

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

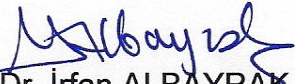
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Türkiye’de HIV’e Direnç ile İlgili Mutant CCR5- $\Delta$ 32 Allel Sıklığının  
Araştırılması

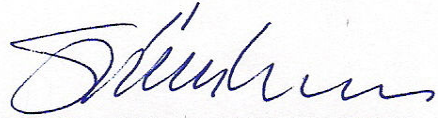
Gamze KARAKAYA

HAZİRAN 2010

**Biyoloji Anabilim Dalında** Gamze KARAKAYA tarafından hazırlanan TÜRKİYE'DE HİVE DİRENÇ İLE İLGİLİ MUTANT CCR5-Δ32 ALLEL SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

  
Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

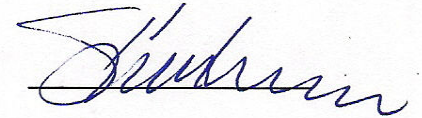
  
Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA  
Danışman

Jüri Üyeleri

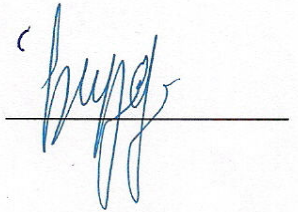
Başkan : Prof. Dr. Solmaz ERDEM



Üye (Danışman) : Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA



Üye : Yard. Doç. Dr. Derya Beyza SAYIN



15/06/2010

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Doç.Dr.Burak BİRGÖREN  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZET

### TÜRKİYE'DE HIV'E DİRENÇ İLE İLGİLİ MUTANT CCR5-Δ32 ALLEL SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

KARAKAYA, Gamze

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

Haziran 2010, 91 sayfa

Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu, AIDS, HIV olarak adlandırılan bir virüsün immün sisteme saldırması ile ortaya çıkar. İnfeksiyon yapan bu virüsün hücrede kendini kopyalaması hücreye hasar verir. HIV çoğunlukla hastalıkla savaş sırasında immün sistemde oluşan CD4+ ya da T-yardımcı lenfosit hücreleri olarak bilinen beyaz kan hücrelerinden T lenfositlerini infekte eder.

Bazı insanlar HIV'e karşı direnç ya da kısmen bağışıklık sağlayan bir genetik mutant kemokin 5 reseptörüne (CCR5) sahiptir. Mutant CCR5 alleli insan genomunda HIV'e dirençle ilgili olarak bilinir. İnsan kemokin reseptör 5 (CCR5) genindeki 32 baz çiftlik bir delesyon bundan sorumludur. HIV'in CD4+ T hücrelerini infekte etmesi için CCR5 reseptörüne saldırması gerekir. Bu mutasyona sahip insanlar ya CCR5 reseptörüne sahip değildir ya da ortalama bir kişidekinden az CCR5 reseptörüne sahiptir. Homozigot bireylerde CCR5-Δ32 allelinin varlığı HIV'in tekrar aktarılmasında çok güçlü bir koruma sağlamaktadır ve heterozigot bireylerde hastalığın tipik süreci iki yıl gecikir.

Tahmin edilmektedir ki mutant CCR5-Δ32 için Avrupa'nın %81'i doğal-tip, %18'i heterozigot ve %1'i mutant homozigottur. Ne yazık ki Türkiye için bu allelin sıklığı hakkında yeterli veri yoktur. Bu çalışmanın amacı bu mutant allel frekansının Türkiye'nin tüm coğrafik bölgelerinden seçilen 400 bireyde PCR metodu ile belirlemektir. Örnekler Ankara Gazi Mustafa Kemal Devlet Hastanesinden temin edilmiştir. Bu çalışmada, Türkiye'de yabancı allel sıklığı 0.9738, mutant allel sıklığı ise 0.0262 bulunmuştur. Bununla birlikte test edilen bireylerde hiçbir CCR5-Δ32 homozigot birey saptanmadı.

En yüksek Δ32 allel sıklığı İç Anadolu Bölgesi'nde bulundu (0.0726). En düşük Δ32 allel sıklığı Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde ve Akdeniz Bölgesi'nde bulundu (0.0093). Bu mutant allel sıklığı Ege Bölgesi'nde 0.0175, Karadeniz Bölgesinde 0.0410, Doğu Anadolu Bölgesi'nde 0.0278 olarak bulundu. Marmara Bölgesi'nde mutant allel yoktu (0.000).

Gözlenen ve beklenen genotipik sıklıklar benzerdi, test edilen popülasyonlar Hardy-Weinberg dengesinden önemli bir sapma göstermedi. Batı Avrupa'da genel olarak kuzeyden güneye doğru Δ32 sıklığında gittikçe azalma olduğu bildirildi. Genel olarak, Türkiye'de yapılan bu çalışmanın sonuçları ile bu bulgular ilişki gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** HIV, AIDS, CCR5-Δ32, Türkiye, popülasyon

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF THE FREQUENCY OF MUTANT CCR5- $\Delta$ 32 ALLEL RELATED TO HIV RESISTANCE IN TURKEY

KARAKAYA, Gamze

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M. Sc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA

June 2010, 91 pages

AIDS, Acquired Immune Deficiency Syndrome, is a condition caused by a virus called HIV which attacks the immune system. This virus damages the cell it replicates in and this is one of the reasons, which makes the infection. HIV mostly infects T-cells, also known as CD4+ cells or T-helper cells. These cells are white blood corpuscles that turn the immune system on to fight disease.

Some people have a genetic mutant chemokine reseptör 5 (CCR5) that makes them resistant or partially immune to HIV. CCR5 mutant allele was known about HIV resistance in human genome. 32-base pair deletion ( $\Delta$  32) in the gene for the human chemokine receptor 5 (CCR5) is responsible for this. HIV needs to attack to the CCR5 receptor to infect CD4+ T cells. People with this mutation either have no CCR5 receptors or have far fewer CCR5 receptors than an average person. The existence of, CCR5- $\Delta$ 32 allele very strongly protects against HIV-transmission in homozygous individuals and heterozygotes typically have a progression delay of two years.

It is estimated that people of European descent are 81% wild-type, 18% heterozygote and 1% mutant homozygote for mutant CCR5- $\Delta$ 32.

Unfortunately there is not enough data about the frequency of this allele for Turkey. The aim of this study is to determine the frequency of this mutant allele in 400 individuals sampled from all geographic regions of Turkey by PCR method.

The samples were obtained from Ankara Gazi Mustafa Kemal Public Hospitals. In this study, the frequency of the CCR5 wild allele was found as 0.9738 and mutant allele 0.0262 in Turkey. However, no homozygous CCR5- $\Delta$ 32 individual was detected among the individuals examined.

The highest frequency of  $\Delta$ 32 allele was found in The Central Anatolia Region (0.0726). The lowest of  $\Delta$ 32 allele frequency was found in The Southeast Anatolia Region and The Mediterranean Region (0.0093). The mutant allele frequency was found 0.0175 in The Aegean Region, 0.0410 in The Black Sea Region, 0.0278 in The Eastern Anatolia Region. There was no mutant allele in The Marmara Region (0.000).

The observed and expected genotypic frequencies were similar to each other, so the populations tested did not show a significant deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium. Generally from north to south, a gradual gradient of  $\Delta$ 32 frequencies have been reported in West Europe. In general, the results of the present study showed a correlation with these findings for Turkey (0.0262).

**Keywords:** HIV, AIDS, CCR5- $\Delta$ 32, Turkey, population

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Şükran ÇAKIR ARICA'ya teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda bana yol gösteren Arş. Gör. Dr. F. Azize BUDAK YILDIRAN'a teşekkür ederim.

Kan örneklerimin temini konusunda bana yardımcı olan Ankara Gazi Mustafa Kemal Devlet Hastanesi Başhekimi Dr. Doğan AKDOĞAN'a, Başhekim Yardımcısı Dr. Ergun OĞUZÖNCÜL'e, kan alma ünitesinde görev yapan hemşirelere, hastane personeline ve gönüllü katılımcılara teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince her konuda desteğini gördüğüm değerli dostum Özlem SİNAPLI'ya, ihtiyaç duyduğum her an yanımda olan değerli dostum Nisa TANDOĞAN'a ve tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her konuda bana destek olan, kızları olmaktan onur duyduğum annem Meral KARAKAYA ve babam Naci KARAKAYA'ya, her zaman desteğini gördüğüm ablam Şule KARAKAYA'ya teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	v
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	viii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	ix
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	x
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (Human Immunodeficiency Virus; HIV) Genel Özellikleri... ..	3
1.1.1. HIV' in Yapısı.....	3
1.1.2. HIV' in Yaşam Döngüsü.....	6
1.1.3. HIV' in Sınıflandırılması.....	8
1.1.4. HIV' in Epidemiyolojisi.....	9
1.1.5. HIV İnfeksiyonu.....	14
1.1.6. HIV İnfeksiyonunda Tanı Yöntemleri.....	16
1.1.7. HIV İnfeksiyonlarında Kullanılan Aşı ve Tedavi Yöntemleri... ..	18
1.1.8. HIV ve İmmun Sistem.....	20
1.1.8.1. HIV'e Dirençle İlgili Genetik Faktörler.....	25
1.1.8.1.1. Kemokinlerin Genel Yapısı.....	25
1.1.8.1.2.Kemokin Reseptörlerdeki Polimorfizmlerin AIDS İle İlişkisi.....	28
1.1.8.1.2.1. CC kemokin Reseptör 5 (CCR5)..	29
1.1.8.1.2.1.1. CCR5 Polimorfizmi... ..	31
1.1.8.1.2.2. CC kemokin Reseptör 2 (CCR2)	36
1.1.8.1.2.2.1. CCR2 Polimorfizmi... ..	36
1.2. Kaynak Özeti .....	39
1.3. Çalışmanın Amaçları.....	42



<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	43
2.1. Örneklerin Toplanması.....	43
2.2. Kandan DNA İzolasyonu .....	44
2.3. Primerlerin Seçimi .....	44
2.4. PCR Koşulları.....	45
2.5. Elektroforez Tekniği .....	48
2.5.1. Agaroz Jelin Hazırlanması.....	48
2.5.2. Agaroz Jelin Dökülmesi ve Örneklerin Yüklenmesi.....	49
2.5.3. Örneklerin Yürütülmesi.....	49
2.6. Verilerin gözlemlenmesi ve kaydedilmesi.....	49
2.7. Verilerin istatistiksel analizi.....	49
<b>3. BULGULAR</b> .....	51
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	63
<b>KAYNAKLAR</b> .....	71

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. HIV'in genleri ve görevleri.....	5
1.2. Türkiye'de bildirilen AIDS vaka ve HIV taşıyıcılarının yıllara göre dağılımı.....	11
1.3. Türkiye'de bildirilen AIDS vaka ve HIV taşıyıcılarının yaş ve cinsiyete göre dağılımı.....	12
1.4. Bulaşma yollarına göre HIV/AIDS vakalarının dağılımı .....	13
1.5. CCR5 varyantlarının HIV/AIDS ile ilişkisi .....	32
2.1. Çalışmada kullanılan primerler.....	44
2.2. Çalışmada kullanılan reaktiflerin miktarları.....	46
3.1. CCR5/CCR5-Δ32 genotipinin 400 bireyde bölgelere göre dağılımı .....	53
3.2. 400 bireyi kapsayan popülasyonun allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları.....	54
3.3. Karadeniz Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları.....	55
3.4. Marmara Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları.....	56
3.5. Ege Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları.....	57
3.6. Akdeniz Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları.....	58
3.7. Güneydoğu Anadolu Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları.....	59
3.8. Doğu Anadolu Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları.....	60
3.9. İç Anadolu Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları.....	61
4.1. Bazı popülasyonların CCR5-Δ32 allel sıklıkları.....	72

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. HIV'in Genel Yapısı.....	4
1.2. HIV'in yaşam döngüsü.....	7
1.3. HIV genomunda V3 bölgesi ve gp 160 yapısı.....	24
1.4. HIV'in yüzey proteinleri ile hücreye girişine yardımcı olan kemokin reseptörlerin ilişkisi.....	26
1.5. CCR5 geninin yapısı ve amino asit dizisinin organizasyonu ...	29
1.6. CCR5 geninde intron ve ekzonlar.....	30
2.1. PCR döngüsü.....	47
3.1. İlk primer ile elde edilen CCR5-Δ32 amplifikasyonuna ait örnek sonuçları.....	52
3.2. İkinci primer ile elde edilen sonuçlar CCR5- Δ32 Amplifikasyonuna ait örnek sonuçları.....	52
3.3. Mutant CCR5-Δ32 allelinin Türkiye'de 7 coğrafik bölgeye göre dağılımı.....	62

## KISALTMALAR DİZİNİ

bç	Baz çifti
BekHet.	Beklenen heterozigot değeri
Bek.Hom.	Beklenen homozigot değeri
CMV	Sitomegalovirüs
EDTA	Etilen Daimin Tetra Asetik Asit
Göz. Het.	Gözlenen heterozigot değeri
Göz.Hom.	Gözlenen homozigot değeri
HSV	Herpes Virüs
IV	İntravenöz
kb	Kilo baz
M	Molar
mL	Mililitre
mM	Milimolar
$\mu$ L	Mikrolitre
OrtHet.	Ortalama heterozigot değeri
Örn. Büyük.	Örnekleme büyüklüğü
St.Sap.	Standart sapma

## 1. GİRİŞ

İnsanın varoluşundan günümüze kadar geçen süreçte infeksiyon hastalıkları yaşamı tehdit eden en önemli sağlık problemlerinden biri olmuştur. Dünya üzerindeki ölüm sebepleri arasında ilk sırada yer alan bu hastalıklar, ekonomik kayıpların da nedenidir. İnsan İmmün Yetmezlik Sendromu'nda da (*Acquired Immune Deficiency Syndrome; AIDS*), fırsatçı infeksiyonlar önemli rol oynar ve bu hastalığın seyrinde yer alır. Bu fırsatçı infeksiyonlar nedeni ile immün sistem zayıflar ve İmmün Yetmezlik Sendromu ortaya çıkar. AIDS ortaya çıktığı ilk yıllardan itibaren dünya üzerindeki en yıkıcı pandemilerden biri olmuştur. Bu hastalıkla mücadelede günümüze kadar pek çok yol izlenmiştir. 1983 yılında geliştirilen bir revers transkriptaz inhibitörü olan azidovüdin (AZT)'in kullanımı; AIDS tedavisinde umut ışığı olmuştur. Ancak ilacın kullanılmaya başlanmasından sonra, HIV bu ilaca hızla direnç kazanmış ve bu ilaç ile tedavi yöntemi etkinliğini yitirmiştir.

Günümüzde ise yeni antiretroviral ilaçların kombine kullanımı ile HIV'in virülansında belirgin azalmalar sağlanmıştır. Bu etkili ilaçların kombinasyonu olan HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*), HIV'i kontrol etmede şu ana kadar en başarılı tedavi yöntemi gibi gözükmektedir. HAART'ın bu başarısı HIV'in tedavisi için ümit vermekte, fakat uygulamasında zorluklar yaşanmaktadır. Uygulanan bu tedavi yöntemine karşı virüsün direnç kazanmaya başlaması, yeni ilaçların geliştirilmesini gerektirmiştir. Ayrıca son yıllarda, proteaz inhibitörleri ve virüs zarfının hücre membranına füzyonunu engellemeye yönelik moleküller de tedavi amaçlı kullanılmaktadır.

Yapılan yeni çalışmalarla HIV için çeşitli gen tedavisi stratejileri geliştirilmiştir. Gen tedavisinde terapötik genler aracılığıyla HIV genomunda, en az mutasyona uğrayan (*conserved*) bölgeler ile reseptörlerin kofaktörleri hedeflenmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü bu hastalığın tedavisi için ilaç ve aşı geliştirme çalışmalarına önemli bütçeler ayırmasına rağmen henüz yeterli sonuç

alınamamıştır. Uygulanan tüm tedavi metodlarının temelinde HIV ile infekte bireylerin ömür uzunluğunu ve yaşam kalitesi artırabilmek hedeflenmiştir. Ancak infekte bireylerin psikolojik nedenlerle hastalığı gizlemesi, HIV taşıyıcılarına ve AIDS'li bireylere ulaşmada büyük sıkıntılar yaratmaktadır.

Bilinen ve uygulanan tedavi yöntemlerine rağmen AIDS'li bireylerde ölümcül son engellenememektedir. Ölümcül olan bu hastalığa karşı genetik olarak direnç gösteren bireyler vardır. Bunun sebebi popülasyonlarda genetik dirençten sorumlu polimorfizmdir. Bu polimorfizm ilk kez 1983 yılında tanımlanmıştır. Direnç gösteren bireylerin CCR5 reseptör geninde 32 baz çiftlik bir delesyon ( $\Delta 32$ ) olduğu belirlenmiştir. Polimorfizmi taşıyan bireylerde CC kemokin reseptör 5 (CCR5) bilinenden daha az sentezlenir (heterozigot bireylerde; CCR5/CCR5- $\Delta 32$ ) ya da hiç sentezlenmez (homozigot bireylerde; CCR5- $\Delta 32$ /CCR5- $\Delta 32$ ). Dolayısıyla HIV'in konak genomuna girişi zorlaşır ya da gerçekleşmez. CCR5- $\Delta 32$  mutant allel frekansı pek çok ülkede geniş kapsamlı çalışmalarla belirlenmiştir. Yapılan çalışmalara göre bu allelin frekans sıklığı dünya üzerinde kuzey-güney enlemleri boyunca farklı ırklara göre belirgin bir dağılım göstermektedir. Türkiye'de CCR5- $\Delta 32$  allel sıklığı rastgele seçilmiş popülasyonlarla ve çeşitli hastalık grupları ile ilişkisi açısından değerlendirilmiştir. Ancak Türkiye'de bu allel için bütün coğrafik bölgeleri dikkate alan detaylı bir popülasyon taraması yapılmamıştır. Elde edilen veriler bu konu ile ilgili Türkiye'nin coğrafi bölgeleri dikkate alınarak elde edilen ilk geniş kapsamlı verilerdir. Popülasyonların CCR5- $\Delta 32$  polimorfizmini belirlemek amacıyla moleküler teknikler kullanılmaktadır. Bu çalışmada PCR tekniği kullanılarak Türkiye'deki CCR5- $\Delta 32$  allelinin frekansı kapsamlı olarak belirlenmiştir. Ayrıca sonuçlar diğer ülkelerin elde ettiği verilerle karşılaştırılarak bu mutant allelin bölgesel coğrafik dağılımı hakkında fikir edinilmesine olanak sağlanmıştır.

## 1.1. İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (*Human Immunodeficiency Virüs; HIV*) Genel Özellikleri

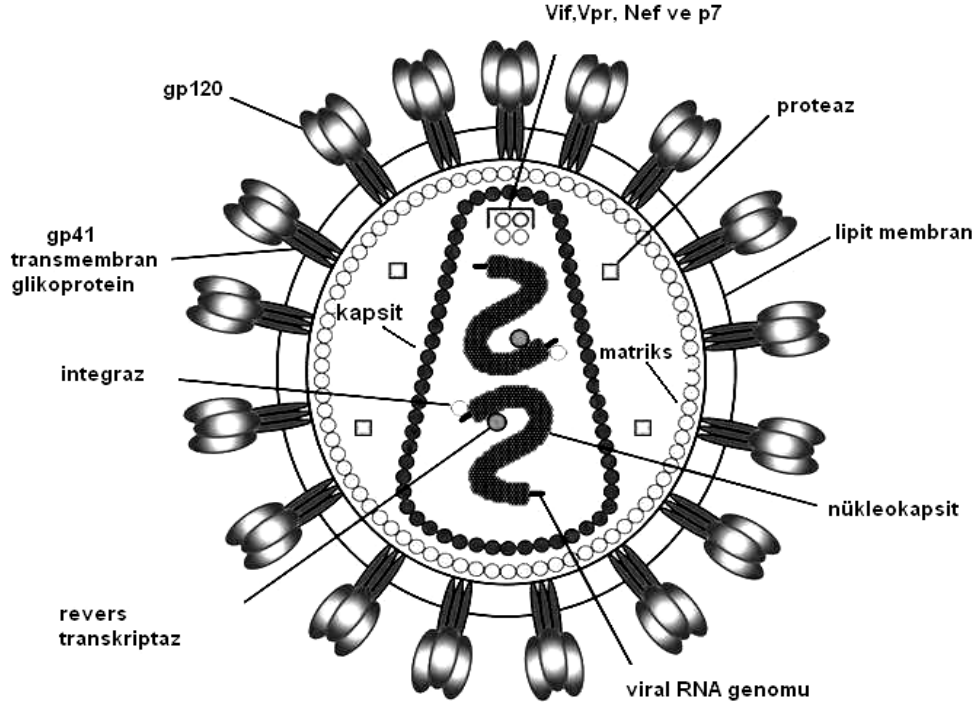
AIDS, 1980'lerin başından beri dünyada çağımızın vebası olarak kabul edilen kronik bir infeksiyon hastalığıdır. AIDS, ilk defa 1981 yılında Haiti'den ABD'ye gelen göçmenlerde *Kaposi sarkomu*, *Pneumocystis carini pnömonisi* ve CD4+ T lenfositlerinin azalması ile karakterize bir immün yetmezlik olarak tanımlanmış ve hastalık bu dönemde *Akkiz İmmün Yetmezlik Sendromu* olarak adlandırılmıştır (1-3).

AIDS etkeni olarak bilinen insan immün yetmezlik virüsü (*Human immunodeficiency virüs; HIV*) *Retroviridae* ailesinin *Orthoretrovirinae* alt familyasının *Lentivirüs* üyesidir. Bu grup üyeleri revers transkriptaz aktivitesine sahiptirler (2,4). AIDS'e neden olan etkenin bir retrovirüs olduğunun tespit edilmesinin ardından bu virüs Human T-Lymphotropic Virüs (HTLV-III) olarak adlandırılmış, daha sonra uluslararası isimlendirme komitesi söz konusu etkenin Human Immunodeficiency Virüs (HIV) olarak tanımlanmasına karar vermiştir

### 1.1.1. HIV'in Yapısı

İnsanlarda AIDS etkeni olan HIV virüsü, retrovirüs grubunun lentivirüs genusunun onkojenik olmayan bir üyesidir. Retrovirüsler RNA virüsleridir, yapısında bulunan RNA'dan DNA sentezleyen enzime sahip olmaları nedeniyle bu adı almışlardır. HIV'in 100 nm çapında, kor bölgesi kısaltılmış koni şeklinde, zarflı bir yapısı vardır ve tek zincirli, pozitif polariteli iki adet 9.7 kb RNA genomu içermektedir. HIV virionunun zarfı üzerinde bulunan 72 adet gp160 çıkıntısı bulunmaktadır gp160 env geninin ürünü olan proteinin glikozillenmesi ile oluşur. gp160; gp120 ve gp41 adını alan iki bölümden oluşmaktadır. gp41 bir transmembran glikoproteinidir ve viral zarfın füzyonunu sağlamaktadır. gp41'e bağlı olan gp120 yüzeyde yer almaktadır. gp120; yardımcı T lenfositlerin ve makrofajların hücre yüzeylerinde bulunan

CD4 molekülüne ve/veya koreseptörlere bağlanmayı sağlamaktadır. Olgun HIV partikülünde gp120 ve gp41, non-kovalent bağlarla bir arada tutulan bir heterodimerdir (2, 5, 6).



**Şekil 1.1.** HIV'in Genel Yapısı

HIV, replikasyonunda önemli rol oynayan revers transkriptaz (RT) enziminin yanı sıra; proteaz (PR), RNA'yı parçalayan ribonükleaz (RNase) ve viral DNA'nın konak hücre genomuna integre olmasını sağlayan integraz (IN) enzimlerine de sahiptir HIV, hücreleri infekte ettikten sonra virion RNA'sı revers transkriptaz tarafından lineer çift iplikli DNA haline çevrilir. Bu viral DNA konak hücre yapısına integre olarak 'provirüs' yapısını oluşturur. Viral RNA ve m-RNA'lar proviral DNA'dan hücresel polimeraz II enzimi yardımı ile sentezlenir (2).

