



T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞİ HASTALARINDA DROSHA,
DİCER VE EXPORTİN-5 PROTEİN DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ**

ZEHRA DOĞAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

SIVAS 2018

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞİ HASTALARINDA DROSHA,
DİCER VE EXPORTİN-5 PROTEİN DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ**

ZEHRA DOĞAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Sevtap BAKIR

SİVAS 2018

“Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalarında Drosha, Dicer ve Exportin-5 Protein Düzeylerinin Belirlenmesi” adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Biyokimya** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Sevtap BAKIR



Üye Dr. Öğr. Üyesi Seyit Ali BÜYÜKTUNA



Üye Dr. Öğr. Üyesi Serpil ERŞAN



Üye Prof. Dr. Sevtap BAKIR

(Danışman)

ONAY

Bu tez çalışması, tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu' nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır. Bu tez çalışması Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

[Proje No. T-721]

ÖZET

KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞİ HASTALARINDA DROSHA, DİCER VE EXPORTİN-5 PROTEİN DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Zehra DOĞAN

Yüksek Lisans Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Sevtap BAKIR

2018, 71 Sayfa

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalığı (KKKA), Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü (KKKAV) olarak bilinen Bunyaviridae ailesinden Nairoviruslerin neden olduğu bir hastalıktır. İnsanlarda yüksek ölüm oranına sahiptir. KKKAV, insanlara kenelerin ısırması ile veya enfekte hayvanların ya da insanların kan veya vücut sıvılarına doğrudan teması sonucu bulaşmaktadır. Aniden başlayan yüksek ateş, şiddetli baş ağrısı, sırt ve karın ağrıları şeklinde belirti verir. KKKA patogenezi günümüzde halen tam olarak açıklanamamaktadır.

Çalışmamızda hasta grubu olarak 33 KKKA hastası, kontrol grubu olarak 35 sağlıklı birey seçilmiştir. Hasta ve kontrol grubuna ait serum Drosha, Dicer ve Exportin-5 protein seviyelerinin belirlenmesi ve aktivitelerinin karşılaştırılıp, bu parametrelerin KKKA hastalığı patogenezi, prognozu ve teşhisi açısından öneminin saptanması amaçlanmıştır.

Yapılan deneysel çalışmanın sonucunda hasta ve kontrol grubundaki bireylere ilişkin değerler karşılaştırıldığında dicer ($p=0,001$) yönünden gruplar arası fark önemli bulunurken ($p<0,05$), drosha ($p=0,160$) ve exportin-5 ($p=0,985$) yönünden gruplar arası farkın önemsiz olduğu saptanmıştır ($p>0,05$).

Sonuç olarak, çalışmamızda serum dicer'in KKKA hastalığının teşhisi ve prognozunda yararlı bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. miRNA biyogenezinde rol alan drosha, dicer, exportin-5'ten serum dicer'in, KKKA hastalığı patogenezi açısından öneminin anlaşılması için daha kapsamlı çalışmaların yapılarak hastalık patogenezinin açığa kavuşturulması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi, Drosha, Dicer, Exportin-5

ABSTRACT

DETERMINATION OF DROSHA, DICER AND EXPORT-5 PROTEIN LEVELS IN PATIENTS WITH CRIMEAN CONGO HEMORRHAGIC FEVER

Zehra DOĞAN

Master's Thesis, Biochemistry Department

Supervisor: Prof.Dr. Sevtap BAKIR

2018, 71 Pages

Crimean Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) is a disease that causes Nairoviruses from the family of Bunyaviridae known as Crimean Congo Hemorrhagic Fever Virus (CCHFV). It has high death rate in humans. CCHFV is infected with biting of tick or direct contact of blood or body fluids of infected animals or humans. Sudden high fever, severe headache, back and abdominal pains are symptoms of this disease. Pathogenesis of CCHF can still not be explained exactly at the present time.

In our study, 33 patients with CCHF as patient group, 35 healthy individual as control group are selected. It is aimed to determinate the serum Drosha, Dicer and Export-5 protein levels that belongs to control group and detection of importance in terms of pathogenesis, prognosis and diagnosis of CCHF disease of these parameters by comparing activities.

As a result of experimental study, when the values of the individuals in the patient and control groups are compared, it is determined that in terms of dicer ($p=0,001$) there is a significant difference between the groups ($p<0,05$), while the difference between the groups in terms of drosha ($p=0,160$) and exportin-5 ($p=0,985$) is not important ($p>0,05$).

Consequently, we think that serum dicer can be used as a useful biomarker in the diagnosis and prognosis of CCHF disease in our study. By conducting more comprehensive studies for understanding the importance of Drosha, Dicer, Exportin-5, serum dicer, taking role in Mirna biogenesis, in terms of pathogenesis of CCHF, disease pathogenesis should be clarified.

Key words: Crimean Congo Hemorrhagic Fever, Drosha, Dicer, Exportin-5

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca değerli bilgi birikimi ve tecrübeleriyle çalışmalarımın her aşamasında bana yol gösteren danışman hocam sayın Prof. Dr. Sevtap BAKIR' a, destek ve anlayışından dolayı teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimim süresince bilgi birikimlerinden yararlandığım, Biyokimya Anabilim Dalı' nın tüm öğretim üyelerine, sekreterimiz ve çalışanlarına, hasta grubumun oluşturulmasında çok kıymetli emeklerini esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğretim Üyesi Seyit Ali BÜYÜKTUNA'ya en içten teşekkürlerimi iletirim. Ayrıca istatistiksel analizlerin değerlendirilmesi sırasında yol gösteren kıymetli hocam Dr. Öğretim Üyesi Ziyet ÇINAR' a çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca hiçbir maddi ve manevi destekten kaçınmayan ve her türlü zorlukta yanımda olan sevgili annem Sevim DOĞAN, babam Cevat DOĞAN ve canım kardeşim Gökhan DOĞAN'a sonsuz teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi	3
2.1.1.Tarihçe.....	3
2.1.2. Epidemiyoloji	4
2.1.3. Risk Grupları	5
2.1.4. Bulaşma Yolları.....	5
2.1.5.Vektör Keneler	6
2.1.6. Virüsün Yapısı ve Özellikleri.....	8
2.1.7. Patogenez.....	10
2.2. Mikro RNA	11
2.2.1. MikroRNA' ların Keşfi	12
2.2.2. MikroRNA Biyogenezi	12
2.2.3. miRNA'ların Çalışma Prensipleri	15
2.2.4. miRNA'ların Fonksiyonları	16
2.2.5. miRNA'ların Antiviral Savunmadaki Rollerini	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	18
3.2. Kimyasal Maddeler ve Kitler	18
3.3. Hasta ve Kontrol Grubu	19
3.3.1. Hastalar.....	19
3.3.2. Kontroller	19
3.4. Kan Örneklerinin Toplanması.....	20
3.5. Drosha Düzeyi Ölçümü.....	20
3.5.1. Drosha Düzeylerinin Hesaplanması	20
3.6. Dicer Düzeyi Ölçümü	21
3.6.1. Dicer Düzeylerinin Hesaplanması.....	22
3.7. Exportin 5 Düzeyi Ölçümü	22
3.7.1. Exportin 5 Düzeylerinin Hesaplanması.....	23
3.8. İstatistiksel Yöntem.....	24
3.9. Araştırmanın Etik Yönü	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	29
6. KAYNAKLAR	36
7. EKLER	49
Ek 1. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu	49
Ek 2. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Bilgilendirilmiş Olur Formu	52
8. ÖZGEÇMİŞ	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Hyalomma marginatu</i> 'un yaşam döngüsü.....	7
Şekil 2.2. Kenelerin evrimi.....	7
Şekil 2.3. <i>Bunyaviridae</i> viriyonunun kesitsel görünümü.....	8
Şekil 2.4. KKKAV Replikasyonu.....	9
Şekil 2.5. Viral hemorajik ateş hastalıklarda patogenez.....	11
Şekil 2.6. Mikroişlemci kompleksin pri-miRNA ile kurduğu bağın çizimsel gösterimi	13
Şekil 2.7. miRNA oluşum yolağının şematik gösterimi	13
Şekil 2.8. miRNA' ların Biyogenezi, İşlenmesi ve Olgunlaşması:	14
Şekil 2.9. miRNA ve mRNA' nın 3' UTR Bölgesinin Baz Eşleşmesi.....	15
Şekil 3.1. Drosha Standart Grafiği.....	21
Şekil 3.2. Dicer Standart Grafiği	22
Şekil 3.3. Exportin-5 Standart Grafiği	24

TABLolar DİZİNİ

Tablo 4.1. Hastaların Laboratuvar Bulguları İle Drosha Düzeyinin Korelasyonu	25
Tablo 4.2. Hastaların Laboratuvar Bulguları İle Dicer Düzeyinin Korelasyonu.....	25
Tablo 4.3. Hastaların Laboratuvar Bulguları İle Exportin-5 Düzeyinin Korelasyonu ...	26
Tablo 4.4. Hasta Grubundaki Drosha, Dicer ve Exportin-5 Korelasyon Analizi	26
Tablo 4.5. Kontrol Grubundaki Drosha, Dicer ve Exportin-5 Korelasyon Analizi.....	27
Tablo 4.6. Drosha, Dicer ve Exportin-5 ile Gruplardaki Bireylere İlişkin Değerlerin Karşılaştırılması	27
Tablo 4.7. Hasta Grubu Alt Gruplarına Göre Drosha, Dicer ve Exportin-5 Düzeyleri ..	28

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Ülkemizde 2002-2016 yılları arasında Görülen Toplam KKKA Vaka Sayısı ve Ölümler.....	5
---------------------------------------------------------------------------------------------------	---



KISALTMALAR DİZİNİ

Ago-1	: Argonaute-1
Ago-2	: Argonaute-2
ALT	: Alanin Amino Transferaz
aPTT	: Activated Partial Thromboplastin Time
AST	: Aspartat Amino Transferaz
BSL-4	: Biyogüvenlik Seviyesi-4
DENV-2	: Dang Virüsü Serotip-2
DENV-4	: Dang Virüsü Serotip-4
DGCR8	: DiGeorge Sendrom Kritik Bölge Gen 8
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dsRNA	: Çift Zincirli RNA
ELISA	: Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
GTP	: Guanozin Trifosfat
HBV	: Hepatit B Virüsü
HCC	: Hepatosellüler Karsinom
HCV	: Hepatit C Virüsü
HIV	: Human İmmunodeficiency Virus
HRP	: Horseradish Peroxidase
IFN-Beta	: Interferon-Beta
IL-1	: İnterlökin-1
IL-10	: İnterlökin-10
IL-18	: İnterlökin-18
IL-6	: İnterlökin-6
INR	: International Normalized Ratio

JNK	: c- Jun N-terminal Kinases
KKA	: Kırım Kanamalı Ateşi
KKKA	: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi
KKKAV	: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü
L	: Large
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
M	: Medium
miRNA	: Mikro RNA
mL	: Mili Litre
mRNA	: Mesajcı RNA
N	: Nükleokapsit Proteini
NK-KB	: Nuclear Factor Kappa B
Nm	: Nanometre
° C	: Santigrat Derece
ORF	: Open Reading Frame
PACT	: Protein Kinase R-activating Protein
PCR	: Polymerase Chain Reaction
pg	: Piko Gram
Ppm	: Parts Per Million
pre-miRNA	: Prekürsör MiRNA
pri-miRNA	: Primer MiRNA
RAN	: Ras Related Nuclear Protein
RISC	: RNA- induced Silencing Complex
RNA	: Ribonükleik Asit
RNAi	: RNA İnterferans

RNA-pol II	: RNA-polimeraz II
RNA-pol III	: RNA-POLİMERAZ III
RNaz	: Ribonükleaz
rpm	: Revolutions Per Minute
RT-PCR	: Reverse-Transcription Polimeraze Chain Reaction
S	: Small
SD	: Standart Sapma
SGS	: Şiddet Derecelendirme Skoru
siRNA	: Small RNA
SOFA	: Ardışık Organ Yetmezlik Değerlendirme Skoru
SPSS	: Statistical Packag For The Social Sciences
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör- α
TRBP	: Human İmmunodeficiency Virus Transactivating Response RNA Binding Protein
TRL3	: Toll-like Receptor3
UTR	: Untranslated Region
VKA	: Viral Kanamalı Ateş
WBC	: White Blood Cell
YDP	: Yaygın Damar İçi Pıhtılaşması
μL	: Mikro Litre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Viral kanamalı ateş (VKA), insanlarda farklı virüsler tarafından oluşturulan, ateş ve kanama ile karakterize klinik bir tablodur. VKA oluşturan virüsler *Filoviridae* (Marburg virüsü ve Ebola virüsü), *Arenaviridae* (Lassa virüsü ve Junin, Machupo, Sabia ve Guanarito virüsü), *Bunyaviridae* (Kırım-Kongo kanamalı ateş virüsü (KKKAV), Rift Vadisi ateş virüsü ve Hantavirüs) ve *Flaviviridae* (Sarı humma virüsü ve Dang virüsü) gibi RNA (Ribonükleik Asit) virüsleridir [1].

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) etkeni olan KKKAV, *Bunyaviridae* familyasının *Nairovirus* cinsinin üyesi olan bir RNA virüsüdür. Virüs, insanlarda diğer VKA'larda olduğu gibi yaygın ekimoz, gastrointestinal ve genitoüriner kanamalar ve karaciğer fonksiyonlarında bozulma ile ilerleyen bir akut enfeksiyon hastalığını meydana getirmektedir [2]. KKKA hastalığı, KKKAV ile enfekte olduğunda oluşmaktadır. KKKAV enfeksiyonu kene sokması, enfeksiyonun akut fazı sırasındaki hasta ile temas, viremik hayvanların kan veya dokuları ile doğrudan teması durumunda oluşur. Hastalığın mortalite oranı %5-50 arasındadır. Virüsün elde edilmesi için hastalığın görüldüğü bölgelerde genellikle az sayıda bulunan Biyogüvenlik Seviyesi-4 (BSL-4) olan laboratuvarlara gereksinim duyulmaktadır [3-4].

