışmaya temel olan konunun uzunca bir süre daha çalışmaya açık olduğu görülmektedir.

Ayrıca C3435T polimorfizmi ile MDR1 genine ilişkin diğer polimorfizmlerin beraber çalışılması veya MDR1 gen analizinin yapılması gelecekte kişiye özgü tedavi yöntemlerinin uygulanmasında faydalı olabileceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Sherlock S, Dooley J. Hepatitis C Virus. Diseases of the Liver and Biliary System. Eleventh edition; 305-316, 2002.
2. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*; 34: 809-16, 2001.
3. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int.* 29 (Suppl 19): 74–81, 2009.
4. Sünbül M. HCV infeksiyonunun epidemiyolojisi ve korunma. Tabak F, Balık i, Tekeli E, ed' ler. *Viral hepatit 2007*. Birinci baskı, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını. İstanbul, ss 208–19, 2006.
5. Ökten A. Hepatit C giriş. Kılıçturgay K, Badur S, *Viral hepatit 2001*. Deniz Ofset, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını, ss 180–1 ,2001.
6. Seeff LB. Natural history of hepatitis C. *Hepatology Rev*; 2: 88–96, 2005.
7. Veldt BJ, Heatcote EJ, Wedemayer H. et al. sustained virologic response and clinical outcome with chronic hepatitis and advanced fibrosis. *Ann Intern Med*; 147:677–84, 2007.
8. Marzolini C, Kim RB. Polymorphisms in human MDR1 (p-glycoprotein); Recent advances and clinical relevance *Clin Pharmacol Ther.* Jan;75(1):13–33, 2004.
9. Ameyaw MM, Regateiro F, Li T, Liu X, Tariq M, Mobarek A. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics.*; 11 (3): 217-21, 2001.
10. Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to Genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther.* 297 (3): 1137–43, 2001.

11. Wandel C, Kim R.B, Kajiji S, Guengerich P, Wilkinson G.R, Wood A.J. P-glycoprotein and cytochrome P-450 3A inhibition; KHU0Y dissociation of inhibitory potencies. *Cancer Research*,59,3944–8, 1999.
12. Türkoğlu S. Hepatit C virusu: Viroloji ve seroloji. *Viral Hepatit 2003*. Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 186–198, 2003.
13. Miller R H, Purcell R H. Hepatitis C virus shares amina acid sequence similarity with pestiviruses and flaviviruses as well as members of two plant virus supergroups. *Proc Natl Acad Sci USA*;87,2057–2061, 1990.
14. Nakano I, Fukuda Y, Katano Y, et al. Interferon responsiveness in patients infected with hepatitis C virus1b differs depending on viral subtype. *Gut*; 49.263–267, 2001.
15. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virüs infection. *N Engl J Med*;345,41–52, 2001.
16. Bozdayı AM, Aslan N, Bozdayı G, Türkyılmaz AR, Sengezer T, Wend U,; Molecular epidemiology of Hepatitis B, C and D virus in Turkey. *Archives of Virology*: 149(11):2115–2129, 2004.
17. Aladağ M. Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da kronik hepatit C. 1. Doğu-Güneydoğu Anadolu Hepato-Gastroenteroloji Sempozyumu, 9–11 Kasım, Diyarbakır, Sempozyum kitapçığı, 18–23, 2001.
18. Iyosawa K, Sodeyoma T, Tonoha E et al. Hepatitis C in hospital employees with needlestick injuries. *Ann Intern Med.*; 115:367-369, 1999.
19. Panlilio AL, Shapiro CN, Schabl CA, et al. Serosurvey of immunodeficiencyvirus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus infection among hospital based surgeons. *JAmColl Surg*; 180:16-24, 1995.
20. Barut HŞ, Gunal O. Dünyada ve Ülkemizde Hepatit C Epidemiyolojisi *Klimik Dergisi*; 22(2): 38-43, 2009.

21. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis.*; 5(9): 558-67, 2005.
22. Aygen B. Kan ve Kan ürünleri transfüzyonu ile bulaşan infeksiyonlar. Doğanay M, Ünal S, (ed'ler). *Hastane İnfeksiyonları Kitabı*. 1. Baskı, Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara: 855-74, 2003.
23. Hauri AM, Armstrong GL, Hutin YJ. The global burden of disease attributable to contaminated injections given in health care settings. *Int J STD AIDS*. 15(1): 7-16, 2004.
24. Haptonstall J. Nosocomial transmission of bloodborne hepatitis viruses. V. Ulusal Viral Hepatit Sempozyumu (9-11 Kasım 2000, Ankara) Bildiri özet Kitabı. Ankara: Viral Hepatitle Savaşım Derneği: 64-7, 2000.
25. Lo Re III V, Kostman JR. Management of chronic hepatitis C. *Postgrad Med J*: 81.376-82, 2005.
26. Aygen B. Hemodiyaliz ünitelerinde hastane infeksiyonu kontrolü. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*: 10.52-62, 2006.
27. Moreira RC, Lemos MF, Longui CA and Granato C. Hepatitis C and hemodialysis: a review. *Brasilian J Infect Dis*: 9 (3): 269-75, 2005.
28. Avşar M, Tamer D, Avşar E, Çirakoğlu B. Damar içi madde bağımlılarında HCV infeksiyonu sıklığı ve genotipleri. IV. Ulusal Hepatoloji Kongresi, Haziran. Bildiri Kitapçığı, S:117, 2001.
29. Wejstal R. Sexual transmission of hepatitis C virus. *J Hepatol*;31.92-95. 1999
30. Roberts EA, Yeung L. Maternal-infant transmission of hepatitis virus infection. *Hepatology*. 36(5 Suppl 1): S106-13, 2002.
31. Mast EE, Hwang LY, Seto DS, et al. Risk factors for perinatal transmission of hepatitis C virus (HCV) and the natural history of HCV infection acquired in infancy. *J Infect Dis.*; 192(11): 1880-9, 2005.

32. Kandemir Ö., Elif Şahin E. Çamdeviren H, Kaya A.Hepatit C Virusu ve Aile İçi Bulaş T Klin Mikrobiyoloji-Enfeksiyon, 2:6-11, 2003.
33. Karaca Çetin, Epidemyoloji: HCV taraması için öneriler Hepatit C Güncelleme Toplantisi. İstanbul; Ocak: 23–6, 2008.
34. Şenturk H, Canbakan B, Yıldırım B. Hepatit C. Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım. İ.U. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Surekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyumu;38.151–157, 2004.
35. Alter M J, Kuhnert WL, Fihelli L: Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. MMWR; 52/RR-3:1 ,2003.
36. Tekeli E, Balık İ. Viral hepatit. S.189-193, 2003.
37. Dinçer D. Kronik Viral Hepatitler. Mayo Klinik Gastroenteroloji ve Hepatoloji. Çeviri ed; Ahmet Danalıoğlu, Fatih Beşışık. 1. baskı:317-326, 2005.
38. Richter SS. Laboratory assays for diagnosis and management of hepatitis C virus infection. Journal of Clinical Microbiology; 44:7-12, 2002.
39. Baştuğ A. Bodur H. Hepatit C enfeksiyonunda Tanı ve Tedavi. Viral Hepatitle Savaşım Derneği. II. Viral Hepatit Tani Ve Tedavi Rehberi, Kasım Antalya. 21-32, 2007.
40. Chevaliez S, Pawlotsky JM. Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and management of antiviral therapy. World J Gastroenterol; 13: 2461-6, 2007.
41. Melian EB, Plosker GL. Interferon alfacon-1: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of chronic hepatitis C. Drugs; 61(11): 1661-91, 2001.
42. Demirtürk L. Kronik C Hepatiti Tedavisi-Standartlar Nelerdir? Hepatit C Güncelleme Toplantisi. İstanbul; Ocak; 101, 2008.
43. FriedMW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa- 2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med; 347: 975–82, 2002.