Virüs genomunda yapısal, regülatör ve aksesuar proteinleri kodlayan genler bulunur (Çizelge 1.1.) (4,6).

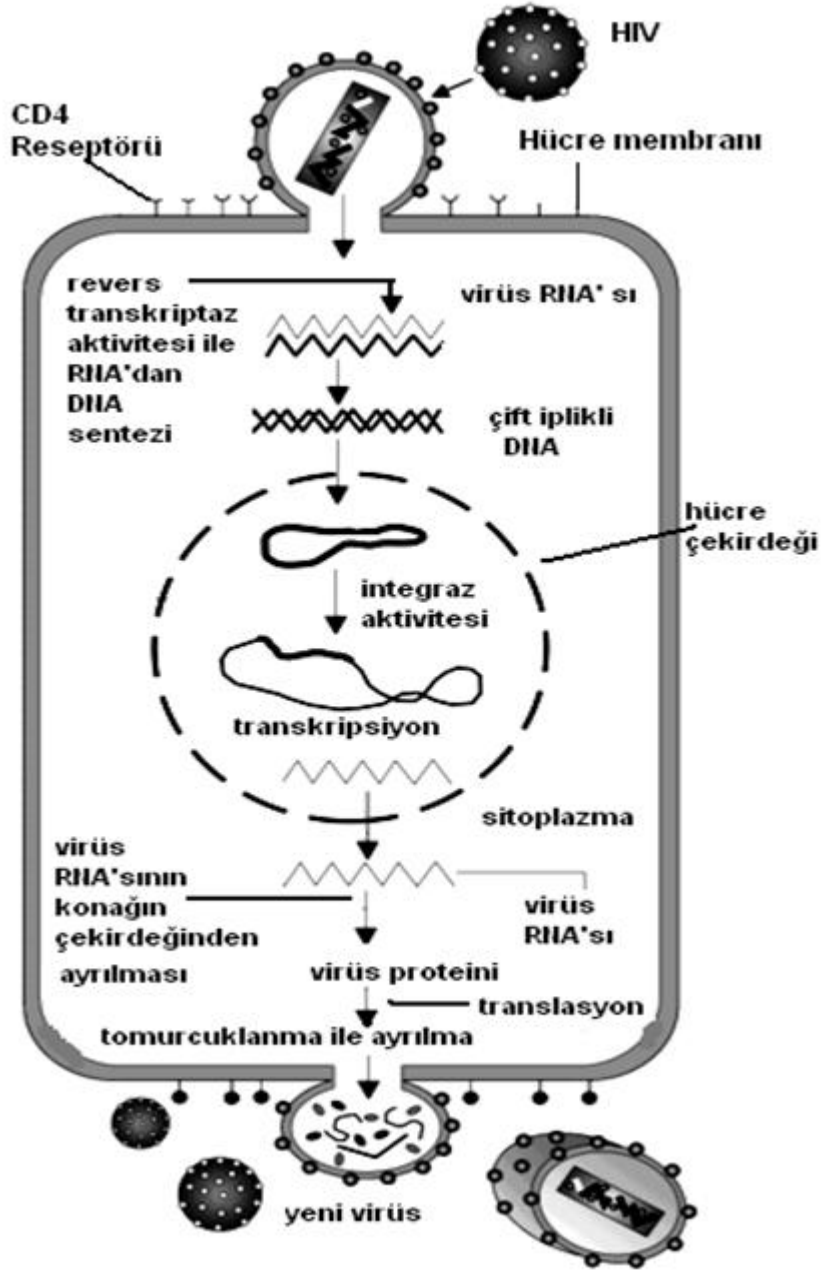


**Çizelge 1.1.** HIV'in genleri ve görevleri

<b>HIV'in Genleri</b>	<b>Görevleri</b>
<b>Yapısal Genler</b>	
GAG geni	RNA' yı paketler ve virüsün replikasyonu sırasında kapsitin soyulmasını sağlar
Pol (Polimeraz geni)	Proteaz, revers transkriptaz, integraz, ribonükleaz gibi viral enzimleri kodlar
ENV geni	Zarf glikoproteinleri kodlar
LTR (Long terminal repeat)	Viral genomun sonunda yer alır. Hem yapısal hem de regülatör gen olarak görev yapar.
<b>Regülatör Genler</b>	
TAT (Transkripsiyon transaktivatör gen)	Transaktivatör proteini (p14) kodlar. Hücre çekirdeğinde yer alır.
REV (Viral ekspresyon regülatör gen)	Viral ekspresyonu düzenleyen proteini (p19) kodlar. Hücre çekirdeğinde yer alır.
NEF (Negatif regülatör gen)	LTR promotor aktivitesini baskılar. İmmün sistemi yanıltarak virüsü sitotoksik CD8+T lenfositlerle karşı korur. Nef proteinini kodlar.
<b>Aksesuar Genler</b>	
VIF	Viral infektivite faktörü olan proteini kodlar.
VPU	Viral protein U' yu kodlar (HIV-2' de bulunmaz)
VPR	Viral protein R' yi kodlar
VPX	Viral protein X'i kodlar (HIV-1' de bulunmaz)

### 1.1.2. HIV'in Yaşam Döngüsü

Konağa aktarılan HIV, replikasyonunu sağlamak amacıyla CD4 taşıyan hücreleri hedef alır. Virüsün zarf glikoproteini gp120 ile T yardımcı lenfosit ve makrofajların yüzeyinde bulunan CD4 reseptörüne bağlanmasından sonra gerçekleşen füzyon ile viral nükleokapsid sitoplazmaya salınmaktadır. Sitoplazmada HIV'in revers transkriptaz enzimiyle, virüs RNA'sından lineer çift iplikli DNA (provirüs) sentezlenmektedir. Bu çift iplikli DNA konağın nükleusuna geçerek integras enzimi yardımıyla kromozomal DNA'ya integre olmaktadır. Replikasyon, integre proviral DNA'dan viral RNA transkripsiyonu ile devam etmekte, RNA ve protein sentezinin ardından ortaya çıkan yeni virüsler hücreden tomurcuklanma yoluyla ayrılmakta ve bu sırada zarflarını kazanmaktadırlar (Şekil 1.2.) (7).



Şekil 1.2. HIV'in yaşam döngüsü

### 1.1.3. HIV'in Sınıflandırılması

HIV, genetik ve serolojik özelliklerine göre; HIV-1 ve HIV-2 olmak üzere iki major gruba ayrılmaktadır. Her iki virüs grubu ve bu gruba ait alt gruplar da AIDS'e neden olmaktadır. HIV-1 ve HIV-2 virüsünün RNA dizileri arasındaki benzerlik oranı %40'tır. HIV-1 ilk kez 1983 yılında Paris'te, HIV-2 ise ilk olarak 1986 yılında Batı Afrika'da izole edilmiştir HIV-1 tüm dünyada yaygın iken, HIV-2 Batı Afrika'da yaygın olarak bulunmaktadır. Amerika'da saptanan HIV-2 ile infekte hastaların Batı Afrika ile ilişkili oldukları tespit edilmiştir (2,8).

T hücrelerinde eksprese olan CXCR4 kemokin reseptörünü, HIV-1'in T lenfosit tropik (T-tropik) ve sinsityum oluşturan (SI) türü, B hücrelerinde eksprese olan CCR5 kemokin reseptörünü ise HIV-1'in makrofaj tropik (M-tropik) ve sinsityum oluşturmeyen (NSI) türü, hücreyi infekte etmek için kullanır. Araştırmalar HIV-1 infeksiyonunun %90'ından M-tropik türü sorumlu tutmaktadır. M-tropik suşların %30-50'si daha sonra CXCR4 veya iki yardımcı reseptörün birden (R5X4) kullanıldığı infeksiyonları oluşturur (9-15).

HIV virüsünün orijini ile ilgili birçok kuram bulunmaktadır. Bunlardan en çok savunulan görüşlerden bazıları şunlardır:

1. *Human T-cell Leukemia Virus* ve Maedi-Visna virüslerinin kombinasyonu sonucu yeni bir virüsün oluşumu; biyolojik silah üretimi sırasında laboratuvarında sentezlenmiş olması,
2. Poliovirüs üretiminde kullanılan maymun böbrek hücrelerinden kaynaklandığı,
3. Afrika'daki sıtma araştırmaları sırasında HIV ile infekte maymunlardan alınan kanın insanlara uygulanması sonucu yayıldığı,
4. Zararsız bir virüs iken kokain, eroin, ya da bazı ilaçların kullanımına bağlı olarak patojenite kazanmış olması,
5. İnfekte primatlardan, yaralanmalar sonucunda avcılara bulaşmış olması gibi bazı görüşler bulunmakla birlikte bunlardan herhangi birisinin doğrulayan kesin kanıt henüz bulunmamaktadır (16).

Filogenetik analiz bulgularına dayanan bugünkü bilgilere bakıldığında HIV-1'in, Orta Afrika'da yaşayan bir şempanze türü olan *Pan troglodytes troglodytes*'lerden izole edilen *Simian immunodeficiency virüs* (SIVcpz)'a yakın olduğu; HIV-2'nin ise bir diğer maymun türü olan *Sooty mangabeys*'lerden izole edilen SIV suşları ile (SIVsm) akraba olabileceği kabul edilmektedir (17). Bu durum AIDS'in bir zoonoz olup olmadığı tartışmasını başlatmış, ancak insanlarda SIV enfeksiyonunun çok ender olarak saptanmış olması, SIV'in doğal konaklarında genel olarak hastalığa yol açmaması ve nihayet HIV için söz konusu olan patojenitenin SIV'de söz konusu olmaması gibi bulgular zoonoz yaklaşımının doğru olmadığını kanıtlamıştır (18).

#### 1.1.4. HIV'in Epidemiyolojisi

İlk defa 1981 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde tanımlanan AIDS olgusu, tüm dünyayı saran bir pandemi halini almıştır. Tanımlandığı yıldan günümüze kadar geçen sürede dünyada 40 milyondan fazla kişi HIV enfeksiyonu ile mücadele etmektedir. AIDS gerçeğine bakıldığında, bu salgının bir yandan ekonomi ile ilişkili olduğu, öte yandan da insan hakları gibi sosyal sorunlarla iç içe bulunduğu görülmektedir. Örneğin; Afrika ve Asya ülkelerinde AIDS'in neden olduğu demografik değişimler sonucunda aile ve toplum düzeni değişmekte; üretim, eğitim, sağlık hizmetleri aksamakta; özellikle kadınlar, göçmenler ve yoksullar giderek artan oranda epideminin yeni kurbanları olmaktadır. Afrika'da yaygın olarak gözlenen AIDS epidemiyolojisinin günümüzde Asya kıtasında da ürkütücü boyutlara eriştiği; özellikle Çin, Hindistan ve Tayland'da salgının son yıllarda ciddi bir ivme kazandığı bilinmektedir. ABD'de enfekte birey sayısının diğer ülkelere kıyasla yüksek düzeye ulaştığı ve Avrupa'nın birçok ülkesinde de epideminin yaygınlaştığı bilinmektedir (16).

Türkiye'de ise ilk HIV vakası 1985 yılında kaydedilmiştir. Bu yıldan günümüze kadar geçen sürede, HIV daha fazla kişiyi enfekte ederek hızla yayılmaya

devam etmektedir. Sağlık Bakanlığı verilerine gore 1985–2009 yıllarında rapor edilen toplam vaka ve taşıyıcı sayısı 3898' e ulaşmıştır. Bunların 2738'ini erkekler, 1160'ını kadınlar oluşturmaktadır (Çizelge 1.1.,Çizelge 1.2.,Çizelge 1.3.,Çizelge 1.4.).

Sağlık Bakanlığı'nın 1 Ekim 1985-31 Aralık 2009 verileri

**Çizelge 1.2.** Türkiye'de bildirilen AIDS vaka ve HIV taşıyıcılarının yıllara göre dağılımı

<b>YILLAR</b>	<b>VAKA</b>	<b>TAŞIYICI</b>	<b>TOPLAM</b>
1985	1	1	<b>2</b>
1986	2	3	<b>5</b>
1987	7	27	<b>34</b>
1988	9	26	<b>35</b>
1989	11	20	<b>31</b>
1990	14	19	<b>33</b>
1991	17	21	<b>38</b>
1992	28	36	<b>64</b>
1993	29	45	<b>74</b>
1994	34	52	<b>86</b>
1995	34	57	<b>91</b>
1996	37	82	<b>119</b>
1997	38	105	<b>143</b>
1998	29	80	<b>109</b>
1999	28	91	<b>119</b>
2000	46	112	<b>158</b>
2001	40	144	<b>184</b>
2002	48	142	<b>190</b>
2003	52	145	<b>197</b>
2004	47	163	<b>210</b>
2005	37	295	<b>332</b>
2006	35	255	<b>290</b>
2007	24	352	<b>376</b>
2008	49	401	<b>450</b>
2009	75	453	<b>528</b>
<b>TOPLAM</b>	<b>771</b>	<b>3127</b>	<b>3898</b>

**Çizelge 1.3.** Türkiye’de bildirilen AIDS vaka ve HIV taşıyıcılarının yaş ve cinsiyete göre dağılımı

<b>YAŞ GRUPLARI</b>	<b>ERKEK</b>	<b>KADIN</b>	<b>TOPLAM</b>
0	17	7	<b>24</b>
1-4	10	16	<b>26</b>
5-9	6	10	<b>16</b>
10-12	3	2	<b>5</b>
13-14	2	1	<b>4</b>
15-19	28	40	<b>68</b>
20-24	213	220	<b>433</b>
25-29	370	227	<b>596</b>
30-34	454	189	<b>643</b>
35-39	446	101	<b>547</b>
40-49	552	109	<b>661</b>
50-59	278	101	<b>379</b>
60+	154	40	<b>194</b>
Bilinmeyen	205	97	<b>302</b>
<b>TOPLAM</b>	<b>2738</b>	<b>1160</b>	<b>3898</b>



**Çizelge 1.4.** Bulaşma yollarına göre HIV/AIDS vakalarının dağılımı

<b>OLASI BULAŞMA YOLU</b>	<b>ERKEK</b>	<b>KADIN</b>	<b>TOPLAM</b>
Homo /Biseksüel Cinsel İlişki	345	0	<b>345</b>
IV Madde Bağımlılığı	128	11	<b>139</b>
Homo/Biseksüel Cinsel İlişki + IV Madde Bağımlılığı	6	0	<b>6</b>
Hemofili Hastalığı	10	0	<b>10</b>
Transfüzyon Yapılması	35	18	<b>53</b>
Heteroseksüel Cinsel İlişki	1359	877	<b>2236</b>
İnfekte Anneden Bebeğe	33	31	<b>64</b>
Nozokomial Bulaşma	14	6	<b>20</b>
Bilinmeyenler	808	217	<b>1025</b>
<b>TOPLAM</b>	<b>2738</b>	<b>1160</b>	<b>3898</b>

Ayrımcılık ve dışlama sonucu yer altına itilen, gizlenmek zorunda kalan infekte kişiler toplumda hastalığın başlıca yayılma nedenini oluşturmaktadırlar. Dünyada ve Türkiye’de HIV’in en sık bulaşma yolu cinsel ilişkidir. Bunun yanı sıra HIV; infekte kan ve kan ürünleri kullanımı, infekte kişiyle kirliliğne/şırınga paylaşımı ve infekte anneden gebelik süresinde bebeğine geçmesi ile bulaşabilmektedir (2,4,8).

HIV/AIDS; dokunmak, el sıkışmak, sarılmak, aynı yerde oturmak, aynı saunayı, havuzu, banyoyu, tuvaleti paylaşmak, aynı tabağı, bardağı, kulaklığı kullanmak, aynı giysileri giymek, gözyaşı, ter, tükürük teması ile bulaşmamaktadır (3,19).

### 1.1.5. HIV İnfeksiyonu

HIV infeksiyonu, taşıyıcılıktan ağır immün yetmezliğe ve hayatı tehdit eden fırsatçı infeksiyonlardan malignitelere kadar uzanmaktadır. AIDS, en ağır belirtilerin görüldüğü döneme verilen isimdir ve bu dönemde ciddi infeksiyonlar ve semptomlar gözlenmektedir.

HIV infeksiyonunun klinik seyri 8-12 yıl sürebilmekte ve üç farklı klinik döneme ayrılmaktadır:

1. Primer HIV-1 İnfeksiyonu
2. Kronik Asemptomatik Evre
3. AIDS

**1. Primer HIV-1 İnfeksiyonu:** HIV-1 yüzeyindeki glikoprotein makrofaj hücrelerinin yüzeyindeki CD4 reseptörlerine ve CCR5 yardımcı reseptörüne bağlanabilmek için konformasyonel bir değişim geçirir. CD4 molekülü taşıyan hücreleri serbest viral partiküller şeklinde infekte ettikten ya da CCR5'e bağlandıktan sonra hücreler içerisinde bölgesel lenf bezlerine ulaşmaktadır (20).

Virüsün alınımından 2-4 hafta sonra infeksiyonun belirtileri ortaya çıkmaktadır. Bu dönemde infekte bireylerde ateş, lenfadenopati, terleme, döküntü, halsizlik, boğaz ağrısı, bulantı, kusma, diyare, baş dönmesi, fotofobi gibi semptomlar görülmektedir. Daha nadiren görülen belirtiler ise aseptik menenjit, miyelopati ve periferik nöropatidir (20,21).

İnfeksiyonun bu evresinde tanı, standart serolojik testler kullanılarak yapılamamaktadır. Bunun nedeni ise, uygulanan testlerin antikör saptama esasına dayanmasıdır. Antikörler ancak HIV vücuda alındıktan yaklaşık 3 hafta sonra tespit edilebilmektedir. Bu dönemde

başvurulacak tanı yöntemleri p24 antijen testi ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)' dur (21).

2. **Kronik Asemptomatik Evre:** İnfeksiyonun bu evresinde viral yük düşüktür. HIV'in viral replikasyonu sürmektedir ve özellikle lenfoid dokuda yüksek miktarda virüs bulunmaktadır. Bu evrenin süresi; bulaşma yolu, suşun patojenitesi ve konağın immünolojik durumuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu evre ortalama 8-12 yıl kadar sürmektedir (21).
3. **İnsanda Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu (Acquired Immunodeficiency Syndrome: AIDS):** Hastalığın son aşaması olan AIDS'de bireyin virüsle infekte hücre sayısı artar, immün sistemi bu yükü temizlemekte yetersiz kalır ve immün sistem baskılanmış hale gelir. HIV enfeksiyonunun seyrinde görülen CD4+ T lenfositlerinin azalmasında direkt ve indirekt mekanizmaların etkili olduğu sanılmaktadır (22).

Bu aşama dönemlerinde hastada gözlenen semptomlar ve hastalıklar şunlardır:

- Erime sendromu (1 aydan uzun sürdüğü halde açıklanamayan halsizlik, yorgunluk, ateş, diyare ve vücut ağırlığının %10'dan fazlasının kaybı ile karakterizedir),
- AIDS demansı (beyin nöronları ve mikroglia hücrelerinin HIV ile enfeksiyonu sonucu ortaya çıkar),
- Fırsatçı enfeksiyonlar (mantar enfeksiyonları, P. Carinii Pnömonisi, santral sinir sistemi toksoplazmoz, sitomegalovirüs, herpes virüsü enfeksiyonları)
- Malinitelerle (kaposi sarkomu, primer beyin lenfoması) karakterizedir.

AIDS'li bireylerde immün sistem çöker ve uygun tedaviler uygulanmaya başlansa bile hastalık ölümle sonuçlanır (22).

### 1.1.6. HIV İnfeksiyonunda Tanı Yöntemleri

HIV enfeksiyonu farklı yöntemler kullanılarak klinik olarak tanımlanmıştır. İnfeksiyonunun laboratuvar tanısında kullanılan testler dört grup altında incelenmektedir:

1. HIV'e Karşı Özgül Antikorların Gösterilmesi
2. HIV Antijeninin Tayini
3. Hücre Kültüründe Virüs İzolasyonu
4. HIV Nükleik Asidinin Gösterilmesi

#### 1. HIV'e Karşı Özgül Antikorların Gösterilmesi

HIV enfeksiyonunun tanısında en sık kullanılan yöntemdir. HIV antikorları enfeksiyondan yaklaşık 2 hafta sonra serumda saptanabilmekle birlikte, bu süre genellikle 2-3 haftayı bulabilmektedir. Virüsün zarf glikoproteinlerine karşı oluşan antikorlar genellikle anti-p24'den daha erken belirlenmektedir (23).

HIV antikorlarının saptanmasında kullanılan serolojik yöntemler tarama testleri ve doğrulama testleri olarak iki grupta toplanmaktadır (23):

**Tarama Testleri:** Serumda antikor aramak için ilk aşamada kullanılan testlerdir. Günümüzde tarama testi olarak en yaygın kullanılan test enzim immün assay (EIA)'dir. Bu yöntemle hasta serumunda IgG cinsi antikorlar aranmaktadır (24).

**Doğrulama Testleri:** Yalancı pozitifliği engellemek amacıyla kullanılır. EIA testinin doğrulanmasında en sık kullanılan test Western blot (WB)'dur. *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) kriterlerine göre p24, gp41, gp120/160 bantlarından en az ikisinin

saptanmasıyla test pozitif, hiçbir bandın bulunmaması durumunda ise negatif olarak kabul edilmektedir (24).

## **2. HIV Antijeninin Tayini (p24 Antijen Testi)**

HIV-1'in major kor proteini olan p24, primer HIV infeksiyonunun akut fazında ve geç semptomatik dönemde serumda ya da plazmada saptanabilmektedir (24). AIDS'li hastalarda p24 antijeni EIA yöntemi ile %50-60 oranında saptanmaktadır. Bu testin duyarlılığı düşüktür. Nedeni ise, serbest p24 antijeninin p24 antikoru ile kompleks oluşturmasıdır (22).

## **3. Hücre Kültüründe Virüs İzolasyonu**

Tüm yaş gruplarında hücre kültürü en özgül yöntemdir. Duyarlılık, vireminin derecesine bağlı olarak değişiklik göstererek %65-100 arasında değişmektedir (25).

## **4. HIV Nükleik Asidinin Gösterilmesi**

Periferik kan mononükleer hücrelerinde HIV-1 proviral DNA'sı ve plazmada HIV-1 RNA'sı kantitatif olarak saptanabilmekte ve bu amaçla PCR yöntemi kullanılmaktadır. Moleküler yöntemlere; yeni doğanlarda HIV infeksiyonunun tanısı, infeksiyonlu kişilerin tanımlanması, seronegatif hastalarda infeksiyonun saptanması, prognozun belirlenmesi, antiviral tedaviye cevabın izlenmesi ve HIV-1 ile HIV-2 infeksiyonlarının ayrımı amacıyla başvurulmaktadır (25).

CD4+ T lenfosit sayısı HIV-1 RNA miktarı ile birlikte, antiretroviral tedavide yol gösterecek laboratuvar parametreleridir (20).