Mikro RNA'lar (miRNA'lar), protein kodlamayan, endojen küçük RNA'ların (small RNA) bir sınıfını oluşturan RNA molekülleridir [5]. 20-23 nükleotid uzunluğunda tek iplikçikli olan miRNA'ların sayısı insanlarda iki bin civarındadır [6]. miRNA'ların çeşitli biyolojik olaylarda ve patolojik durumlarda önemli düzenleyici roller aldığı belirtilmiştir. Bu moleküllerin hücrel gen ifadesini transkripsiyonel ve post transkripsiyonel düzeyde düzenlediği gösterilmiştir [7]. Çeşitli hücrel fonksiyonlarda yer alan miRNA düzensizliğinin anlaşılması, kanser ve viral hastalıklar ile olan ilişkileri de gün geçtikçe net bir şekilde anlaşılmaktadır [8,9].

miRNA'lar dicer ran, exportin5 gibi birçok protein ve enzimin katıldığı işlemde geçerek hücrenin çekirdek ve sitoplazmasında kendi öncülleri olan primer miRNA (pri-miRNA) ve prekürsör miRNA (pre-miRNA)'ları meydana getirir [10-14].

İlk sentezlenen miRNA, pri-miRNA olarak isimlendirilmiştir, birçok pri-miRNA yaklaşık 700 baz uzunluğundadır ve bu yapılar RNA polimeraz II (RNA-pol II)

tarafından sentezlenmektedir [15]. Hücre çekirdeğinde bulunan bir RNaz olan *Drosha* ile pre-miRNA haline dönüşürler [10-12]. Hücre çekirdeğinde oluşan pre-miRNA'lar *Exportin-5* olarak adlandırılan molekül tarafından sitoplazmaya taşınır [16]. Sitoplazmaya transferi gerçekleşen pre-miRNA, bir RNA polimeraz III (RNA-pol III) olan *Dicer* tarafından kesilerek 20-25 nükleotidlik olgun miRNA ve onun tamamlayıcı miRNA'dan meydana gelen çift sarmal halini alır [17,18].

Bu çalışmada patogenezi henüz tam olarak aydınlatılmamış olan KKKA hastalarında miRNA oluşumunu etkileyen serum Drosha, Dicer ve Exportin-5 protein düzeylerinin ölçülerek, hastalığın prognozu ve patogenezindeki öneminin incelenmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi

Yaklaşık 30 ülkede rapor edilen KKKA, öldürücü, viral bir enfeksiyon hastalığıdır [19]. KKKA etkeni, *Bunyaviridae* cinsinin *Nairovirus* ailesine ait olan bir RNA virüsüdür [19]. İlk olarak 1944 yılında Kırım'da görülmüş olan KKKA, Kırım Kanamalı Ateşi (KKA) olarak adlandırılmıştır. Öncesinde Kongo'da görülen hastalığın, 1969 yılında KKA ile aynı olduğunun anlaşılması sonucunda bu hastalık KKKA şeklinde isimlendirilmiştir [20].

KKKAV'ü insanlara genellikle ya infekte kenelerin tutunması, teması ya da infekte hayvanların kan, doku, vücut sıvılarına doğrudan teması sonucunda bulaşır. Başka bir bulaşma şekli ise nozokomiyal bulaştır [19].

Bu hastaların büyük çoğunluğu subklinik seyrederek. Akut ve sistemik bir hastalık olan ayrıca semptomatik olgusu olan KKKA'da semptomlar ani başlangıçlıdır [21]. Bu semptomlar; yüksek ateş, baş ağrısı, halsizlik, eklem ve kas ağrısı, kansız ishal, mide bulantısı ve karın ağrısıdır [22,23].

2.1.1.Tarihçe

Bilimsel olarak KKKA hastalığı 2.Dünya savaşı zamanında 1944-1945 yılları arasında Batı Kırım'da köylülere yardım eden 200 Sovyet askerinde görülmüştür [24,25]. Hastalığın kene aracılığı ile bulaştığı tespit edilmiş ve bu hastalığa Kırım Kanamalı Ateşi ismi verilmiştir. Sonraki yıllarda bu hastalığın Rusya, Orta Asya Cumhuriyetleri, Balkan ülkelerinde de görüldüğü anlaşılmıştır [26].

Yapılan incelemelerde virüs, *Hyalomma marginatum* kenelerinde, hastalığın akut döneminde kanda görülmüştür. Kongo virüsü, 1956 yılında Zaire'de bir hastadan alınan kandan izole edilmiştir [26]. Simpson ve arkadaşları tarafından virüs, 5'i laboratuvar kaynaklı 12 sarılıklı hastanın serumlarını yenidoğan farelere enjekte etmiştir. 1967 yılında ise bu iki virüsün aynı serolojik özellikte ve buna bağlı olarak da aynı virüs olduklarını bildirmişlerdir [19,24,25,27-29]. Bunu üzerine bu virüse KKKAV, hastalığa ise KKKA hastalığı adı verilmiştir [23,24].

Ülkemizde ise ilk olarak 2002 yılında Tokat başta olmak üzere Çorum, Sivas, Yozgat illeri civarında bildirilmiştir. Vakalarda Aspartat Amino Transferaz (AST), Alanin Amino Transferaz (ALT), Laktat Dehidrogenaz (LDH) enzimlerinin yüksekliği, lökopeni ve trombositopeni görülmüştür. 2003 yılında ise bu hastalığın KKKA olduğu bildirilmiştir [30,31].

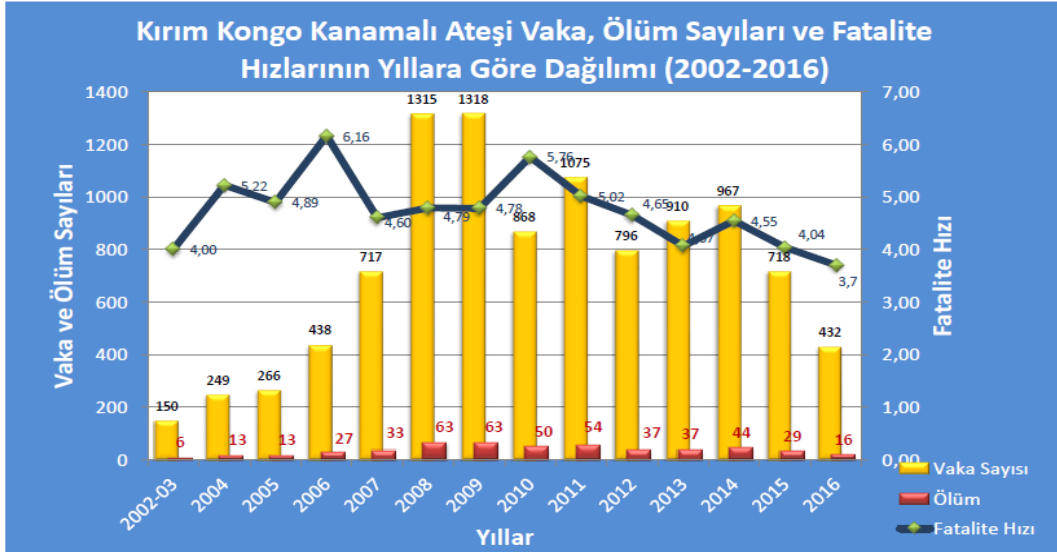
2.1.2. Epidemiyoloji

KKKA virüsü kene kaynaklı olup bu kenelerin yaygın dağılımı ile doğrudan ilişkilidir ve çok geniş coğrafyayı etkilemektedir. Dang ateşi virüsünden sonra hemorajik virüsler açısından insan sağlığını etkileyen ikinci en önemli virüstür [19,24,25].

Olguların çoğunluğu 1970'lerden önce Kırım, Astrahan, Rostov, Özbekistan, Kazakistan, Tacikistan, Bulgaristan, Zaire (Kongo) ve Uganda da görülmüştür. Güney Afrika Cumhuriyeti, Kongo, Moritanya, Burkina Faso, Tanzanya ve Senegal'den 1975 ile 2000 yılları arasında birçok detaylı şekilde çalışma sunulmuş, Ortadoğu Ülkelerinde Irak, Pakistan, Birleşik Arap Emirlikleri, Suudi Arabistan, Umman Sultanlığı ve Çin'den çok sayıda olgu rapor edilmiştir [32].

Ayrıca Çin'de %80 mortalite ile seyreden bir salgın belirlenmiş, ancak 1965 yılındaki bu salgınla ilgili detaylı bilgi sunulmamıştır. 2000 yılı itibariyle Pakistan, İran, Senegal, Arnavutluk, Yugoslavya, Bulgaristan, Türkiye, Kenya ve Moritanya ile Yunanistan'da da yeni salgınların olduğu açıklanmıştır. KKKA, Balkan Yarımadası ile Romanya'da endemiktir [32].

Öncelikle ülkemizde 2002 yılının ilkbahar ile yaz ayları arasında başta Tokat, Sivas, Çorum, Amasya, Yozgat, Gümüşhane, Bayburt, Erzurum, Erzincan ve çevresi olmak üzere İç ve Doğu Anadolu Bölgesinin kuzeyi ile Karadeniz Bölgesi'nin güney kesimini kapsayan geniş bir coğrafik alanda kene ile temas öyküsü görülmüştür. Salgın şeklinde görülen bu hastalık, ateş ve kanama ile dikkati çekmiştir. 2003 yılında ise bu hastalığın KKKA olduğu anlaşılmıştır [30]. Türkiye'de KKKAV suşlarının, Rusya ve Kosova suşları ile arasında %95-98 benzerlik olduğu tespit edilmiştir [33].



Grafik 1. Ülkemizde 2002-2016 yılları arasında Görülen Toplam KKKA Vaka Sayısı ve Ölümler [Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı 2016 Raporları] [34].

2.1.3. Risk Grupları

Hastalığın gelişme riski tarım ile ilgilenenlerde, hayvancılıkla uğraşanlarda (çiftçi, çoban, kasap, mezbaha çalışanı, et ve et ürünleri bölümünde çalışan market işçisi), veterinerlerde, hasta hayvana teması olanlarda, akut hastalara temas etme olasılığı yüksek olan endemik bölgelerde görev yapan sağlık personellerinde, askerlerde, kamp yapanlarda, deri fabrikasında çalışan işçilerde yüksektir [20,25,35-38].

Bulaşta en önemli rolü kene teması oynadığı için, endemik bölgelerde yaşayanlar bu konuda bilgilendirilmeli ve alınabilecek önlemler öğretilmelidir. Kenelerin çok olduğu yerden uzak durulmalı, sıkça kene ısırıkları kontrol edilmeli ve vücudun açıkta kalan bölgelerini kapatacak kişisel korunma önlemlerinin alınmasına dikkat edilmelidir [19,39].

2.1.4. Bulaşma Yolları

KKKAV, insanlara yaygın olarak vektör olan *Hyalomma* cinsi keneler ile bulaşmaktadır. Bu keneler vahşi hayvanlarda görüldüğü kadar evcil hayvanlarda da görülmektedir [25,32]. Epidemiyolojik olarak en önemli bulaşma yolu enfekte kenelerin kan emmesiyle olur. Keneler hastalığın doğadaki asıl taşıyıcısı ve biriktiricisi olarak görülmektedir. Virüs kenelerde ömür boyu (1-1,5 yıl) hatta nesiller boyunca kalmakta

ve çoğalabilmektedir. Evcil ve yabani hayvanlar virüsü sadece 7-10 gün taşıyabilmektedir [40].

KKKA insanlara kenelerin tutunması, enfekte hayvan ve insanların kan, vücut sıvıları ya da dokularına teması sonucunda [40] ya da laboratuvarlardan bulaşmaktadır [41]. Hastanelerde nozokomiyal bulaşma önemlidir. Başta burun, ağız, diş eti, vajina, injeksiyon bölgesinden kanaması olan hastaların gözlemleri sırasında enfekte kan ile temas sonucu enfeksiyon riski %8.7, iğne batması gibi durumlarda enfeksiyon riski %33 oranındadır [19]. Laboratuvar çalışanları enjektör, tıbbi malzemeler gibi medikal aletlerin yetersiz sterilizasyonu, hasta kanı ile korunmasız temas sonucu virüsün kendilerine geçebildiği bildirilmiştir [42]. İnsandan insana bulaş hastalığının ilk 7-10 gün süresince olur [43].