44. Dienstag JL, McHutchison JG. American Gastroenterological Association technical review on the management of hepatitis C. *Gastroenterology*; 130: 231-64, 2006.
45. Üstündağ Y. Pegile İnterferonlar: Gelişim, Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri Güncel Gastroenteroloji, Eylül 2007.
46. Bonis P, Chopra S, Shiffman M. Pegylated interferon in the treatment of hepatitis C virus infection . In: Rose B editor Upto date Wellesley, MA , 2004.
47. Sünbül M. Kronik Hepatit tedavisinde kullanılan antiviraller. Tabak F, Balık İ, Tekeli E, (ed' ler). *Viral hepatit 2005*. Birinci baskı. Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını, İstanbul, ss 181-98, 2005.
48. Strader DB, Wright T, Thomas DL and Seeff LB. AASLD Practice Guidelines: Diagnosis, management and treatment of hepatitis C. *Hepatology*; 39; 1147-71, 2004.
49. Lukasiewicz E, Hellstrand K, Westin J, Ferrari C, Neumann AU, Pawlotsky JM, et al. Predicting treatment outcome following 24 weeks peginterferon alpha-2a/ribavirin therapy in patients infected with HCV genotype 1: utility of HCV-RNA at day 0, day 22, day 29, and week 6. *Hepatology*; 45:258-9 ,2007.
50. Zhou SF. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition *Xenobiotica*. Jul; 38(7-8):802-32 , 2008.
51. Sezak M. Ewing karsinomunda p-glikoprotein ekspresyonunun prognostik anlamı *Ege Tıp Dergisi*; 47(1):7-13, 2008.
52. Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y, et al. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to Genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther*. 297 (3): 1137-43, 2001.
53. Germann. U.A. P-Glycoprotein a mediator of multidrug resistance in tumour cells. *European Journal of Cancer*, vol 32A, no.6, 927-944, 1996.

54. Hoffmeyer, S., Burk, O., Richter, O., et al., Functional polymorphisms of the human multidrug- resistance gene: Multipl sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci*, 97(7):3473- 78, 2000.
55. Kaya P, Gündüz U, Arpacı F, Ural AU, Guran S. Identification of polymorphisms on the MDR1 gene among Turkish population and their effects on multidrug resistance in acute leukemia patients. *Am J Hematol*. 80 (1): 26–34, 2005.
56. Fromm, M.F.Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers.*Trends in Pharmacological Sciences*, Amsterdam, v.25, n.8, p.423-429, 2004.
57. Mealey K.L. Therapeutic implications of the MDR1 gene. *J Vet Pharmacol Ther*, Baltimore,v.27,p.257-264, 2004.
58. Schinkel A.H.Mammalian Drug Efflux transporters of the ATP binding caseete family *Adv Drug Deliv Rev*;55. 2–29, 2003.
59. Okyar A.P-glikoprotein ve P-glikoproteininin ilaç Farmakokinetiğindeki Rolü. *Türk Farmakoloji Bülteni* sayı:83 Ocak-Mart 2005.
60. Kim AI, Saab S. Treatment of hepatitis C. *Am J Med*; 118: 808–15, 2005.
61. Veldt BJ.Heatcote EJ., Wedemayer H.et al.sustained virologic response and clinical outcome with chronic hepatitis and advanced fibrozis.*Ann İtern Med*; 147:677-84), 2007.
62. McHutchison JG, Manns M, Patel K, Poynard T. Adherence to combination therapy enhances sustained response in genotype–1-infekted patients with chronic hepatitis C. *Gastoenterology*; 123:1061–1069, 2002.
63. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology*; 33,1358–1364, 2001.