### 1.1.7. HIV İnfeksiyonlarında Kullanılan Aşı ve Tedavi Yöntemleri

AIDS ile HIV'e karşı tedavi yöntemleri geliştirmek için, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) başta olmak üzere, pek çok ülke yapılan araştırmalara önemli düzeyde mali destek sağlamaktadır. Günümüze kadar AIDS tedavisinde kaydedilen en önemli gelişme revers transkriptaz aktivitesini önleyen anti-retroviral ilaçların kullanıma girmesidir. Revers transkriptaz inhibitörü olan azidovüdin (AZT)'nin geliştirilmesi ile başlayan bu süreçte, virüsün replikasyon döngüsünün farklı aşamalarında etki eden bir dizi ilaç geliştirilmiş ve kullanıma girmiştir. AZT bir nükleotit analogu olup yapı olarak normal timine benzer, bu nedenle revers transkriptazı aldatır. Araştırmacılar AZT'nin yeni viral proteinlere ve virionlara giden yolu engellemesini ve infeksiyonu durdurmasını amaçlamıştır. İlk uygulamalar sonucunda, hastalarda makrofaj ve T hücre kayıplarını etkili bir biçimde durdurduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra AZT, bulunduğu hücredeki DNA polimeraz aktivitesini aldattığı ve DNA sentezini önlediği için ciddi yan etkiler ortaya çıkartmıştır. 1989'da, ilacın kullanıma girmesinden birkaç yıl sonra, hastaların tedaviye cevabı durmuş ve CD4 hücrelerinin sayılarında yeniden azalmanın olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmayı takiben farklı baz analogları denenmiş ancak virüsün hızla bunlara karşı yeniden direnç kazandığı tespit edilmiştir (26,27,28).

Ayrıca 1995 yılında proteaz inhibitörleri ve 2003 yılından itibaren virüs zarfının hücre membranına füzyonunu engelleyen yeni moleküller (enfuvirtid ve benzerleri) tedavi amacıyla kullanıma girmiştir. Bu şekilde tedavide seçenekler çoğalmıştır. Günümüzde 20'den fazla anti-retroviral ilaç ve bunların kombinasyonları HIV infeksiyonunun tedavisinde kullanılmaktadır ve belli oranlarda hastalığın olumsuz etkilerini azalttığı ifade edilmektedir (29).

HIV'e karşı aşı çalışmaları nötralizan antikör uyarısını sağlayacak aşılara yönelik olmuş, daha sonra sitotoksik T lenfositlerinin uyarısı hedeflenmiş ve son dönemlerde her iki yanıt türünü kamçılamayı hedefleyen aşılarda araştırılmasına ağırlık verilmiştir. Bu amaçla canlı attenüe ya da inaktif

aşılarla başlayan arayış; DNA aşınlarının yanı sıra canlı rekombinant vektörlerin kullanıldığı aşı modelleri, subünit aşular, virüs benzeri partiküller (VLP) ve mukozal aşular konularında sürdürülmektedir (30).

Aşı çalışmalarında etkili bir sonuç elde etmek henüz mümkün olmamıştır. Etkene karşı oluşan hümmoral ve hüccresel immün yanıt mekanizmaları bilinmesine rağmen, virüs replikasyonu ancak kısmen kontrol altına alınabilmiştir. Aşı konusundaki başarısızlığın çeşitli nedenleri vardır (30). En önemlisi virüsün yapı değiştirme yeteneğidir. Ayrıca infeksiyonun genelde mukozal yoldan ve infekte hücreler ile de bulaşması, sistemik uyarıya yol açmaması, nötralizasyona direnç göstermesi, viral nükleik asidin konak genomuna integre olma özelliği ve HIV'in oluşacak immün yanıtı bozacak şekilde aktif olarak savunma sistemine saldırma özelliği etkili bir aşının hazırlanması konusundaki belli başlı engellerdir (31).

Ayrıca günümüzde HIV için çeşitli gen tedavisi stratejileri geliştirilmiştir. Bu stratejiler genellikle protein ve RNA'lara yöneliktir (32).

HIV virüsünü in vitro inhibe etmek için birçok farklı transgen bildirilmiştir. Bununla birlikte klinik uygulamalara veya hatta AIDS'in hayvan modellerine uyarlanması bugün için hala aşılması güç problemlerdir. Hedefleme için en etkili hücre popülasyonları, hedef hücrelerin vücutta yayılması, etkisiz ve yetersiz uzun ömürlü gen gönderimi konularındaki belirsizlikler bu güçlüğü aşmadaki en önemli problemlerdir (32).

Tedavide kullanılan etkili ilaçların kombinasyonu olan HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*) HIV'i kontrol etmede şu ana kadar en başarılı tedavi gibi gözükmektedir. HAART'ın bu başarısı HIV tedavisinde ümit vericidir. Fakat bu tedavi yönteminin uygulamasında yaşanan zorluklar ve virüsün bu ilaç kombinasyonuna karşı hızla direnç kazanması, sürekli olarak yeni tedavilerin geliştirilmesini gerekli kılmaktadır (32).

### 1.1.8. HIV ve İmmün Sistem

Yabancı hücrelerin protein ve polisakkaritleri vücuda girdiğinde, kan plazmasındaki savunma hücrelerini ve salgılarını uyarır. Bu antijenlere karşı vücudun kendini korumak için geliştirdiği mekanizmaya bağışıklık denir (33).

İmmün sistem; antijenlerle karşı karşıya kalan canlının varlığını sağlıklı bir şekilde sürdürmesi açısından büyük önem taşır. Birey bu antijenlere karşı doğal ya da sonradan kazanılmış bağışıklık mekanizmasıyla cevap verir. Hücresel ve humoral (salgısal) olan cevapta T ve B lenfositleri uyum içerisinde çalışır. İmmün sistemde fagositler, doğal öldürücü hücreler (*Natural Killer*, NK); B lenfositler ve T lenfositler olmak üzere her biri özel görevlere sahip dört temel hücre tipi vardır. HIV'in konağa girişinden sonra hedef olarak seçtiği en önemli immün sistem elemanı T lenfositlerdir (33).

T lenfositler kemik iliğinden köken alır ve kan yoluyla timusa gelerek burada farklılaşır. Bu hücreler immün yanıtın oluşmasından ve sona erdirilmesinden sorumludur. T hücrelerine savunmada yardım eden elemanlar vardır:

- MHC (*Major Histocompatibility Complex*) Antijenleri
- Yardımcı T lenfositler (CD4 hücreler)-Baskılayıcı T lenfositler
- Sitotoksik T lenfositler (Katil T lenfositler; CD8 hücreler)
- Bellek hücreler
- **MHC Antijenleri:** T hücrelerinin yüzeyinde MHC-1 ve MHC-2 olmak üzere iki tip molekül vardır. MHC-1 molekülleri vücudun bütün hücrelerinde bulunurken; MHC-2 esas olarak antijen sunan savunma hücrelerinde, B lenfositlerin zarlarında ve sınırlı olarak da yardımcı T hücrelerin zarlarında bulunur. MHC-1 proteini hücrede sürekli sentezlenip zara gönderilir. MHC-2 molekülüne üzerine tutunan yabancı protein ya da peptitler ise T hücrelerini aktive eder. Artık antijenleri tanıyacak duruma gelen T lenfositler, önce timusun medullasına geçer oradan da dolaşıma katılır. T lenfositlerin aktive edilebilmesi için,



makrofajların antijenleri T lenfositlere tanıtması gerekir. Bu durumda, iki tip MHC molekülünden herhangi birini taşıyan immün sistem hücresi, bu molekülün bağlandığı antijeni bir T hücresine sunduğu zaman, iki hücre antijeni farklı kısımlarıyla tutunarak bir kompleks oluşturur. Bu kompleks, bir CD molekülü (lenfosit zarında bulunan bir glikoprotein) ile daha sağlam bir yapı kazanır. Bu CD molekülü MHC-1 için CD8, MHC-2 için CD4 olarak isimlendirilir (33).

- **Yardımcı T ve Baskılayıcı T lenfositler:** Yardımcı T (TH) lenfositler; lenfokinler, gama interferonlar salgılayarak makrofajları, diğer T lenfositleri, B lenfositleri, doğal öldürücü hücreleri aktive eder. Virüsün konakta üremesine bağlı olarak T yardımcı lenfositler sayıca gittikçe azalır. Bu dönemde T yardımcı ve T baskılayıcı lenfositler arasındaki denge bozulur. Baskılayıcı T lenfositler bağışıklık sisteminin aşırı reaksiyon vermesini engeller. Baskılayıcı T lenfositler, makrofaj ve yardımcı T lenfositlerin etkinliğini azaltırken, B lenfositlerin plazma hücresine farklılaşmasını ve antikör oluşturmasını engeller. T baskılayıcı lenfositlerin fonksiyonları giderek artar ve bunun sonucunda hücreyel immünite azalarak yok olur. Hücreyel immünitenin baskılanması ile birçok fırsatçı mikroorganizma, konak canlıda üreme fırsatına bulurularak çeşitli hastalık tabloları oluşturur. Bunlardan biri de HIV enfeksiyonudur. HIV, yüzeyinde bulunan zarf glikoproteinleri yardımı ile CD4 taşıyan hücreleri (T lenfositler, monosit, makrofaj ve dentritik hücreler) enfekte eder. HIV hücreyi enfekte ederken CD4 molekülünün yanı sıra farklı konak hücrelerinin yüzey reseptörlerinden ve koreseptörlerden yararlanır. Enfeksiyonun başlangıcında HIV, T yardımcı hücrelere ve makrofajlara yerleşir. Replikasyonunu bu hücrelerde tamamlayan HIV, serbest viral partiküller olarak çoğalmaya devam eder. HIV bu dönemde çoğalmasını kontrol altına almaya çalışan immün yanıtla karşılaşır. HIV enfeksiyonunun başlangıcında CD4+ hücre sayısında azalmalar gözlenir. Enfeksiyonun gerçekleşmesinden birkaç hafta sonra ise,

CD8+ hücre sayısında artış gözlenir ve toplam lenfosit sayısı artar (34).

- **Sitotoksik T lenfositler:** Hücresel bağışıklıkta etkin rol oynarlar. Örneğin; viral bir infeksiyon durumunda yardımcı T lenfositlerin zarı üzerinde bulunan THR ( T hücre reseptörü)-CD3 kompleksi makrofaj yüzeyindeki MHC-2 molekülü tarafından tutulan viral antijeni tanır. Bu tanıma, yardımcı T hücrelerinin IL-2 (interlökin-2) salgılamasına neden olur. Bu durumda makrofaj yüzeyinde bulunan MHC-1, sitotoksik T lenfosit yüzeyindeki THR ile etkileşir. Salgılanan IL-2, Sitotoksik T lenfositin sahip olduğu IL-2 reseptörüne bağlanır. Sitotoksik T lenfositler virüs ile infekte bölgeye göç ederek perforin ve fragmentin salgılar ve infekte olan hücreleri öldürür (33,34).
- **Bellek hücreleri:** T lenfositlerin antijenle karşılaştıklarında bölünerek oluşturdukları hücre çeşitlerinden birisidir. Dolaşımda aynı antijenle tekrar karşılaşıldığında onu hemen tanır ve kısa zamanda diğer hücrelerin de yardımıyla antijen yok edilir (33).

HIV'in konağa girişinden sonra, AIDS belirtilerinin ortaya çıkış süresini; kişinin yaşam koşulları ve immün sistemi belirler. NK hücreleri ve monositler, HIV infeksiyonuna yanıtta rol alan önemli savunma hücrelerindedir. Ancak bu hücreler savunma sırasında HIV'i yok etmede yeterince başarılı olmaz. HIV kendini korumak için CD4+ lenfositlerin yok ederek immün sistemi ortadan kaldırmaya çalışır. HIV infeksiyonlarında CD4+ lenfositleri etkinliğini yitirmesi çeşitli yollarla gerçekleşir:

- HIV ile infekte CD4+ lenfositlerde virüsün replike olması ve virüsün lenfositleri öldürmesiyle,
- HIV veya gp120 antijenlerine karşı konakta oluşan anti-gp120 antikörlerin CD4+ lenfositler üzerinde immün kompleks yapmasıyla,
- HIV'in infekte ettiği antijen sunucu hücreleri öldürerek, viral antijeni tanıyan CD4+ TH1 yerine CD4+ TH2 formunda lenfositlerin aktive

olması (HIV-1 Nef proteinin etkisiyle CD4+ lenfositlerde form değişikliği olması) sonucu sitotoksik CD8+ T lenfositlerin etkisinden kurtulmasıyla görev dışı kalmaktadır (4,35).

Nef proteini, infekte hücrenin sitoplazmasında, çekirdek zarının yanında yerini alır ve HIV'in replikasyonunda olduğu gibi patogenezinde de uyarıcı rol oynar. Nef proteini yeni HIV virionlarının oluşmasına yardım eder ve HIV-1 ile infekte hücrelerin CD8+ lenfositler ile NK hücreler tarafından tanınmasını engeller. Bu proteininin yüksek düzeye ulaşması ile AIDS ortaya çıkar (35).

CD8+ lenfositlerin HIV ile infekte hücreleri tanıyabilmesi için, HIV antijeninin MHC-I üzerinden CD8+ lenfositlere sunulması gerekir. Nef, CD4 ile MHC-1 moleküllerin regülasyonunu bozarak, virüsü sitotoksik CD8+ lenfositlerin etkisinden kurtarmak ve CD4+ TH1 lenfositleri tarafından tanınmamak için bir kaçış mekanizması geliştirerek antijenlerin MHC-I yerine MHC-II üzerinden sunulmasını sağlar. Bu şekilde immün sistem yanıltılır. Antijenler MHC-II üzerinden CD4+ TH2, MHC-I üzerinden CD8+ lenfositlere sunulur. CD4+ TH1 lenfositler hücrel immüniteyi sağlayan sitokinleri üretir ve bu şekilde CD8+ lenfositleri aktive ederek koruyucu hücrel immüniteyi sağlar. CD4+ TH2 lenfositler ise humoral immün yanıtın ortaya çıkmasını sağlayan interlökinler ile TGF- $\beta$  (*Tumour Growth Factor-Beta*) üretir. HIV-1'in gp120 üzerinde V3 bölgesi bulunur (Şekil 1.3.). V3 bölgesi konformasyonel olarak sıklıkla değiştiğinden virüs veya gp120'ye karşı çıkan humoral immün yanıtın koruyucu etkisi çok azdır. Aktif CD4+ TH2 lenfositler tarafından salınan sitokinler makrofajları ve lenfositleri inaktive ederek hücrel immüniteyi baskılar (6, 35-37). Bu nedenle AIDS hastaları fırsatçı infeksiyon ve bazı kanser tiplerine duyarlı hale gelir (6,38).



### 1.1.8.1. HIV'e Dirençle İlgili Genetik Faktörler

İmmün sistemi direkt etkileyen HIV infeksiyonuna karşı en etkin direnç, genetik faktörler ile sağlanmaktadır. Bu faktörler içerisinde en önemlisi, immün sistem elemanları üzerinde oldukça önemli bir etkiye sahip olan kemokinlerdir.

#### 1.1.8.1.1. Kemokinlerin Genel Yapısı

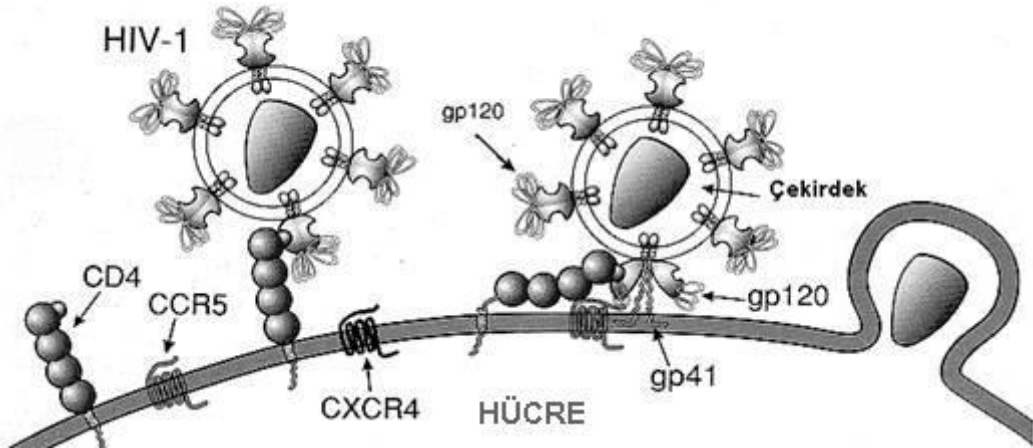
1992 yılında lökosit göçü, infeksiyon hastalıkları ve enflamasyon, anjiyogenezis, hematopoezis ve organogeneziste rol alan bir grup sitokine kemotaktik sitokinlerden esinlenerek "Kemokin" adı verilmiştir. Kemokinler farklı hücre tiplerini aktive eden ve onlarla ilişki içerisinde olan 70-90 amino asit uzunluğunda, 8-10 kilodalton (kDa) ağırlığındadır. Kemokinler G-proteini çiftli reseptörler ve yedi transmembran bölge (hidrofobik) reseptörler ailesindedir (42-44).

Kemokinler yapılarındaki sistein sayısı ve yerine göre; C, CC ( $\beta$ ), CXC ( $\alpha$ ) olmak üzere üç gruba ayrılır. Bütün kemokin reseptörler aminoasit dizilimlerinde %20-70 oranında benzerlik gösterir. Kemokinlerin hücre dışında N-terminal, hücre içinde C-terminal uçları vardır. Hücrede dışta yer alan kısımlar kemokinlere bağlanmadan, hücre içindeki kısımları ise sinyal iletiminden sorumludur. Tüm kemokinler; en azından 3 beta ( $\beta$ ) tabakası ( $\beta$ 1-3) ve C terminal  $\alpha$  heliks yapısı açısından benzerlik gösterir. CXC kemokin ailesi olarak da bilinen  $\alpha$  kemokin ailesinde, N terminaline yakın 2 sistein aminoasidi farklı bir aminoasit tarafından ayrılmıştır.  $\alpha$  kemokinler nötrofillere etki ederken; lenfositlere karşı etki göstermez. CC kemokinlerde ( $\beta$  kemokin),  $\alpha$  kemokinlerden farklı olarak N terminaline yakın 2 sisteini ayıran aminoasit yoktur.  $\beta$  kemokinler de kendi içinde 2 alt gruba ayrılır (*Monocyte Chemoattractant Protein*; MCP-5 ve MCP-eotaksin). CC kemokinler genellikle nötrofillere karşı etki göstermezken; monosit, eozinofil, bazofil ve lenfositlere değişik derecelerde etki eder (44,45).

Birçok bulaşıcı hastalık etkeni, konakçı hücrenin yüzey moleküllerini kullanır. Kemokin reseptörler bu etkenlerin hücreye girmesine yardımcı olur. Reseptör ekspresyonunun fazla olması ise bu olayı kolaylaştırır. Kemokinler G-proteinleri üzerinden ligandlarının bağlanmasına göre sinyal iletimini sağlar ve bu yolla belli bir yöne hücre göçünü düzenler. Bu biyolojik aktivelerini CCR5 gibi G-protein çiftli reseptör aracılığıyla yapar. (46-49).

Kemokinler; lökosit-endothelyal hücre ilişkilerinde, T ve B hücre oluşumunda, doku hasarı, immün denetim, alerji, tolerans ve immünitinin oluşumunda, T-B hücre iletişimde ve primer immün cevabın oluşmasında, kardiyovasküler hastalıklar, ve malign tümör patofizyolojisinde etkin rol alır (42).

Kemokinlerin aracılık ettikleri hücre göçü ve aktivasyonu için özgül olarak hücre üzerindeki kemokin reseptörlerine bağlanmaları gerekir (Şekil 1.4.). Bazı kemokin reseptörler tek bir hücrede yoğunlaşmışken (CXCR1 sıklıkla nötrofilde); diğer kemokin reseptörler farklı hücrelerde de görülür (CCR2 monosit, T lenfosit, NK hücre, dendritik hücre ve bazofilde) (50).



**Şekil 1.4:** HIV'in yüzey proteinleri ile hücreye girişine yardımcı olan kemokin reseptörlerin ilişkisi

Bazı kemokin reseptörleri çeşitli uyarılarla hücre yüzeyinde artış gösterebilir. Örneğin CCR2 kemokin reseptörleri, lipopolisakkaritlerin varlığında azalır ve böylece hücreleri sadece bu reseptörü aktive eden MCP-1'e karşı cevapsız kılar; fakat CCR1 ve CCR5'i aktive eden MIP-1α'ya karşı hücrenin halen cevabı vardır (51).

Bazı kemokin reseptörler birden fazla kemokin ile bağlanabilir. Ancak CC reseptörleri sadece CC kemokinlerle, CXC reseptörleri de CXC kemokinlerle bağlanabilir (52).

Kemokin reseptörlerin uyarılmasında inozitoltrifosfat etkilidir. İnozitoltrifosfat hücre içi kalsiyum artışı ve protein kinaz C aktivasyonuna yol açarak hücrenin aktivasyonunu sağlar (53). Kemokin reseptör sinyali, ayrıca Ras ve Rho ailelerinin küçük guanozintrifosfat bağlayan proteinlerini de aktive eder (52). Kemokinler sinyal üretmeyen 2 tane moleküle de bağlanır. Bunlardan bir tanesi; eritrosit kemokin reseptörü olarak da adlandırılan DARC (*Duffy Antigen Receptor For Chemokin*)'dir (54). Bu reseptörün görevinin CC ve CXC kemokinleri dolaşımdan uzaklaştırmak olduğu düşünülmektedir (55). Diğerleri ise heparan sülfat proteoglikan grubudur (56). Heparan sülfat proteoglikanlar, ekstrasellüler matrikste ve endotelial hücre yüzeyinde kemokinleri tutar ve bölgesel bir yoğunluk farkı oluşturarak kemokin salımına yol açar (57).

Kemokin reseptörleri 2 önemli insan patojeni için (Plasmodium ve HIV) koreseptör taşıır. Plasmodium (Pl.) vivax eritrositler üzerindeki DARC kemokin reseptörüne, HIV ise lenfosit ve makrofajlardaki CXCR4 ve CCR5 kemokin reseptörlerine bağlanır. Bu reseptörler hücreye girişi kolaylaştırarak viral tropizmi belirler. gp 120 ve gp41 ile iki hücresele reseptör (CD4 molekülü ve kemokin reseptörü) etkileşime girer. HIV-1' in makrofaj tropik suşu (M-tropik suş) CCR5 kemokin ile T tropik suş ise; T hücrede bulunan CXCR4 reseptörüne ve az bir kısmı da CCR5' e bağlanır (55, 58-62).

Kemokin ailesi üyelerinden RANTES proteini, MIP-1 $\alpha$  ve MIP-1 $\beta$  CCR5 reseptörüyle etkileşime girerek HIV-1'in M ve T tropik suşlarının hücreye girişini engeller (63). CCR5 geninde 32 baz çift delesyonu için homozigot olan bireyler HIV-1 enfeksiyonuna dirençli olup, heterozigot olan bireylerde ise hastalık ilerleyici seyretmez ve fırsatçı enfeksiyonlara karşı koruyucudur. Ayrıca koreseptör olarak nadiren kullanılan CCR2'deki 64I varyant allele ve SDF-1 $\beta$  geninde mutasyona sahip olan bireylerde AIDS'in ilerlemesi gecikmiştir (64). CCR2 mutasyonu CCR5 promotor mutasyonu ile birlikte olabilir; bu durumda enfeksiyona karşı koruyucudur (55, 65-67).

HIV enfeksiyonunun tedavisinde kemokin ve kemokin reseptörleri yeni bir hedef gibi görünmektedir. CCR5'in tamamen blokajı ile HIV'in bireyde oluşturduğu zarar azaltılacak ve AIDS önlenecektir. Bu amaçla çeşitli moleküller geliştirilmiş, deneysel ve klinik alanda kullanıma girmiştir (67,68).

