



**T.C.**  
**SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ**  
**ANABİLİM DALI**

**KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞİ HASTALARINDA**  
**miRNA-1908 VE miRNA-144 RNA İFADE DÜZEYLERİNİN**  
**ARAŞTIRILMASI**

**DR.ÖZLEM ALDEMİR**  
**UZMANLIK TEZİ**

**SİVAS-2019**



**T.C.**  
**SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ**  
**ANABİLİM DALI**

**KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞİ HASTALARINDA**  
**miRNA-1908 VE miRNA-144 RNA İFADE DÜZEYLERİNİN**  
**ARAŞTIRILMASI**

**DR.ÖZLEM ALDEMİR**  
**UZMANLIK TEZİ**

**PROF. DR. AYNUR ENGİN**  
**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ**

**SİVAS-2019**

## ONAY SAYFASI

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

### İmza

Üye: Prof. Dr. Aynur ENGİN

Üye: Prof. Dr. Hüseyin Şener BARUT

Üye: Prof. Dr. Nazif ELALDI

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

**Prof. Dr. İlhan ÇETİN**

**Tıp Fakültesi Dekanı**



Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fakülte kurulunun 10.02.2010 tarih ve 2010/1-2 sayılı kararı ile yürürlüğe giren tez yazım kılavuzuna göre yazılmıştır.

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimdeki özverisi ve desteği için, önerileri ve yardımlarıyla tezimin şekillenmesini ve oluşmasını sağlayan, tez danışmanım, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Aynur ENGİN'e, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet BAKIR, Prof. Dr. Nazif ELALDI, Dr. Öğr. Üyesi Seyit Ali BÜYÜKTUNA'ya, birlikte kısa süre çalışmış olmamıza rağmen bu kısa sürede büyük emeği için kıymetli hocam Doç. Dr. Mustafa Gökhan GÖZEL'e, tez çalışmamda kan örneklerinin çalışılması ve analiz bölümünde destekleri için Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Serdal ARSLAN ve Arş. Görevlisi Burcu BAYYURT'a, uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, hemşire ve tüm klinik çalışanlarına, hayatımın her aşamasında yanımda olan AİLEME, en büyük destekçim, her türlü desteğini her zaman yanımda hissettiğim canım EŞİME ve varlığıyla bu sürecin nasıl geçtiğini farketmirmeyen BİRİCİK OĞLUM EGE'ye çok çok teşekkür ederim.

**Dr. Özlem ALDEMİR**

## ÖZET

### KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞİ HASTALARINDA miRNA-144 VE miRNA-1908 İFADE DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZLEM ALDEMİR

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
SİVAS, 2019

Kırım-Kongo Kanamalı Ateş, kene kaynaklı zoonotik viral bir hastalıktır. KKKA hastalığı, viral kanamalı ateş sendromları arasında yer alır ve ön planda ateş, kanama ve karaciğer fonksiyon bozukluğu ile seyreder. Gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynayan mikroRNA'lar gelişme, farklılaşma, sağkalım, apoptoz ve yaşlanma gibi hücre yaşamı için gerekli birçok süreçte görev alırlar. İşlevlerini yerine getiremediklerinde birçok hastalığa yatkınlığa yol açabilirler. Bu çalışma KKKA hastalarında miRNA-1908 ekspresyon düzeylerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu amaçla, 60'ı hastalardan ve 40'ı kontrollerden olmak üzere toplam 100 adet kan örneğinin qPCR yöntemi ile miRNA ekspresyon düzeyleri ölçülmüştür.

KKKA hastalarında kontrol grubuna göre miRNA-144 ekspresyon seviyesinin 11 kat azalmış olduğu ( $p=0.91$ ), miRNA-1908 ekspresyonunun ise 1.44 kat artmış olduğu gösterilmiştir ( $p=0.87$ ). Hastalar klinik ciddiyet düzeyine göre hafif, orta ve ağır olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Ciddiyet grupları arasında karşılaştırılma yapıldığında; hastalığı ağır/orta geçirenlerde hafif geçirenlere göre miRNA-144 ve miRNA-1908 ekspresyonunun sırasıyla 2 ve 2.36 kat artmış olduğu bulundu ( $p=0.09$ ,  $p=0.37$ ). Yaşayan hastalara kıyasla ölen hastalarda miRNA-144 ekspresyonu 16.3 kat ( $P=0.002$ ); miRNA-1908 ekspresyonu 14.3 kat ( $p=0.01$ ) artmıştır. PT'si normal değerlerin üzerinde olan hastalarla normal değerlerde olanlar ve lökosit sayısı normal değerinin altında olanlarla normal değerlerde olanlar karşılaştırıldığında, PT'si normal değerinin üzerinde olanlarda miRNA-1908 ifadesinin 7 kat arttığı ( $p<0.01$ ), lökosit sayısı normal değerinin altında olanlarda miRNA-144 ifade düzeylerinin 3 kat azaldığı bulunmuştur ( $p=0.038$ ).

Sonuç olarak, miRNA-144 ve miRNA-1908, KKKA'nın patogenezinde ve hastalığın klinik seyrinde yol gösterici olmaya aday olabilirler.

**Anahtar Kelimeler:** Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi, miRNA-144, miRNA-1908, gen ifadesi

**ABSTRACT****INVESTIGATION OF MİRNA-144 AND MİRNA-1908 EXPRESSION LEVELS IN  
CRIMEAN-CONGO HEMORRHAGIC FEVER PATIENTS****ÖZLEM ALDEMİR****DEPARTMENT OF INFECTIOUS DISEASES AND CLINICAL MICROBIOLOGY  
SIVAS, 2019**

Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) is a zoonotic viral disease caused by a tick-borne virus. CCHF disease is one of the viral hemorrhagic fever syndromes and its symptoms often accompanied by fever, bleeding and liver dysfunction. Micro RNAs play an important role in the regulation of gene expression and are involved in many processes necessary for cell life such as development, differentiation, survival, apoptosis, and aging. Thus, dysfunction of these molecules lead to susceptibility to many diseases. This study is the first to investigate the expression levels of miRNA-1908 in CCHF patients. In this study, miRNA expression levels of total 100 blood samples in which 60 CCHF patients, 40 controls were measured by using qPCR method.

According to the control group, the expression level of miRNA-144 was found to be 11-fold decreased in CCHF patient group ( $p = 0.91$ ), whereas the raising of expression of miRNA-1908 was 1.44-fold ( $p = 0.87$ ). Patients were categorized into 3 groups as mild, moderate, and severe regarding clinical severity. The expression of miRNA-144 and miRNA-1908 was found to be increased by 2 and 2.36 times, respectively ( $p = 0.09$ ,  $p = 0.37$ ) in moderate/severe categories comparing to mild category. The expression of miRNA-144 and miRNA-1908 was shown to be increased by 16.3-fold ( $P = 0.002$ ) and 14.3-fold ( $p = 0.01$ ), respectively in patients who died compared to the patients who survived. Patients whose PT values above normal had 7-fold increased levels of miRNA-1908 expression ( $p < 0.01$ ) and those with leukocyte counts below normal had 3-fold decreased levels of miRNA-144 expression ( $p = 0.038$ ) comparing to patients with normal PT and leukocyte levels, respectively. Taken together, miRNA-144 and miRNA-1908 expression levels might be candidates to shed light on pathogenesis and clinical course of CCHF.

**Keywords:** Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, miRNA-144, miRNA 1908, gene expression.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER.....	ix
TABLolar .....	x
1.GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi .....	3
2.1.1. Tanım .....	3
2.1.2. Tarihçe .....	3
2.1.3. Epidemiyoloji.....	3
2.1.4. Etken .....	6
2.1.5. Bulaş Yolları .....	8
2.1.6. Patogenez .....	9
2.1.7. Klinik Bulgular .....	11
2.1.8. Laboratuvar Bulguları.....	12
2.1.9. Tanı .....	13
2.1.10. Tedavi .....	15
2.1.11. Korunma ve Önlem.....	16
2.2. Kodlama Yapmayan RNA' lar .....	17
2.2.1. Mikro RNA' lar (miRNA) .....	17
2.2.1.1. miRNA' ların Tarihçesi.....	17
2.2.1.2. miRNA' ların Biyogenezi .....	19
2.2.1.3. miRNA' ların Biyolojik Fonksiyonları .....	22
2.2.1.4. Hastalıklar ve miRNA.....	23
2.2.1.4. Viral Enfeksiyonlar ve miRNA.....	26
2.2.1.5. Viral Hemorajik Ateş ve miRNA.....	33
2.2.1.6. miRNA-144.....	36



2.2.1.7. miRNA-1908.....	38
3-MATERYAL-METOD.....	40
3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması.....	40
3.2. RNA İzolasyonu .....	40
3.3. RNA Konsantrasyonunun ve Saflığının Belirlenmesi.....	41
3.4. Tamamlayıcı DNA (cDNA) Sentezi .....	42
3.5. Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu .....	42
3.6. İstatistiksel Analiz .....	44
4-BULGULAR.....	45
5-TARTIŞMA .....	51
6-KAYNAKLAR .....	60

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>Ago2:</b>	Argonaute2
<b>ALT:</b>	Alanin aminotransferaz
<b>AST:</b>	Aspartat aminotransferaz
<b>ATP5<math>\beta</math>:</b>	Adenozin trifosfat sentaz alt ünite $\beta$
<b>Bp:</b>	Baz çifti
<b>BSL-4:</b>	Biyogüvenlik seviyesi 4
<b>C-AMP-CREP :</b>	Siklik adenozin monofosfat- yanıt elemanı bağlayıcı protein
<b>C. elegans:</b>	Caenorhabditis Elegans
<b>C/EBP:</b>	CAAT: enhancer binding protein
<b>cccDNA:</b>	Covalently closed circular DNA
<b>CD4+T:</b>	Cluster of differentiation 4 + T
<b>CMV:</b>	Cytomegalovirus
<b>DIC :</b>	Dissemine intravasküler koagülasyon
<b>dk:</b>	Dakika
<b>DLL4:</b>	Delta benzeri 4
<b>DNA:</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>EBNA-1:</b>	Epstein-Barr Virüs Nükleer Antijen-1
<b>EBOV:</b>	Ebola virüsü
<b>EBV:</b>	Epstein-Barr virüsü
<b>EC:</b>	Endotelyal hücre
<b>EGF:</b>	Epidermal büyüme faktörü
<b>FDA:</b>	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
<b>FGF:</b>	Fibroblast büyüme faktörü
<b>FXRA:</b>	Farnesoid X reseptör alfa
<b>GC:</b>	Gastrik karsinom
<b>HBeAg:</b>	Hepatit B e antijeni
<b>HBsAg:</b>	Hepatit B yüzey antijeni
<b>HBV:</b>	Hepatit B virüsü
<b>HCV:</b>	Hepatit C virüsü
<b>HIV-1:</b>	İnsan immün yetmezlik virüsü-1
<b>HO-1:</b>	Hemoksijenaz-1

<b>HSV-1:</b>	Herpes Simpleks Virüs-1
<b>HUVECs:</b>	İnsan umbilikal ven endotel hücreleri
<b>ICAM-1:</b>	İnterselüler adezyon molekülü-1
<b>IE1:</b>	Intermediate early1
<b>Ig:</b>	İmmünglobulin
<b>IFN-<math>\gamma</math>:</b>	İnterferon gama
<b>IRF:</b>	İnterferon regülatuvar faktör
<b>KKKA:</b>	Kırım-kongo kanamalı ateşi
<b>KKKAV:</b>	Kırım-kongo kanamalı ateş virüsü
<b>KSHV:</b>	Kaposi sarkom ilişkili herpesvirüs
<b>LANA:</b>	Viral gecikme ile ilişkili nükleer antijen
<b>LET1:</b>	Akciğer alveoler epitelyal tip 1
<b>LPS:</b>	Lipopolisakkarit
<b>miRNA:</b>	MikroRNA
<b>ml:</b>	Mililitre
<b>MMP:</b>	Matriks metalloproteinaz
<b>mRNA:</b>	Messenger RNA
<b>ncRNA:</b>	Kodlayıcı olmayan RNA
<b>NF<math>\kappa</math>B:</b>	Nükleer faktör kapa beta
<b>NK:</b>	Doğal öldürücü
<b>NPC:</b>	Nazofaringeal karsinom
<b>NSCLC:</b>	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
<b>ORF :</b>	Açık okuma çerçevesi
<b>PAI:</b>	Plazminojen aktivatör inhibitörü
<b>PCAF:</b>	p300/CBP-ilşkili faktör
<b>PDGF:</b>	Platelet kaynaklı büyüme faktörü
<b>piRNA:</b>	PIWI etkileşimli RNA
<b>PTEN:</b>	Fosfataz and tensin homolog
<b>pre-tRNA:</b>	Pre-transfer RNA
<b>PUMA :</b>	p53 upregüle edilmiş modülatör
<b>RECK:</b>	Kazal motifli reversiyon indükleyici sistein açısından zengin protein

<b>RISC:</b>	RNA induced silencing complex
<b>RNA:</b>	Ribonükleik asit
<b>ROCK1:</b>	Rho-associated coiled-coil containing protein kinase 1
<b>siRNA:</b>	Küçük interferans RNA
<b>snoRNA:</b>	Küçük nükleolar RNA
<b>SMAD:</b>	–sma ve –mad ilişkili protein
<b>qPCR:</b>	Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu
<b>SPRED1:</b>	Sprouty ile ilgili EVH1 alanı içeren protein 1
<b>TBC:</b>	Tüberküloz
<b>TC:</b>	Doku kültürü
<b>TES:</b>	Tris EDTA sodyum klorür
<b>TESK1:</b>	Testis ilişkili aktin remodelleyici kinaz 1
<b>TF:</b>	Doku faktörü
<b>TGF-<math>\beta</math>:</b>	Transforming Growth Factor- $\beta$
<b>THBS1:</b>	Trombospondin 1
<b>tiRNA:</b>	Transkripsiyon başlatıcı RNA
<b>TNF-<math>\alpha</math>:</b>	Tümör nekrozis faktör alfa
<b>TOP2A:</b>	Topoizomeraz II alfa
<b>TRAF6:</b>	TNF reseptör ilişkili faktör 6
<b>TRIM32:</b>	Protein 32 içeren üçlü motif
<b>VEGF:</b>	Vasküler endotelyal growth faktörü
<b>VEGFR-1:</b>	VEGF reseptörü 1
<b>vFLIP:</b>	Viral FLICE inhibitör protein
<b>VKA:</b>	Viral kanamalı ateş
<b>VCAM-1</b>	Vasküler hücre adhezyon molekülü-1
<b>VprBP:</b>	Vpr (HIV-1)-binding protein

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1.</b> KKKA ülkeler arası dağılım.....	4
<b>Şekil 2.</b> Kırım Kongo Kanamalı Ateşi olgularının yoğun olarak görüldüğü Kelkit Vadisi .....	5
<b>Şekil 3.</b> Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Vakalarının ve Ölümünün Yıllara Göre Dağılımı, Türkiye, 2008-2017.....	5
<b>Şekil 4.</b> <i>Bunyavirales</i> grubunun filogenetik ağacı .....	6
<b>Şekil 5.</b> Bunyavirüsün şematik gösterimi .....	7
<b>Şekil 6.</b> KKKA Virüs /Antikor Kinetikleri .....	14
<b>Şekil 7.</b> Tipik miRNA yolağı .....	20
<b>Şekil 8.</b> Mirtron yolakları.....	21
<b>Şekil 9.</b> Simtron yolağı (i), Pre-miR-451 yolağı (j), PretRNA yolağı (Dicer-bağımsız) (k) .....	22
<b>Şekil 10.</b> miRNA-144'e ait amplifikasyon ve tm eğrisi .....	47
<b>Şekil 11.</b> miRNA-1908'e ait amplifikasyon ve tm eğrisi .....	47
<b>Şekil 12.</b> miRNA-144, miRNA-1908 ve iç kontrol geni RNU6'ya ait amplifikasyon ve tm eğrisi.....	48

**TABLÖLAR**

<b>Tablo 1.</b> Kanserde doku ve kan örneklerinde potansiyel miRNA markerları. ....	24
<b>Tablo 2.</b> Revers transkripsiyon reaksiyon bileşenleri.....	42
<b>Tablo 3.</b> qPCR bileşenleri .....	43
<b>Tablo 4.</b> qPCR reaksiyon koşulları.....	43
<b>Tablo 5.</b> Çalışma grubuna ait demografik veriler.....	45
<b>Tablo 6.</b> Hasta grubuna ait klinik ve laboratuvar veriler.....	46
<b>Tablo 7.</b> Hasta-kontrol, ağır/orta-hafif, ölen-yaşayan hasta ve ölen hasta-kontrol gruplarında miRNA-144 ve miRNA-1908 ifade düzeylerinin karşılaştırılması.....	49
<b>Tablo 8.</b> Laboratuvar parametreleri normal olan hastalar ile normal değerlerin dışında olan hastalarda miRNA-144 ve miRNA-1908 ifade düzeylerinin karşılaştırılması.....	50

## 1.GİRİŞ

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) kene kaynaklı zoonotik viral bir hastalık olup, etken *Bunyavirales* grubunun *Nairoviridae* ailesinin *Orthonairovirus* genusunda sınıflandırılan negatif polarite gösteren tek sarmallı bir ribonükleik asit (RNA) virüsüdür (1,2). KKKA hastalığı, viral kanamalı ateş (VKA) sendromları arasında yer alır ve ön planda ateş, kanama ve karaciğer fonksiyon bozukluğu ile seyrederken infekte bireylerde farklı klinik tablolar görülebilir (3). Bazı hastalar asemptomatik olduğu halde bazıları ölümcül olabilmektedir. Bu klinik farklılığın sebebi henüz açıklığa kavuşmamıştır.

Hastalık sırasında mononükleer fagositik hücreler, hepatositler ve endotel hücreleri (EC), KKKA virüsünün ana hedefi olarak bilinir (4,5). Sepsiste olduğu gibi, EC hasarı KKKA patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. EC, virüs aracılı konak kaynaklı soluble faktörler veya doğrudan viral faktörler tarafından da hasarlanabilmektedir (6).

MikroRNA (miRNA)'lar korunmuş deoksiribonükleik asit (DNA) bölgelerinden kodlanan, fakat translasyona uğramayan, transkripsiyonel olarak messenger RNA (mRNA)'ların 3'-çevrilmemiş bölgelerini hedefleyen 18-24 nükleotid uzunluğundaki küçük tek iplikli RNA molekülleridir. Genel olarak, her miRNA birkaç yüz hedef mRNA'ya kadar kontrol ederken, bir mRNA hedefi birden fazla miRNA ile sinerjik regülasyona tabi tutulabilir. Gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli düzeyde rol oynarlar (7). miRNA'ların gelişme, farklılaşma, sağkalım, apoptoz ve yaşlanma gibi hücre yaşamı için gerekli birçok süreçte görev aldığı, işlevlerini yerine getiremediklerinde kanser başta olmak üzere birçok hastalığa yatkınlığa yol açtığı bildirilmiştir. miRNA'lar, doğal ve kazanılmış immün yanıtta da önemlidirler (8). Bu nedenle viral etkenler dahil olmak üzere çeşitli infeksiyonlarda miRNA'ların patogenezinde rol oynaması mümkündür. Virüs ile konak arasındaki ilişkiyi etkileyen miRNA'lar, hücresel miRNA'lar ve viral miRNA'lar olmak üzere 2 türde olabilir. Yapılan deneylerde viral miRNA'ların konak hücre genlerinin ekspresyonunu değiştirdiği gibi, konak miRNA'ların da viral genlerin ekspresyonunu değiştirdiği gösterilmiştir (7). Bugüne kadar, pek çok miRNA tanımlanmıştır ve insanda protein kodlayan genlerin % 60'ını düzenleyeceği tahmin edilmektedir. Çalışmamızda KKKA hastalarında, literatürde bazı viral

hastalıklarda araştırılmış olan miRNA-1908 ve miRNA-144 ifade düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır. Günümüze kadar KKA hastalarında miRNA-1908 ifade düzeyleri çalışılmamış olup miRNA-144 ile ilgili sadece bir çalışma mevcuttur.





## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi

#### 2.1.1. Tanım

Kırım-Kongo kanamalı ateş virüsü (KKKAV) insanlarda mortal seyredabilen kene kaynaklı bir hastalığın etken ajanıdır (9). KKKAV, *Bunyivirales* grubunun *Nairoviridae* ailesinin *Orthonairovirus* genusunda sınıflandırılan bir RNA virüsüdür (10). Hastalığın yayılımı özellikle *Hyalomma* cinsi kenelerle olmaktadır (11,12). KKKA, ani yükselen ateş, başağrısı, kas ağrısı, halsizlik şikâyetlerini takiben yüzde ve gövdede hiperemi, peteşi, mukozalarda kanama ve ilerleyen dönemde intraparakimal kanamalarla çoklu organ disfonksiyonuna yol açan ölümcül bir viral enfeksiyondur (13). Hastalık, Afrika, Asya ve Avrupa'nın her yerinde sporadik olarak ortaya çıkar ve yaklaşık % 30 mortalite ile sonuçlanır. Bulaş, kenelerin yapışması, kene ezilmesi, hastalığın akut safhasında olan bir hasta ya da viremik hayvanların doku ya da kanına temas sonrası olur.

#### 2.1.2. Tarihçe

KKKAV ilk kez 1944-1945 yıllarında Kırım'da, daha sonra 1956'da Kongo'da tespit edilmiş, 1969'da her iki virüsün aynı antijenik yapıda olduğu belirlenmiştir (14).

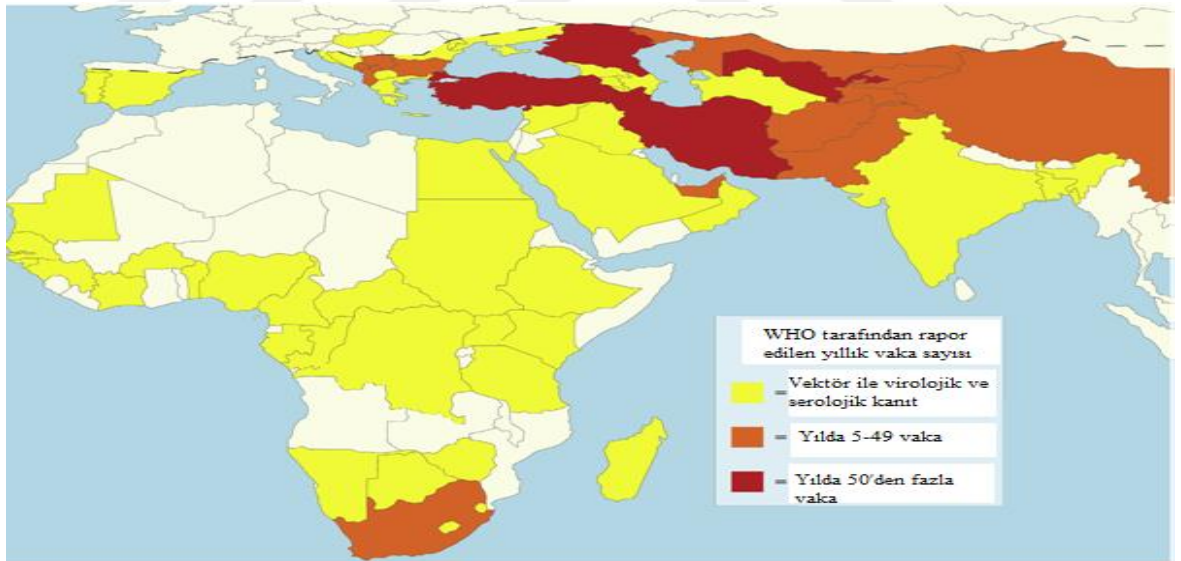
Ülkemizde ilk KKKA olguları Tokat yöresinden gelen hastalarda tanımlanmıştır. İlk kez 2002 yılı Mayıs ayında Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne Tokat yöresinden gelip, ateş, gastrointestinal sistem yakınmaları, kas ağrıları ve kanama gibi yakınmalar ile başvuran ve lökopeni, trombositopeni ve karaciğer enzim yüksekliği gibi laboratuvar bulguları ile yatırılıp takip edilen hastaların bir kısmına sonradan serolojik olarak KKKA tanısı konmuştur (15).

#### 2.1.3. Epidemiyoloji

KKKAV, kene ile bulaşan virüsler içinde en yaygın coğrafik dağılımı gösterendir ve tıbbi önemi olan Arbovirüsler içinde Dang ateşi virüsünden sonra en yaygın olarak görülen virüstür (16).

Doğu Avrupa ve Asya'daki KKKA epidemilerinin, genellikle insanlar tarafından oluşturulan çevresel şartlara bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir. Kırım'daki ilk epideminin, İkinci Dünya Savaşı yıllarında kene ile infekte olmuş bölgelerin tarıma açılması nedeniyle oluştuğu sanılmaktadır. Daha sonra Eski Sovyetler Birliği ve Bulgaristan'da olan epidemiler ise ziraatçılık ve hayvancılıktaki değişimlere bağlanmıştır (17).

Bindokuzyüzyetmişli yıllardan önce olguların çoğunluğu Sovyetler Birliği (Kırım, Astrahan, Rostov, Özbekistan, Kazakistan, Tacikistan), Bulgaristan, Zaire (Kongo) ve Uganda'dan bildirilmiştir (18). Güney Afrika Cumhuriyeti, Kongo, Moritanya, Burkina Faso, Tanzanya ve Senegal'den 1970-2000 yılları arasında ayrıntılı çalışmalar sunulmuş; Ortadoğu ülkelerinden Irak, Pakistan, Birleşik Arap Emirlikleri, Suudi Arabistan ve Umman'dan, ayrıca Çin'den önemli sayıda olgu bildirilmiştir. İkibin yılı itibariyle Pakistan, İran, Senegal, Arnavutluk, Yugoslavya, Bulgaristan, Türkiye, Kenya, Hindistan, Yunanistan ve Moritanya'dan da yeni olgular bildirilmiştir (19). KKKA ülkeler arası dağılımı şekil 1'de gösterilmiştir (20).



**Şekil 1.** KKKA ülkeler arası dağılımı (20)

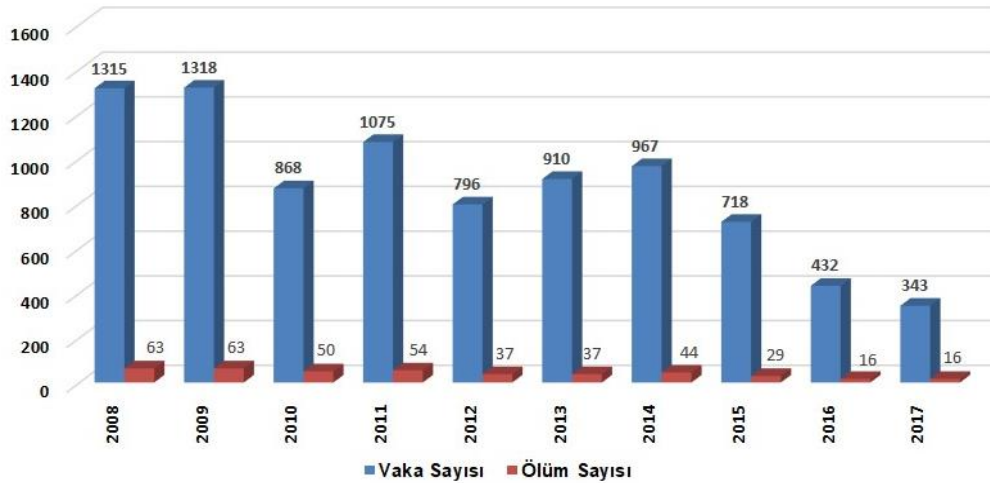
Serolojik olarak yakın komşularımızda daha önceden tanımlanmasına rağmen Türkiye'de ilk vaka 2002 yılında Kelkit Vadisi'nde yer alan Tokat ilinde saptanmıştır

(21). KKKA olguları özellikle Kelkit vadisinde yoğun olarak görülmektedir (Şekil 2).



**Şekil 2.** Kırım Kongo Kanamalı Ateşi olgularının yoğun olarak görüldüğü Kelkit Vadisi (22)

Özellikle İç Anadolu Bölgesi'nde 2002-2003 yıllarında Kızılırmak havzasından, Tokat, Sivas ve Yozgat ilinden olmak üzere KKKA epidemisi bildirilmiştir (23). KKKA vakalarının ve ölümlerinin yıllara göre dağılımı Şekil 3'te gösterilmektedir.



**Şekil 3.** Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Vakalarının ve Ölümünün Yıllara Göre Dağılımı, Türkiye, 2008-2017 (24).

Hastaların % 70'inde kene teması öyküsü bulunurken, % 30'unda evcil hayvanlarla temas öyküsü bulunmaktadır (25). Ulusal ve uluslararası veri tabanları kullanılarak yapılan güncel bir çalışmada Türkiye'de 49 kişide nozokomiyal bulaş olduğu bildirilmiştir (26).

