ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

IRAK' TA KRONİK HCV İLE ENFEKTE HASTALARDA HCV GENOTİPLERİNİN VE VİRAL YÜKLERİNİN MOLEKÜLER TAYİNİ

Sarmad Falah Hasan ALOBAIDI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI (MOLEKÜLER BİYOLOJİ)

ÇANKIRI
2021

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Sarmad Falah Hasan ALOBAIDI tarafından hazırlanan **"Irak' ta Kronik HCV ile Enfekte Hastalarda HCV Genotiplerinin ve Viral Yüklerinin Moleküler Tayini"** adlı tez çalışması 06/10/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman **:** Dr. Öğr. Üyesi Müge FIRAT

Eş Danışman **:** Dr. Muhannad Abdullah Khalaf ALAAZAWY

Jüri Üyeleri **:**

Başkan **:** Doç. Dr. Özgür KUZUKIRAN
Eldivan SHMYO, Veterinerlik Bölümü
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye **:** Dr. Öğr. Üyesi Müge FIRAT
Eldivan SHMYO, Veterinerlik Bölümü
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye **:** Dr. Öğr. Üyesi Emre ÖZAN
Veterinerlik Laboratuvar Hayvanları Anabilim Dalı
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum **"Irak' ta Kronik HCV ile Enfekte Hastalarda HCV Genotiplerinin ve Viral Yüklerinin Moleküler Tayini"** konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (06/10/2021).

Sarmad Falah Hasan ALOBAIDI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

IRAK' TA KRONİK HCV İLE ENFEKTE HASTALARDA HCV GENOTİPLERİNİN VE VİRAL YÜKLERİNİN MOLEKÜLER TAYİNİ

Sarmad Falah Hasan ALOBAIDI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji / Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Müge FIRAT
Eş Danışman: Dr. Muhannad Abdullah Khalaf ALAAZAWY

Bu çalışma kapsamında, 10.09.2020 – 10.01.2021 tarihleri arasında Kerkük şehrinde hastane bazlı kesitsel bir araştırma gerçekleştirildi. Bu amaçla, yaşları 20-75 arasında olan 50 kronik hepatit C hastası Kerkük Hepatoloji ve Gastroenteroloji merkezlerine başvurmuş olan bireylerden seçildi. Kontrol grubu ise kan bağışı için kan bankasına başvuran ve herhangi bir hastalığı olmayan 35 kişiden oluşuyor. HCV yükünün ve genotipinin gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile moleküler tespiti, hepatit C antikorlarının enzim bağlantılı immünosorbent tahlili (ELISA) tekniği ile saptanması ve alanin aminotransferaz (ALT), aspartataminotransferaz (AST), alkalin fosfataz (ALP), toplam serum bilirubin (TSB) ve alfa fetoprotein (AFP) seviyelerinin belirlenmesi için bireylerden beş mL kan numunesi alındı. Çalışmada, ELISA ile anti-HCV'ye sahip oldukları saptanan kronik hepatit C' li hastaların %86' sının PCR ile pozitif sonuç verdiği ve bu sonucun anlamlı ($P<0,01$) olduğu tespit edildi. Çalışma, kronik hepatit C hastalarının %72,09'unun (43 kişiden 31'inin) HCV genotip 4 ile, %27,91'inin ise HCV genotip 1a ile enfekte olduğunu göstermiştir. Çalışma, kronik hepatit C hastalarında genotip 4 ile enfekte olanlar ile genotip 1a ile enfekte olanlar arasında viral yüklerde ($1901,3 \pm 105,6$'ya karşı $1693,4 \pm 108,4$ IU/mL) oldukça önemli ve anlamlı bir fark ($P<0,01$) olduğunu göstermiştir. Mevcut çalışmada, kronik hepatit C' li erkeklerin %41,94' ünün ve kronik hepatit C'li kadınların %58,06' sının genotip 4 ile, kronik hepatit C' li erkeklerin %33,33' ü ve kadınların %66,67' sinin genotip 1a ile enfekte olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, kontrol grubuna kıyasla en yüksek ALT, AST, ALP ve TSB ortalamasının kronik hepatit C' li hastalarda (64,69 IU/mL, 54,8 IU/mL, 285,5 IU/mL ve 4,33 mg/dL) bulunduğunu göstermiştir. Bu çalışma kronik hepatit C'li hastalarda HCV'nin viral yükünün ALT, AST, ALP ve TSB düzeyleri ile pozitif ilişki gösterdiğini göstermiştir. Bu çalışma viral yükün fibroz gelişimi ile artmakta olduğunu ortaya çıkarmıştır. En düşük viral yük ortalaması fibrozisi olmayan hastalarda (1235,5 IU/mL) bulunmuş olup ardından birinci evre fibrozisi olan hastalarda, en yüksek viral yük ortalaması sirozlu hastalarda (evre 4) (2088,1 IU/mL) kaydedilmiştir. Çalışma, kontrol grubu (4,18 µg/L) ile karşılaştırıldığında, en yüksek ortalama AFP seviyesinin kronik hepatit C'li hastalarda (25,5 µg/L) bulunduğunu göstermiştir.

2021, 55 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: HCV, ELISA, Real Time PCR, HCV genotiplemesi, Irak

ABSTRACT

Master of Science Thesis

MOLECULAR DETECTION OF HCV GENOTYPES AND VIRAL LOADS IN CHRONIC HCV INFECTED PATIENTS IN IRAQ

Sarmad Falah Hasan ALOBAIDI

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology / Biology

Advisor: Asst. Prof. Müge FIRAT
Co-Advisor: Dr. Muhannad Abdullah Khalaf ALAAZAWY

A cross sectional hospital based study was carried out in Kirkuk city from 10.09.2020 to 10.01.2021. The number of hepatitis patients understudy were 50 chronic hepatitis C patients whose ages between 20-75 years old. These patients admitted to Hepatologyand Gastroenterology centers of Kirkuk. The control group, included 35 individuals who haven't any diseases who admitted to blood bank for blood donation. Five mL was collected formolecular detection of HCV load and genotype by real-time polymerase chain reaction (RT- PCR), detection of hepatitis C antibodies, by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) technique and biochemical to determine the level of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and total serum bilirubin (TSB) and immunofluorescent estimation of level of alpha fetoprotein (AFP). The study showed that 86% of patients with chronic hepatitis C who had anti-HCV as detected by ELISA revealed positive result by PCR The result was significant ($P<0.01$). The study showed that 72.09% (31 of 43) of patients with chronic hepatitis C were infected by genotype 4 of HCV comparing with patients with genotype 1a (27.91%). The study showed that there was a highly significant difference in viral loads between patients with genotype 4 of chronic hepatitis C and who with genotype 1a (1901.3±105.6 *v.s.* 1693.4±108.4IU/mL), with a significant difference ($P<0.01$). In the current study, 41.94% of males with chronic hepatitis C had genotype 4 and 58.06 of females with chronic hepatitis C had genotype 4, 33.33 of males and 66.67 of females with chronic hepatitisC had genotype 1a. The present study showed that the highest mean of ALT, AST, ALP and TSB were found in patients with chronic hepatitis C (64.69 IU/mL, 54.8 IU/mL, 285.5 IU/mL and 4.33 mg/dL) as compared with the control group with highly significant relation among the groups. The present study showed positive correlation of viral load of HCV with ALT, AST, ALP and TSB levels in patients with chronic hepatitis C. The current study revealed that the viral load increased with the progression of the fibrosis. The lowest mean of viral load was found in patients without fibrosis (1235.5 IU/mL) followed by patients with first stage of fibrosisand highest mean of viral load was recorded in patients with cirrhosis (stage 4) (2088.1 IU/mL). The study showed that the highest mean of AFP level was found among patients with chronic hepatitis C (25.5 μg/L) as compared the control group (4.18 μg/L).

2021, 55 pages

Keywords: HCV, ELISA, Real Time PCR, HCV genotyping, Iraq

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Hepatit C virüsü, kan yoluyla veya cinsel temasla bulaşarak insanları etkileyen en yaygın hastalıklardan birisi olarak kabul edilmektedir. Irak'ta Hepatit C enfeksiyonu oranı %1' i geçmemekle birlikte, hastalığa karşı aşı veya etkili bir tedavi bulunmamasından dolayı enfeksiyon bireylerde ilerleyerek siroza dönüşebilmektedir.Bu kronikleşen vakaların çoğunun virüsün genotipi ile ilgili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle mevcut çalışmada, virüsün genotipi ile ilişkisinin incelenmesi ile kronik vakaların tanı ve araştırılmasına odaklanılmıştır.

Öncelikle, Yüksek Lisans sürecim ve ilgili araştırmam boyunca sürekli desteği, sabrı, motivasyonu ve engin bilgisi için Çankırı Karatekin Üniversitesi' nden danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Müge FIRAT' a teşekkür ederim. Ayrıca bu tez çalışmasının eş-danışmanı olan Dr. Muhaned ALAZZAWY' a bu tez hakkındaki çok değerli yorumları ve desteği için teşekkür ederim. Son olarak, çalışma yıllarım boyunca ve bu tezi araştırma ve yazma sürecim boyunca bana sürekli destek ve sürekli teşvik sağlayan aileme ve eşime çok derin şükranlarımı ifade etmeliyim. Bu başarı onlar olmadan mümkün olmazdı, teşekkür ederim.

Sarmad Falah Hasan ALOBAIDI

Çankırı, Ekim 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vii**
KISALTMALAR DİZİNİ. ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **x**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Çalışmanın Amacı ve Hedefleri **2**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **3**
2.1 Hepatit **3**
2.2 Viral Hepatitin Tarihçesi **3**
2.3 Hepatit C Virüsü **5**
2.3.1 Viral yapı **5**
2.3.2 Genom organizasyonu **6**
2.3.3 Genotipler **7**
2.3.4 Epidemiyoloji **7**
2.3.5 Bulaşma **8**
2.3.6 Klinik seyir **8**
2.3.7 Laboratuvar teşhisi **11**
2.3.8 Bağışıklık yanıtı **13**
2.3.9 Konakçı faktörleri **14**
2.3.10 Tedavi **15**
2.4 Kronik Viral Hepatitte Karaciğer Fibrozu **15**
2.5 Alfa – Fetoprotein **16**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **17**
3.1 Materyal **17**
3.1.1 Hasta grubu **17**
3.1.2 Kontrol grubu **17**

3.1.3 Örnekleme **17**
3.1.4 Çalışmada kullanılan malzemeler **17**
3.1.5 Çalışmada kullanılan araçlar **18**
3.2 Yöntem **18**
3.2.1 Örneklerin hazırlanması **18**
3.2.2 Laboratuvar testleri **19**
3.2.3 İstatistiksel analiz **29**
4. BULGULAR **30**
4.1 HCV Tespitinde ELISA ve PCR Testlerinin Karşılaştırılması **30**
4.2 Kronik Hepatit C Hastalarında Genotiplerin Dağılımı **30**
4.3 Kronik HCV Hastalarında Genotip ile Viral Yükün İlişkisi **31**
4.4 Kronik Hepatit C'li Hastalarda Cinsiyete Göre HCV Genotiplerinin Dağılımı **31**
4.5 Kronik HCV Hastaları ve Kontrol Grubunda ALT, AST, ALP ve TSB Seviyeleri **32**
4.6 Kronik HCV'li Hastalarda Viral Yük ile ALT Seviyesi Arasındaki İlişki **32**
4.7 Kronik HCV'li Hastalarda Viral Yük ile AST Seviyesi Arasındaki İlişki **33**
4.8 Kronik HCV'li Hastalarda Viral Yük ile ALP Seviyesi Arasındaki İlişki **33**
4.9 Kronik HCV'li Hastalarda Viral Yük ile TSB Seviyesi Arasındaki İlişki **34**
4.10 Kronik HCV'li Hastalarda Viral Yük ile Fibroz Aşamaları Arasındaki İlişki **35**
4.11 HCV Enfeksiyonu ile Alfa-Fetoproteinin İlişkisi **35**
5. TARTIŞMA **36**
5.1 HCV Tespitinde ELISA ile PCR Karşılaştırması **36**
5.2 Kronik Hepatit C Hastalarında Genotiplerin Dağılımı **37**
5.3 Kronik HCV Hastalarında Genotiplerin Cinsiyete Göre Dağılımı **38**
5.4 Kontrol Grubu ve Kronik HCV Hastalarda ALT, AST, ALP ve TSB Seviyeleri **39**
5.5 Kronik HCV Hastalarında Viral Yük ile Karaciğer Fonksiyonu Testleri Arasındaki İlişki **40**
5.6 Kronik HCV Hastalarda Fibrozun Evreleri ile Viral Yük Arasındaki İlişki **40**
5.7 HCV Enfeksiyonu ile Alfa-Fetoproteinin İlişkisi **41**

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 43
KAYNAKLAR 44
ÖZGEÇMİŞ..... 55

SİMGELER DİZİNİ

º	Derece
IU	İnternasyonel ünite
L	Litre
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
nm	Nanometre
ºC	Santigrat derece
%	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

AFP	Alfa-fetoprotein
ALP	Alkalin fosfataz
ALT	Alanin transaminaz
ARF	Alternatif okuma çerçevesi
AST	Aspartat aminotransferaz
DDT	Dikloro - difenil - trikloroetan
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
EDTA	Etilen-diamin-tetra-asetik asit
EIA	Enzim bağışıklık testi
et al.	Ve diğerleri
HAV	Hepatit A virüsü
HBV	Hepatit B virüsü
HCC	Hepatohücresel karsinom
HCV	Hepatit C virüsü
HDV	Hepatit D virüsü
HIV	İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
IL	İnterlökin
Kbp	Kilo baz çifti
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
mRNA	Taşıyıcı ribonükleik asit
nt	Nükleotit
OD	Optik dansite
ORF	Açık okuma çerçevesi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RIBA	Rekombinant immünoblot testi
RNA	Ribonükleik asit
rpm	Dakikadaki devir sayısı
TSB	Toplam serum bilirubin
VLDL	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
X2	Kikare

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 HCV genom organizasyonu (Mauss *et al.* 2017)..... 6
Şekil 3.1 FAM kanalı floresanın döngü sayısına bağlılığı……22
Şekil 3.2 Numuneler ve karışım dağılımını gösteren diyagram……..25
Şekil 4.1 Kronik hepatit C'li hastalarda genotiplerin sıklığı..... 30
Şekil 4.2 Kronik HCV'li hastalarda viral yük ile ALT seviyesi arasındaki ilişki..... .32
Şekil 4.3 Kronik HCV'li hastalarda viral yük ile AST seviyesi arasındaki ilişki..... 33
Şekil 4.4 Kronik HCV'li hastalarda viral yük ile ALP seviyesi arasındaki ilişki…….34
Şekil 4.5 Kronik HCV'li hastalarda viral yük ile TSB seviyesi arasındaki ilişki. 34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Hepatit C virusu için kullanılan teşhis testleri (Dimmock *et al.* 2016)……13
Çizelge 3.1 HCV genotiplemesi için primerler……....25
Çizelge 3.2 Alanin aminotransferaz belirlenmesi için kullanılan malzemeler…….26
Çizelge 3.3 Aspartat aminotransferaz belirlenmesi için kullanılan malzemeler……..27
Çizelge 3.4 Alkalin fosfataz belirlenmesi için kullanılan malzemeler…….28
Çizelge 4.1 HCV hastalarının testinde ELISA ile PCR arasındaki karşılaştırma…….30
Çizelge 4.2 Kronik HCV'li hastalarda genotip ile viral yükün ilişkisi…….31
Çizelge 4.3 Kronik hepatit C'li hastalarda genotiplerin cinsiyete göre dağılımı…..31
Çizelge 4.4 Çalışmada tespit edilmiş ALT, AST, ALP ve TSB seviyeleri……..…....32
Çizelge 4.5 Kronik HCV'li hastalarda viral yük ile fibroz aşamaları arasındaki ilişki.....35
Çizelge 4.6 HCV enfeksiyonlu ve kontrol grubu hastalarında AFP seviyesi……...35

1. GİRİŞ

Hepatit C, global olarak önemli etkiye sahip bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü' ne göre, dünyada hepatit C virüsü (HCV) ile kronik olarak enfekte yaklaşık 150 milyon insan mevcuttur ve bölgeler arasında önemli farklılıklar vardır: Mısır gibi bazı ülkelerde prevalans >%10' dur (Mo Shahid 2018). Afrika ve Batı Pasifik' de hastalığın yaygınlığı Kuzey Amerika ve Avrupa' dakinden önemli ölçüde daha yüksektir (Pawlotsky *et al.* 2015). Avrupa' da 2-5 milyon HCV pozitif birey olduğu tahmin edilmektedir. Enjekte uyuşturucu kullanıcıları gibi belirli gruplarda pozitiflik oranı daha yüksektir. Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri' nde kronik hepatit C, en yaygın kronik karaciğer hastalığıdır. Bu bölgelerde gerçekleştirilen karaciğer nakillerinin çoğu kronik HCV hastaları içindir. Akut vakaların çoğu klinik olarak fark edilmediğinden, yeni HCV enfeksiyonlarının sayısını belirlemek zordur. Avrupa' dan gelen son rakamlar, özellikle damardan içi uyuşturucu kullanıcıları ve eşcinsel erkekler arasında halen devam eden bir akut HCV salgını olduğunu göstermektedir (Mauss *et al.* 2017).

Akut hepatit C enfeksiyonundan sonra hastaların %75-100' ü HCV RNA yönünden pozitif kalır ve bunlarda kronik HCV enfeksiyonu riski yüksektir (Younossi 2017). Bu hastaların çoğu, daha sonraki takiplerde sürekli olarak yüksek seviyede karaciğer enzimlerine sahip olacaktır. Geçirilmiş HCV enfeksiyonundan sonra, altı aydan uzun süre viral kalıcılığın devam etmesi kronik HCV olarak tanımlanır. Kronik enfeksiyon bir kez oluştuğunda, çok düşük oranda doğal iyileşme görülür. Kronik enfeksiyonu olan hastaların çoğu asemptomatiktir veya karaciğer sirozu olmadığı sürece sadece hafif, spesifik olmayan semptomlara sahiptir (Merican *et al*. 1993, Lauer and Walker 2001). En sık karşılaşılan şikayet yorgunluktur. Daha az görülen belirtiler ise bulantı, halsizlik, kas ağrısı, eklem ağrısı ve kilo kaybıdır. HCV ayrıca bilişsel bozulma ile de ilişkilendirilmiştir (Fernandez *et al.* 2009).