#### **1.1.8.1.2. Kemokin Reseptörlerdeki Polimorfizmlerin AIDS İle İlişkisi**

Cochi vd.'nin ilk kez 1995'te kemokin düzeylerinin HIV ile ilişkisini belirlemelerinin ardından diğer araştırmacılar da bu konuya yönelmişlerdir (63). Samson vd. 1996'da, HIV'in hücreye girişinde önemli rol oynayan bir kemokin reseptör olan CCR5'i klonladı (69). Berger ve ark, CXCR4'ün T hücre tropik veya sinsityum indükleyen (SI) virüslerin hücreye girişi için kofaktör olduğunu tespit etmiştir (70). Ancak, yüksek kemokin salgılayan bu erkeklerin hücreleri, primer (NSI) virüslerle enfekte edilemezken SI virüslerle enfekte edilebildi. Bu nedenle koruyucu mekanizmanın CXCR4'ten çok CCR5'e bağlı olabileceği görüşü ortaya çıktı (46).



### 1.1.8.1.2.1. CC kemokin Reseptör 5 (CCR5)

CCR5 geni, 3. kromozomda 3p21.3 bölgesinde çeşitli kemokin reseptörü kodlayan bir grup genin arasındadır (3p21-3p24). 352 amino asitlik diziye sahip olan bu genin moleküler kütlesi 40.600 daltondur (Şekil 1.6) (69,71).



**Şekil 1.5.** CCR5 geninin yapısı ve amino asit dizisinin organizasyonu

CC kemokin reseptör 5 geni, 1996 yılında klonlanmıştır ve *C-C Chemokine Receptor Type 5* (CCR5) olarak adlandırılmıştır. CCR5'in amino asit dizi analizinde; G-protein çiftli reseptör (GPCR) ailesine üye, yedi tane hidrofobik amino asit grubunun aralıklı yedi transmembran ( $\alpha$  sarmalına uygun) bir yapıda (yedi transmembran bölgesi reseptör ailesi üyesi), ekstraselüler amino ucu ve intraselüler karboksil ucuna sahip olduğu görülmüştür (69, 72-74).



- Merkezi sinir sistemindeki hücrelerde (nöronlarda, astrositlerde, dendritlerde, mikroglia),
- Epitelyumda,
- Endotelyumda,
- Vasküler düz kaslarda,
- Fibroblastlarda,
- Erken plasentadaki trofoblastik hücrelerde,
- Epidermal Langerhans hücrelerinde,
- Hematopoetik kök hücrelerde eksprese olmaktadır.

Ayrıca CCR5'in immün sistem elemanlarından T yardımcı hücrelerin aktivasyon mekanizması ile de ilişkili olduğu bilinmektedir (75-77).

HIV-1 enfeksiyonu sonrası immün sistemin çökmesi, hastalığın normal seyirinde 8-10 yıl alırken, bireyin immün sistemine bağlı olarak bazen 3-4 yıllık hızlı; bazen de 10-15 yıllık yavaş gelişim gösterir. Bu sürelerin kemokin reseptör varyantlarına göre farklılık gösterdiği epidemiyolojik çalışmalarla ispatlanmıştır. Dikkat çeken en önemli konu ise bazı bireylerin HIV'e karşı doğal olarak dirençli olmaları dolayısıyla AIDS'e yakalanmamalarıdır. Konakçının genotipinin de HIV enfeksiyonunda ve AIDS gelişiminde önemli bir faktör olduğu bilinmektedir (66,69,78,79).

#### **1.1.8.1.2.1.1. CCR5 Polimorfizmi**

Bazı bireylerin CCR5 geninde gözlenen polimorfizmler enfeksiyonun ve hastalığın seyrini belirler. Yapılan birçok çalışmada, CCR5 geninde tanımlanan farklı polimorfizmlerin HIV/AIDS ile ilişkisi belirlenmiştir (Çizelge 1.5.) (80-85).

**Çizelge 1.5.** CCR5 varyantlarının HIV/AIDS ile ilişkisi

<b>CCR5'de Tanımlanan Genetik Varyant</b>	<b>Bulunduğu Kromozom Bölgesi</b>	<b>HIV ve AIDS ile İlişkisi</b>
Δ32	3p21	HIV direnç /AIDS'i geciktirici
C20S	3p 21	Δ32 ile HIV'i engelleyici
A29S	3p 21	Tam olarak belli değil
R60S	3p 21	Tam olarak belli değil
C101X	3p 21	Δ32 ile HIV'i engelleyici
G106R	3p 21	HIV direnç /AIDS'i geciktirici
C178R	3p 21	HIV direnç /AIDS'i geciktirici
C269F	3p 21	HIV direnç /AIDS'i geciktirici
P1 (Promotor haplotip)	3p 21	AIDS'i hızlandırıcı
59029AA	3p 21	AIDS'i hızlandırıcı
HHC (Promotor haplogrup)	3p 21	AIDS'i hızlandırıcı (Japon popülasyonlarında)
HHE (Promotor haplogrup)	3p 21	AIDS'i hızlandırıcı (beyaz ırkta)

CCR5 geninde tanımlanmış polimorfizmlerden CCR5P1; promotor allelini içeren, regülatör bölge haplotipine sahiptir. CCR5P1 için homozigot olanların, diğer genotiplere sahip olanlara kıyasla AIDS'e daha hızlı progresyon gösterdiği tespit edilmiştir. 3,5 yıl içinde AIDS gelişen hastaların %10-17 kadarında CCR5P1 homozigositesi tespit edilmiştir. Genel popülasyonda bu sıklık %7-13 arasında bulunmuştur (86).

CCR5 geninde HIV'e direnç sağlama konusundaki en önemli polimorfizm 32 baz çiftlik bir kayıptan kaynaklanan  $\Delta 32$  delesyonudur. Araştırmacıların HIV ile infekte olduğu bilinen ancak herhangi bir hastalık belirtisi göstermeyen bireylerle yaptıkları çalışmalarda üç grup ortaya çıkmıştır:

1. HIV ile infekte olmuş yani vücutlarında anti-HIV antikorunu bulunan ve HIV enfeksiyonunun klinik belirtilerini gösteren (SP=*Seropositive*) kişiler,
2. İlişki sonrası HIV enfeksiyonunun gerçekleştiği ama AIDS'in geç gelişim gösterdiği kişiler,
3. HIV'li hastalar (SP) ile HIV'i bulaştıracak şekilde ilişkiye girmiş ama enfeksiyon belirtisi göstermeyen (*Exposed seronegative*; ESN) kişiler tespit edilmiştir. (49, 87-91)

Bu gruplar incelendiğinde araştırmacılar uzun süre hayatta kalan HIV enfeksiyonlu 3 kişiden, koreseptör CCR5 geninin baz dizilimini ortaya çıkartmışlardır (69,71). Araştırmacılar bu gen üzerindeki 32 baz çiftlik delesyonu kapsayan bölgenin PCR ile çok sayıda kopyasını elde etmişlerdir. Amplifiye olan gen bölgesini restriksiyon enzimi ile sindirime tabi tutmuşlardır. CCR5+ (yabanıl tip) allelinin meydana getirdiği fragmentler 332- ve 403- baz çifti uzunluğundadır. CCR5- $\Delta 32$  mutant allelinden oluşan fragmentler ise 332 ve 371 baz çifti uzunluğundadır (69).

Araştırmacılar bu sonuçlara göre, genin normal DNA'sından 32 baz çiftlik bir delesyon ile farklı olduğu saptamış ve bunu  $\Delta 32$  olarak adlandırmışlardır. İkinci eksternal ilmek kodlayan açık okuma çerçevesinde (ORF) meydana gelen bu eksilme, 185. amino asitte stop kodon ve 3. ekstra selüler bölgede bir çerçeve kaymasına neden olur. Bu durumda hücre zarında yer almayan tamamen işlevsiz bir protein kodlanır ve reseptörün ekspresyonu engellenmiş olur.  $\Delta 32$  delesyonu, HIV-1 enfeksiyonu için gerekli olan yardımcı reseptör aktivesinin kaybolmasına neden olur ve bu durumda HIV-1 enfeksiyonuna karşı bir direnç ortaya çıkar (69,71,92).

CCR5-Δ32 mutasyonunun homozigot görüldüğü bireylerde herhangi bir immünolojik ve biyolojik değişim, ya da klinik bir belirti görülmemiştir (93,94).

CCR5 geni HIV enfeksiyonu ve AIDS dışında çeşitli hastalık gruplarıyla ilişkilendirilmeye çalışılmıştır. Pek çok araştırmada vitiligoya, romatoid artrit, multipl sklerozis, iltihaplı bağırsak hastalıklarına, Alzheimer'da beyin lezyonlarındaki mikroglial hücrelere, astıma, HIV-1 ensefalitine, bakteriyal menenjitte, sedef hastalığına, damar tıkanıklığına, metastatik melanomaya, renal transplantasyon reddine, parkinsona, göğüs kanserine, hipertansiyona, brusellaya, orak hücre hastalığına ve Chagas hastalığına karşı direnç oluşturup oluşturmadığı incelenmiştir (66, 95-105). Bununla beraber CCR5-Δ32 genotipindeki bireylerin, AIDS ile ilişkili lenfoma ve non-Hodgkin's B hücre habis tümörlerine, HIV-1 ve HIV-2 enfeksiyonuna, Hepatit C, yetişkin sitomegalovirüs (CMV), HIV-1 hastalık gelişimi, koroner arter hastalıkları, pediatrik astım, Crohn's hastalıklarına karşı dirençli oldukları yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (104-107).

CCR5-Δ32 allelinin frekansı çeşitli popülasyonlarda farklılık göstermektedir (108). Bu allel beyaz ırka mensup popülasyonlarda, en çok da Avrupa popülasyonlarında görülmektedir (89). Allel frekansı en yüksek oranda Kuzey Rusya, Finlandiya, İsveç; en düşük ise Portekiz ve Yunanistan'da tespit edilmiştir. Kuzey Afrika, Orta Doğu, Hindistan'da çok az miktarda bulunduğu, Orta, Batı ve Güney Afrika, Çin, Japonya ve Güney Asya popülasyonlarında ise bulunmadığı belirlenmiştir (49,89,102, 109-111).

CCR5-Δ32 geninin popülasyonlardaki çeşitli dağılımı, genin orijininin belirlenmesi açısından çeşitli görüşlerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. CCR5-Δ32 allelinin en yüksek frekansla Kuzey Avrupa'da gözlenmesi delesyonun Kuzey Avrupa'dan köken aldığı fikrini akıllara getirmektedir. 8-10 yy'lar arasında Kuzey Avrupa'da yaşayan vikingler buradan dünya üzerine yayılmışlardır. Ancak bu görüş delesyonun neden ortaya çıktığını ve orijin yerinde neden bu kadar yüksek seviyede olduğunu açıklamada yeterli değildir (78,112,113).

Avrupalı beyaz popülasyonlarda 3. Kromozom üzerindeki CCR5 lokusu yönelik popülasyon genetiği değerlendirmeleri esas alınarak, CCR5-Δ32 mutasyonunun, spesifik bitişik polimorfik kısa tandem tekrarlı (*Specific Conjugated Tandems Repeats-STRs*) lokus alleleri tarafından kuşatılan temel bir haplotiple yaklaşık 4000-6000 yıl kadar önce bir defada olduğu ileri sürülmektedir (66). Yapılan modellemeler sonucunda bu allelin yaklaşık 700 yıl önce artış gösterdiği bulunmuştur (66,111,114) .

CCR5-Δ32 allelinin sınırlı coğrafi dağılımına bakıldığında bu allelin tek bir yerden orijinlendiği kesin gibidir. Bu allelin yaklaşık son 1000 yıldır Avrupa'da ve Kuzey Avrupa'da yüksek frekansta olması daha önce doğal bir seçilime uğramış olabileceğini düşündürmektedir (66). Allelin Kuzey Avrupa'da; kuzeyden güneye azalarak devam etmesinden dolayı ileri sürülen başka görüşler de vardır. Eğer allel kuzeyden orijinlendiyse frekans genetik sürüklenme ile artmış, güneye de göç ile yayılmıştır (78). CCR5-Δ32 kökeni ile yapılan tahminler Avrupa tarihinde "Kara Ölüm" diye adlandırılan periyotla örtüşmektedir. Bu dönemde Hıyarcıklı Veba (Bubonic Plague) salgını bütün Avrupa'yı kaplamış ve sadece altı senede Avrupa popülasyonunun %30'unu öldürmüştür. Hıyarcıklı veba etkeni olan bakteri *Yersinia pestis*'in CCR5-Δ32 allelinin frekansını arttıracak yönde etki yaptığı düşünülmektedir (66,111,114).

Yapılan bir başka araştırmada ise Avrupa'daki Çiçek hastalığı ve veba salgınlarında ölüm yaşı ve profili gibi bilinen veriler incelenmiştir. Bunun sonucunda çiçek hastalığının CCR5-Δ32 üzerinde daha fazla seçim baskısı oluşturmuş olduğu ileri sürülmüştür. Çünkü veba salgınına göre çiçek hastalığı en az M.S. 200 yılından bu yana endemiktir. Buna ilave olarak çiçek hastalığı, vebaya göre yaş olarak daha küçük bireylere bulaşır. Böylece seçimde daha güçlü etkisi vardır. Hıyarcıklı veba, 1346-1352 yılları arasında 23 milyon kişinin ölümüne sebep olmuşken çiçek hastalığı yok edildiği 1979 yılına kadar 300 milyondan fazla insanın ölümüne neden olmuştur (14,78,112,113).

HIV etiyojisine bakıldığında; HIV'in *Yersinia pestis*'ten daha çok çiçek hastalığı etkeni olan Poxvirüs'e benzediği görülmektedir. Yapılan bir araştırmada normal ve CCR5-Δ32 alleli taşıyan fareler *Yersinia pestis* ile infekte edilmiş ve fareler ölene kadar herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Fare ve insanın infeksiyon mekanizması çok büyük farklılık göstermediği için bu deney sonucu, çiçek hastalığı modelini desteklemektedir (78,114).

#### **1.1.8.1.2.2. CC kemokin Reseptör 2 (CCR2)**

CCR2 geni 3. kromozomun p21-p24 bölgesinde CCR1, CCR3, CCR4 ve CCR5 genlerinin yakınında bulunan CC kemokin reseptör kümelerindeki yerleşmiş bir gendir. CCR2 geni, 6.7 kb uzunluğundadır ve 3 ekzona sahiptir (115).

CCR2 başlıca hafıza T lenfositleri, monositler, dendritik hücreler, B hücreleri ve bazofiller tarafından eksprese edilir. Ayrıca nötrofiller de spesifik koşullar altında CCR2 eksprese eder (115).

#### **1.1.8.2.2.2.1. CCR2 Polimorfizmi**

CCR2'nin değişik polimorfik bölgeleri tanımlanmıştır. En kapsamlı çalışılan polimorfizm ekzon 2'de CCR2 proteinini kodlayan genin 190. pozisyonundaki G'nin A'ya dönüşümüne neden olanıdır. Bu nükleotid değişimi proteinin transmembran bölgesinde 64. pozisyonundaki valinin (V), izolösine (I) değişimiyle (V64I) sonuçlanır (116).

HIV-1 infeksiyonlarında hastalığın seyri üzerinde etkili olan bu alleli taşıyanlarda AIDS'e progresyon 2-3 yıl kadar gecikmektedir. Bu yavaşlatmanın mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber 3 muhtemel mekanizma üzerinde durulmaktadır:



- 1- CCR2-64I taşıyan bireylerde HIV infeksiyonunun kinetiği değişerek viral yayılım ve patogeneze yavaşlamaktadır.
- 2- CCR2 konsantrasyon ve fizyolojik varyasyonu, indirekt olarak HIV-1'in hedef hücrelerinde CCR5 teminini etkileyebilir.
- 3- Bu mutasyon, bir başka mutasyon ile bağlantı dengesizliği içerisinde olabilir. Bu allelin sıklığı Kafkas ırkında %9.8, Afrikalı Amerikalılarda %15, Asyalılarda %25 olarak bulunmuştur (117). Bu mutasyon, CCR5 promotordaki polimorfizmlerle bağlantı dengesizliği içerisinde olabilir. Hem CCR2-64I, hem de CCR5-Δ32 polimorfizmini taşıyan hastalarda yapılan çalışmalar, bu iki genin HIV progresyonu üzerine olan etkilerinin aditif olduğunu ortaya koymuştur (118).

CCR2-64I taşıyan kromozomlar her zaman CCR5+ allelleri taşıırken, CCR5-Δ32 taşıyan kromozomlar her zaman CCR2+ bulunmuştur. Bu yüzden, CCR5-Δ32 ve CCR2-64I AIDS'i geciktirmede bağımsız ve güçlü fazladan etkilere sahiptir. Farklı etnik gruplar arasında CCR2-64I'nin dağılımı CCR5'ten farklıdır. Nairobi'deki Afrikalı yerli bir grup arasında, CCR2-64I allelinin sıklığı (0.23), Amerikalı beyazlardakinin (0.10) iki katı kadar yüksektir ve AIDS oluşumundaki gecikme, beyaz ırka göre 2 kat fazladır. Yerli Afrikalılarda, yapılan bu araştırmada CCR2-64I'nin AIDS üzerindeki etkisinde gözlenen artışın, popülasyonda CCR5-Δ32'nin yokluğuyla kısmen ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (66).

Değişik etnik gruplardaki 64I allel varyantı sıklığı %10 ile %30 arasında değişen bir çeşitlilik gösterir. Ayrıca genotipdeki bu allelin varlığının AIDS başlamasını geciktirici etkisinin yanısıra, diyabetes mellitusla ve bronşiyal astımla bağıntılı riskleri arttırdığı gösterilmiştir (119).

HIV reseptörlerine bağlanan SDF-1 ve RANTES gibi kemokin reseptör ligandlarını kodlayan genlerdeki polimorfizmler de HIV progresyonu üzerine etkilidir. SDF-3'A gibi CXCR4 kemokin reseptörü için ligand olan diğer faktörler, uzun dönem progresyon göstermeyenlerde koruyucu etkiden sorumlu tutulmaktadır (41). Ancak, CCR5-Δ32 ve CCR2-64I

polimorfizmlerinin koruyucu etkisi dominant iken, SDF3'A'nın etkisi resesiftir. T hücre tropik suşların kullandığı CXCR4'ün bilinen tek ligandı olan SDF-1 ekspresyonunun bu virüslerin bulaşımı üzerine etkili olabileceği düşünülmektedir. SDF-3'A, SDF-1'de korunmuş dizilerin olduğu bölgede nokta mutasyonlar taşımaktadır. Bu mutasyonun moleküler mekanizması da henüz açıklanamamıştır (118).

CCR5'in ligandı olan RANTES de HIV-CCR5 ilişkilerini bloke edebilmektedir. RANTES geni promotor bölgesinde iki adet tek nükleotid polimorfizmi tanımlanmıştır. -403G/A ve -28 C/G polimorfizmlerinin ikisi de in-vitro olarak promotor aktivitesini etkileyebilmektedir. RANTES -403A, -28G haplotipine sahip olanlar, Japonya'da yapılan bir çalışmada, CD4+ hücre sayısında daha yavaş bir azalma göstermişlerdir. -403A alleli, HIV bulaşı açısından bir risk faktörü iken, progresyon açısından koruyucu bir özellik sergilemektedir Amerika'da yapılan çok merkezli bir çalışmada ise, RANTES promotor genotiplerinden G1 (-403G/G, -28 C/C), Kafkas ırkından olanların %67'sinde; G4 (-403 G/A, -28C/C) ise %23'ünde tespit edilmiş ve bu haplotipler özellikle CCR5-Δ32 mutasyonunu taşımayan bireylerde HIV bulaş riski ve progresyonu üzerine etkili bulunmuştur. G4 bireyler, G1'e oranla daha fazla bulaş riskine sahiptir, CCR5-Δ32 taşıyanlar hariç tutulduğunda bu risk daha da belirginleşmektedir (120).

MHC gen bölgesinin her lokusunda her biri farklı insan lökosit antijenlerinden (*Human leukocyte antigen*; HLA) sorumlu allel genler bulunur. HLA genotipi, hastaların non-progresör (AIDS gelişme süresi 7-10 yıl) veya hızlı progresör (AIDS gelişme süresi 2-3 yıl) olarak sınıflandırılmalarını sağlar (41). Belirli HLA genotiplerinin, HIV enfeksiyonu ile ilişkisi araştırılmıştır. HLA-Class I allelleri (HLA-I, -B, -C, -E, -F, -G) için homozigot bireylerde erken viral yük döneminde sitotoksik T hücre cevaplarının etkinliğinin azaldığı, AIDS progresyonunun hızlandığı belirlenmiştir. HLA A1-B8-DR3 haplotipi, HLA-B35, Cw4, DR11 hızlı progresyona neden olmaktadır (121). Çeşitli HLA allelleri beyaz ırk üzerinde enfeksiyondan koruyucu etkiye sahiptir HLA-Cw4,

DRw6, Afrikalı Amerikalılarda, HLA-B14, C14, C8 beyaz ırkta infeksiyondan korunma ile ilişkili bulunmuştur (121,122).

Pek çok çalışmada MannoZ Bağlayıcı Lektin (MBL) düzeylerinin HIV infeksiyonu ile ilişkisi araştırılmıştır. MBL kodonlarındaki polimorfizmlerin homozigositesi, serumdaki MBL düzeyinin normalden 5-10 kat daha düşük düzeyde olmasına neden olur ve HIV infeksiyonuna duyarlılığı artırır. HIV glikoproteini olan gp120 üzerinde yer alan yüksek mannoz içerikli oligosakkaritler, MBL'nin ligandlarıdır. MBL varyantları için hem homozigot, hem de heterozigot olan bireylerde AIDS tanısı konduktan sonraki sağ kalım süresinin kısaldığı tespit edilmiştir (123). Yapılan pek çok çalışmada HIV pozitif olan bireylerde AIDS bulaşı üzerine MBL varyantlarına ait bir etki tespit edilmemekle beraber, bu kişilerde AIDS progresyonunun hızlandığını bildiren yayınlar mevcuttur (124).

TNF promotör allelleri ile ilgili çalışmalarda ise, HIV bulaşı veya hastalık seyri arasında ki ilişkiye dair sonuçlar birbirleri ile zıt olup, kesin bir hüküm verilememiştir. Bir çalışmada TNF-c mikrosatellit allelleri, AIDS progresyonu üzerine etkili bulunmuş, ancak daha sonra yapılan çalışmalar bu sonucu desteklememiştir (121).

## **1.2. Kaynak Özeti**

HIV'e direnç ile ilgili CC kemokin reseptör 5 ile yapılan çalışmalardan bazıları şunlardır:

Martinson ve vd. 1997 yılında; CCR5-Δ32 allelinin Kuzey Avrupa kökenli popülasyonlarda CCR5-Δ32 allel sıklığını araştırmışlardır. Kuzey Avrupa kökenli Ashkenazi yerel topluluğunun şimdiye kadar rapor edilmiş en yüksek CCR5-Δ32 allel frekansına (%20.93) sahip oldukları bildirilmiştir. Kuzey Avrupa'dan doğuya ve güneye gidildikçe, Δ32 allelinin frekansının azaldığını

belirlemişlerdir. Afrika, Okyanusya ve Ortadoğu ile Batı Asya'da ise  $\Delta 32$  allelin bulunmadığını ileri sürmüşlerdir (125).

Samson vd. 1996 yılında yaptıkları bir çalışmada Kuzey Avrupalı, Japon ve Afrikalı bireylerde CCR5 genini araştırdılar.  $\Delta 32$  alleli %9 gibi yüksek bir frekansla Kafkasyalılarda bulunduğunu, Afrika ve Asya kökenli kişilerde ise bu allelinin bulunmadığını bildirmişlerdir (69).

Libert vd. 1997 yılında Türkiye'nin de içinde yer aldığı 18 Avrupa ülkesini kapsayan beyaz ırk popülasyonuna yönelik çalışmalarında,  $\Delta 32$  allelinin en yüksek frekansının %16 ile Finlandiya, en düşük frekansının ise % 4 ile İtalyan Sardinya popülasyonuna ait olduğunu belirlemiştir. Türkiye için Ankara'dan alınan örnekleme bu allel frekansı %6.3 olarak bulunmuştur (89).