Hastalık mevsimsel özellik göstermektedir. Eski Sovyetler Birliği'nde Haziran ve Temmuz aylarında olgu sayısı açısından en yüksek sayıya ulaşılmaktadır (27). Güney Afrika Cumhuriyeti'nde olguların çoğu ilkbahar ve sonbaharda ortaya çıkmaktadır (28). Genel olarak hastalığın Haziran-Eylül arasında ortaya çıktığı bildirilmektedir (29). Bununla birlikte bölgeye göre değişmekte ve ocak ayında da görülebilmektedir (30).

#### 2.1.4. Etken

Küresel olarak ortaya çıkan viral enfeksiyonlar önemli bir halk sağlığı sorunu teşkil etmektedir. *Bunyavirales* grubu, ciddi insan hastalıklarına neden olan birçok patojenik suş içeren, negatif polariteli tek iplikli RNA virüs gruplarından biridir. *Bunyaviridae*, hayvan virüslerinin en büyük gruplarından biridir (31).

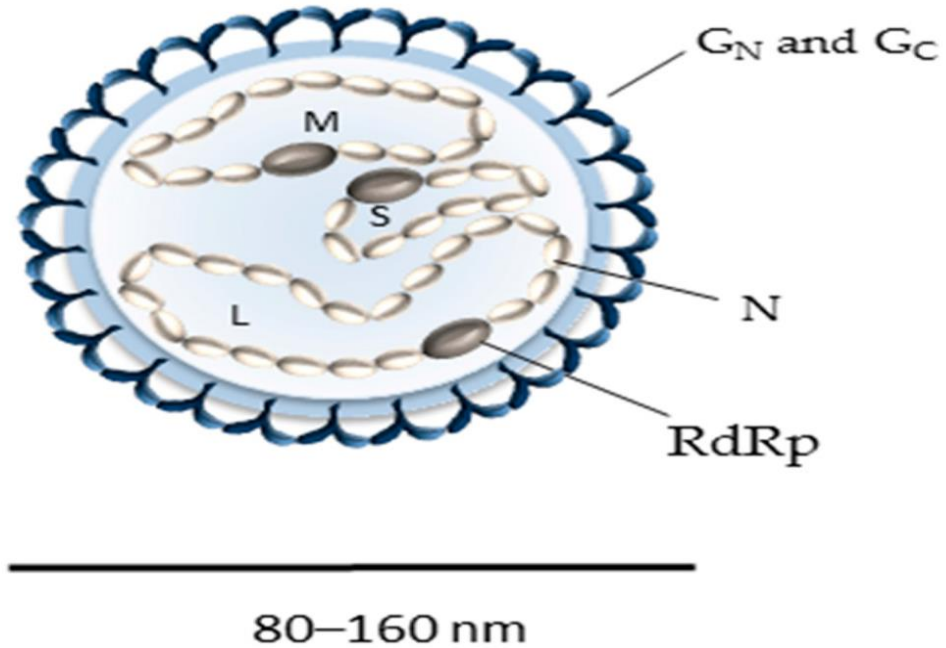
- Phylum: <i>Negarnaviricota</i>	2 subphyla
+ Subphylum: <i>Haploviricotina</i>	4 classes
- Subphylum: <i>Polyploviricotina</i>	2 classes
- Class: <i>Ellioviricetes</i>	1 order
- Order: <i>Bunyavirales</i>	10 families
+ Family: <i>Arenaviridae</i>	3 genera
+ Family: <i>Cruliviridae</i>	1 genus
+ Family: <i>Fimoviridae</i>	1 genus
+ Family: <i>Hantaviridae</i>	4 genera
+ Family: <i>Mypoviridae</i>	1 genus
- Family: <i>Nairoviridae</i>	3 genera
- Genus: <i>Orthonairovirus</i>	14 species
Species: <i>Artashat orthonairovirus</i>	
Species: <i>Chim orthonairovirus</i>	
Species: <i>Crimean-Congo hemorrhagic fever orthonairovirus</i>	
Species: <i>Dera Ghazi Khan orthonairovirus</i>	
★ Species: <i>Dugbe orthonairovirus</i>	
Species: <i>Hazara orthonairovirus</i>	
Species: <i>Hughes orthonairovirus</i>	
Species: <i>Kasokero orthonairovirus</i>	
Species: <i>Keterah orthonairovirus</i>	
Species: <i>Nairobi sheep disease orthonairovirus</i>	
Species: <i>Qalyub orthonairovirus</i>	
Species: <i>Sakhalin orthonairovirus</i>	
Species: <i>Tamdy orthonairovirus</i>	
Species: <i>Thiafora orthonairovirus</i>	
+ Genus: <i>Shaspivirus</i>	1 species
+ Genus: <i>Striawavirus</i>	1 species

Şekil 4. *Bunyavirales* grubunun filogenetik ağacı (32)

KKKA virüsü, *Bunyavirales* grubunun, *Nairovirus* ailesine ait *Orthonairovirus* genusunda sınıflandırılan virüstür (32). Yapılan bir çalışmada virüslerin ve konakçı kenelerin muhtemel birlikte evrimini gösteren *Nairovirus* ve kene filogenezi arasında çarpıcı benzerlikler gösterilmiştir (33).

KKKA salgınları *Hyalomma spp.*, *Rhipicephalus*, *Ornithodoros*, *Boophilus*, *Dermacentor* ve *Ixodes spp.*'nin yaygın olduğu Afrika, Orta Doğu, Doğu Avrupa, Batı ve Orta Asya'da belgelenmiştir. Bu keneler arasında *Hyalomma spp.* virüs için en önemli vektördür (34).

KKKAV tek sarmallı, üç segmentli, negatif polariteli RNA genomu olan 80-160 nm çapta zarflı bir virüstür. KKKAV, S segmentiyle viral nükleokapsit proteinini (N), M segmentiyle membran glikoprotein prekürsörlerini (G<sub>N</sub> ve G<sub>C</sub>), L segmentiyle ise RNA bağımlı RNA polimeraz genini kodlar (35,36). Virüsün hücreye bağlanmasından sonra virionlar sitoplazmada replike olur ve olgunlaşarak endoplazmik retikulumun golgi bölgesindeki vezikül içine yerleşirler. G<sub>N</sub> golgi kompartmanına lokalize iken, G<sub>C</sub> ise endoplazmik retikuluma lokalize olur. Nükleik asit sekans analizlerine göre çoğu S segmentindeki değişikliklere, daha az oranla da M segmentindeki değişikliklere bağlı olarak 8 farklı genetik tür saptanmıştır.



Şekil 5. Bunyavirüsün şematik gösterimi (37).

KKKAV, çevre koşullarına dayanıklı değildir ve konak dışında uzun süre yaşayamaz. Kanda 40°C'de 10 gün yaşayabilirken, donmuş tuzlu suda yıllarca hayatta kalabilir. Düşük pH ve ultraviyole ile hızla inaktive olur. Virüs 75°C'de 5 dakikada (dk), 56°C'de 30 dk'da inaktive olur. Dezenfektanlardan % 1 hipoklorid ve % 2 gluteraldehide duyarlıdır (13). Donanımlı laboratuvarlarda hücre kültürlerinde, Trankripsiyon 1 sinyalizasyonu aktivatörü (STAT-1) hasarlı farelerde ve yeni doğmuş fare beyinde üretilebilir.

### 2.1.5. Bulaş Yolları

*Orthonairovirus* genusunun üyesi olan virüsler *Argasid* veya *Ixodid* keneler aracılığıyla diğer canlılara bulaşır. Bu virüslardan sadece üçünün; Dugbe, Nairobi koyun virüsü ve KKKA virüsü, insanlarda hastalık etkeni olabileceği gösterilmiştir. KKKA virüsları *Argasid* kenelerden ziyade *Ixodid* grubu kenelerce ve bu gruptan da özellikle *Hyalomma* genusu kenelerce (*Hyalomma marginatum marginatum*) bulaştırılırlar (38). Keneler virüs için hem rezervuar konak hem de vektör konak rolündedir. Enfekte olan keneler virüsü tüm hayatları boyunca taşıyabilirler. Keneler arasında virüsün geçişi trans-ovarial, trans-stadial veya horizontal yolla olabilir (39). Kenenin larva ve/veya nimf döneminde kan emdiği viremik bir konaktan virüsü alabilmesi, gömlek degistirme dönemlerinde bunu koruması ve bundan sonraki gelişme dönemlerine taşıyabilmesi trans-stadial geçiş, eriskin döneminde infekte konaklardan kan emen bir dişi kenenin virüsü alıp yumurtalarına aktarabilmesi trans-ovarial geçiş olarak tanımlanmaktadır (40). Vektör kenelerin larval ve nimfal fazının, Güneydoğu Avrupa ve Güney Afrika arasında göç eden göçmen kuşlar üzerinde bulunabildiği gösterilmiş olup, bu kuşların virüsün iki kıta arasında taşınmasına yol açabildiği düşünülmektedir (41). Türkiye'deki 2 vakadan izole edilen suşların Rus ve Kosova suşlarına benzemesi hastalığın göçmen kuşlar vasıtası ile Türkiye'ye taşındığını göstermektedir (42).

KKKAV, sığır, keçi, koyun, tavşan, kirpi, fare ve hatta evcil köpek dahil birçok evcil ve vahşi omurgalı hayvandan izole edilmiştir (43-48). Hayvanlarda hastalık asemptomatik seyreder ve ortalama bir hafta kadar süren bir viremi periyodu olmaktadır.

Virüs, insanlara enfekte olmuş kenelerin yapışması, kene ezilmesi yoluyla veya enfekte hayvan kanlarıyla doğrudan temas ile iletilir. Kişiden kişiye bulaşma, enfekte olmuş hastaların derisine, müköz membranlara veya vücut sıvılarına doğrudan veya dolaylı olarak temas etmesi nedeniyle ortaya çıkabilir (49). Virüs, insandan insana hastane ortamında da bulaşabilir (50,51). KKKA vakalarını takip eden sağlık çalışanları iğne batması, enfekte kan ve salgılarıyla temas ve cerrahi yaralanmalar yolu ile virüsü alabilirler.

Mezbaha çalışanları, kasaplar, çiftçiler ve çiftlik sahipleri, veteriner hekimler ve sağlık çalışanları yüksek riskli meslek grupları olarak kabul edilmektedir (11,52). Endemik bölgede yaşayanlar, endemik bölgeye seyahat edenler, çobanlar, mevsimsel göç sezonunda dışarıda uyuyanlar da risk grupları arasındadır (53).

### **2.1.6. Patogenez**

KKKA'nın patogenezi; enfeksiyonların sporadik olarak gelişmesi ve tam otopsileri yapmak için gerekli imkânların sınırlı olduğu alanlarda olması, virüsün çoğaltılması veya çalışılması için biyogüvenlik seviyesi 4 (BSL-4) içeren laboratuvarlara gereksinim olması ve mevcut hayvan modellerinin yetersizliği sebebiyle tam olarak anlaşılamamıştır (54).

KKKA ilk kez 1944 yılında tespit edildiğinde, başlıca patolojinin vasküler disfonksiyon olduğu, kanamaya ve plazmadan interstisyel bölgeye sıvı kaybına neden olduğu gösterilmiştir. Sovyet klinisyenleri, 'organların ana patolojik bulgularının, çoğunlukla kılcak damarlar ve küçük damarlardaki kan dolaşım bozuklukları' olması nedeniyle otopsi bulgularına dayanarak hastalığı "infeksiyöz kapiller toksikoz" olarak tanımlamışlardır (55).

Vasküler sisteme viral salınımdan sonra, virüs önce kan, karaciğer ve dalakta replike olur ve daha sonra akciğer, böbrek ve beyine yayılır. Mikrovasküler hasar ve hemostaz bozukluğu ile ortaya çıkan EC disfonksiyonu (11,56) ve bozulmuş immün yanıt, hastalığın seyrinde ve şiddetinde önemli rol oynamaktadır (57-59). EC aktivasyonu inflamatuvar reaksiyonları başlatır ve intrinsik koagülasyon kaskadını harekete geçirir. Sitokinlerin ve çözünür moleküllerin aşırı salınımı vasküler geçirgenliğin artmasına, hipotansiyona, çoklu organ yetmezliğine ve şoka yol açar. İntrinsik koagülasyon kaskadının harekete geçirilmesi dissemine intravasküler

koagülasyon (DIC) ve kanamalara neden olurken, bozulmuş immün yanıt virüsün kontrol edilemeyen replikasyonuna yol açar (60-63). KKKK ve sepsis patogenezi benzerdir. Her ikisinde de sitokin salınımindaki artış vasküler kollapsa ve şoka yol açar (64).

EC'nin fonksiyonel olarak bozulmasının, hastalığın akut evresi sırasında ortaya çıkan dolaşımdaki mediatörlere bağlı olması muhtemeldir. Filovirüslerle enfekte olan hücrelerin tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) da dahil olmak üzere EC geçirgenliğini ve bütünlüğünü bozabilecek inflamatuvar mediatörleri salgıladığı daha önce gösterilmiştir (65). KKKK hastalarında görülen subendotelyal ödem muhtemelen TNF- $\alpha$  ile ilişkilidir (66). Ek olarak, TNF- $\alpha$ , fizyolojik antikoagülasyon yollarını inhibe ederek antifibrinolitik etkilere sahiptir ve plazminojen aktivatörlerinin üretimi ve plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI), bu sitokin tarafından indüklenir. Bu etkiler konakta DIC gelişimini kolaylaştırır. Bir diğer önemli proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokin, interlökin-6 (IL-6), konakçısındaki pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu için gerçek mediyatördür (67,68). Ayrıca IL-6 ve doku faktörü (TF) / aktive faktör VII kompleksi tarafından başlatılan TF aracılı trombin oluşumu, TNF- $\alpha$ 'ya benzer şekilde DIC gelişiminde önemli bir role sahiptir (69-71). Türkiye'de hafif ve şiddetli vakalar üzerine yapılan bir çalışmada yüksek serum TNF- $\alpha$  düzeyleri ciddi hastalığa neden olurken, IL-6 ölen hastalarda yaşayanlara göre daha yüksek bulunmuştur (72).

VKA tablosunda vasküler hasarın güçlü bir antiinflamatuvar aracı olan IL-10, monosit yüzeyinde TF ekspresyonunu inhibe ederek pıhtılaşmayı kontrol eder (72). Aktive edilmiş B lenfositleri ile immünglobulin (Ig) sekresyonunun artması ve B hücrelerinin farklılaşması yoluyla humoral bağışıklık yanıtının etkinliğinde de rol oynar (73,74). VKA'da trombositopeninin kesin nedeni henüz kanıtlanamamıştır. Bununla birlikte, IL-10 seviyesinin Ebola virüsü enfeksiyonunda trombositopeni ile anlamlı korelasyon gösterdiği bulunmuştur (75).

Aktive edilmiş T hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücreler tarafından salgılanan interferon gama (IFN- $\gamma$ ), makrofaj aktivasyonu yoluyla inflamatuvar yanıt ve viral immüniteden sorumludur (76). Doğal immünite, adaptif immünite geliştirilmeden önce virüslere karşı savunmanın ilk adımıdır ve tip I IFN üretimi ile karakterize edilir; bu, virüslerin erken çoğalmasını ve yayılmasını sınırlamak için çok



önemlidir. KKKAV, tip I IFN'ye duyarlı virüslerden biridir ve IFN cevabını geciktirir (77). Dahası, tip I IFN reseptörü bloke edilmiş farelerin KKKAV ile karşılaşması ölümcül bir sonuç ve daha yüksek KKKAV titreleri ile sonuçlanır (78,79).

EC'ler, vasküler hücre adhezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve intraselüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) içeren çözünür adhezyon moleküllerinin upregülasyonu ile enfeksiyon durumunda aktive edilir. Bazı çalışmalar mortal vakalarda çözünebilir adhezyon moleküllerinde belirgin bir artış olduğunu bildirmiştir (58,59). Böylece, ICAM-1 ve VCAM-1, KKKA hastalarında vasküler hasarın ve hastalığın ciddiyetinin bir göstergesi olarak kullanılabilir. Vasküler endotelial growth faktörü (VEGF), hastalık şiddetini belirlemek için kullanılan başka bir biyolojik belirteçtir. EC'lerin spesifik mitojenik faktördür ve angiogenesis ve permeabilitede önemli bir role sahiptir. Birçok çalışmada şiddetli vakalarda VEGF ve reseptörünün (VEGFR-1) düzeyi şiddetli olmayan vakalara göre anlamlı düzeyde daha yüksek olarak tespit edilmiştir (80,59).

KKKA'da Kupffer hücreleri, hepatik EC'ler ve hepatositler temel hedeflerdir. Hepatositlerin nekrozu, karaciğer enzimlerinin artmasına yol açar (81). Ayrıca KKKA hastalığında, lökositlerdeki artmış miyeloperoksidaz ekspresyonu artmış lökosit lizisine yol açabilir. Bu nedenle KKKA'lı hastalarda lökopeninin sebeplerinden birisi de lökositlerin lizisi olarak düşünülebilir (82).

### **2.1.7. Klinik Bulgular**

KKKA ciddi morbidite ve mortaliteye sahip multisistemik tutulum gösteren bir hastalıktır. KKKAV'ye bağlı olarak hastalık belirtilerinin ortaya çıktığı bilinen tek konak insandır (13). Virüs ile infekte olanların hasta olma olasılıkları % 21.5'tir; başka bir ifadeyle, infekte olan her beş kişiden birinde hastalık görülmektedir (83). 1979 yılında Hoogstraal KKKA enfeksiyonunu inkübasyon, prehemorajik, hemorajik ve konvelesan dönemleri olmak üzere dört farklı evrede tanımlamıştır. (84).

İnkübasyon dönemi, kenenin tutunmasıyla hastalık gelişmesi arasında geçen süredir ve bu süre, viral yük ve enfeksiyonun edinilme yoluna bağlı olarak değişebilirken, ortalama 3-7 gün olarak bildirilmiştir. İnkübasyon süresi kan yoluyla geçişlerde daha kısadır ve hastalık bu vakalarda daha şiddetli seyreder. Hastaneye

başvurmadan önceki ortalama süre Türkiye’de 3.8 ile 5.5 gün arasındadır ve Birleşik Arap Emirlikleri’nde 3.5 gün olarak bildirilmiştir (13,80,85).

İnkübasyon dönemi sonrasında 1-7 gün süren prehemorajik dönemde ani başlayan ateş, kırıklık, baş ağrısı, halsizlik, aşırı duyarlılık, kollarda, bacaklarda ve sırtta şiddetli ağrı ve belirgin iştahsızlık hastalarda sıklıkla görülen klinik bulgulardır. Bazen kusma veya ishal eşlik edebilir. İlk günlerde yüz ve göğüste hiperemi ve konjunktivalarda kızarıklık dikkati çeker. Hemorajik dönem, kısadır, hızlı gelişir ve genellikle hastalığın 3. ve 5. günleri arasında başlar. Epistaksis, hematemez, melena veya hematüri sıktır. Bazı vakalarda çok yaygın purpurik döküntüler görülebilir. Gövde ve ekstremitelerde ekimozlar oluşabilir. Genellikle hepatit görülür, ağır olgularda hastalığın 5. gününden itibaren hepatorenal sendrom ve pulmoner yetmezlik meydana gelebilir. Hepatomegali veya splenomegali hastaların yarısında tespit edilebilir. Kişilik bozuklukları, boyun ağrısı, huzursuzluk gibi bulgularla başlayan ve vakaların % 10-25’inde ajitasyon, depresyon, komayla seyreden ciddi santral sinir sistemi bulguları görülebilir. SSS tutulumu prognozun şiddetiyle ilişkilidir. Santral tutulum daha çok ensefalopati şeklinde görülürken, bu vakalarda mortalite % 30-50’lere ulaşabilir. Mortal vakalarda ölüm genellikle 5-14. günlerde izlenir, hemoraji, çoklu organ yetmezliği ve şok sıklıkla görülen ölüm nedenidir. Konvalesan dönem, hastalığın başlangıcından 10-20 gün sonra ortaya çıkar. Hastalığın relapsı bugüne kadar bildirilmemiştir (86-90).

### **2.1.8. Laboratuvar Bulguları**

Erken tanı için tam kan sayımı ve biyokimyasal testler önemlidir. Tam kan sayımında hastalığın ilk haftasında trombositopeninin gelişimi ile erken dönemde lökopeni görülür. Mortalite ile sonuçlanan olgularda trombosit sayıları son derece düşük olabilir. Hemogloblin düzeyindeki düşüş ciddi organ yada boşluk kanaması olan ağır vakalarda görülebilir. Protrombin zamanı (PT) ile aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) uzaması ve DIC göstergesi olan fibrin yıkım ürünlerinin ve D-dimerin artması ile koagülasyon anormallikleri gelişir. Progresif hepatik tutulum, serumda karaciğer ile ilişkili enzimler, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinin artmasına neden olur.

Hastalarda hipotansiyon gelişince artan kan üre azotu (BUN) ve kreatinin, böbrek yetmezliğinin bir ölçüsüdür (91).

Swanepoel ve ark. hastalığın başlangıcında (ilk 5 gün boyunca) ölçülebilen ve şu bulguların herhangi biri bulunduğu takdirde hastaların % 90'ında mortal bir sonuç öngören klinik laboratuvar kriterlerini tanımlamışlardır: Beyaz küre sayısının (WBC)  $10 \times 10^9$  hücre / Litre (L) veya daha fazla olması, platelet sayısının  $20 \times 10^9$  / L veya daha az olması, AST seviyesinin 200 Ünite (U) / L veya daha fazla olması, ALT seviyesinin 150 U / L veya daha fazla olması, APTT'nin 60 saniye veya daha uzun olması veya fibrinojen seviyeleri 110 miligram (mg) / desilitre (dL) veya altında olması (85,92).

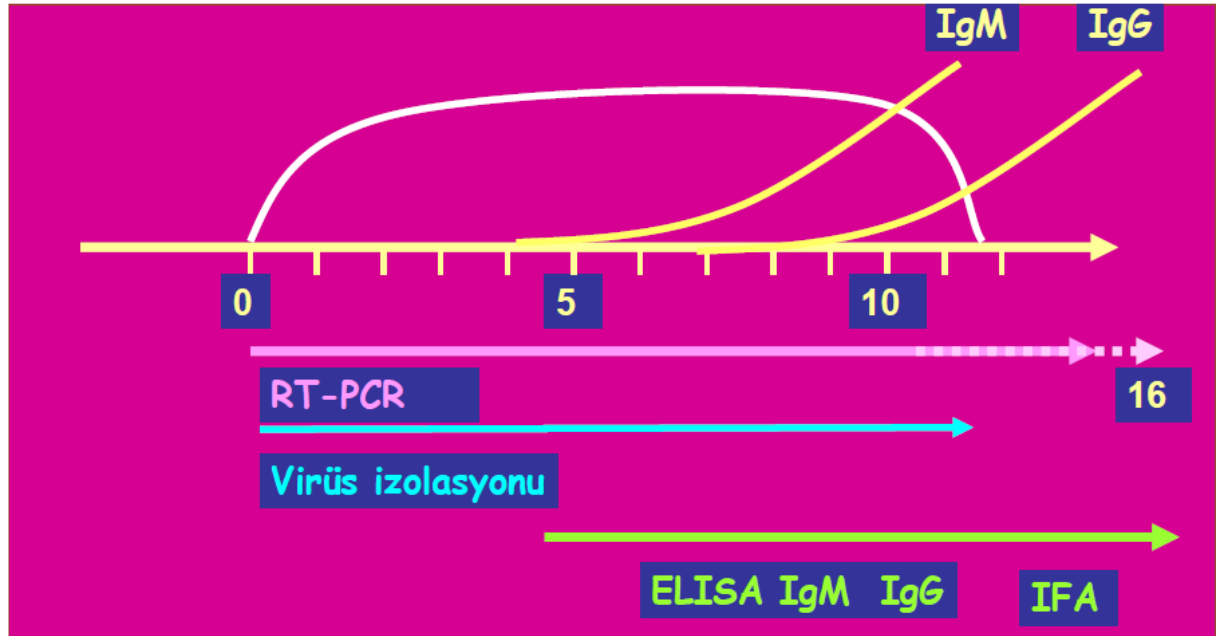
### 2.1.9. Tanı

Uygun maruziyet öyküsü olan bir kişide, ateş, halsizlik ve diğer nonspesifik bulgular ve vasküler sızıntı ve koagülasyon defektlerini düşündüren fiziksel bulguların varlığında, KKKA'dan şüphelenilmelidir. İlk laboratuvar değerlendirmesinde lökopeni, trombositopeni ve serum AST ve ALT seviyelerinin yükselmesi şüphelyi destekler (91). Klinik ve laboratuvar bulgularıyla KKKA şüphesi bulunan olguların tanısında; virüsün kan ve doku örneklerinden izolasyonu, virüs antijeninin ve virüse karşı oluşan antikorların serolojik olarak Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) veya Enzymeimmune assay (EIA) aracılığıyla gösterilmesi tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Oluşan antikorlar serolojik yöntemlerden en hızlı ELISA ile saptanabilmektedir. IgM antikorları hastalığın 6-7. gününden sonra ve IgG antikorları ise hastalığın yaklaşık 7-10. gününden sonra serumda tespit edilebilir (13). Spesifik IgM enfeksiyondan 4 ay sonra tespit edilemeyen seviyelere iner ancak IgG en az 5 yıl boyunca tespit edilebilir seviyelerde kalır. Son veya mevcut enfeksiyon, serokonversiyon gösterilerek veya eşleştirilmiş serum örneklerinde KKKA virüsüne karşı IgG antikor titresinde dört kat ve daha fazla bir artışın gösterilmesiyle veya IgM antibody capture – ELISA (MAC-ELISA) yöntemiyle KKKA IgM antikor pozitifliğinin tek bir kan örneğinde saptanması ile gösterilir. (93). ELISA yöntemleri, immünofloresan testler ve nötralizasyon testlerinden oldukça spesifik ve sensitiftir (94). Son zamanlarda, KKKAV

enfeksiyonlarının serolojik olarak teşhisi için rekombinant bir nükleoprotein temelli IgG ELISA geliştirilmiştir (95).

Virüs izolasyon çalışmaları, genellikle BSL-4 olan yüksek muhafaza laboratuvarlarında yapılmalıdır. Hücre kültüründe izolasyon, yeni doğan farelere intrakraniyal inokulasyon gibi geleneksel yöntemlerden daha basit, daha hızlı, ancak daha az sensitiftir (96). Virüs, LLC-MK2, Vero, BHK-21 ve SW-13.4 gibi hücre dizileri kullanılarak izole edilebilir (4). Virüs izolasyonu 2-5 gün içinde başarılabilir, ancak hücre kültürleri sensitif değildir ve genellikle yalnızca hastalığın ilk 5 gününde karşılaşılan nispeten yüksek viremi bulgularında tanı olanağı verir. KKKAV'nin sitopatik etkisinin zayıf olması veya hiç olmaması nedeniyle, spesifik monoklonal antikorlar veya moleküler yöntemler kullanılarak immüno Floresan antikor testlerle (IFA) tanı doğrulanmalıdır (4).

KKKAV enfeksiyonunun erken tanısı için en çok kullanılan yöntem revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR)'dir. Bu yöntem yüksek seviyede sensitif, spesifik ve hızlıdır (97). Daha sensitif ve spesifik olan yeni geliştirilmiş yöntem otomatize real time assaydir. Bu yöntem ile kontaminasyon riski en aza indirilmektedir (98).



Şekil 6. KKKAV Virüs /Antikor Kinetikleri (99)

### 2.1.10. Tedavi

KKKA için etkili bir antiviral ilaç tedavisi yoktur ve destek tedavisi tedavinin temelini oluşturur (100). Teyit edilmiş vakalar için hospitalizasyon genellikle gereklidir ve şiddetli vakalar için iyi donanımlı bir yoğun bakım ünitesi gereklidir ve şiddetli vakalar kan ve kan ürünlerine kolay erişim olanağı sağlayan bir üçüncü basamak merkeze yönlendirilmelidir. Kan ve vücut sıvıları için gerekli kontroller, sağlık personelinin KKKAV'ye maruziyetini koruyarak başlatılmalıdır. Genel destekleyici önlemler, sıvı replasmanı (kristaloid veya sentetik kolloid) ile ağrı ve ateş için parasetamoldür. Hemorajik komplikasyonlar duruma göre değerlendirilir ve eritrosit süspansiyonu, taze donmuş plazma ve/veya trombosit süspansiyonu ile gereken replasman sağlanmalıdır. Hemodiyaliz ise böbrek yetmezliği, hiperkalemi, şiddetli metabolik asidoz, üremik perikardit ve aşırı sıvı yükü olan hastalar için gerekebilir (100,101). Solunum yetmezliği durumunda mekanik ventilasyon sağlanır ve sekonder enfeksiyonlar antibiyotiklerle tedavi edilir (102). Türkiye'den yapılan son bir çalışma, yüksek doz metilprednizolon, intravenöz immünoglobülin ve taze donmuş plazmanın bir kombinasyonunun faydalı olduğunu ileri sürmüştü ancak yazarlar çalışmaya bir kontrol grubu dahil etmemiştir (103).