Farklı coğrafi bölgelerdeki bireylerden elde edilmiş olan HCV nükleotid dizilerinin karşılaştırılması ile, her bir genotip içinde çok sayıda alt tipe sahip en az yedi ana HCV genotipinin bulunduğu saptanmıştır (Boyer and Lindor 2016). Ana genotip 1, 2, 4 ve 5'e

ait HCV suşları Sahra altı Afrika'da bulunurken, genotip 3 ve 6 Güney Doğu Asya' da son derece yüksek çeşitlilikle tespit edilmiştir. Bu bulgular, farklı coğrafi alanların farklı HCV genotiplerinin kaynağı olabileceğini düşündürmektedir (Mauss *et al.* 2017).

1.1 Çalışmanın Amacı ve Hedefleri

Bu çalışmada, hepatit C enfeksiyonunun kronikliği ile ilişkili olarak HCV yükünün ve genotipinin RT-PCR ile sayısal olarak saptanması amaçlanmıştır. Mevcut çalışma ile:

1. Hepatit hastalarında kronik HCV enfeksiyonunun belirlenmesi.

2. Kronik HCV hastalarında HCV genotiplerinin ve bunların viral yük ile ilişkisinin belirlenmesi.

3. HCV' nin saptanmasında ELISA ve RT-PCR arasında karşılaştırma yapılması.

4. HCV viral yükü ile hastalığın ilerlemesi arasındaki ilişkinin incelenmesi.

5. Sağlıklı kontrol grubu ile kronik HCV hastalarında karaciğer fonksiyon testleri (ALT, AST, TSB ve ALP) ve AFP düzeylerinin karşılaştırılması.

6. HCV viral yükü ile farklı kayıtlı parametreler arasındaki korelasyonun incelenmesi hedeflenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETI

2.1 Hepatit

Hepatit, karaciğerin iltihaplanmasına neden olan ve organ dokusunda iltihaplı hücrelerin varlığı ile karakterize tıbbi durum olarak tanımlanmaktadır (Mo Shahid 2018). Semptomsuz veya sınırlı olarak ortaya çıkabildiği gibi sıklıkla sarılık, iştahsızlık ve halsizlik gibi belirtilere sebep olmaktadır (Mauss *et al.* 2017). Hepatit, altı aydan kısa sürdüğünde akut, daha uzun sürdüğünde ise kroniktir (Hama and Sawa 2017). Akut hepatit kendi kendini sınırlayabileceği gibi, nadiren akut karaciğer yetmezliğine neden olabilir veya kronik hepatite ilerleyebilir (Boyer and Lindor 2016). Kronik hepatit ise hiçbir semptom göstermeyeceği gibi, zamanla fibrozise ve hepatosellüler karsinom oluşumu riskini artıran siroza kadar ilerleyebilir (Pawlotsky *et al.* 2015).

2.2 Viral Hepatitin Tarihçesi

Viral hepatitlerden, binlerce yıl önce Babil ve antik Çin kaynaklarında bahsedildiği ve Hipokrat' ın Milattan Önce beşinci yüzyılda Thassos adasında meydana gelen bir sarılık salgınını belgelediği belirtilmektedir (Boyer and Lindor 2016). Babil Talmud' unda karaciğer hastalığının belirtileri arasında sarılık, ateş, kırıklık, halsizlik, mide sorunları ve bazen ölüm görülebileceğinin yazdığı bildirilmiştir (Younossi 2017). Hepatit, tarih boyunca Avrupa' da sık sık pandemilere neden olmuş ve sebep olduğu ölüm oranı açısından kolera ile vebayı takip etmiştir (Huang *et al.* 2021).

Serumda HAV' a (anti-HAV) karşı spesifik antikorlar tespit edilebilir. Tanı, immünoglobulin M anti-HAV varlığı ile doğrulanır. Antikorlar, semptomların başlangıcında tespit edilebilir. Serum immünglobülin M seviyeleri akut enfeksiyon sırasında zirve yapar ve semptomların başlangıcından itibaren ortalama 4 aya kadar pozitif kalır. HBV' nin hepatite neden olan ajan olarak tanımlanmasından sonra, sonraki hepatit araştırma yöntemleri birkaç yeni hedef tarafından yönlendirilmiştir:

1. Popülasyonu hepatit enfeksiyonuna karşı korumak için bir aşı geliştirme ihtiyacı.

2. Kan donörlerinde transfüzyon sonrası hepatiti önlemek için HBV antijeninin araştırılması ihtiyacı.

3. Agar jel difüzyon yöntemi yetersiz olduğundan yeni bir tarama testi oluşturma ihtiyacı.

Hepatit B immün globulin, HBV' ye karşı bağışıklığı kanıtlanmamış ve perinatal olarak virüse maruz kalmış kişilerde (yani, HBV pozitif annelerden doğan bebekler), HBV antijni pozitif kan veya vücut ile deri veya mukozal temas yoluyla hepatit B enfeksiyonunu önlemek için kullanılır (Decker et al. 1981).

HbsAg (Hepatit B Antijeni): Negatifse, kronik HBV enfeksiyonu genellikle ekarte edilir (Krajden *et al.* 2005). Pozitif ise hastanın HBV ile enfekte olduğu kabul edilir. Kronik enfeksiyon tanısı, HBsAg altı aydan daha uzun süre saptanabilir kaldığında konulur.

Hepatit B çekirdek proteinine karşı oluşan toplam antikor: Negatifse, geçmiş HBV enfeksiyonu genellikle ekarte edilir. Pozitif ise, hasta HBV ile enfekte olmuştur (Krajden *et al.* 2005). Enfeksiyon ortadan kalkmış (HBsAg-negatif) veya devam ediyor (HBsAg-pozitif) olabilir. Enfeksiyon ortadan kalkmış ise, kişinin HBV enfeksiyonuna karşı doğal olarak bağışık olduğu kabul edilir.

Hepatit B yüzey proteinine karşı oluşan antikor: Negatifse, hastanın HBV'ye karşı görünürde bağışıklığı yoktur. Pozitifse, hastanın HBV'ye karşı bağışık olduğu kabul edilir (ortadan kalkmış enfeksiyon nedeniyle ya da önceki aşılamanın sonucu olarak). Çok nadiren (%1'den az) kronik taşıyıcılar aynı anda hem HBsAg (Hepatit B antijeni) hem de hepatit B yüzey proteinine (anti-HBs) karşı antikor pozitif olabilir (Krajden *et al.* 2005). Bu gibi durumlarda, hasta bulaşıcı olarak kabul edilir.

2012 yılında, 16. yüzyıla ait antik bir Kore mumyasının karaciğerinden HBV tespit edildiği ve virüsün tam genomunun keşfedildiği bildirilmiştir (Wrensch *et al.* 2018). Bu

bulgu Blumberg' in, hiç kan transfüzyonu almamış bir aborjinde daha sonradan hepatit B yüzey antijeni (HbsAg) olduğu doğrulanan bir antijeni tesadüfen tespit etmesini desteklemiştir (Pawlotsky *et al.* 2015). HCV; HAV ve HBV' den daha sonra keşfedilmiştir çünkü keşfedilmesine yol açan diğer tüm yöntemler A ve B tipi olmayan hepatite (NANBH) neden olan ajanı tanımlayamamıştır ve viral genomu tanımlamak için gerçek virüsün görselleştirilmesinden çok önce yeni moleküler yöntemler kullanılmıştır (Boyer and Lindor 2016). Houghton, yalnızca A ve B tipi olmayan hepatit hastalarından alınan serumlardan elde edilen yaklaşık 10.000 nükleotidden oluşan tek iplikli bir RNA ile hibritlenen NANBH' li şempanze ve insan serumlarını kullanarak yeni bir cDNA klonu tanımlamıştır. Yeni virüsün RNA' sı, flavivirüslerin genomuna homolog bulunmuş ve daha sonra "hepatit C virüsü" olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra 1989' da Alter ve arkadaşları, prospektif olarak takip edilen transfüzyon alıcıları ve donörlerinde radyoimmünoassay ile non-A, non-B hepatitine neden olan HCV' ye (anti-HCV) karşı şekillenen antikoru ölçmüşlerdir (Boyer and Lindor 2016).

2.3 Hepatit C Virüsü

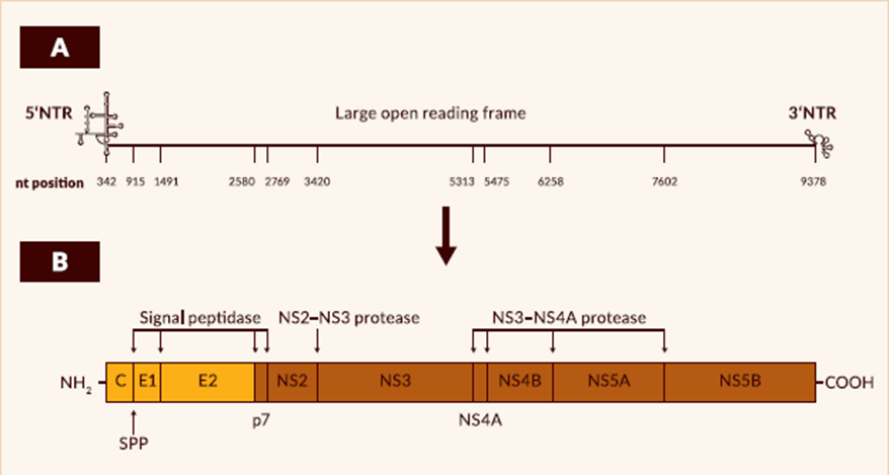
2.3.1 Viral yapı

HCV virionunun yapısal analizleri, virüsün hücre kültürü sistemlerinde üretilmesinin zor olması ve elektron mikroskobu için yeterli virion elde edilemediğinden dolayı çok sınırlıdır. Ayrıca serumdan elde edilen virüs partikülleri, serumda düşük yoğunluklu lipoproteinlerle ilişkili olduğundan virionun ultrasantrifüjleme yoluyla enfekte olmuş kişilerin serumundan/plazmasından izole edilmesi kolay değildir (Boyer and Lindor 2016). HCV benzeri parçacıkların elektron mikroskobu ile görselleştirilmesi zordur ve tespit edilen yapıların gerçekten HCV virionları olup olmadığı tartışma konusu olmaktadır (Wrensch *et al.* 2018). Bununla birlikte, HCV' nin 55-65 nm çapa sahip olduğu ve NANBH ajanının ultrafiltrasyon ile öngörüldüğünü doğruladığı öne sürülmüştür. Yüksek oranda saflaştırılmış HCV ile yakın zamanda yapılan bir çalışmada, çapları 50 ile 80 nm arasında olan heterojen viral partiküller gözlemlenmiştir (Warkad *et al.* 2018). Enfekte bireylerin kanında çeşitli HCV virionlarının mevcut olduğu görülmüştür. Bunlar; çok düşük yoğunluklu lipoproteinlere (VLDL) bağlı virionlar,

düşük yoğunluklu lipoproteinlere (LDL) bağlı virionlar, immünoglobulinlerle komplekslenmiş virionlar ve serbest dolaşımdaki virionlardır (Younossi 2017).

2.3.2 Genom organizasyonu

Hepatit C virüsünün genomu, pozitif polariteye sahip 9.6 kbp tek sarmallı RNA molekülünden oluşmaktadır. Diğer pozitif zincirli RNA virüslerine benzer şekilde, hepatit C virüsünün genomik RNA' sı da, viral proteinlerin translasyonu için haberci RNA (mRNA) görevi görmektedir (Huang *et al.* 2021). Viral replikasyon sırasında poliprotein virüs ve konak enzimleri tarafından üç yapısal proteine (çekirdek, E1 ve E2) ve yedi yapısal olmayan proteine (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A ve NS5B) bölünmektedir (Zibbell *et al.* 2018). Viral çekirdek proteini ve viral zarf proteinleri E1 ve E2' yi kodlayan yapısal genler, yapısal olmayan proteinler p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A ve NS5B için kodlama bölgelerince aşağı akımca takip edilen açık okuma çerçevesinin 5' terminalinde yer almaktadır (Duchesne *et al.* 2017). Yapısal proteinler virionun temel bileşenleridir, buna karşın yapısal olmayan proteinler virion yapısı ile ilişkili değildir ancak RNA replikasyonu ve virion morfogenezinde yer almaktadır (Şekil 2.1) (Mauss *et al.* 2017).



Şekil 2.1 HCV genom organizasyonu (Mauss *et al*. 2017)

2.3.3 Genotipler

Hepatit C virüsü; altı ana genotip (1-6 olarak adlandırılır), genomik dizi heterojenliğini temel alan birçok alt tip (a, b, c, ile gösterilir) ve genomik yapıya göre yaklaşık 100 farklı suş (1, 2, 3, ... olarak adlandırılır) olarak sınıflandırılır (Mauss *et al.* 2017). 1-3 genotipleri dünya çapında bir dağılıma sahiptir. Tip 1a ve 1b, global enfeksiyonların yaklaşık %60' ını oluşturan en yaygın alt tiplerdir (Warkad *et al.* 2018); Kuzey, Güney ve Doğu Avrupa ile Kuzey Amerika ve ve Japonya' da baskındır. Tip 2, Tip 1'den daha az sıklıkla temsil edilir. Tip 3, Güneydoğu Asya' ya endemik olup farklı ülkelerde değişken bir şekilde dağılır (Mo Shahid 2018). Genotip 4 esas olarak Orta Doğu, Mısır ve Orta Afrika' da mevcuttur. Enfeksiyona sebep olan genotipin belirlenmesi, antiviral tedaviye yanıtın öngörülmesi için önemlidir: genotip 1 ve 4 genellikle tek başına interferona zayıf bir yanıtla ilişkilendirilirken, genotip 2 ve 3 daha olumlu bağışıklık yanıtı ile ilişkilidir (Wrensch *et al.* 2018). Alt tip 1b' li hastalarda enfeksiyon, vakaların

%90' ında, genotip 2 ve 3b' nin %33-50' sinde olduğu gibi kronik bir duruma ilerler. Bir dizi çalışmada 1b genotipli enfeksiyonun, siroz ve hepatokarsinom gelişimi ile daha ağır hastalık gidişatına sahip olduğundan bahsedilmektedir (Pawlotsky *et al.* 2015). İnterferon ve ribavirin kombine tedavisi kullanıldığında, genotip 2 veya 3 olan hastalar genellikle sadece 24 hafta tedavi edilirken, genotip 1 ile enfekte hastaların 48 hafta tedavi görmesi önerilmektedir (Choobin *et al.* 2017).

2.3.4 Epidemiyoloji

Hepatit C, dünya çapında önemli etkiye sahip bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü' nün açıkladığı verilere göre, hepatit C virüsü (HCV) ile kronik olarak enfekte olmuş 130-150 milyon insan vardır ve bu, dünya nüfusunun %2-2,5' ine tekabül etmektedir (Vijgen *et al.* 2017). Dünya çapında ise önemli bölgesel farklılıklar mevcuttur. Mısır gibi bazı ülkelerde yaygınlık > %10' dur (Mauss *et al.* 2017). DSÖ tarafından 2021 yılında ise, çoğunlukla siroz ve hepatoselüler karsinomdan (birincil karaciğer kanseri) olmak üzere yaklaşık 290.000 kişinin hepatit C' den öldüğü belirtilmiştir (Anonymous 2021). Afrika ve Batı Pasifik' de yaygınlık, Kuzey Amerika ve Avrupa' dakinden önemli ölçüde daha

yüksektir (Huang *et al.* 2021). Çoğu durumda enfeksiyon açısından en yüksek risk faktörüne sahip damar içinden enjekte uyuşturucu kullananlar gibi bazı insan grupları HCV' den daha fazla etkilenmektedir. Ayrıca, hemodiyaliz hastaları ve 1991' den önce kan nakli almış kişiler de yüksek risk altındadır. Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri' nde HCV en yaygın kronik karaciğer hastalığı olup karaciğer nakillerinin çoğundan sorumludur (Mauss *et al.* 2017).

Akut vakaların çoğu klinik olarak fark edilmediğinden, yeni HCV enfeksiyonlarının sayısını belirlemek zordur. Akut HCV vakalarının %25' inden azı klinik olarak belirgindir (Boyer and Lindor 2016). Ayrıca tanı konulduğunda enfeksiyonun süresini belirlemek genellikle mümkün değildir. Son on yılda ise, HIV pozitif eşcinsel erkeklerde tüm dünyada akut HCV enfeksiyonlarında artış olduğu belirtilmektedir. Avrupa' dan gelen son HCV vaka sayıları, özellikle bu kişiler arasında devam eden akut HCV salgını olduğunu göstermektedir (Mo Shahid 2018).

2.3.5 Bulaşma

HCV' ye parenteral maruziyet en etkili bulaşma yoludur. Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri' nde HCV ile enfekte olan hastaların çoğunun, hastalığı intravenöz ilaç kullanımı veya kan nakli yoluyla aldığı (Duchesne *et al.* 2017), fakat kan nakli ile bulaşmanın 1990' ların başında HCV yönünden rutin tarama testlerinin başlamasından bu yana daha az görüldüğü belirtilmiştir (Mauss *et al.* 2017).

2.3.6 Klinik seyir

2.3.6.1 Akut enfeksiyon

HCV' nin duyarlı bireye bulaşmasından sonra değişken bir inkübasyon dönemi mecvcuttur. Kandaki (veya karaciğerdeki) HCV RNA'sı, birkaç gün ile sekiz hafta içinde PCR ile tespit edilebilir. Aminotransferazlar maruziyetten yaklaşık 6-12 hafta sonra yükselir (Kahyesh-Esfandiary *et al.* 2019). HCV' ye karşı oluşan antikorların ELISA ile

tespiti, ilk olarak maruziyetten yaklaşık 8 hafta sonra olmakla birlikte, bazı hastalarda bu süre birkaç ayı bulabilmektedir (Jamalidoust *et al.* 2017). Bununla birlikte, yeni enfekte olmuş hastaların çoğu asemptomatiktir ve klinik olarak belirgin olmayan veya hafif bir seyir gösterir. Akut hepatit C' nin klinik özelliği olan sarılık tablosu, enfekte bireylerin %25' inden azında tespit edilmektedir (Choobin *et al.* 2017). Ortaya çıkabilecek diğer semptomlar; halsizlik, mide bulantısı ve sağ üst kadran ağrısı dahil olmak üzere diğer akut viral hepatit formlarında görülenlere benzerdir. Bu tür akut hepatit semptomları yaşayan hastalarda, hastalık tipik olarak 2-12 hafta sürer (Pawlotsky *et al.* 2015). Semptomların klinik olarak çözülmesiyle birlikte, aminotransferaz seviyeleri hastaların yaklaşık %40' ında normale döner. Hepatit C yönünden iyileşmeyi gösteren HCV RNA kaybı, aminotransferazların normalleşmesine bakılmaksızın hastaların %20' sinden azında meydana gelmektedir. Kronik hepatit B virüsü enfeksiyonu olan hastalarda daha sık görülen fulminan karaciğer yetmezliği, akut HCV enfeksiyonuna bağlı olarak çok nadir görülmektedir (Wrensch *et al.* 2018).