Lucotte 1997 yılında yapmış olduğu araştırmada; Kuzey Fransa'da  $\Delta 32$  allel sıklığı %12.9, Güney Fransa'da %9.8, Kuzey Afrika'da %6.3, Sahra-altı Afrika'da %0.16 olarak tespit etmiştir. Vietnam'da ise bu allel saptanmamıştır (126).

Passos ve Picanço tarafından 1998 yılında yapılan bir çalışmada, Brezilya'nın kentsel bölgelerinde yaşayan bireylerden oluşan bir örneklem grubunda  $\Delta 32$  allel sıklığı %3.5 olarak bulunmuştur (127).

Szalai vd. 1998 yılında Macaristan halkı ve Macar Çingencileri'nde CCR5- $\Delta 32$  allel sıklığını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda sırasıyla %11.3 ve %10.1'lik birbirinden farklı olmayan CCR5- $\Delta 32$  frekansı elde edilmiştir (128).

O'Brien vd. 2000 yılında yaptıkları çalışmada, Avrupalı beyazlar arasında CCR5- $\Delta 32$  allel frekansını %5-15 olarak tespit etmiştir (66).

Papa vd. tarafından 2000 yılında yapılan bir çalışmada Kuzey Yunanistan'daki CCR5- $\Delta 32$  allel frekansı %5.2 olarak bulunmuştur (129).

Jagodzinski vd.'nin 2000 yılında Polonya popülasyonu ile yaptıkları araştırmada, CCR5-Δ32 allel frekansı %10.9 olarak bulunmuştur. Bu değer Kuzey Avrupa ülkeleri için kaydedilen oranla eşdeğer olduğu belirlenmiştir (130).

Lucotte 2001 yılında yaptığı araştırmada, Δ32 allelinin Kuzey Avrupa'dan-Kuzey Afrika'ya belirgin bir biçimde azalış gösterdiğini ortaya koymuştur. İsveç, Norveç, Danimarka, Finlandiya ve İzlanda gibi kuzey halkları arasında Δ32 alleli %13.4 olarak bulunmuş, en düşük değerleri ise Fas, Tunus (Kuzey Afrika), Suriye ve İran gibi daha güney ülkelerinde saptamışlardır (131).

Türkiye'de Güneş vd.'nin 2007 yılında yaptıkları çalışmada, Orta Karadeniz kıyı bölgesinde yaşayan, HIV infeksiyonu öyküsü olmayan sağlıklı birey incelenmiş ve mutant Δ32 allelinin frekansı %5.2 olarak bulunmuştur (132).

Yiğit vd. tarafından 2007 yılında yapılan bir çalışmada, Türkiye'de yapılan bir çalışmada böbrek nakli yapılan hastalarda CCR5-Δ32 polimorfizmi ile renal transplantasyondaki başarı arasındaki ilişki araştırılmıştır (103).

Shahbazi vd. 2009 yılında İranlı bireylerde MS (multipl skleroz) hastalığı ile CCR5-Δ32 allel frekansı arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucuna göre, homozigot Δ32 delesyonuna (Δ32/Δ32) MS hastalarında (37kişide,%15), sağlıklı bireylere (8 kişide, %2) göre daha sık rastlanmıştır. Araştırmacılar Δ32 delesyonunun MS için risk oluşturduğunu düşünmektedir. Buna ek olarak Δ32 delesyonu ile MS hastalığının seyri arasında bir ilişki bulunamamıştır (133).

Desgranges vd.'nin 2001 yılında, Güney Amerika Şili popülasyonunda yaptıkları araştırma sonucunda CCR5-Δ32 allel sıklığını %2.4 olarak belirlemişlerdir. Kuzey Amerika kıtasının CCR5-Δ32 allel sıklığı %11-11.63 olarak bulunmuştur ve değerler Kuzey Avrupa için bulunan değerler ile eşittir (134-137).

Hummel vd. 2007 yılında yaptıkları çalışmada kalp nakli ile CCR5-Δ32 alleli arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Alman popülasyonunda CCR5/CCR5-Δ32 frekansını %19.1 ve CCR5-Δ32/ CCR5-Δ32 frekansını %1.3 olarak bulunmuştur. CCR5-Δ32 alleli ile kalp nakli arasındaki ilişki açısından istatistiksel olarak anlamlı bir parametre elde edilememiştir (138).

Pehlivan vd. 2009 yılında vitiligo hastalığı ile CCR5-Δ32'in de içinde yer aldığı bazı genler arasında ilişki kurmak amacıyla yaptıkları çalışmada CCR5-Δ32 allel frekansını hasta bireylerde %6.2 olarak saptamışlardır (96).

CCR5-Δ32 allel sıklığını belirleme amacıyla veya bu allelin çeşitli hastalık gruplarıyla olan ilişkisini araştırmaya yönelik yapılan çalışmalarda Türkiye'nin de içinde yer aldığı popülasyonlar incelenmiştir. Ancak bu araştırmalarda mutant CCR5-Δ32 alleli için Türkiye'nin coğrafik bölgeleri dikkate alan bir dağılım söz konusu değildir. Sunulan bu çalışmada ise Türkiye'nin 7 coğrafik bölgesi için CCR5-Δ32 allel frekansı araştırıldı.

### **1.3. Çalışmanın Amaçları**

Bu çalışmanın amaçları şu şekilde sıralanmıştır:

1. Türkiye'nin bütün coğrafik bölgelerinden rastgele seçilmiş toplam 400 bireye ait kan örneklerini, HIV'e direnç ile ilgili mutant CCR5-Δ32 allel sıklığı açısından, PCR tekniği kullanılarak değerlendirmek,
2. Türkiye için bu konuda eksik olan bilgi birikimine katkıda bulunmak ve elde edilen veriler ile diğer ülkelerin elde ettiği sonuçları karşılaştırarak bu mutant allelin coğrafik dağılımı hakkında fikir edinmek.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmada kullanılan kan örneklerinin temini, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokal Etik Kurulu'ndan ve Sağlık Bakanlığı Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü'nden alınan yasal izin doğrultusunda Kırıkkale Üniversitesi Rektörlüğü ile Ankara Gazi Mustafa Kemal Devlet Hastanesi Başhekimliği arasında düzenlenen protokole bağlı kalınarak gerçekleştirilmiştir.

Alınan bu yasal izinler doğrultusunda, Ankara Gazi Mustafa Kemal Devlet Hastanesi Kan Alma Ünitesi'ne gelen sağlıklı 259'u kadın, 141'i erkek, olmak üzere, yaşları 18-65 arasında değişen toplam 400 gönüllü birey bu çalışmada yer aldı. DNA izolasyonu alınan venöz kandan Qiagen DNA izolasyon kiti kullanılarak gerçekleştirildi.

Türkiye'nin çeşitli coğrafik bölgelerinden eğitim, sağlık, iş gibi nedenlerle Ankara'ya gelmiş olan ve kendisi ile ebeveyninin memleketi aynı il olan bireyler bu çalışmaya gönüllü olarak, katılımları için davet edildi. Bu araştırma için kan vermeyi kabul eden bireylere çalışmanın konusu hakkında bilgi verildi ve bilgilendirilmiş gönüllü olur formu imzalatıldı.

Sağlık biriminde yetkili kişi tarafından gönüllü bireylerden alınan 2cc'lik kan örnekleri EDTA (Etilen Daimin Tetra Asetat) içerikli tüplere konuldu ve deneysel analizlerin yapılması için Kırıkkale Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarına soğuk zincir kullanılarak ulaştırıldı.

## 2.2. Kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen) protokolüne bağlı kalınarak gerçekleştirildi. İzole edilen DNA numunelerini kalite açısından (izolasyon sırasında hasar görüp görmediği) değerlendirmek amacıyla, DNA örneklerinden 3 mikrolitre alınarak, %1' lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutuldu. Agaroz jel ortamında net görüntü veren örneklerde yeterli DNA'nın var olduğu kabul edildi.

## 2.3. Primerlerin Seçimi

Bu mutant allelin popülasyonlardaki sıklığının tespitinde önceden kullanılmış primerlerden en net bant gözlenen ikisi seçildi (132, 139).

**Çizelge 2.1.** Çalışmada kullanılan primerler

	<b>Primer Dizileri</b>
<b>1.</b>	5'-TCAAAAAGAAGGTCTTCATTACACC-3' <i>forward</i> 5'-AGCCCAGAAGAGAAAATAACAATC-3' <i>reverse</i> (132)
<b>2.</b>	5'-ACCAGATCTCAAAAAGAAGGTCT-3' <i>forward</i> 5'-CATGATGGTGAAGATAAGCCTCACA-3' <i>reverse</i> (139)



## 2.4. PCR Koşulları

PCR yapay oligonükleotitler kullanılarak in vitro ortamda hedef bölgenin çoğaltılmasıdır. Diğer bir ifade ile DNA replikasyonunun in vitro ortamda gerçekleşmesidir (140).

Bir PCR için aşağıdaki bileşenlere ihtiyaç vardır:

**Kalıp DNA:** Genomik, plazmid, faj DNA'sı ya da herhangi bir DNA parçası kullanılabilir.

**Polimerazlar:** dNTP kullanarak çalışılan hedef dizinin sentezini katalizlerler. Çeşitli türleri olsa da sıklıkla *Thermus aquaticus*'tan elde edilen taq polimerazlar kullanılır.

**Primerler:** Kalıp DNA'nın sentezi için başlangıç noktasını oluşturan genellikle 18-25 nükleotit uzunluğundaki yapay oligonükleotitlerdir.

**dNTP:** Deoksiribonükleozid trifosfat olarak isimlendirilen dNTP'ler (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) primerden sonra zincirin uzaması için gereklidir.

**Tamponlar ve MgCl<sub>2</sub>:** Reaksiyon sırasında enzimin aktivitesini arttırmak için kullanılır (141,142).

Bir PCR reaksiyonu bu bileşenlerin eşliğinde üç basamakta gerçekleşir:

1. Kalıp DNA yüksek sıcaklıkta denatüre olarak zincirler birbirinden ayrılır (ayrılma=denatürasyon).
2. Primerler denatüre olmuş zincirlere bağlanır (bağlanma=*annealing*).
3. Primerlerin bağlanmasından itibaren polimeraz enziminin de aktivesi ile DNA sentezi gerçekleşir (uzama=*extention*).

PCR koşullarının optimizasyonu için önceden PCR yöntemi ile yapılan çalışmalar incelendi ve en iyi sonuçların alınmış olduğu çalışmalardan yararlanılarak optimizasyon gerçekleştirildi.

**Çizelge 2.2.** Çalışmada kullanılan reaktiflerin miktarları

Kullanılan Reaktifler	Miktarları	
	1. Primer	2. Primer
10X Tag buffer ((NH <sub>4</sub> )SO <sub>4</sub> Fermentas®):	1.5 µL	1.5 µL
MgCl <sub>2</sub> Çözeltisi (Fermentas®): 25 mM	1 µL	0.9 µL
dNTP 10 mM çözeltisi	0.6 µL	0.6 µL
Primerler <i>reverse+forward</i>	0.4 µL+0.4 µL	0.6 µL+0.6 µL
Tag Polimeraz Enzimi (Fermentas®):	0.08 µL	0.08 µL
DNA	3 µL	2.7
dH <sub>2</sub> O	8.02 µL	8.02 µL
TOPLAM	15 µL	15 µL

PCR için DNA dışındaki tüm bileşenler 0,5 mL'lik ependorf tüplere hazırlandı ve önceden DNA'ları konmuş olan 0,2 mL'lik ependorf tüplere toplam hacim 15 µL olacak şekilde dağıtıldı. Sonra vurularak karıştırılan tüpler içinde hava kabarcığı kalmamasına özen gösterildi ve PCR cihazına yerleştirildi. PCR cihazına yerleştirilen DNA ipliklerinin birbirinden ayrılması (denatürasyon) için 94 °C, primerlerin DNA zincirinde uygun bölgelere bağlanması (*annealing*) için 58 °C, zincirin uzaması (*extention*) için 72 °C sıcaklık uygulanmaktadır. Bu üç aşama bir döngü adını almaktadır. Çalışmamızda 35 döngü uygulandı ve sentez işleminin tamamlanılabilmesi için 72 °C'de 10 dakika bekletildi.

Çalışmada kullanılan 1.primere için en uygun olan PCR koşulları şu şekilde belirlenmiştir:

Başlangıç Denatürasyonu → 94 °C'de 4 dk

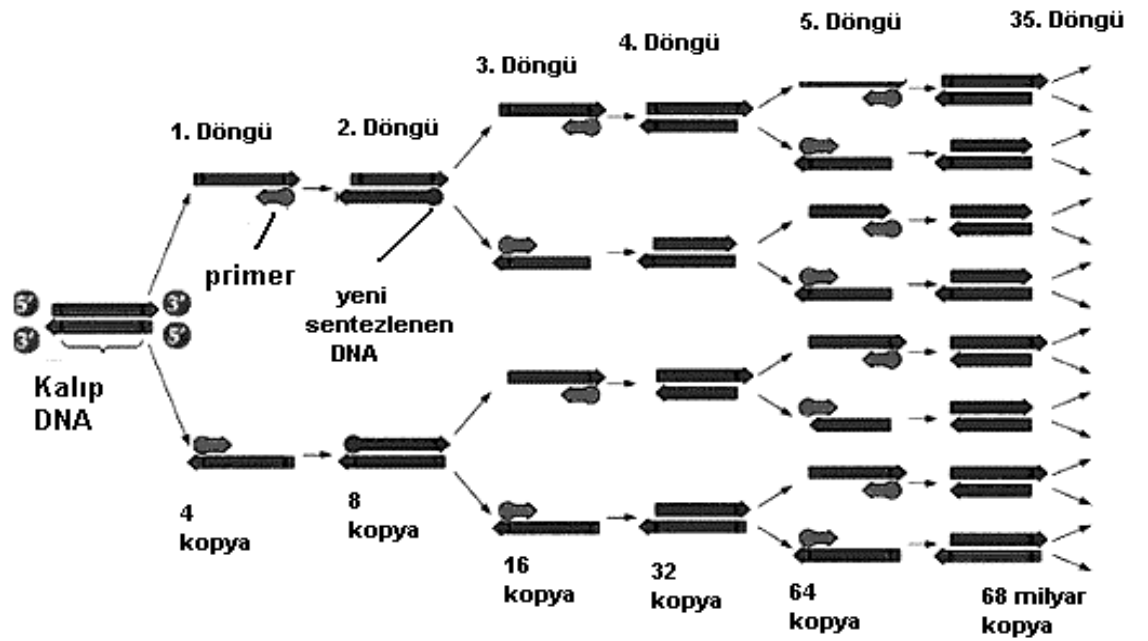
Ayrılma (Denatürasyon) → 94 °C'de 40 sn

Primer bağlanması (*Annealing*) → 58 °C'de 45 sn

Uzama (*Extention*) → 72 °C'de 1 dk

35 döngü

Son uzama (*Final Extention*) → 72 °C'de 10 dk



Şekil 2.1: PCR döngüsü

Çalışmada kullanılan 2.primere için en uygun olan PCR koşulları şu şekilde belirlenmiştir:

Başlangıç Denatürasyonu → 94 °C'de 4 dk

Ayrılma (Denatürasyon) → 94 °C'de 30 sn

Primer bağlanması (*Annealing*) → 58 °C'de 40 sn

Uzama (*Extention*) → 72 °C'de 40 sn

} 35 döngü

Son uzama (*Final Extention*) → 72 °C'de 10 dk

## 2.5. Elektroforez Tekniği

Çalışmada jel yoğunluğu, elektrik akımı ve jelde yürütme süresi için en uygun değerler deneme-yanılma yöntemi ile belirlendi. Elektrolit çözeltisi olarak TBE (Tris-Borat-EDTA) kullanıldı. Çözelti 10 misli konsantrasyon olarak hazırlandı (54 g Tris, 27.5 g Borik asit, 20 ml 0.5 M EDTA). Bu stok çözelti 10 misli distile su ile sulandırılarak elektrolit çözeltisi olarak kullanıldı.

### 2.5.1. Agaroz Jelin Hazırlanması

Çalışmamızda %1.7'lik agaroz jel kullanıldı. Agaroz jel hazırlanırken 1X TBE tamponundan 180 mL alındı ve içerisine 3.060 gr agaroz eklenerek karışım berraklaşana kadar kaynatıldı. Karışım 50-60 dereceye kadar soğuduğunda içerisine 0,5 µg/mL etidyum bromür eklenip karıştırıldı. DNA molekülünü boyamak için kullanılan etidyum bromür mutajenik bir etkiye sahiptir. Bu yüzden çalışmada kullanılan jeller ve etidyum ile kirlenen diğer katı maddeler tıbbi atık olarak saklandı.

### **2.5.2. AgaroZ Jelin Dökülmesi ve Örneklerin Yüklenmesi**

50-60 °C sıcaklıktaki jel, tarakları takılmış olan jel tepsisine döküldü ve içerisinde hava kabarcığı kalmamasına özen gösterildi. Taraklar yerleştirildi ve kuyucukların oluşması sağlandı. Jel donduktan sonra taraklar çıkarıldı ve jel içerisinde 1X TBE yürütme tamponu bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. Soğuyarak katılaşmış olan jel üzerine üst kısmını tamamen örtecek kadar 1X TBE döküldü. PCR ürününden yaklaşık 10µL alınarak, 6X yükleme boyası (fermantase) ile karıştırıldı ve jel üzerinde oluşan kuyucuklara yüklendi. Çıplak gözle görülebilen bromofenol mavisi, elektroforez sırasında DNA bantlarının yaklaşık konumunu göstermektedir (143). Ürünleri kontrol etmek için 100 bç'lik, 5 µL marker yüklendi.

### **2.5.3. Örneklerin Yürütülmesi**

Örnekler en iyi sonucun alındığı 110 voltta 1saat 45 dk yürütüldü.

### **2.6. Verilerin gözlemlenmesi ve kaydedilmesi**

Yürütülen örnekler U.V. sehпасına alınarak gözlemlendi. Jel görüntüleme sistemi ile elde edilen bant görüntüleri bilgisayara aktarılarak yorumlandı ve siyah beyaz fotoğraflandı.

### **2.7. Verilerin İstatistiksel Analizi**

POPGENE istatistiksel paket programı ile kodominant veya dominant kalıtım gösteren genler açısından analizler yapılabilmektedir. Tek bir populasyon, çoklu populasyonlar veya gruplar bu analiz programı ile tek bir lokus açısından ya da birçok lokus açısından değerlendirilebilir. POPGENE 1.31 istatistiksel paket programı ile genotipik sıklık, polimorfik lokus, shannon

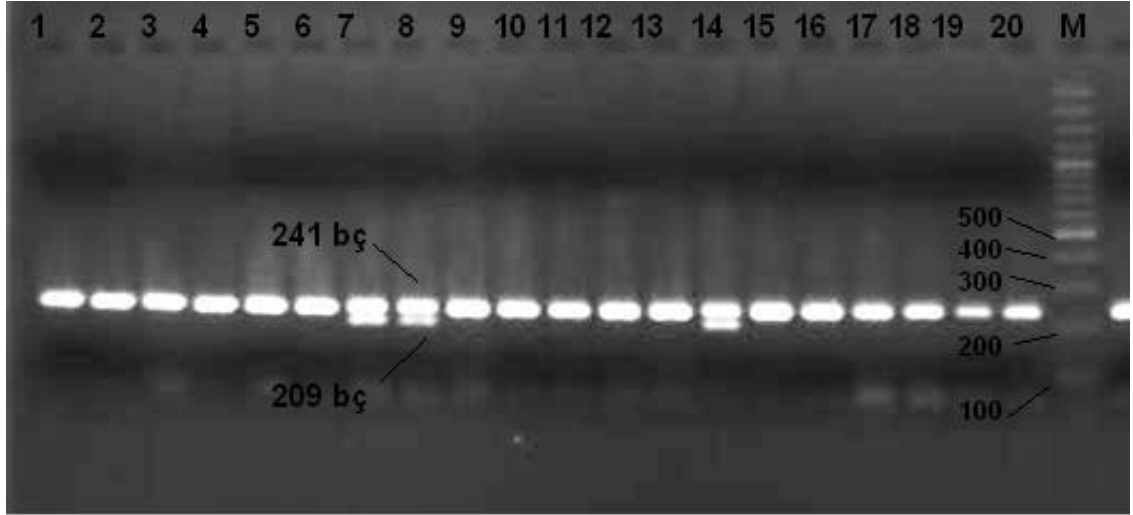
indeksi, homojenite analizi, genetik uzaklık, fiksasyon indeksi, dendogram, F-istatistik, Hardy Weinberg Analizi, beklenen ve gözlenen homozigot değeri, beklenen ve gözlenen heterozigot değeri, allel frekansı hesaplamaları yapılabilir. Çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, POPGENE 1.31 istatistik paket programı kullanıldı (144).

### 3. BULGULAR

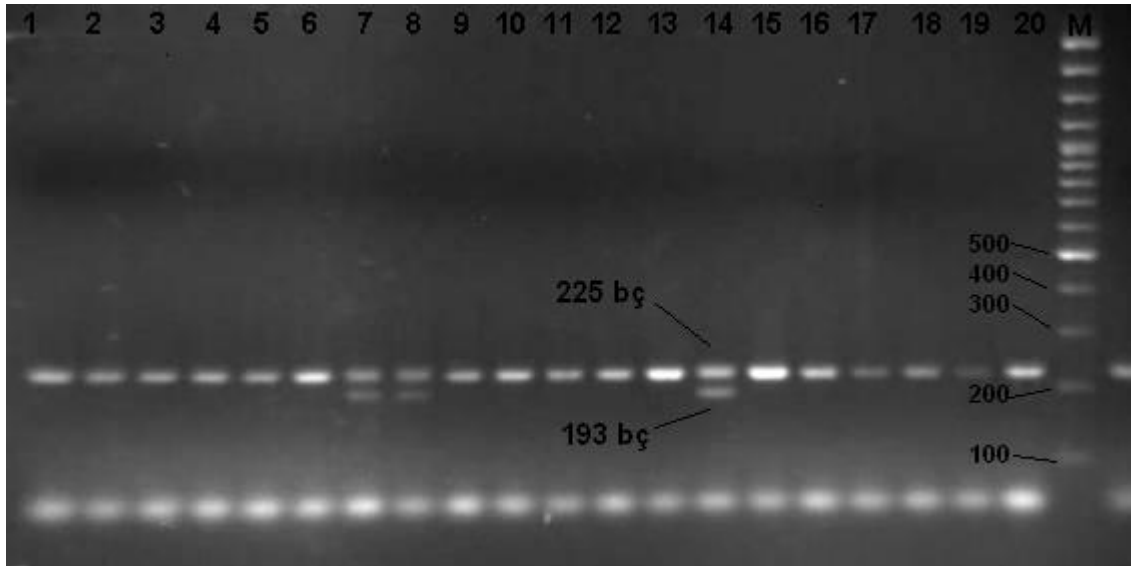
Türkiye’de HIV’e direnç ile ilgili CCR5-Δ32 allel sıklığı; 7 coğrafik bölgeyi temsil eden toplam 400 bireyden alınan kan örneklerinin analizi ile belirlendi. Kan örnekleri coğrafik bölgeler içindeki tüm illeri de temsil edecek şekilde toplandı. Bu allelin Türkiye’nin coğrafik bölgelerine göre dağılımını belirlemek amacıyla gönüllü katılımcılardan; yaş, cinsiyet, ebevyneri ile kendisinin memleketi ve sonucun bildirilmesi için gerekli olan kişisel bilgiler alındı.