KKKA'nın Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylı bir antiviral tedavisi yoktur. Ribavirin, in vitro ve in vivo birçok virüse karşı geniş bir antiviral aktiviteye sahip bir nükleozid analogudur. Etki mekanizması; indirekt etkileri (inozin monofosfat dehidrogenaz inhibisyonu, immünmodülasyonu) ve direkt etkileri (mRNA capping, RNA polimeraz inhibisyonu ve letal mutagenез) içerir (104). Geniş spektrum aktivitesi, birden fazla etki mekanizmasına atfedilebilir. Bununla birlikte, ribavirin alımında hücre tipleri ve dokular arasında değişkenlik gözlemlenmiştir ve ribavirin dirençli varyantlar tanımlanmıştır (105). Yapılan bir çalışmada, ribavirinin KKKAV ile enfekte fare modelinde mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (106). Diğer bir çalışmada ise, ribavirinin tip I IFN reseptöründen yoksun olan KKKAV ile enfekte farelerin hayatta kalma oranını arttırmadığı tespit edilmiştir (107). Mevcut bilgiler ribavirinin tartışmalı olmakla birlikte özellikle hastalığın başlangıç evresinde etkili olabileceği, kanamalar başladıktan sonra ise etkili olmadığı yönündedir (108).

Yeni ilaç adaylarından ribamidin, ribavirinden 4.5-8 kat daha az antiviral etki gösterirken; diğer ajanlardan 6-azauridin, selenazofurin ve tiazofurinin anlamlı bir antiviral etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (108). RNA virüs inhibitörlerinden favipiravirinin hayvan deneylerinde KKKK hastalığının geç evrelerinde bile klinik yarar gösterdiği ileri sürülmektedir (109).

### 2.1.11. Korunma Ve Önlem

Hastalığı önlemenin en iyi yolu, virüse maruz kalmaktan kaçınmak veya maruziyet riskini en aza indirmektir. Bu çeşitli şekillerde başarılabilir. Yüksek riskli mesleklerde kişiler (mezbaşa çalışanları, veterinerler, çobanlar, vb.), virüs bulaşmış kenelere, virüs bulaşmış hayvan kanı veya diğer dokulara maruz kalmaktan kaçınmak için her türlü önlemi almalıdır. Örneğin, eldiven giymek ve çıplak cildin kan ve diğer dokulara maruz kalmasını sınırlamak, etkili pratik kontrol önlemlerindedir. Aynı şekilde, şüpheli KKKK hastalarıyla ilgilenen sağlık personeli standart bariyer önlemleri kullanmalıdır. Kene kontrolü, *Hyalomma* kenelerinin yaygın olduğu dünyanın birçok bölgesinde her zaman pratik olmayabilir. Bununla birlikte, KKKK endemik bölgelerindeki akarid kullanımı, enfekte kenelerin popülasyonunun azaltılmasında etkilidir. Böcek kovucularının (dietil toluamid) cilde uygulanması ve permetrin ile emdirilmiş giysilerin kullanımı kene yapışmasına karşı bir miktar koruma sağlayabilir. Diğer kene kaynaklı hastalıklarda olduğu gibi, kişinin vücudunun ve kıyafetlerinin kene muayenesi ve bunların hızlı bir şekilde alınması enfeksiyon riskini en aza indirebilir (4).

KKKK'ya maruz kaldıktan sonra ribavirinin maruziyet sonrası profilaksi değeri tartışmalıdır. Sağlık çalışanlarına KKKK kaynaklı hastadan iğne batması gibi yüksek riskli kontaminasyondan sonra profilaksi önerilir. Maruz kalmış kişiler için tam kan sayımı ve biyokimyasal testleri kontrol ederek günlük takip gerekir. Ribavirin profilaksisi genellikle iyi tolere edilir, potansiyel olarak yararlıdır ve bu nedenle perkütan yaralanmalar gibi maruz kalma durumu bulunan sağlık çalışanları için tavsiye edilmelidir (110).

KKKK için geçerli bir aşı bulunmamaktadır. Eski Sovyetler Birliği Rostov bölgesinde ve Bulgaristan'da bir grup gönüllüye deneysel bir aşı verilmiş ve yüksek antikor seviyeleri tespit edilmiştir (111).

## 2.2. Kodlama Yapmayan RNA' lar

Moleküler biyolojinin temeli, genetik bilginin DNA'dan RNA'ya ve proteine aktarıldığını ileri sürmektedir (112). Bununla birlikte, çalışmalar, insan genomu DNA'sının % 75'inin RNA'ya transkribe olmasına rağmen, sadece % 3'ünün proteine çevrildiğini ortaya koymuştur (113). Bu, DNA dizilerinin çoğunluğunun, kodlayıcı olmayan RNA'lar (ncRNA'lar) olarak kopyalandığını gösterir. Bu ncRNA'lar, hem transkripsiyon düzeyinde hem de posttranskripsiyonel düzeyde etkili olan gen ekspresyonunun güçlü düzenleyicileri olarak ortaya çıkmaktadır (114).

NcRNA'lar büyüklüklerine göre; küçük interferans RNA (siRNA), PIWI etkileşimli RNA (piRNA), transkripsiyon başlatıcı RNA (tiRNA), mikroRNA (miRNA), küçük nükleolar RNA (snoRNA), uzun kodlanmayan RNA (lncRNA) olarak sınıflandırılmıştır. siRNA, piRNA, tiRNA, miRNA 200 nükleotidden daha küçüktür, snoRNA'lar yaklaşık 60-300 baz çifti (bp) boyutundadır ve lncRNA'lar ise 200 bp'den daha uzundur (115). LncRNA'lar mRNA'lara benzer şekilde kopyalanır ve işlenir. Fonksiyonel olarak lncRNA'lar, bir hücredeki transkripsiyonel düzenlemeden, histon modifikasyonundan, tuzak bağlama bölgeleri olarak işlev gören düzenleyici faktörlerin transkripsiyonunu module etmeye kadar çeşitli etki mekanizmalarına sahiptir. LncRNA'ların aynı zamanda sünger gibi davranarak ve böylece miRNA'ların hedef mRNA'larına bağlanmasını önleyerek miRNA'ları düzenlediği de bilinmektedir. Gen ekspresyon profili, lncRNA'ların doku ve hücreye spesifik olarak eksprese edildiğini ve dolayısıyla farklı patofizyolojik koşullara bağlı olarak farklı ekspresyona sahip olduğunu gösterir (116,117).

### 2.2.1. MikroRNA'lar (miRNA)

#### 2.2.1.1. miRNA'ların Tarihçesi

miRNA'ların hikayesi, 1993 yılında Victor Ambros ve meslektaşlarının *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) gelişiminin zamansal kontrolündeki kusurları araştırmak için bir genetik tarama yapmalarıyla başladı (118). Ambros, gen lin-4'ün (larva gelişiminin L2 fazının kritik kontrolü için bilinen bir lin-14 represörü) bir protein kodlamadığını keşfetmiştir (119). Bunun yerine, lin-4'ün yaklaşık 22 ve 61 nükleotid uzunluğunda bir çift küçük RNA ürettiğini gözlemlemiştir. Daha uzun

olanın daha kısa olanın öncüsü olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca, lin-4 RNA'sının, antisens düzenleyici bir mekanizma öneren, lin-14 geninin 3' çevrilmemiş bölgesinde (UTR) çoklu bölgelere karşı antisens komplementer olduğunu da fark etmişlerdir (118,120). Kısa lin-4 RNA, şu anda miRNA olarak adlandırılan, hala büyüyen miRNA ailesinin kurucu üyesi olarak kabul edilmektedir (121).

Sadece 7 yıl sonra ikinci miRNA keşfedilmiştir. Gerçekten de, 2000 yılından önce, nematodlar içinde başka türlerde veya diğer benzer kodlayıcı olmayan RNA'larda lin-4 ortoloğu için herhangi bir kanıt yoktur. Tüm bunlar, *C. elegans*'ın L4 evresinden erişkin evresine geçişini kontrol eden 21 nükleotidlik küçük bir RNA'yı kodlayan let-7'nin keşfiyle değişmiştir (122). Aynı zamanda let-7'nin, hedefinin 3'-UTR'sine (lin-41 ve hbl-1) bağlanarak ve translasyonunu inhibe ederek lin-4'e benzer şekilde çalıştığı da gösterilmiştir (123,124). Ayrıca, lin-4'ten farklı olarak, bu yeni küçük RNA'nın, yumuşakçalar, deniz kestaneleri, sinekler, fareler ve insanlarda hızla tanımlanmış olan ortologlarla, metazoonlar boyunca evrimsel olarak korunmuş olduğu gösterilmiştir (125). Lin-4 ortologlarının daha kapsamlı profil analizinde daha sonra tanımlandığını belirtmek gerekir (125,126).

Türler boyunca miRNA'ların korunması, daha önce yapılan tahminlere göre gelişimsel regülasyondaki küçük RNA'lar için daha genel ve yaygın bir rol önermiştir. Farklı gruplar tarafından yapılan büyük ölçekli klonlama, bu küçük RNA'ların, *C. elegans*, bitkiler ve çoğunlukla fareler ve insanlar kadar uzaklaşan türlerdeki çeşitliliğinin ve öneminin derecesini göstermiştir (121,127-130). Artık miRNA'ların *Homosapiens*, *Nematod* ve *Drosophila*'daki tüm tahmin edilen genlerin % 1'ini oluşturduğu ve bu nedenle de gen düzenleyici moleküllerin ana ailelerinden birini oluşturduğu kabul edilmektedir (131-133).

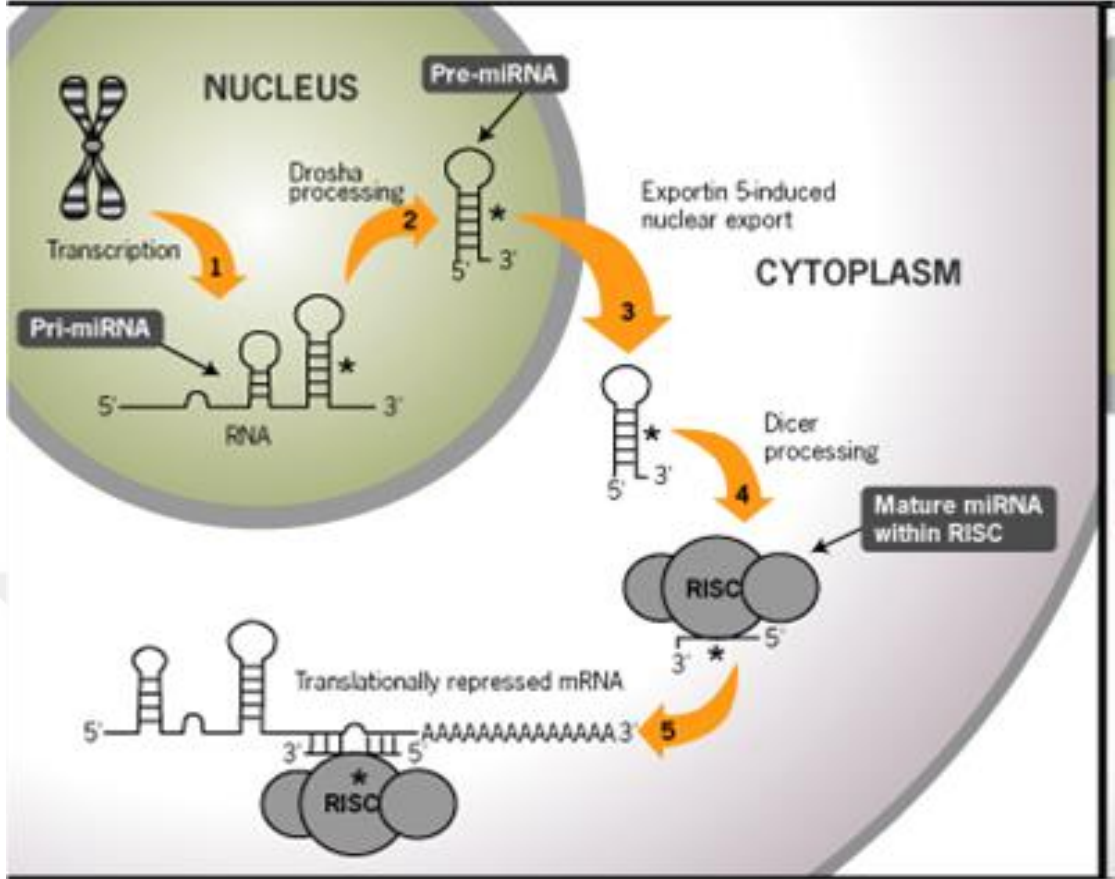
miRNA'ların keşfi ile RNA moleküler biyolojisinin görünen kısmı büyük ölçüde değişmiştir. Yakın zamana kadar gen regülasyonunun ana mekanizmalarından biri hakkındaki bilgilerimizde önemli bir boşluk mevcuttu. miRNA'lar artık hücre proliferasyonu, apoptoz, diferansiasyon ve organogenez gibi hemen hemen her biyolojik işlemden büyük oyuncular olarak kabul edilmektedir (134-137). İnsan genlerinin üçte birinden fazlasının miRNA hedefleri olduğu gösterilmiştir (138).



### 2.2.1.2. miRNA'ların Biyogenezi

miRNA'lar, posttranskripsiyonel gen regulasyonunda önemli bir rol oynayan yüksek oranda korunan küçük kodlayıcı olmayan RNA'lardır. Hedef mRNA'larının tipik olarak 3'UTR'leri içinde (kısmen) tamamlayıcı sekanslara bağlanma ile miRNA'lar, translasyonu repress eder veya mRNA bölünmesini veya degradasyonunu indükler (139).

miRNA genleri, primer miRNA transkriptlerini (pri-miRNA'lar) üretmek için RNA polimeraz II veya bazen RNA polimeraz III ile kopyalanırlar (140). Sonuç olarak, pri-miRNA'lar uzundur ve mRNA'lar veya pre-mRNA'larda bulunanlara benzer 5' ve 3' modifikasyonları içerebilirler (141). Pri-miRNA'ların 5' ucunda 7 metilguanozin başlığı ve 3' ucunda poli A kuyruğu bulunmaktadır (142). Pri-miRNA'lar, nükleustaki, RNase III enzimi Drosha ve çift sarmallı RNA bağlayıcı protein DiGeorge sendromu kritik bölge geni 8'i (Pasha olarak da bilinen DGCR8) içeren bir mikro işlemci kompleksi ile işlenir ve işlenen miRNA'lar 70-100 nt uzunluğunda pre-miRNA'ya dönüşürler. Mirtron adı verilen bazı miRNA'ların da Drosha gereksinimini atlayan intronlardan üretildiği gösterilmiştir. Pre-miRNA'lar daha sonra bir karyoferin olan exportin-5 ve RanGTP karşılıklı transfer sistemi ile sitoplazmaya aktarılır, burada RNase III enzimi ailesinden olan Dicer tarafından işlenir. Bu, 3' ucunda 2 nt çıkıntıları olan 20–25 nt uzunluğunda kısa çift sarmallı olgun miRNA ile sonuçlanır. Bu çift iplikli miRNA'ların bir ipliği daha sonra Dicer tarafından bir Argonaute alt aile üyesi içeren RNA induced silencing complex (RISC) enzim kompleksine yüklenir, daha sonra hedef mRNA'lar 3'UTR bölgesini, translasyonu repress etmek için miRNA ile mRNA arasındaki kusurlu bir eşleşmeyi hedefler. Bununla birlikte, son zamanlarda miRNA'ların hedef mRNA'ların translasyonunu aktif hale getirdiği de gösterilmiştir (143). Memelilerde ve omurgasızlarda, miRNA'ların 3'UTR'leri içinde çoklu komplementer hedef bölgeleri içeren mRNA'ların ekspresyonunu düzenlemeye eğilimli oldukları iyi bilinmektedir. Bununla birlikte, son bulgular miRNA'ların 5'UTR'leri, açık okuma çerçevesi (ORF)'leri ve promoter bölgelerini de hedefleyebileceğini önermiştir (144-146).

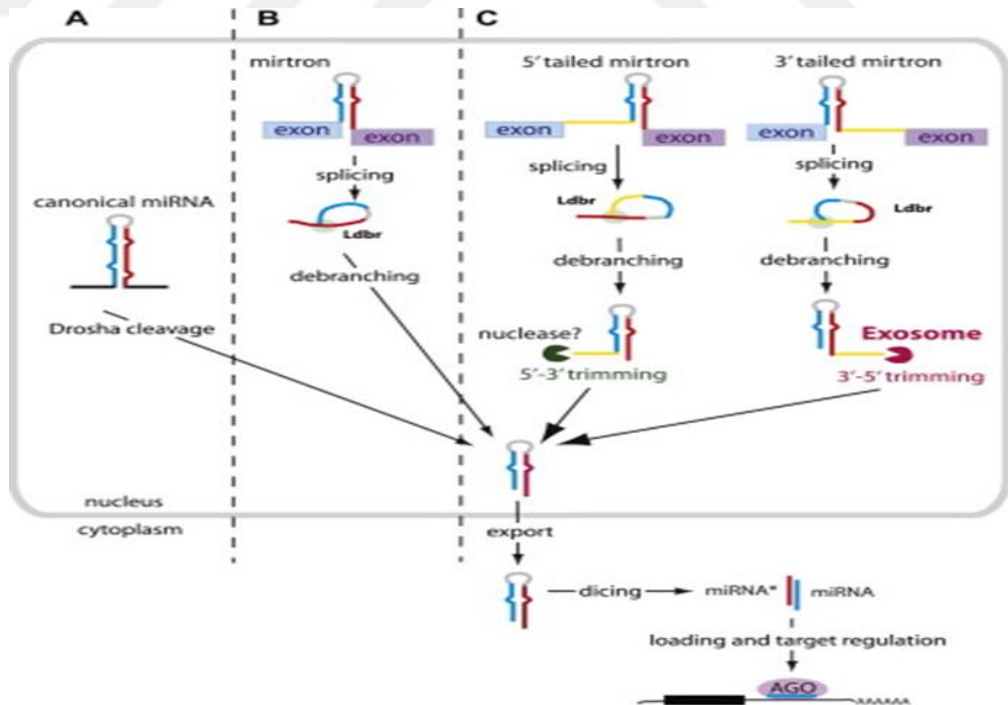


Şekil 7. Tipik miRNA yolağı (147)

miRNA biyogenezi için tipik yol tarif edilmiş olsa da, son bulgular, miRNA'nın biyogenezindeki doğal varyasyonların mevcut olduğunu göstermiştir. Birkaç Drosha bağımsız biyogenez mekanizması bildirilmiştir. Mirtronlar, orijinal olarak *Drosophila melanogaster* ve *C. elegans* (148,149)'ta tanımlanan ve memelilerde teyit edildiği üzere, splicing bağımlı miRNA'ların yeni bir sınıfıdır (150-152). Tipik miRNA biyogenez yolağının aksine, mirtronlar, kısa intronların dış kenarında kümelenmiş küçük eklemli komponentler olarak tanımlanmıştır. Bu gözlemlere dayanarak, Drosha enzimiyle kesilmesinden ziyade, splicing mekanizması ile pre-miRNA hairpin uçlarının tanımlanmasından sorumludur; bu, intronun 5' ve 3' uçlarında komplementer sekanslar ile hairpin formasyonuna izin verir. Oluşan bu yapının uçları insanda DBR1 enzimi ile kesilerek Exportin-5 ile sitoplazmaya taşınır ve Dicer enzimi ile kesilerek matür miRNA'lar oluşturulur (148,149,153).

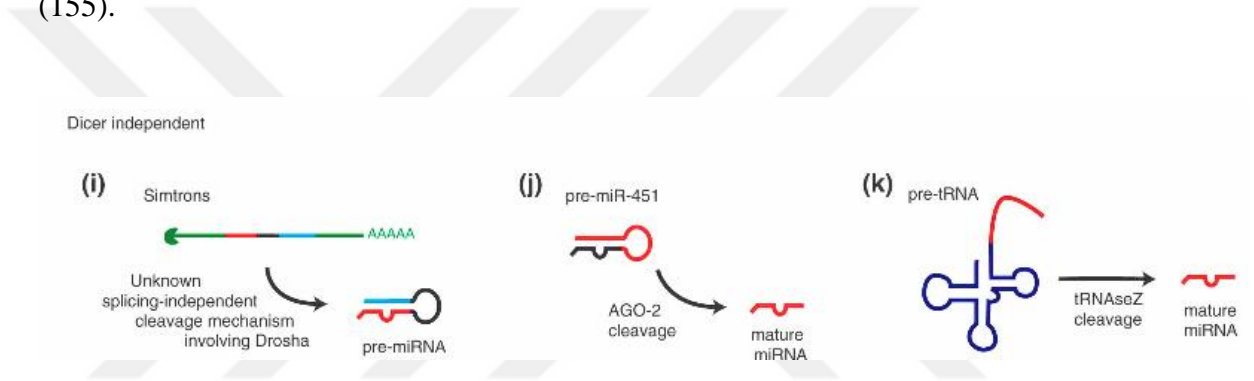
İntron üzerinde, küçük RNA üreten hairpin formasyonunun bir ucunda bazı mirtron benzeri lokusların yer aldığı açıklanmıştır. Hairpin formasyonunun 5' veya 3' ucunda bulunan şekillenmemiş uzantıların olduğu bu yapılar, kuyruklu mirtronlar olarak adlandırılmıştır. Bu tür lokusların varlığı, splicing mekanizmasının, nihai dicing öncesinde, ilave nükleolitik işleme tabi tutulması gereken bir RNA ara ürünü oluşturduğunu işaret eder. 3' kuyruklu mirtronların biyogenezi, *Drosophilidler* arasında yüksek oranda korunan mir-1017'ye göre açıklanmıştır.

3' kuyruklu mirtronların biyogenezinde ilk basamak intronların splicing yaparak hairpin formasyonunu oluşturmasıdır. Hairpin formasyonu Ldbr (insanda DBR1) enziminin kesimine uğrar ve 3' ucunda 100 nt'lik bir uzantı bulunduran 3' kuyruklu mirtronları oluştururlar. Bu 3' kuyruklu mirtronların 3'→5' ekzonükleazlar ile 3' ucundaki uzantılar uzaklaştırılır. Exportin-5 ile sitoplazmaya taşınan bu mirtronlar, Dicer enziminin kesimiyle matür miRNA'ları oluştururlar. 3' kuyruklu mirtronlar henüz omurgalılarda gözlenmemiş olup 5' kuyruklu mirtronlar kuşlarda ve memelilerde gözlenmiştir (154).



Şekil 8. Mirtron yolakları (155)

Son zamanlarda iki mirtronun (miRNA-1225 ve miRNA-1228) alternatif olarak splicing gerektirmeyen yeni bir yoldan işlenebileceği gösterilmiştir. Bu splicing bağımsız mirtron benzeri miRNA'lar, simtron olarak adlandırılır, pre-miRNA hairpin formasyonunun terminal nükleotidlerinin hem 5' hem de 3' eklenme bölgelerine karşılık geldiği kısa intronlar içinde bulunur. Simtronların biyogenezinde; Dicer, Argonaute2 (Ago2) ve DGCR8 kullanılmazken, Drosha ile yapılan komplekslerde immunopresipitat oluşumu gözlenmiş ve drosha varlığı kanıtlanmıştır. Ancak dominant negatif Drosha varyantının varlığında azalma gösterilmiştir. Dicer bağımsız yollar arasında simtronlar en sık bilineni iken, pre-miRNA-451 ve pre-transfer RNA(pre-tRNA) da bu yolağı kullanmaktadır (Şekil 9) (155).



**Şekil 9.** Simtron yolağı (i), Pre-miR-451 yolağı (j), PretRNA yolağı (Dicer-bağımsız) (k) (155)

### 2.2.1.3. miRNA'ların Biyolojik Fonksiyonları

Yaklaşık 2000 insan miRNA'sının, ifade edilen tüm genlerin yaklaşık % 30'unu hedeflediğine inanılmaktadır. Buna göre miRNA'lar, hücrel homeostazda önemli bir rol oynarlar ve tüm önemli hücrel süreçler olmasa bile, çoğunda yer alırlar. Patolojik koşullar altında, miRNA upregüle veya downregüle edilebilir ve yapılan birçok çalışmada nedensel rollerde olabileceği gösterilmiştir (156). miRNA'lar gelişme, organogenez, hücre proliferasyonu, apoptozis, embriyonik kök hücre differansiyasyonu, femur kemiği gelişimi, sinaptik gelişim ve elastisite, deri differansiyasyonu, kardiyogenez, oksidatif stres, DNA onarımı, normal immün yanıt,

insülin sekresyonu, nörotransmitter sentezi, sirkadyan ritm ve viral replikasyon gibi birçok biyolojik olayda kritik rol oynamaktadır (157-160).

#### 2.2.1.4. Hastalıklar ve miRNA

Son yıllarda yapılan tüm genom analiz çalışmaları insan genomunun yaygın olarak binlerce düzenleyici protein kodlamayan RNA'yı transkribe ettiğini ortaya koymuştur. Bunlar içerisinde özellikle miRNA'lar son 20 yıldır birçok biyomedikal alanda tanı ve tedavi stratejisi geliştirilmesinde oldukça ilgi görmüştür. miRNA'lar çeşitli hücresel aşamalarla ilişkili olan posttranskripsiyonel gen ekspresyonunun önemli düzenleyicileridir. Bu nedenle miRNA'larda meydana gelen değişiklikler tanımlanan birçok hastalığın patolojisi ile ilişkilendirilmiştir. Günümüze kadar, insanda 5000'den fazla miRNA keşfedilmiş ve bunların çoğu kanser, viral hastalıklar, immünite ile ilişkili hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi sık görülen birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. miRNA'ların yeni nesil biyomarker ve terapötik olma yolunda önemli potansiyelleri vardır (161).

Son yıllarda, miRNA'ların kanser patogeneziindeki rolüne ilişkin çok sayıda rapor yayınlanmıştır. Çok sayıda kanser vakasında, hem onkogenik hem de tümör baskılayıcı yollarda miRNA'ların katılımı gösterilmiştir. Önemli olarak, spesifik kanser tiplerinde ayrı tip miRNA'lar bildirilmiştir. miRNA'ların ekspresyon paterni ve biyogenez yolu, ilgili normal dokularla karşılaştırıldığında tümör örneklerinde tamamen farklı tespit edilmiştir. miRNA genlerinin delesyonu, translokasyonu ve amplifikasyonu, birçok gelişmiş tümör dokusunda ve kültüre edilmiş tümör hücrelerinde yaygın olarak bulunmuştur (162). Örneğin miRNA-15/16 kümeleri, kronik lenfositik lösemide sıkça delesyona uğrayan ilk saptanan kanser ilişkili insan miRNA'larıdır (163). Genel olarak miRNA-15/16 kümelerinin, antiapoptotik protein Bcl-2'nin düzenlenmesinde yer aldığı bilinmektedir. miRNA-15/16 kümelerinin baskılanması, Bcl-2'nin anormal ekspresyonuna yol açar. Üstelik, bilinen bir onkoprotein olan Bcl-2, tümör hücrelerinin bilinen özelliklerinden biri olan apoptoz sürecinden kaçınmalarını kolaylaştırır (164). Çalışmalar, tek bir miRNA'nın farklı malignite türlerinde farklı şekilde düzenlenebileceğini bildirmiştir. Örneğin miRNA-148a, karaciğer tümör hücrelerinde onkogenik miRNA olarak rapor edilirken, aynı miRNA-148a'nın mide tümörlerinde tümör süpresör gen olarak davrandığı

gösterilmiştir (165,166). İnsan malignitelerinde en yaygın artışı olan onkojenik miRNA, miRNA-21 olup, deregüasyonu, mide, karaciğer, beyin, kemik ve meme dahil olmak üzere çeşitli tümörlerin gelişimi ile ilişkilidir. Ayrıca, akciğer, kolon ve böbrek tümörlerinde miRNA-21 overekspresyonu bildirilmiştir (161,162). Tümör baskılayıcı miRNA'lar, hedef proteinlerini negatif olarak düzenleyerek çeşitli hücre proliferasyon mekanizmalarının kontrol edilmesinde rol oynarlar. Let-7, karsinogenez yolunda önemli bir rol oynadığı gözlemlenen ilk tanımlanmış tümör baskılayıcı miRNA'dır. Let-7 ve aile üyelerinin süprese edilmiş ekspresyonu birkaç tümör dokusunda belgelenmiştir. Rat İlişkili Sarkom (RAS) ve Yüksek Mobilite Grubu AT-hook 2 (HMGA2), miRNA'ların let-7 ailesi için iyi belgelenmiş hedeflerdir. RAS overekspresyonunun, akciğer kanseri gelişimiyle ilişkili olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, miRNA'nın keşfinden sonra, let-7 ve RAS'ın ekspresyon paterninin akciğer kanserinde karşılıklı bir şekilde olduğu gösterilmiştir (162).