2.3.6.2 Kronik enfeksiyon

Akut hepatit C enfeksiyonundan sonra hastaların %75-100' ü HCV RNA yönünden pozitif kalır ve bu bireylerde kronik HCV enfeksiyonu riski yüksektir. Bunların çoğunun, daha sonraki takiplerde sürekli olarak yüksek karaciğer enzimlerine sahip olduğu belirtilmektedir. HCV' nin, varsayılan enfeksiyondan altı aydan sonraya kadar daha uzun süre viral yönden kalıcılık göstermesi kronik HCV olarak tanımlanmaktadır. Kronik enfeksiyon bir kez oluştuğunda, çok düşük bir spontan iyileşme oranı vardır. HCV' nin neden çoğu vakada kronik enfeksiyonla sonuçlandığı belirsizdir (Mauss *et al.* 2017). Virüsün genetik çeşitliliği ve hızlı mutasyon oranı, HCV' nin bağışıklık sisteminden kaçmasına izin verebilecek faktörlerdir. Konakçıya bağlı faktörler, virüsün kendiliğinden vücuttan temizlenmesinde rol oynayabilir (Warkad *et al.* 2018). Başarılı HCV iyileşmesi ile ilişkilendirilen konakçıya bağlı faktörler; HCV'ye özgü CD4 T hücresi ve doğal katil (NK) hücre tepkileri, HCV yapısal proteinlerine karşı yüksek titreli nötralize edici antikorlar, IL-28B gen polimorfizmleri ve spesifik HLA-DRB1 ve -DQB1 alelleridir (Brown Jr *et al.* 2020). Çocukluk döneminde geçirilen HCV enfeksiyonu, yaklaşık %50-60 gibi daha düşük bir kronik enfeksiyon riski ile ilişkili görünmektedir (Huang *et al.*

2021). Belirli popülasyonlarda etnik farklılıklara bağlı olarak, kısmen IL-28B gibi konakçı genotiplerinin farklı dağılımı ile açıklanabilecek daha düşük kronik HCV enfeksiyonu riskinin olduğu belirtilmiştir (Zibbell *et al.* 2018).

Kronik enfeksiyonu olan hastaların çoğu asemptomatik veya karaciğer sirozu olmadığı sürece sadece hafif, spesifik olmayan semptomlar gösterir (Vijgen *et al.* 2017). Hastalarda en sık şikayet yorgunluktur. Daha az görülen belirtiler bulantı, halsizlik, kas ağrısı, eklem ağrısı ve kilo kaybıdır. HCV enfeksiyonunda bilişsel bozulma da görülebilmektedir. Bu semptomlar, HCV enfeksiyonuna spesifik olmadığı için enfeksiyonun aktivitesini veya şiddetini yansıtmamaktadır (Duchesne *et al.* 2017). Çoğu zaman semptomlara altta yatan hastalıklar (örneğin depresyon) neden olabilir ve farklı hastalıklar arasında ayrım yapmak zor olabilir (Jamalidoust *et al.* 2017). Yorgunluk, en yaygın semptom olarak diğer birçok durumda (sağlıklı bireyler dahil) mevcut olabilir. Aminotransferaz seviyeleri, kronik HCV' nin doğal seyri boyunca önemli ölçüde değişebilir. Çoğu hastada ise sadece hafif transaminaz yükselmeleri izlenmektedir (Younossi 2017).

2.3.6.3 Hastalığın doğal seyri

HCV' nin uzun seyri nedeniyle, kronik enfeksiyon yönünden kesin riski belirlemek çok zor olup sonuçlar farklı çalışmalar ve popülasyonlar açısından değişiklik göstermektedir. Kronik HCV, etkilenen tüm hastalarda mutlaka ilerleyici değildir (Mauss *et al.* 2017). Önemli sayıda hastanın belirli bir süre içinde siroz geliştirmediği gösterilmiştir. Hastaların yaklaşık %30' unda en az 50 yıl süresince siroz gelişmeyeceği tahmin edilmektedir (Duchesne *et al.* 2017). Bu nedenle, kısa süreli gözlem çalışmaları HCV ile enfekte bireylerde ölüm oranının arttığını gösterememektedir. Ayrıca siroz gelişene kadar hayatta kalma oranı genellikle bozulmaz (Choobin *et al.* 2017) fakat, kronik HCV' li hastaların uzun dönem takiplerinde siroz, dekompansasyon ve hepatosellüler karsinom riski artmaktadır. Bir çalışmada, karaciğer nakli 20 yıl sonra değerlendirilen nakil sonrası HCV' li bir hasta grubunun, %23' ünde kronik aktif hepatit, %51' inde siroz ve %5' inde hepatoselüler karsinom mevcut olduğu tespit edilmiştir (Pawlotsky *et al.* 2015). Hastalığın ilerlemesinde neden bu kadar farklılıklar olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Konakçı ve virüse bağlı faktörlerin, özellikle konakçıda yüksek alkol tüketimi ve/veya

alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı gibi diğer karaciğer komorbiditelerinin etkisinin olduğu varsayılmaktadır (Warkad *et al.* 2018).

2.3.6.4 Siroz ve hepatik dekompasyon

HCV komplikasyonları genel olarak sadece siroz gelişen hastalarda ortaya çıkmaktadır. Sirotik hastalarda karaciğerle ilişkili olmayan ölüm oranı da daha yüksektir (Kahyesh-Esfandiary *et al.* 2019). Bununla birlikte, siroz hastalarının çoğu, hepatik dekompansasyon meydana gelmediği sürece asemptomatik olacağından, sirozun klinik olarak teşhis edilmesi çok zor olabilir. Siroz ile ilişkilendirilebilecek bulgular fiziksel muayenede hepatomegali ve/veya splenomegali, yüksek serum bilirubin konsantrasyonu, hiperalbüminemi veya düşük trombosit oranıdır (Mauss *et al.* 2017). Örümcek anjiyomu, kaput medusa, palmar eritem, testiküler atrofi veya jinekomasti gibi kronik karaciğer hastalığı ile ilişkili diğer klinik bulgular da bulunabilir. Bu bulguların çoğu siroz hastalarının yarısından azında bulunur ve bu nedenle hiçbiri siroz tanısı koymak için yeterli değildir (Wrensch *et al.* 2018).

2.3.7 Laboratuvar teşhisi

HCV enfeksiyonunun tanı ve yönetiminde iki çeşit laboratuvar teşhisi kullanılır: hepatit C virüsüne karşı oluşan spesifik antikorları (anti-HCV antikorları) saptayan serolojik testler ve viral nükleik asidi saptayan moleküler testler. Fakat bu testlerin, hastalığın şiddeti veya prognozunun değerlendirilmesinde hiçbir rolü yoktur (Mauss *et al.* 2017).

2.3.7.1 Serolojik tahliller

Anti-HCV antikorlarını tespit eden testler, hem HCV enfeksiyonunu taramak hem de teşhis etmek için kullanılır. Anti-HCV antikorları, immünolojik testler kullanılarak serum veya plazmada tespit edilebilir. Mevcut ELISA' nın anti-HCV antikorları için özgüllüğü %99' dan fazladır (Jamalidoust *et al.* 2017). Nükleik asit testinin yaygın olarak kullanılabilirliği göz önüne alındığında, HCV teşhisi ve yönetiminde Rekombinant

İmmünoblot Testinin (RIBA) rolü ise neredeyse tamamen ortadan kalkmıştır (Pawlotsky *et al.* 2015).

Plazma veya serumdaki anti-HCV antikorlarının tespiti, çeşitli HCV epitoplarına karşı yönlendirilen antikor karışımlarını tespit eden üçüncü nesil EIA ların kullanımına dayanmaktadır (Warkad *et al.* 2018). Rekombinant antijenler; mikrotitre plakalarının, mikro boncukların veya kapalı otomatik cihazlara uyarlanmış özel tutucuların oyukları üzerinde dolaşan anti-HCV antikorlarını yakalamak için kullanılmaktadır. Anti-HCV antikorlarının varlığı, bir substratın renkli bir bileşiğe dönüşümünü katalize eden bir enzimle etiketlenmiş anti-antikorlar tarafından ortaya çıkarılmaktadır (Younossi 2017).

2.3.7.2 Genotiplendirme testleri

Genotiplendirme, tedaviye yanıt verme olasılığının tahmini ve optimal tedavi süresini belirlemek için epidemiyolojik çalışmalar ve enfeksiyonun klinik yönetimi açısından faydalıdır. 5’ kodlamayan bölgenin doğrudan dizi analizini kullanarak HCV genotiplerinin belirlenmesi için Çizelge 2.1 'de gösterildiği gibi çeşitli ticari testler mevcuttur (Dimmock *et al.* 2016).

Çizelge 2.1 Hepatit C virusu için kullanılan teşhis testleri (Dimmock *et al.* 2016)

Test/Tipi	**Amaç**	**Yorumlar**
Anti-HCV (antikor) tespiti:		
Enzim immunassay (EIA)	Geçmişteki veya mevcut enfeksiyonu gösterir, ancak akut, kronik veya geçmiş enfeksiyon arasında ayrım yapmaz.	Hassasiyet > %95' dir. Hepatit başlangıcından sonraki 5-6 hafta içinde hastaların %80'inde anti-HCV antikorlarını tespit eder. Geç serokonversiyon meydana gelebilir.
Rekombinant immünoblot tahlili		
HCV RNA (virüs) tespiti:		
Nitel testler	Virüsün varlığını veya yokluğunu tespit etmek. Virüsü maruz kaldıktan 1-3 hafta sonra tespit eder. Enfeksiyon seyri sırasında HCV RNA tespiti aralıklı olabilir. Tek bir negatif PCR kesin değildir.	Test numunelerinin uygun olmayan şekilde kullanılması, saklanması ve kontaminasyonu nedeniyle yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir.
Nicel testler	HCV titresini belirler. Antiviral tedavi alan hastaları izlemek için kullanılmaktadır.	Nitel PCR' den daha az duyarlıdır. Tercihen HCV tanısını doğrulamak veya dışlamak için veya tedavi bitiş noktasını izlemek için kullanılmamalıdır.
HCV çekirdek antijen EIA	Virüsün varlığını veya yokluğunu algılar. Virüsü, maruziyetten 1-3 hafta sonra tespit eder. Antiviral tedavi alan hastaların izlenmesi için hala değerlendirme aşamasındadır.	Lisanslı değil. Kan bağışlarının geniş çapta taranması için uygun görünmektedir fakat klinik izlemede kullanımı henüz belirlenmemiştir.
Genotip	HCV izolatlarını genetik farklılıklara göre 6 genotipe ayırır. Yeni tedaviler ile tedavi süresi genotipe göre değişmektedir.	Genotip 1 ve muhtemelen genotip 4, antiviral tedaviye daha düşük bir yanıt ile ilişkilidir.

2.3.8 Bağışıklık yanıtı

HCV enfeksiyonunda hücre aracılı yanıt, humoral bağışıklıktan daha belirgindir, ancak T-yardımcı ve sitotoksik lenfositlerin aktif proliferasyonu, enfeksiyonu temizlemek veya yeniden enfeksiyonu önlemek için yetersiz görünmektedir (Huang *et al.* 2021). HCV' nin doğal ortamda mutasyona uğrayabileceği ve böylece immun yanıttan kurtulabileceğine

dair bazı kanıtlar vardır (Brown Jr *et al.* 2020). HCV proteinlerine karşı antikorlar genellikle virüse maruz kaldıktan sonra 4-12 hafta içinde gelişir, çekirdek ve yapısal olmayan 3' bölgesine yönelik olanlar en erken ve daha sık tespit edilmektedir (Dimmock et al. 2016). Anti-HCV antikorları, kronik hepatit C' nin belirgin klinik iyileşmesinden sonra zaman içinde antikor reaktivitesi azalmasına rağmen enfeksiyon süresi boyunca saptanabilir kalmaya devam etmektedir (Younossi 2017). Bağışıklığı yeterli bireylerde, birincil gizli HCV enfeksiyonunun etiyolojisi, büyük olasılıkla, gizli bir seronegatif enfeksiyonla sonuçlanan düşük enfektif virüs dozlarına sporadik maruz kalma ile açıklanmaktadır. Bu nedenle, uzun süreli çok düşük antikor titreleri nedeniyle anti-HCV reaktivitesi saptanamaz halde kalır (Mo Shahid 2018).

NK hücreleri, HCV enfeksiyonundan birkaç dakika sonra granülleri enfekte hücreler yönünde polarize ederek ve enfekte hücrelerin çekirdeklerini parçalayan ve apoptozu indükleyen perforinler salarak yanıt verir (Kahyesh-Esfandiary *et al.* 2019). İntrahepatik inflamatuar hücreleri toplayan ve T-yardımcı 1 (Th1) yanıtını uyaran IFN-y üretimi ile viral replikasyonu engeller, böylece HCV ile enfekte olmuş hücrenin nekrozunu veya apoptozunu indükler (Mauss *et al.* 2017). NK hücreleri ayrıca, karaciğer hücrelerinin varlığında dendritik hücrelerin fonksiyonlarını artırma kapasitesine sahiptir, ancak bu kapasite, dendritik hücrelerin aktivitesini inhibe edebilecek IL-10 üretiminin ve dönüştürücü büyüme faktörü beta' nın (TGF-β) bulunduğu kronik hepatit C' li hastalardan elde edilen doğal öldürücü hücrelerde bozulmuştur (Jinushi *et al.* 2004).

2.3.9 Konakçı faktörleri

HCV enfeksiyonunun ilerlemesinde yaş, cinsiyet ve ırk gibi konakçı faktörlerin etkisi genetik varyasyonlardan kaynaklanabilmektedir. Hepatit C' nin farklı etnik kökenlerde evrimi, HCV' nin spontan olarak ortadan kaldırılmasını tanımlayabilen HLA sınıf II alellerinin varlığı gibi genetik faktörlere bağlı olabilir (Zibbell *et al.* 2018). Kronik hepatit C' nin ilerlemesinde; alkol bağımlılığı, sigara kullanımı, HCV' nin endovenöz edinimi ve HIV, HBV ve insan T-hücresi lenfotropik virüsü gibi diğer virüslerle ko-enfeksiyon ile ilişkili çeşitli dışsal konak faktörleri mevcuttur (Brown Jr *et al.* 2020).

2.3.10 Tedavi

Mevcut antiviral tedavi, polietilen glikol konjuge IFN-α formunun ribavirin ile kombinasyonuna dayanmakta olup bu da yaklaşık %60' lık bir genel sürekli virolojik yanıt (SVR) ile sonuçlanmaktadır (Dimmock *et al.* 2016). Bununla birlikte, tedavinin başarı oranı, enfeksiyona sebp olan HCV genotipine bağlıdır. Genotip 2 ve 3 ile enfekte hastaların %85 kadarı SVR geliştirirken, genotip 1 HCV ile enfekte hastalarda bu oran yaklaşık olarak %45' dir (Mo Shahid 2018). Ek olarak; bu kombinasyon tedavisinin, artan vücut ısısı, baş ağrısı ve kas ağrısı gibi grip benzeri semptomlar ile nöropsikiyatrik değişiklikler ve hemolitik anemi gibi ciddi yan etkileri gözlenebilmektedir (Zibbell *et al.* 2018). Bu nedenle, birçok hasta için bu tedavi uygun değildir ve tedavinin çoğu zaman kesilmesi gerekebilmektedir (Mauss *et al.* 2017).

2.4 Kronik Viral Hepatitte Karaciğer Fibrozu

Karaciğer fibrozu; hepatositlerin kaybı, hepatik mikro yapının hasarı, hepatik (miyo) fibroblastların proliferasyonu ve hücre dışı matrisin aşırı birikmesi ile karakterizedir (Huang *et al.* 2021). Karaciğer fibrozunun son aşaması yetersiz detoksifikasyon, portal hipertansiyon, böbrek ve akciğer yetmezliği ve hepatosellüler karsinom ile sonuçlanabilir, ayrıca yüksek ölüm oranı ile ilişkilidir. Karaciğer fibrozu; kronik viral hepatitler, alkolle ilişkili ve ilişkili olmayan karaciğer hastalıkları gibi kronik karaciğer hastalıklarının yanı sıra otoimmün ve metabolik karaciğer hastalıklarında ortak semptom olan son aşamadır (Dimmock *et al.* 2016). Hepatik fibrozisin ana özelliği, fibroblastların ve hepatik stellat hücrelerinin aktivasyonu ve proliferasyonudur. Kronik karaciğer hasarı, kontraktil hale gelen, hücre dışı matris bileşenlerini üreten ve dönüştürücü büyüme faktörü B gibi inflamatuar ve profibrotik sitokinler ve kemokinler salgılayan bazı hücrelerin aktivasyonuna yol açar (Duchesne *et al.* 2017). Kupffer hücreleri, endotel hücreleri, hepatositler ve trombositler tarafından tetiklemeye dayalı hepatik yıldız hücre aktivasyonunun hepatik fibrogenezdeki kilit olayı temsil ettiğine inanılmaktadır. (Younossi 2017).

HBV ile enfeksiyon; karaciğer hücre çoğalması, yağlanma, karaciğer yetmezliği, fibroz ve siroz gibi akut ve kronik karaciğer hastalığına neden olmaktadır (Jamalidoust *et al.* 2017). Ayrıca, kronik HBV enfeksiyonu taşıyıcılarında hepatoselüler karsinom (HCC) riskinin 100 kat arttırdığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, HCC vakalarının yaklaşık %54,4' üne global olarak HBV enfeksiyonu neden olmaktadır ve HCC vakalarının %89 kadarı gelişmekte olan ülkelerde HBV enfeksiyonuna atfedilebilir (Mauss *et al.* 2017). Hepatit C virüsü; öncelikle kronik inflamasyon, hücre proliferasyonu, steatoz ve sirozdan kaynaklanan kronik doku hasarı nedeniyle HCC' nin dolaylı bir nedenidir (Kahyesh - Esfandiary *et al.* 2019). HCV enfeksiyonunun HCC riskini yaklaşık 17 kat artırdığı ve HCC vakalarının yaklaşık %31,1' inin HCV enfeksiyonundan kaynaklandığı tespit edilmiştir (Mo Shahid 2018).