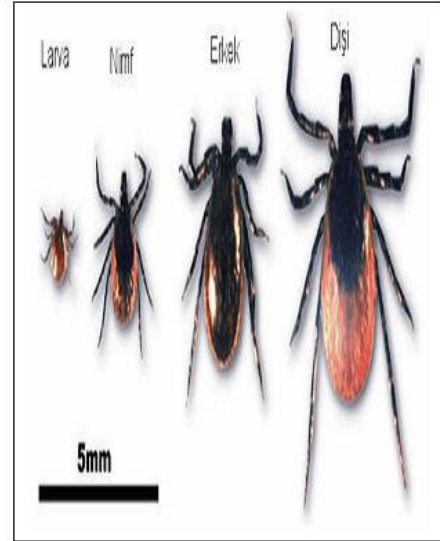
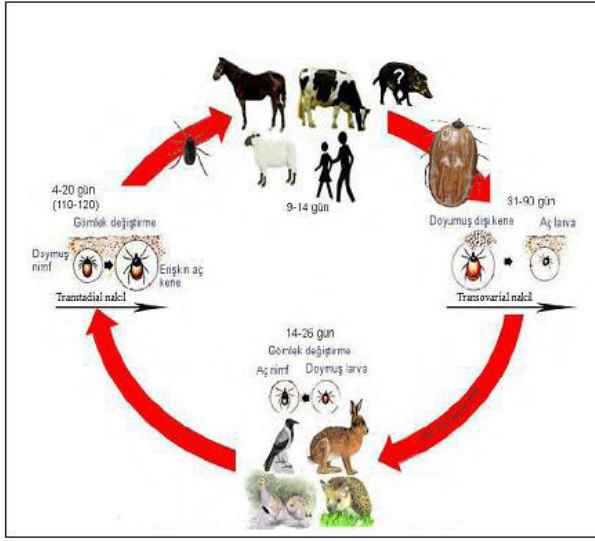
KKKA, mezbaha çalışanlarına enfekte hayvanın kesimi ve sonrasında bu etin işlenmesi sırasında hastalık geçebilir. Kesim sonrası kas dokusunda oluşan asidemi ile virüs inaktive olduğundan etin kendisi risk değildir ve eti alan kişilerde enfeksiyon riskinin olmadığı varsayılmaktadır [43].

KKKA hastalığının yayılmasında mevsim, iklim, sosyal hareketlilik, sosyoekonomik koşullar, köyden kente göç olmasıyla tarlaların boş kalması ve bu nedenle yabani hayvan sayısının artışına bağlı olarak gelişen çevreyle ilgili değişiklikler etkilidir [19,32].

2.1.5.Vektör Keneler

Virüs özellikle *Hyalomma* cinsi, *Hyalomma marginatum marginatum* keneleri ile bulaşmaktadır. Virüs ayrıca *Hyalomma anatolicum anatolicum* ve *Rhipicephalus* cinsi kenelerden de izole edilmiştir [30].

Hyalomma ve *Amblyomma* cinsi virüsün ekolojisi ve epidemiyoloji açısından oldukça önemlidir [44]. *Hyalomma* cinsi içerisinde yer alan keneler, ülkemizin de içinde bulunduğu geniş bir coğrafik alana yayılmıştır [22,23]. Virüs kenelerde yaşamları süresince (1-1,5 yıl) bulunabilmekte, venereal, transovaryal ve transstadial (larvadan nimfe, nifmden erişkine) olarak yeni nesillere aktarılabilmektedir [32] (Şekil 2.1-2.2).



Şekil 2.1. *Hyalomma marginatum marginatum*'

Şekil 2.2. Kenelerin evrimi[45]

un yaşam döngüsü [45].

Hyalomma cinsleri iki konutlu bir yaşam döngüsüne sahiptir. Larva ve nimf evreleri beslenmek için özellikle tavşan ve kirpi gibi küçük yabani hayvanlarla yerden beslenen karga, keklik, sığırcık gibi kuşları seçmektedirler. Nimf evresinde 2-3 hafta kadar kan emerek beslenir, ardından doymuş nimf olarak toprağa düşerler ve çevre koşullarına göre 4 ile 20 gün gibi bir sürede gömlek değiştirerek aç erişkin kenelere dönüşürler. Bu erişkin keneler toprak ve kısa boylu bitkilerin altına gizlenerek hayvanların yaydığı titreşim, ısı ve amonyak, butirik asit, laktik asit gibi kokularla yabani ve evcil hayvanlara ya da insan gibi kendine uygun konağa tutunurlar. Burada 9-14 gün boyunca kan emerler ve bu sırada çiftleşirler. Toprağa düşen doymuş dişi keneler 7000 civarında yumurta bırakıp ölürler [40,46]. Yumurtadan çıkan larvalar ilk konakta kan emdikten sonra nimf haline gelirler ve daha sonra aynı konak üzerinde beslenerek veya başka bir konağa geçerek erişkin kene halini alırlar [47]. Kışın doymuş nimf veya erişkin aç keneler inaktif şekilde bulunurken havaların ısınmasıyla yine aktif hale gelirler [40,46].

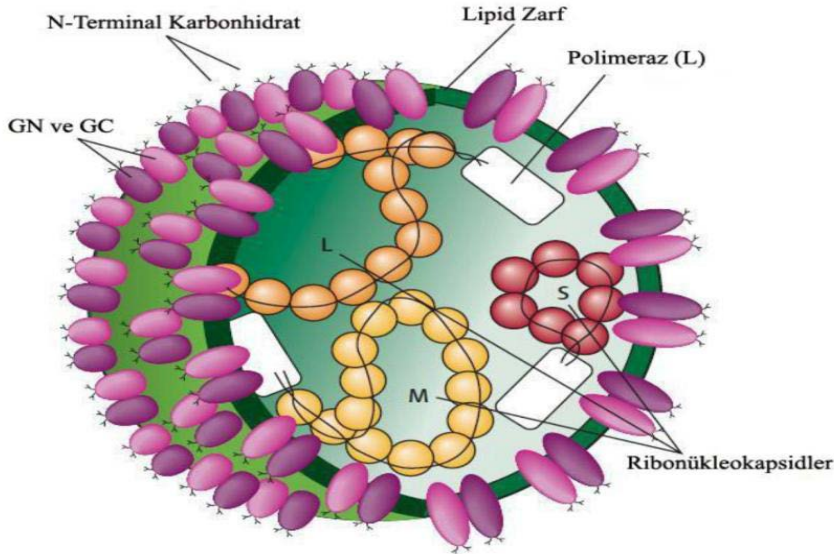
Erişkin keneler Mart ile Ağustos ayları arasında, larva ve nimfler ise Haziran ile Kasım ayları arasında aktif olarak kan emerler. Kış aylarını meralardaki kemirici yuvalarında, ahırlardaki duvar deliklerinde, ağaç kovuklarında veya toprakta geçirirler [46].

2.1.6. Virüsün Yapısı ve Özellikleri

KKKA hastalığının etkeni olan KKKAV, *Bunyaviridae* ailesinden *Nairovirus* grubuna aittir [30]. *Bunyavirus*' lar, zarflı ve negatif polariteye sahip tek iplikçikli RNA parçacığından meydana gelmektedir. Virüsün sekiz farklı genetik grubu tanımlanmıştır. Ülkemizde izole edilmiş olan KKKAV izolatları Güneydoğu Rusya ve Kosova suşlarına benzerdir [32].

KKKAV'nin zarf kalınlığı yaklaşık olarak 5-7 nm, çapı 80-120 nm'dir. Genomu tek zincirli, helikal ve sirküler yapıda, üç parçalı (S, M, L) bir yapıya sahiptir (Şekil 2.3) [24]. Virüs 4 yapısal protein sentezleyen 3 genomik yapıya sahiptir. Bu proteinler duyarlı hücre reseptörleri vasıtasıyla virüsü tanımlamaktadırlar: [48].

1. Large segment (L): RNA-bağımlı RNA polimeraz (L proteini kodlanır)
2. Medium segment (M): Gn ve Gc (önceleri G1 ve G2) glikoproteinleri kodlanır
3. Small segment (S): Nükleokapsit proteini (N) kodlanır [48].

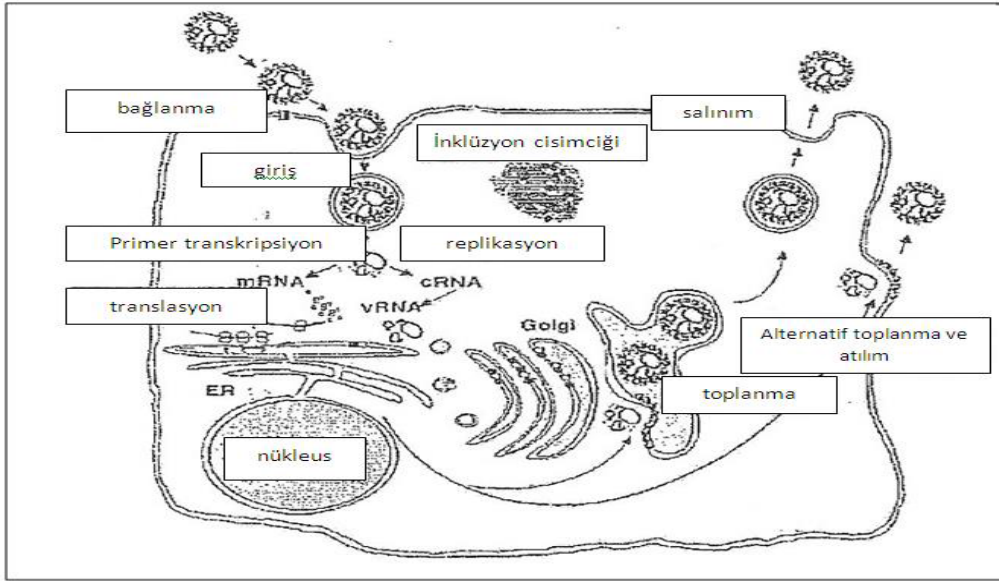


Şekil 2.3. *Bunyavirideae* viriyonunun kesitsel görünümü [19,49]

Yüzeyinde yaklaşık 8-10 nm uzunluğunda iki glikoprotein çıkıntı (Gn ve Gc) bulunmaktadır [50]. Viral glikoproteinler Gn ve Gc (bu glikoproteinler poliprotein kodlayan M segmentinin amino ve karboksi terminal ucuna yakınlıklarına göre sırasıyla Gn ve Gc olarak adlandırılır [19,51].)' lerin işlevi duyarlı hücrelerdeki reseptör bölgelerinin tanınmasıdır [42].

Virüs, duyarlı olduğu hücreye bağlandıktan sonra endositozla vezikül içerisinde hücre içine alınır, replikasyon sitoplazmada gerçekleşir. Vezikül içindeki ortamın asitleşmesi ile glikoproteinlerin üç boyutlu yapısında değişiklikler meydana gelir. Virüs ile vezikül membranının füzyonu gerçekleşir. Gn golgi aygıtında, Gc endoplazmik retikulum da bulunur. Sonrasında nükleokapsit sitoplazmaya bırakılır [42].

Viral RNA polimeraz çıplak durumdaki RNA'yı kalıp olarak kullanamazken, konak hücrenin mRNA' sını kullanıp viral genin mRNA' sını meydana getirir. Bu mRNA' lar tarafından ilgili proteinler oluşur. Transkripsiyonun devamında replikasyon için tam uzunlukta cRNA' lar üretilir. cRNA' lar kalıp olarak kullanılarak komplementer genomik RNA' lar meydana getirilir. İkincil mRNA' lar proteinlere çevrilir. M segmentinin kodladığı glikoproteinlerin translasyonu sonucunda Gc ve Gn' nin öncülleri meydana getirilir. Virüsler golgi aygıtında toplanıp tomurcuklanma aracılığıyla hücre içine girer. Oluşan virionlar veziküller içinde hücre yüzeyine taşınarak serbest hale gelirler [52].



Şekil 2.4. KKKAV Replikasyonu [33]

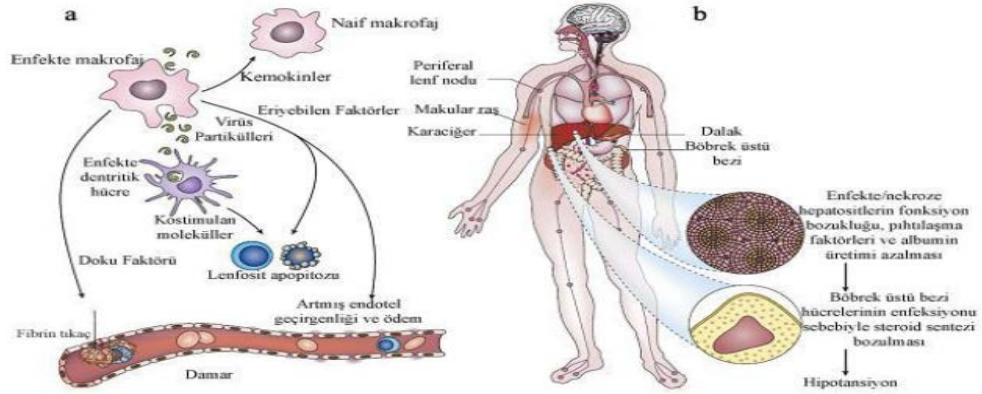
KKKAV, çevre koşullarına karşı dayanıksızdır. Kanda 40°C'de 10 gün yaşamlarını sürdürebilirlerken, dondurulmuş tuzlu suda yıllarca hayatta kalabilirler. Ultraviyole ve düşük pH hızlı bir şekilde inaktive eder. Virüs 75°C'de 5 dakikada ve 56°C'de 30 dakika içinde inaktive olur. Dezenfektanlardan ise %1 hipoklorid ve %2 glutaraldehide karşı duyarlıdır [48].

2.1.7. Patogenez

KKKA'nın patogenezini tam olarak aydınlatılamamıştır. Hemorajik ateş virüslerinde aynı olan patojenik özellik antiviral cevabı başlatan hücrelere karşı saldırıdır. Bu şekilde de konakçının immün yanıtını zarara uğratma yeteneğine sahiptirler. Bu zarar virüs replikasyonu ile birlikte, vasküler sistem ve lenfoid organ bozuklukları ile karakterizedir [53].

KKKA'nın yaygın bir özelliği olan kapiller fragilite endotel enfeksiyonunu düşündürmektedir. Endotel hasarı, karakteristik döküntü oluşturabilir sonrasında intrinsek koagülasyon kaskadı aktivasyonu ile trombosit agregasyonu ve degranülasyonunu uyararak hemostatik yetmezliğe neden olabilmektedir. KKKAV enfeksiyonunun genel bir özelliği trombotopenidir [19]. Güney Afrikada yapılan çalışmada fatal seyreden vakaların tamamında hastalığın ilk evrelerinden itibaren koagülasyon sistem fonksiyonu ile ilgili anormal sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen en önemli sonuç, KKKA' da görülen yaygın damar içi pıhtılaşması (YDP)'nin hastalık sürecinin erken döneminde ortaya çıkması ve sürekli olarak görüldüğünün fark edilmiş olmasıdır [24].