**Tablo 1.** Kanserde doku ve kan örneklerinde potansiyel miRNA markerları (167).

Kanser	Doku Örnekleri (Ekspresyon durumu ↑,↓)	Kan Örnekleri (Ekspresyon durumu ↑,↓)
Meme Kanseri	miR-21↑, miR-155 ↑, miR-191 ↑, miR-196a ↑, miR-125b ↓, miR-221 ↓, let-7a ↓, miR-145 ↓, miR-205 ↓	Serum: miR-10b ↑, miR-34a ↑, miR-155 ↑, miR-21 ↑, miR-106a ↑, miR-155 ↑, miR-126 ↓, miR-199a ↓, miR-335 ↓ Tam kan: miR-195 ↑
Akciğer kanseri	miR-21, miR-205	Serum: miR-10b ↑, miR-155 ↑
Mide kanseri	miR-106a ↑, miR-31 ↓	Serum: miR-10a ↑, miR-22 ↑, miR-100 ↑, miR-148b ↑, miR-223 ↑, miR-133a ↑, miR-127-3p ↑, miR-1 ↑, miR-20a ↑, miR-27a ↑, miR-34 ↑, miR-423-5p ↑
Pankreas kanseri	miR-452 ↑, miR-105 ↑, miR-127 ↑, miR-518a-2 ↑, miR-187 ↑, miR-30a-3p ↑, miR-21 ↑, miR-155 ↑, miR-221 ↑, miR-222 ↑, let-7a ↑	Serum: miR-21 ↑, miR-155 ↑, miR-196a ↑ Plazma: miR-21 ↑, miR-155 ↑, miR-196a ↑, miR-210 ↑
Prostat kanseri	miR-125b ↑, miR-15a ↓, miR-16 ↓, miR-184 ↑, miR-146a ↓, miR-203 ↓, miR-34c ↓, miR-141 ↑	Serum: miR-141 ↑, miR-21 ↑, miR-141 ↑, miR-221 ↑, miR-375 ↑

miRNA, merkezi sinir sisteminde yüksek oranda eksprese edilir ve beyin gelişimi ve plastisitede önemli rol oynar. Son birkaç yılda, miRNA-9, miRNA-124, miRNA-132 ve miRNA-137 gibi memeli beyin dokularında spesifik olarak eksprese edilen birçok miRNA tanımlanmıştır ve böylece çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda biyomarkerlerin araştırılmasına ve yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesine ışık tutmuştur (128,168).

miRNA ekspresyon paternindeki karışıklıklar, nörolojik bozuklukların etiolojisi ve progresyonu ile ilişkilendirilirken, ekspresyon düzeylerindeki artışın, nörodejeneratif süreci iyileştirdiği ve nöral kök hücreler tarafından yönlendirilen endojen rejeneratif programları desteklediği gösterilmiştir. Çeşitli nörodejeneratif bozukluklarda nörogenezin artmasının, beyin hasarını iyileştirmek ve nörolojik skorları iyileştirmek için iyi bir tedavi stratejisi olduğu gösterilmiştir. Diğer yandan nörodejeneratif bozuklukların başlangıcı için olası bir neden olarak nörogenez bozukluğu önerilmiştir. Tek bir miRNA, nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için bu molekülleri ilginç adaylar haline getirerek, hem nörodejenerasyon hem de nörorejenerasyon/nörogenez ile ilişkili bir sinyalleme ağını kontrol edebilmektedir (169).

Alzheimer hastalığında miRNA-9 ekspresyonunun, neokorteksin temporal lobunda olduğu kadar, Alzheimer hastalarının hipokampusünün CA1 bölgesinde artmış olduğu gösterilmiştir (170,171). Alzheimer hastalarının beyin omurilik sıvısında ve korteksinde, miRNA-124 ekspresyonunun, downregüle edildiği kanıtlanmıştır. miRNA-124 ekspresyon düzeylerinin, Parkinson fare modellerinin substantia nigra ve orta beyinde, ayrıca Huntington hastalarının ve Huntington fare modellerinin korteksinde azaldığı gösterilmiştir (169).

Kardiyovasküler hastalıkların gelişimiyle miRNA'ların ekspresyon profilleri arasındaki ilişki de araştırılmıştır. Kardiyak miRNA'lar (miRNA-1, miRNA-133a, miRNA-208a/b ve miRNA-499) miyokarda bol miktarda eksprese edilir. Kardiyogenez, kalp fonksiyonu ve kardiyak patolojilerde merkezi bir rol oynar. miRNA-1 ve miRNA-133a, embriyonik kök hücreler ve mezodermal prekürsörlerden kardiyak spesifik kas ailesinin oluşumunu destekleyen kardiyogenezin erken aşamalarını baskın olarak kontrol ederken, miRNA-208 ve miRNA-499'un kardiyoblastların kardiyomiyositlere farklılaşmasına aracılık eden geç kardiyogenik

aşamalarda yer aldığı gösterilmiştir. Akut miyokard infarktüsünde, dolaşımdaki kardiyak miRNA seviyeleri, erken teşhis için umut verici bir belirteç olma yolunda önemli ölçüde artmıştır. Bu miRNA'ların kardiyospesifik kapasitesi, kök hücre ve kardiyak progenitör transplantlarının rejeneratif özelliklerini ve hayatta kalmasını arttırmak ve matur non-kardiyak hücrelerin kardiyomiyositlere yeniden programlanmasını sağlamak için çok yararlıdır (172).

#### **2.2.1.4. Viral Enfeksiyonlar ve miRNA**

Viral enfeksiyonlar, hücrel miRNA ekspresyon profili üzerinde büyük bir etki yaratabilir. Çeşitli RNA virüslerinin, hücrel miRNA'lar ile doğrudan etkileşime girdiği ve bunların çoğalma potansiyelini arttırmak için bu miRNA'ları kullanabildiği bildirilmiştir.

Viral miRNA'lar için tanımlanan roller ortaya çıkmaya başladığında, viral miRNA'ların hem viral hem de selüler transkriptleri hedefleyebileceği görülmüştür. Viral miRNA'lar, diğer viral faktörler gibi; latent-litik dönüşümü düzenlemek, hücre sağkalımını, proliferasyonunu ve farklılaşmasını destekleyerek viral replikasyonu desteklemek ve immün yanıtı modüle etmek için hücrel yeniden programlamaya dahil edilirler (173). Bugüne kadar, viral miRNA'ların tam olarak tanımlanmış hücrel hedefleri, Kaposi sarkom ilişkili herpesvirüs (KSHV) miRNA'larınıninkilerdir. KSHV pre-miRNA'larını kararlı bir şekilde eksprese etmek üzere tasarlanmış hücrelerin gen ekspresyonunda tanımlanan trombospodin 1 (THBS1), multipl KSHV miRNA'ları tarafından hedeflenmektedir. THBS1'in bir fonksiyonu, Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )'yı aktive ederek anjiyogenez ve hücre büyümesini inhibe etmektir. THBS1 ekspresyonu, hücre sağkalımı ve proliferasyonunu destekleyebilen KSHV miRNA eksprese eden hücrelerde hem mRNA hem de protein seviyesinde azalmıştır. Bu bulgular doğrultusunda Kaposi sarkom tümörleri düşük THBS1 aktivitesi gösterirler (174). Epstein-Barr virüsü (EBV), nazofaringeal karsinom (NPC), gastrik karsinom (GC) ve diğer maligniteler ile ilişkili bir herpesvirüstür. EBV, fonksiyonları büyük ölçüde bilinmeyen miRNA'ları ifade eden ilk insan virüsüdür. EBV pozitif hücrelerde miRNA-BART5 ve anti-miRNA-BART5 oligonükleotid ile, stresle tetiklenen bir pro-apoptotik Bcl-2 ailesi üyesi olan p53 upregüle edilmiş modülatör (PUMA) ifadesinin modülasyonu



gösterilmiştir. MiR-BART5'in ekspresyonu, NPC ve EBV-GC hücrelerini proapoptotik ajanlara daha az duyarlı hale getirmesine rağmen, apoptoz, miRNA-BART5'i tüketerek veya PUMA'nın ekspresyonunu indükleyerek tetiklenebilir. Kısaca, bu bulgular EBV'nin konakçı hücre sağkalımını destekleyerek latent enfeksiyonun oluşumunu kolaylaştırmak için miRNA'yı kodladığını göstermektedir (175).

Virüsler, mevcut düzenleyici yolları kontrol etmek için hücrel miRNA'ları taklit edebilir veya hücrel miRNA ifadesini etkileyebilir. Viral faktörler tarafından aktif olarak indüklenen veya repress edilen hücrel miRNA'lar ve konak yanıtları ile değiştirilen miRNA'ların arasındaki sınırın tanımlanması zordur. Örneğin, iki hücrel miRNA, miRNA-17-5p ve miRNA-20a, insan immün yetmezlik virüsü-1 (HIV-1) enfeksiyonu tarafından baskılanır. Bu miRNA'lar, bir hücrel histon asetilaz olan p300/CBP-ilişkili faktör (PCAF)'yi ve HIV-1 Tat transaktivatörü için önerilen kofaktörü hedefler. miRNA-100 ve miRNA-101'in Cytomegalovirus (CMV) baskılamasına benzer olarak, bu miRNA'ların viral faktörler tarafından aktif olarak inhibe edilip edilmedikleri veya bunların downregülasyonunun konak cevaplarına bağlı olup olmadığı belirsizdir (173). Adenovirüs virüs ilişkili RNA'ları, nükleusta Exportin-5 için hücrel pre-miRNA'lar ile rekabet eder ve sitoplazmada Dicer fonksiyonunu inhibe eder, böylece miRNA biyogenezine müdahale eder (176-178). Virüsler, kendi viral miRNA'larını aşırı eksprese ederek hücrel miRNA ekspresyonunu daha da bozabilir. Hem KSHV hem de CMV miRNA'ları enfeksiyon sırasında miRNA profilini domine eder (179,180). Ayrıca virüsler, spesifik miRNA fonksiyonunu selektif inhibe eden proteinleri veya RNA'ları eksprese edebilir.

Hücrel miRNA'lar viral replikasyonu doğrudan etkileyebilir ve bazı miRNA'lar doğrudan RNA virüsü genomlarını hedefleyebilir (173). Hücrel miRNA'ların birtakım antiviral fonksiyona dahil oldukları bilinmektedir. Hücrel miRNA miRNA-101, viral enfeksiyonda rol oynayan ve Herpes Simpleks Virüs-1 (HSV-1) replikasyonunu azaltan bir hücrel protein olan mitokondriyal adenosin trifosfat sentaz alt ünite  $\beta$ 'sının (ATP5 $\beta$ ) 3' UTR'sini hedeflemektedir. Bu nedenle, bu miRNA-101/ATP5 $\beta$  aksı, HSV-1'in litik replikasyonunu önleyen ve latensine katkıda bulunabilen bir hücrel savunma görevi görür. miRNA-23a'nın, interferon regülatuar faktör 1'i (IRF1) hedefleyerek ve antiviral doğal immün yolağı olan

interferon yolağını inhibe ederek HSV-1 replikasyonunu kolaylaştırdığı bulunmuştur. HSV-1 enfeksiyonu ile değiştirilen başka bir hücrel miRNA miRNA-146a'dır. HSV-1, proinflatuar miRNA-146a'yı indükler. Bu hücrel miRNA'nın kompleman faktör H'yi hedeflediği ve arasıdonik asit kaskadı temel elemanlarını indüklediği bilinmektedir (181).

CMV enfeksiyonu, hücrel miRNA'larda büyük değişikliklere neden olur. Bu değişikliklerin sonuçları tam olarak anlaşılmamış olsa da, virüs replikasyonunu desteklemek için CMV'nin, hücrel miRNA ekspresyonunu değiştirdiği düşünülebilir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, 49 hücrel miRNA'nın, CMV enfeksiyonu sırasında farklı olarak eksprese edildiği gösterilmiştir (182). Bunlardan 39'u upregüle, 10'u latent enfeksiyon sırasında downregüle olarak tespit edilmiştir. Antiviral fonksiyona sahip olduğu bilinen birkaç hücrel miRNA downregüle edilmiştir. Antiviral aktivitesinin yanı sıra, düşük hsa-miRNA-21'in de konjenital CMV enfeksiyonunun neden olduğu doğum defektlerinde önemli bir rolü olduğu bildirilmiş (183,184) ve fetal santral sinir sisteminde CMV enfeksiyonunun nöropatogenezine katkısı olduğu bulunmuştur. Monosit ve makrofaj aktivasyonunu module ettiği bilinen hsa-miRNA-124, CMV latent enfeksiyonu sırasında upregüle edilmiştir. Makrofaj aktivasyonunu inhibe ederek, hsa-miRNA-124, CMV latent enfeksiyonu için uygun bir hücrel ortam yaratılmasına yardımcı olur (182). CMV tarafından deregüle edilen hücrel miRNA'ların, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve onkogenezi gibi bazı önemli hücrel işlevlerle bağlantılı olduğu düşünülmektedir.

Birkaç hücrel miRNA, EBV enfeksiyonu sırasında latent / litik döngüleri modüle eder. EBV reaktivasyonu, BZLF1 viral transkriptinin ifadesi ile başlar. Bu viral transkript, BZLF1 promotörünü bağlayan ZEB1 ve ZEB2 konak proteinleri tarafından bastırılmıştır. ZEB1 ve ZEB2, hsa-miRNA-200 ailesinden hücrel miRNA'lar tarafından hedeflenmektedir. Hsa-miRNA-200b ve hsa-miRNA-429'un ifadesinin, ZEB proteinlerini regüle ederek EBV reaktivasyonunu indüklediği gösterilmiştir. EBV reaktivasyonunu modüle eden başka bir mekanizma, hücrel miRNA hsa-miRNA-let-7a'yı içerir. Viral protein Epstein-Barr Virüs Nükleer Antijen-1 (EBNA-1), hücrel protein Dicer seviyesini (hsa-miRNA-let-7a'nın hedefini) azaltan hsa-miRNA-let-7a'yı upregüle eder. Dicer EBV reaktivasyonuna

katkıda bulunduğundan, EBNA-1 tarafından hsa-miRNA-let-7a'nın indüksiyonu EBV latensini arttırır. Bu nedenle, EBV-miRNA-BART6 ile birlikte, hsa-miRNA-let-7a, Dicerin downregülasyonunda önemli bir rol oynar ve EBV'yi yeniden aktive edebilen hücrel miRNA seviyelerini azaltarak EBV latensine katkıda bulunur (181).

Hücrel miRNA'ların birçok fonksiyonu göz önüne alındığında, bu miRNA'ların KSHV aracılı deregülasyonunun viral patogeneze katkıda bulunabileceği ifade edilmiştir. Hücrel miRNA'ların deregülasyonu, KSHV ile ilişkili kanserleri, immün modülasyonu ve viral replikasyon döngüsünün düzenlenmesini destekleyebilir (185). Viral bir protein olan K15'in, hsa-miRNA-21 ve hsa-miRNA-31'in ekspresyonunu upregüle ettiği gösterilmiştir. Bu iki miRNA, hücre göçü, anjiyogenez ve lenfanjiyogenez destekler, bu da özellikle metastatik süreçlerde kanserin gelişiminde önemli bir rolü olduğunu gösterir (186). Hsa-miRNA-221/hsa-miRNA-222 kümelenmesinden gelen hücrel miRNA'ların, KSHV ile enfekte olmuş hücrelerde büyük ölçüde azaldığı bulunmuştur. Viral gecikme ile ilişkili nükleer antijenin (LANA) ve latent KSHV'nin gen ürünü olan Kaposin B proteininin (187) bu hücrel miRNA'ların represyonuna aracılık ettiği düşünülmektedir, bu da hücre göçünün artmasına neden olmaktadır. Ek olarak, KSHV'nin hsa-miRNA-30 b/c'yi downregüle ettiği de bulunmuştur. Bu iki hücrel miRNA, vasküler gelişim ve anjiyogenezde rol alan bir protein olan Delta benzeri 4'ü (DLL4) hedef alır (181). Tüm bu miRNA'lar daha önce birkaç kanser türünde onkogen veya tümör süpresör genleri olarak tanımlanmıştır (185). Bu nedenle, bu hücrel miRNA'ların KSHV aracılı deregülasyonu, viral onkogeneze önemli bir rol oynar gibi görünmektedir. Önemli bir hücrel kemokin reseptörü olan CXCR4, hsa-miRNA-146a tarafından hedeflenmiştir. Bu hücrel miRNA'lar, viral FLICE inhibitör protein (vFLIP) ile nükleer faktör kapa beta (NFκB) aktivasyonuna yanıt olarak aşırı eksprese edilir (188). CXCR4'ün baskılanması, KSHV ile enfekte olmuş EC progenitörlerinin kan dolaşımına erken salınımını sağlayarak Kaposi Sarkomunun patogeneze katkıda bulunmaktadır (188). KSHV, C/EBP'nin miRNA-aracılı süpresyonu ile IL-6 ekspresyonunu arttırmasının yanı sıra, aynı zamanda insan kökenli IL-6'yı taklit eden bir viral IL-6'yı da kodlar. IL-6 ve vIL-6 sırasıyla hsa-miRNA-608 ve hsa-miRNA-1293 tarafından hedeflenmiştir (189). Viral

ORF57 proteininin, IL-6 ve vIL-6 mRNA'larda bağlanma bölgeleri için bu iki hücrel miRNA'yla yarışarak her iki mRNA'nın RISC aracılı baskılanmasını önlediği gösterilmiştir (190). KSHV enfeksiyonu üzerine hücrel miRNA'ların ekspresyon paterni, hsa-miRNA-146a, hsa-miRNA-31 ve hsa-miRNA-132'nin enfeksiyondan 6 saat sonra zirve yaptığını gösterirken, hsa-miRNA-193a ve hsa-miRNA-let-7i, enfeksiyondan sonraki 72 saatte artmıştır. Ek olarak upregüle hücrel miRNA'lardan biri olan hsa-miRNA-132'nin, p300 transkripsiyonal koaktivatörü hedefleyerek interferon ile uyarılmış genleri repress ettiği gösterilmiştir (191).

Son çalışmalar, Hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonu sırasında virüs replikasyonu ve patogenezi düzenleyen, virüs-konak etkileşimlerinde önemli faktörler olarak birkaç miRNA tanımlamıştır. HCV enfeksiyonundaki miRNA-122'nin rolü, ilk olarak, HCV RNA yükünde önemli bir azalmaya yol açan endojen miRNA-122'nin sekestrasyonu ile gösterilmiştir. MiRNA-122, Ago2 ile ilişkili birleşik iki komşu bölgedeki virüs genomunun 5' UTR'sine doğrudan bağlanır. miRNA-122 molekülü, 3' ile komplementer nükleotidleri olan 5' UTR HCV RNA'sına bağlanarak, nükleolitik bozunmadan 5' terminal sekanslarını maskeler, böylece HCV genomunun viral RNA stabilitesini ve çoğalmasını arttıracak bir oligomerik kompleks oluşturur. Ayrıca, miRNA-122'deki spesifik internal nükleotidlerin yanı sıra 3' terminal nükleotidleri de HCV RNA'yı korumak için gereklidir. HCV genomu, 3' UTR'nin değişken bölgesinde ve diğeri yapısal olmayan protein 5B (NS5B) kodlama bölgesinde olmak üzere iki tane daha miR-122 hedef bölgesini barındırır. Bununla birlikte, NS5B ve 3'UTR'ye miRNA-122 bağlanması, HCV RNA replikasyonu ve translasyonunu bozar. miRNA-122'nin yanı sıra, miRNA-448, miRNA-196, miRNA-199a, let-7b ve miRNA-181c gibi diğeri miRNA'ların, HCV genomu ile doğrudan etkileştiği rapor edilmiştir. Ancak miRNA-122'nin HCV RNA'nın 5' UTR ile 3' UTR ve NS5B kodlama bölgelerine bağlanarak replikasyon üzerindeki çift yönlü etkisinden farklı olarak, bu miRNA'lar HCV replikasyonunu inhibe ederler. miRNA-448 ve miRNA-196'nın overekspresyonu, sırasıyla HCV genomunun Core ve NS5A kodlama bölgesini doğrudan hedefleyerek viral replikasyonu önemli ölçüde zayıflatmayı başarmıştır. miRNA-199a'nın overekspresyonu, HCV-1b veya HCV-2a genomu taşıyan hücrelerde HCV replikasyonunu inhibe etmiştir. Let-7b'nin de HCV genomunu

doğrudan hedeflediği ve anti-HCV aktivitesini ortaya çıkardığı bildirilmiştir. Son zamanlarda miRNA-181c'nin HCV genomunun E1 ve NS5A bölgelerine bağlanan yeni bir miRNA olduğu ve miRNA-181c'nin overekspresyonunun viral replikasyonu azalttığı gösterilmiştir (192).

Hücrel miRNA'lar direk veya dolaylı olarak Hepatit B Virüsü (HBV) replikasyonunu ve transkripsiyonunu düzenleyebilirler. Hücrel miRNA'lar HBV yüzey antijeni, HBV X proteini ve DNA polimerazı kodlayan mRNA'lar gibi HBV transkriplerini hedefleyerek HBV ekspresyonunu değiştirebilirler. Ayrıca karaciğer transkripsiyon faktörleri, nükleer reseptörler, hemoksijenaz-1 (HO-1), DNA metiltransferaz gibi HBV replikasyonu ve transkripsiyonunda görevli düzenleyici proteinleri hedefleyerek de HBV ekspresyonunu değiştirebilirler (193).

C/EBP  $\alpha$  ve  $\beta$  (CAAT: enhancer binding protein), hepatositlerde birlikte eksprese edilir ve hepatosit metabolizmasında ve proliferasyonunda rol oynar. C/EBP, HBV Enhancer II'yi doza bağımlı bir şekilde bağlayabilir ve aktive edebilir, ayrıca transkripsiyonunu aktive etmek için çekirdek promotörüne ve S promotörüne bağlanabilir. Wang ve ark.'nın yaptığı bir çalışma, C/EBP- $\beta$ 'nin, HBV transkripsiyonunu downregüle edebilen miRNA-155 tarafından negatif olarak regüle edildiğini göstermiştir (194). miRNA-372'nin inhibe edilmesiyle HBV genom ekspresyonunda siklik adenozin monofosfat-yanıt elemanı bağlayıcı protein (C-AMP-CREP) ekspresyonunun azaldığı (ki bu protein viral enhancer 1 bölgesine bağlanarak transkripsiyonu sağlar) ve dolayısıyla HBV genom ekspresyonunu da azalttığı belirlenmiştir. Lu ve ark. miRNA-1'in, farnesoid X reseptör alfa (FXRA) ekspresyonunu arttırarak HBV çekirdek promoter transkripsiyon aktivitesini artırabildiğini gösterdi. Ayrıca bu çalışmada miRNA-7, miRNA-196b, miRNA-433 ve miRNA-511'in viral polimeraz ve yüzey genindeki dizileri hedeflediği gösterilirken; miRNA-205 ve miRNA-345'in sırasıyla HBX ve prekor genleri hedef aldığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu miRNA'ların viral RNA'ların uygun bölgelerine bağlanabilmeleri durumunda, HBV proteinlerinin translasyonunu baskılayabileceği ve pre-genomik RNA'dan replikasyonu inhibe edebileceği de belirtilmiştir (195).

Viral translasyonu etkileyen miRNA'lar dışında, HBV replikasyonunu etkileyen miRNA'lar da rapor edilmiştir. Qiu ve ark.'nın çalışmasında, HBV ile

transfekte edilmiş Huh-7 hücrelerinde miRNA-122'nin antisens miRNA-122 ile sessizleştirilmesi Hepatit B'nin yüzey antijeni (HBsAg) ve Hepatit B'nin e antijeni (HBeAg) sekresyonunu önemli ölçüde artırmaktadır. Tersine, düşük endojen miRNA-122 ekspresyonunu içeren HBV ile transfekte edilmiş HepG2 hücrelerinde miRNA-122 artışı, HBsAg ve HBeAg ekspresyonunun belirgin şekilde azalmasına sebep olmuştur. miRNA-122 etkisi için başka önemli bir mekanizma da tespit edilmiştir. miRNA-122 inhibitörü ayrıca, hem mRNA hem de protein seviyesinde hücrel HO-1 ekspresyonunda artışa neden olmuştur. HO-1'in, HBV kor proteinin stabilitesini azaltabildiği, böylece hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak HBV covalently closed circular DNA (cccDNA) seviyelerini azaltabildiği gösterilmiştir. Genel olarak miR-122'nin HBV replikasyonunu dolaylı olarak HO-1 yoluyla baskıladığı bulunmuştur. Bazı çalışmalarda miRNA-122'nin, HCV'nin replikasyonu ve ekspresyonunu uyarda rol oynadığı gösterilmiştir (192), bununla birlikte, Qiu'nun çalışması, HBV replikasyonunu sınırlama yeteneğiyle miRNA-122'nin zıt bir fonksiyon sağladığını ileri sürmektedir (196).

Çeşitli çalışmalarda miRNA'lar ve HIV-1 arasındaki ilişki araştırılmış, HIV-1 enfeksiyonu sırasında miRNA ekspresyon profillerindeki değişiklikler bildirilmiştir ve böylece hücrel miRNA'ların HIV-1 hastalık progresyonu ile ilişkili olduğu gerçeği desteklenmiştir. Potansiyel olarak HIV-1 yardımcı ve düzenleyici genlerini hedef alan beş hücrel miRNA (miRNA-29a, miRNA-29b, miRNA-149, miRNA-378 ve miRNA-324-5p) öngörülmüştür. Deneysel çalışmalar, hücrel miRNA'ların, viral RNA'ları doğrudan hedefleyerek HIV-1 replikasyonunu etkilediğini göstermiştir. Örneğin, birkaç bağımsız araştırma grubu, miRNA-29a'nın HIV-1 nef genini hedeflediğini ve insan hücrelerinde HIV-1 replikasyonu ile fonksiyonel olarak etkileştiğini bildirmiştir. Diğer beş miRNA'nın, (miRNA-28, miRNA-125b, miRNA-150, miRNA-223 ve miRNA-382), HIV-1 mRNA'larının 3' ucunu hedefledikleri ve istirahat cluster of differentiation 4 + T (CD4+T) hücrelerinde proviral latense katkıda buldukları bildirilmiştir. Hücrel miRNA'lar ayrıca, virüs replikasyonunu veya konak savunmasını düzenleyen hücrel anahtar faktörlerin represyonu yoluyla HIV-1 replikasyonunu da module eder. Yapılan bir çalışmada miRNA-155'in, protein 32 içeren üçlü motif (TRIM32)'nin HIV aktive edici etkilerini inhibe ederek HIV-1 latensini güçlendirebileceği gösterilmiştir. Başka bir çalışmada miRNA-17/92

kümesinin, PCAF için kodlanan mRNA'yı hedefleyerek HIV-1 transkripsiyonunu ve replikasyonunu azalttığı bildirilmiştir (197). Shen ve ark. Pur- $\alpha$ 'nın translasyonunun, HIV-1 enfeksiyonunda monositlerin differansiyasyonuna bağlı duyarlılıklarını modüle eden hücrel miRNA'lar tarafından hedeflendiğini bildirmiştir (198). Monositlerde HIV-1 enfeksiyonunu kısıtlayan hücrel miRNA'ların diğer örnekleri miRNA-198 ve miRNA-1236 olup, sırasıyla Cyclin T1 ve Vpr (HIV-1)-binding protein (VprBP)'yi baskılar. Bununla birlikte, miRNA-34a, miRNA-217 ve miRNA-132 gibi HIV-1 replikasyonunu arttıran hücrel miRNA'lar da vardır. Tersine, birkaç HIV-1 viral miRNA, hücrel ve viral gen ekspresyonunu da module eder.