64. Poynard, T., Ratziu, V., McHutchison, J., Manns, M., Goodman, Z., Zeuzem, et al.. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology*, 38, 75–85, 2003.
65. Juliano R L, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta*, 455(1) : 152-162, 1976.
66. Li YH, Wang YH, Li Y, Yang L. MDR1 gene polymorphisms and clinical relevance. *Yi Chuan Xue Bao*. 33(2): 93–104, 2006.
67. Kushihara, H., Suzuki, H., Sugiyama, Y., The role of P-gp and canalicular multispecific organic anion transporter in the hepatobiliary excretion of drugs. *J Pharm Sci*, 97(9):1025- 1040, 1998.
68. Tonigawara, Y. The role of P-gp in drug disposition. *Ther Drug Monit*, 22(1):137- 140, 2000.
69. Watkins, P.B. The barrier function of CYP3A4 and P-gp in small bowel. *Adv Drug Deliv Rev*, 27(2–3):161- 170, 1997.
70. Siegmund M, Brinkmann U, Schaffeler E, Weirich G, Schwab M, Eichelbaum M, Fritz P, Burk O, Decker J, Alken P, Rothenpieler U, Kerb R, *J Am Soc Nephrol* Jul;13(7):1847–54, 2002.
71. Hoffmeyer S, Brauch H. Association of the P-glycoprotein transporter MDR1C3435T polymorphism with the susceptibility to renal epithelial tumors. *J Am Soc Nephrol*, 13:1847-1 854 , 2002.
72. Moriya, Y. Nakamura, T. Horinouchi, M. et al. , Effects of polymorphisms of MDR1, MRP1, and MRP2 genes on their mRNA expression levels in duodenal enterocytes of healthy Japanese subjects. *Biol Pharm Bull*, 25,1356– 1359, 2002.

73. Nakamura, T. Sakaeda, T., Horinouchi, M., et al. , Effect of the mutation (C3435T) at exon 26 of the MDR1 gene on expression level of MDR1 messenger ribonucleic acid in duodenal enterocytes of healthy Japanese subjects. *Clin Pharmacol Ther*, 71:297- 303, 2002.
74. Leith C P, Kopecky K J, Chen I M, Eijdem L, Slovak M L et al.Frequency and clinical significance of the expression of the multidrug resistance protein MDR1/P-glycoprotein, MRP1 and LRP in acute myeloid leukemia. *Blood*, 94: 1086-1099, 1999.
75. Tischler, D.M., Weinberg, K.T., Hinton, D.R., et al., MDR1 gene expression in brain of patients with medically intractable epilepsy. *Epilepsia*, 36:1- 6, 1995.
76. Hauser, I.A., Schaeffeler, E., Gauer, S., et al., ABCB1 genotype of the donor but not of the recipient is a major risk factor for cyclosporinrelated nephrotoxicity after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*, 16:16, 2005.
77. Tsuruo T. Lida H. Tsukagoshi S. Sakura Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil *Cancer Res*,41, 1967-1972. 1981
78. Ross DD.Novel mechanisms of drug resistance in leukemia. *Leukemia*; 467-473, 2000.
79. Greiner B, Eichelbaum M, Fritz P, Kreichgauer H P, von Richter O. The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin. *J Clin Invest*, 104 (2): 147-153, 1999.
80. Takeshita H, Gebhardt MC, Springfield DS, Kusuzaki K, Mankin HJ. Experimental models for the study of drug resistance in osteosarcoma: P-glycoprotein-positive, murine osteosarcoma cell lines. *J Bone Joint Surg Am Mar*; 78(3):366-75, 1996.
81. Schwab M, Schaeffeler E, Marx C, Fromm MF, Kaskas B, Metzler J., et al. Association between the C3435T MDR1 gene polymorphism and susceptibility for ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 124: 26-33, 2003.

- 82.** Fellay J, Mariolini C, Meaden E R, Back D J, Buclin T, Chave J P, et al. Swiss HIV Cohort Study. Response to antiretroviral treatment in HIV- 1 -infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: A pharmacogenetics study. *Lance*, 359 (9300): 30-36, 2002.
- 83.** Drozdziak M, Bialecka M, Mysliwiec K, Honczarenko K, Stankiewicz J, Sych Z. Polymorphism in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene: a possible link between environmental and genetic factors in Parkinson's disease. *Pharmacogenetics*, 13(5): 259-263, 2003.
- 84.** Furuno T, Landi M T, Ceroni M, Caporaso N, Bernucci I, Nappi G Expression polymorphism of the blood-brain barrier component P-glycoprotein (MDR 1) in relation to Parkinson's disease. *Pharmacogenetics*, 12 (7): 529-534, 2002.