2.5 Alfa-Fetoprotein

Alfa-fetoprotein (AFP), hepatoselüler karsinomun (HCC) teşhisi için bir serum belirteci olarak yaygın olarak kullanılan bir fetal glikoproteindir; bununla birlikte, kronik karaciğer hastalığı olan HCC olmayan hastalarda da yüksek serum AFP seviyeleri belgelenmiştir (Dimmock *et al.* 2016). AFP' deki yükselmeler kronik hepatit C' li kişilerde yaygın olarak görülürken, yüksek seviyelerin HCC' den daha yaygın olarak kronik karaciğer hastalığı ve fibroz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Younossi 2017).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Hasta grubu

10 Eylül 2020 ile 10 Ocak 2021 tarihleri arasında Kerkük şehrinde hastane bazlı kesitsel bir çalışma yapılmıştır. Çalışmaya; yaşları 20-75 arasında olan Kerkük Hepatoloji ve Gastroenteroloji merkezlerine başvurmuş 50 kronik hepatit C hastası birey katılmıştır. Çalışmaya alınan hepatitli hastaların fibroz evresinin tanımı ve hastaların anemnez föyü hakkında, hastaların uzman hekimlerinden bilgi alınmıştır.

3.1.2 Kontrol grubu

Hastalarla eşleştirilen kontrol grubunu kan bağışı için kan bankasına başvuran ve herhangi bir hastalığı olmadığı anlaşılan 35 birey oluşturmuştur.

3.1.3 Örnekleme

Bu çalışmaya katılan her hastadan enjektör kullanılarak ven punksiyonu ile beş mL kan örneği EDTA' lı tüplere ve serum tüplerine alınmıştır.

3.1.4 Çalışmada kullanılan malzemeler

•Yapışkanlı band (Life care, Türkiye)
•Alkollü mendil (%70 izopropil alkol içeren) (Lina, Irak)
•Biyolojik atık kabı (Biozek, Hollanda)
•EDTA–K3 kan tüpleri (Biozek, Hollanda)
•Ependorf tüpleri (Biozek, Hollanda)
•Gazlı bez süngerleri (Gauze, Çin)
•Laboratuvar eldiveni (Medi-soft, Malezya)

•Mikro pipetler (kapasite 5 – 40 µL, 40 – 200 µL, 200 – 1000 µL) (Dragon, Çin)
•Mikro pipet uçları (Biozek, Hollanda)
•Serolojik ve biyokimyasal testler için tüp (Biozek, Hollanda)
•Turnike (Biozek, Hollanda)
•Viral RNA Ekstraksiyon Kiti (Zymo Research, ABD)
•HCV antikor ELISA (CTK Biotech, ABD)

3.1.5 Çalışmada kullanılan araçlar

•60°C ± 2°C kuru ısı bloğu
•Biyolojik tehlike atık kabı
•Biyolojik kabin (PKL, İtalya)
•ELISA okuyucusu (Biotech, ABD)
•Santrifüj (80-1, Çin)
•I – chroma™ immünofloresan okuyucu (Kore)
•İnkübatör (Jrad, Suriye)
•Gerçek Zamanlı Termal döngüleyici
•Real time PCR kit and primers Gerçek zamanlı – PCR (Sacace, İtalya).
•Buzdolabı
•Spektrofotometre (Apel, Japonya)
•Vorteks karıştırıcı
•Su banyosu

3.2 Yöntem

3.2.1 Örneklerin hazırlanması

Serum tüpleri içerisine alınan kan örnekleri, pıhtılaşma için 37°C' de 30 dakika bekletildi, 3000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi, serumlar otomatik mikropipet kullanılarak aspire edildi ve eppendorf tüplerine aktarıldı. Daha sonra spesifik HCV antikorlarının tespiti ile ALT, AST, ALP, TSB ve AFP' nin immünofloresan değerlendirilmesinin yapılacağı zamana kadar 20°C' de derin dondurucuda saklandı. EDTA' lı kan tüplerinden elde edilen plazma örnekleri ise otomatik mikropipet kullanılarak aspire edildi ve eppendorf tüplerine

aktarıldı. HCV yönünden moleküler testler ve genotiplendirme yapılacağı zamana kadar -20°C' de derin dondurucuda saklandı.

3.2.2 Laboratuvar testleri

3.2.2.1 ELISA ile anti-HCV antikorlarının belirlenmesi

ELISA testi ile anti-HCV antikorlarının belirlenmesi, bu çalışmada kullanılan ticari kitin (ELISA HCV Ab CTK Biotech, ABD) prosedürüne göre yapıldı. Bu testin prensibine göre; mikro kuyucukların yüzeyi saflaştırılmış HCV antijeni ile kaplanır. Kuyucuklara seyreltilmiş hasta serumu eklenir ve varsa anti-HCV IgG ve / veya IgM antikorları antijene bağlanır. Tüm bağlanmamış malzemeler yıkanarak uzaklaştırılır. Antikor – antijen kompleksine bağlanan yaban turpu peroksidaz (HRP) – konjugatı eklenir. Fazla HRP – konjugatı yıkanır, kompleksleşmiş konjugatların varlığı, Tetrametilbenzidin (TMB) substrat reaktifi ilave edilerek inkübasyon sonrası mavi renkle gösterilir. Reaksiyon, durdurma solüsyonu ile durdurulur ve absorbanslar 450 / 620 – 690 nm' de ELISA okuyucu ile okunur. Prosedür, sonuçların okunması ve yorumlanması, kitin ekteki broşüründe belirtilmiştir.

3.2.2.2 Moleküler testler

3.2.2.2.1 HCV-RNA izolasyonu

HCV RNA izolasyonu bu çalışmada kullanılan ticari kitin (Zymo araştırma Viral RNA Seti™, Zymo research corp., ABD) prosedürüne göre yapıldı. Bu kit, çok çeşitli biyolojik kaynaklardan yüksek kaliteli viral RNA' nın hızlı izolasyonunu sağlamaktadır. Viral partikül lizizini kolaylaştıran ve Zymo – Spin™ Sütununun matrisi üzerine RNA adsorpsiyonuna izin veren tek bir tampon sistemi kullanmaktadır. RNA yıkanma basamaklarından sonra, DNaz/RNaz ari su ile ayrıştırılır ve elde edilen RNA, RT-PCR dahil olmak üzere çeşitli prosedürlerde kullanım için uygundur. Kit; viral RNA tamponu 1, viral yıkama tamponu 2 (konsantre), DNaz/RNaz ari su, kolonlar ve toplama tüpleri

ihtiva etmektedir. RNA izolasyonuna başlamadan önce, tamponlar testin kullanma klavuzuna göre hazırlanmıştır.

Prosedür:

1. 100 µL plazma örneğine 300 µL viral RNA tamponu eklendi ve karıştırıldı.
2. Numune, bir toplama tüpü içinde Zymo-spin™ IC kolonu 2'ye aktarıldı ve 1-2 dakika (dakikada 10000 devir) santrifüjlendi, akış atıldı.
3. Kolona 500 µL viral yıkama tamponu eklendi ve 2 dakika (dakikada 10000 devir) santrifüj edildi. Ardından kolon dikkatlice DNaz/RNaz ari tüpe aktarıldı.
4. Doğrudan kolon matrisine 15 µL DNaz/RNaz ari su ilave edildi ve 30 saniye (dakikada 10000 devir) santrifüj edildi. Elde edilen RNA hemen kullanılmayacaksa daha sonra kullanılmak üzere -70 ºC 'de saklandı.

3.2.2.2.2 Gerçek zamanlı RT-PCR yoluyla HCV' nin nicel belirlenmesi

Gerçek zamanlı PCR, bu çalışmada kullanılan ticari kitin (HCV Real-TM Quant, Sacace Biotechnology, İtalya) prosedürüne göre yapıldı. Bu kit, insan plazmasında hepatit C virüsünün nicel tespiti için gerçek zamanlı bir testtir. HCV RNA' sı plazmadan izole edildikten sonra, RT amplifikasyonu kullanılarak amplifiye edilir ve HCV veya HCV dahili kontrole (IC) özgü floresan raportör boya probları kullanılarak saptanır. HCV IC bir dahili kontrol olup nükleik asit izolasyonundan, PCR amplifikasyonuna kadar tüm analiz adımlarında taşınan rekombinant RNA içeren yapıyı temsil etmektedir. Dahili kontrol (IC), ayrı ayrı işlenen her numune için izolasyon ve amplifikasyon kontrolü ile olası reaksiyon inhibisyonunu belirleme işlevi görmektedir. IC, gerçek zamanlı RT- PCR' da HCV RNA' dan başka bir kanalda saptanmaktadır. Floresan yoğunluklarının gerçek zamanlı olarak izlenmesi, amplifikasyondan sonra reaksiyon tüpünü yeniden açmaya gerek kalmadan biriken ürünün saptanmasına olanak tanımaktadır. RNA numunesinin hacmi 12,5 µL olacak şekilde, toplam PCR reaksiyon hacmi 25 µL hazırlanmıştır. Bu amaçla:

1. Reaktifler çözüldü, vortekslendi ve kısaca santrifüjlendi.
2. Ekstraksiyon pozitif kontrolleri, negatif amplifikasyon kontrolü ve standart dahil olmak üzere istenen sayıda reaksiyon tüpü hazırlandı.
3. RT-PCR-mix-2-FRT' li tüpün tüm içeriği DTT li tüpe ilave edildi ve iyice vortekslendi.
4. Numuneler, kontroller ve standartlar için tüpler ayarlandı ve PCR reaksiyon karışımı aşağıdaki gibi hazırlandı:

- 7,5 µL RT-PCR-mix-1- HCV
- 5 µL karışım RT-PCR-mix-2-FRT ve DTT
- 0,5 µL Polimeraz (TaqF)
- 0,25 µL TM-Revertaz (MMlv)

5. Her tüpe 12,5 µL reaksiyon karışımı eklendi.
6. Reaksiyon karışımı ile birlikte uygun tüplere 12,5 µL izole edilmiş RNA numunesi eklendi.
7. Her çalışma için dört standart hazırlandı, her biri QS1 (Kantitatif standart 1) HCV etiketli iki tüpe 12,5 µL QS1 HCV eklendi. Pipetleme ile karıştırıldıktan sonra her biri QS2 HCV etiketli iki tüpe 12,5 µL QS2 HCV ilave edilmiş olup pipetleme ile karıştırıldı.
8.Tüpler ısısal döngü cihazına yerleştirildi ve cihaz programlandı:

- Aşama 1, 50°C – 1800 saniye
- Aşama 2 95°C – 900 saniye
- Aşama 3 (2 Sıcaklık Döngüsü) 95°C, 20 saniye ve 60°C 40 saniye

Not: Döngüler 42 kez tekrarlanmıştır

Testler tamamlandıktan sonra veri analizi yapıldı. Yorumlama prensibi aşağıdaki gibidir:

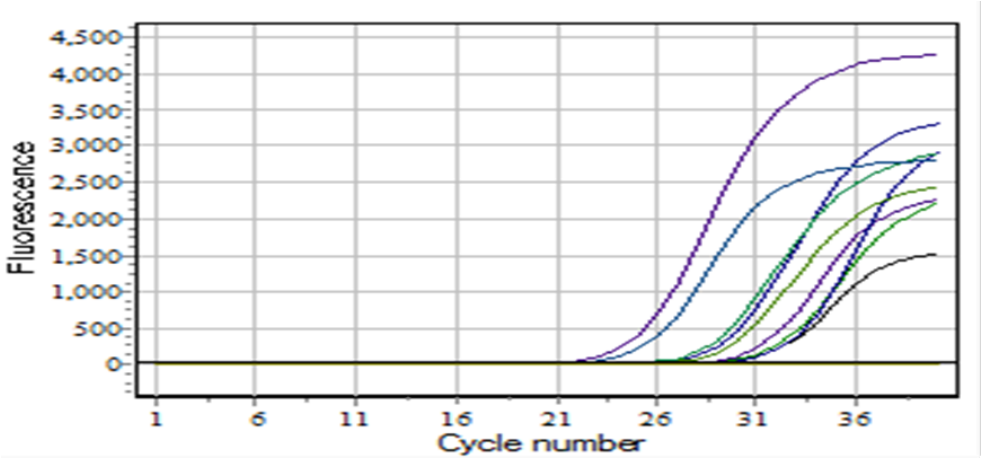
- Dahili kontrol (IC) cDNA amplifikasyon ürününün sinyali FAM kanalında tespit edildi.
- HCV cDNA amplifikasyon ürününün sinyali JOE kanalında tespit edildi.

Sonuçlar, floresan eğrisi ile numune için Ct değerlerinin varlığını (veya yokluğunu) belirleyen eşik çizgisi arasındaki kesişimin varlığı (veya yokluğu) ile yorumlanmıştır. Ct değerlerine ve kalibratörlerin, QS1 HCV ve QS2 HCV' nin belirtilen değerlerine dayanarak, kalibrasyon satırı, HCV cDNA kopyalarının (JOE kanalı) ve bir PCR örneğinde (Şekil 3.1) dahili kontrol cDNA kopyalarının (FAM kanalı) sayısı için

değerleri vermiştir. Alınan değerler, aşağıdaki formül kullanılarak HCV RNA konsantrasyonu hesaplaması için kullanılmıştır:

PCR numunesi başına HCV cDNA kopyaları / PCR numunesi başına IC cDNA kopyaları x katsayı A x katsayı B = IU/plazma mL

• Amplifikasyon kitinde kitinde HCV genomunun 5 ′ protein kodlamayan bölgesinin 244 nükleotid bölgesini çoğaltmak için (5′-GCA GAA AGC GTC TAG CCA TGG CGT-3′) ve KY78 (5′-CTC GCA AGC ACC CTA TCA GGC AGT-3′) primerleri kullanılmıştır.



Şekil 3.1 FAM kanalı floresanın döngü sayısına bağlılığı

3.2.2.2.3 RT-PCR yoluyla HCV genotipinin nitel belirlemesi

RT-PCR yoluyla HCV genotipinin nitel belirlemesi, bu çalışmada kullanılan ticari kitin (Genotype plus Real-TM, Sacace Biotechnology, İtalya) prosedürüne göre yapıldı ve üç ana işlem temel alındı:

1. HCV RNA'nın numunelerden izolasyonu
2. RNA'nın ters transkripsiyonu
3. Gerçek zamanlı PCR:

• Alt tipler 1b ve 3 için primerler ve problar PCR-mix-1-FRT HCV 1b/3
• Alt tipler 1a ve 2 için primerler ve problar PCR-mix-1-FRT HCV 1a/2
• Alt tipler 4 ve dahili kontrol için primerler ve problar PCR-mix-1-FRT HCV 4/IC

• Alt tipler 5a ve 6 için primerler ve problar PCR-mix-1-FRT HCV 5a/6

Dahili kontrol (IC), ayrı ayrı işlenmiş her numune için bir amplifikasyon kontrolü görevi görmekte olup olası inhibisyonu tanımlamaktadır. IC, HCV RNA'dan başka bir kanalda tespit edilmektedir. Kit ile temin edilen malzemeler:

A. Kısım N° 1 – "Kontroller"

- Negatif kontrol, 0,5 mL
- HCV Rec dahili kontrol (IC), 0,5 mL

B. Kısım N° 2 – "Reverta-L"

- RT-G-mix-1,5 x 0,01 mL
- RT-mix: 5 x 0,125 mL
- Ters transkriptaz (M – MLV): 0,03 mL
- TE-tampon: 1,2 mL

C. Kısım N° 3 – "HCV Genotip Plus Real-TM"

- PCR-mix-1-FRT HCV 1b/3: 0,6 mL
- PCR-mix-1-FRT HCV 1a/2: 0,6 mL
- PCR-mix-1-FRT HCV 4/IC: 0,6 mL
- PCR-mix-1-FRT HCV 5a/6: 0,6 mL
- RT-PCR-mix-2-TM: 4 x 0,3 mL
- TaqF Polimeraz: 4 x 0,03 mL
- Kontroller:
  - HCV cDNA C+ 1b/3: 0,2 mL
  - HCV cDNA C+ 1a/2: 0,2 mL
  - HCV cDNA C+ 4: 0,2 mL
  - HCV cDNA C+ 5a/6: 0,2 mL
- TE-tamponu: 0,5 Ml

Viral RNA' nın Ters Transkripsiyonu (RT) amacı ile:

a. RT-G-mix-1 ve RT-mix çözülüp vortekslendi ve kısaca santrifüjlendi.
b. RT karışımını içeren tüpe 5 µL RT-G-mix-1 eklendi, en az 10 saniye vortekslendi ve kısaca santrifüjlendi, tüpe 6 µL M-MLV eklendi ve Reaktif Karışımı ile pipetlenerek karıştırıldı, vortekslendi ve 5-7 saniye santrifüjlendi.
c. Her numune tüpüne 10 µL Reaksiyon Karışımı eklendi.
d. 10 µL RNA numunesi eklenerek pipetleme ile dikkatlice karıştırıldı.
e. Tüpler ısısal döngü cihazına yerleştirildi, 37˚C'de 30 dakika inkübe edildi.
f. Elde edilen cDNA numunesi (31 µL) TE-buffer ile 1:2 oranında seyreltilerek (62 µL) tüpler vortekslendi ve kısa süre santrifüj edildi.

Gerçek zamanlı PCR için:

1.PCR reaktifleri çözülmüş olup tüpler vortekslenmiş ve kısaca santrifüjlendi.
2. Her numune için dört PCR tüpü hazırlandı, tüpler uygun şekilde işaretlendi (örn. "Numune No. 1b/3", "Numune No. 1a/2", "Numune No. 4/IC" ve "Numune No. 5a/6").
3. Dört ana karışım hazırlandı: "1b/3", "1a/2", "4/IC" ve "5a/6" ve her numune için yeni steril tüpe eklendi (Şekil 3.2).