### 2.2.1.5. Viral Hemorajik Ateş ve miRNA

Dang ateşi, Dang virüsünün neden olduğu sivrisinek kaynaklı bir hastalıktır. Flaviviridae ailesinin bir üyesi olan Dang virüsü, DENV-1, DENV-2, DENV-3 ve DENV-4 olmak üzere dört serotipe sahiptir. Bu virüs esas olarak Aedes sivrisinekleri tarafından iletilir. Bu hastalık şiddetli hemorajik ateşe ve hatta ölümcül şoklara yol açabilir. Birkaç miRNA'nın Dang virüsü ve konakçı arasındaki etkileşime katıldığı bildirilmiştir. Örneğin, miRNA-146a, TNF reseptör ilişkili faktör 6 (TRAF6)'yı hedefleyerek ve IFN- $\beta$  üretimini inhibe ederek DENV-2'nin, primer insan monositleri ve THP-1 hücrelerinde replikasyonunu kolaylaştırır. Kandaki miRNA-24-1-5p, miRNA-512-5p ve miRNA-4640-3p ekspresyonunun, yakın zamanda hafif Dang ateşinin, karaciğer komplikasyonu ile seyreden hastalardan ayırt edilmesinde yararlı olduğu bildirilmiştir (199). Bu özellik miRNA'ların Dang enfeksiyonu için biyobelirteçler olarak kullanılabileceğini gösterir. Xiaoxi ve ark. nın yaptığı bir çalışmada, hsa-miRNA-21-5p, hsa-miRNA-146a-5p, hsa-miRNA-590-5p, hsa-miRNA-188-5p ve hsa-miRNA-152-3p RT-PCR kullanılarak doğrulandı. miRNA-146a'nın temel olarak doğal immün, inflamatuvar yanıt ve virüs enfeksiyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, miRNA-146a geninin promoteri, NF- $\kappa$ B bağlanma bölgelerinin transkripsiyon faktörlerini içerir ve lipopolisakkarit (LPS), IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ , miRNA-146a'nın ifadesini indükleyebilir. Bu nedenle miRNA-146a, endotoksin toleransının gelişimine katılır. Virüs, aynı zamanda, miRNA-146a promotöründeki NF- $\kappa$ B bağlanma alanı yoluyla miRNA-146a ekspresyonunu indükleyebilir. Dang virüsü enfeksiyonu, in vitro

primer monositler ve THP-1 hücrelerinde miRNA-146a ekspresyonunu önemli ölçüde indüklemiştir. Bununla birlikte, Dang ile enfekte hastalarda miRNA-146a ve serum AST/ALT arasında negatif korelasyon gözlemlenmiştir, bu da miRNA-146a'nın karaciğer inflamasyonunun gelişimine aracı olabileceğini düşündürmektedir. miRNA-21, proinflamatuvar yanıtın negatif regülasyonunda ve inflamasyonun rezolusyonunda önemli bir rol oynar. Birçok inflamatuvar uyarıcı, miRNA-21 indüksiyonunu tetikleyebilir. Bu nedenle miRNA-21, inflamatuvar uyarıcıları dengelemek için anti-inflamatuvar yanıt olarak hizmet edebilir. Enflamatuvar düzenlemeye ek olarak, miRNA-21 hücre invazivliğini artırır ve kazal motifli reversiyon indükleyici sistemin açısından zengin protein (RECK)'i hedefleyerek onkomiRNA gibi davranır. Bununla birlikte, lökositler, lenfositler ve nötrofiller önemli ölçüde azalmıştır, bu lökosit, nötrofil ve lenfositlerin Dang virüsü invazyonundan sonra hızla ekstra vasküler dokulara veya organlara göç edebileceğini gösterir. miRNA-590-5p, hücre proliferasyonunu ve invazyonu artırır ve aynı zamanda inflamatuvar ve immün yanıtla da bağlantılıdır. miRNA-188 ve miRNA-152, hücre proliferasyonunun ve invazyonunun inhibisyonu ile ilişkilidir. Artan miRNA-188 ve miRNA-152, lökositlerin, nötrofillerin veya lenfositlerin proliferasyonunu inhibe edebilir. Bu nedenle, bu sonuçlar miRNA-146a ve miRNA-21'in inflamasyon cevabını düzenleyebileceğini göstermiştir. miRNA-21 ve miRNA-590, hücre proliferasyonunu destekleyebilirken, miRNA-188 ve miRNA-152 hücre proliferasyonunu inhibe edebilir. Bu miRNA'lar, inflamatuvar stresin hassas regülasyonunu ve Dang virüsleri tarafından indüklenen immün yanıtı içeren karmaşık bir ağ oluşturabilir (200).

Hantavirüsler insan EC'lerini enfekte eder, vasküler permeabilite defektleri, renal sendrom ile seyreden kanamalı ateş ve Hantavirüs pulmoner sendrom olarak tanımlanan iki hastalığa neden olur. Vasküler geçirgenlik, EC lizisinin yokluğunda meydana gelir ve Hantavirüslerin normal EC sıvı bariyeri fonksiyonlarını değiştirdiğini düşündürür. Hantavirüs tarafından enfekte edilen EC'ler vasküler endotelial büyüme faktörüne (VEGF) karşı aşırı yanıt oluşturur ve bu, EC adherens kavşaklarının sıvı bariyer fonksiyonunu değiştirerek, parasellüler geçirgenliği artırır. Vasküler geçirgenlik ve VEGF'ye yönelik yanıtlar, hücresel mRNA transkripsiyonel tepkilerini düzenleyen EC'ye özel miRNA'lar ile belirlenir. Çeşitli EC miRNA'ları,



anjyogenez, büyüme faktörü ile aktive edilen yolların veya EC sıvı bariyer fonksiyonlarını kontrol eden hücre-hücre etkileşimlerinin düzenlenmesi ile ilişkilidir. miRNA'lar, sitoplazmik işleme gövdeleri (P gövdeleri) içinde olgunlaşır ve hantavirüs nükleokapsid (N) proteini RNA'yı bağlar ve P gövdelerini lokalize eder, bu da hantavirüslerin enfekte EC'lerde miRNA fonksiyonlarını modifiye edebileceğini gösterir (201). Andes hantavirüs enfeksiyonu, miRNA-155, miRNA-320 ve miRNA-222 de dahil olmak üzere, anjyogenez veya vasküler bütünlüğün düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiş olan birkaç miRNA'nın seviyesini artırmıştır (201). Bu miRNA'ların, vasküler permeabilitedeki değişikliklere katkıda bulunan, adherens bağlantıların parçalanmasını, hücre migrasyonunu ve hücre morfolojisini düzenlediği bildirilmiştir (201). miRNA-218'in spesifik olarak EC reseptörü olan Robo4'ün, normal VEGF düzenleyici yanıtlarını inhibe ederek anjyogenez arttıran bir hücre yüzeyi reseptörü olan Robo1'in ekspresyonunu downregüle ettiği belirlenmiştir. (201). Robo4 normalde EC hiperpermeabilitesi ile sonuçlanan VEGF sinyal yanıtlarına karşı koymak suretiyle vaskülatürü stabilize eder (202,203). Tersine, artan Robo1 ifadesi, hücre-hücre adherensini azaltan ve EC migrasyonunu arttıran heterodimerik Robo1-Robo4 komplekslerinin oluşumuyla sonuçlanır. Bu bulgu, Andes Hantavirüs ile enfekte EC'lerde azalmış miRNA-218 seviyelerinin Robo1'i artırarak ve dolayısıyla Robo4 regulasyonunu azaltarak VEGF aracılı geçirgenliği arttırabileceğini düşündürmüştür. Benzer şekilde, miR-126, sprouty ile ilgili EVH1 alanı içeren protein 1 (SPRED1)'in ekspresyonunun represyonuyoluyla VEGF'nin neden olduğu vasküler geçirgenliği düzenleyen EC'ye özgü bir miRNA'dır. SPRED1 aktin turnoverını indükler ve EC'lerin paraselüler permeabilite artışı ile ilişkilidir. SPRED1, testis ilişkisi aktin remodelleyici kinaz 1 (TESK1)'i bağlayarak ve cofilinin fosforilasyonunu bloke ederek çalışır. Defosforile cofilin, aktin filamanların ayrılmasını artırır ve bu da VE-cadherin'in internalizasyonuna ve bir paraselüler sıvı bariyerini koruyan adherens bağlantıların parçalanmasına neden olur (201).

Ebola virüsü (EBOV), ciddi hastalığa ve yüksek ölüm oranlarına neden olan viral hemorajik ateşin patojenidir. Bu yüksek ölüm, spesifik antiviral tedavisinin bulunmaması ve aşısının olmamasıyla ilişkilidir. Bu durum EBOV'u, önemli bir halk sağlığı patojeni yapar. Bugüne kadar, hsa-miRNA-122-5p, rhesus makaklarda EBOV

enfeksiyonunun biyobelirleyicisi olarak rapor edilen tek miRNA'dır. Bu miRNA, antikoagulan ile tedavi edilmiş EBOV ile enfekte sağ kalanlara kıyasla mortal seyredenlerde daha yüksek seviyelerde saptanmıştır (204). Yapılan bir çalışmada, insan umbilikal ven endotel hücreleri (HUVECs), EBOV glikoprotein eksprese eden adenovirüs ile enfekte edilmiş ve RNA-seq28 kullanılarak enfeksiyon sonrası 3-24 saatler arasında farklı olarak eksprese edilen 18 miRNA tanımlanmıştır. Bunlardan, enfekte olmuş hücrelerde up regüle edilen miRNA-1246, miRNA-196b-5p ve miRNA-320a'nın inhibisyonunun hücre ölümünü önleyebileceği keşfedilmiştir (205).

#### 2.2.1.6. miRNA-144

miRNA-144 gen lokusu, miRNA-451 ile kümelenmiştir ve insan kromozomu 17q11 üzerinde bulunur. Hem miRNA-451 hem de miRNA-144'ün eritroid homeostazında rol oynadığı gösterilmiştir (206).

miRNA-144, aktif tüberküloz (TBC) hastalarında aşırı eksprese edilen mikroRNA'lardan biridir (8). TBC'nin erken evresinde önemli olan makrofaj hücreleri, TBC enfeksiyonu sürecinde spesifik miRNA reaksiyonları oluşturabilir ve miRNA, TBC hastalarının kanında saptanabilir. miRNA ekspresyon profili, aktif TBC'nin patofizyolojisi hakkında yararlı bilgiler sağlayabilir ve TBC'nin tanı ve prognozunun belirlenmesinde kullanılabilir. miRNA'ların balgam ve serum seviyelerindeki değişiklikleri TBC enfeksiyonunun erken saptanması için non-invaziv biyobelirteçler olarak kullanım potansiyeli oluşturur (207). Wang ve ark. miRNA-144'ün aktif TBC hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında upregüle edildiğini bulmuşlardır, bu da miRNA-144'ün TBC enfeksiyonunda rol oynayabileceğini düşündürmektedir (208). Liu ve ark. miRNA-144'ün iki major anti-TBC immün faktör; IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  üretimini ve T hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini, ayrıca miRNA-144'ün otofaji ile ilişkili gen Atg4a'nın ekspresyonunu doğrudan engellediğini ve M. tuberculosis enfeksiyonundaki otofaji sürecinin regülasyonuna katıldığını göstermiştir (8).

miRNA ekspresyon mikrodizilerinin kapsamlı bir meta-analizini içeren tümör incelemeleri, miRNA-144'ün akciğer kanseri, prostat kanseri ve hepatoselüler karsinomda azaldığını ve bunun insanlarda kansere bağlı yeni bir miRNA olabileceğini göstermiştir (209). Yapılan bir çalışmada, miRNA-144 rektum kanseri

ile karakterize edilmiş, rektal kanserde miRNA-144'ün rolünü belirlemek için, rektal dokudan kaynaklanan rektal karsinom hücreleri olarak SW837 ve SW1463 hücreleri seçilmiştir. Sonuçlar, rektal karsinom hücrelerinde miRNA-144 ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını ve miRNA-144'ün aşırı ekspresyonunun, bir onkogen olarak işlev gören ve invazyon, migrasyon ve metastaz gibi geniş bir fonksiyon yelpazesine sahip olan Rho-associated coiled-coil containing protein kinase 1 (ROCK1) 'i hedefleyerek in vitro olarak SW837 ve SW1463 hücrelerinin canlılığını, migrasyon ve proliferasyonunu baskıladığını göstermiştir (209).

Yapılan bir miRNA mikrodizi analizi, miRNA-144 ekspresyonunun, servikal kanser ve lenf nodu metastazı olan hastalarda, lenf nodu metastazı olmayan hastalarla kıyaslandığında, anlamlı ölçüde azaldığını göstermiştir. Servikal kanser hücrelerinde VEGF A ve C, miRNA-144'ün hedefi olarak tanımlanmıştır. miRNA-144'ün, VEGF A ve C mRNA'larının 3' UTR'lerine doğrudan bağlanma yoluyla VEGF A ve C'nin ekspresyonunu inhibe ettiği ve böylece serviks kanseri hücrelerinin proliferasyonu ve metastazında bir tümör süpresör görevi gördüğü gösterilmiştir. Bu bulgular, miRNA-144'ün downregülasyonunun VEGF A ve C ekspresyonunun inhibisyonu kaybıyla kanser hücrelerinin anormal büyümesine ve metastazına katkıda bulunabileceğini göstermiştir (210).

miRNA-144, hem normal hem de malign hematopoetik hücrelerde ve dokularda bulunmasının yanısıra beyinde de geniş bir ekspresyona sahiptir. Birçok çalışma, miRNA-144'ün duygudurum dengeleyici tedavisinde, stres yanıtında ve yaşlılık hastalıklarına yanıtta rol oynadığını göstermiştir. Duygudurum düzenleyicileri lityum ve valproat ile uzun süreli tedavi, duygudurum düzenine dahil olan beyin bölgelerinden biri olan sıçan hipokampüsünde miRNA-144 ekspresyonunu önemli ölçüde upregüle eder. miRNA-144 tarafından hedeflenen sinyal yolları; protein kinaz C (PKC), Wnt/Beta-katenin ve fosfatidil inositol 3-kinaz homolog (PTEN) yollarını içerir. Bunlardan bazılarının depresyon gelişimine dahil olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, miRNA-144'ün insanların yaşlanan beyinde selektif olarak upregüle edildiği ve nöroprotektif fonksiyonlara sahip olduğu belirtilmiştir. miRNA-144 insan hücrelerinde ataksin 1 ekspresyonunu inhibe edebilir ve ataksin 1'in bipolar bozukluk, şizofreni ve majör depresif bozukluk gibi ruhsal bozukluklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Stresin depresyon için önemli bir risk faktörü olduğu

bilinmektedir. Bir çalışmada, dolaşımdaki miRNA-144 düzeyi stres ile değişkenlik göstermiştir. Dolaşımdaki artan miRNA-144 seviyesinin, beyindeki miRNA-144 ekspresyonundaki değişiklikleri yansıtabileceği ve bunun da depresyonun ilerlemesi ile ilişkili olabileceği varsayılmıştır (211).

Demir ve arkadaşlarının çalışmasında, KKA hasta grubu ve kontrol grubunda miRNA ekspresyon profilleri değerlendirilmiş olup miRNA-144 değeri hasta grubunda 26.59 kat upregüle olarak düzenlenmiştir. miRNA-144 dahil upregüle olan bu genler immün hücre aktivasyonu, hücresel adezyon, sinyal iletim fonksiyonları ile ilişkilidir (212).

### 2.2.1.7. miRNA-1908

İlk olarak 2008 yılında keşfedilen miRNA-1908, diferansiye olmamış insan embriyonik kök hücrelerinde yüksek oranda eksprese edilir (213). miRNA-1908'in insan olgun adipositlerinde yüksek oranda eksprese olduğu ve normal adipositlerin diferansiyasyon ve proliferasyonunun yanı sıra çoklu sitokinlerin düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. Son zamanlarda miRNA-1908'in, kordoma ve melanoma hücre proliferasyonu ve metastazının düzenlenmesinde rol oynadığı bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada, miRNA-1908 ekspresyonunun, SK-MES-1, A549 ve NCI-H460 dahil olmak üzere insan küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC) hücre dizilerinde önemli ölçüde downregüle edildiğini ve bunun, NSCLC'nin ilerlemesi üzerinde süpresör bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (214).

miRNA-1908'in, PTEN ekspresyonunu düzenleyerek onkogen olarak hareket ettiği, osteosarkomda bir risk faktörü olduğu bulunmuştur. Yuan ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada miRNA-1908'in PTEN'i hedeflediği, PTEN'in azalmış ekspresyonuna ve in vitro osteosarkom hücrelerinin göç ve proliferasyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir. Osteosarkom hücrelerinde miRNA-1908 overekspresyonu, artmış hücre proliferasyonu ve in vitro invazyon ile ilişkilidir. Buna karşılık, endojen miRNA-1908'i susturmak, osteosarkom hücrelerinin proliferasyonunu ve invazyonunu belirgin bir şekilde ortadan kaldırmıştır (215).

Glioblastoma hücrelerinde, miRNA-1908'in overekspresyonu, hücre proliferasyonunu ve in vitro invazyonu güçlü bir şekilde desteklemektedir. Tersine, endojen miRNA-1908'in inhibisyonu, glioblastoma hücrelerinin proliferasyonunu ve

invazyonunu belirgin biçimde ortadan kaldırır. Moleküler düzeyde, hem AKT/FOXO3a hem de AKT/mTOR yolları, PTEN ekspresyonunu baskılayarak, miRNA-1908 aracılı glioblastoma hücrelerinin malign fenotipine katkıda bulunur. Yüksek miRNA-1908 ekspresyonu ve düşük PTEN ekspresyonu ile glioblastoma tümörlerinin malign özellikleri arasında yakın korelasyon mevcuttur (216).

miRNA-1908, TGF- $\beta$  mRNA değişikliklerine ters olarak renal fibrozis sürecinde kademeli olarak azalan bir ekspresyon göstermiştir. miRNA-1908'in overekspresyonunun, primer böbrek interstisyel hücrelerinde TGF- $\beta$ , -sma ve -mad ilişkili protein (SMAD) 2/3 ve matriks metalloproteinaz 2 (MMP-2)'nin ekspresyonunu süprese ettiği gösterilmiştir (217).



### 3-MATERYAL-METOD

#### 3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Bu çalışmada hasta ve kontrol grubunu oluşturan kişilere ait alınmış kan örneklerinin kullanımı için Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (19.04.2017 tarihli, 2017-04/03 nolu karar)'ndan onay alındı. Çalışmamızda 60'ı hasta, 40'ı kontrol grubu olmak üzere toplam 100 adet kan örneği kullanıldı. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından serolojik ve virolojik olarak KKKA hastalığı tanısı konmuş bireyler, hasta grubunu oluştururken, yaş ve cinsiyet açısından hasta grubu ile benzer olan ve bilinen herhangi bir hastalığı olmayan, sağlıklı gönüllü bireyler kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Hastalar, Bakır ve arkadaşlarının tanımladığı kriterlere (karaciğer fonksiyon testleri, LDH, lökosit sayısı, hepatomegali, organ yetmezliği, kanama, ileri yaş ve DIC skoru) göre klinik ciddiyet açısından gruplandırıldı (218). Buna göre hastalar hafif, orta ve ağır klinik ciddiyet şeklinde 3 gruba ayrıldı. Orta şiddet grubunu oluşturan hasta sayılarının az olması nedeniyle bu gruptaki hastalar ağır şiddet grubuna dahil edildi. Kanlar alındığı andan itibaren tüm hücreleri parçalayan ve RNA'yı koruyan, içerisinde özel bir stabilizasyon solüsyonunun (tetradecyl trimethyl-ammonium oxalate and tartaric acid) bulunduğu RNA tüplerine (PAX gene kan RNA tüpü) konulmuştur. Bu tüpe alınan kan örneği içindeki tüm hücreler parçalanmış ve RNA tespit edilmiştir. Hasta ve sağlıklı kişilerden alınan kan örnekleri çalışmanın yapılacağı güne kadar -80 °C'de saklandı.

#### 3.2. RNA İzolasyonu

miRNA içeren total RNA, miRNeasy mini kit kullanılarak (QIAGEN-katalog no:217004) kit protokolüne uygun şekilde kan örneklerinden izole edildi. Öncelikle çalışma boyunca kullanılacak bütün malzemeler RNaz'ları inaktifleştiren dietil pirokarbonat (DEPC) ilave edilmiş distile su ile yıkanarak steril edildi. RNA tüpündeki 7 mililitre (ml) kan örneği 4°C'de, 5000 g'de 10 dk boyunca santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırılıp pelletin üzerine 4 ml RNaz içermeyen su eklendi, pellet çözünene kadar vortekste karıştırıldıktan sonra tekrar 4 °C'de, 5000 g'de 10 dk

boyunca santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pelletin üzerine 500 mikrolitre ( $\mu\text{l}$ ) Tris EDTA sodyum klorür (TES) ilave edildi ve vortekste karıştırıldı. Ardından bu karışım 2 ml'lik eppendorf tüpüne aktarıldı. Üzerine %10'luk 40  $\mu\text{l}$  sodyum dodesil sülfat, 40  $\mu\text{l}$  proteinaz K eklendi. Vortekste karıştırıldıktan sonra 37°C'de 1 gece inkübasyona bırakıldı. 37°C'de 1 gece inkübasyonun ardından her bir örneğe 600  $\mu\text{l}$  QI Azol liziz reaktifi eklendi ve 5 dk oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra 200  $\mu\text{l}$  kloroform eklendi ve çalkalandı. İki dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 4 °C'de, 12000 g'de 15 dk boyunca santrifüj edildi. Üst faz yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, üzerine hacminin 1.5 katı kadar % 100'lük etanol eklendi ve pipetaj yapıldı. Elde edilen karışımdan 700  $\mu\text{l}$  alınıp 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirilmiş RNeasy mini kolona yüklendi. Sonrasında oda sıcaklığında 11000 g'de 15 sn boyunca santrifüj edildi ve atık döküldü. Örneğin kalan kısmı ile bu santrifüj işlemi tekrar edildi. Atık döküldükten sonra kolona 700  $\mu\text{l}$  RWT tamponu eklendi. Oda sıcaklığında 11000 g'de 15 sn boyunca santrifüj edildi, atık döküldü. Bu basamakdan sonra kolona 500  $\mu\text{l}$  RPE tamponu eklenerek tekrar oda sıcaklığında 11000 g'de 15 sn boyunca santrifüj edildi ve atık döküldü. Ardından yine 500  $\mu\text{l}$  RPE tamponu eklenerek oda sıcaklığında 11000 g'de 2 dk boyunca santrifüj edildi. Daha sonra kolon 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi ve 1 dk boyunca en yüksek hızda ağzı açık şekilde santrifüj edilerek kuruması sağlandı. 1.5 ml'lik yeni bir tüpe yerleştirilen kolona 35  $\mu\text{l}$  RNaz içermeyen su eklendi ve oda sıcaklığında 11000 g'de 1 dk santrifüj edilerek RNA elde edildi. Son olarak RNA örnekleri sonraki aşamada kullanılıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

### **3.3. RNA Konsantrasyonunun ve Saflığının Belirlenmesi**

Hasta ve kontrol grubu numunelerinden RNA izolasyonu yapıldıktan sonra, ultraviyole-görünür spektroskopi (UV-VIS) cihazında (Maestro NANO) bütün örneklerin total RNA konsantrasyonu ( $\text{ng}/\mu\text{l}$ ) ve saflık derecesi ( $A_{260}/A_{280}$ ) ölçüldü. Ölçüm yapılmasının ardından RNA örnekleri tekrar kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı.

### 3.4. Tamamlayıcı DNA (cDNA) Sentezi

İzolasyon basamağından sonra konsantrasyonu belirlenen tüm örneklerden cDNA sentezi için öncelikle her birinin RNA konsantrasyonu nükleaz içermeyen su kullanılarak 200 ng/μl olacak şekilde ayarlandı. RNA'ların revers transkripsiyonu için miScript II RT Kit (Qiagen-218161) kullanılarak cDNA sentezi, kit protokolüne uygun olacak şekilde yapıldı. Örnekler ilk olarak 37°C'de 1 saat, sonrasında ise 95°C'de 5 dk inkübe edildi. Kullanılan bileşenler Tablo 2'de yer almaktadır.

**Tablo 2.**Revers transkripsiyon reaksiyon bileşenleri

Bileşen	Miktar
RNA	Değişken
Tampon	4 μl
Nükleik karışımı	2 μl
Revers transkriptaz karışımı	2 μl
Nükleaz içermeyen su	Değişken
Toplam hacim	20 μl

cDNA sentezinden sonra tüm örnekler nükleaz içermeyen su ile 11 kat seyreltildi ve kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) aşamasına kadar -20°C'de saklandı.

### 3.5. Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu

miRNA-144 ve miRNA-1908'in hasta ve kontrol kanlarındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi için cDNA sentez aşamasından sonra qPCR aşamasına geçildi. qPCR, örnekteki nükleik asit miktarının belirlenmesinde kullanılan bir yöntem olup, bu yöntemde amplifikasyonu görünür hale getiren floresan işaretli prob ya da boyalar kullanılır. Çalışmamızda miRNA-144, miRNA-1908 ve referans gen, RNU6'ya ait optimize Qiagen marka primerler (miScript primer assay) ve miScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen-218073) kullanılarak qPCR aşaması, ilgili markanın protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. cDNA sentezi yapılmış olan her bir deney



ve kontrol grubu örneği için reaksiyon ortamı Tablo 3'te belirtildiği şekliyle hazırlandı.

**Tablo 3.** qPCR bileşenleri

Bileşen	1 reaksiyon başına düşen miktar
Nükleaz içermeyen su	2,5 µl
SYBR Green PCR karışımı	12,5 µl
cDNA	5 µl
miScript primer assay	2,5 µl
miScript evrensel primer	2,5 µl
Toplam hacim	25 µl

Tüm hasta ve kontrol örneklerinde ekspresyon düzeyleri incelenecek olan genler ve referans gen için Tablo 2'de verilen bileşenler her bir qPCR plaka kuyusuna toplam hacim 25 µL olacak şekilde yüklendi. Yükleme işleminin ardından plaka, şeffaf yapışkan film ile buharlaşmayı ve kontaminasyonu önlemek için kapatıldı. Daha sonra plaka LightCycler®96 (Roche) cihazına yerleştirildi. Cihaz Tablo 4'te verilen reaksiyon şartlarına ayarlanarak program başlatıldı.

**Tablo 4.** qPCR reaksiyon koşulları

Program	Döngü sayısı	Süre	Sıcaklık
Başlangıç inkübasyonu	1	15dk	95 °C
3-aşamalı amplifikasyon	40	15 sn	94°C
		30 sn	55 °C
		30 sn	70 °C

### 3.6. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada kan örnekleri için  $\alpha=0.05$   $\beta=0.20$  ve  $R=1.3$  olarak alındığında hasta grubuna 60, kontrol grubuna 40 kişi alınmasına karar verildi. Testin gücü  $P=0.80634$  bulundu.

QPCR sonuçları "GeneGlobe Data Analysis Center'a" (Veri Analiz Merkezi) (<https://www.qiagen.com/de/shop/genes-and-pathways/data-analysis-center-overview-page/>) yüklendi ve analiz  $\Delta\Delta Cq$  yöntemine göre yapıldı. P değeri kontrol ve deney grubunda çalışılan her bir gen için Student's t-test temel alınarak hesaplandı. 0.05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi.



#### 4-BULGULAR

Çalışmamız serolojik ve virolojik olarak KKKA tanısı konmuş 60 KKKA hastası ve 40 sağlıklı bireyden oluşturulmuştur. Hasta grubunda 35 (% 58.33) erkek, 25 (% 41.67) kadın birey bulunmakta olup, hastalardan 11'i hayatını kaybetmiştir. Kontrol grubunda 25 (% 62.5) erkek, 15 (% 37.5) kadın birey bulunmaktadır. Çalışma grubuna ait demografik veriler Tablo 5'te sunulmuştur. Hasta grubu ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

**Tablo 5.** Çalışma grubuna ait demografik veriler

	Hasta grubu	Kontrol grubu	p değeri
<b>Birey Sayısı, <i>n</i> (%)</b>	60 (100.00)	40 (100.00)	
<b>Yaş Ortalaması, <i>yl</i></b>	48.38±12.4	44.45±11.8	0.065
<b>Cinsiyet, <i>n</i> (%)</b>			0.896
Kadın	25 (% 41.66)	15 (% 37.50)	
Erkek	35 (% 58.33)	25 (% 62.50)	
<b>Ölen kişi, <i>n</i> (%)</b>	11 (% 18.33)	-	

Çalışmamızdaki KKKA hastalarına ait klinik ve laboratuvar veriler Tablo 6’da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Hasta grubuna ait klinik ve laboratuvar veriler

Parametre	Sonuç	Hasta Sayısı, <i>n</i> (%)
<b>Lökosit sayısı<sup>a</sup></b>	4000-11000	10 (% 16.67)
	< 4000	50 (% 83.33)
<b>Alanin aminotranferaz<sup>b</sup></b>	0-50	23 (% 38.33)
	>50	37 (% 61.67)
<b>Protrombin zamanı<sup>c</sup></b>	10.7-13	40 (% 66.67)
	>13	20 (% 33.33)
<b>Platelet sayısı<sup>d</sup></b>	150000-400000	2 (% 5.00)
	<150000	58 (% 95.00)
<b>Şiddet<sup>e</sup></b>	Hafif (0-5)	37 (% 61.67)
	Ağır/Orta (6-16)	23 ( % 38.33)

<sup>a</sup>Lökosit sayısı: Normal değeri 4000-11000  $10^3/\mu\text{L}$

<sup>b</sup>Alanin aminotranferaz: Normal değeri 0-50 U/L

<sup>c</sup>Protrombin zamanı: Normal aralığı 10.7-13 sn

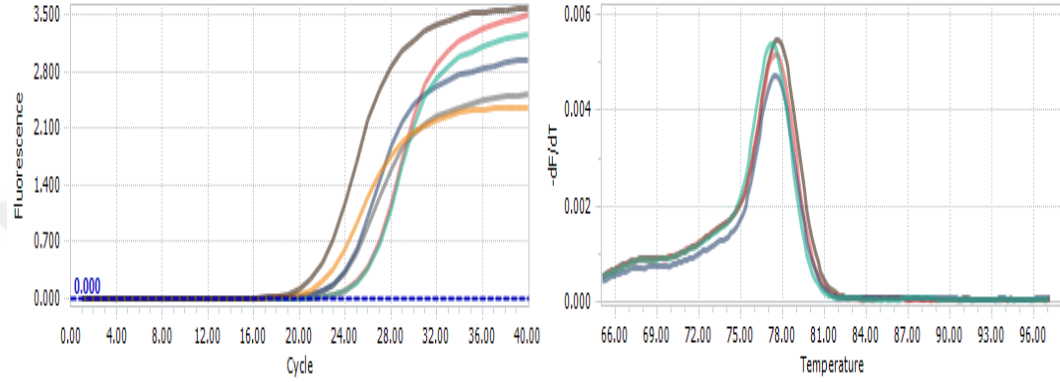
<sup>d</sup>Platelet sayısı: Normal aralığı 150000-400000  $10^3/\mu\text{L}$

<sup>e</sup>Şiddet skorlaması: Bakır ve arkadaşlarının tanımladığı kriterlere göre (217) belirlenmiştir.