Türk popülasyonunu temsil eden bu 400 birey içerisinde CCR5-Δ32 alleli açısından 21 birey heterozigot (CCR5/CCR5-Δ32) olarak bulundu. Birinci primer ile tarama sonucunda CCR5/CCR5 genotipindeki bireylerde 241 bp uzunluğunda tek bant, CCR5/CCR5-Δ32 genotipindeki bireylerde ise 209 bp ve 241 bp uzunluğunda iki bant gözlemlendi (Şekil 3.1.). İkinci primer ile tarama sonucunda CCR5/CCR5 genotipindeki bireylerde 225 bp uzunluğunda tek bant, CCR5/CCR5-Δ32 genotipindeki bireylerde ise 225 bp ve 193 bp uzunluğunda iki bant gözlemlendi (Şekil 3.2.). Ancak DNA bantları değerlendirme sonuçlarına göre bu allel açısından homozigot birey (CCR5-Δ32/ CCR5-Δ32) tespit edilemedi.

Şekil 3.1 ve şekil 3.2’de farklı primer dizileri ile PCR’ı yapılmış aynı bireylere ait DNA bantları görülmektedir. Yapılan analizlerde kullanılan farklı dizilere sahip 2 primer ile elde edilen sonuçlar birbirleri ile uyumludur.



**Şekil 3.1.** İlk primer ile elde edilen CCR5- $\Delta$ 32 amplifikasyonuna ait örnek sonuçları. (M: 100 bç'lik ladder; 7, 8, 14, numaralı kuyucuklar heterozigot tip; diğer kuyucuklar ise yabanıl tip (CCR5/CCR5)'tir.)



**Şekil 3.2.** İkinci primer ile elde edilen sonuçlar CCR5- $\Delta$ 32 amplifikasyonuna ait örnek sonuçları (M: 100 bç'lik ladder; 7, 8, 14, numaralı kuyucuklar heterozigot tip; diğer kuyucuklar ise yabanıl tip (CCR5/CCR5)'tir)



**Çizelge 3.1.** CCR5/CCR5-Δ32 genotipinin 400 bireyde bölgelere göre dağılımı

<b>BÖLGELER</b>	<b>BİREY SAYISI</b>	<b>CCR5/ CCR5</b>	<b>CCR5/ CCR5-Δ32</b>	<b>CCR5-Δ32/ CCR5-Δ32</b>
Karadeniz Bölgesi	61	56	5	<b>0</b>
Marmara Bölgesi	58	58	0	<b>0</b>
Ege Bölgesi	57	55	2	<b>0</b>
Akdeniz Bölgesi	54	53	1	<b>0</b>
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	54	53	1	<b>0</b>
Doğu Anadolu Bölgesi	54	51	3	<b>0</b>
İç Anadolu Bölgesi	62	53	9	<b>0</b>
<b>TOPLAM</b>	<b>400</b>	<b>379</b>	<b>21</b>	<b>0</b>

**Çizelge 3.2.** 400 bireyi kapsayan popülasyonun allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları

Allel	CCR5 lokusunda allelerin sıklığı
Yabanıl allel (CCR5/CCR5) (758/800)	0.9738
Mutant $\Delta$ 32 (17/800)	0.0262

Lokus	Örn. Büyük.	Göz. Hom	Göz. Het.	Bek. Hom.*	Bek. Het.*	Nei**	Ort. Het.
CCR5	800	0.9475	0.0525	0.9488	0.0512	0.0511	0.0511
Ort.	800	0.9475	0.0525	0.9488	0.0512	0.0511	0.0511
St. Sap.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

\* Beklenen homozigot ve heterozigot verileri Levene (1949) kullanılarak elde edilmiştir.

\*\*Nei'nin (1973) beklenen heterozigotluk değeri.

Çizelge 3.2.'de popülasyon tüm olarak test edildiğinde, yabanıl allel sıklığı 0.9738 bulunurken, mutant allel sıklığı 0.0262 olarak tespit edilmiştir. Popülasyon büyüklüğüne bağlı olarak homozigot ve heterozigot durumdaki bireyler için gözlenen ve beklenen değerler çizelge 3.2. içerisinde verilmiştir. Popülasyonun geneline bakıldığında, gözlenen ve beklenen değerler birbirine çok yakın bulunmuştur. Test edilen popülasyon için serbestlik derecesi 1 iken, Ki-kare değeri 0.276506 şeklinde saptanmıştır.

**Çizelge 3.3.** Karadeniz Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları

Allel	CCR5 lokusunda allelerin sıklığı
Yabani allel (CCR5/CCR5)	0.9590
Mutant $\Delta$ 32	0.0410

Lokus	Örn. Büyük.	Göz. Hom	Göz. Het.	Bek. Hom.*	Bek. Het.*	Nei**	Ort. Het.
CCR5	122	0.9180	0.0820	0.9207	0.0793	0.0786	0.0786
Ort.	122	0.9180	0.0820	0.9207	0.0793	0.0786	0.0786
St. Sap.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Çizelge 3.3.'te Karadeniz Bölgesi'ni temsil eden 61 bireyden oluşan popülasyon test edildiğinde, yabani allel sıklığı 0.9590 bulunurken, mutant allel sıklığı 0.0410 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; gözlenen ve beklenen değerler birbirine yakın bulunmuştur. Test edilen bu popülasyonda için serbestlik derecesi 1 iken, Ki-kare değeri 0.088417 olarak hesaplanmıştır.

**Çizelge 3.4.** Marmara Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları

Allel	CCR5 lokusunda allelerin sıklığı
Yabani allel (CCR5/CCR5)	1.0000
Mutant $\Delta 32$	0.000

Lokus	Örn. Büyük.	Göz. Hom	Göz. Het.	Bek. Hom.*	Bek. Het.*	Nei**	Ort. Het.
CCR5	116	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Ort.	116	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
St. Sap.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Çizelge 3.4.'te Marmara Bölgesi'ni temsil eden 58 bireyden oluşan bu popülasyonda mutant genotip içeren heterozigot birey tespit edilmediği için istatistiksel olarak bir parametre elde edilememiştir.

**Çizelge 3.5.** Ege Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları

Allel	CCR5 lokusunda allelerin sıklığı
Yabani allel (CCR5/CCR5)	0.9825
Mutant $\Delta$ 32	0.0175

Lokus	Örn. Büyük.	Göz. Hom	Göz. Het.	Bek. Hom.*	Bek. Het.*	Nei**	Ort. Het.
CCR5	114	0.9649	0.0351	0.9652	0.0348	0.0345	0.0345
Ort.	114	0.9649	0.0351	0.9652	0.0348	0.0345	0.0345
St. Sap.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Çizelge 3.5.'te Ege Bölgesi'ni temsil eden 57 bireyden oluşan bu popülasyon test edildiğinde, yabani allel sıklığı 0.9825 bulunurken, mutant allel sıklığı 0.0175 olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel analizlere göre gözlenen ve beklenen değerler birbirine çok yakın bulunmuştur. Test edilen popülasyon için serbestlik derecesi 1 iken, Ki-kare değeri 0.009009 olarak hesaplanmıştır.

**Çizelge 3.6.** Akdeniz Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları

Allel	CCR5 lokusunda allelerin sıklığı
Yabani allel (CCR5/CCR5)	0.9907
Mutant $\Delta$ 32	0.0093

Lokus	Örn. Büyük.	Göz. Hom	Göz. Het.	Bek. Hom.*	Bek. Het.*	Nei**	Ort. Het.
CCR5	108	0.9815	0.0185	0.9815	0.0185	0.0183	0.0183
Ort.	108	0.9815	0.0185	0.9815	0.0185	0.0183	0.0183
St. Sap.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Çizelge 3.6'da Akdeniz Bölgesi'ni temsil eden toplam 54 bireyin yer aldığı popülasyon test edildiğinde, yabani allel sıklığı 0.9907 bulunurken, mutant allel sıklığı 0.0093 olarak tespit edilmiştir. Gözlenen ve beklenen değerler tamamıyla aynı bulunmuştur. Test edilen popülasyonda heterozigot 1 birey olduğu için serbestlik derecesi 1 iken, Ki-kare değeri 0.000 olarak hesaplanmıştır.

**Çizelge 3.7.** Güneydoğu Anadolu Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları

Allel	CCR5 lokusunda allelerin sıklığı
Yabani allele (CCR5/CCR5)	0.9907
Mutant $\Delta$ 32	0.0093

Lokus	Örn. Büyük.	Göz. Hom	Göz. Het.	Bek. Hom.*	Bek. Het.*	Nei**	Ort. Het.
CCR5	108	0.9815	0.0185	0.9815	0.0185	0.0183	0.0183
Ort.	108	0.9815	0.0185	0.9815	0.0185	0.0183	0.0183
St. Sap.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Çizelge 3.7.'de Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ni temsil eden toplam 54 bireyin yer aldığı popülasyon test edildiğinde, yabancı allele sıklığı 0.9907 bulunurken, mutant allele sıklığı 0.0093 olarak tespit edilmiştir. Gözlenen ve beklenen değerler tamamıyla aynı bulunmuştur. Bu bölgede Akdeniz Bölgesi'ndeki gibi heterozigot 1 birey olduğu için, serbestlik derecesi 1 iken, Ki-kare değeri 0.000 olarak bulunmuştur.

**Çizelge 3.8.** Doğu Anadolu Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları

Allel	CCR5 lokusunda allelerin sıklığı
Yabanıl allel (CCR5/CCR5)	0.9722
Mutant $\Delta 32$	0.0278

Lokus	Örn. Büyük.	Göz. Hom	Göz. Het.	Bek. Hom.*	Bek. Het.*	Nei**	Ort. Het.
CCR5	108	0.9444	0.0556	0.9455	0.0545	0.0540	0.0540
Ort.	108	0.9444	0.0556	0.9455	0.0545	0.0540	0.0540
St. Sap.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Çizelge 3.8.'de Doğu Anadolu Bölgesi'ni temsil eden popülasyon test edildiğinde, yabanıl allel sıklığı 0.9722 bulunurken, mutant allel sıklığı 0.0278 olarak tespit edilmiştir. Elde sonuçlarda gözlenen ve beklenen değerlerin birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir. Test edilen popülasyon için serbestlik derecesi 1 iken, Ki-kare değeri 0.029121 olarak hesaplanmıştır.

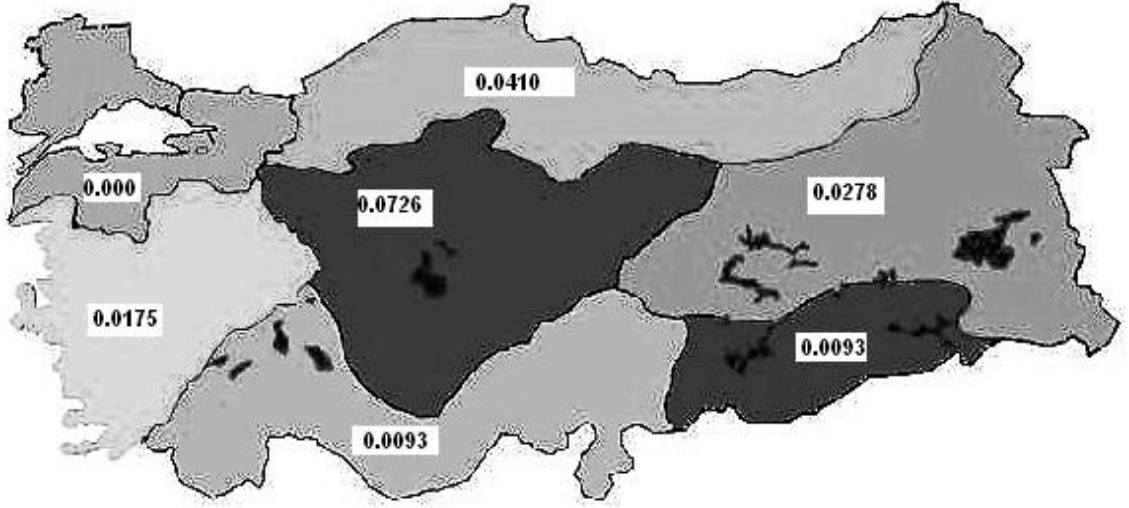


**Çizelge 3.9.** İç Anadolu Bölgesi için allel frekansı ve bir tek lokus için heterozigotluk istatistik sonuçları

Allel	CCR5 lokusunda allelerin sıklığı
Yabani allel (CCR5/CCR5)	0.9274
Mutant $\Delta$ 32	0.0726

Lokus	Örn. Büyük.	Göz. Hom	Göz. Het.	Bek. Hom.*	Bek. Het.*	Nei**	Ort. Het.
CCR5	124	0.8548	0.1452	0.8643	0.1357	0.1346	0.1346
Ort.	124	0.8548	0.1452	0.8643	0.1357	0.1346	0.1346
St. Sap.	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Çizelge 3.9.'da İç Anadolu Bölgesi'ni temsil eden popülasyon test edildiğinde, yabani allel sıklığı 0.9274 bulunurken, mutant allel sıklığı 0.0726 olarak saptanmıştır İç Anadolu Bölgesi %7.26'lık mutant allel sıklığı ile analiz edilen popülasyonlar içinde heterozigotluk yüzdesinin en yüksek olduğu popülasyon olarak bulunmuştur. Bu popülasyon için, gözlenen ve beklenen değerler birbirine çok yakın bulunmuştur. Test edilen popülasyon için serbestlik derecesi 1 iken, Ki-kare değeri 0.335011 olarak bulunmuştur.



**Şekil 3.3.** Mutant CCR5- $\Delta$ 32 allelinin Türkiye’de 7 coğrafik bölgeye göre dağılımı

Bu çalışmada mutant CCR5- $\Delta$ 32 allelinin en yüksek frekansla İç Anadolu Bölgesi’nde temsil edilirken (0.076), Marmara Bölgesi’nde hiç temsil edilmediği (0.000), Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz Bölgelerinde ise eşit sıklıkta (0.0093) temsil edildiği belirlenmiştir.

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

AIDS ilk defa 1981 yılında, nadir görülen infeksiyonlar arasında yer almıştır. O zamandan itibaren hızla yayılarak milyonlarca insana acı çektirmektedir. Bu hastalığa karşı koyabilmek için pek çok ülke ve kuruluş aşı ve ilaç geliştirme çabası içindedir. Ancak bu tedavi yöntemleri hastalık ile etkin mücadelede yeterli olamamaktadır. 1990'ların başında yapılan pek çok çalışmada bazı insanların tekrar tekrar virüsle karşılaşmalarına rağmen, infeksiyona yakalanmadıkları ve bazı infekte insanların beklenenden daha uzun süre yaşadıkları tespit edilmiştir (145). Direncin moleküler temelini anlaması, HIV'in makrofaj ve T hücrelerine girmesini sağlayan koreseptör moleküllerin tanımlanması ile gerçekleştirilmiştir (61,146). Liu vd. (1996) ve Samson vd. (1996) dirençli bireylerin, bilinenin dışında koreseptör molekülü formlarına sahip olabileceklerini ve bu mutant proteinlerin HIV girişini engelleyebileceğini ileri sürmüşlerdir (71,69). Bu hipotezi test etmek için Samson vd. uzun süre hayatta kalan HIV infeksiyonlu üç kişiden koreseptörü kodlayan genin baz dizilimini ortaya çıkartmışlardır (69). Bu çalışmaların ardından Martinson vd. (1997) bu mutant allelin en sık rastlandığı popülasyonların listesini yayınlamıştır (125).

HIV'e direnç sağlamada en etkin rol alan CCR5-Δ32 ile yapılan araştırmalar yalnızca bunlarla sınırlı kalmayıp pek çok ülkeyi kapsayan detaylı popülasyon araştırmaları yapılmıştır. Daha sonraki dönemlerde bu ve diğer mutant reseptörlerin diğer patolojik olaylarla ilişkisine yönelik de araştırmalar yapılmıştır. Ayrıca Δ32 mutant allelinin varlığı popülasyon çalışan evrim biyologları için bir model olmuş ve bu allelin orijini ve yayılımı ile ilgili birçok görüş ortaya atılmıştır (107).

1997'de Martinson vd. CCR5-Δ32 allelinin dünya üzerinde yayılış modeli ile ilgili çalışmalar yapmış ve allelin Kuzey Avrupa kökenli popülasyonlarda % 21'e varan bir frekans ile oldukça yaygın olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşılık, Kuzey Avrupa'dan doğuya ve güneye gidildikçe, Δ32 allelinin

frekansının düştüğünü; Afrika, Okyanusya ve Ortadoğu ile Batı Asya'da ise bu allelin hemen hemen hiç temsil edilmediğini belirlemişlerdir (125).

Bu çalışmaların ardından Samson ve meslektaşları Kuzey Avrupa, Japonya ve Afrika kökenli çok sayıda kişiden DNA örnekleri almış ve her bir bireyin CCR5 genini araştırarak, her popülasyondaki  $\Delta 32$  allel frekansını hesaplamışlardır. Araştırmacılar mutant allelin %9 gibi yüksek bir frekansla Kafkasyalılarda bulunduğunu, Afrika ve Asya kökenli kişilerde ise bu mutant allelinin bulunmadığı bildirmişlerdir (69).

Asya'da yapılan etnik kökenli bir araştırmada Çin Uygur popülasyonu incelenmiş CCR5'nin de içinde yer aldığı bazı kemokin reseptörlerin HIV enfeksiyonu ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Uygur popülasyonunda HIV e dirençte önemli rol oynayan CCR5- $\Delta 32$  düşük frekansa sahip iken (%4.40), AIDS seyrini geciktirici etkiye sahip olduğu bilinen CCR2-64I sıklığı ise oldukça yüksek bulunmuştur (%25.66) (147).

O'Brien vd. yaptıkları çalışmalarda CCR5- $\Delta 32$  allelinin, Avrupalı beyazlar arasında yaygın olduğunu (allel sıklığı %5-15), yerli Afrikalı ve Batı Asya etnik gruplarında bu allelin bulunmadığını bildirmişlerdir (66).

Lucotte (1997), Fransa, Kuzey Afrika, Sahra-altı Afrika ve Vietnam'ı kapsayan dört coğrafik bölgede 1031 bireyin bu allel ile ilgili genotiplerini çalışmıştır. Kuzey Fransa'da  $\Delta 32$  allel sıklığı %12.9, Güney Fransa'da %9.8, Kuzey Afrika'da %6.3, Sahra-altı Afrika'da %0.16 olarak bulunmuş Vietnam'da ise  $\Delta 32$  alleli bulunamamıştır (126). Fakat daha sonra Magierowska vd. (1999), Vietnam popülasyonunda yaygın mutant  $\Delta 32$  allelinin aksine, (C178R) olarak teşhis ettikleri bir varyantın varlığını rapor etmişlerdir. Bu elde edilen varyantın Avrupa kökenli beyaz bireylerde yer almadığını bildirmişlerdir (41).

Libert vd. (1997) Türkiye'nin de içinde yer aldığı 18 Avrupa ülkesini kapsayan beyaz ırk popülasyonuna yönelik çalışmalarında,  $\Delta 32$  allelinin Kuzey

Avrupa'dan başlayıp güneye doğru olan dağılımında en yüksek frekansın %16 ile Finlandiya, en düşük frekansın ise % 4 ile İtalyan Sardinya popülasyonuna ait olduğunu belirlemişlerdir. Türkiye'den ise sadece Ankara'dan seçilen 104 bireyin incelendiği bu çalışmada mutant allel %6.3 frekans ile ile Portekiz ve İspanya'daki Bask Bölgesi'nin beyaz birey popülasyonları ile aynı değerde bulunmuştur. Libert bu sonuçlarla CCR5-Δ32 allelinin Kuzey Avrupa'da tekli bir mutasyon olayı ile birkaç bin yıl önce meydana gelmiş olabileceğini savunmuştur (89).

CCR5-Δ32 allel sıklığı değişik ülkelerde yaşayan Yahudi toplulukları üzerinde test edilmiştir. Kuzey Avrupa kökenli Ashkenazi yerel topluluğunun şimdiye kadar rapor edilmiş en yüksek CCR5-Δ32 allel frekansına (%20.93) sahip oldukları bildirilmiştir. Yahudi olmayan azınlıklarda ise (Filistin gibi) oranın %1-2 arasındaki değerlere kadar düştüğü belirlenmiştir (125). Klitz vd. (2001), Yahudi Ashkenazi popülasyonunda CCR5-Δ32 allelinin, tekli bir mutasyon sonucunda Kuzey Avrupa halklarında meydana geldiği ve daha sonraki süreçte Ashkenazi Yahudi bireylerine geçtiğini ileri sürmektedirler. Araştırmacılar bu allelin VIII. yüzyıl Avrupa'sında görülen tekrarlı epidemik çiçek salgınları (*small pox*) ile yüksek frekanslara ulaştığını ve Ashkenazi Yahudilerinin kapalı yaşam tarzları sayesinde korunduğunu düşünmektedirler (125,148).

Leboute vd. (1999) Brezilya Amazon kabileleri ile ilgili yaptıkları bir çalışmada 300 bireyin tamamının yabancı allel açısından homozigot olduğunu saptamışlardır. Böylece bu araştırmacılar Δ32 allelinin Avrupa orijinli olduğunu ve Kuzey Amerika'da kırsal popülasyonlardaki varlığının, göçün bir sonucu olduğunu doğrulamışlardır (149).

Kantor ve Gershony (1999) İsrail'de, başta Avrupa ve dünyanın değişik bölgelerinden gelip yerleşmiş değişik etnik gruplarda yaptıkları tarama sonucunda, Polonya ve Romanya'dan göç eden topluluklarda CCR5-Δ32 allel frekansının yüksek oranda temsil edildiğini saptamışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, Orta Doğu ve Kuzey Afrika'dan göç eden Yahudi

vatandaşlarda bu değer oldukça düşük iken, diğer Afrika bölgelerinden göç eden Yahudilerde ise yer almadığı belirlenmiştir (150).

Papa vd.'nin (2000) Kuzey Yunanistan'ı kapsayan çalışmasında HIV-1 pozitif ve HIV-1 negatif bireyleri incelemiş ve CCR5-Δ32 allel frekansı % 5.2 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada yapılan gruplama ile HIV negatif bireylerde 1 adet homozigot CCR5-Δ32 genotip elde edilirken, negatif grupta yer alan örneklerin, seropozitif olanlara göre iki kat daha fazla frekansa sahip olduğu ve dolayısıyla heterozigot genotipin HIV enfeksiyonuna karşı kısmi bir koruma sağladığı belirtilmiştir (129).

Polonya popülasyonu ile yapılan bir çalışma ise 16 şehirden alınan 861 bireyden oluşan örnekleme ortalama CCR5-Δ32 allel frekansı % 10.9 olup bu değer kuzey Avrupa ülkeleri için kaydedilen oranla eşdeğer bulunmuştur (130).

Desgranges vd. (2001) Güney Amerika Şili popülasyonunda CCR5-Δ32 allel frekansını araştırmışlardır. HIV-1 infekteli 63 birey ve infekte olmayan 62 birey üzerinde yaptıkları araştırma sonucunda, CCR5-Δ32 homozigot birey hiç bulunmazken, iki grup arasında gözlenen heterozigot yüzdesi (~ %2.4) açısından belirgin bir fark olmadığını rapor etmişlerdir. Kuzey Amerika kıtasında CCR5-Δ32 alleli oldukça yüksek sıklıkta olup (%11-11,63), bu değer Kuzey Avrupa için rapor edilen değerlerle yakın olarak belirlenmiştir (134-137).