10 µL PCR-mix-1-FRT HCV genotip 1b/3 (veya 1a/2 veya 4/IC veya 5a/6)
5 µL RT-PCR-mix-2-TM
0,5 µL polimeraz (TaqF)

4. İyice vortekslendi.
5. 15 µL ana karışım ve 10 µL cDNA numunesi belirtildiği gibi uygun tüpe pipetlendi.
6. 10 µL kontrol uygun tüpe eklenerek her PCR-mix-1 için bir negatif ekstraksiyon kontrolü yapıldı.
7. Her PCR-mix-1 için pozitif kontrol yapıldı:

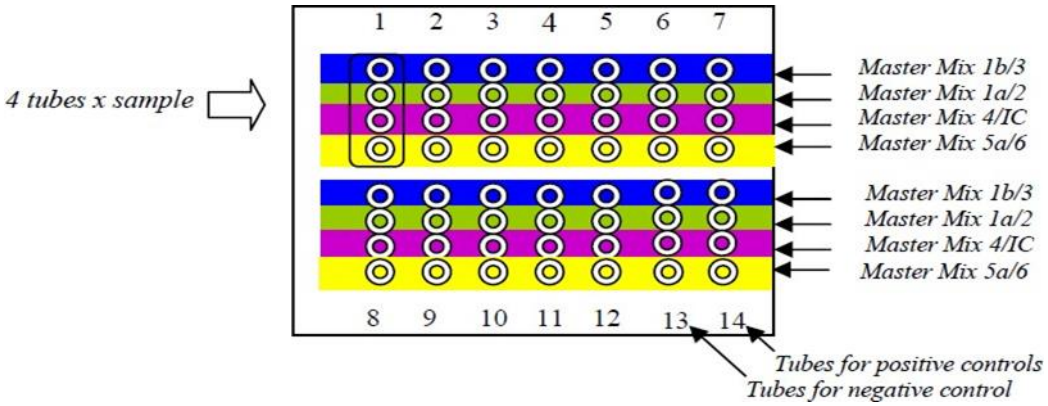
• 10 µL Pozitif kontrol cDNA HCV genotipleri 1b/3, C+1b/3 etiketli "1b/3" reaksiyon karışımına sahip tüpe eklendi (Şekil 3.2 14. konumunda 1. tüp).

• 10 µL Pozitif Kontrol cDNA HCV genotipi 1a/2, C+1a/2 etiketli "1a/2" reaksiyon karışımına sahip tüpe eklendi (Şekil 3.2 14. konumunda 2. tüp).

• C+4/IC etiketli "4/IC" reaksiyon karışımına sahip tüpe 10 µL Pozitif kontrol

cDNA HCV genotip 4/IC eklendi (Şekil 3.2 14. konumunda 3. tüp).

• 10 µL Pozitif kontrol cDNA HCV genotip 5a/6, C+5a/6 etiketli "5a/6" reaksiyon karışımına sahip tüpe eklendi (Şekil 3.2 14. konumunda 4. tüp).



Şekil 3.2 Numuneler ve karışım dağılımını gösteren diyagram

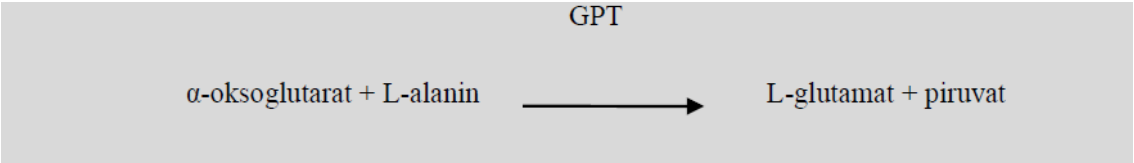
Çizelge 3.1 HCV genotiplemesi için primerler

Genotip	**Sıra**	**Ürün uzunluğu (bp)**
HCV-1a	5′ HEX- ACT CGG CTA GCA GTC TT 3′	193
HCV-1b	5′ FAM- ACT CGG CTA GCA GTC TC 3′	193
HCV-2a/c	5′ HEX- GAG TAC ACC IGA ATT GCC GGG 3′	151
HCV-2b	5′ FAM- TGA GTA CAC CGG AAT TMC CG 3′	152
HCV-4	5′ FAM- CCG GTT CCG CAG ACC ACT 3′	93

3.2.2.3 Biyokimyasal testler

Biyokimyasal testler için, çalışmaya katılan bireylerin kanlarından hazırlanan taze serum örnekleri kullanıldı. Alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalin fosfataz (ALP), toplam serum bilirubin (TSB) ve Alfa-fetoprotein düzeyleri ölçüldü.

- Alanin aminotransferaz (ALT): Alanin aminotransferaz ölçümü reaktif (Randox Lab., İngiltere) kullanılarak yapıldı ve sonuçlar 12 U/L'ye kadar normal kabul edildi. Alanin aminotransferaz, prensip olarak 2,4 dinitrofenil-hidrazin ile oluşturulan piruvat hidrazon konsantrasyonunun izlenmesiyle ölçüldü.

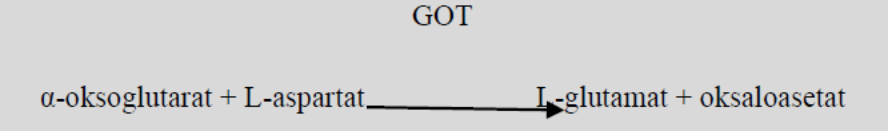


Oluşan reaksiyon yukarıdaki denklemde gösterildiği gibi özetlenmiş ve Çizelge 3.2' deki yönteme göre yapılmıştır. Burada tüm numuneler için, emilimlerin ölçülmesi ve temel denklemin uygulanması amacıyla tek bir standartla test tüpleri hazırlanmıştır.

Çizelge 3.2 Alanin aminotransferaz belirlenmesi için kullanılan malzemeler

Dalga boyu	546 nm (530-550 nm)	
Küvet	I cm ışık yolu	
İnkübasyon sıcaklığı	37°C	
Blank reaktife karşı ölçüm		
	Reaktif Blank	Örneklem
Örneklem	---	0,1 mL
Tampon R1	0,5 mL	0,5 mL
Arıtılmış su	0,1 mL	---
Tüpler karıştırıldı, 37°C'de tam olarak 30 dakika inkübe edildi.		
2,4dinitrofenil hidrazin R2	0,5 mL	0,5 mL
Tüpler karıştırıldı, 37°C'de tam olarak 20 dakika beklemeye bırakıldı.		
Sodyum hidroksit R3	5 mL	5 mL
Numunenin absorbansı 5 dakika sonra reaktif blankine karşı okundu.		

- Aspartat aminotransferaz (AST): Aspartat aminotransferaz ölçümü reaktif (Randox Lab., İngiltere) kullanılarak yapıldı ve sonuçlar 20 U/L'ye kadar normal kabul edildi. Aspartat aminotransferaz, prensip olarak 2,4 dinitrofenil-hidrazin ile oluşturulan oksaloasetat hidrazon konsantrasyonunun izlenmesiyle ölçüldü.

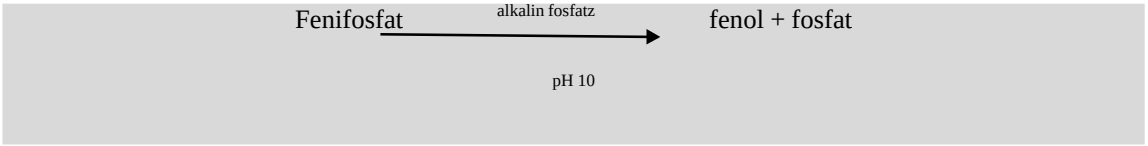


Oluşan reaksiyon yukarıdaki denklemde gösterildiği gibi özetlenmiş ve Çizelge 3.3' deki yönteme göre yapılmıştır. Burada tüm numuneler için, emilimlerin ölçülmesi ve temel denklemin uygulanması amacıyla tek bir standartla test tüpleri hazırlanmıştır.

Çizelge 3.3 Aspartat aminotransferaz belirlenmesi için kullanılan malzemeler

Dalga boyu		546 nm (530-550 nm)
Küvet		I cm ışık yolu
İnkübasyon sıcaklığı		37°C
Blank reaktife karşı ölçüm		
	Reaktif Blank	Örneklem
Örneklem	---	0,1 mL
Tampon R1	0,5 mL	0,5 mL
Arıtılmış su	0,1 mL	---
Tüpler karıştırıldı, 37°C'de tam olarak 30 dakika inkübe edildi,		
2,4dinitrofenil hidrazin R2	0,5 mL	0,5 mL
Tüpler karıştırıldı, 37°C'de tam olarak 20 dakika beklemeye bırakıldı.		
Sodyum hidroksit R3	5 mL	5 mL
Numunenin absorbansı 5 dakika sonra reaktif blankine karşı okundu.		

- **Alkalin fosfataz (ALP):** Alkalin fosfataz ölçümü reaktif (BioMerieux, Fransa) kullanılarak yapıldı ve sonuçlar 21- 92 U/L arası normal kabul edildi. Alkalin fosfataz aktivitesinin kolorimetrik tayini aşağıdaki denklemde gösterildiği şekilde, serbest kalan fenolün, 4-aminoantipirin ve potasyum ferrisiyanid varlığında ölçülmesi ile belirlendi. Reaktifte sodyum arsenat bulunması enzimatik reaksiyonu durdurdu.



Oluşan rekasiyon yukarıdaki denklemde gösterildiği gibi özetlenmiş ve Çizelge 3.4' de gösterildiği şekilde yapılmıştır.

Çizelge 3.4 Alkalin fosfataz belirlenmesi için kullanılan malzemeler

Dalga uzunluğu:		510 nm		
Sıfır ayarı:		Reaktif blank		
İnkübasyon sıcaklığı:		37°C		
	Serum örneği	**Serum blank**	**Standart**	**Reaktif boş**
Reaktif 1	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Tüpler 37°C'de 5 dakika inkübe edildi.				
Serum	50 µL	--	--	--
Reaktif 2	--	--	50 µl	--
Tüpler karıştırıldı, tam olarak 15 dakika 37°C' de inkübe edildi.				
Reaktif 3	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL
Girdap ile karışık				
Reaktif 4	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL	0,5 mL
Serum	--	50 µL	--	--
Arıtılmış su	--	--	--	50 µL
Karıştırıldı, karanlıkta 10 dakika bekletildi. Renk yoğunluğu 45 dakika stabildi.				

- Toplam serum bilirubin (TSB): Çift Dalgaboylu Toplam Bilirubin Ölçer (BR-501, Apel, Japonya) ile ölçüldü ve 0,3-1,1 mg/dL arası normal kabul edildi. BR-501, çift dalga boylu bir bilirubin ölçüm cihazıdır. Bilirubin absorbans pikini ölçtüğünde 461nm' dir. Bu nedenle toplam serum bilirubinin kolorimetrik analizini sağlar.

Prosedür:

1. Hasta kanı heparinize kapiller tüplerle aspire edildi.
2. Kapiler mikrosantrifüj ile 12000 rpm' de 5 dakika santrifüjlendi.
3. Damıtılmış su içeren kılcal boru kullanarak aletin sıfır ayarı yapıldı.
4. Serum numunesini içeren santrifüj işlemine tabi tutulan numune kapiler tüpü, serum göstergesine yerleştirildi.
5. Kılcal serum tüpü, başparmak göstergenin sağ tarafına dokunacak şekilde tutuldu.
6. Kılcal boru olduğu gibi kaldırıldı ve başparmak kılcal tutucunun üstüne değene kadar kılcal tutucuya sokuldu.

- Alfa-fetoprotein (AFP): Alfa- fetoprotein immünoflorasan testi (I-kroma, Kore) il ölçüldü. Test, bir sandviç immün algılama yöntemi kullanmaktadır; tampondaki detektör antikor, numunedeki antijene bağlanmaktadır, antijen-antikor kompleksleri oluşturmakta olup test şeridi üzerindeki diğer hareketsizleştirilmiş antikor tarafından yakalanmak üzere nitroselüloz matrisi üzerine göç etmektedir. Numunedeki daha fazla antijen, daha fazla antijen-antikor kompleksi oluşturmuş olup numunedeki AFP konsantrasyonunu göstermek için ichroma™ testleri için cihaz tarafından işlenen dedektör antikoru üzerinde daha güçlü floresan sinyali yoğunluğuna yol açmaktadır.

3.2.3 İstatistiksel analiz

Bilgisayarlı istatistiksel analiz, Minitab sürüm 17 istatistik programı kullanılarak yapılmıştır. Karşılaştırma, Ki-kare (X2), T-Test olasılığı ve varyans analizi (ANOVA) kullanılarak yapılmış olup sonuçlar; P değeri ≤ 0,05: Anlamlı (S) - P değeri > 0,05: Anlamlı değil (NS) olarak yorumlanmıştır:

R değerinin (korelasyon katsayısı) yorumlanması:

– 0,70 Güçlü bir negatif ilişki.

– 0,50 Orta derecede bir negatif ilişki.

– 0,30 Zayıf bir negatif ilişki.

\+ 0,30 Zayıf bir pozitif ilişki.

\+ 0,50 Orta derecede pozitif bir ilişki.

\+ 0,70 Güçlü bir pozitif ilişki.

4. BULGULAR

4.1 HCV Tespitinde ELISA ve PCR Testlerinin Karşılaştırılması

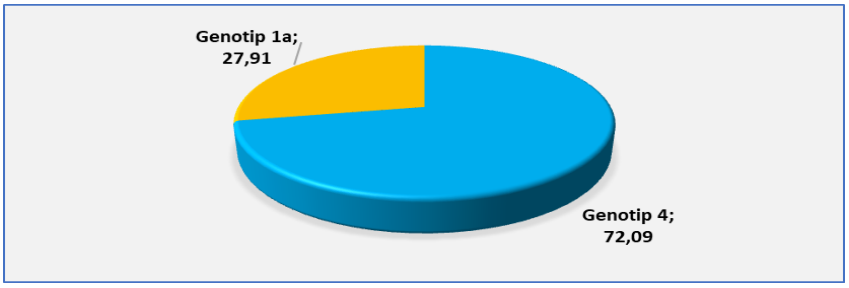
Bu çalışmada, HCV ELISA Ab ile teşhis edilen 50 hastaya HCV kronik enfeksiyonu teşhisi konmuştur. ELISA ile tespit edilen anti-HCV'si olan kronik hepatit C' li hastaların ise %86'sının (50' de 43'ü) PCR ile pozitif sonuç verdiğini görülmüştür. Bulunan sonuç anlamlı olup (P<0,01) (P değeri X^2 ile hesaplanmıştır), sonuçlar Çizelge 4.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 HCV hastalarının testinde ELISA ile PCR arasındaki karşılaştırma

Anti-HCV ELISA pozitif	**Gerçek zamanlı PCR tahlili**				**Toplam numune**	
	Pozitif		Negatif			
	No.	%	No.	%	No.	%
Kronik HCV (n: 50)	43	86	7	14	50	100

4.2 Kronik Hepatit C Hastalarında Genotiplerin Dağılımı

Bu çalışmada, kronik hepatit C'li hastaların %72,09' unun (43 kişiden 31' inin) HCV genotip 4, %27,91' inin ise HCV genotip 1a ile enfekte oldukları tespit edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Kronik hepatit C'li hastalarda genotiplerin sıklığı

4.3 Kronik HCV Hastalarında Genotip ile Viral Yükün İlişkisi

Bu çalışmaki kronik hepatit C hastalarında, genotip 4' e sahip hastalar ile genotip 1a' ya (1901,3 ± 105,6'e karşı 1693,4 ± 108,4 IU/mL) sahip hastalar arasındaki viral yüklerde oldukça anlamlı bir fark olduğu ve genotip 4 hastalarının, genotip 1a hastalarına göre en yüksek viral yüke sahip olduğu ($P < 0,01$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Kronik HCV'li hastalarda genotip ile viral yükün ilişkisi

HCV Viral yük (IU/mL)	**Genotip 4 (n: 31)**	**Genotip 1a (n: 12)**
Ortalama ± SD	1901,3 ± 105,6	1693,4 ± 108,4

4.4 Kronik Hepatit C' li Hastalarda Cinsiyete Göre HCV Genotiplerinin Dağılımı

Mevcut çalışmada, kronik hepatit C'li erkeklerin %41,94' ünün ve kronik hepatit C'li kadınların %58,06'sının genotip 4, kronik hepatit C'li erkeklerin %33,33'ünün ve kadınların %66,67'sinin ise genotip 1a taşıdıkları tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Kronik hepatit C'li hastalarda genotiplerin cinsiyete göre dağılımı

Kronik HCV	**HCV genotipi**			
	Genotip 4		**Genotip 1a**	
	No.	%	No.	%
Erkekler	13	41,94	4	33,33
Kadınlar	18	58,06	8	66,67
Toplam	31	100	12	100

4.5 Kronik HCV Hastaları ve Kontrol Grubunda ALT, AST, ALP ve TSB Seviyeleri

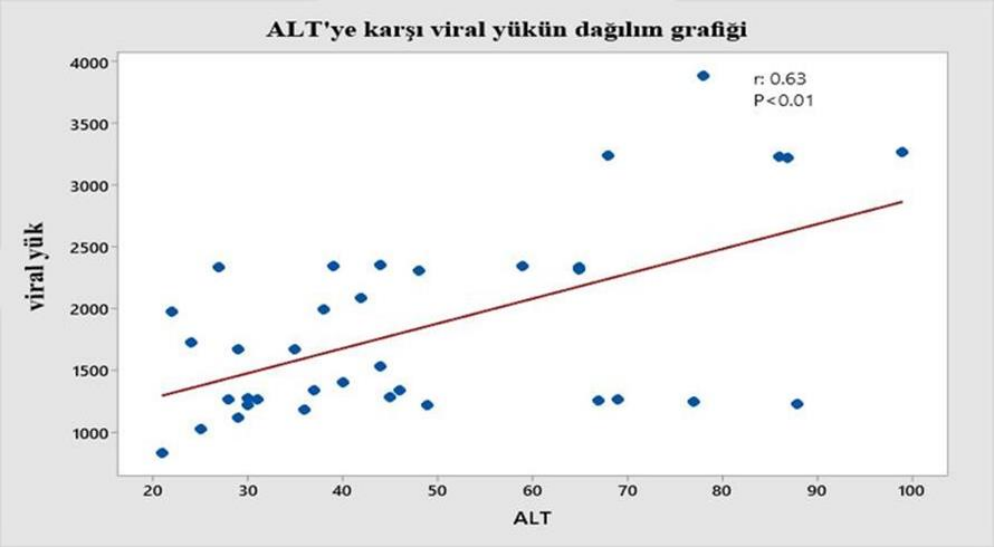
Bu çalışmada, kronik hepatit C'li hastalar ile kontrol grubu ALT, AST, ALP ve TSB seviyeleri arasında yüksek düzeyde fark tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Çalışmada tespit edilmiş ALT, AST, ALP ve TSB seviyeleri