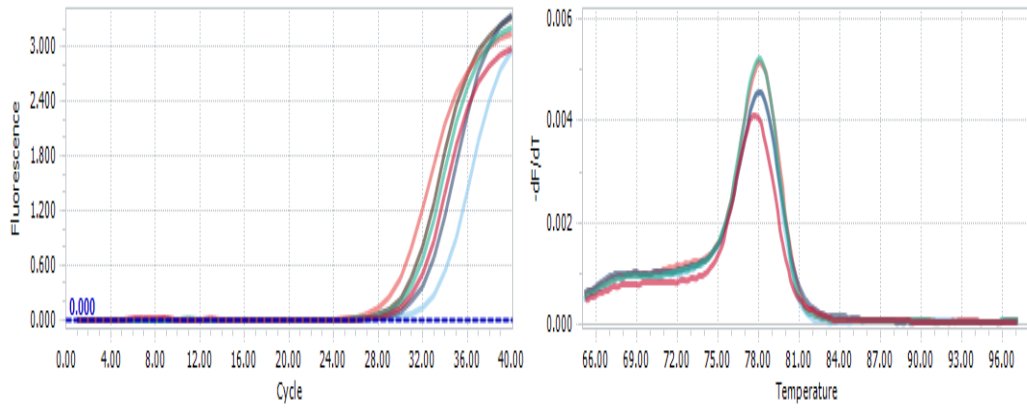
Tüm örneklerde her bir genin ifade düzeyinin belirlenmesi için qPCR yapıldı ve veriler  $\Delta\Delta\text{Cq}$  metoduna göre analiz edildi. İlk olarak, hasta ve kontrol grubunda miRNA-1908 ve miRNA-144 ifade düzeyleri karşılaştırıldı. Ardından KKKA hastalarından hastalığı ağır/orta geçiren ve hastalığı hafif geçiren hastalarda miRNA-1908 ve miRNA-144 ifade düzeyleri karşılaştırıldı. Ayrıca hasta grubundaki bireyler

laboratuvar veriler (WBC, ALT, PT, PLT ) açısından normal değerler arasında olanlar ve normal değer aralığına göre yüksek ya da düşük olanlar olmak üzere 2'ye ayrılarak miRNA-1908 ve miRNA-144 ifadeleri karşılaştırıldı.

qPCR sonucu hasta ve kontrol grubu örneklerinde miRNA-144 ve miRNA-1908'e ait amplifikasyon ve tm eğrileri her bir gen için Şekil 10, 11'de gösterilmiştir.

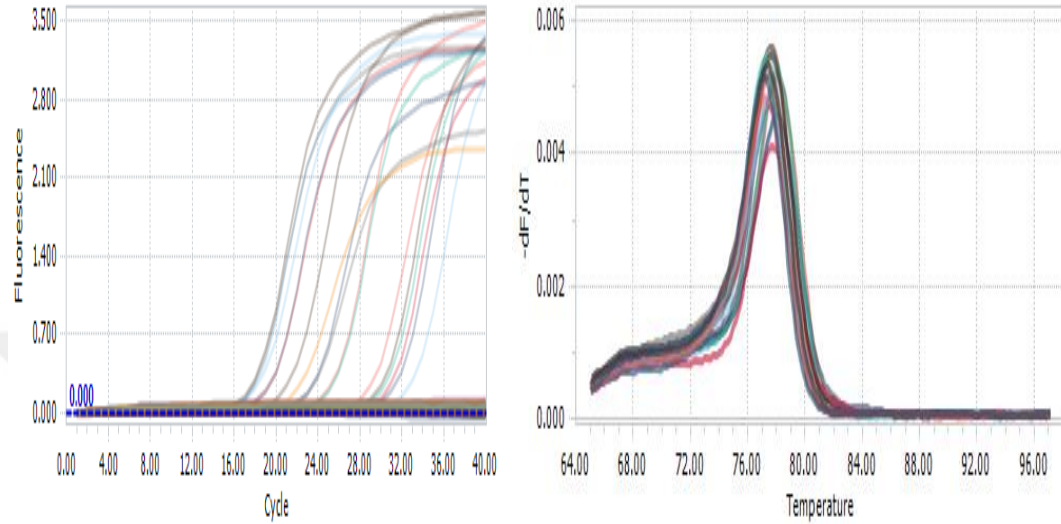


**Şekil 10.** miRNA-144'e ait amplifikasyon (solda) ve tm eğrisi (sağda)



**Şekil 11.** miRNA-1908'e ait amplifikasyon (solda) ve tm eğrisi (sağda)

qPCR sonucu hasta ve kontrol grubu örneklerinde miRNA-144, miRNA-1908 ve iç kontrol geni RNU6'ya ait amplifikasyon ve tm eğrileri Şekil 12'da gösterilmiştir.



**Şekil 12.** miRNA-144, miRNA-1908 ve iç kontrol geni RNU6'ya ait amplifikasyon (solda) ve tm eğrisi (sağda)

$\Delta\Delta C_q$  analiz sonucuna göre kontrol grubu örnekleri ile karşılaştırıldığında KKA hastalarında miRNA-144'ün ifadesi 11 kat azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0.91$ ). miRNA-1908 ekspresyonu ise 1.44 kat artmış olup istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p=0.87$ ). Hastalığı ağır/orta geçiren ve hastalığı hafif geçiren bireylerde miRNA-144 ve miRNA-1908 ifade düzeyleri karşılaştırıldığında ise hastalığı ağır/orta geçiren bireylerde miRNA-144 ifadesi 2 kat ( $p=0.09$ ), miRNA-1908 ifadesi 2.36 kat ( $p=0.37$ ) artmıştır. Çalışmamızda hastalıktan dolayı ölenler ile hayatta kalanlar arasında da miRNA-144 ve miRNA-1908 ifade düzeyleri karşılaştırılmış olup, ölen bireylerde miRNA-144'ün ekspresyon düzeyi 16.3 kat artmışken ( $p=0.002$ ), miRNA-1908'in ifade düzeyi 14.3 kat artmıştır ( $p=0.01$ ) ve bu iki düzeydeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Hastalıktan dolayı ölenler ve kontrol grubu kıyaslandığında

ölenlerde miRNA-144 seviyesinin aynı seviyelerde ölçüldüğü ( $p=0.051$ ) ve miRNA-1908 seviyesinin 13.8 kat arttığı ( $p=0.09$ ) gözlenmiştir (Tablo 7).

**Tablo 7.** Hasta-kontrol, ağır/orta-hafif, ölen-yaşayan hasta ve ölen hasta-kontrol gruplarında miRNA-144 ve miRNA-1908 ifade düzeylerinin karşılaştırılması

Grup	Gen	Kat değişimi	Kat regülasyonu	p değeri
<b>Hasta-Kontrol</b>				
	miRNA-144	0.09	-11.11	0.911
	miRNA-1908	1.44	1.44	0.872
<b>Ağır/Orta-Hafif hasta</b>				
	miRNA-144	2.05	2.05	0.095
	miRNA-1908	2.36	2,36	0.376
<b>Ölen-Yaşayan Hasta</b>				
	miRNA-144	16.38	16.38	<b>0.002</b>
	miRNA-1908	14.31	14.31	<b>0.010</b>
<b>Ölen Hasta-Kontrol</b>				
	miRNA-144	1.00	1.00	0.051
	miRNA-1908	13.82	13.82	0.090

(Kat değişimi: Karşılaştırılan gruplar arasındaki kat değişimi;  $p<0,05$  değeri farklılık açısından önemli kabul edilmiştir).

Ayrıca KKA hastalarının bazı laboratuvar değerleri ile (WBC, ALT, PT ve PLT sayısı) miRNA-144 ve miRNA-1908 ifade düzeyi arasındaki ilişki istatistiksel açıdan araştırılmıştır. Laboratuvar verileri normal değerlerin üzerinde veya altında olan hastalar ile normal değerler arasında olan hastalar karşılaştırıldığında; WBC değeri normal değerinin altında olanlarda miRNA-144 ifade düzeyleri yaklaşık 3 kat azalmıştır ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0.038$ ). Çalışmada lökosit değeri normal değerinin üzerinde olan hasta tespit edilmemiştir. PT değeri normal

değerin üzerinde olanlarda miRNA-1908 değeri yaklaşık 7 kat artmıştır ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0.01$ ). Platelet sayısı normal değerler aralığında olan iki hasta olduğundan p değeri hesaplanamamıştır (Tablo 8).

**Tablo 8.** Laboratuvar parametreleri normal değerlerin dışında olan hastalar ile normal olan hastalarda miRNA-144 ve miRNA-1908 ifade düzeylerinin karşılaştırılması

Parametre	Gen	Kat değişimi	Kat regülasyonu	p değeri
<b>Lökosit sayısı</b>				
	miRNA-144	0.29	-3.40	<b>0.038</b>
	miRNA-1908	0.76	-1.30	0.392
<b>Alanin aminotransferaz</b>				
	miRNA-144	1.58	1.58	0.438
	miRNA-1908	2.64	2.64	0.324
<b>Protrombin zamanı</b>				
	miRNA-144	4.67	4.67	0.076
	miRNA-1908	7.28	7.28	<b>&lt;0.01</b>
<b>Platelet sayısı</b>				
	miRNA-144	5.12	5.12	-
	miRNA-1908	2.37	2.37	-

(Kat değişimi: Karşılaştırılan gruplar arasındaki kat değişimi;  $p<0,05$  değeri farklılık açısından önemli kabul edilmiştir).



## 5-TARTIŞMA

KKKA, *Bunyavirales* grubunun *Nairoviridae* ailesinin *Orthonairovirus* genusunun bir üyesi olan bir virüsün neden olduğu kene kaynaklı bir hastalıktır. KKKAV negatif polarite gösteren tek sarmallı bir RNA virüsüdür ve yayılımı özellikle *Hyalomma* cinsi kenelerle olmaktadır (2,11). KKKKA ilk olarak 1940'ların ortalarında Kırım Yarımadası'ndaki tarım işçileri arasında büyük bir salgın sırasında tanınmıştır (14). Hastalık Afrika, Asya ve Avrupa'nın çoğu yerinde sporadik olarak ortaya çıkmakta ve yaklaşık % 30 ölüm oranıyla sonuçlanmaktadır. Ülkemizde ise ilk olarak 2002 yılında rapor edilen KKKKA, Kelkit Vadisi ve kırsal kesimlerde yaşayan insanlar için önemli bir halk sağlığı sorunudur (11,21,22). Kısa bir inkübasyon süresinden sonra, KKKKA ani başlayan yüksek ateş, titreme, şiddetli baş ağrısı, baş dönmesi, sırt ve karın ağrısı ile karakterizedir. Ek olarak mide bulantısı, kusma, ishal, nöropsikiyatrik ve kardiyovasküler değişiklikler görülebilir. Hastalığı şiddetli geçiren bireylerde, peteşiden organ kanamalarına kadar değişen hemorajik bulgular gelişir. KKKKA bazı bireylerde hafif seyrederken bazı bireylerde ağır seyretmekte hatta ölümlere neden olmaktadır. Hastalığın bireyler arasındaki bu klinik farklılığının sebebi bilinmemektedir. Bu farklılıklar birçok viral enfeksiyonun patogeneğinde rol oynayan epigenetik farklılıklar nedeniyle olabilir (219). Viral genotip farklılıkları, klinik sonuçları etkilese de, konak genetik farklılıkları da prognozda rol oynar (220). KKKAV'nin genetik değişkenliği, hastalığa karşı savaşmak için yeni tanı testlerine ve uygun terapötik ajanlara ihtiyaç duyulmasına neden olur. Son yıllarda, KKKAV'nin moleküler tespitindeki, özellikle de RT-PCR'ın klinik ve kene örneklerinde kullanımındaki önemli ilerlemeler, hem hastalığın hem de moleküler epidemiyoloji çalışmalarının hızlı tespitine olanak sağlamıştır (11).

Günümüzde kalıtsal materyalin büyük bir kısmının ncRNA'lar olarak transkribe olduğu gözlenmiştir. Tüm protein kodlayan genler genomun yaklaşık % 2'sini oluşturur (117). miRNA'lar genomun protein kodlamayan bölümünde yer alırlar ve hücre döngüsünün hemen hemen her bölümünde yer almaktadırlar. miRNA, gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde baz çifti ile gerçekleştirir. DNA'dan transkripsiyonu yapılan ancak proteine çevirisi yapılamayan genler tarafından kodlanan miRNA'lar, hedef genin mRNA'sına düşük özgüllükte

bağlanmasına, mRNA yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olabileceği için gen ifadesinin kontrolünde önemli role sahiptir (221). miRNA'lar gelişme, organogenez, hücre proliferasyonu, apoptozis, embriyonik kök hücre differansiyasyonu, femur kemiği gelişimi, sinaptik gelişim ve elastisite, deri differansiyasyonu, kardiyogenez, oksidatif stres, DNA onarımı, normal immün yanıt, insülin sekresyonu, nörotransmitter sentezi, sirkadyan ritm ve viral replikasyon gibi birçok biyolojik olaylarda kritik rol oynamaktadır (157-160). Günümüze kadar, insanda 5000'den fazla miRNA keşfedilmiştir ve miRNA'ların yeni nesil biyomarker ve terapötik olma yolunda önemli potansiyelleri vardır (161).

KKKA hastalığının epigenetik temelini anlaşılmaya ve yeni tedavi alternatiflerine katkıda bulunmak için çalışmamızda KKKA hastaları ve kontrol grubu arasında miRNA-144 ve miRNA-1908 ekspresyon seviyelerini değerlendirdik. Yaptığımız çalışmada, KKKA hastalarında miRNA-1908 ifadesinin kontrol grubuna kıyasla 1.44 kat artmış olduğunu saptadık ( $p=0.87$ ). Ayrıca hastalığı ağır/orta geçiren hastalarda hafif seyirli olanlara kıyasla miRNA-1908 ifadesinin 2.36 kat arttığını tespit ettik ( $p=0.37$ ). KKKAV'nin en önemli hedef dokularından birisi karaciğerdir. Özellikle de şiddetli vakalar hepatomegali ve organ yetmezliği gibi klinik bulgularla ilişkilendirilmiştir (218). HBV enfeksiyonunda da miRNA-1908'in upregüle olduğu gösterilmiştir. Örneğin Kohno ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada miRNA-1908'in fare ve insan HBV enfeksiyonunda, karaciğerde upregüle olarak düzenlendiği gösterilmiştir (222). Aynı çalışmada, kronik hepatit B, kronik hepatit C veya alkolik karaciğer fonksiyon bozukluğu olan hastalardan elde edilen karaciğer dokusu örneklerinde miRNA-1908 ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında, kronik hepatit B'li karaciğer dokularında, diğer karaciğer hastalıklarına sahip olanlardan anlamlı ölçüde daha yüksek tespit edilmiştir. Bahsedilen çalışmada miRNA-1908 upregülasyonunun sinyal yolları üzerindeki etkisini analiz etmek için yolak analizleri yapılmış, güvenilirliğini arttırmak için dört prediktif araç (miRWalk, TargetScan, miRanda ve miRDB) kullanılmıştır. Yapılan analizlere göre sitokin ve kemokin sinyal yollarının aracılık ettiği inflamasyon, anjiogenez, integrin sinyal yolağı, Wnt sinyal yolağı, epidermal growth faktör (EGF), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), VEGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF), endotelin sinyal yolları, Ras yolağı miRNA-1908'in hedef yolları olarak değerlendirilebilir

denilmiş ancak karakteristik bir yolak tespit edilememiştir (222). Demir ve arkadaşlarının çalışmasında KKKK hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında 106 adet farklı eksprese edilmiş miRNA tanımlanmıştır, 19 miRNA'da 5 kattan daha fazla upregülasyon veya downregülasyon tanımlanmıştır. Bu miRNA'lar, sitokin ekspresyonu, adezyon moleküllerinin sekresyonu, doğal immün yanıtta viral kaçış gibi mekanizmalarla ilişkili olabilir. Yolak analizleri TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , MAPK, WNT ve nörotrofin yolaklarının hastalığın patogenezinin katılımını ortaya koymuştur (212).

Swanepoel ve ark.'nın tanımladığı hastalığın başlangıcında (ilk 5 gün boyunca) ölçülebilen ve mortaliteyi öngören laboratuvar parametreleri arasında beyaz küre sayısı, platelet sayısı, AST, ALT değerleri, APTT ve fibrinojen düzeyleri mevcuttur (85). Çalışmamızda ALT'si, PT'si normal değerlerin üzerinde olan hastalarda miRNA-1908 seviyelerinin sırasıyla 2.64 ve 7.28 kat artmış olduğunu gözlemledik ( $p=0.32$  ve  $p<0.01$ , sırasıyla). TNF- $\alpha$ , birçok inflamatuvar yolda ilk tanımlanan proinflamatuvar sitokindir. TNF- $\alpha$ 'nın NF $\kappa$ B sinyalini etkinleştirdiği bilinmektedir. NF $\kappa$ B, çeşitli biyolojik süreçlerde, özellikle immün yanıtlarda ve inflamasyonda potansiyel olarak belirleyici bir role sahip olan yaygın olarak ifade edilen bir transkripsiyon faktörüdür. miRNA-1908 promotöründe iki potansiyel NF $\kappa$ B bağlanma bölgesi olduğu gösterilmiş ve miRNA-1908 ifadesinin NF $\kappa$ B sinyal yolağından etkilendiği test edilmiştir. Kuang ve ark.'nın yaptığı çalışmada; sırasıyla TNF- $\alpha$  (NF $\kappa$ B aktivatörü) ve JSH-23 (NF $\kappa$ B inhibitörü) kullanarak insan preadipositlerinde miRNA-1908 ekspresyonu incelenmiştir. JSH-23 verilen insan preadipositlerinde miRNA-1908'in ifadesinde 1.7 kat artış, TNF- $\alpha$  verilen preadipositlerde miRNA-1908 ifadesinde 0.2 kat azalma tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, TNF- $\alpha$  ve NF $\kappa$ B'nin insan preadipositlerinde miRNA-1908 ekspresyonunu sınırlayabildiğini göstermiştir (223). Bu çalışmayla karşılaştırıldığında, çalışmamızda TNF- $\alpha$  düzeyine bakılmamış olmakla birlikte ciddi seyirli hastalarda yüksek seyrettiği göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızdaki KKKK hastalığı ağır/orta seyreden, ALT ve PT gibi laboratuvar değerleri normalden daha fazla olan, kötü prognozlu hastalarda miRNA-1908 düzeyinin de artmış olması nedeniyle, miRNA-1908'in birden çok faktörden etkilendiği düşünülebilir.

miRNA-1908'in hastalıkların patogenezinde hangi yolakları kullandığına yönelik yapılan çalışmalar mevcuttur. miRNA-1908'in aşırı ekspresyonu, insan

primer böbrek interstisyel hücrelerinde TGF- $\beta$ 1, SMAD 2/3 ve MMP-2 ekspresyonlarını süprese etmiştir. Renal fibrozis, miRNA-1908 adenovirüs vektörünün enjekte edildiği farelerde, enjekte edilmeyenlere kıyasla anlamlı ölçüde azalmıştır. miRNA-1908, TGF- $\beta$ 1'i hedef alarak böbrek fibrozisini engelleyebilir (217). Yapılan bir hayvan deneyinde benzer şekilde miRNA-1908'in, miyokard enfarktüsü sınır bölgesinde miyokard fibrozisini, TGF- $\beta$ 1 ve Smad 2/3 ekspresyonlarını inhibe edebileceği ve miyokard enfarktüsünden sonra kalp fonksiyonunu iyileştirebildiği bulunmuştur (224).

KKKA'da endotel hasarı hastalığın patogenezinde anahtar bir faktördür. TGF- $\beta$ , hasarlı endotel onarımında görevli mediatörlerden biridir. Bu hemen hemen tüm hücrelerden salınan bir polipeptittir ve hücrel olayların düzenlenmesi, epitel formasyonu, inflamasyon, koagülasyon ve kollajen sentezi için önemlidir. Yılmaz ve ark.'nın yaptığı çalışmada KKKA hastalarında serum TGF- $\beta$  düzeylerinin prognostik öneminin belirlenmesi amaçlanmış, kanamanın var olduğu KKKA hastalarında kanama olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde TGF- $\beta$  düzeylerinin düşük olduğu tespit edilmiştir (225). Bizim çalışmamızda hastalardaki TGF- $\beta$  düzeyine bakılmadı ancak miRNA-1908 ekspresyonundaki artış ile TGF- $\beta$  düzeyi arasında bir ilişki olabilir. Bu konu ayrı bir çalışma konusu olarak araştırılabilir.

Proteinlerin ve organellerin bozulmasını veya hücrel strese bağlı hücre ölümünü indükleyen apoptozis, çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde önemlidir. miRNA-1908'in hücre proliferasyonunu, anti-apoptozis ve SPRY4 / RAF1 eksenini düzenleyerek glioma hastalarının daha kısa sağkalım süreleri ile korele olduğunu gösteren bir çalışmada, miRNA-1908'in bir pro-apoptoz protein olan Bax ekspresyonunu azaltarak U251 hücrelerinin anti-apoptoz yeteneğini arttırdığı gösterilmiştir (226). Çalışmamızda artan miRNA-1908 ekspresyon seviyesinin KKKAH'da antiapoptotik etkisinin olup olmadığının araştırılması, bu hastalığın patogenezinin anlaşılmasına katkı sağlayabilir.

Yapılan başka bir çalışmada, glioblastomada miRNA-1908'in ekspresyonunun fonksiyonu ve mekanizması araştırılmış, miRNA-1908'in PTEN ekspresyonunu düzenleyerek onkogen olarak etki ettiği, glioblastomada risk faktörü olduğu bulunmuştur. Glioblastoma hücrelerinde, miRNA-1908'in aşırı ekspresyonu, hücre proliferasyonunu ve in vitro invazyonunu kuvvetli bir şekilde uyarmıştır.

Moleküler düzeyde, hem AKT / FOXO3a hem de AKT / mTOR yolları, muhtemelen PTEN ekspresyonunu baskılayarak, miRNA-1908 kaynaklı malign tipte glioblastoma hücrelerine katkıda bulunur (216). miRNA-1908'in düşük ekspresyonu, over kanserli hastalarda kötü prognoz için bir belirteç olarak değerlendirilmiştir (227), oysa yapılan başka bir çalışmada artan miRNA-1908 ekspresyonunun, osteosarkomda kötü prognoz ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (228). Çalışmamızda KKKK'a bağlı ölen hasta grubu ile yaşayan hasta grubu karşılaştırıldığında, ölen hasta grubunda miRNA-1908 ekspresyon seviyesinde 14.3 kat artış olduğu gösterilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0.01$ ). Ölen hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olmasına rağmen ölen hasta grubunda miRNA-1908 ekspresyon seviyesinde 13.8 kat artış gösterilmiştir ( $p=0.09$ ). Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuç, miRNA-1908'in KKKAH için potansiyel yeni bir prognostik belirteç olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda KKKK hastalarında ekspresyon seviyesini araştırdığımız diğer bir miRNA, miRNA-144'tür. Yaptığımız analizlerde kontrol grubuna kıyasla KKKK hastalarında miRNA-144 ifadesinin yaklaşık 11 kat azaldığı tespit edilmiştir ( $p=0.91$ ). Yapılan birçok çalışmada, miRNA-144 ekspresyonunun, kolanjiokarsinom, kolorektal kanser, mesane kanseri ve tiroid kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde azaldığı, kanser proliferasyonu ve metastazı ile ters ilişkili olduğu gösterilmiştir. KKKAV'nin en önemli hedef dokularından birisi karaciğerdir. Yu ve ark.'nın yaptığı çalışmada hepatoselüler karsinom (HCC)'de miRNA-144 seviyeleri incelenmiş, HCC hücrelerinde çalışmamızla benzer şekilde miRNA-144 ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır. (229). Başka bir çalışmada, miRNA-144'ün kısmen E2F3'ü hedefleyerek HCC hücrelerinin büyümesini ve hareketliliğini baskılayabileceği gösterilmiş olsa da, miRNA-144'ün HCC'deki rolü hakkındaki bilgiler hala sınırlıdır (230). Yu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, miRNA-144'ün HCC hücre proliferasyonunu ve invazyonunu baskıladığı gösterilmiştir (229). Yu ve arkadaşlarının çalışmasında hepatositlerin büyümesinde rol alan TGF beta yolağında SMAD4'ün anahtar bir rol oynadığı belirtilmiş ve HCC hastalarında SMAD4'ün miRNA-144'ün yeni ve doğrudan hedefi olduğu bildirilmiştir. Ayrıca miRNA-144 upregülasyonunun indüklenmiş kanser hücresi apoptozunu artırabileceği de belirtilmiştir (229). Yapılan diğer bir çalışmada, KKKAV 'nin, KKKAV replikasyon

döngüsünün erken evrelerinde apoptozis mekanizmalarından kaspaz aktivasyonunu baskıladığını ve bunun da enfeksiyon oluşumuna yardımcı olabileceği gösterilmiştir (231). Çalışmamızda hastalardaki miRNA-144 ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla azalmış olduğu görüldü. miRNA-144'ün apoptozis üzerine olan etkisi göz önünde bulundurulursa, KKKK hastalarındaki azalmış miRNA-144 ekspresyonunun hastalık sırasında antiapoptotik etkisinin olabileceği düşünülebilir.

Genellikle, immün baskılanmanın aktif TBC gelişiminde önemli bir rol oynayabileceğine inanılır. TBC'ye karşı koruyucu bağışıklık esas olarak CD4 + T hücrelerine ve CD8 + T hücrelerine bağlıdır. CD8 + T hücreleri, enfekte hücelere karşı sitotoksik etkiye sahiptir ve sitokinler de üretebilir. Genellikle, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  gibi Th-1 hücreleri tarafından üretilen sitokinlerin korunma için merkezi olduğuna inanılmaktadır. Enfekte makrofajın sitokinler tarafından aktive edilmesi, mikobakteriyel replikasyonun kısıtlanmasına ve konakçı hücrelerde M. tuberculosis'in öldürülmesine neden olur. miRNA-144, aktif TBC hastalarında aşırı eksprese edilen mikroRNA'lardan biridir. Bir çalışmada yazarlar, miRNA-144'ün IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  sekresyonunu ve T hücrelerinin hücre proliferasyonunu inhibe edebileceğini bildirmişlerdir (8). TNF- $\alpha$ , KKKK hastalığının seyrinde önemli bir sitokindir. miR144'ün KKKK hastalarında da çok sayıda düzenleyici fonksiyona sahip olabileceği gibi, TNF- $\alpha$  dahil sitokin üretimini modülasyonuna ve bu sayede immün sistem üzerine etkisinin olması mümkündür.

Glioblastoma (GBM), yüksek morbiditesi olan en yaygın malign beyin tümörlerinden biridir. Malign GBM hastalarının çoğunun CMV ile enfekte olduğu bildirilmiştir. Betaherpes virüs alt ailesine ait CMV, bir dizi proteini kodlayan yaygın bir patojendir. Bu proteinlerden biri, tüm glioblastomalarda ve düşük dereceli gliomaların % 82'sinde saptanan CMV intermediate early1 (IE1) proteindir. IE1'in topoizomeraz II alfa (TOP2A) ekspresyonunu arttırdığı bildirilmekle beraber TOP2A'nın CMV negatif gliomaya kıyasla CMV pozitif gliomada yüksek oranda eksprese edildiği gösterilmiştir. TOP2A, miRNA-144 için doğrudan bir hedef genidir. TOP2A, glioma hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu destekler. Song ve ark. miRNA-144'ün CMV pozitif glioma dokularında ve CMV ile enfekte olmuş glioma hücre dizilerinde kontrol dokularında olduğundan daha düşük bir ekspresyon seviyesine sahip olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada miRNA-144 ekspresyonu

azalmışken, TOP2A ekspresyonunun ise arttığı saptanmıştır (232). Bu sonuç çalışmamızda KKKAV ile enfekte olmuş hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla azalmış miRNA-144 ekspresyon seviyesiyle benzerlik göstermektedir. Bu gözlemler, virüsler dahil olmak üzere patojenlerin çeşitli faktörleri hedef alarak potansiyel hücrel transkripsiyonu çoklu seviyelerde değiştirebileceğini akla getirmektedir.