Türkiye'de yapılmış olan bir çalışmada, 14 hastanın 7'sinin KKKAV enfeksiyonu sırasında görülen sitopeni ile ilgisinin olabileceği ileri sürülen reaktif hemofagositoz görülmüştür [54]. Ayrıca, ölen hastaların sağ kalan hastalara göre serum interlekin-1 (IL-1), interlekin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) seviyelerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır [53]. Yine aynı çalışmada proinflamatuvar sitokinler ile YDP skoru arasında pozitif korelasyon olduğu görülmüştür. Hemofagositik sendromun hastalığın seyrinde önemli bir role sahip olduğu açıktır (Şekil 2.5) [55,56].



Şekil 2.5. Viral hemorajik ateş hastalıklarında patogenezi [57]

Karaciğer enzimlerinin serum düzeylerindeki artışı virüsün karaciğerdeki doğrudan sitopatik etkisine bağlı olabilir. Virüs hayvan ve insanlarda, karaciğerde hepatositler ile Kupffer hücrelerinde görülmüştür [58,59]. KKKAV hayvanlardaki deneysel enfeksiyonlarda karaciğerde gösterilen virüsün hepatotropik özelliğinde olduğu ve seri parçalanmalardan sonra bu özelliğini kaybettiğini göstermiştir [58].

2.2. Mikro RNA

Mikro RNA (miRNA)' lar DNA' nın yüksek seviyede korunan bölgelerinden kodlanan ancak proteine translasyonu olmayan, yaklaşık 18-24 nükleotid uzunluğunda olan küçük RNA molekülleridir [60]. Bu moleküllerin hücresel gen ekspresyonunu transkripsiyonel ve post transkripsiyonel düzeyde düzenlediği sanılmaktadır [7]. miRNA' lar, mRNA' lara düşük özgüllükte bağlanmasına ve yıkılmasına, translasyonel baskılanmaya neden olabileceği için gen kontrolünün ifadesinde önemli göreve sahiptir [11,61].

miRNA moleküllerinin çeşitli biyolojik olaylarda ve patolojik durumlarda önemli düzenleyici görevler aldığı gösterilmiştir [7]. miRNA' ların; hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması, strese karşı cevap, apoptoz, immünite ve transkripsiyonel düzenleme gibi hemen hemen bütün hücresel fonksiyonlarda görev aldıkları ve bu yolların durdurulması ya da bozulması sonucunda da kanser oluşumu ile ilişkili olduğu belirtilmektedir [62].

2.2.1. MikroRNA' ların Keşfi

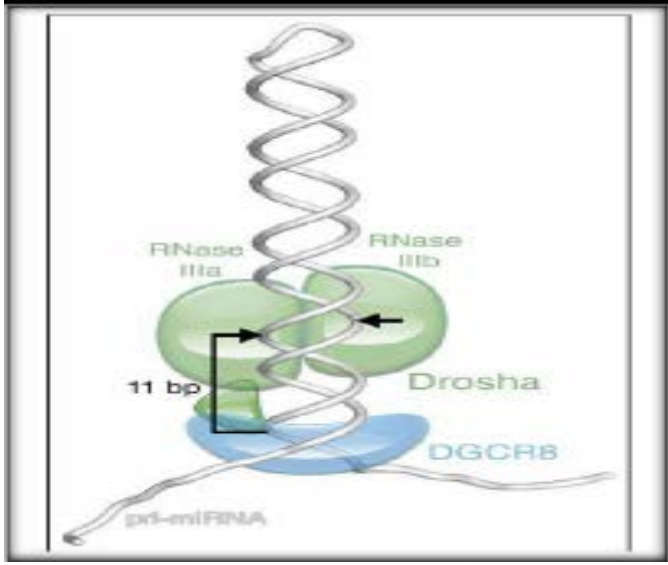
İlk miRNA, 1993 yılında Victor Ambros Laboratuvarı'nda Lee ve çalışma arkadaşları tarafından keşfedilmiş olup, mikroRNA terimi 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır [63]. Lee ve çalışma arkadaşları 1993 yılında yuvarlak solucan olan *Caenorhabditis elegans*'ı gen içeriği tarafından taramışlar ve lin-4 olarak adlandırdıkları genin hiçbir protein kodlamamasına rağmen 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiğini bildirmişlerdir [64].

2000 yılında Reinhart ve arkadaşları *C.elegans*' ta 22 nükleotid uzunluğunda let-7 olarak adlandırılan canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı bir miRNA daha keşfetmişlerdir. Let-7'nin insanları da içine alan türler arasında da korunmuş olduğu keşfedilmiş olup, bu durum let-7'nin önemli bir biyolojik fonksiyona sahip olduğunu göstermiştir [65,66]. Sonraki yıllarda lin-4 ve let-7'ye benzeyen birçok küçük RNA molekülü, hemen hemen bütün çok hücreli organizmalarda keşfedilmiş ve miRNA'lar olarak isimlendirilmiştir [65].

2.2.2. MikroRNA Biyogenezi

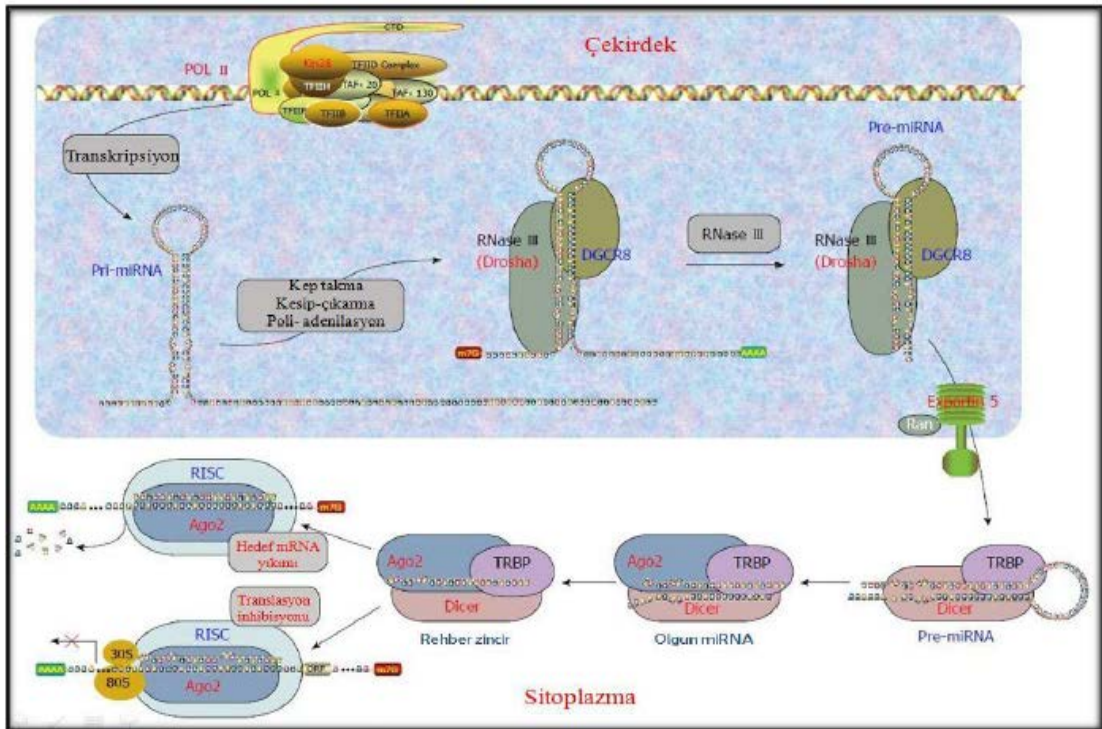
MikroRNA biyogenezinin ilk adımında miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci adımda pri-miRNA'lar, nükleus içerisinde prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara dönüştürülür. Üçüncü ve son adımda, sitoplazma içinde olgun miRNA'ların oluşumu gerçekleşir [67].

MikroRNA'lar primer transkript (pri-miRNA) olarak genomik DNA'dan RNA polimeraz II enzimi aracılığıyla sentezlenir [67,68]. Sentezlenmiş olan pri-miRNA 3-4 kilobaz boyutunda ve 5' cap ve poli(A) kuyruğuna sahip sap ilmek yapısına sahiptir [69]. Elde edilen pri-miRNA mikroşlemci kompleks tarafından bir sonraki basamakta yaklaşık 70 nükleotid boyutunda olan pre-miRNA formuna dönüştürülür. İnsanlarda bu kompleksin yapısını Drosha ve kofaktörü DGCR8 (DiGeorge Syndrome Critical Region Gene 8=DiGeorge sendrom kritik bölge gen 8) proteinleri, sineklerde ise Drosha ve Pasha (Partner of Drosha) proteinleri oluşturmaktadır [69,75]. RNaz III ailesinin bir üyesi olan Drosha proteini mikroşlemci kompleksinde katalitik birim olarak görev alırken, DGCR8 RNA yapısını tanımaktadır [76]. (Şekil 2. 6)



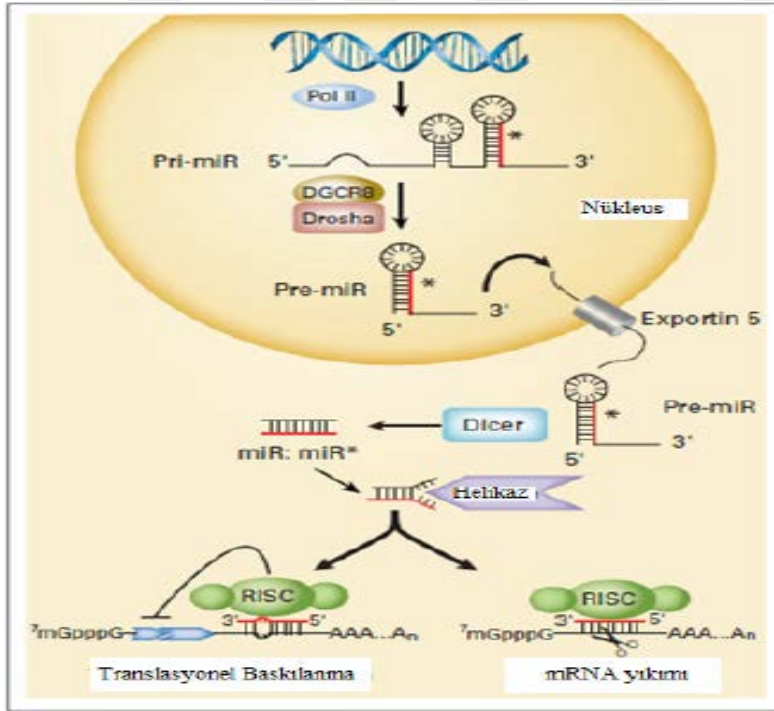
Şekil 2.6. Mikroişlemci kompleksin pri-miRNA ile kurduğu bağın çizimsel gösterimi. DROSHA yeşil renk ile DGCR 8 ise mavi renk ile gösterilmiştir. Siyah oklar ayrılma bölgelerini işaret etmektedir [77].

Pri-miRNA'nın mikro işlemci kompleksi tarafından kesilmesi esnasında DGCR8'in tek ve çift iplikli RNA molekülünü tanimasının ardından, Drosha çift iplikli saç tokası yapıdaki molekülü keser ve 5' ucunda monofosfat, 3' ucunda 2 nükleotid hidroksil uzantısı bulunan pre-miRNA'yı oluşturur [76]. (Şekil 2. 7 [78])



Şekil 2.7. miRNA oluşum yolağının şematik gösterimi [78].

Pre-miRNA molekülü bir nükleer taşıma reseptörü olan Exportin 5 (Exp-5) ve nükleer bir protein olan RAN-GTP'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır [79]. Exp-5'in pre-miRNA'ları taşıma görevinin yanı sıra bağlandığı pre-miRNA'yı yıkımdan koruyucu etki gösterdiği öne sürülmüştür [18]. Sitoplazmada bulunan pre-miRNA'lar bir RNaz III enzimi olan Dicer ve onunla birlikte iş birliği yapan TRBP/PACT (Human immunodeficiency virus transactivating response RNA binding protein (trans-aktivasyon yanıt elemanı RNA bağlayıcı protein-TRBP)/Protein Kinase R-activating protein (interferon uyarıcı protein kinaz aktivatör protein-PACT)) proteini ile kısa çift zincirli miRNA dublekslerine dönüşür. Daha sonra bu dubleks bir helikaz ile yaklaşık 20 nükleotidlik olgun tek zincirli miRNA'lara dönüşür. Çift zincirlerden biri klavuz zincir bir diğeri ise yolcu (komplementer) zincir olarak adlandırılır [80]. (Şekil 2.8)



Şekil 2.8. miRNA'ların Biyogenezi, İşlenmesi ve Olgunlaşması: İlk olarak, nükleus içerisindeki miRNA geninin transkripsiyonu gerçekleştirildikten sonra sap-ilmik yapısında primer transkript (primiRNA) oluşur. Drosha ve kofaktörü Pasha, pri-miRNA'yı belirli bölgelerden keserek daha kısa yapıdaki pre-miRNA'ya dönüştürürler. Pre-miRNA molekülü, Exportin 5 ve RAN-GTP'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır. Pre-miRNA'lar sitoplazmada Dicer tarafından kesilerek çift zincirli miRNA'ya çevrilir. Daha sonra RISC kompleksinde yer alan Argonaute proteini, daha kararlı olan ipliği seçerek RISC kompleksine dahil eder. Tek zincirli miRNA'yı içeren aktif haldeki

2.2.4. miRNA'ların Fonksiyonları

Olgun miRNA'lar, hedef genlerin ekspresyonunu azaltarak protein sentezinin düzenlenmesine katılırlar. miRNA'lar, kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir. miRNA RISC ile kompleks oluşturup baz çiftleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanır, daha sonra protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA yıkımına neden olurlar [87].

miRNA, hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan bölgeye (untranslated region- UTR) veya ORF (open reading frame-açık okuma çerçevesi) olarak adlandırılan bölgeye bağlanır. Bağlanma pozisyonu miRNA kompleksinin mRNA'ya nasıl komplementer olduğuna bağlı olarak değişiklik gösterir. Eğer miRNA mRNA'nın 3'UTR bölgesine bağlanmışsa bu durum kusurlu, tam olmayan, eksik komplementerlik gösterir ve translasyonun baskılanmasına neden olur. ORF bölgesi içine bağlanması ise kusursuz olan tam komplementerliği gösterir ve mRNA'nın Argonaute 2 (Ago2) tarafından yıkımı ile sonuçlanır [88].