Karaciğer fonksiyonu testleri	Kronik HCV (n: 43)	Kontrol grubu (n: 35)	*P. değeri*
ALT (IU/mL)	64,69	13,64	< 0,001
AST (IU/mL)	54,81	11,73	< 0,001
ALP (IU/mL)	285,5	62,64	< 0,001
TSB (mg/dL)	4,33	0,41	< 0,001

4.6 Kronik HCV'li Hastalarda Viral Yük ile ALT Seviyesi Arasındaki İlişki

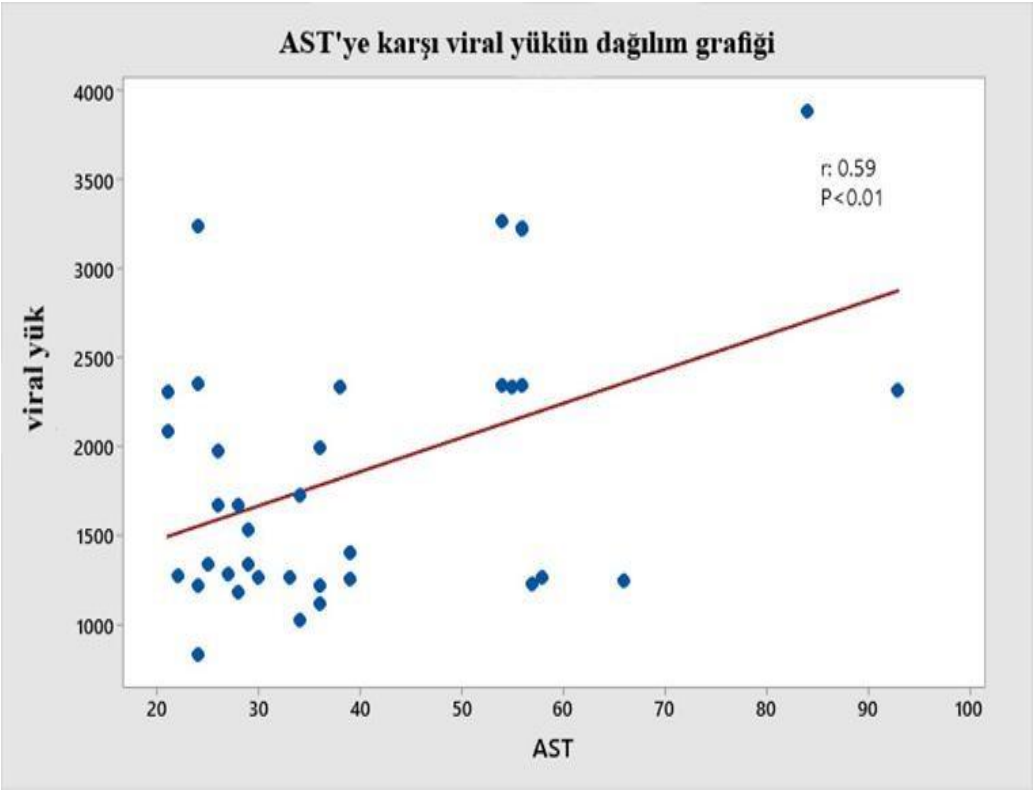
Bu çalışma, kronik hepatit C'li hastalarda ALT seviyesi ile viral yük arasında pozitif bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (r: 0,63, P < 0,01) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Kronik HCV' li hastalarda viral yük ile ALT seviyesi arasındaki ilişki

4.7 Kronik HCV'li Hastalarda Viral Yük ile AST Seviyesi Arasındaki İlişki

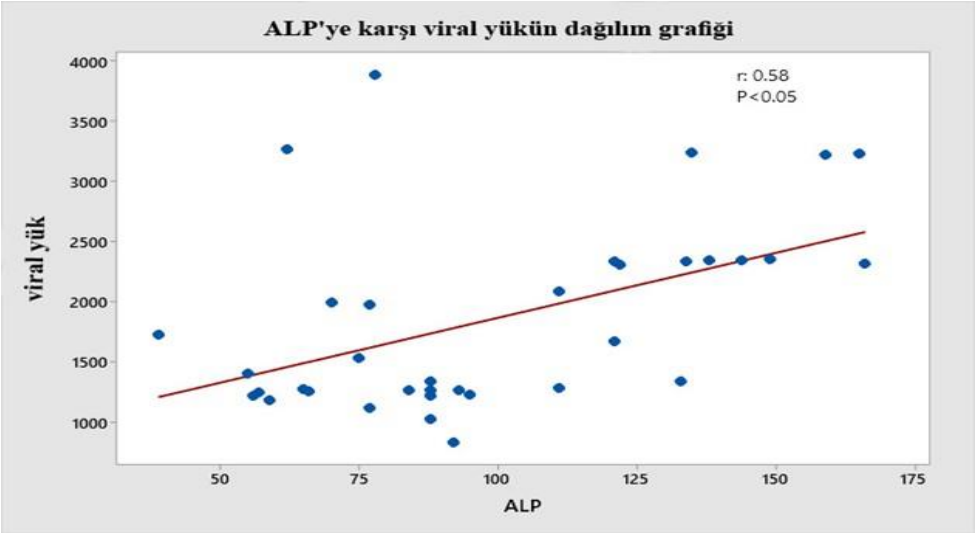
Bu çalışma, kronik hepatit C'li hastalarda AST düzeyi ile viral yük arasında pozitif bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (r: 0,59, P < 0,01) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Kronik HCV' li hastalarda viral yük ile AST seviyesi arasındaki ilişki

4.8 Kronik HCV' li Hastalarda Viral Yük ile ALP Seviyesi Arasındaki İlişki

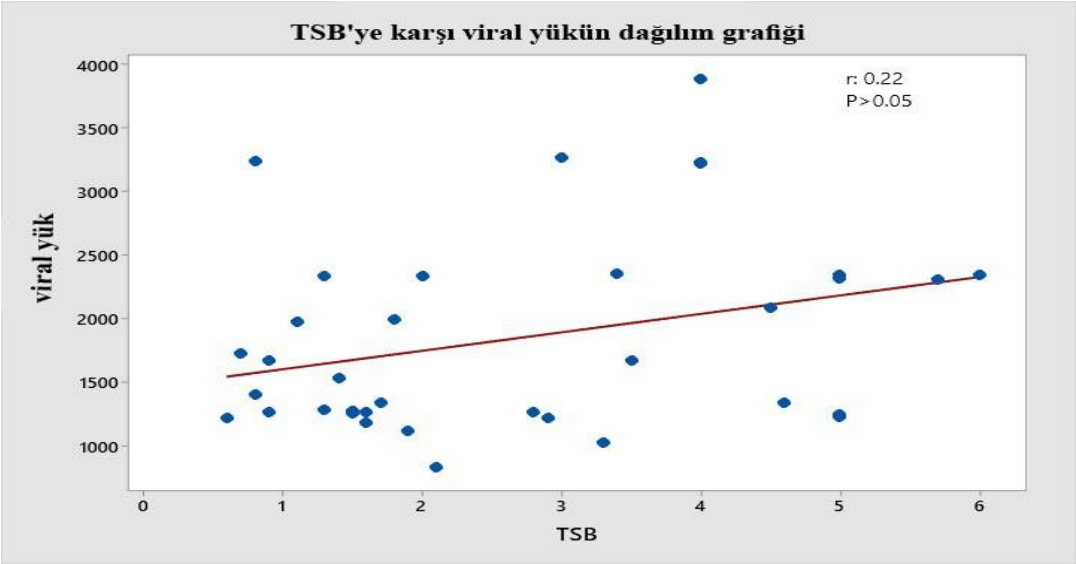
Bu çalışma kronik hepatit C'li hastalarda ALP düzeyi ile viral yük arasında pozitif bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (r: 0,58, P < 0,05) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Kronik HCV' li hastalarda viral yük ile ALP seviyesi arasındaki ilişki

4.9 Kronik HCV'li Hastalarda Viral Yük ile TSB Seviyesi Arasındaki İlişki

Bu çalışma, kronik hepatit C'li hastalarda TSB düzeyi ile viral yük arasında bir ilişki göstermemiştir (r: 0,22, P > 0,05) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Kronik HCV' li hastalarda viral yük ile TSB seviyesi arasındaki ilişki

4.10 Kronik HCV'li Hastalarda Viral Yük ile Fibroz Aşamaları Arasındaki İlişki

Mevcut çalışma, fibrozun ilerlemesiyle viral yükün arttığını ortaya koymuştur. Viral yükün en düşük ortalaması fibrozu olmayan hastalarda (1235,5 IU/mL), ardından birinci evre fibrozu olan hastalarda bulunurken, en yüksek viral yük ortalaması sirozlu hastalarda (evre 4) (2088,1 IU/mL) kaydedilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 Kronik HCV'li hastalarda viral yük ile fibroz aşamaları arasındaki ilişki

Viral yük (IU/mL)	**Fibroz aşaması ***					***P. değeri***
	0	**1**	**2**	**3**	**4**	
No.	18	8	7	6	4	0,0001
Ortalama	1235,5	1442,5	1677,8	1871,4	2088,1	
SD	120,9	116,4	206,9	210,9	122,6	
* 0: Fibroz yok, 1: Evre 1, 2: Evre 2, 3: Evre 3, 4: Siroz						

4.11 HCV Enfeksiyonu ile Alfa-Fetoproteinin İlişkisi

Çalışma, kontrol grubu (4,18 µg/L) ile karşılaştırıldığında, kronik hepatit C'li hastalarda (25,5 µg/L) en yüksek ortalama alfa-fetoprotein (AFP) düzeyinin bulunduğunu göstermiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 HCV enfeksiyonlu ve kontrol grubu hastalarında AFP seviyesi

AFP seviyesi (µg/L)	**Çalışılan gruplar**		***P. değeri***
	Kronik HCV (n: 43)	**Kontrol grubu (n: 35)**	
Ortalama	25,5	4,18	< 0,001
SD	2,14	1,26	

5. TARTIŞMA

5.1 HCV Tespitinde ELISA ile PCR Karşılaştırması

Çizelge 4.1, ELISA ile saptanan anti-HCV'si olan kronik hepatit C hastalarının %86' sının PCR ile pozitif sonuç verdiğini ve sonucun anlamlı olduğunu ($P < 0.01$) göstermektedir.

Avrupa Karaciğer Araştırmaları Derneği (EASL), HCV yönünden test edilen bireylerin önce HCV antikorları yönünden kontrol edilmesini ve sonuç pozitifse bunu doğrulayıcı HCV RNA testinin uygulanmasını önermektedir (Anonymous 2017). HCV nükleik asit testlerinin endikasyonları arasında; pozitif HCV serolojisi (mevcut aktif HCV enfeksiyonunu doğrulamak için), HCV serolojisi negatif olsa bile bağışıklığı baskılanmış hastalar (kronik hemodiyaliz hastaları dahil) veya son 6 ay içinde HCV' ye maruz kalan kişiler bulunmaktadır. Ayrıca, antiviral tedavi gören HCV' li tüm hastalarda tedavi sırasında ve sonrasında düzenli aralıklarla HCV RNA testi yapılmalıdır (Kwo and John 2019).

Çalışmalar, hasta serumlarının viral yükünde bir artışa değinmektedir ancak başka bir çalışmada, bu çalışmaya kıyasla hastaların sadece %25 yüksek viral yük gösterdiği ve %71,9 yüksek viremi ortaya koyduğu gözlemlendiği bildirilmiştir (Abdelhamid *et al.* 2021). Bu varyasyon, HCV' nin genotipi ile özellikle, daha düşük viremi ortaya çıkardığı gözlemlenen genotip 3 HCV ile ilgilidir. Ayrıca viral yük tahmini için kullanılan yöntemlerin farklılığı, cut-off değeri ve farklı firmaların kitlerinin kullanılması da değişik sonuçlar bulunmasına sebep olabilir (Braun *et al.* 2017, Shiffman 2016, Ho *et al.* 2017). Viral yükün hastalığın süresine göre değiştiği; en yüksek viremiye enfeksiyondan sonraki 4-12 hafta içinde ulaşıldığı da bildirilmiştir (Dichamp *et al.* 2014).

PCR pozitifliği açısından Abbas *et al* (2013) seropozitif hastaların %56,66' sının HCV RNA' sı yönünden pozitif sonuç verdiğini ortaya koymuştur. Antikor pozitif ve HCV-RNA negatif vakalar arasındaki uyuşmazlığın var olmasının nedenleri, Caudai *et al*

(1998) tarafından bildirildiği gibi, bu vakalarda HCV' nin periferik kan mononükleer hücrelerinde mevcut olması ve serum veya plazmada bulunmaması olabilir.

HCV negatif hastaların %10,5' inin kanında HCV RNA' sı tespit edildiği ve virüse maruz kalan bireylerin %20' sinde spontan viral klirensin meydana geldiği ayrıca bildirilmiştir (Al-Taan *et al.* 2020). Mevcut antiviral tedavinin, yaklaşık %60' lık genel kalıcı virolojik yanıt (SVR) ile sonuçlanan interferon ribavirin kombinasyonuna dayandığı bildirilmiştir (Khalaf and Hussein, 2021) Benova *et al.* (2014), ELISA'nın HCV enfeksiyonlarının teşhisi için en doğru serolojik belirteç olduğunu, ancak yine de yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar verdiğini, geçmiş ve devam eden enfeksiyonlar arasında ayrım yapamayacağını belirtmişlerdir. Aynı bireyde viral yükün dalgalanmasında immün yanıt ve hastanın mevcut durumu da önemli rol oynamıştır (Morgan *et al.* 2021, Ismailova *et al.* 2021).

5.2 Kronik Hepatit C Hastalarında Genotiplerin Dağılımı

Bu çalışma, kronik hepatit C' li hastaların %72,09' unun (43 kişiden 31'inin) HCV genotip 4, %27,91' inin ise HCV genotip 1a ile enfekte olduğunu göstermiştir. Suudi Arabistan Krallığı' nda Osoba *et al* (2002) tarafından çeşitli popülasyon gruplarında HCV genotipinin yaygınlığını belirlemek için yapılan çalışmada; genotip 4, HCV genotipinin incelendiği çeşitli hasta grupları arasında en yaygın genotip olarak %40-74 arasında değişen bir aralıkta kaydedilmiştir. Özellikle nükleotid dizi çeşitliliğinin incelenmesi, farklı serolojik reaktivite kalıplarının, tedaviye yanıtın anlaşılmasına yardımcı olabilir (Al – Azzawy 2020). HCV tipine / alt tipine bağlı olarak interferon tedavisine farklı yanıtlar bildirildiğinden, HCV' nin farklı patojenik potansiyellere sahip olduğuna dair önemli kanıtlar mevcuttur (Petruzziello *et al.* 2016).

Bu çalışmadaki genotip paterni, genotip 4'ün en yaygın olduğu Suudi Arabistan ve Lübnan gibi diğer Orta Doğu ülkelerinden bildirilenlere benzerdir (Ashkani-Esfahani *et al.* 2017). Al-Hakeem Hastanesi ve Al-Sadder Eğitim Hastanesindeki hemodiyaliz ünitelerinden Al – Necef valiliğinde yayınlanan bir makale, HCV RNA pozitif hastalarda genotip 4'ün baskın olduğunu (%100) ortaya koymuştur (Abusaiba *et al.* 2020). Ancak

bu, Irak'ta yaygın olan tüm HCV vakalarına genelleştirilmemelidir. Yaygın HCV genotipini belirlemek için hemodiyaliz hastaları ve kan bağışçıları dahil olmak üzere daha geniş bir popülasyonla analiz yapılmalıdır (Al-Khafajy *et al.* 2020). Hepatit C genotip 1a, Ürdünlü hastalarda en yaygın genotiptir. Bu genotip Ürdünlü kan bağışçılarında ve Lübnan, Türkiye, Kıbrıs ve Suriye dahil olmak üzere bazı Ortadoğu ülkelerindeki hemodiyaliz hastalarında da baskındır. Buna karşılık, HCV genotip 4, Suudi Arabistan, Mısır, Yemen ve Bahreyn dahil olmak üzere diğer Orta Doğu ülkelerinde en yaygın genotiptir (Bdour 2002). Abdulhassan *et al*. (2018), genotip 1a'nın (%34,48) hemodiyaliz ortamında yayılma olasılığının daha yüksek olduğunu veya bu hastaların immünosupresyonuna daha fazla adapte olabileceğini belirtmiştir. Bu genotip Ürdün ve Amerika Birleşik Devletleri gibi diğer ülkelerdeki hemodiyaliz hastaları arasında da baskındır (Sakulsaengprapha *et al.* 2021, Alkrekshi *et al.* 2021).

Buna karşılık, diğerleri, Orta Doğu' nun Arap olmayan ülkelerinde genotip 1a veya 1b'nin baskın olduğunu belirtmişlerdir (Khalsa *et al.* 2021). Komşu ülkelerimizde baskın HCV genotipleri Türkiye' de 1b ve 3a olarak bulunmuştur (Bozdayı *et al.* 2004). Lübnan' daki bir çalışma, Suriye'den gelen HCV hastalarındaki HCV genotiplerinin, HCV genotip 1 ve HCV genotip 4 arasında eşit olarak dağıldığını bulmuştur (Abou Rached *et al.* 2017). Bazı çalışmalarda intravenöz ilaç kullanıcılarında süper enfeksiyon tanımlanmıştır ve hemodiyaliz hastalarında nadir görülen bir olaydır (Khallawi 2020). Örneklerin hiçbirinde 2, 5 ve 6 genotipleri tespit edilmemiştir fakat bu genotiplerin Irak' ta bulunmadığına dair kesin bir kanıt yoktur.