Hastalığı ağır/orta geçiren ve hastalığı hafif geçiren hastalarda miRNA-144 ifade düzeyleri karşılaştırıldığında ise hastalığı ağır/orta geçiren bireylerde miRNA-144 ifadesinin 2.05 kat arttığı tespit edilmiştir ( $p=0.09$ ). Çalışmamızda ALT'si ve PT'si normal değerlerin üzerinde olan hastalarda, normal değerlerde olan hastalara göre miRNA-144 seviyelerinin sırasıyla 1.58 ve 4.67 kat artmış olduğunu gözlemledik ( $p=0.43$  ve  $p=0.07$ , sırasıyla). MiRNA-144'ün akciğer epitel hücrelerinde influenza virüs replikasyonunu arttırdığı mekanizmayı açıklamak için, influenza ile enfekte olmuş yaban tip ve miRNA-144 aşırı eksprese eden hücrelerin transkripsiyonel profilleri karşılaştırılmış, miRNA-144'ün ekspresyonu, doku kültürü (TC-1) hücrelerinde 48 genin ekspresyonunu anlamlı şekilde azaltırken, 9 genin ekspresyonunu 2 kat artırmıştır. Benzer şekilde akciğer alveoler epitelyal tip 1 (LET1) hücreleri transkripsiyon profilini etkilemiştir. Özellikle dikkat çeken miRNA-144'ün aşırı eksprese olduğu hücrelerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde antiviral ve interferon yanıtlarıyla ilişkili genlerin baskılanmış ifadesidir. miRNA-144 bazı antiviral efektörler Rsad2, Ifi203, Mpa21, Oas2, Trim30 ve transkripsiyon faktörü IRF7'nin azalmış ekspresyonuna sebep olurken, benzersiz bir antiviral gen alt kümesinin transkripsiyonel düzenlemesinde rol oynayan IRF3, IRF1 veya Irak1 seviyelerini azaltmamıştır. miRNA-144'ün bu antiviral gen grubunun ekspresyonu üzerindeki baskılayıcı etkisi, ektopik olarak miRNA-144'ü eksprese eden LET1 akciğer epitelyal hücrelerinde doğrulanmıştır. miRNA-144 tarafından düzenlenen transkripsiyonel ağın düzenlenmesinde IRF7'nin merkezi bir rol oynadığı düşünülmüştür. miRNA-144'ün regüle ettiği genlerin çoğunluğunun cis regülatuar elemanları içinde IRF7 bağlayıcı motifler olduğu görülmüştür. Daha önce, IRF7'nin epitelyal yüzeylerde influenza virüsüne karşı tip I ve tip III IFN'ye bağlı antiviral yanıtların düzenlenmesinde baskın bir rol oynadığı gösterilmiştir (233-236). miRNA-144 eksprese eden hücrelerde IRF7 mRNA seviyelerinin azalması, IRF7 ve miRNA-144 arasında doğrudan bir etkileşimden kaynaklanmamaktadır. miRNA-144, IRF7

ile birleşen TRAF6'yı (viral enfeksiyonda tip I interferon yanıtları için kritik olan bir E3 ubiquitin ligazdır) direkt olarak regüle eder (237). TRAF6, IRF7 ile birleştikten sonra çeşitli kinazlarla fosforilasyonuna izin veren K63'e bağlı ubiquinasyona aracılık ederek transkripsiyonel aktiviteyi artırır (238-240). Rosenberger ve arkadaşları influenza enfekte hücre dizilerinde miRNA-144'ün konakçının antiviral yanıtını negatif yönde etkilediğini bulmuşlardır (241). Yazarlar miRNA-144'ün TRAF6-IRF7 yolunu zayıflatarak, hücrel antiviral transkripsiyonel ortamı değiştirdiğini ve böylece antiviral cevabı azalttığını göstermişlerdir (241). Bizim çalışmamızda KKKA hastalığını ağır/orta geçiren olgularda hafif geçirenlere kıyasla miRNA-144 ekspresyonu daha fazla bulundu. Rosenberger ve arkadaşlarının çalışmasında bildirildiği gibi, KKKA hastalarında da miRNA-144'ün TRAF6 ve IRF7 yolunu zayıflatarak konağın antiviral yanıtını zayıflatması mümkündür (241).

Hücrelerdeki HIV-1 enfeksiyonu ile ilişkili gen ekspresyon paterni, başlıca düzensiz antiviral aktivite, inflamatuvar yanıt ve hastalığın ilerlemesine yol açan konak genetiği ve dış faktörler tarafından kontrol edilir. Virüs replikasyonu konağın hücrel mekanizmasına bağlı olduğu gibi, yüksek viral yük hücre hasarını ve gen modülasyonunu artırırken, düşük viral yük veya saptanamayan viral yük latenside ve immün kontrolün sağlanmasında rol oynar (242). HIV-1 hastalık ilerlemesinde yer alan birçok konakçı hücrel faktörün, hastalık gelişimi sırasında gen ekspresyonunun miRNA düzenlemesi yoluyla modüle edilebileceği gösterilmiştir. HIV-1 ile enfekte hastalarda doğal ve inflamatuvar faktörleri hedef aldığı bilinen miRNA'ların (miR-19b, 146a, 615-3p, 382, 34a, 144 ve 155) yüksek viral yüke sahip periferik monosit kan hücrelerinde artmış olduğu ve etkisini birçok inflamatuvar faktör ve sitokini (CXCL5, CCL2, CCL8, CXCL10, CCL7, IL1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL6 ve IL8) önemli ölçüde artırarak düzenlendiği gösterilmiştir (241). Bu sonuçlar miRNA-144 de dahil olmak üzere miRNA profilinin HIV-1 kaynaklı konak hücrel işlev bozukluğunun erken bir göstergesi olabileceğine dair kanıt sağlar. Çalışmamızda ölen hasta grubu ve yaşayan hasta grubu karşılaştırılmış olup ölen hasta grubunda miRNA-144 ekspresyon seviyesinin 16.3 kat arttığı gösterilmiştir (p=0.002). İstatiksel olarak anlamlı olan bu sonuç ve KKKA patogeneğinde önemli rol oynadığı bildirilen artmış IL-6 düzeyi göz önünde bulundurulduğunda, miRNA-144'ün sitokinler üzerinden etki gösterebileceği düşünülebilir. KKKA ile enfekte



hastalardaki viral yük seviyesinin miRNA-144 seviyesini etkileme potansiyeli de araştırılmaya değer konulardandır. Demir ve arkadaşlarının çalışmasında KKKA hastalarında miRNA-144 de dahil olmak üzere miRNA profilleri ile virüs yükü arasında herhangi ilişki tespit edilememiştir ancak bu gözlemler daha geniş viral yük aralığına sahip daha büyük kohortlarla yapılan başka çalışmalarla doğrulanmalıdır (212).

Sonuç olarak, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hasta kan örneklerinde miRNA-144 ekspresyon seviyesi 11 ( $p= 0.91$ ) kat azalmışken, miRNA-1908 ekspresyon seviyesi 1.44 ( $p= 0.87$ ) kat artmıştır. Çalışmamızda ağır/orta–hafif, ölen hasta-yaşayan hasta, ölen hasta-kontrol grupları arasındaki karşılaştırmalarda her iki miRNA seviyesinde artış tespit edilmiştir. Hastalığı ağır/orta seyreden bireylerde hafif seyreden bireylere göre miRNA-144 ifade düzeyi 2 kat, miRNA-1908, 2.36 kat artmıştır ( $p= 0.09$  ve  $p= 0.37$ , sırasıyla). Yaşayan hasta bireyler ile karşılaştırıldığında miRNA-144 (16.3 kat,  $p= 0.002$ ) ve miRNA-1908 (14.3 kat,  $p= 0.01$ ) ifadelerinin ölen hasta grubunda arttığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. Ayrıca WBC'si normal değer altında olan hastalarda miRNA-144 ifade düzeyindeki azalma ( $p= 0.03$ ) ve PT'si normal değer üzerinde olan hastalarda miRNA-1908 ifade düzeyindeki artma ( $p<0.01$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. KKKA hastalığının patogenezinde hem miRNA-144 hem de miRNA-1908'in önemli biyobelirteçler olabileceği ve bu miRNA'ların prognozu belirleme potansiyelinin yüksek olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma KKKA hastalarında 2 farklı miRNA düzeyi konusunda literatüre yeni bir bilgi sağlamaktadır. Ayrıca KKKA hastalarında miRNA'lar konusunda yapılacak başka çalışmalar için bir kaynak olabilecektir.

## 6-KAYNAKLAR

- 1) Doğan HO, Büyüktuna SA, Kapancık S, Bakir S. Evaluation of the associations between endothelial dysfunction, inflammation and coagulation in Crimean-Congo hemorrhagic fever patients. *Arch Virol.* 2018; 163 (3): 609-616.
- 2) Adams MJ, Lefkowitz EJ, King AMQ, Harrach B, Harrison RL, Knowles NJ. Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch Virol.* 2017; 162: 2505–2538.
- 3) Korkmaz M, Yıldırım Y, Özçelik H, Fadıloğlu Ç. Güncel Bir Sorun: Kırım-Kongo Kanamalı Atesi. *F.Ü Sag Bil Vet Derg* 2012; 26 (1): 53-60.
- 4) Sefikogullari M, Kaya A, Aydın H, Sancakdar E, Celik VK, Bagci G. Increased Levels of VEGF-A and HIF-1 $\alpha$  in Turkish Children with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *J Arthropod Borne Dis.* 2017; 11 (1): 19–26.
- 5) Ergönül O, Celikbaş A, Dokuzoguz B, Eren S, Baykam N, Esener H. Characteristics of patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever in a recent outbreak in Turkey and impact of oral ribavirin therapy. *Clin Infect Dis.* 2004; 39 (2): 284-7.
- 6) Schnittler HJ, Feldmann H. Viral hemorrhagic fever a vascular disease? *Thromb Haemost.* 2003; 89 (6): 967-72.
- 7) Börekçi G, Bekalp İ, Aras N. Hepatit B virüs enfeksiyonlarında mikroRNA'ların rolü. *Mersin Üniv Sağlık Bilim Derg.* 2013; 6 (3): 1-9.
- 8) Liu Y, Wang X, Jiang J, Cao Z, Yang B, Cheng X. Modulation of T cell cytokine production by miR-144 with elevated expression in patients with pulmonary tuberculosis. *Mol Immunol.* 2011; 48 (9-10): 1084-1090.
- 9) Ozdarendeli A, Canakoğlu N, Berber E, Aydın K, Tonbak S, Ertek M, vd. The complete genome analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virüs isolated in Turkey. *Virus Res.* 2010; 147 (2): 288-93.
- 10) Bonney LC, Watson RJ, Afrough B, Mullojonova M, Dzhuraeva V, Tishkova F, vd. A recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of Crimean-Congo Haemorrhagic fever Virus infection. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017; 11 (10): e0006013.

- 11) Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res.* 2004; 64 (3): 145-160.
- 12) Walker RA, Bouttaour A, Camicas JL, Estrada- Pena A, Horak IG, Latif A, vd. Tick of Domestic Animals in Africa. A Guide to Identification of Species, The University of Edinburgh, UK: Bioscience Reports, 2003; 114.
- 13) Ergönül O. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis* 2006; 6 (4): 203–214.
- 14) Simpson DI. Viral hemorrhagic fevers of man. *Bull World Health Organ* 1978; 56 (6): 819-832.
- 15) Gözalan A, Akin L, Rolain JM, Tapar FS, Oncül O, Yoshikura H. Epidemiological evaluation of a possible outbreak in and nearby Tokat province. *Mikrobiyol Bul* 2004; 38 (1-2): 33-44.
- 16) Watts DM, Ksiasek TG, Linthicum KJ, Hoogstraal H. Crimean-Congo Hemorrhagic fever. Ed: Monath TP. *The arboviruses: epidemiology and ecology*, vol.2. CRC, Boca Raton, FL, USA, 1988; 177-260.
- 17) Capua I. Crimean-Congo haemorrhagic fever in ostriches: A public health risk for countries of the European Union? *Avian Pathology* 1998; 27: 117-20.
- 18) Ergonul O, Whitehouse CA. *Crimean Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective*. Dordrecht (NL): Springer, 2007: 3-11.
- 19) Ergonul O. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: new outbreaks, new discoveries. *Curr Opin Virol.* 2012; 2 (2): 215-20.
- 20) Bente DA, Forrester NL, Watts DM, McAuley AJ, Whitehouse CA, Bray M. Crimean-Congo hemorrhagic fever: History, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Res.* 2013; 100 (1): 159–89,
- 21) Gözalan A, Esen B, Fitzner J, Tapar FS, Ozkan AP, Georges-Courbot MC, vd. Crimean-Congo haemorrhagic fever cases in Turkey. *Scand J Infect Dis.* 2007; 39 (4): 332-336.
- 22) Yilmaz GR, Buzgan T, Torunoglu MA, Safran A, Irmak H, Com S, vd. A preliminary report on Crimean-Congo haemorrhagic fever in Turkey, March-June 2008. *Euro Surveill.* 2008; 13 (33) pii: 18953.
- 23) Karti SS, Odabasi Z, Korten V, Yilmaz M, Sonmez M, Caylan R, vd. Crimean-congo hemorrhagic fever in Turkey. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10 (8): 1379-1384.

- 24) T.C. Sağlık Bakanlığı Türk Halk Sağlığı Kurumu Zoonotik ve Vektörel Hastalıklar Daire Başkanlığı. <http://kkka.thsk.saglik.gov.tr/> (07.01.2019).
- 25) Uyar Y, Çarhan A. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi'nin Ülkemizdeki Epidemiyolojisi. *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.* 2009; 66 (2): Ek 2.
- 26) <http://dergipark.gov.tr/ortadogutipdergisi/article/486938> (04-03-2019).
- 27) Simpson DI. Viral haemorrhagic fevers of man. *Bull Wld Hlth Org.* 1978; 56: 819-832.
- 28) LeDue JW. Epidemiology of hemorrhagic fever viruses. *Rev Infect Dis.* 1989; 11 (Suppl 11): 730-735.
- 29) Oldfield EC, Wallace MR, Hyams KC, Yousif AA, Lewis DE, Bourgeois AL. Endemic infectious diseases of the Middle East. *Rev Infect Dis.* 1991; 13 (Suppl 3): 199-217.
- 30) Williams RJ, Al-Busaidy S, Mehta FR, Maupin GO, Wagoner KD, Al-Awaidy S, vd. Crimean-Congo haemorrhagic fever: a seroepidemiological and tick survey in the Sultanate of Oman. *Tropical Medicine and International Health.* 2000; 5 (2): 99-106.
- 31) Sun Y, Li J, Gao GF, Tien P, Liu W. Bunyavirales ribonucleoproteins: the viral replication and transcription machinery. *Crit Rev Microbiol.* 2018; 44 (5): 522-540.
- 32) <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (21.02.2019)
- 33) Honig JE, Osborne JC, Nichol ST. The high genetic variation of viruses of the genus Nairovirus reflects the diversity of their predominant tick hosts. *Virology.* 2004; 318 (1): 10-6.
- 34) Morikawa S, Saijo M, Kurane I. Recent progress in molecular biology of Crimean–Congo hemorrhagic fever. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 2007; 30 (5-6): 375-389.
- 35) Schmaljohn CS, Hooper JW. Bunyaviridae: the viruses and their replication. Ed: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Griffin DE. *Fields virology*, 4. ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. 2001; 1581-1602.
- 36) Chumakov MA, Butenko CN, vd. New data on the virus causing Crimean Haemorrhagic Fever. *Vop Virusol*, 1968; 13: 1377.
- 37) Alborno A, Hoffmann AB, Lozach P, Tischler ND. Early Bunyavirus-Host Cell Interactions. *Viruses.* 2016; 8 (5): 143.

- 38) Shepherd AJ, Swanepoel R, Cornel AJ, Mathee O. Experimental studies on the replication and transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in some African tick species. *Am J Trop Med Hyg.* 1989; 40 (3): 326-331.
- 39) Gonzalez JP, Camicas JL, Cornet JP, Faye O, Wilson ML. Sexual and transovarian transmission of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in *Hyalomma truncatum* ticks. *Res Virol.* 1992; 143 (1): 23-28.
- 40) Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol.* 1979; 15: 307–417.
- 41) <http://www.angelfire.com/punk/lymedisease/cchf56.html> (07.01.2019).
- 42) Sayin F, Dincer S, Karaer Z, Dumanli N, Cakmak A, Inci A, vd. Status of tick infestation of sheep and goats in Turkey. *Parassitologia.* 1997; 39: 145–152
- 43) Woodall JP, Williams MC, Simpson DIH, Ardoin P, Lule M, West R. The Congo group of agents Rep. East Afr. Virus Res. Inst. 1965; 34-36
- 44) Yen YC, Kong LX, Lee L, Zhang YQ, Li F, Cai BJ vd. Characteristics of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus (Xinjiang strain) in China. *Am J Trop Med Hyg.* 1985; 34 (6): 1179-1182.
- 45) Chumakov MP. On 30 years of investigation of Crimean hemorrhagic fever. *Tr Inst Polio Virusn Entsefalitov Akad Med Nauk SSSR.* 1974; 22: 5-18
- 46) Causey OR, Kemp GE, Madbouly MH, David-West TS. West Congo virus from domestic livestock, African hedgehogs, and arthropods in Nigeria. *Am J Trop Med Hyg.* 1970; 19 (5): 846-850.
- 47) Saluzzo JF, Digoutte JP, Camicas JL, Chauvancy G. Chauvancy. Crimean–Congo haemorrhagic fever and Rift Valley fever in south-eastern Mauritania. *Lancet.* 1985 12; 1 (8420): 116.
- 48) Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA, Shepherd SP. Field and laboratory investigation of Crimean–Congo haemorrhagic fever virus (Nairovirus, family Bunyaviridae) infection in birds. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1987; 81 (6): 1004-7.
- 49) Yolcu S, Kader C, Kayipmaz AE, Ozbay S, Erbay A. Knowledge levels regarding Crimean-Congo hemorrhagic fever among emergency healthcare workers in an endemic region. *J Clin Med Res.* 2014; 6 (3): 197–204.

- 50) Aradaib IE, Erickson BR, Mustafa ME, Khristova ML, Saeed NS, Elageb RM. Nosocomial outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever, Sudan. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16 (5): 837–839.
- 51) Gürbüz Y, Sencan İ, Öztürk B, Tütüncü E. A case of nosocomial transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever from patient to patient. *Int J Infect Dis.* 2009; 13: 105-107.
- 52) Izadi S, Naieni KH, Madjdzadeh SR, Nadim A. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Sistan and Baluchestan Province of Iran, a case-control study on epidemiological characteristics. *Int J Infect Dis.* 2004; 8 (5): 299-306.
- 53) Chapman LE, Wilson ML, Hall DB, LeGuanno B, Dykstra EA, Ba K, vd. Risk factors for Crimean-Congo hemorrhagic fever in rural northern Senegal. *J Infect Dis.* 1991; 164 (4): 686-92.
- 54) Weber F, Mirazimi A. Interferon and cytokine responses to Crimean Congo hemorrhagic fever virus; an emerging and neglected viral zoonosis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2008; 19 (5-6): 395-404.
- 55) Grashchenkov NI. Investigation of Etiology, Pathogenesis, and Clinical Symptomatology of Crimean Hemorrhagic Fever. Reports on the 1944 Scientific Investigation of the Institute of Neurology Akad. Med. Nauk SSR, Moscow 1945; 100–107.
- 56) Sancakdar E, Guven AS, Uysal EB, Deveci K, Gültürk E. Important of angiopoietic system in evaluation of endothelial damage in children with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Pediatr Infect Dis J.* 2015; 34: 200–205.
- 57) Burt FJ, Swanepoel R, Shieh WJ, Smith JF, Leman PA, Greer PW, vd. Immunohistochemical and in situ localization of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus in human tissues and implications for CCHF pathogenesis. *Arch. Pathol Lab Med.* 1997; 121 (8): 839-846.
- 58) Bodur H, Akinci E, Ongürü P, Uyar Y, Baştürk B, Gözel MG, vd. Evidence of vascular endothelial damage in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Int J Infect Dis.* 2010; (14): 704-707.
- 59) Ozturk B, Kuscu F, Tutuncu E, Sencan I, Gurbuz Y, Tuzun H. Evaluation of the association of serum levels of hyaluronic acid, sICAM-1, sVCAM-1, and VEGF-A

with mortality and prognosis in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Clin Virol*. 2010; 47: 115-119.

60) Connolly-Andersen AM, Moll G, Andersson C, Akerström S, Karlberg H, Douagi I vd. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus activates endothelial cells. *J. Virol*. 2011; 85 (15): 7766-7777.

61) Connolly-Andersen AM, Magnusson KE, Mirazimi A. Basolateral entry and release of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in polarized MDCK-1 cells. *J. Virol* 2007; 81 (5): 2158-2164.

62) Duru F, Fışgın T. Hematological aspects of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Turk J Haematol* 2009; 26 (4): 161-166.

63) Saksida A, Duh D, Wraber B, Dedushaj I, Ahmeti S, Avsic-Zupanc T. Interacting roles of immune mechanisms and viral load in the pathogenesis of crimean-congo hemorrhagic fever. *Clin Vaccine Immunol* 2010; 17 (7): 1086-1093.

64) Akıncı E, Bodur H, Leblebicioglu H. Pathogenesis of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2013 (13): 429-437.

65) Feldmann H, Bugany H, Mahner F, Klenk HD, Drenckhahn D, Schnittler HJ. Filovirus-induced endothelial leakage triggered by infected monocytes/macrophages. *J Virol* 1996; 70 (4): 2208–2214.

66) Papa A, Bino S, Llagami A, Brahimaj B, Papadimitriou E, Pavlidou V vd. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Albania, 2001. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21 (8): 603–606.

67) Zelova H, Hosek J. TNF- $\alpha$  signalling and inflammation: interactions between old acquaintances. *Inflamm Res* 2013; 62 (7): 641–651.

68) Levi M. Pathogenesis and treatment of disseminated intravascular coagulation in the septic patient. *J Crit Care* 2001; 16 (4): 167–177.

69) Papa A, Bino S, Velo E, Harxhi A, Kota M, Antoniadis A. Cytokine levels in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Clin Virol* 2006; 36 (4): 272–276.

70) Trotter L. Disseminated intravascular coagulation in the neonatal period. *Newborn and Infant Nursing Reviews* 2004; 4 (4): 176–180.

71) Levi M, de Jonge E, van der Poll T. Plasma and plasma components in the management of disseminated intravascular coagulation. *Best Pract Res Clin Haematol* 2006; 19 (1): 127–142.

- 72) Ergonul O, Tuncbilek S, Baykam N, Celikbas A, Dokuzoguz B. Evaluation of serum levels of interleukin (IL)-6, IL-10, and tumor necrosis factor-alpha in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Infect Dis*. 2006;193 (7): 941-944
- 73) Libraty DH, Young PR, Pickering D, Endy TP, Kalayanarooj S, Green S vd. High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2002; 186 (8): 1165–1168.
- 74) Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Nimmannitya S, Suntayakorn S, Nisalak Avd. Elevated plasma IL-10 levels in acute dengue correlate with disease severity. *J Med Virol* 1999; 59 (3): 329–334.
- 75) Villinger F, Rollin PE, Brar SS, Chikkala NF, Winter J, Sundstrom JB vd. Markedly elevated levels of interferon (IFN)-gamma, IFN-alpha, interleukin (IL)-2, IL-10, and tumor necrosis factor-alpha associated with fatal Ebola virus infection. *J Infect Dis* 1999; 179 (Suppl1): 188-191.
- 76) Kelso A. Cytokines: Principles and prospects. *Immunol Cell Biol* 1998; 76 (4): 300–317.
- 77) Andersson I, Karlberg H, Mousavi-Jazi M, Martínez-Sobrido L, Weber F vd. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus delays activation of the innate immune response. *J Med Virol* 2008; 80 (8): 1397-1404.
- 78) Berezky S, Lindegren G, Karlberg H, Akerström S, Klingström J, Mirazimi A. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection is lethal for adult type I interferon receptor-knockout mice. *J Gen Virol* 2010; 91 (6): 1473–1477.
- 79) Zivcec M, Safronetz D, Scott D, Robertson S, Ebihara H, Feldmann H. Lethal Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus infection in interferon  $\alpha/\beta$  receptor knockout mice is associated with high viral loads, pro-inflammatory responses and coagulopathy. *J Infect Dis* 2013; 207 (12): 1909–1921
- 80) Bakir M, Bakir S, Sari I, Celik VK, Gozel MG, Engin A. Engin. Evaluation of the relationship between serum levels of VEGF and sVEGFR1 with mortality and prognosis in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Med Virol*. 2013; 85 (10): 1794-1801
- 81) Baskerville A, Satti A, Murphy FA, Simpson D. Congo-Crimean haemorrhagic fever in Dubai: histopathological studies. *J Clin Pathol* 1981; 34 (8): 871–874.



- 82) Guven FM, Aydin H, Yildiz G, Engin A, Celik VK, Bakir D, vd. The importance of myeloperoxidase enzyme activity in the pathogenesis of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *J Med Microbiol* 2013; 62 (3): 441–445.
- 83) Goldfarb LG, Chumakov MP, Myskin AA, Kondratenko VF, Reznikova OY. An epidemiological model of Crimean hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1980; 29 (2): 260-264
- 84) Hoogstraal H. The epidemiology of tick borne Crimean Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol* 1979; 15: 307–417.
- 85) Swanepoel R, Gill DE, Shepherd AJ, Leman PA, Mynhardt JH, Harvey S. The clinical pathology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (Suppl 4): 794-800.
- 86) Erhan Yalçın. Hayvanlardan insanlara geçen hastalıklar: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. Erzurum Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayını. Erzurum, 2003.
- 87) Gear JHS. What is Crimean Congo Haemorrhagic Fever? *SAMJ*. 1982; 62: 57-580
- 88) Stickland H. Tropical medicine and emerging infectious diseases. 8th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000; 284.
- 89) Ergonul, Ö. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Tedavisi ve Ribavirin Kullanımı. *Klimik Dergisi* 2016; 29 (1): 2-9
- 90) Bakir M, Ugurlu M, Dokuzoguz B, Bodur H, Tasyaran MA, Vahaboglu H vd. Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: a multicentre study of clinical features and outcome measures. *J Med Microbiol* 2005; 54(4): 385-389
- 91) Bente DA, Forrester NL, Watts DM, McAuley AJ, Whitehouse CA, Bray M. Crimean-Congo hemorrhagic fever: History, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Research* 2013; 100 (1): 159-189
- 92) Saluzzo JF, Aubry P, McCormick J, Digoutte JP. Haemorrhagic fever caused by Crimean Congo haemorrhagic fever virus in Mauritania. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1985; 79 (2): 268.
- 93) Charrel RN, Attoui H, Butenko AM. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 1040-1055.

- 94) Burt FJ, Leman PA, Abbott JC, Swanepoel R. Serodiagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Epidemiol Infect* 1994; 113: 551-562
- 95) Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M vd. Recombinant nucleoprotein-based serological diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections. *J Med Virol* 2005; 75 (2): 295-299.
- 96) Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA, Shepherd SP. Comparison of methods for isolation and titration of Crimean-Congo hemorrhagic fever virüs. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 654-656.
- 97) Schwarz TF, Nsanze H, Longson M, Nitschko H, Gilch S, Shurie H vd. Polymerasechain reaction for diagnosis and identification of distinct variants of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the United Arab Emirates. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 55 (2): 190-196.
- 98) Drosten C, Götting S, Schilling S, Asper M, Panning M, Schmitz H, Günther S vd. Rapid detectionand quantifi cation of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol* 2002; 40 (7): 2323-2330.
- 99) <http://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2013/01/kirim-kongo-ankara.-27-mart-2013-son-1.pdf> (07.01.2019).
- 100) Leblebicioglu H, Bodur H, Dokuzoguz B, Elaldi N, Guner R,Koksal I vd. Case management and supportive treatment for patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2012; 12: 805-811
- 101) Keshtkar-Jahromi M, Kuhn JH, Christova I, Bradfute SB, Jahrling PB, Bavari S.. Crimean-Congo hemorrhagic fever: current and future prospects of vaccines and therapies. *Antiviral Res* 2011 May; 90 (2):85-92.
- 102) Sunbul M, Leblebicioglu H, Fletcher TE, Elaldi N, Ozkurt Z, Bastug A, vd. Crimean-Congo haemorrhagic fever and secondary bacteraemia in Turkey. *J Infect* 2015; 71 (5): 597-599.
- 103) Erduran E, Bahadir A, Palanci N, Gedik Y. The treatment of Crimean–Congo hemorrhagic fever with high-dose methylprednisolone, intravenous immunoglobulin, and fresh frozen plasma. *J Pediatr Hematol Oncol* 2012; 35: 19-24.