Lucotte (2001), çok geniş çaplı olarak Avrupalı, Orta Doğulu ve Kuzey Afrikalı beyaz ırk kökenli 40 değişik popülasyondan elde ettiği toplam 8842 infekte olmayan bireyden oluşan bir örnekleme; Δ32 allel frekansının kuzey-güney doğrultusunda (Kuzey Avrupa'dan-Kuzey Afrika'ya) belirgin bir biçimde azalış gösterdiğini ortaya koymuştur. İsveç, Norveç, Danimarka, Finlandiya ve İzlanda Kuzey halkları arasında Δ32 allelinin %13.4'lük bir sıklık değeri ile ortalama Δ32 değerinden oldukça yüksek olduğunu tespit etmiştir. En düşük

değerleri ise Fas, Tunus (Kuzey Afrika), Suriye ve İran gibi daha güney ülkelerde saptamışlardır (131).

Barbouche vd.'nin (2001) Tunus'da yapmış oldukları bir çalışmada 145 bireyi incelemiş homozigot  $\Delta 32$  allele sahip birey bulamamışlardır. Bu allel sıklığı 0.010 olarak tespit edilmiştir (151).

Voevodin vd.'nin (1998) Suriye ve İranda yapmış oldukları çalışmada  $\Delta 32/\Delta 32$  genotipinde birey tespit edememiştir. Mutant allel sıklığı Suriye'de 0.014, İran' da ise 0.024 olarak bulunmuştur (152).

Salem vd. (2001) Mısır popülasyonu ile yapmış oldukları çalışmada CCR5- $\Delta 32$  allel sıklığını %0.6 olarak saptamışlardır. Ancak popülasyon içinde  $\Delta 32/\Delta 32$  olan bireylere rastlanmamıştır. Araştırmacılar çeşitli popülasyonlardaki  $\Delta 32$  dağılımına bakarak; CCR5 allelinin kuzey-güney doğrultusunda gözlenen enlemsel dağılımı ile CCR5- $\Delta 32$  allel frekansı arasında orantılı bir azalış tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara dayalı olarak  $\Delta 32$  allelinin VIII ve X. Yüzyıllarda Vikingler yoluyla yayılmış olabileceği tezini ileri sürmüşlerdir (153).

Çizelge 4.1.'de popülasyonların CCR5- $\Delta 32$  allel sıklıkları belirtilmektedir.

**Çizelge: 4.1.** Bazı popülasyonların CCR5-Δ32 allel sıklıkları

Popülasyon	CCR5-Δ32 Allel Sıklığı	Kaynaklar
Askhenazi Yahudileri	% 20.93	Martinson vd. (1997)
Kafkasya	% 9	Samson vd. (1996)
Çin Uygur	%4.40	Hua vd. (2010)
Avrupalı Beyaz Irk	%5-15	O'Brien vd. (2000)
Kuzey Fransa Güney Fransa Kuzey Afrika Sahra-altı Afrika	%12.9 %9.8 %6.3 %0.16	Lucotte (1997)
Finlandia İtalya Sardinya Portekiz İspanya Bask Türkiye Ankara	%16 %4 %6.3 %6.3 %6.3	Libert vd. (1997)
İsrail yaşayan Polonyalılar İsrailde yaşayan Romanyalılar Kuzey Afrika Orta Doğu	%13.5 %4.55 %2.8 %1	Kantor vd. (1999)
Kuzey Yunanistan	%5.2	Papa vd. (2000)
Polonya	%10.9	Jagodzinski vd. (2000)
Güney Amerika Şili Kuzey Amerika	%2.4 %11-11.63	Desgranges vd. (2001)
İsveç Norveç Danimarka Finlandia İzlanda	%14.2 %10.5 %12.3 %15.8 %14.7	Lucotte (2001)
Tunus	% 1	Barbouche vd. (2001)
Suriye	%1.4	Voevodin vd. (1998)
Mısır	%0.6	Salem vd. (2001)



Türkiye’de bu konu ile ilgili popülasyon çalışmaları bulunmakla birlikte bu çalışmalar belirli bölgelerle veya belirli popülasyonlarla sınırlı kalmıştır:

2004 yılında yapılan bir çalışmaya göre rastgele seçilmiş bir Türk popülasyonu incelenmiştir. Mutant allel sıklığı % 2.18 olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte test edilen bireylerde hiçbir CCR5-Δ32 homozigot birey saptanamamıştır. Tespit edilen %2.18’lik oran Orta-Doğu için verilen %1.15 oranıyla uyumlu bulunmuştur (99).

Yapılan bir başka çalışmada ise araştırmacılar analiz ettikleri bireyleri doğum yerlerine göre gruplandırmışlardır. Analiz ettikleri bireyler içerisinde homozigot 1 birey bulunmuş ve CCR5-Δ32 sıklığı 0.037 olarak tespit edilmiştir (139).

Güneş vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada Orta Karadeniz kıyı bölgesinde yaşayan, aralarında akrabalık ve HIV enfeksiyonu öyküsü olmayan sağlıklı bireyler incelenmiş ve mutant Δ32 allelinin frekansı %5.2 olarak bulunmuştur (132).

Yiğit vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada böbrek nakli yapılmış 85 birey taranmış CCR5 ve CCR2 genlerindeki CCR2 V64I, CCR5 -59029A/G, CCR5-Δ32 polimorfizmleri ile renal transplantasyondaki başarı arasındaki ilişki araştırılmıştır. 85 hastada yapılan bu çalışmada transplantasyon başarısı ile CCR2-64I, CCR5-Δ32 polimorfizmleri arasında bir ilişki bulunamamıştır. CCR5-59029A/G polimorfizminin ise promotor aktivitesini arttırdığı ve bunun sonucu olarak CCR5 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. (103).

Sunulan bu çalışmada ise Türkiye’nin bütün coğrafik bölgelerinden 54-61 birey olmak üzere, toplamda 400 birey CCR5-Δ32 alleli açısından incelendi ve allel sıklığı 0.0262 olarak tespit edildi. Elde edilen bu frekans değeri; Voevodin vd.’nin (1998) İran popülasyonu (0.024), Christodoulou vd.’nin (1997) Yunan Girit popülasyonu (0.028), Battiloro vd.’nin (2000) İtalyan

Sardinya popülasyonu için (0.021) elde ettikleri değerler ile uyumlu bulunmuştur (152,154,155). Bu çalışmanın Ki-kare analiz sonuçlarına bakıldığında popülasyonun Hardy-Weinberg ile dengede olduğu saptandı. Türkiye' nin 7 coğrafik bölgesinin analiz sonuçlarına bakıldığında ise, CCR5- $\Delta$ 32 allelin bölgelere dağılımında farklılıklar gözlemlendi. Bu allelin en yüksek frekansla temsil edildiği yer İç Anadolu Bölgesi'dir (0.0726). Akdeniz Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi için elde edilen frekans değeri eşit olarak bulundu. (0.0093). Marmara Bölgesi için seçilen örneklemin analizinde ise  $\Delta$ 32 allele rastlanmadı.

Bu çalışmada Türkiye'nin bütün coğrafik bölgeleri bu allel açısından ilk defa değerlendirildi. Elde edilen sonuçların, bu allel sıklığının dünya üzerindeki kuzey güney doğrultusunda azalış göstermesi ile uyumlu olduğu bulundu.

Günümüzde hem en yüksek  $\Delta$ 32 frekansına sahip, hem de en yüksek HIV enfeksiyonunu birlikte barındıran bir popülasyon bilinmemektedir. Kuzey Avrupa'daki birçok popülasyon 0.1-0.2 oranında  $\Delta$ 32 allel frekansına sahiptir (107,125). AIDS'e sıklıkla rastlanılan Afrika popülasyonlarında  $\Delta$ 32 frekansı düşük veya yok denecek kadar azdır. Yapılan pek çok popülasyon taraması sonucunda en yüksek  $\Delta$ 32 frekansı yaklaşık %21 olarak bulunmuştur. Ancak bulunan bu değer tek başına toplumları çağın vebasında korumak için yeterli değildir. Bu nedenle, ülkelerin uygun sağlık politikaları geliştirmesi gerekmektedir. Bireylerin bu konuda bilinçlendirilmesi ve eğitilmesi HIV/AIDS ile etkin mücadele önemli rol oynayacaktır.

## KAYNAKLAR

- (1) Montagnier, L., A history of HIV discovery. Science, 298 (5599): 1727-1728, 2002.
- (2) Ustaçelebi, Ş., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara,1999.
- (3) Braude, A.I., Davis, C.E., Fierer J., Infectious Diseases and Medical Microbiology. 1568-1580. WB Saunders Company, Philedelphia, 1986.
- (4) Shubert U., McClure M., Topley and Wilson.s Microbiology and Microbial Infections (Virology vol.2). Human immunodeficiency virus. 1321-1345. Ed: by B.W.J. Mahy and V. Meulen. ASM. Pres., 2005.
- (5) Freed, E.D., Martin, M.A., Fields Virology. HIVs their replication. 1971-2041. 4th Ed: by Lippincott Williams&Wilkin. Philadelphia, 2001.
- (6) Rubbert, A., Behrens, G., Ostrowski, M., HIV Medicine. Pathogenesis of HIV-1 Infection. 61-86. Ed: by C. Hoffmann, J.K. Rockstroh, B.S. Kamps. Flying Publisher, 2006.
- (7) Freeman, S., Herron, J.C., Evrimsel Analiz. HIV nedir? HIV nasıl AIDS'e neden olur? 5-7. Ed: by B. Çıplak, H.H. Başıbüyük, S. Karaytuğ, İ. Gündüz. Palme Yayıncılık, Ankara, 2001.
- (8) Cohen, O.J, Favci, A.S., Fields Virology. Pathogenesis and medical aspects of HIV-1 infection. 2043-2209. 4th Ed: by Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2001.
- (9) Anderson J., Banerjea A. and Akkina R., Bispecific Short Hairpin siRNA Constructs Targeted to CD4, CXCR4 and CCR5 Confer HIV-1 Resistance. Oligonucleotides, 13 (5): 303–312, 2003.

- (10) De Clercq, E., HIV chemotherapy and prophylaxis: new drugs, leads and approaches. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 36, 1800-1822, 2004.
- (11) Hersberger M., Marti-Jaun J., Hanseler E., Speck R.F., Rapid detection of the CCR2-V64I, CCR5-A59029G and SDF1-G801A polymorphisms by tetra-primer PCR. *Clin. Biochem.*, 35, 399-403, 2002.
- (12) Huerta C., Álvarez V., Mata I.F., Coto E., Ribacoba R., Martinez C., Blázquez M., Guisasola L.M., Salvador C., Lahoz C.H., Peña J., Chemokines (RANTES and MCP-1) and chemokine-receptors (CCR2 and CCR5) gene polymorphisms in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Neurosci Lett.*, 370, 151-154, 2004.
- (13) Trkola A., Kuhmann S.E., Strizki J.M., Maxwell E., Ketas T., Morgan T., Pugach P., Xu S., Wojcik L., Tagat J., Palani A., Shapiro S., Clader J.W., McCombie S., Reyes G.R., Baroudy B.M. and Moore J.P., HIV-1 escape from a small molecule, CCR5-specific entry inhibitor does not involve CXCR4 use. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 99, 395-400, 2002.
- (14) Winkler C., An P. and O'Brien S.J., Patterns of ethnic diversity among the genes that influence AIDS. *Hum. Mol. Genet.*, 13 (1): 9-19, 2004.
- (15) Zhang M., Goedert J.J., O'Brien T.R., High Frequency of CCR5-Δ32 Homozygosity in HCV-Infected, HIV-1-Uninfected Hemophiliacs Results From Resistance to HIV-1. *Gastroenterology*, 124, 867-868, 2003.
- (16) Badur, S., 2007 yılında AIDS: nereden nereye geldik? *Ankem Derg.*, 21 (Ek 2): 1-6, 2007.
- (17) Marx P.A., Unsolved questions over the origin of HIV and AIDS. *ASM News*, 71 (1): 15-20, 2005.

- (18) Marx, P.A., Apetrei, C., Drucker E., AIDS as a zoonosis? Confusion over the origin of the virüs and the origin of the epidemics. J. Med. Primatol., 33 (5-6): 220-6, 2004.
- (19) Tümer, A., HIV/AIDS epidemiyolojisi ve korunma. <http://www.hatam.hacettepe.edu.tr/Epidweb10.pdf> (Erişim Tarihi: 29.10.2010)
- (20) Ünal, S., Sain, G., İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji. Edinsel (akkiz) immün yetmezlik sendromu. 441-461. Ed: by A.W. Topçu, G. Söyletir, M. Doğanay, Nobel Kitabevi, İstanbul, 2002.
- (21) Del Rio C., Curran J.W., Principles And Practice Of Infectious Disease. Epidemiology and prevention of acquired immunodeficiency syndrome and human immunodeficiency virüs infection. 1340-1369. Ed: by G.L. Mandell, J.E. Bennet, R. Dolin. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000.
- (22) Cohen O., Cicala C., Vaccerezza M, Faucci A.S., Principles and practice of infectious disease. The immunology of human immunodeficiency virüs infection disease. 1374-1398. Ed: by G.L. Mandell, J.E. Bennet, R. Dolin. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000.
- (23) Yılmaz, G., Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar. HIV infeksiyonlarının laboratuvar tanısı. 275-282. Ed: by A. Ağaçfidan, Ö. Arıç, İstanbul, 1999.
- (24) Demeter, L.M., Reichman, R.C., Principles And Practice Of Infectious. Disease Detection of human immunodeficiency virüs infection. 1369-1374. Ed: by G.L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000.

- (25) Ay S., HIV İnfeksiyonunda laboratuvar tanısı ve tanıda karşılaşılan sorunlar. VI. Türkiye AIDS Kongresi, Aralık 2003, İstanbul, s. 58-64, 2003.
- (26) Shirasaka, T.R., Yarchoan, M.C., O'Brien, R.N., Husson, B.D., Anderson, H., Kojima, T., Shimada, S., Broder, and H. Mitsuya. Changes in drug sensitivity of human immunodeficiency virüs type 1 during therapy with azidotimidine, didieoxycytidine, and dideoxyinosine: An in vitro comparative study. Proceedings of the Natural Acedemi Science, 90, 562-566,1993.
- (27) Mohri, H., Singh, M.K., Ching W.T.W., Ho, D.D., Quantitation of zidovudine-resistant human immunodeficiency virüs type 1 in the blood of treatened and untreated patients. Proceedings of the National Academy of Sciences, 90, 25-29, 1993.
- (28) Larder, B. A., Kellam, P., Kemp, S.D., Convergent combination therapy can select viable multidrug-resistant HIV-1 in vitro. Nature, 365, 451-453, 1993.
- (29) Fauci, A.S., HIV and AIDS: 20 years of science. Nat. Med. 9 (7): 839-843, 2003.
- (30) Girard, M.P., Osmanov, S.K., Kieny, M.P., A review of vaccine research and development: The human immunodeficiency virüs (HIV). Vaccine, 24 (19): 4062-4081, 2006.
- (31) Letvin, N.L., Progress and obstacles in the development of an AIDS. Vaccine, Nat. Rev. Immunol., 6 (12): 930-939, 2006.
- (32) Strayer, D.S., Akkina, R., Bunnell, B.A., Dropulic, B., Planelles, V., Pomerantz, R.J., Rossi, J.J., Zaia, J.A., Current Status of Gene Therapy Strategies to Treat HIV/AIDS. Molecular Therapy, 11 (6): 823-842, 2005.

- (33) Akay M.T., Histoloji Kitabı. Kan dokusu. 90-134. Ed: by Somyürek, H.İ., Palme Yayıncılık, Ankara, 2006.
- (34) Uzun, Ö., Ünal, S., Güncel Bilgiler Işığında İnfeksiyon Hastalıkları. Bilimsel Tıp, Ankara, 2002.
- (35) Collins, K.L., Chen, B.K., Walker, B.D., Baltimore, D., HIV-1 nef protein protects infected primary cells against killing by cytotoxic T lymphocytes. *Nature*, 391, 397-401, 1998.
- (36) Pulkkinen, K., Renkema, G.H., Kirchhoff, F., Saksela, K., Nef Associates with p21-Activated Kinase 2 in a p21-GTPase-Dependent Dynamic Activation Complex within Lipid Rafts. *Journal of Virology*, 78 (23): 12773-12780, 2004.
- (37) Freed, E.O., HIV-1 replication. *Somat. Cell Mol. Genet.*, 26, 13-33, 2001.
- (38) Ivanoff, L.A., Looney, D.J., MacDanal, C., Morris, J.F., Wong-Staal, F., Langlois, A.J., Petteway, S.R., Matthews, T.J., Alteration of HIV-1 infectivity and neutralization by a single amino acid replacement in the V3 loop domain. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 7, 595-603, 1991.
- (39) Abel, L., Dessein A.J., The impact of host genetics on susceptibility to human infectious diseases. *Curr, Opin, Immunol.*, 9, 509-516, 1997.
- (40) Hill, A.V.S., Genetics and genomics of Infectious disease susceptibility. *Brit. Med. Bull.* 55 (2): 401-413, 1999.
- (41) Magierowska, M., Theodorau, I., Debre, P., Combined genotypes of CCR5, CCR2, SDF 1 and HLA genes can predict the long term nonprogressor status in Human Immunodeficiency Virus-1-Infected Individuals. *Blood*, 93 (3): 936-941, 1999.

- (42) Lindley, I.J.D., Westwick, J., Kunkel, S.L., Nomenclature announcement the chemokines. *Immunol. Today*, 14-24,1993.
- (43) Oppenheim, J.J., Zachariae, C.O.C., Mukaida, N., Matsushima, K., Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. *Annu. Rev. Immunol.*, 9, 617-648, 1991.
- (44) Baggiolini, M., Loetscher, P., Chemokines in inflammation and immunity. *Immunol. Today*, 21, 418-420, 2000.
- (45) Luster, A.D., Unkeless, J.C., Ravetch, J.V., Gammainterferon transcriptionally regulates an early response gene containing homology to platelet proteins. *Nature*, 315, 672-676, 1985.
- (46) McNicholl, J.M., Smith, D.K., Qari, S.H., Hodge, T., Host Genes and HIV: The Role of the Chemokine Receptor Gene CCR5 and Its Allele ( $\Delta 32$  CCR5). *Emerg. Infect. Dis.*, 3 (3): 261-271, 1997.
- (47) Oppermann, M., Chemokine receptor CCR5: insights into structure, function, and regulation. *Cell Signal*, 16, 1204-1210, 2004.
- (48) Venkatesan, S., Petrovic, A., Van, Ryk, D.I., Locati, M., Weissman, D., Murphy, P.M., Reduced Cell Surface Expression of CCR5 in CCR5 $\Delta 32$  Heterozygotes Is Mediated by Gene Dosage, Rather Than by Receptor Sequestration. *J. Biol. Chem.*, 277, 2287-2301, 2002.
- (49) Yang, J.Y., Togni, M., Widmer U., Heterozygous Defect in HIV-1 Coreceptor CCR5 and Chemokine Production. *Cytokine*, 11, 1-7, 1999.
- (50) Loetscher, P., Seitz, M., Baggiolini, M., Moser, M., Interleukin-2 regulates CC chemokine receptor expression and chemotactic responsiveness in T lymphocytes. *J. Exp. Med.*, 184, 569-577, 1996.



- (51) Sica, A., Sacconi, A., Borsatti, A., Power, C.A., Wells, T.N., Luini, W., Polentarutti, N., Sozzani, S., Mantovani, A., Bacterial lipopolysaccharide rapidly inhibits expression of C-C chemokine receptors in human monocytes. *J. Exp. Med.*, 185, 969-974, 1997.
- (52) Lodi, P.J., Garrett, D.S., Kuszewski, J., Tsang, M.L., Weatherbee, J.A., Leonard, W.J., Gronenborn, A.M., Clore, G.M., High-resolution solution structure of the beta chemokine hMIP-1 by multidimensional NMR. *Science*, 263, 1762-1767, 1994.
- (53) Laudanna, C., Campbell, J.J., Butcher, E.C., Role of Rho in chemoattractant-activated leucocyte adhesion through integrins. *Science*, 271, 981-983, 1996.
- (54) Horuk, R., Chitnis, C.E., Darbonne, W.C., Colby, T.J., Rybicki, A., Hadley, T.J., Miller, L.H., A receptor for the malarial parasite *Plasmodium vivax*: the erythrocyte chemokine receptor. *Science*, 261, 1182-1184, 1993.
- (55) Luster, A.D., Chemokines-chemotactic cytokines that mediated inflammation. *N. Engl. J. Med.* 338, 436-445, 1998.
- (56) Luster, A.D., Greenberg, S.M., Leder, P., The IP-10 chemokine binds to a specific cell surface heparan sulfate site shared with platelet factor-4 and inhibits endothelial cell proliferation. *J. Exp. Med.* 182, 219-213, 1995.
- (57) Tanaka, Y., Adams, D.H., Hubscher, S., Hirano, H., Siebenlist, U., Shaw, S., T-cell adhesion induced by proteoglycan-immobilized cytokine MIP-1. *Nature*, 361, 79-82, 1993.
- (58) Oppenheim, J.J., Ruscetti, F.W., *Medical Immunology. Cytokines.* 162-164. Ed: by Stites, D.P., Parslow, T.G., 9<sup>th</sup>, Appleton and Lange, USA, 1997.

- (59) Chapham, P.R., Weiss, R.A., Spoilt choice of co-receptors. *Nature*, 388, 230-231, 1997.
- (60) Doranz, B.J., Rucker, J., Yi, Y., Smyth, R.J., Samson, M., Peiper, S.C., Parmentier, M., Collman, R.G., Doms, R.W., A dual-tropic primary HIV-1 isolate that uses fusion and the b-chemokine receptors CKR-5, CKR-3, and CKR-2b as fusion cofactors. *Cell*, 85, 1149-1158, 1996.
- (61) Feng, F., Broder, C.C., Kennedy, P.E., Berger, E.A. HIV-1-entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science*, 272, 872-877, 1996.
- (62) Moore, J.P. Coreceptors: implications for HIV pathogenesis and therapy. *Science*, 276, 51-52, 1997.
- (63) Cochi, F., DeVico, A., Garzino-Derna A., Arya, S.K., Gallo, R.C., Lusso, P., Identification of RANTES, MIP-1 $\alpha$  and MIP-1 $\beta$  as the major HIV-suppressive factors produced by CD-8+ T cells. *Science*, 270, 1811-1815, 1995.
- (64) Oberlin, E., Amara, A., Bacheleire, F., The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-lineadapted HIV-1. *Nature*, 382, 833-835, 1996.
- (65) Mummid, S., Ahhja, S.S., Gonzales, E., Anderson, S.A., Santiago, E.N., Stephan, K.T., Genealogy of the CCR5 locus and is associated with altered rates of HIV-1 diseases progression. *Nat. Med.*, 4, 350-357, 1998.
- (66) O'Brien, S.J., Moore, J.P., The effect of genetic variation in chemokines and their receptors on HIV transmission and in progression to AIDS. *Immunologic Reviews Vol.*, 177, 99-111, 2000.

- (67) Wenzel, U.O., Stahl, R.A.K., Chemokines, Renal Disease, and HIV Infection. *Nephron*, 81, 5-16, 1999.
- (68) Rollins, B.J., Chemokines. *Blood*, 90, 909-928, 1997.
- (69) Samson, M., Libert, F., Doranz, B.J., Rucker, J., Liesnard, C., Farber, C.M., Saragosti, S., Lapoumâroulie, C., Cognaux, J., Forceille, C., Muyldermans, G., Verhofstede, C., Burtonboy, G., Georges, M., Imai, T., Rana, S., Yi, Y., Smyth R.J., Collman, R.G., Doms, R.W., Vassart, G., Resistance to HIV-1 infection in Caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR5 chemokine receptor gene. *Nature*, 382, 722-725, 1996.
- (70) Berger, E.A., Murphy P.M., Farber, J.M., Chemokine Receptors as HIV-1 Coreceptors Roles In Viral Entry, Tropism, and Disease; Annual review of immunology. 17, 657–700, 1999.
- (71) Liu, R., Paxton, W.A., Choe, S., Ceradini, D., Martin, S.R., Horuk, R., MacDonald, M.E., Stuhlmann, H., Koup, R.A., Landau, N.R. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell*, 86, 367–377, 1996.
- (72) Murphy, P.M., Baggiolini, M., Charo, I.F., Hebert, C.A., Horuk, R., Matsushima, K., Miller, L.H., Oppenheim, J.J., Power, C.A. International Union of Pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacological Reviews*, 52, 145–176, 2000.
- (73) Amara, A., Vidy, A., Boulla, G., Mollier, K., Garcia-Perez, J., Alcamí, J., Blanpain, C., Parmentier, M., Virelizier, J.L., Charneau, P., Arenzana-Seisdedos, F., G Protein-Dependent CCR5 Signaling Is Not Required for Efficient Infection of Primary T Lymphocytes and Macrophages by R5 Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates. *J. Virol.*, 77, 2550–2558, 2003.