Ayrıca, her bir miRNA'nın birden fazla mRNA'nın ifadesini düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden fazla miRNA tarafından hedeflenebildiği gösterilmiştir [89].

2.2.5. miRNA'ların Antiviral Savunmadaki Roller

Viral enfeksiyonlarda miRNA mekanizmalarının önemi ile ilgili çeşitli düşünceler mevcuttur. Hem konak hücrelerin hem de virüslerin miRNA kodladıkları bilinmektedir. Bu küçük RNA yolakları, viral enfeksiyonlar ile mücadele edebilmek için konak immün savunma mekanizmalarının düzenlenmesinde görev alabilirler. Doğal ve adaptif immünitelerde görev alan immün hücre popülasyonununun gelişmesi, olgunlaşması, hayatta kalması ve fonksiyonel olmasında düzenleyici olarak yer alabilirler [90].

miRNA'lar viral replikasyonların sınırlandırılmasında görev almaktadırlar. Örnek olarak insan hücre kültürlerinde, miR-32'nin retrovirüs primate foamy virüs tip-1'in baskılanmasında görev aldığı gösterilmiştir [91]. Benzer şekilde çeşitli insan miRNA'larının HIV'in 3'UTR bölgesini hedeflediği; TLR3(Toll-like receptor 3) aktivasyonunun, monositlerde ve makrofajlardaki HIV enfeksiyonunu sınırlamak üzere kendi ekspresyonlarını tetiklediği de gösterilmiştir [92]. Son olarak interferon-beta

(IFN- β)'nın çeşitli hücrel miRNA'ları indükleyerek HCV replikasyonunu etkilediği ve bu mekanizmanın virüse karşı interferonların anti-viral etki oluşturduğu düşünülmektedir [93].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

- ELISA okuyucusu (GF-M3000; Çin Halk Cumhuriyeti)
- ELISA mikro plak yıkayıcısı (GF-W3000; Çin)
- Sabit başlıklı masa üstü santrifüj (Hettich Rotina 380R; Almanya)
- Mikro santrifüj (Eppendorf 5415C; Almanya)
- Manyetik Karıştırıcı (Nüve MK 218; Türkiye)
- PH metre (ADWA; Romanya)
- Hassas terazi (Sartorius; Almanya)
- Derin dondurucu (Ariston; İtalya)
- Buzdolabı (Arçelik ; Türkiye)
- Vorteks (WiseMix; Kore)
- Otomatik pipetler (Gilson; ABD)
- Çeşitli ebatlarda erlen, beher, balon joje, cam pipet ve mezürler (Teknik cam, Türkiye)
- Otomatik pipet uçları (Mavi, sarı, beyaz, Gilson; ABD)
- Ependorf tüpler (1 ml, 5 mL)
- Parafilm (BEMIS; ABD)
- Gözlük (Serian, Armamax; Birleşik Krallık)
- Eldiven (Beyaz ve Mavi ; Micro Touch Nitra Tex Nitril)
- Masa üstü ısıtıcı (Cole Parmer)
- Tek kullanımlık laboratuvar önlüğü (non woven)
- Tek kullanımlık laboratuvar tulumu (non woven)
- Galoş
- Steril jelli biyokimya tüpleri
- Santrifüj Tüpleri (cam 15 ml)

3.2. Kimyasal Maddeler ve Kitler

- NaOH (MERCK; Almanya)
- HCl (MERCK; Almanya)

- Human Drosha ELISA Assay Kit (YLBiont- Katalog No: YLA3762HU)
- Human Dicer ELISA Assay Kit (YLBiont- Katalog No:YLA3763HU)
- Human Exportin-5 ELISA Assay Kit (SUNLONG BIOTECH- Katalog No: SL2580Hu)

3.3. Hasta ve Kontrol Grubu

3.3.1. Hastalar

Bu çalışmada hasta grubu, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları kliniğinde KKKA ön tanısı alan, daha sonra Ankara Hıfzıssıhha Enstitüsü Viroloji Laboratuvarında PCR ve ELISA yöntemleri kullanılarak kesin tanı konan 17'si kadın, 16'sı erkek olmak üzere 33 birey ile oluşturuldu. Hastalar, yaş ve cinsiyetleri bakımından herhangi bir ayrıma tabi tutulmaksızın, rast gele belirlendi. KKKA tanısı konan bu hastalar daha sonra, Bakır ve ark. tarafından geliştirilen SGS (Şiddet derecelendirme Skoru) skorlamasına göre kendi içersinde düşük ve yüksek olmak üzere iki alt gruplara ayrıldı [94]. Bu skorlama literatüre ve klinik öneme sahip olduğu kabul edilen, mortalite ile ilişkili olduğu belirlenen birkaç değişken kullanılarak oluşturulmuştur.

Hasta grupları;

1. Düşük ve orta derecede risk taşıyan grup ($0 \leq \text{Düşük} \leq 4$)
2. Yüksek derecede risk taşıyan grup ($\text{Yüksek} \geq 5$) şeklinde oluşturuldu.

Çizelge 3.1 SGS sistemine göre oluşturulan hasta gruplarının dağılımı

	Düşük	Yüksek	Toplam
Hasta	25	8	33

3.3.2. Kontroller

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesine başvuran ve herhangi bir sistemik rahatsızlığı bulunmayan, 20'si kadın 15'i erkek olmak üzere toplam 35 birey kontrol grubuna alındı.

3.4. Kan Örneklerinin Toplanması

Hasta ve kontrol grubuna dahil edilen bireyler bilgilendirilip, aydınlatılmış onam formu okutularak imzalatıldıktan sonra, her birinden 10 mL kan örneği steril jelli biyokimya tüplerine alındı. Bu kan örnekleri 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlar porsiyonlanarak Drosha, Dicer ve Exportin-5 düzeylerinin belirlenmesi amacıyla analiz gününe kadar -40 °C'de muhafaza edildi.

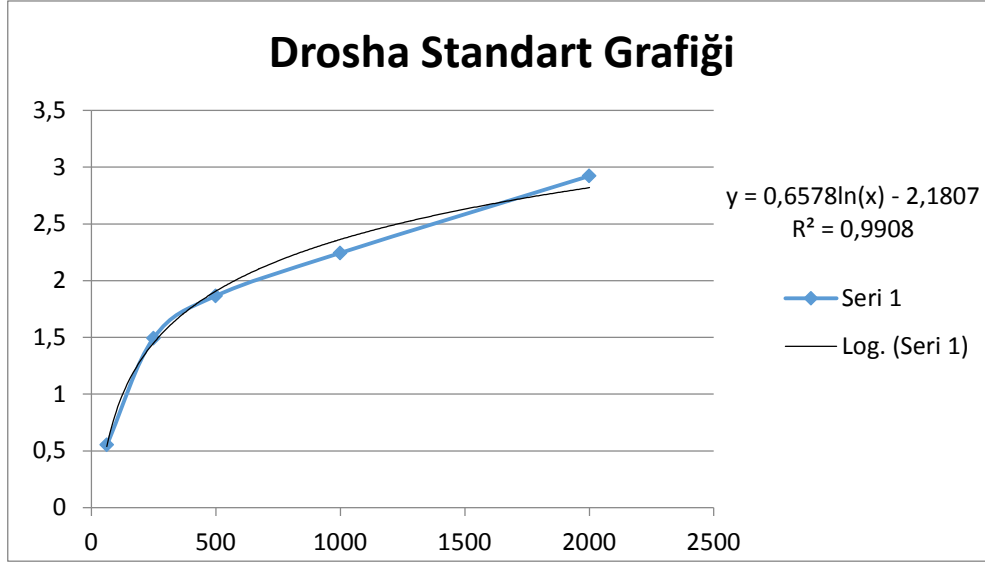
3.5. Drosha Düzeyi Ölçümü

- ✓ Deneye başlamadan önce tüm numune ve reaktiflerin oda sıcaklığına gelmesi sağlandı.
- ✓ ELISA işlemi için; standart sulandırıcı tampon kullanılarak 1000, 500, 250, 125, 62.5 pg/mL Human Drosha standartları hazırlandı.
- ✓ Blank olarak seçilen kuyucuğa; Kromojen A, Kromojen B ve stop solüsyonu eklendi.
- ✓ Standart çözelti kuyucuğuna; 50 µL standart ve streptavidin-HRP eklendi.
- ✓ Test edilecek örnek kuyucuğuna; 40 µL örnek, 10 µL Drosha antikoru ve 50 µL streptavidin-HRP eklendi.
- ✓ Plâğin üzeri kapatılıp hafifçe salladıktan sonra 60 dakika 37 °C'de inkübe edildi.
- ✓ Daha sonra plak 5 kez 350 µL seyreltilmiş yıkama tamponu ile manuel olarak yıkandı ve kurutuldu.
- ✓ Her kuyucuğa önce 50 µL Kromojen A daha sonra 50 µL Kromojen B eklendi. Ve karıştırmak için nazikçe salladıktan sonra 10 dakika 37 °C'de karanlık ortamda inkübe edildi. Bu solüsyonların eklenmesiyle mavi renk oluşumu gözlemlendi.
- ✓ Bu sürenin sonunda reaksiyonu durdurmak için plak kuyucuklarının her birine 50 µL stop solüsyonu eklendi.
- ✓ Mavi renkten sarı renge dönen plak, 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda her bir kuyucuğun absorbansı ELISA okuyucusunda okutuldu.

3.5.1. Drosha Düzeylerinin Hesaplanması

- ✓ Hazırlanmış olan 5 farklı derişimdeki Drosha standartlarının absorbans değeri 450 nm dalga boyunda ölçüldü.
- ✓ Standart ve numunelere ait okunan absorbans değerlerinden "blank" absorbans değeri çıkarıldı.

- ✓ Standartlara ait absorbans değerleri derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek grafiğin eğimine ait denklem ve R^2 değeri bulundu.
- ✓ Standart eğri denkleminde ve numunelere ait absorbans değerlerinden yararlanılarak, numune derişimleri tek tek hesaplandı ve pg/mL olarak ifade edildi.



Şekil 3.1. Drosha Standart Grafiği

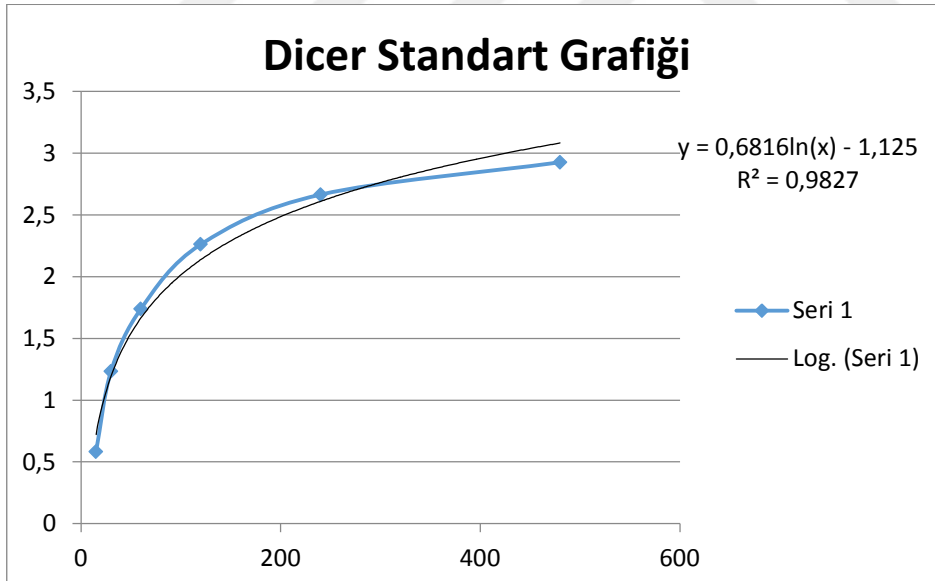
3.6. Dicer Düzeyi Ölçümü

- ✓ Deneeye başlamadan önce tüm numune ve reaktiflerin oda sıcaklığına gelmesi sağlandı.
- ✓ ELISA işlemi için; standart sulandırıcı tampon kullanılarak 240, 120, 60, 30, 15 pg/mL Human Dicer standartları hazırlandı.
- ✓ Blank olarak seçilen kuyucuğa; Kromojen A, Kromojen B ve stop solüsyonu eklendi.
- ✓ Standart çözelti kuyucuğuna; 50 µL standart ve streptavidin-HRP eklendi.
- ✓ Test edilecek örnek kuyucuğuna; 40 µL örnek, 10 µL Dicer antikoru ve 50 µL streptavidin-HRP eklendi.
- ✓ Plâğin üzeri kapatılıp hafifçe salladıktan sonra 60 dakika 37 °C' de inkübe edildi.
- ✓ Daha sonra plak 5 kez 350 µL seyreltilmiş yıkama tamponu ile manuel olarak yıkandı ve kurutuldu.
- ✓ Her kuyucuğa önce 50 µL Kromojen A daha sonra 50 µL Kromojen B eklendi. Ve karıştırmak için nazikçe salladıktan sonra 10 dakika 37 °C' de karanlık ortamda inkübe edildi. Bu solüsyonların eklenmesiyle mavi renk oluşumu gözlemlendi.