5.3 Kronik HCV Hastalarında Genotiplerin Cinsiyete Göre Dağılımı

Çalışma, kronik hepatit C genotip 4' e sahip hastalar ile genotip 1a' ya sahip hastalar arasında viral yüklerde (1901,3 ± 105,6' ya karşı 1693,4 ± 108,4IU/mL) oldukça önemli ve anlamlı bir fark ($P < 0,01$) olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.2). Mevcut çalışmada, kronik hepatit C' li erkeklerin %41,94' ünün ve kronik hepatit C'li kadınların %58,06' sının genotip 4, kronik hepatit C'li erkeklerin %33,33'ünün ve kadınların %66,67'sinin genotip 1a taşıdıkları tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Önceki bir dizi çalışma, HCV enfeksiyonunun küresel, bölgesel ve ülke düzeyinde yaygınlık tahminlerini bildirmiştir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından yürütülen orijinal çalışmalar, küresel ve ülke düzeyinde tahminleri özetlemiştir (Guimarães *et al.* 2018, Javed *et al.* 2017). Diğer analizler, güncellenmiş yaygınlık tahminleri sağlamasına rağmen belirli ülkelerle sınırlı kalmıştır (Humairah *et al.* 2021, Hundie *et al.* 2017).

5.4 Kontrol Grubu ve Kronik HCV Hastalarda ALT, AST, ALP ve TSB Seviyeleri

Bu çalışma, kronik hepatit C' li hastalarda ALT, AST, ALP ve TSB seviyeleri (64,69 IU/mL, 54,8 IU/mL, 285,5 IU/mL ve 4,33 mg/dL) kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.4).

Ali *et al.* (2007), akut hepatit C' li hastalarda serum ALT düzeylerinin sağlıklı kontrole göre yüksek oranlarda yükseldiğini göstermişlerdir. Mehta *et al.* (2003) ayrıca HCV hastalarında yüksek transaminaz seviyeleri bildirmiştir. Visnegarwala *et al.* (2005), insan immün yetmezlik virüsü (HIV) / HCV ko-enfeksiyonu olan vakaların, tek başına HIV ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir ALT düzeyine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca Lee *et al.* (2012), HCV hastalarının %91,8' inin artmış ALT düzeyine sahip olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, Al-Haidary *et al.* (2007), hepatit C'li hastalarda alain aminotransferaz seviyesinin arttığını göstermiştir. Martinot-Peignoux *et al.* (2001) ve Puoti *et al.* (2002), hastaların üçte ikisinde ALT seviyesinin yükseldiğini göstermiştir. Saadon (2006), hepatit C' li hastalarda ALT seviyesinin arttığını bulmuştur. Welsch *et al.* (2017), kronik hepatit C' li hastalarda hem AST hem de ALT seviyelerinin yükseldiğini göstermiştir. Diğer birçok çalışmada da, hepatit C ile enfekte hastalarda karaciğer enzimlerinin düzeyleri araştırılmıştır (Fouad *et al.* 2021, Estefan *et al.* 2021, Husa *et al.* 2021).

ALT seviyeleri normal olan HCV taşıyıcılarında antiviral tedavi endike değildir. Buna karşılık, ALT seviyeleri normal olmasına rağmen birçok HCV taşıyıcısında hepatik inflamasyon ve fibrozisin histolojik olarak mevcut olduğu ve bu HCV taşıyıcılarının antiviral tedavi için aday olduğu gösterilmiştir (Fouad *et al.* 2021, Daloul *et al.* 2021). Arase *et al.* (2000), serum ALT seviyelerinde aktif alevlenme olan hastalarda viral yük

değişikliklerinin sıklıkla gözlendiğini bildirmiştir.

Pontisso *et al.* (1999), asemptomatik taşıyıcılarda viral yükün, karaciğer enzimleri yükselmiş hastalara göre daha düşük olduğunu kaydetmiştir. Bununla birlikte, Adinolfi *et al.* (2001), yüksek viral yükü olan hastaların, düşük viral yükü olanlardan daha yüksek ALT seviyelerine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Dincer *et al.* (2001) anormal ALT düzeyleri olan hastalar ile normal ALT düzeyleri olan hastalar arasında viral yük açısından anlamlı bir fark olmadığını gözlemlemiştir.

5.5 Kronik HCV Hastalarda Viral Yük ile Karaciğer Fonksiyonu Testleri Arasındaki İlişki

Bu çalışma, kronik hepatit C' li hastalarda karaciğer fonksiyon testleri düzeyi ile viral yük arasında pozitif bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgu ile uyumlu olarak, Dichamp *et al*. (2014) da ALT düzeyleri ile viral yük arasında anlamlı bir pozitif ilişki bulmuş olup HCV (kopya/mL) ve bu pozitif ilişkinin viral hepatite bağlı akut ve kronik inflamasyonun toz karaciğer fonksiyonlarına yol açabileceğini gösterdiğini, çalışma sonuçlarına benzer şekilde karaciğer enzimlerinin seviyesinde keskin bir artış olduğunu öne sürmüştür. Dünyanın farklı yerlerinde yapılan araştırmalar da, kronik HCV enfeksiyonu olan kişilerin kanındaki virüs miktarı ile karaciğer fonksiyonları arasında güçlü ve anlamlı bir ilişki olduğunu bulmuştur. Yüksek karaciğer enzimlerine bağlı olarak hastalığın alevlenmesi, enfeksiyonun şiddetli kronikleşmesinden sorumlu olabilir (Wondimeneh *et al.* 2013, Yousefpouran *et al.* 2020, Malakouti *et al.* 2017).

5.6 Kronik HCV Hastalarda Fibrozun Evreleri ile Viral Yük Arasındaki İlişki

Mevcut çalışma, fibrozun ilerlemesiyle viral yükün arttığını ortaya koymuştur. En düşük ortalama viral yük fibrozu olmayan hastalarda, daha sonra birinci evre fibrozu olan hastalarda ve en yüksek viral yük ortalaması ise sirozlu hastalarda (evre 4) kaydedilmiştir. Çeşitli çalışmalar, kandaki yüksek virüs seviyeleri ile hepatit C virüs tipinden kaynaklanan karaciğer sirozu arasında güçlü bir ilişki olduğunu kanıtlamıştır. Kandaki

virüsün yüzdesi ne kadar yüksekse, sirozun en yüksek aşamasına ulaşma derecesi o kadar yüksek olur ki bu da sonunda karaciğer kanserine yol açabilir (Cheng *et al.* 2020, Mendes *et al.* 2018, Chen *et al.* 2020). Benzer şekilde, Toyoda *et al.* (2020), şiddetli fibrozu olan kronik hepatit B hastalarında viral yükün arttığını bulmuştur. Van der Meer *et al.* (2012) ve Hu *et al.* (2018) yaptığı bir çalışmada, HCV DNA seviyesinin kronik hepatit C hastalarında önemli fibrozun bir göstergesi olduğu bulunmuştur.

Akut enfeksiyondan sonra virüsün temizlenememesi, karaciğer fibrozu, siroz ve/veya hepatoselüler karsinoma ilerleyebilen uykuda taşıyıcılığa veya kronik hepatit C' ye yol açabilir. HCV genotipi ve viral gibi çeşitli viral faktörlerin, kalıcı enfeksiyondan sonra klinik sonuçları öngördüğü gösterilmiştir (Carrat *et al.* 2019). Hashem *et al.* (2017), HCV PCR' nin en yüksek seviyeleri evre 4 olan hastalarda, en düşük seviyeleri evre 1 olan hastalarda gösterdiğini, karaciğer fibrozunun farklı evreleri arasındaki ayrımda tanısal performans gösterdiğini belirtmişlerdir.

5.7 HCV Enfeksiyonu ile Alfa-Fetoproteinin İlişkisi

Çalışma, kontrol grubu (4,18 µg/L) ile karşılaştırıldığında, kronik hepatit C' li hastalarda (25,5 µg/L) en yüksek ortalama AFP düzeyinin bulunduğunu göstermiştir (Çizelge 4.6).

Alfa-fetoprotein, HCC tanısı için klinik bir serum belirtecidir (Hu *et al.* 2018). HCC' siz viral hepatitli hastalarda, özellikle kronik hepatit C ve karaciğer sirozu olanlarda yüksek AFP seviyeleri de tespit edilmiştir (Zhang *et al.* 2020, Galle *et al.* 2019). Kronik hepatit C ve sirozu olan hastalarda yüksek serum AFP seviyeleri Tong *et al.* (1995) ve Omata *et al.* (2017) tarafından rapor edilmiştir. Önceki çalışmalar, özellikle masif hepatik nekroz ve kronik HCV enfeksiyonundan sonra hepatosit rejenerasyonu sırasında AFP seviyelerinin arttığını bildirmiştir (Beudeker and Boonstra 2020, Varchetta *et al.* 2021, Chen *et al.* 2020). Yüksek AFP seviyelerindeki farklılıklar hasta popülasyonları, numune boyutları ve serum AFP yüksekliği tanımlarından kaynaklanabilir (Zhang *et al.* 2020, Galle *et al.* 2019). Jasirwan *et al.* (2020), çok değişkenli analizde yüksek serum AFP' sinin fibroz evresi III / IV ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Aprilicia *et al.* (2021), hepatik fibroz evresinin (derece 1 ila derece 4) ve fibroz iyileşmesinin AFP farkının öngörücüleri

olduğunu ortaya koymuştur. Gamil *et al.* (2018), belirgin veya ilerlemiş karaciğer fibrozu olan hastalarda serum AFP düzeylerinin arttığını ortaya koymuştur.

Di Bisceglie *et al.* (2005), AFP seviyelerinin yükselmesiyle HCV yük oranının arttığını bulmuştur. Önceki çalışmalar, HCC yokluğunda kronik hepatit C' li hastalarda AFP seviyeleri ile fibrozisin evreleri arasındaki ilişkiyi göstermiştir (Galle *et al.* 2019, Singal *et al.* 2020). AFP seviyeleri ile hepatik fibroz arasındaki korelasyon, AFP seviyeleri hafif yükselmiş olsa bile kronik hepatit C' li hastaların HCC için yüksek bir risk altında olduğunu göstermiştir (Trevisani *et al.* 2019). Bu bulgular, kronik hepatit C' li hastalarda serum AFP'sinin yükselmesi için hepatik fibrozis/sirozun önemli bir neden olduğunu gösterebilir. Bu nedenle, AFP seviyeleri, fibroz evresi yerine invaziv olmayan ve prediktif bir belirteç olarak kullanılabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma sonucunda;

1. ELISA ile saptanan HCV antikoru taşıyan kronik hepatit C'li hastalar,RT-PCR ile yüksek oranda pozitif bulunmuştur.

2. HCV genotip 4, Irak' ın Kerkük şehrinde en baskın genotip olarak tespit edilmiştir.

3. Kronik hepatit C' li hastalarda viral yük ile fibroz evreleri arasında güçlü pozitif ilişki bulunduğu görülmüştür.

4. En yüksek AFP düzeyleri kronik hepatit C hastalarında, özellikle sirozlu hastalarda kaydedilmiştir.

İleride yapılacak çalışmalar için;

1. Kroniklikten sorumlu olabilecek HCV proteinlerinin incelenmesi,

2. HCV hastalarında karaciğer fibrozisi tanısında non-invaziv belirteç olarak AFP düzeyinin kullanılması,

3. HCV genotiplerinin kroniklik ile ilişkisi konusunda daha ileri çalışmalar yapılması,

4. HCV hastalarında karaciğer fibrozunun siroza geçiş eşiği olarak AFP seviyesinin kullanılması,

5. HCV tanısında en iyi teknik olarak PCR uygulanması önerilebilir.

KAYNAKLAR

Abbas, Y. A., Aubaid, A. H. and Hamad, B. J. 2013. Determination of Hepatitis C Viral Load and Genotypes by Real-Time and RT-PCR at Thi_Qar Province. Al-Qadisiyah Medical Journal, 9: 250-264.

Abdelhamid, W. A. R., Alnahal, A., Zaki, A. and Elsayed, A. F. 2021. Impact of Hepatitis C Viral Load in Chronic Kidney Disease Patients. Afro-Egyptian Journal of Infectious and Endemic Diseases, 11: 155-160.

Abdulhassan, L. J., Abdulamir, A. S., Alkhalidi, N. M. and Alwaysi, S. A. 2018. Frequency of Hepatitis C Virus Genotypes/Subtypes Association with Response to Therapy in a Sample of HCV Infected Iraqi Patients. Iraqi Journal of Medical Sciences, 16.

Abou Rached, A., Yaghi, C., Khalil, L., Saba, J. and Ammar, W. 2017. Prevalence of hepatitis C virus genotypes and subtypes in Lebanese population and major high risk groups. Arab journal of gastroenterology, 18: 114-117.

Abusaiba, T. H. H. 2020. Prevalence of hepatitis virus B and C in patients in Al Najaf Governorate, Iraq. International Journal of Pharmaceutical Research, 12: 1297-1303.

Adinolfi, L. E., Utili, R., Andreana, A., Tripodi, M.-F., Marracino, M., Gambardella, M., Giordano, M. and Ruggiero, G. 2001. Serum HCV RNA levels correlate with histological liver damage and concur with steatosis in progression of chronic hepatitis C. Digestive Diseases and Sciences, 46(8): 1677-1683.

Al-Azzawy, M. A 2020. Immunological Aspects of ELISA Positive PCR Negative Newly Diagnosed Hepatitis C Patients in Kirkuk Province. Al-Kitab Journal for Pure Science, 3(2): 154-162

Al-Haidary, B. A., Azziz, F. N., Al-Aakaishi, R. J. and Athra'a, Z. 2007. Viral load among the sera of Iraqi hepatitis C virus patients. Journal of the Faculty of Medicine Baghdad, 49: 461-466.

Al-Khafajy, Z. A., Kteo Al-hussein, I. Q., Haloob AL-Abedi, H. M. and Al-Zeyadi, A. A. 2020. Prevalence of Hepatitis C among Patients Undergoing Hemodialysis in Dialysis Center in Al-Najaf Al-Ashraf Governorate. Indian Journal of Public Health Research & Development, 11.

Al-Taan, G. S. H. and Khalid, M. D. 2020. Prevalence of hepatitis B virus in hemodialysis patients infected with hepatitis C virus in Mosul District/Iraq. American Scientific Research Journal for Engineering, Technology and Sciences, 63: 1-6.

Ali, S. S., Ali, I. S., Aamir, A. H., Jadoon, Z. and Inayatullah, S. 2007. Frequency of hepatitis C infection in diabetic patients. Journal of Ayub Medical College Abbottabad, 19: 46-49.

Alkrekshi, A., Kassem, A., Park, C. and Tse, W. 2021. Risk of non-Hodgkin's Lymphoma in HCV patients in the United States between 2013 and 2020: A Population-Based Study. Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia, 21(11): e832-e838.

Anonymous 2017. European Association for the Study of the Liver - EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. J Hepatol, 66: 153-194. Anonymous 2021. WHO, Web Sitesi. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c. Erişim Tarihi: 21.09.2021.

Aprilicia, G., Bantas, K., Syarif, S. And Kalista, K. F. 2021. Evaluasi Perbandingan Serum Alfa-Fetoprotein pada Pasien Karsinoma Hepatoseluler dengan Etiologi Non-Viral. Jurnal Penyakit Dalam Indonesia, 8: 37-42.

Arase, Y., Ikeda, K., Chayama, K., Murashima, N., Tsubota, A., Suzuki, Y., Saitoh, S., Kobayashi, M., Kobayashi, M. and Suzuki, F. 2000. Fluctuation patterns of HCV-RNA serum level in patients with chronic hepatitis C. Journal of Gastroenterology, 35(3): 221–225.

Ashkani-Esfahani, S., Alavian, S. M. and Salehi-Marzijarani, M. 2017. Prevalence of hepatitis C virus infection among hemodialysis patients in the Middle-East: A systematic review and meta-analysis. World journal of gastroenterology, 23: 51.

Bdour, S. 2002. Hepatitis C virus infection in Jordanian haemodialysis units: serological diagnosis and genotyping. Journal of medical microbiology, 51: 700-704.

Benova, L., Mohamoud, Y. A., Calvert, C. and Abu-Raddad, L. J. 2014. Vertical transmission of hepatitis C virus: systematic review and meta-analysis. Clinical infectious diseases, 59: 765-773.

Beudeker, B. J. and Boonstra, A. 2020. Circulating biomarkers for early detection of hepatocellular carcinoma. Therapeutic advances in gastroenterology, 13: 1756284820931734.

Boyer, T. D. and Lindor, K. D. 2016. Zakim and Boyer's hepatology: A textbook of liver disease e-book. Elsevier Health Sciences.

Bozdayı, A. M., Aslan, N., Bozdayı, G., Türkyılmaz, A. R., Sengezer, T., Wend, U., Erkan, Ö., Aydemir, F., Zakirhodjaev, S. and Orucov, Ş. 2004. Molecular epidemiology of hepatitis B, C and D viruses in Turkish patients. Archives of Virology, 149(11): 2115-2129.

Braun, P., Drago, M., Fanti, D., Fleury, H., Hofmann, J., Izopet, J., Kühn, S., Lombardi, A., Micheli, V. And Sauné, K. 2017. A European multicentre study on the comparison of HCV viral loads between VERIS HCV assay and COBAS® TaqMan® HCV Test and RealTime HCV Assay. Journal of Clinical Virology, 90: 18-25.

Brown Jr, R. S., Buti, M., Rodrigues, L., Chulanov, V., Chuang, W.L., Aguilar, H., Horváth, G., Zuckerman, E., Carrion, B.R., Rodriguez-Perez, F. and Urbánek, P., 2020. Glecaprevir/pibrentasvir for 8 weeks in treatment-naive patients with chronic HCV genotypes 1–6 and compensated cirrhosis: the EXPEDITION-8trial. Journal of hepatology, 72: 441-449.

Carrat, F., Fontaine, H., Dorival, C., Simony, M., Diallo, A., Hezode, C., De Ledinghen, V., Larrey, D., Haour, G. and Bronowicki, J.-P. 2019. Clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C after direct-acting antiviral treatment: a prospective cohort study. The Lancet, 393(10179): 1453-1464.

Caudai, C., Padula, M. G., Bastianoni, I., Valensin, P. E., Shyamala, V., Han, J., Boggiano, C. A. and Almi, P. 1998. Antibody testing and RT-PCR results in hepatitis C virus (HCV) infection: HCV-RNA detection in PBMC of plasma viremia-negative HCV-seropositive persons. Infection, 26(3): 151-154.

Chen, S. H., Lai, H. C., Chiang, I. P., Su, W. P., Lin, C. H., Kao, J. T., Chuang, P. H., Hsu, W. F., Wang, H. W., Chen, H. Y., Huang, G. T. and Peng, C. Y. 2020. Performance of Acoustic Radiation Force Impulse Elastography for Staging Liver Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis C After Viral Eradication. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, 70(1): 114-122.