- 104) Graci JD, Cameron CE. Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. *Rev Med Virol* 2006;16: 37-48
- 105) Beaucourt S, Vignuzzi M. Ribavirin: a drug active against many viruses with multiple effects on virus replication and propagation. Molecular basis of ribavirin resistance. *Curr Opin Virol* 2014; 8: 10-15.
- 106) Tignor GH, Hanham CA. Ribavirin efficacy in an in vivo model of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHF) infection. *Antivir Res* 1993;22: 309-325
- 107) Oestereich L, Rieger T, Neumann M, Bernreuther C, Lehmann M, Krasemann S vd. Evaluation of antiviral efficacy of ribavirin, arbidol, and T-705 (favipiravir) in a mouse model for Crimean-Congo hemorrhagic fever. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014 ;8 (5): e2804
- 108) Ergonul O. Treatment of Crimean Congo Hemorrhagic Fever. Ed: Ergonul O, Whitehouse CA. *Crimean Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective.* Springer, Dordrecht, NL 2007; 245-60.
- 109) Hawman DW, Haddock E, Meade-White K, Williamson B, Hanley PW, Rosenke K. Favipiravir (T-705) but not ribavirin is effective against two distinct strains of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in mice. *Antiviral Res.* 2018; 157: 18-26
- 110) Tarantola A, Ergonul O, Tattevin P. Estimates and prevention of Crimean Congo hemorrhagic fever risks for health care workers. Ed: Ergonul O. Whitehouse CA. *Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective.* Springer, Dordrecht, NL 2007; 281-294
- 111) Onder Ergonul. Treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Research* 2008; 78 (1): 125-131
- 112) Ling H, Vincent K, Pichler M, Fodde R, Berindan-Neagoe I, Slack FJ, vd. Junk DNA and the long non-coding RNA twist in cancer genetics. *Oncogene* 2015; 34 (39): 5003-5011.
- 113) Djebali S, Davis CA, Merkel A, Dobin A, Lassmann T, Mortazavi A vd. Landscape of transcription in human cells. *Nature*, 2012; 489 (7414): 101-108
- 114) Lujambio A, Lowe SW. The microcosmos of cancer. *Nature*, 2012; 482 (7385): 347-355.

- 115) Negrini M, Nicoloso MS, Calin GA. MicroRNAs and cancer—new paradigms in molecular oncology. *Curr Opin Cell Biol* 2009; 21: 470-479.
- 116) Long Y, Wang X, Youmans DT, Cech TR. How do lncRNAs regulate transcription? *Sci Adv* 2017; 3: 2110.
- 117) Derrien T, Johnson R, Bussotti G, Tanzer A, Djebali S, Tilgner H vd. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome Res* 2012; 22: 1775-1789.
- 118) Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843-854.
- 119) Ambros V, Horvitz HR. Heterochronic mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Science* 1984; 226: 409-416.
- 120) Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. Elegans*. *Cell*, 1993; 75: 855-862.
- 121) Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001; 294: 862-864.
- 122) Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvievd AE. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-906.
- 123) Abrahante JE, Daul AL, Li M, Volk ML, Tennessen JM, Miller EA, vd. The *Caenorhabditis elegans* hunch back-like gene *lin-57/hbl-1* controls developmental time and is regulated by microRNAs. *Dev Cell* 2003; 4: 625-637.
- 124) Vella MC, Choi EY, Lin SY, Reinert K, Slack FJ. The *C. elegans* microRNA *let-7* binds to imperfect *let-7* complementary sites from the *lin-413*'utr. *Genes Dev* 2004; 18: 132-137.
- 125) Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B vd. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000; 408 (6808): 86-89.
- 126) Sempere LF, Freemantle S, Pitha-Rowe I, Moss E, Dmitrovsky E, Ambros V. Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-

expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. *Genome Biol* 2004; 5 (3): R13

127) Bentwich I, Avniel A, Karov Y, Aharonov R, Gilad S, Barad O, vd. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet* 2005; 37 (7): 766-770

128) Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from Mouse. *Curr Biol* 2002; 12 (9):735-739.

129) Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001; 294 (5543): 858-862.

130) Wang Q, Li YC, Wang J, Kong J, Qi Y, Quigg RJ. Mir-17-92 cluster accelerates adipocyte differentiation by negatively regulating tumor-suppressor *rb2/p130*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105 (8): 2889-2894.

131) Lai EC, Tomancak P, Williams RW, Rubin GM. Computational identification of *Drosophila* microRNA genes. *Genome Biol*. 2003; 4 (7): R42.

132) Lim LP, Glasner ME, Yekta S, Burge CB, Bartel DP. Vertebrate microRNA genes. *Science*. 2003; 299 (5612): 1540.

133) Lim LP, Lau NC, Weinstein EG, Abdelhakim A, Yekta S, Rhoades MW, vd. The microRNAs of *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev*. 2003; 17 (8): 991-1008.

134) De Guire V, Caron M, Scott N, Menard C, Gaumont-Leclerc MF, Chartrand P, vd. Designing small multiple-target artificial RNAs. *Nucleic Acids Res*. 2010; 38 (13): e140.

135) Sylvestre Y, De Guire V, Querido E, Mukhopadhyay UK, Bourdeau V, Major F, vd. An *e2f/mir-20a* autoregulatory feedback loop. *J Biol Chem*. 2007; 282 (4): 2135-2143.

136) Cuellar TL, McManus MT. MicroRNAs and endocrine biology. *J Endocrinol*. 2005; 187 (3): 327-332.

137) Bruneau BG. Developmental biology: tiny brakes for a growing heart. *Nature*. 2005; 436 (7048): 181-182.

- 138) Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*. 2005; 120 (1): 15-20.
- 139) Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. Brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2009; 7 (4): 147-154.
- 140) Cullen BR. Transcription and processing of human microRNA precursors. *Mol Cell*. 2004; 16 (6):861-865.
- 141) Graves P, Zeng Y. Biogenesis of Mammalian MicroRNAs: A Global View. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. 2012; 10 (5): 239-245.
- 142) Treiber T, Treiber N, Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and function. *Thromb Haemost*. 2012; 107 (4): 605-610.
- 143) Vasudevan S, Tong Y, Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science*. 2007; 318 (5858): 1931-1934.
- 144) Lee I, Ajay SS, Yook JI, Kim HS, Hong SH, Kim NH vd. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites. *Genome Res*. 2009; 19 (7): 1175-1183.
- 145) Schnall-Levin M, Rissland OS, Johnston WK, Perrimon N, Bartel DP, Berger B. Unusually effective microRNA targeting within repeat-rich coding regions of mammalian mRNAs. *Genome Res*. 2011; 21 (9): 1395-1403.
- 146) Kim DH, Saetrom P, Snove O Jr, Rossi JJ. MicroRNA-directed transcriptional gene silencing in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105 (42): 16230-1635.
- 147) <http://uhrakahraman.blogspot.com.tr/> (07.01.2019).
- 148) Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature*. 2007; 448 (7149): 83-86.
- 149) Okamura K, Hagen JW, Duan H, Tyler DM, Lai EC. The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in *Drosophila*. *Cell*. 2007; 130 (1): 89-100.
- 150) Berezikov E, Chung WJ, Willis J, Cuppen E, Lai EC. Mammalian mirtron genes. *Mol Cell*. 2007; 28 (2): 328-336.

- 151) Babiarz JE, Ruby JG, Wang Y, Bartel DP, Blelloch R. Mouse ES cells express endogenous shRNAs, siRNAs, and other Microprocessor-independent, Dicer-dependent small RNAs. *Genes Dev.* 2008; 22 (20): 2773–2785.
- 152) Sibley CR, Seow Y, Saayman S, Dijkstra KK, El Andaloussi S, Weinberg MS, vd. The biogenesis and characterization of mammalian microRNAs of mirtron origin. *Nucleic Acids Res.* 2012; 40 (1): 438-448.
- 153) Havens MA, Reich AA, Duelli DM, Hastings ML. Biogenesis of mammalian microRNAs by a non-canonical processing pathway. *Nucleic Acids Res.* 2012; 40 (10): 4626-4640.
- 154) Westholm JO, Lai EC. Mirtrons: microRNA biogenesis via splicing. *Biochimie.* 2011; 93 (11): 1897-1904.
- 155) Curtis HJ, Sibley CR, Wood MJA. Mirtrons, an emerging class of atypical miRNA. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2012; 3 (5): 617-632.
- 156) Schöniger C, Arenz C. Perspectives in targeting miRNA function. *Bioorg Med Chem.* 2013; 21 (20): 6115-6118.
- 157) Silahtaroglu A, Stenvang J. MicroRNAs epigenetic and disease. *Essays Biochem.* 2010; 48 (1): 165-185.
- 158) Fiorucci G, Chiantore MV, Mangino G, Percario ZA, Affabris E, Romeo G. Cancer regulatuar microRNA: potential relevance in diagnosis, prognosis and treatment of cancer. *Curr Med Chem.* 2012; 19 (4): 461-474.
- 159) Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, Macdonald PE, vd. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature.* 2004; 432 (7014): 226-230.
- 160) Greco SJ, Rameshwar P. MicroRNAs regulate synthesis of the neurotransmitter substance P in human mesenchymal stem cell-derived neuronal cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104 (39): 15484–14489.
- 161) Öksüz Karaarslan Z, Serin MS. Hastalıkların tanı ve tedavi stratejilerinde miRNA ve diğer non-protein-coding RNA'lar. *Mersin Univ Sağlık Bilim Derg.* 2016; (9) 3.
- 162) Pandima Devi K, Rajavel T, Daglia M, Nabavi SF, Bishayee A, Nabavi SM. Targeting miRNAs by polyphenols: Novel therapeutic strategy for cancer. *Semin Cancer Biol.* 2017; 46: 146-157.

- 163) Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, vd. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99 (24): 15524-15529.
- 164) Aqeilan RI, Calin GA, Croce CM. MiR-15a and miR-16-1 in cancer: discovery, function and future perspectives. *Cell Death Differ*. 2010; 17 (2): 215-220.
- 165) Yuan K, Lian Z, Sun B, Clayton MM, Ng IO, Feitelson MA, vd. Role of miR-148a in hepatitis B associated hepatocellular carcinoma. *PLoS One*. 2012; 7 (4): e35331.
- 166) Zheng B, Liang L, Wang C, Huang S, Cao X, Zha R, vd. MicroRNA-148a suppresses tumor cell invasion and metastasis by downregulating ROCK1 in gastric cancer. *Clin Cancer Res*. 2011; 17 (24): 7574-7583.
- 167) Hauptman N, Glavac D. MicroRNAs and long non-coding RNAs: prospects in diagnostics and therapy of cancer. *Radiol Oncol*. 2013; 47 (4): 311-318.
- 168) Lopez-Ramirez MA, Nicoli S. Role of miRNAs and epigenetics in neural stem cell fate determination. *Epigenetics*. 2014; 9 (1): 90-100.
- 169) Saraiva C, Esteves M, Bernardino L. MicroRNA: Basic concepts and implications for regeneration and repair of neurodegenerative diseases. *Biochem Pharmacol*. 2017; 141: 118-131.
- 170) Sethi P, Lukiw WJ. Micro-RNA abundance and stability in human brain: specific alterations in Alzheimer's disease temporal lobe neocortex. *Neurosci Lett*. 2009; 459 (2): 100-104.
- 171) Lukiw WJ. Micro-RNA speciation in fetal, adult and Alzheimer's disease hippocampus. *Neuroreport*. 2007; 18 (3): 297-300.
- 172) Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Cardiac-specific miRNA in cardiogenesis, heart function, and cardiac pathology (with focus on myocardial infarction). *J Mol Cell Cardiol*. 2016; 94: 107-121.
- 173) Skalsky RL, Cullen BR. Viruses, MicroRNAs, and Host Interactions. *Annu Rev Microbiol*. 2010; 64: 123-141.
- 174) Samols MA, Skalsky RL, Maldonado AM, Riva A, Lopez MC, Baker HV. Identification of cellular genes targeted by KSHV-encoded microRNAs. *PLoS Pathog*. 2007; 3 (5): e65.



- 175) Choy EY, Siu KL, Kok KH, Lung RW, Tsang CM, To KF, vd. An Epstein-Barr virus-encoded microRNA targets PUMA to promote host cell survival. *J Exp Med.* 2008; 205 (11): 2551-2560.
- 176) Andersson MG, Haasnoot PC, Xu N, Berenjian S, Berkhout B, Akusjarvi G. Suppression of RNA interference by adenovirus virus-associated RNA. *J Virol.* 2005; 79 (15): 9556-9565.
- 177) Lu S, Cullen BR. Adenovirus VA1 noncoding RNA can inhibit small interfering RNA and MicroRNA biogenesis. *J Virol.* 2004; 78 (23): 12868-12876.
- 178) Xu N, Segerman B, Zhou X, Akusjärvi G. Adenovirus virus-associated RNAII derived small RNAs are efficiently incorporated into the rna-induced silencing complex and associate with polyribosomes. *J Virol.* 2007; 81 (19): 10540-10549.
- 179) Dölken L, Perot J, Cognat V, Alioua A, John M, Soutschek J, vd. Mouse cytomegalovirus microRNAs dominate the cellular small RNA profile during lytic infection and show features of posttranscriptional regulation. *J Virol.* 2007; 81 (24): 13771-13782.
- 180) Umbach JL, Cullen BR. In-depth analysis of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus microRNA expression provides insights into the mammalian microRNA-processing machinery. *J Virol.* 2010; 84 (2): 695-703.
- 181) Piedade D, Azevedo-Pereira JM. The Role of microRNAs in the Pathogenesis of Herpesvirus Infection. *Viruses.* 2016; 8 (6) pii: E156.
- 182) Fu M, Gao Y, Zhou Q, Zhang Q, Peng Y, Tian K, vd. Human cytomegalovirus latent infection alters the expression of cellular and viral microRNA. *Gene.* 2014; 536 (2): 272-278.
- 183) Fu YR, Liu XJ, Li XJ, Shen ZZ, Yang B, Wu CC, vd. miR-21 Attenuates Human Cytomegalovirus Replication in Neural Cells by Targeting Cdc25a. *J Virol.* 2015; 89 (2): 1070-1082.
- 184) Luo MH, Hannemann H, Kulkarni AS, Schwartz PH, O'Dowd JM, Fortunato EA. Human Cytomegalovirus Infection Causes Premature and Abnormal Differentiation of Human Neural Progenitor Cells. *J Virol.* 2010; 84 (7): 3528-3541.
- 185) Qin Z, Peruzzi F, Reiss K, Dai L. Role of host microRNAs in Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus pathogenesis. *Viruses.* 2014; 6 (11): 4571-4580.

- 186) Tsai YH, Wu MF, Wu YH, Chang SJ, Lin SF, Sharp TV, vd. The M type K15 protein of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus regulates microRNA expression via its SH2-binding motif to induce cell migration and invasion. *J Virol.* 2009; 83 (2): 622-632.
- 187) McCormick C, Ganem D. The kaposin B protein of KSHV activates the p38/MK2 pathway and stabilizes cytokine mRNAs. *Science.* 2005; 307 (5710): 739-741.
- 188) Punj V, Matta H, Schamus S, Tamewitz A, Anyang B, Chaudhary PM. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded viral FLICE inhibitory protein (vFLIP) K13 suppresses CXCR4 expression by upregulating miR-146a. *Oncogene.* 2010; 29: 1835–1844.
- 189) Kang JG, Majerciak V, Uldrick TS, Wang X, Kruhlak M, Yarchoan R, vd. Kaposi's sarcoma-associated herpesviral IL-6 and human IL-6 open reading frames contain miRNA binding sites and are subject to cellular miRNA regulation. *J Pathol.* 2011; 225 (3): 378-389.
- 190) Kang JG, Pripuzova N, Majerciak V, Kruhlak M, Le SY, Zheng ZM. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus ORF57 promotes escape of viral and human interleukin-6 from microRNA-mediated suppression. *J Virol.* 2011; 85 (6): 2620–2630.
- 191) Lagos D, Pollara G, Henderson S, Gratrix F, Fabani M, Milne RS, vd. MiR-132 regulates antiviral innate immunity through suppression of the p300 transcriptional co-activator. *Nat Cell Biol.* 2010; 12 (5): 513-519.
- 192) Shrivastava S, Steele R, Ray R, Ray RB. MicroRNAs: Role in hepatitis C virus pathogenesis. *Genes Dis.* 2015; 2 (1): 35-45.
- 193) Wei YF, Cui GY, Ye P, Chen JN, Diao HY. MicroRNAs may solve the mystery of chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol.* 2013; 19 (30): 4867-4876.
- 194) Wang B, Majumder S, Nuovo G, Kutay H, Volinia S, Patel T, vd. Role of microRNA-155 at early stages of hepatocarcinogenesis induced by choline-deficient and amino acid-defined diet in C57BL/6 mice. *Hepatology.* 2009; 50 (4): 1152-1161.

- 195) Liu WH, Yeh SH, Chen PJ. Role of microRNAs in hepatitis B virus replication and pathogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*. 2011; 1809 (11-12): 678-685.
- 196) Qiu L, Fan H, Jin W, Zhao B, Wang Y, Ju Y, vd. MiR-122-induced down-regulation of HO-1 negatively affects miR-122-mediated suppression of HBV. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010; 398 (4): 771-771.
- 197) Wang P, Qu X, Zhou X, Shen Y, Ji H, Fu Z, vd. Two cellular microRNAs, miR-196b and miR-1290, contribute to HIV-1 latency. *Virology*. 2015; 486: 228-238.
- 198) Shen CJ, Jia YH, Tian RR, Ding M, Zhang C, Wang JH. Translation of Pur-alpha is targeted by cellular miRNAs to modulate the differentiation-dependent susceptibility of monocytes to HIV-1 infection. *FASEB J*. 2012; 26 (11): 4755-4764.
- 199) Tambyah PA, Ching CS, Sepramaniam S, Ali JM, Armugam A, Jeyaseelan K. MicroRNA expression in blood of dengue patients. *Ann Clin Biochem*. 2016; 53 (4): 466-476.
- 200) Ouyang X, Jiang X, Gu D, Zhang Y, Kong SK, Jiang C, vd. Dysregulated Serum MiRNA Profile and Promising Biomarkers in Dengue-infected Patients. *Int J Med Sci*. 2016; 13 (3): 195-205.
- 201) Pepini T, Gorbunova EE, Gavrillovskaya IN, Mackow JE, Mackow ER. Andes Virus Regulation of Cellular MicroRNAs Contributes to Hantavirus-Induced Endothelial Cell Permeability. *J Virol*. 2010; 84 (22): 11929-11936
- 202) Acevedo LM, Weis SM, Cheresh DA. Robo4 counteracts VEGF signaling. *Nat Med*. 2008; 14 (4): 372-373
- 203) Jones CA, London NR, Chen H, Park KW, Sauvaget D, Stockton RA, vd. Robo4 stabilizes the vascular network by inhibiting pathologic angiogenesis and endothelial hyperpermeability. *Nat Med*. 2008; 14 (4): 448-453.
- 204) Duy J, Koehler JW, Honko AN, Schoepp RJ, Wauquier N, Gonzalez JP, vd. Circulating microRNA profiles of Ebola virus infection. *Sci Rep*. 2016; 6:24496
- 205) Sheng M, Zhong Y, Chen Y, Du J, Ju X, Zhao C, vd. Hsa-miR-1246, hsa-miR-320a and hsa-miR-196b-5p inhibitors can reduce the cytotoxicity of Ebola virus glycoprotein in vitro. *Sci China Life Sci*. 2014; 57 (10): 959-972.

- 206) Kim MJ, Tan YS, Cheng WC, Kingsbury TM, Heimfeld S, Civin CI. MIR144 and MIR451 regulate human erythropoiesis via RAB14. *Br J Haematol.* 2015; 168 (4): 583–597.
- 207) Lv Y, Guo S, Li XG, Chi JY, Qu YQ, Zhong HL. Sputum and serum microRNA-144 levels in patients with tuberculosis before and after treatment. *Int J Infect Dis.* 2016; 43: 68-73.
- 208) Wang C, Yang S, Sun G, Tang X, Lu S, Neyrolles O, vd. Comparative miRNA expression profiles in individuals with latent and active tuberculosis. *PLoS One.* 2011; 6 (10): e25832.
- 209) Cai SD, Chen JS, Xi ZW, Zhang LJ, Niu ML, Gao ZY. MicroRNA-144 inhibits migration and proliferation in rectal cancer by downregulating ROCK-1. *Mol Med Rep.* 2015; 12 (5): 7396–7402
- 210) Tao P, Wen H, Yang B, Zhang A, Wu X, Li Q. MiR-144 inhibits growth and metastasis of cervical cancer cells by targeting VEGFA and VEGFC. *Exp Ther Med.* 2018; 1(1): 562–568.
- 211) Wang X, Sundquist K, Hedelius A, Palmer K, Memon AA, Sundquist J. Circulating microRNA-144-5p is associated with depressive disorders. *Clin Epigenetics.* 2015; 7 (1): 69.
- 212) Demir ZC, Bastug A, Bodur H, Ergunay K, Ozkul A. MicroRNA Expression Profiles in Patients With Acute Crimean Congo Hemorrhagic Fever Reveal Possible Adjustments to Cellular Pathways. *Journal of Medical Virology* 2017; 89: 417–422.
- 213) Bar M, Wyman SK, Fritz BR, Qi J, Garg KS, Parkin RK, vd. MicroRNA discovery and profiling in human embryonic stem cells by deep sequencing of small RNA libraries. *Stem Cells.* 2008; 26 (10): 2496–2505.
- 214) Ma Y, Feng J, Xing X, Zhou B, Li S, Zhang W, vd. miR-1908 Overexpression Inhibits Proliferation, Changing Akt Activity and p53 Expression in Hypoxic NSCLC Cells. *Oncol Res.* 2016; 24 (1): 9-15.
- 215) Yuan H, Gao Y. MicroRNA-1908 is upregulated in human osteosarcoma and regulates cell proliferation and migration by repressing PTEN expression. *Oncol Rep.* 2015; 34 (5): 2706-2714.

- 216) Xia X, Li Y, Wang W, Tang F, Tan J, Sun L, vd. MicroRNA-1908 functions as a glioblastoma oncogene by suppressing PTEN tumor suppressor pathway. *Mol Cancer*. 2015; 14:154.
- 217) Xie F, Li X, Wei C, Gou L, Dang Y, Shan Z. Transfected miR-1908 inhibits renal fibrosis via targeting transforming growth factor beta 1. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. 2015; 31 (12): 1682-1685, 1689.
- 218) Bakir M, Engin A, Gozel MG, Elaldi N, Kilickap S, Cinar Z. A new perspective to determine the severity of cases with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Vector Borne Dis*. 2012; 49 (2): 105-110.
- 219) Bayyurt B, Arslan S, Engin A, Bakir M. HULC and 7SL RNA expression levels in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Med Virol*. 2018; 90 (12): 1822-1826.
- 220) Horner SM, Gale M Jr. Regulation of hepatic innate immunity by hepatitis C virus. *Nat Med*. 2013; 19 (7): 879-888.
- 221) McDermott AM, Heneghan HM, Miller N, Kerin MJ. The therapeutic potential of microRNAs: disease modulators and drug targets. *Pharm Res* 2011; 28 (12): 3016-3329.
- 222) Kohno T, Tsuge M, Murakami E, Hiraga N, Abe H, Miki D, vd. Human microRNA hsa-miR-1231 suppresses hepatitis B virus replication by targeting core mRNA. *J Viral Hepat*. 2014; 21 (9): e89-97.
- 223) Kuang Q, Li J, You L, Shi C, Ji C, Guo X, vd. Identification and characterization of NF-kappaB binding sites in human miR-1908 promoter. *Biomed Pharmacother*. 2015; 74: 158-163.
- 224) Chen Y, Li T, Gao Q, Wang LY, Cui LQ. MiR-1908 improves cardiac fibrosis after myocardial infarction by targeting TGF- $\beta$ 1. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018; 22 (7): 2061-2069.
- 225) Yilmaz G, Yilmaz H, Arslan M, Kostakoğlu U, Menteşe A, Karahan SC, vd. The prognostic significance of serum TGF- $\beta$ 1 levels in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Med Virol*. 2017; 89 (3): 413-416.
- 226) Chai Z, Fan H, Li Y, Song L, Jin X, Yu J, vd. MiR-1908 as a novel prognosis marker of glioma via promoting malignant phenotype and modulating SPRY4/RAF1 axis. 2017; 38 (5): 2717–2726.

- 227) Teng C, Zheng H. Low expression of microRNA-1908 predicts a poor prognosis for patients with ovarian cancer. *Oncol Lett.* 2017; 14 (4): 4277–4281.
- 228) Lian D, Wang ZZ, Liu NS. MicroRNA-1908 is a biomarker for poor prognosis in human osteosarcoma. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016; 20 (7): 1258-1262.
- 229) Yu M, Lin Y, Zhou Y, Jin H, Hou B, Wu Z, vd. MiR-144 suppresses cell proliferation, migration, and invasion in hepatocellular carcinoma by targeting SMAD4. *Onco Targets Ther.* 2016; 9: 4705–4714.
- 230) Cao T, Li H, Hu Y, Ma D, Cai X. miR-144 suppresses the proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma by targeting E2F3. *Tumour Biol.* 2014;35 (11): 10759–10764.
- 231) Karlberg H, Tan YJ, Mirazimi A. Crimean-Congo haemorrhagic fever replication interplays with regulation mechanisms of apoptosis. *J Gen Virol.* 2015; 96 (Pt 3): 538-546.
- 232) Song J, Ma Q, Hu M, Qian D, Wang B, He N. The Inhibition of miR-144-3p on Cell Proliferation and Metastasis by Targeting TOP2A in HCMV-Positive Glioblastoma Cells. *Molecules.* 2018;23 (12). pii: E3259.
- 233) Honda K, Yanai H, Negishi H, Asagiri M, Sato M, Mizutani T, vd. IRF-7 is the master regulator of type-I interferon-dependent immune responses. *Nature.* 2005; 434 (7034): 772–777.
- 234) Sato M, Suemori H, Hata N, Asagiri M, Ogasawara K, Nakao K, vd. Distinct and essential roles of transcription factors IRF-3 and IRF-7 in response to viruses for IFN-alpha/beta gene induction. *Immunity.* 2000; 13 (4): 539–548.
- 235) Marie I, Durbin JE, Levy DE. Differential viral induction of distinct interferon-alpha genes by positive feedback through interferon regulatory factor-7. *EMBO J.* 1998; 17 (22): 6660–6669.
- 236) Crotta S, Davidson S, Mahlakoiv T, Desmet CJ, Buckwalter MR, Albert ML, vd. Type I and type III interferons drive redundant amplification loops to induce a transcriptional signature in influenza-infected airway epithelia. *PLoS pathogens.* 2013; 9 (11): e1003773.
- 237) Yoshida R, Takaesu G, Yoshida H, Okamoto F, Yoshioka T, Choi Y, vd. TRAF6 and MEKK1 play a pivotal role in the RIG-I-like helicase antiviral pathway. *J Biol Chem.* 2008; 283 (52): 36211–36220.

- 238) Kawai T, Sato S, Ishii KJ, Coban C, Hemmi H, Yamamoto M, vd. Interferon-alpha induction through Toll-like receptors involves a direct interaction of IRF7 with MyD88 and TRAF6. *Nat Immunol.* 2004; 5 (10):1061–1068.
- 239) Honda K, Yanai H, Mizutani T, Negishi H, Shimada N, Suzuki N, vd. Role of a transductional-transcriptional processor complex involving MyD88 and IRF-7 in Toll-like receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101 (43): 15416–15421.
- 240) Konno H, Yamamoto T, Yamazaki K, Gohda J, Akiyama T, Semba K, vd. TRAF6 establishes innate immune responses by activating NF-kappaB and IRF7 upon sensing cytosolic viral RNA and DNA. *PLoS One.* 2009; 4 (5): e5674.
- 241) Rosenberger CM, Podymnugin RL, Diercks AH, Treuting PM, Peschon JJ, Rodriguez D, vd. MiR-144 attenuates the host response to influenza virus by targeting the TRAF6-IRF7 signaling axis. *PLoS Pathog.* 2017; 13 (4): e1006305.
- 242) Duskova K, Nagilla P, Le HS, Iyer P, Thalamuthu A, Martinson J, vd. MicroRNA regulation and its effects on cellular transcriptome in human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) infected individuals with distinct viral load and CD4 cell counts. *BMC Infect Dis.* 2013; 13:250.