- ✓ Bu sürenin sonunda reaksiyonu durdurmak için plak kuyucuklarının her birine 50 µL stop solüsyonu eklendi.
- ✓ Mavi renkten sarı renge dönen plak, 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda her bir kuyucuğun absorbanı ELISA okuyucusunda okutuldu.

3.6.1. Dicer Düzeylerinin Hesaplanması

- ✓ Hazırlanmış olan 5 farklı derişimdeki Dicer standartlarının absorbanı değeri 450 nm dalga boyunda ölçüldü.
- ✓ Standart ve numunelere ait okunan absorbanı değerlerinden “blank” absorbanı değeri çıkarıldı.
- ✓ Standartlara ait absorbanı değerleri derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek grafiğin eğimine ait denklem ve R² değeri bulundu.
- ✓ Standart eğri denkleminde ve numunelere ait absorbanı değerlerinden yararlanılarak, numune derişimleri tek tek hesaplandı ve pg/mL olarak ifade edildi.



Şekil 3.2. Dicer Standart Grafiği

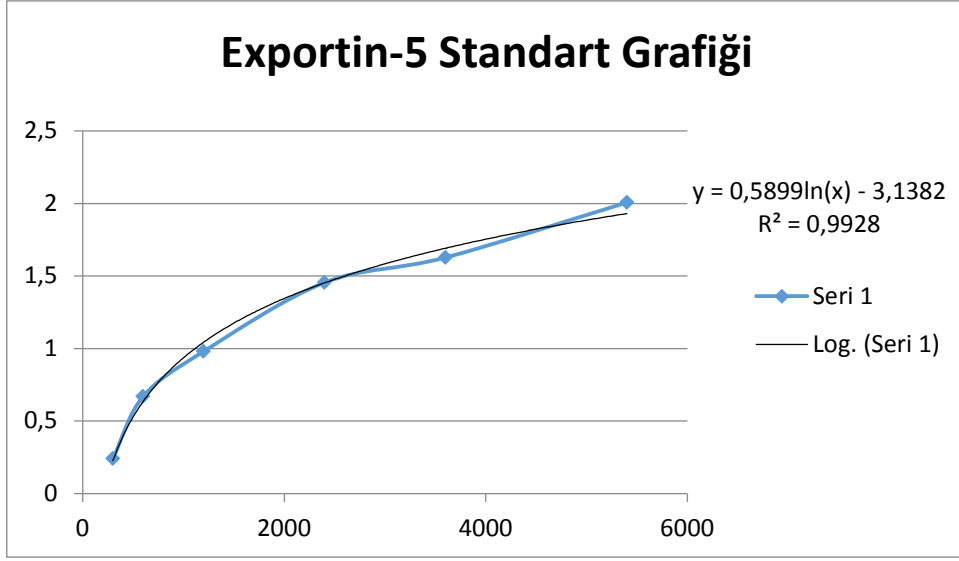
3.7. Exportin 5 Düzeyi Ölçümü

- ✓ Deneye başlamadan önce tüm numune ve reaktiflerin oda sıcaklığına gelmesi sağlandı.

- ✓ ELISA işlemi için; standart sulandırıcı tampon kullanılarak 3600, 2400, 1200, 600, 300 pg/mL Human Exportin 5 standartları hazırlandı.
- ✓ Blank olarak seçilen kuyucuk boş bırakıldı.
- ✓ Örnek kuyucuklarına; 40 µL örnek seyreltme tamponu ve 10 µL örnek eklendi (seyreltme faktörü 5'tir.).
- ✓ Plağın üzerini kapatılıp hafifçe salladıktan sonra 30 dakika 37 °C' de inkübe edildi.
- ✓ Yıkama tamponu 30 kat seyreltildi.
- ✓ İnkübasyondan sonra plağın içerisindeki solüsyon dökülüp, yıkama solüsyonundan ilave edilerek 5 kez yıkandı.
- ✓ Blank hariç her kuyuya 50 µL HRP-konjugant reaktifi eklendi.
- ✓ Plağın üzerini kapatılıp hafifçe salladıktan sonra 30 dakika 37 °C' de inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyondan sonra plağın içerisindeki solüsyon dökülüp, yıkama solüsyonundan ilave edilerek 5 kez yıkandı.
- ✓ Her kuyuya 50 µL Kromojen A solüsyonu ve 50 µL Kromojen B solüsyonu eklendi, hafifçe çalkalandı ve 37 °C'de 15 dakika karanlık ortamda inkübe edildi. Bu solüsyonların eklenmesiyle mavi renk oluşumu gözlemlendi.
- ✓ Reaksiyonu sonlandırmak için her kuyuya 50 µL stop solüsyonu eklendi.
- ✓ Mavi renkten sarı renge dönen plak, 15 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda her bir kuyucuğun absorbanı ELISA okuyucusunda okutuldu.

3.7.1. Exportin 5 Düzeylerinin Hesaplanması

- ✓ Hazırlanmış olan 5 farklı derişimdeki Exportin 5 standartlarının absorbanı değeri 450 nm dalga boyunda ölçüldü.
- ✓ Standart ve numunelere ait okunan absorbanı değerlerinden "blank" absorbanı değeri çıkarıldı.
- ✓ Standartlara ait absorbanı değerleri derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek grafiğin eğimine ait denklem ve R² değeri bulundu.
- ✓ Standart eğri denkleminde ve numunelere ait absorbanı değerlerinden yararlanılarak, numune derişimleri tek tek hesaplandı ve pg/mL olarak ifade edildi.



Şekil 3.3. Exportin-5 Standart Grafiği

3.8. İstatistiksel Yöntem

Çalışmamızdan elde edilen veriler SPSS (Ver: 22. 0) programına yüklenerek değerlendirilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları yerine getirilemediğinden (Kolmogorof-Simirnov) Man Whitney U testi ve değişkenler arasındaki ilişkileri belirlemek için korelasyon analizi uygulanmış ve yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

3.9. Araştırmanın Etik Yönü

Araştırmanın her aşaması etik ilkelere uygun olarak yürütülmüştür. Uygulamaya geçmeden önce etik kuruldan (17.01.2017 tarihli, 2017-01/04 sayılı) (EK.1) ve çalışmanın yapılacağı kurumdan izin alınmıştır. Çalışmaya katılanlardan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji servisinde KKKA tanısı konularak izlenen, 17'si kadın 16'sı erkek olmak üzere toplam 33 hasta alındı. Herhangi bir sistemik rahatsızlığı bulunmayan, 20'si kadın olmak üzere toplam 35 birey de kontrol grubunu oluşturdu. Hastalar, yaş ve cinsiyet yönünden herhangi bir ayırıma tabi tutulmaksızın, rast gele belirlendi. KKKA tanısı konan bu hastalar daha sonra, Bakır ve ark. [94] tarafından geliştirilen SGS (Şiddet Derecelendirme Skoru) skorlamasına göre kendi içinde iki gruba ayrıldı. Bu skorlamaya göre hasta grubunu oluşturan bireyler 25 düşük, 8 yüksek derecede olmak üzere iki alt gruba ayrıldı.

Hasta grubundaki bireylerin yaşları $48,61 \pm 16,54$ iken kontrol grubundaki bireylerin yaşları $44,11 \pm 13,17$ olarak bulunmuştur. Yaş yönünden gruplar arası farklılık önemsiz bulunmuştur ($p=0,219$; $p>0,05$).

Hasta grubundaki bireylerin %51,5'i kadın, %49,5'i erkek iken kontrol grubundaki bireylerin %57,1'i kadın, %42,9'u erkektir. Cinsiyet yönünden gruplar arası farklılık önemsizdir ($p=0,641$; $p>0,05$).

Tablo 4.1. Hastaların Laboratuvar Bulguları İle Drosha Düzeyinin Korelasyonu

Parametre	AST	ALT	LDH	WBC	Trombosit	UzamişPT	aPTT	INR	ddimer	
Drosha	r	0,283	0,146	0,379*	0,193	-0,189	0,005	0,023	0,008	0,177
	p	0,111	0,417	0,030	0,283	0,291	0,978	0,899	0,967	0,325

* $p<0,05$

Drosha ile AST ($r=0,283$), ALT ($r=0,146$), WBC ($r=0,193$), uzamişPT ($r=0,005$), aPTT ($r=0,023$), INR ($r=0,008$), d-dimer ($r=0,177$) arasında aynı yönlü, trombosit ($r=-0,189$) ile arasında negatif yönlü ilişki katsayıları bulunmuştur. Bulunan bu ilişki katsayıları istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) ve küçüktür. Drosha ile LDH arasında aynı yönlü $r = 0,379$ ilişki katsayısı bulunmuştur. Bu ilişki katsayısı istatistiksel olarak önemli olmasına rağmen ($p<0,05$) bir ilişki ölçütü olarak zayıftır.

Tablo 4.2. Hastaların Laboratuvar Bulguları İle Dicer Düzeyinin Korelasyonu

Parametre	AST	ALT	LDH	WBC	Trombosit	UzamişPT	aPTT	INR	ddimer	
Dicer	r	0,198	0,148	0,205	-0,135	-0,336	-0,042	0,248	-0,041	0,227
	p	0,268	0,410	0,254	0,455	0,056	0,818	0,163	0,821	0,203

* $p<0,05$

Dicer ile AST (r=0,198), ALT (r=0,148), LDH (r=0,205), aPTT (r=0,248), d-dimer (r=0,227) arasında aynı yönlü, WBC (r= -0,135), trombosit (r= -0,336), uzamışPT (r= -0,042), INR (r= -0,041) arasında negatif yönlü ilişki katsayısı bulunmuştur. Bu ilişki katsayıları istatistiksel olarak önemsiz ve küçüktür.

Tablo 4.3. Hastaların Laboratuvar Bulguları İle Exportin-5 Düzeyinin Korelasyonu

Parametre	AST	ALT	LDH	WBC	Trombosit	UzamışPT	aPTT	INR	ddimer	
Exportin-5	r	-0,165	-0,181	-0,070	-0,178	0,064	0,175	0,019	0,181	-0,091
	p	0,359	0,314	0,699	0,322	0,722	0,330	0,916	0,314	0,615

*p<0,05

Exportin-5 ile trombosit (r=0,064), uzamışPT (r=0,330), INR (r=0,314) arasında aynı yönlü, AST (r= -0,165), ALT (r= -0,181), LDH (r= -0,070), WBC (r= -0,178), d-dimer (r= -0,091) arasında negatif yönlü ilişki katsayıları bulunmuştur. Bu ilişki katsayıları önemsiz ve küçüktür.

Tablo 4.4. Hasta Grubundaki Drosha, Dicer ve Exportin-5 Korelasyon Analizi

Hasta		Drosha	Dicer	Exportin-5
Drosha	r	1	0,453(**)	-0,127
	p		0,008	0,480
Dicer	r	0,45*	1	-0,15
	p	0,008		0,419
Exportin-5	r	-0,13	-0,15	1
	p	0,480	0,419	

*p<0,005

Hasta grubunda dicer ile drosha arasında aynı yönlü r =0,45'lik ilişki katsayısı bulunmuştur. Bu ilişki katsayısı istatistiksel olarak önemlidir (p=0,008;p<0,05). Buna göre drosha arttığında dicer'de artmaktadır.

Dicer ile exportin-5 arasında negatif yönlü r = -0,15'lik ilişki katsayısı bulunmuştur. Bulunan bu ilişki katsayısı istatistiksel olarak önemsizdir (p=0,419; p>0,05).

Drosha ile exportin-5 arasında negatif yönlü r = -0,13'lük ilişki katsayısı bulunmuştur. Bulunan bu ilişki katsayısı istatistiksel olarak önemsizdir (p=0,480; p>0,05).

Tablo 4.5. Kontrol Grubundaki Drosha, Dicer ve Exportin-5 Korelasyon Analizi

Kontrol		Drosha	Dicer	Exportin-5
Drosha	r	1	-0,10	0,24
	p		0,555	0,173
Dicer	r	-0,10	1	0,59
	p	0,555		0,001
Exportin-5	r	0,23	0,59	1
	p	0,173	0,000	

*p<0,005

Kontrol grubunda dicer ile exportin-5 arasında aynı yönlü $r = 0,59$ 'luk ilişki katsayıları bulunmuştur. Bulunan bu iki ilişki katsayısı istatistiksel olarak önemlidir ($p=0,001$; $p<0,05$).

Dicer ile drosha arasında negatif yönlü $r = -0,10$ 'luk ilişki katsayısı bulunmuştur. Bu ilişki istatistiksel olarak önemsizdir ($p=0,555$; $p>0,05$).

Drosha ile exportin-5 arasında aynı yönlü $r=0,24$ 'lük bir ilişki katsayısı bulunmuştur. Bu ilişki istatistiksel olarak önemsizdir ($p=0,173$; $p>0,05$).

Tablo 4.6. Drosha, Dicer ve Exportin-5 ile Gruplardaki Bireylere İlişkin Değerlerin Karşılaştırılması

	N	medyan	Ortanca	Minimum	Maximum	Sonuç p	
Dicer	hasta	33	127.80	97,41	31.7	404	0,001*
	kontrol	35	93.17	40,80	10.4	547	
Drosha	hasta	33	502.37	264,14	27.7	2798	0,160
	kontrol	35	339.52	144,56	58.7	2102	
Exportin-5	hasta	33	219.84	210,33	204	339	0,985
	kontrol	35	260.06	120,69	205	1328	

Her iki gruptaki bireylere ilişkin değerler karşılaştırıldığında dicer yönünden gruplar arası fark önemli bulunurken ($p< 0,05$), drosha ve exportin-5 yönünden gruplar arası fark önemsiz bulunmuştur.