Cheng, C. H., Chu, C. Y., Chen, H. L., Lin, I. T., Wu, C. H., Lee, Y. K., Hu, P. J. and Bair, M. J. 2020. Subgroup analysis of the predictive ability of aspartate

aminotransferase to platelet ratio index (APRI) and fibrosis-4 (FIB-4) for assessing hepatic fibrosis among patients with chronic hepatitis C. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 53(4): 542-549.

Choobin, H., Bamdad, T. and Shekarabi, M., 2017. The Effect of SB431542 TGF-β Receptor Inhibitor, on HCV Replication in PBMCs of Patients with Chronic Hepatitis. Iranian Journal of Virology, 11: 1-6.

Daloul, R., Pesavento, T., Goldberg, D. S. and Reese, P. P. 2021. A Review of kidney transplantation from HCV-Viremic Donors into Negative Recipients. Kidney International, https://doi.org/10.1016/j.kint.2021.06.034.

Decker, R. H., Kosakowski, S. M., Vanderbilt, A. S., Ling, C. M., Chairez, R. and Overby, L. R. 1981. Diagnosis of acute hepatitis A by HAVAB®-M, a direct radioimmunoassay for IgM anti-HAV. American journal of clinical pathology, 76: 140-147.

Di Bisceglie, A. M., Sterling, R. K., Chung, R. T., Everhart, J. E., Dienstag, J. L., Bonkovsky, H. L., Wright, E. C., Everson, G. T., Lindsay, K. L. and Lok, A. S. F. 2005. Serum alpha-fetoprotein levels in patients with advanced hepatitis C: results from the HALT-C Trial. Journal of Hepatology, 43(3): 434–441.

Dichamp, I., Abbas, W., Kumar, A., Di Martino, V. and Herbein, G. 2014. Cellular activation and intracellular HCV load in peripheral blood monocytes isolated from HCV monoinfected and HIV-HCV coinfected patients. PloS one, 9: e96907.

Dimmock, N. J., Easton, A. J. and Leppard, K. N., 2016. Introduction to modern virology. John Wiley & Sons.

Dincer, D., Okten, A., Kaymakoglu, S., Besisik, F., Demir, K., Tuncer, I., Bozaci, M., Turkoglu, S., Cevikbas, U. and Cakaloglu, Y. 2001. Persistently normal alanine transaminase levels in chronic C hepatitis: what does it tell us? Hepato-Gastroenterology, 48(41): 1397-1400.

Duchesne, L., Njouom, R., Lissock, F., Tamko-Mella, G. F., Rallier, S., Poiteau, L., Soulier, A., Chevaliez, S., Vernet, G., Rouveau, N. And Pawlotsky, J. M., 2017. HCV Ag quantification as a one-step procedure in diagnosing chronic hepatitis C infection in Cameroon: the ANRS 12336 study. Journal of the International AIDS Society, 20: 21446.

Estefan, S., Brandão-Melo, C. E., dos Santos Silva, C. M., Gomes, D. C. K., Cardoso, P.

and Costa, M. H. S. 2021. Metabolic Evaluation in Patients With Hepatitis C Treated With Direct Antiviral Agents. Frontiers in Medicine, 8: 329.

Fernández, A. A., Martín, Á. P., Martínez, M. I., Bustillo, M. A., Hernández, F. J. B., de la Cruz Labrado, J., Peñas, R. D. D., Rivas, E. G., Delgado, C. P. and Redondo, J.R. 2009. Chronic fatigue syndrome: aetiology, diagnosis and treatment. BMC Psychiatry, 9(1): 1-11.

Fouad, Y., Lazarus, J. V, Negro, F., Peck-Radosavljevic, M., Sarin, S. K., Ferenci, P., Esmat, G., Ghazinian, H., Nakajima, A. and Silva, M. 2021. MAFLD considerations as a part of the global hepatitis C elimination effort: an international perspective. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 53(10): 1080-1089.

Galle, P. R., Foerster, F., Kudo, M., Chan, S. L., Llovet, J. M., Qin, S., Schelman, W. R., Chintharlapalli, S., Abada, P. B. and Sherman, M. 2019. Biology and significance of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. Liver International, 39(12): 2214-2229.

Gamil, M., Alboraie, M., El-Sayed, M., Elsharkawy, A., Asem, N., Elbaz, T., Mohey, M., Abbas, B., Mehrez, M. and Esmat, G. 2018. Novel scores combining AFP with non-invasive markers for prediction of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. Journal of Medical Virology, 90(6): 1080-1086.

Guimarães, V. D. S., Melo, T. G. D., Ferreira, R. D. C. D., Almeida, S. F. D. and Martins, L. C. 2018. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in the State of Pará, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 51: 508-512.

Hama, S. A. and Sawa, M. I. 2017. Prevalence of Hepatitis B, C, and D among Thalassemia patients in Sulaimani Governorate. Kurdistan Journal of Applied Research, 2: 137-142.

Hashem, S., Esmat, G., Elakel, W., Habashy, S., Raouf, S. A., Elhefnawi, M., Eladawy, M. I. and ElHefnawi, M. 2017. Comparison of machine learning approaches for prediction of advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics, 15(3): 861-868.

Ho Lee, C., Hyun Kim, J. and Lee, S. W. 2017. The role of microRNA in pathogenesis and as markers of HCV chronic infection. Current drug targets, 18: 756-765.

Hu, J., Wang, N., Yang, Y., Ma, L., Han, R., Zhang, W., Yan, C., Zheng, Y. and Wang, X. 2018. Diagnostic value of alpha-fetoprotein combined with neutrophil-to-

lymphocyte ratio for hepatocellular carcinoma. BMC Gastroenterology, 18(1): 1-7.

Huang, Y. C., Huang, C. F., Liu, S. F., Liu, H. Y., Yeh, M. L., Huang, C. I., Hsieh, M. H., Dai, C. Y., Chen, S. C., Yu, M. L. and Chuang, W. L. 2021. The performance of HCV GT plus RUO reagent in determining Hepatitis C virus genotypes in Taiwan. Plos one, 16: e0246376.

Humairah, I., Lukitasari, L., Handajani, R., Amin, M., Wungu, C. D. K., Rianto, E. and Ansori, A. N. M. 2021. Prevalence and genotype distribution of Hepatitis C virus among Intravenous Drug users (IDUs) in Surabaya, Indonesia. Research Journal of Pharmacy and Technology, 14: 1999-2003.

Hundie, G. B., Raj, V. S., GebreMichael, D., Pas, S. D. and Haagmans, B. L. 2017. Genetic diversity of hepatitis C virus in Ethiopia. PLoS One, 12: e0179064.

Husa, P., Snopkova, S., Zavrelova, J., Zlamal, F., Svacinka, R. and Husa, P. 2021. Circulating microparticles in patients with chronic hepatitis C and changes during direct-acting antiviral therapy. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 165(2): 146-151.

Ismailova, C., Yontcheva, V., Tenev, T. and Golkocheva-Markova, E. 2021. Correlation between the antibody response toward specific HCV proteins and HCV viral load. Problems of infectious and parasitic diseases, 49: 13-18.

Jamalidoust, M., Namayandeh, M., Moghadami, M. and Ziyaeyan, M. 2017. Comparison of HCV viral load and its genotype distributions in HCV mono-and HIV/HCV co-infected illicit drug users. Virology journal, 14: 1-6.

Jasirwan, C. O. M., Fahira, A., Siregar, L. and Loho, I. 2020. The alpha-fetoprotein serum is still reliable as a biomarker for the surveillance of hepatocellular carcinoma in Indonesia. BMC gastroenterology, 20: 1-8.

Javed, H., Arif, T., Arshad, S., Baloch, S. K., Anwar, B., Khan, M. A. and Shahzad, M. F. 2017. Spectrum of hepatitis C virus (HCV) genotypes among diagnosed cases of HCV in Rawalpindi and Islamabad region over the period of six years. Pakistan Journal of Public Health, 7: 19-23.

Jinushi, M., Takehara, T., Tatsumi, T., Kanto, T., Miyagi, T., Suzuki, T., Kanazawa, Y., Hiramatsu, N. and Hayashi, N. 2004. Negative regulation of NK cell activities by inhibitory receptor CD94/NKG2A leads to altered NK cell-induced modulation of

dendritic cell functions in chronic hepatitis C virus infection. The Journal of Immunology, 173(10): 6072-6081.

Kahyesh-Esfandiary, R., Sadigh, Z.A., Esghaei, M., Bastani, M.N., Donyavi, T., Najafi, A., Fakhim, A. and Bokharaei-Salim, F. 2019. Detection of HCV genome in peripheral blood mononuclear cells of Iranian seropositive and HCV RNA negative in plasma of patients with beta-thalassemia major: Occult HCV infection. Journal of medical virology, 91: 107-114.

Khalaf, S. K. and Hussein, A. A. 2021. Frequency of Hepatitis C Virus among Hemodialysis Patients in Diyala Governorate. Annals of the Romanian Society for Cell Biology, 25: 2392-2400.

Khallawi, M. M. 2020. Genotyping and phylogenetic construction of Hepatitis C virus from the thalassemic patients in Al-Amara city in Iraq. Annals of Tropical Medicine and Public Health, 23: 23-1020.

Khalsa, J. H. and Mathur, P. 2021. Hepatitis C Virus Infection in Persons Who Inject Drugs in the Middle East and North Africa: Intervention Strategies. Viruses, 13: 1363.

Krajden, M., McNabb, G. and Petric, M. 2005. The laboratory diagnosis of hepatitis B virus. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 16: 65-72.

Kwo, P. Y. and John, N. 2019. Chronic Hepatitis. In Diagnosis of Liver Disease. Springer pp. 51- 60, Singapore.

Lauer, G. M. and Walker, B. D. 2001. Hepatitis C virus infection. New England journal of medicine, 345: 41-52.

Lee, M. H., Yang, H. I. and Chen, C. J. 2012. Long-term health outcomes of chronic hepatitis C patients: A review of findings from REVEAL-HCV Study Group cohort study. BioMedicine, 2: 99-107.

Malakouti, M., Kataria, A., Ali, S. K. and Schenker, S. 2017. Elevated liver enzymes in asymptomatic patients–what should I do?. Journal of clinical and translational hepatology, 5: 394.

Martinot-Peignoux, M., Boyer, N., Cazals-Hatem, D., Pham, B., Gervais, A., Breton, V. Le, Levy, S., Degott, C., Valla, D. and Marcellin, P. 2001. Prospective study on anti-hepatitis C virus–positive patients with persistently normal serum alanine

transaminase with or without detectable serum hepatitis C virus RNA. Hepatology, 34(5): 1000-1005.

Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C. and Wedemeyer, H. 2017. Hepatology-Clinical textbook. Hamburg.

Mehta, S. H., Brancati, F. L., Strathdee, S. A., Pankow, J. S., Netski, D., Coresh, J. and Thomas, D. L. 2003. Hepatitis C virus infection and incident type 2 diabetes. Hepatology, 38: 50-56.

Mendes, L. C., Stucchi, R. S. and Vigani, A. G. 2018. Diagnosis and staging of fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison and critical overview of current strategies. Hepatic medicine: evidence and research, 10: 13.

Merican, I., Sherlock, S., McIntyre, N. and Dusheiko, G. M. 1993. Clinical, biochemical and histological features in 102 patients with chronic hepatitis C virus infection. QJM: An International Journal of Medicine, 86: 119-125.

Mo Shahid, I. 2018. Hepatitis C: From Infection to Cure. BoD–Books on Demand. Morgan, J. R., Savinkina, A., Dos Santos, A. G. P., Xue, Z., Shilton, S. and Linas, B. 2021. HCV Viral Load Greater Than 1000 IU/mL at Time of Virologic Failure in Direct-Acting Antiviral-Treated Patients. Advances in Therapy, 38: 1690-1700.

Omata, M., Cheng, A.-L., Kokudo, N., Kudo, M., Lee, J. M., Jia, J., Tateishi, R., Han, K. H., Chawla, Y. K. and Shiina, S. 2017. Asia–Pacific clinical practice guidelines on the management of hepatocellular carcinoma: a 2017 update. Hepatology International, 11(4): 317-370.

Osoba, A. 2002. Hepatitis C virus genotypes in the Kingdom of Saudi Arabia. Saudi Med J, 23: 7-12.

Pawlotsky, J. M., Feld, J. J., Zeuzem, S. and Hoofnagle, J. H. 2015. From non-A, non-B hepatitis to hepatitis C virus cure. Journal of hepatology, 62: 87-99.

Petruzziello, A., Marigliano, S., Loquercio, G., Cozzolino, A. and Cacciapuoti, C. 2016. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. World journal of gastroenterology, 22: 7824.

Pontisso, P., Bellati, G., Brunetto, M., Chemello, L., Colloredo, G., Di Stefano, R., Nicoletti, M., Rumi, M. G., Ruvoletto, M. G. and Soffredini, R. 1999. Hepatitis C virus RNA profiles in chronically infected individuals: do they relate to disease

activity?. Hepatology, 29(2): 585-589.

Puoti, C., Castellacci, R., Montagnese, F., Zaltron, S., Stornaiuolo, G., Bergami, N., Bellis, L., Precone, D. F., Corvisieri, P. and Puoti, M. 2002. Histological and virological features and follow-up of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels: the Italian prospective study of the asymptomatic C carriers (ISACC). Journal of Hepatology, 37(1): 117-123.

Saadon, I. H, 2006. Evaluation of HBV and HCV in chronic liver disease patients and their role in liver damage in Baghdad. College of Medicine. Tikrit University. Ph. D. Thesis.

Sakulsaengprapha, V., Alford, M. K. and Karnsakul, W. 2021. Pediatric perspectives on treating uncommon genotypes of hepatitis C in the United States. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 14: 375.

Shiffman, M. L. 2016. Universal screening for chronic hepatitis C virus. Liver International, 36: 62-66.

Singal, A. G., Lampertico, P. and Nahon, P. 2020. Epidemiology and surveillance for hepatocellular carcinoma: New trends. Journal of hepatology, 72: 250-261.

Tong, M. J., El-Farra, N. S., Reikes, A. R. and Co, R. L. 1995. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. New England Journal of Medicine, 332: 1463-1466.

Toyoda, H., Tada, T., Yasuda, S., Mizuno, K., Ito, T. and Kumada, T. 2020. Dynamic evaluation of liver fibrosis to assess the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C who achieved sustained virologic response. Clinical Infectious Diseases, 70: 1208-1214.

Trevisani, F., Garuti, F. and Neri, A. 2019. Alpha-fetoprotein for diagnosis, prognosis, and transplant selection. Thieme Medical Publishers, In Seminars in liver disease, 39(2): 163-177.

van der Meer, A. J., Veldt, B. J., Feld, J. J., Wedemeyer, H., Dufour, J.-F., Lammert, F., Duarte-Rojo, A., Heathcote, E. J., Manns, M. P. and Kuske, L. 2012. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. Jama, 308(24): 2584- 2593.

Varchetta, S., Mele, D., D'Ambrosio, R., Perbellini, R., Lombardi, A., Rojas, A.,

Paolucci, S., Baldanti, F., Oliviero, B. and Mantovani, S. 2021. A new algorithm shows

superior ability to discriminate liver fibrosis stages in chronic hepatitis C. Journal of Viral Hepatitis, 28(10): 1443-1451.

Vijgen, L., Thys, K., Vandebosch, A., Van Remoortere, P., Verloes, R. and De Meyer, S. 2017. Virology analysis in HCV genotype 1-infected patients treated with the combination of simeprevir and TMC647055/ritonavir, with and without ribavirin, and JNJ-56914845. Virology journal, 14: 1-10.

Visnegarwala, F., Chen, L., Raghavan, S. and Tedaldi, E. 2005. Prevalence of diabetes mellitus and dyslipidemia among antiretroviral naıve patients co-infected with hepatitis C virus (HCV) and HIV-1 compared to patients without co- infection. Journal of Infection, 50: 331-337.

Warkad, S.D., Nimse, S.B., Song, K.S., Chantratita, W., Pongthanapisith, V., Nawale, L.U. and Kim, T., 2018. Performance of 6 HCV genotyping 9G test for HCV genotyping in clinical samples. Virology journal, 15: 1-7.

Welsch, C., Efinger, M., von Wagner, M., Herrmann, E., Zeuzem, S., Welzel, T. M. and Lange, C. M. 2017. Ongoing liver inflammation in patients with chronic hepatitis C and sustained virological response. PLoS One, 12: e0171755.

Wondimeneh, Y., Alem, M., Asfaw, F. and Belyhun, Y. 2013. HBV and HCV seroprevalence and their correlation with CD4 cells and liver enzymes among HIV positive individuals at University of Gondar Teaching Hospital, Northwest Ethiopia. Virology journal, 10: 1-8.

Wrensch, F., Crouchet, E., Ligat, G., Zeisel, M.B., Keck, Z.Y., Foung, S.K., Schuster, C. and Baumert, T.F. 2018. Hepatitis C virus (HCV)–apolipoprotein interactions and immune evasion and their impact on HCV vaccine design. Frontiers in immunology, 9: 1436.

Younossi, Z. M. 2017. Hepatitis C infection: a systemic disease. Clinics in liver disease, 21: 449-453.

Yousefpouran, S., Mostafaei, S., Manesh, P. V., Iranifar, E., Bokharaei-Salim, F., Nahand, J. S., Mirzaei, H., Taran, M., Babaei, F. and Sayad, B. 2020. The assessment of selected MiRNAs profile in HIV, HBV, HCV, HIV/HCV, HIV/HBV Co-infection and elite controllers for determination of biomarker. Microbial Pathogenesis, 147: 104355.

Zhang, J., Chen, G., Zhang, P., Zhang, J., Li, X., Gan, D., Cao, X., Han, M., Du, H. and

Ye, Y. 2020. The threshold of alpha-fetoprotein (AFP) for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis. PLoS One, 15(2): e0228857.

Zibbell, J. E., Asher, A. K., Patel, R. C., Kupronis, B., Iqbal, K., Ward, J. W. And Holtzman, D. 2018. Increases in acute hepatitis C virus infection related to a growing opioid epidemic and associated injection drug use, United States, 2004 to 2014. American journal of public health, 108: 175-181.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı: Sarmad Falah Hasan ALOBAIDI

Eğitim

Yüksek Lisans: Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 2020-Halen.

Lisans : Kuzey Teknik Üniversitesi, Kerkük Tıp Teknik Koleji, Patolojik Analiz Bölümü, 2008-2012.