- (74) Imamura, S., Kurasawa, O., Nara, Y., Ichikawa, T., Nishikawa, Y., Lida, T., Hashiguchi, S., Kanzaki, N., Lizawa, Y., Baba, M. Sugihara Y., CCR5 antagonists as anti-HIV-1 agents. Part 2: Synthesis and biological evaluation of N-[3-(4-benzylpiperidin-1-yl)propyl]-N,N0-diphenylureas. *Bioorg. Med. Chem.*, 12, 2295–2306, 2004.
- (75) JIANG, P.J., LIN, Q.D., BAO, S.M., ZHAO, A.M., ZHANG, Y., XIAO S.J., Relationship between expression of chemokine receptors CCR3, CCR5 and CXCR3 on CD4+ T cells and spontaneous abortion in mice. *Chin. Med. J.*, 122 (4): 390-395, 2009.
- (76) Bajetto, A., Bonavia, R., Barbero, S., Schettini, G. Characterization of chemokines and their receptors in the central nervous system: Physiopathological implications. *Journal of Neurochemistry*, 82, 1311–1329, 2002.
- (77) Mueller, A., Strange, P.G., Molecules in focus The chemokine receptor, CCR5. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 36, 35-38, 2004.
- (78) De Silva, E., Stumpf, M.P., HIV and the CCR5- $\Delta$ 32 resistance allele, *FEMS Microbiol. Lett.*, 241, 1-12, 2004.
- (79) Schmitz, S.F.H., Effects of treatment or/and vaccination on HIV transmission in homosexuals with genetic heterogeneity. *Math. Biosci.*, 167, 1-18. 2000.
- (80) Peterson, D.C., Katze, M.J., Zeier, M.D., Novel mutations identified using a comprehensive CCR5-denaturing gradient gel electrophoresis assay. *AIDS*, 15 (2): 171-177, 2001.
- (81) Arenzana-Seisdedos, F., Parmentier, M., Genetics of resistance to HIV infection: role of co-receptors and co-receptor ligands. *Semin Immunol.*, 18 (6): 387-403, 2006.

- (82) Kageyama, S., Mimaya, J., Yamada, K., Kurimura, T., Shiraki, K., Polymorphism of CCR5 affecting HIV disease progression in the Japanese population. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 17 (11): 991-995, 2001.
- (83) Tang, J., Shelton, B., Makhatadze, N.J., Zhang, Y., Schaen, M., Louie, L.G., Goedert, J.J., Seaberg, E.C., Margolick, J.B., Mellors, J., Kaslow, R.A., Distribution of chemokine receptor CCR2 and CCR5 genotypes and their relative contribution to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) seroconversion, early HIV-1 RNA concentration in plasma, and later disease progression. *J. Virol.* 76 (2): 662-672, 2002.
- (84) Li, M., Song, R., Masiciotra, S., Soriano, V., Spira, T.J., Lal, R.B., Yang, C., Association of CCR5 human haplogroup E with rapid HIV type 1 disease progression. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 21 (2): 111-115, 2005.
- (85) Lama, J., Planelles, V., Host factors influencing susceptibility to HIV infection and AIDS progression. *Retrovirology*, 4: 52, 2007.
- (86) Martin, M.P., Dean, M., Smith, M.W., Winkler, C., Gerrard, B., Michael, N.L., Lee, B., Doms, R.W., Margolick, J., Buchbinder, S., Goedert, J.J., O'Brien, T.R., Hilgartner, M.W., Vlahov, D., O'Brien, S.J., Carrington, M., Genetic acceleration of AIDS progression by a promoter variant of CCR5. *Science*, 282 (5395): 1907-1911, 1998.
- (87) Diaz, F.J., Vega, J.A., Patiño, P.J., Bedoya, G., Nagles, J., Villegas, C., Rodrigo, V., Rugeles, M.T., Frequency of CCR5  $\Delta$ 32 Mutation in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-seropositive and HIV-exposed Seronegative Individuals and in General Population of Medellin, Colombia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 95, 237-242, 2000.
- (88) Dimitrov, D.S., Xiao X., Chabot D.J., Broder, C.C., HIV Coreceptors. *J. Membr. Biol.*, 166, 75-90, 1998.

- (89) Libert F., Cochaux P., Beckman G., Samson M., Aksenova, M., Cao, A., Czeizel, A., Claustres, M., de la Rúa, C., Ferrari, M., Ferrec, C., Glover, G., Grinde, B., Güran, S., Kucinskas, V., Lavinha, J., Mercier, B., Ogur, G., Peltonen, L., Rosatelli, C., Schwartz, M., Spitsyn, V., Timar, L., Beckman, L., Parmentier, M., Vassart, G., The  $\Delta$  ccr5 mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe. *Hum. Mol. Genet.*, 7, 399–406, 1998.
- (90) Lucotte, G., Frequencies of 32 base pair deletion of the ( $\Delta$ 32) allele of the CCR5 HIV-1 co-receptor gene in Caucasians: a comparative analysis. *Infect. Genet. Evol.*, 1, 201–205, 2002.
- (91) Munerato, P., Azevedo, M.L., Sucupira, M.C.A., Pardini, R., Pinto, G.H.N., Catroxo, M., Souza, I.E., Diaz, R.S., Frequency of Polymorphisms of Genes Coding for HIV-1 Co-Receptors CCR5 and CCR2 in a Brazilian Population. *Braz. J. Infect. Dis.*, 7, 236-240, 2003.
- (92) Quillent, C., Oberlin E., Braun, J., Rousset, D., Gonzalez-Canali, G., Métais, P., Montagnier, L., Virelizier, J.L., Arenzana-Seisdedos, F., Beretta, A., HIV-1 resistance phenotype conferred by combination of two separate inherited mutations of CCR5 gene. *Lancet*, 351, 14-18, 1988.
- (93) Blanpain, C., Lee, B., Tackoen, M., Puffer, B., Boom, A., Libert, F., Sharron, M., Wittamer, V., Vassart, G., Doms, R.W., Parmentier, M., Multiple nonfunctional alleles of CCR5 are frequent in various human populations. *Blood*, 96, 1638-1645, 2000.
- (94) Heesen, M., Schippers, E.F., Bloemeke, B., Kunz, D., Dissel, J.T., Cytokine response to endotoxin in individuals heterozygous for the  $\Delta$ 32 mutation of chemokine receptor CCR5. *Cytokine*, 21, 195–199, 2003.

- (95) Paxton, W.A., Martin, S.R., Tse, D., O'Brien T.R., Skurnick, J., VanDevanter, N.L., Padian N., Braun J.F., Kotler, D.P., Wolinsky S.M., Koup R.A., Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure, *Nat. Med.*, 2 (4): 412-417, 1996.
- (96) Pehlivan, S., Özkinay, F., Alper S., Onay, H., Yüksel, E., Pehlivan, M., Özkinay, C., Association between IL4 (-590), ACE (I)/(D), CCR5 ( $\Delta$ 32), CTLA4 (+49) and IL1-RN (VNTR in intron 2) gene polymorphisms and vitiligo. *Eur. J. Dermatol.*, 19 (2): 126-128, 2009.
- (97) Ugurel, S., Schrama, D., Keller, G., Schadendorf, D., Bröcker, E.B., Houben, R., Zapatka, M., Fink, W., Kaufman H.L., Becker, J.C., Impact of the CCR5 gene polymorphism on the survival of metastatic melanoma patients receiving immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 57, 685–669, 2008.
- (98) Blanpain, C., Doranz, B.J., Bondue, A., Govaerts, C., De Leener, A., Vassart G., Doms, R.W., Proudfoot, A., Parmentier, M., The Core Domain of Chemokines Binds CCR5 Extracellular Domains While Their Amino Terminus Interacts with the Transmembrane Helix Bundle. *J. Biol. Chem.*, 278, 5179–5187, 2003.
- (99) Değerli, N., Yılmaz, E., Bardakçı, F., The  $\Delta$ 32 allele distribution of the CCR5 gene and its relationship with certain cancers in a Turkish population. *Science, Clinical Biochem Clinical Biochemistry*, 38, 248-252, 2005.
- (100) Kristiansen, T.B., Knudsen, B.T., Ohlendorff, S., Eugen-Olsen, J., A new multiplex PCR strategy for the simultaneous determination of four genetic polymorphisms affecting HIV-1 disease progression. *J. Immunol. Methods.*, 252, 147–151, 2001.

- (101) Meulener, M., Whitworth, A.J., Armstrong-Gold, C.E., Rizzu, P., Heutink, P., Wes, P.D., Pallanck, L.J., Bonini, N.M., *Drosophila* DJ-1 mutants are selectively sensitive to environmental toxins associated with Parkinson's disease. *Curr. Biol.*, 15, 1572–1577, 2005.
- (102) Blanpain, C., Libert F., Vassart, G., Parmentier, M., CCR5 and HIV Infection. *Receptor Channel*, 8, 19–31, 2002.
- (103) Yiğit, B., Bozkurt, N., Berber, I., Titz, I., Isbir, T. Analysis of CC chemokine receptor 5 and 2 polymorphisms and renal transplant survival. *Cell Biochem*, 25, 423-426, 2007.
- (104) Yang, X., Ahmad, T., Gogus, F., Wallace, G.R., Madanat, W., Kanawati, C.A., Stanford, M.R., Fortune, F., Jewell, D.P., Marshall, S.E., Analysis of the CC chemokine receptor 5 (CCR5)  $\Delta$ 32 polymorphism in Behçet's disease. *Eur. J. Immunogenet.*, 31, 11–14. 2004.
- (105) Zhao, Q., He, Y., Alespeiti, G., Debnath, A.K., A novel assay to identify entry inhibitors that block binding of HIV-1 gp120 to CCR5. *Virology*, 326, 299-309, 2004.
- (106) Galimberti D., Fenoglio C., Lovati C., Gatti A., Guidi I., Venturelli E., Cutter G.R., Mariani C., Forloni G., Pettenati C., Baron P., Conti G., Bresolin N., Scarpini E., CCR2-64I polymorphism and CCR5 $\Delta$ 32 deletion in patients with Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci.*, 225, 79-83, 2004.



- (107) Stephens, J.C., Reich, D.E., Goldstein, D.B., Shin, H.D., Smith, M.W., Carrington, M., Winkler, C., Huttley, G.A., Allikmets, R., Schriml, L., Gerrard, B., Malasky, M., Ramos, M.D., Morlot, S., Tzetis, M., Oddoux C., Di Giovine, F.S., Nasioulas, G., Chandler, D., Aseev, M., Hanson, M., Luba-Kalaydjieva, L., Glavac, D., Gasparini, P., Kanavakis, E., Claustres, M., Kambouris, M., Ostrer, H., Duff, G., Baranov, V., Sibul, H., Metspalu, A., Goldman, D., Martin, N., Duffy, D., Schmidtke, J., Estivil, I X., O'Brien, S., Dean, M., Dating the Origin of the CCR5- $\Delta$ 32 AIDS-Resistance Allele by the Coalescence of Haplotypes. *Am. J. Hum. Genet.*, 62, 1507–1515, 1998.
- (108) Chapman, N.H., Rees, D.C., Liu, Y.T., Clegg, J.B., Global distribution of The CCR5 gene 32 base pair deletion. *Nat. Genet.* 16 (1): 100–103, 1997.
- (109) Carrington, M., Kissner, T., Gerrard, B., Ivanov, S., O'Brien S.J., and Dean M., Novel Alleles of the Chemokine-Receptor Gene CCR5, *American J. Hum. Gen.* 61 (6): 1261–1267, 1997.
- (110) Carrington, M., Dean, M., Martin, P.M., O'Brien S.J., Genetics of HIV-1 infection: chemokine receptor CCR5 polymorphism and its consequences. *Hum. Mol. Gen.* 8, 1939-1945, 1999.
- (111) Gharagozloo, M., Doroudchi, M., Farjadian, S., Pezeshki, A.M., Ghaderi, A., The frequency of CCR5 $\Delta$ 32 and CCR2-64I in southern Iranian normal population. *Immunol. Lett.*, 96 (2): 277-281, 2005.
- (112) Galvani, A.P., Novembre J.P., The evolutionary history of the CCR5- $\Delta$ 32 HIV-resistance mutation, *Microbes and Infection* 7 (2): 302-309, 2005.

- (113) Lucotte, G., Dieterlen, F., More about the Viking hypothesis of origin of the  $\Delta 32$  mutation in the CCR5 gene conferring resistance to HIV-1 infection. *Infect. Gen. Evol.* 3, 293–295, 2003.
- (114) Stumpf, M.P., Wilkinson-Herbots H.M., Allelic histories: positive selection on a HIV-resistance allele. *TRENDS in Ecol. Evol.*,19, 166-168, 2004.
- (115) Jemaa, R., Rojbani, H., Kallel, A., Ali, S.B., Feki, M., Chabrak, S., Association between the -2518G/A polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene and myocardial infarction in Tunisian patients. *Clin. Chimica. Acta.* 390, 122–125, 2008.
- (116) Apostolakis, S., Baritaki, S., Kochiadakis, G.E., Igoumenidis, N.E., Panutsopoulos, D., Spandidos, D.A., Effects of polymorphisms in chemokine ligands and receptors on susceptibility to coronary artery disease. *Thrombosis Research*, 119, 63-71, 2007.
- (117) Smith, M.W., Dean, M., Carrington, M., Winkler, C., Huttley, G.A., Lomb, D.A., Goedert, J.J., O'Brien, T.R., Jacobson, L.P., Kaslow, R., Buchbinder, S., Vittinghoff, E., Vlahov, D., Hoots, K., Hilgartner, M.W., O'Brien, S.J., Contrasting genetic influence of CCR2 and CCR5 variants on HIV-1 infection and disease progression. *Science*, 277, 959-65, 1997.
- (118) McNicholl, JM., Host genes and infectious diseases. *Emerg. Infect. Dis.* (4-3): 423-26, 1998.
- (119) Voevoda, M.I., Ustinov, S.N., Yudin, N.S., Dolgikh, M.M., Kuznetsova, T.N., Maksimov, V.N., Association of the CCR2 Chemokine Receptor Gene Polymorphism with Myocardial Infarction *Doklady Biological Sciences*, 385, 367–370, 2002.

- (120) McDermott, D.H., Beecroft, M.J., Kleeberger, C.A., Chemokine RANTES promotor polymorphism affects risk of both HIV infection and disease progression in the multicenter AIDS cohort study. *AIDS*, 14 (17): 2671-78, 2000.
- (121) McNicholl, J.M., Downer, M.V., Lidhayakumar, V., Alper, C.A., Swerdlow, D.L., Host-pathogen interactions in emerging and re-emerging infectious diseases: A genomic perspective of Tuberculosis, Malaria, Human Immunodeficiency Virus infection, Hepatitis B and Cholera. *Annu. Rev. Public. Health.* 21, 15-46, 2000.
- (122) Roe, D.L., Lewis, R.E., Cruse, J.M., Association of HLA-DQ and -DR alleles with protection from or infection with HIV-1. *Experimental and Molecular Pathology*, 68, 21-28, 2000.
- (123) Garred, P., Madsen, H.O., Balslev, B.O., Hofmann, B., Pedersen, C., Gerstoft, J., Svejgaard, A., Susceptibility to HIV infection and progression of AIDS in relation to variant alleles of mannose-binding lectin. *Lancet*, 349, 236-40, 1997.
- (124) Turner, M.W., Mannose-Binding Lectin: The pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol, Today*, 17 (11): 532-40, 1996.
- (125) Martinson, J.J., Chapman, N.H., Rees D.C., Liu Y., Clegg J.B., Global distribution of the CCR5 gene 32 base-pair deletion. *Nature Genetics*, 16, 100-103, 1997.
- (126) Lucotte, G. Frequency of the CC chemokine receptor 5  $\Delta$ 32 allele in various populations of defined racial background. *Biomed & Pharmacother*, 51, 469-473, 1997.

- (127) Passos, G.A.S.J., Picanço, V.P., Frequency of the  $\Delta$ CCR5 deletion allele in the urban Brazilian population. *Immunology Letters*, 61, 205-20, 1998.
- (128) Szalai, C, Császár, A., Czinner, A., Szabö, T., Falus, A. High frequency of the CCR5 deletion allele in Gypsies living in Hungary. *Immunology Letters*, 63, 57-58, 1998.
- (129) Papa, A., Papadimitriou, E., Adwan, G., Clewley, J.P., Malissiovas, N., Ntoutsos, L, Alexiou, S., Antoniadis, AHIV-1 co-receptor CCR5 and CCR2 mutations among Greeks. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 28, 87-89, 2000.
- (130) Jagodzinski, P.P., Lecybyt, R., Ignaca, M., Juszcyk, J., Trzeciak, W.H., Distribution of  $\Delta$ 32 allele of the CCR5 gene in the population of Poland. *J. Hum. Gen.*, 45, 271-274, 2000.
- (131) Lucotte, G., Distribution of the CCR5 Gene 32-Basepair Deletion in West Europe: A Hypothesis About the Possible Dispersion of the Mutation by the Vikings in Historical Times. *Human Immunology*, 62, 933-936, 2001.
- (132) Güneş, Ö.S., Kara, N., Bağcı, H., The frequency of CCR5 delta 32 polymorphism in the central Black Sea Coastal Region in healthy population. *Turk. J. Med. Sci.*, 37(1): 17-19, 2007.
- (133) Shahbazi, M., Ebadi, H., Fathi, D., Roshandel, D., Mahamadhoseeni, M., Rashidbaghan, A., Mahammadi, N., Mahammadi, M.R., Zamani, M., CCR5-Delta32 Allele is Associated with the Risk of Developing Multiple Sclerosis in the Iranian Population. *Cell Mol. Neurobiol.*, 29 (8): 1205-1209, 2009.

- (134) Desgranges, C., Carvajal, P., Afani, A., Guzman, M., Sasco, A., Sepulveda, C., Frequency of CCR5 gene 32-basepair deletion in Chilean HIV-1 infected and non-infected individuals. *Immunology Letters*, 76, 115-117, 2001.
- (135) Dean, M., Carrington, M., Winkler, C, Huttley, G.A., Smith, M.W., Allikmets, R., Goedert, J.J., Buchbinder, S.P., Vittinghoff, E.W., Gomperts, E., Donfield, S., Vlahov, D., Kaslow, R., Saah, A., Rinaldo, C, Detel, R., O'Brien, S.J. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of CKR5 structural gene. *Science*, 273, 1856-1862, 1996.
- (136) Huang, Y., Paxton, W.A., Wolinski, S.M., Neumann, A.U., Zhang, L., He, T., Kang, S, Ceradini, D., Jin, Z., Yazdanbakhsh, K., Kunstman, K., Erickson, D., Dragon, E., Landau, N.R., Phair, J., Ho, D.D., Koup, R.A., The role of mutant CCR5 allele in HIV-1 transmission and disease progression. *Mol. Med.*, 2, 1240-3, 1996.
- (137) Zimmermann, N., Bernstein, J., Rothenberg, M.E., Polymorphism in the human CC chemokine receptor-3 gene. *Elsevier Science*, 170-174, 1998.
- (138) Hummel, M., Bara, C., Hirt, S., Haverich, A., Roland Hetzer Prevalence of CCR5 $\Delta$ 32 polymorphism in long-term survivors of heart transplantation. *Science Direct Transplant Immunology*, 17, 223-226, 2007.
- (139) M.Z., Çilek, Türk popülasyonunda CC kemokin reseptör 5 geninde yer alan  $\Delta$ 32 allel sıklığının belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 2005.

- (140) Mullis, K.B., Faloona F.A., Specific Synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymology*, 155, 335-350, 1987.
- (141) Ma, H., Shieh, K.J., Chen, G., Qiao, X.T., Real-time polymerase chain reaction, *The Journal of American Science*, 2 (3), 2006.
- (142) Chuswa, W.T., Medrona, J.F., Identification of RAPD genetic markers in sheep, *Proct 5th. World Congress Genet. Appl. Livestock Prod.*, 21, 133, 1994.
- (143) Sambrook, J., Russell, D.W., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989.
- (144) Yeh F.C., Yang R., Boyle T., *VERSION 1.31 Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis*, 1999.
- (145) Cao, Y., Qin, L., Zhang L., Safrit J., Ho, D.D., Virologic and immulogic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. *New England Journal of Medicine*, 332, 201-208, 1995.
- (146) Alkhatip, G., Combadiera, C., Broder, C.C., Feng, Y., Kennedy P.E., Murphy, P.M., Berger, E.A., CC CKR5: RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  reseptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science*, 272, 1955-1952, 1996.
- (147) Tan X., Zhang, J., Di C.H., Hu, A.R., Yang, L., Qu, S., Zhao, R., Yang P.R., Guo S.X., Distribution of CCR5- $\Delta$ 32, CCR5m303A, CCR2-64I and SDF1-3'A in HIV-1 infected and uninfected high-risk Uighurs in Xinjiang, China. *Infection, Genetics and Evolution*, 10, 268–272, 2010.

- (148) Klitz, W., Brautbar, C., Schito, A.M., Barcellos, L.F., Oksenberg, J.R. Evolution of the CCR5  $\Delta$ 32 Mutation Based on Haplotype Variation in Jewish and Northern European Population Samples. *Human Immunology*, 62, 530-538, 2001.
- (149) Leboutte, A.P.M., Carvalho, M.W.P., Simões, A.L., Absence of the  $\Delta$  CCR5 mutation in indigenous populations of the Brazilian Amazon. *Hum. Gen.*, 105, 442-443, 1999.
- (150) Kantor, R., Gershony, J.M., Distribution of the CCR5 Gene 32- Base Pair Deletion in Israeli Ethnic Groups. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*, 20, 81-84, 1999.
- (151) Barbouche, R.M., Hong, L., Dellagi, K., Kostrikis, L.G., Contrasting frequencies of CCR5 $\Delta$ 32 and CCR2-641 alleles in the Tunisian population. *J. Acquired Immune Defic. Syndr.* 26, 298–301, 2001.
- (152) Voevodin, A., Samilchuk, E., Dashti, S., A survey for 32 nucleotide deletion in the CCR5 chemokine receptor gene (CCR5) conferring resistance to human immunodeficiency virus type 1 in different ethnic groups and in chimpanzees. *J. Med. Virol.*, 55, 147–151, 1998.
- (153) Salem A.H., Batzer, A.M., Distribution of the HIV resistance CCR5- $\Delta$ 32 allele among Egyptians and Syrians Mutation Research. *Science Direct* 616, 175–180, 2007.
- (154) Battiloro, E., Andreoni, M., Parisi, S.G., Distribution of the CCR5 $\Delta$ 32 allele in Italian type 1-infected and normal individuals. *AIDS Res. Hum. Retrov.*, 16, 181–182, 2000.
- (155) Christodoulou, C., Poullikas, M., Neuman, A.U., Kostrikis, L.G., Low frequencies of CCR5 $\Delta$ 32 allele among Greeks in Cyprus. *AIDS Res. Hum. Retrov.*, 13, 1373–1374, 1997.