Tablo 4.7. Hasta Grubu Alt Gruplarına Göre Drosha, Dicer ve Exportin-5 Düzeyleri

Gruplar			N	medyan	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Sonuç p
Hasta	Dicer	0-4 düşük	25	87,26	83.92	160.89	31.7	404	0,425
		5+ yüksek	8	119,07	70.60	218.74	47.6	296	
	Drosha	0-4 düşük	25	202,28	206.12	702.24	27.7	2798	0,556
		5+ yüksek	8	325,25	-33.10	1339.05	48.5	2293	
	Exportin-5	0-4 düşük	25	211,40	207.96	229.99	205	339	0,223
		5+ yüksek	8	209,26	188.01	257.08	204	325	

p < 0,05

Bulunan sonuçlar istatistiksel olarak önemsizdir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

KKKA hastalığı dünyada en yaygın olarak görülen viral kanamalı ateşlerin başında gelir [19]. Hastalık Türkiye de ilk kez 2002 yılında görülmüştür [95]. Ölüm oranı ortalama %5' tir. Hastalar genellikle virusu kene aracılığıyla alırlar. Fakat infekte insanlardanda virus bulaşabilir [96]. Hastalıkta mikrovasküler hasar ve homeostas bozulur. Kan kaybı, septik şok ve çoklu organ yetmezliği sonucu ölüm gerçekleşir [97,98]. Endotel hasarı trombosit agregasyonu ve degranülasyonunu stimüle eder. Böylece homeostatik yetmezliğe katkıda bulunur. Ölen hastalarda IL-1, IL-6 ve TNF- α düzeylerinin sağ kalan hastalara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır [53].

Bu çalışmada hasta ve kontrol grubuna ait olan ve miRNA biyogenezinde rol alan serum drosha, dicer ve exportin-5 protein aktiviteleri karşılaştırılıp, bu parametrelerin KKKA hastalığının patogenezi, prognozu ve teşhisi yönünden önemi araştırılmıştır.

Protein kodlamayan miRNA'lar yaklaşık 20-23 nükleotid uzunluğunda tek iplikli RNA molekülüdür. miRNA'lar hücre döngüsünün hemen her bölümünde yer almaktadır [99]. Bunlar hedef genin mRNA'lara düşük özgüllükte bağlanmasına, yıkımına ve translasyonel inhibisyona ve gen ifadesinin kontrolünde önemli role sahiptirler [100]. Transkribe edilen molekül primer-miRNA (pri-miRNA)'nın Drosha ve Pasha tarafından kesilmesi ile öncül molekül olan pre-miRNA oluşur. Pre-miRNA, exportin-5 ve RAN-GTP aracılığı ile nükleustan sitoplazmaya taşınır. Sitoplazmada pre-miRNA TRBP ve Dicer tarafından kesilir ve miRNA oluşur [101].

Dolaşımdaki miRNA'ların sadece kanda bol miktarda bulunması ile değil aynı zamanda da oldukça kararlı bir yapı göstermesi nedeni ile klinikte hastalıkların tanısı ve prognozunda önemli bir biyobelirteç olarak kullanılabilceği gösterilmiştir. Çünkü miRNA'lar başta kan olmak üzere çeşitli vücut sıvılarında bulunur. Oldukça kararlıdırlar [102].

Sepsiste miRNA ile yapılan çalışmalarda hastalarda kodlanmayan RNA'ların düzensizliği görülmüştür. Deneysel çalışmalarda JNK / NK-KB ve diğer hücresel yollar kalıtsal immünite mitokondri fonksiyonu ve apoptoziste birlikte hareket ederler. miRNA 'ların bu hastalıkta bir biyobelirteç olabileceği ileri sürülmüştür [103].

miRNA'lar hücre tipinin belirlenmesi ve hücre farklılaşması olmak üzere pek çok işlemlerde rol alır. Çeşitli kanserlerde bazı miRNA 'ların onkojen bazılarının ise tümör ilerlemesi ve metastazında miRNA 'nın düzenleyici olduğunu göstermektedir [10,104]. Kanserle ilişkilendirilmiş genomik alanlar veya fragil bölgelerin %50 'sinden fazlasının miRNA kodlayan genlerden oluşması miRNA 'nın kanser patogeneğinde önemli olduğunu ortaya koymuştur [105].

Dicer tumor supresor genidir. Kanserlerde miRNA 'ların anormal ekspresyonu kısmen, Dicerin değişen ekspresyon seviyeleri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir [106]. Dicer ve drosha ekspresyonu, miRNA 'ların biyogeneğine katılan diğer enzimler çeşitli kanserlerde prognoz ve klinik seyir ile ilişkili bulunmuştur [107,108]. Dicer mRNA'nın ve proteinin artmış ekspresyonu prostat ve özofagial karsinomlarda saptanmıştır. Dicer mRNA 'nın azalarak düzenlenmesi hepatoselüler karsinomada gözlenmiştir [109-113].

Yapılan çalışmalarda endometrium kanserinde Dicer ve Drosha gen ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Kanserli hastalarda ekspresyon düzeyleri daha düşük bulunmuştur. Menopoz ve yaş ile Dicer ve Drosha gen ekspresyonu arasında bir ilişki bulunmamıştır [114].

Virüs enfeksiyonu esnasında gözlenen miRNA ekspresyon değişiklikleri, konak hücre miRNA'ları dahil olmak üzere virüsün replikasyonunu düzenlemede etkilidirler. miRNA'ların oluşumunu düzenleyen genlerdeki değişikliklerin viral patogeneze veya insan patojenlerine karşı konak hücrenin immün yanıtının belirlenmesinde etkili olabileceği varsayılmaktadır [115].

Ura S. ve ark. tarafından, enfeksiyonla alakalı miRNA ekspresyonunun HBV ve HCV enfeksiyonu ile düzenlenip düzenlenmediğini belirlemek için; karaciğer dokuları arasındaki miRNA ekspresyon değişiklikleri ile enfeksiyona neden olan HBV ve HCV'nin kültürlenmiş hücre modellerinden (Huh7.5 hücrelerinde klonlarının çoğaltılması ile yapılmıştır) elde edilen miRNA ekspresyonları arasındaki değişiklikleri araştırmak amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada hepatit B virüsü (HBV) ile ilişkili hepatosellüler karsinom (HCC) olan 12 hasta ve hepatit C virüsü (HCV) ile ilişkili HCC'si olan 14 hastadan elde edilen karaciğer dokularında, RT-PCR kullanılarak 188 miRNA'nın ekspresyonu ölçülmüştür. Gen transfeksiyonundan 48 saat sonra

Huh7.5 hücrelerinden RNA ekstrakte edilmiş ve hücrelerde miRNA ekspresyon örneği karaciğer dokularındaki miRNA ekspresyonları ile karşılaştırılmıştır. HBV ve HCV gruplarının karaciğer dokuları arasındaki miRNA ifadesi ile HBV ve HCV klonları ile transfekte edilen Huh7.5 hücreleri arasındaki miRNA ekspresyonundaki farklılıklar arasında güçlü bir korelasyon bulunmuştur ($r = 0.73$, $P = 0.0006$) [116]. Çalışmadan elde edilen veriler ışığında, miRNA'lar tarafından hedeflenen genlerin yol analizi, HCV grubunda azalan bir ekspresyon gösteren 13 miRNA'nın, immün yanıt, antijen sunumu, hücre döngüsü, proteazom ve lipit metabolizması ile ilgili genleri düzenlediğini belirlemiştir. HBV grubunda azalmış bir ifadeyi gösteren 6 miRNA, hücre ölümü, DNA hasarı, rekombinasyon ve transkripsiyon sinyalleri ile ilgili genleri düzenlediği sonucuna varılmıştır [117].

Öksüz Z. ve arkadaşları tarafından serum miRNA'ların (miR-30c-5p, miR-223-3p, miR-302c-3p ve miR-17-5p) ekspresyon profilleri, HCV-pozitif siroz ve HCC'nin erken teşhisi için invaziv olmayan biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmak amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, 64'ü hasta (26 CHC, 30 HCV-pozitif siroz ve 8 HCV-pozitif HCC) ve 28'i kontrol grubuna ait olan plazma örnekleri kullanılmış olup 58 miRNA'nın ekspresyon profili qRT-PCR'da incelenmiştir. CHC grubu ile kontrol grubu arasında miR-30a-5p, miR-30c-5p, miR-206 ve miR-302c-3p ekspresyon profillerinin karşılaştırılması sonucunda bu miRNA'ların önemli ölçüde regüle olmadığı ($p < 0,05$) bulunmuştur. Bu karşılaştırmadan elde edilen sonuçta, miR-206'nın 3.66 kat aşağı regüle edildiği ($p = 0,03524$) görülmüştür [118]. Meme kanseri, akciğer kanseri gibi birçok kanser türünde regüle olmadığı görülen bu miRNA'nın [119], yapılan çalışmayla karşılaştırıldığında önem arz ettiği ifade edilmiştir. Yine bu çalışmanın diğer hasta grubu olan HCV-pozitif sirozlu hasta grubunda miR-30c-5p, miR-223-3p, miR-302c-3p, miR-17-5p, miR-130a-3p, miR-93-5p ve miR-302c-5p ekspresyon profilleri kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve sonucun regüle olmadığı görülmüştür [118]. MiR-30c ekspresyon seviyesinin yapılan birçok çalışmada yukarı regüle edildiği görülmüş olup [120,121], bu çalışmada da miR-30c-5p'nin ekspresyon profil değeri 6.40 kat yukarı regüle edildiği ($p = 0.00005649$) saptanmıştır. Elde edilen bu bulgunun HCV-pozitif siroz için yeni bir araştırma konusu olabileceği yorumu yapılmıştır [118].

Yapılan bu çalışmanın HCV-pozitif siroz ve HCV-pozitif HCC grubunda miR-17-5p ekspresyon seviyesinde artış gözlenmiştir. Bu miRNA'nın HCV-pozitif siroz grubunda 2.18 kat yukarı regüle ($p=0,01369$) iken HCV-pozitif HCC grubunda 2.18 yukarı regüle edildiği ($p=0,01561$) saptanmış olup [118], yayınlanan başka bir çalışmada miR-17-5p'nin yeni bir biyobelirteç olarak rapor edildiği ifade edilmiştir [122]. Bu veriler, bu iki değişik kronik viral karaciğer enfeksiyonu uyarının HCC'nin geliştirdiği aynı yollarla olabileceği yorumu yapılmıştır. Sonuç olarak bu miRNA'ların invaziv olmayan biyobelirteç olarak kullanılarak ve HCC'nin erken döneminde ve siroz aşamasında kan alma gibi basit örnekleme prosedürü ile kullanılabilmesi belirtilmiştir. Gelecekte bu miRNA'ların HCV-pozitif siroz ve HCV-pozitif HCC hasta gruplarında daha kapsamlı bir şekilde incelenmesi gerektiği ifade edilmiştir [118].

Vasilescu C. ve arkadaşları tarafından KKKA hastalığıyla hayli benzer klinik tabloya sahip sepsis hastalarında bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada erken evre sepsisli hastaları sağlıklı kontrollerden ayıran miRNA'ları tanımlamak; ayrıca miRNA ekspresyonlarının Ardışık Organ Yetmezlik Değerlendirme (SOFA) skoruyla değerlendirilen şiddet ile aralarında ilişki olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmada, 17 sepsis hastasından 24 (ortalama yaş \pm standart sapma (SD) = 55.4 ± 17.13 yıl; 9 kadın, 8 erkek) ve 32 sağlıklı kontrolden 32 (yaş ortalaması \pm SD = 49.2 ± 20.12 y; 9 kadın, 23 erkek; yaş değişimi için $p = 0.267$; cinsiyet için $p = 0.081$) periferik lökosit ve/veya plazma örnekleri alınmıştır. Sepsis hastalarının 10'undan hem periferik kan lökositleri hem de plazmaları, 7'sinden ise iki zaman noktasında sadece plazma örnekleri (yoğun bakım ünitesine girişten 1 ve 7 gün sonra) ve bu 7 hastadan sadece birinden 7.gün plazma örneği alınmıştır. Kontrol grubuna ait olan 12 sağlıklı bireyden hem periferik kan lökositleri hem de plazmaları, diğer 10 sağlıklı bireyden ise sadece plazma örneği alınmıştır. Hasta grubu ile kontrol grubu arasında, periferik kan lökositlerinde mikrodizi ile genom çapında profillemeye yapılarak miRNA ekspresyon profilleri karşılaştırılmış [123], miR-486 ve miR-182'nin aşırı eksprese olduğu ayrıca miR-150 ve miR-342-5p'nin ise aşağı regüle olduğu saptanmıştır [124]. Sepsis esnasında düzenleyici mekanizmaların bozulması, inflamasyonun kontrolünü kaybetmesine ve sonuçta derin immünoşüpresyona ve konak hasarına sebep olabilmektedir [125,126]. Sepsis hastalarında düzensiz olan ve immün yanıtta önemli rol oynayan IL-10 (interlökin-10) ve TNF- α 'nın (tümör nekroz faktörü-

alfa) [127,128], miR-150 ile olası etkileşim bölgelerini açıklamak için ek bir hedef tahmin programı (RNA22) kullanarak kontrol edilmiştir. miRNA tespitinin gerçekleştirildiği aynı plazma örnekleri kullanılarak pro-inflamatuar TNF- α ile anti-inflamatuar IL-10 ve IL-18 (interlökin-18) düzeylerini tayin etmek için ELISA yöntemi uygulanmıştır. Hasta ile kontrol grupları arasında ekspresyon düzeylerinde anlamlı fark bulunmuş (sırasıyla $p=0.026$; $p=6.0E-04$ ve $p=6.8E-04$) ve bu seviyelerin hasta ile kontrol gruplarında miR-150'nin plazma seviyeleri ile korele olduğu belirtilmiştir. Bulguların klinik önem arz ettiği ifade edilmiştir [123].

Yukarıdaki çalışmalar dikkate alındığında miRNA'ların başta kanser ve enfeksiyon hastalıkları olmak üzere birçok hastalıkta düzenleyici rol oynadığı görülmektedir. Bu düzenleyici kodlanmayan RNA'lar pek çok hastalığın tedavi ve biyobelirteci olarak kullanılabilir.

RNA interferans (RNAi), çift zincirli RNA (dsRNA) hücreye girdiği zaman tamamlayıcı mRNA dizisinin parçalanmasına neden olan transkripsiyon sonrası gen susturma mekanizmasıdır [129]. Bu mekanizma doğal bir süreç olup, canlı organizmadaki biyolojik fonksiyonu, virüs kalıtım materyali ve transpozonlar gibi hareketli genetik öğelerin yayılmasına karşı genomu koruyarak hücrel savunmada görev almaktadır [130-133].

Literatür incelendiğinde KKKA hastalığında yapılmış benzer bir çalışma bulunamamıştır. Ancak Shihua Lu ve arkadaşları 2004'te, replikasyonu esnasında önemli düzeylerde dsRNA ürettikleri bilinen adenovirüslerde [134] yaptıkları çalışmada, adenoviral VA1 kodlayıcı olmayan RNA'nın, ifadenin fizyolojik seviyelerinde RNAi'yi inhibe edebileceği konusunda deliller ileri sürmüştür. Ve çalışma, VA1 RNA tarafından inhibe olan miRNA yada siRNA'da biyogenezis adımlarının analizi, yalnız VA1 hareketi, hücrel exportin-5 nükleer eksport faktörünün sınırlı bir havuzu için (rekabet ederek) yarışma ile pre-miRNA yada siRNA'nın güçlü bir inhibitörü olarak değil, aynı zamanda özellikle in vitro dicer bağladığını ve dicer aşırı olduğu zaman bir pre-miRNA üretiminin inhibe olduğunun gösterildiği ifade edilmiştir [135].

S.M.M. Casseb ve arkadaşları tarafından Dang virüsü serotip-4 (DENV-4) enfeksiyonu ile enfekte olmuş insan A-549 hücrelerinde droscha, DGCR8 ve dicer

ekspresyon seviyeleri araştırılmıştır. Bu çalışma kapsamında DENV-4 ile enfekte edilmiş A-549 hücreleri 5 gün boyunca günlük olarak toplanmış ve viral yükü ölçmek için RNA ekstrakte edilmiştir. DENV-4 enfeksiyonunun, enfeksiyondan 3 gün sonra en yüksek viral yükü gösterdiği bulunmuştur. Drosha, DGCR8 ve dicer negatif kontrollerle karşılaştırıldığında DENV-4 enfeksiyonu sırasında ekspresyonda azalma gösterilmiştir [136].

Sullivan (2008), HBV gibi çift zincirli RNA virüslerinde dicer ve drosha mRNA'larının ifadelerinin benzer olduğunu ve aynı miRNA gruplarını düzenledikleri gibi benzer özellikler gösterdiklerini bildirmiştir [137].

Kakumani ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada, DENV2 (Dang virüsü serotip-2) suşlarını kullanarak küçük RNA'ların, konakçı tarafından viral enfeksiyonlara yanıt olarak hücrel gen ekspresyonunu kontrol etmek için kullanıldığını göstermiştir. Bu araştırmacılar ayrıca drosha, dicer, Argo1 (Argounat 1) ve Argo2 (Argounat 2)'nin, DENV2 enfeksiyonu sırasında baskılanmasının, viral replikasyonda bir artışa yol açtığını ve RNAi'nin bu patojene karşı hücrel tepkilerde önemli rol oynayabildiğini göstermiştir [138].

Drosha ve dicer gen ekspresyonunu ve RNA metabolizmasının temel aşamalarını doğrudan düzenleyerek miRNA'dan bağımsız fonksiyonlar sergilerler [139]. Yapılan bir çalışmada drosha'nın DGCR8 ve exportin-5 pre-miRNA'sını sitoplazmaya aktarması dicer olgunlaşma sürecini tamamlayacağını, bu nedenle bu faktörlerin miRNA olgunlaşma sürecinin bileşenleri olduğu yorumu yapılmıştır [140]. Bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçta ise drosha ile dicer arasında bir ilişkinin olduğu ($p=0,008$; $p<0,05$) saptanmıştır.

Çalışmamızın sonucunda hasta grubu ve kontrol grubundaki bireylere ilişkin değerler karşılaştırılmıştır. Her iki gruptaki bireylere ilişkin değerler karşılaştırıldığında dicer yönünden gruplar arası fark önemli bulunurken ($p=0,001$; $p<0,05$), drosha ($p=0,160$) ve exportin-5 ($p=0,985$) yönünden gruplar arası fark önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Sitoplazmada görev alan dicer enzimi düzeyinin anlamlı bir şekilde artmış olması, sitoplazmada viral kaynaklı dsRNA varlığını gösteriyor olabilir.

dsRNA'lar bir RNaz III enzimi olan dicer tarafından sitoplazmada siRNA olarak adlandırılan 21-23 nükleotid uzunluğunda küçük engelleyici RNA'lara

parçalanmaktadır [68,141]. Dicer enzimi aynı zamanda daha sonraki adımda bu öncü moleküllerin RISC kompleksine bağlanmasında da önemli rol oynamaktadır [142,143]. Bu bağlanma ile mRNA'nın yıkımı gerçekleşmektedir [131,144]. Bizim çalışmamızda da bu mekanizmaya benzer bir durum söz konusu olabilir. Bu durumun daha net açıklanabilmesi için çalışmamıza benzer ve daha kapsamlı destek çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.



6. KAYNAKLAR

1. Le Guenno B. Emerging viruses. *Sci Am* 1995; 273(4), 56-64.
2. Watts DM, Ksiazek TG, Linthicum KJ, Hoogstraal H. Crimean-Congo hemorrhagic fever. In Monath TP, ed. *The arboviruses: Epidemiology and ecology*, 2, USA, 1988; 177-260.
3. Ergonul, O. (2008). Treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever, *Antiviral Research*, 78: 125–131.
4. Connolly-Andersen, M. C., Douagi, I., Kraus, A. A., Mirazimi, A.(2009). Crimean Congo hemorrhagic fever virus infects human monocyte-derived dendritic cells, *Virology*, 390; 157–162.
5. Zhang, L., Huang, J., Yang, N., Greshock, J., Megraw, M.S., Giannakakis, A., Liang, S., Naylor, T.L., Barchetti, A., Ward, M.R., Yao, G., Medina, A., O’Brein-Jenkins, A., Katsaros, D., Hatzigeorgiou, A., Gimotty, P.A., Weeber, B.L. and Coukos, G. microRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer. *PNAS* 2006; 103:9136-9141.
6. www.mirbase.org/cgi-bin/miRNA
7. Jackson RJ, Standart N. How do microRNAs regulate gene expression? *Sci STKE*. 2007;1: 367.
8. Garzon R, Calin GA, Croce CM. MicroRNAs in Cancer. *Annu Rev Med*, 2009; 60; 167-179.
9. Gottwein E, Cullen BR. Viral and cellular microRNAs as determinants of viral pathogenesis and immunity. *Cell Host Microbe*, 2008; 3: 375-387.
10. Le Quesne J, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. *Molecular Oncology*. 2010;4:230-41.
11. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function (reprinted from *Cell*, vol 116, pg 281297, 2004). *Cell* 2007;131:1129.

12. Bohnsack MT, Czaplinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *Rna-A Publication of the Rna Society*.2004; 10:185-91.
13. Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303: 95-8.
14. Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes & Development* 2003;17:3011-6.
15. Lee Y, Kim M, Han J. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *The EMBO J*, 23:4051-4060, 2004.
16. Garzon R, Fabbri M, Cimmino A, Calin GA, Croce CM. MicroRNA expression and function in cancer. *Trends Mol Med*, 12(12):580-7, 2006.
17. Grishok A, Pasquinelli AE, Conte D, Li N, Parrish S, Ha I ve ark. Genes and mechanisms related to RNA interference regulate expression of the small temporal RNAs that control *C-elegans* developmental timing. *Cell*, 106:23-34, 2001.
18. Hutvagner G, McLachlan J, Pasquinelli AE, Balint E, Tuschl T, Zamore PD. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the *let-7* small temporal RNA. *Science*, 293:834-8, 2001
19. Ergonul O. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis*. 2006 Apr;6(4):203-14.
20. Simpson DIH. Viral haemorrhagic fevers of man, *Bull Wld hlth Org* 1978; 56: 819-32.
21. Ozkurt Z. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi, *Yoğun Bakım Dergisi* 2007; 7 (1): 85-90.
22. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Kırım Kongo Kanamalı Ateşi bilgilendirme kitapçığı (2005) Ankara 5-13s.
23. Mardani, M., Keshtkar, J. M.(2007). Crimean-Congo hemorrhagic fever, *Arch Iran Med*, 10(2): 204-14.
24. Whitehouse CA. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *Antiviral Res*. 2004 Dec;64(3):145-60.

25. Elaldı N. Kırım-Kongo Hemorajik Ateşi Epidemiyolojisi. Klinik Dergisi 2004;17 (3):151-155
26. Akın L. Kırım Kongo Hemorajik Ateşi. Hacettepe Tıp Dergisi, 2008;39:134-143
27. Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. J Med Entomol. 1979 May 22;15(4):307-417.
28. Simpson DIH, Knight EM, Courtois G, Williams MC, Weinbern MP, Kibukamusoke JW. Congo virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa. Human isolations-clinical notes. East Afr Med J 1967; 44: 87.
29. Flick R, Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. Curr Mol Med. 2005 Dec;5(8):753-60.
30. Bodur H. Kırım-Kongo kanamalı ateşi ve DAS yönetimi. 5.Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi-2007; 509-20.
31. Gözalan A, Akin L, Rolain JM, Tapar FS, Oncül O, Yoshikura H, Zeller H, Raoult D, Esen B. Epidemiological evaluation of a possible outbreak in and nearby Tokat province. Mikrobiyol Bul. 2004 Jan-Apr; 38(1-2):33-44.
32. Ergönül Ö. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. ANKEM Derg. 2009; 23 (Ek 2): 234-240.
33. Ozkurt Z. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eastern Turkey:clinical features, risk factors and efficacy of ribavirin therapy. J.Infect. 2006 ;52(3):207-15
34. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı 2016 Raporları
35. Khan AS, Maupin GO, Rollin PE, et al. An outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates, 1994-1995. Am J Trop Med Hyg 1997; 57: 519-25.
36. Le Duc JW. Epidemiology of hemorrhagic fever viruses. Rev Infect Dis, 1989; 11(4), 730-5.
37. Gear JH. Clinical aspects of African viral hemorrhagic fevers. Rev Infect Dis, 1989; 11 (4):777-82.
38. Emond RT. Viral haemorrhagic fevers. J Infect 1986; 13(2):103-6.

39. 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.
40. Vatansever Z. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Epidemiyolojisinde Çevresel, Vektörel, İklimsel Değişikliklerin Rolü. 3.Ulusal Viroloji Kongre Kitabı, Bursa, 2007;203-209.
41. Al-Tikriti SK, Al-Ani F, Jurji FJ, Tantawi H, Al-Moslih M, Al-Janabi N, et al. Congo/Crimean hemorrhagic fever in Iraq. *Bull World Health Organ* 1981; 59:85-90.
42. Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res* 2004;64:145-205.
43. Bente DA., Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral research*. 2013;100:159-189
44. Elaldı, N. (2004). Kırım-Kongo hemorajik ateş epidemiyolojisi, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 26(4): 185–190.
45. Kırım-Kongo Kanamalı (Hemorajik) Ateşi: T.C Tarım ve Köyüşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü web sayfası: http://www.kkgm.gov.tr/birim/hay_sagl/Hastaliklar/kirim_kongo.html#1.
46. Gargılı A. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi'nin Vektörleri, Vektör Biyolojisi. 3. Ulusal Viroloji Kongre Kitabı, Bursa, 2007:200-202
47. Özarendeli A, Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığının Epidemiyolojisi. 2.Türkiye zoonotik Hastalıklar Sempozyumu, Ankara, 2008. 55-56.
48. Seçmeer ve ark. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. *J Pediatri Inf* 2010;4:152-161
49. Ergonul O, Whitehouse C. Introduction. Ergonul O, Whitehouse C, eds. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective. Dordrecht: Springer, 2007: 3-11,323-328.
50. Flick R, Molecular Biology Of The Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus. Ergonul O, Whitehouse C, eds. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective. Dordrecht: Springer, 2007: 35-44.

51. Haferkamp S, Fernando L, Schwarz TF, Feldmann H, Flick R. Intracellular localization of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus glycoproteins, *Virology* 2005; 2: 42.
52. Midilli K. Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsünün biyolojik ve moleküler epidemiyolojisi. 3. Ulusal Viroloji Kongre Kitabı, Bursa, 2007:195-203
53. 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): 941-4.
54. Karti SS, Odabasi Z, Kortzen V, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 1379-84.
55. Cagatay A, Kapmaz M, Karadeniz A, Basaran S, Yenerel M, Yavuz S ve ark. Haemophagocytosis in a patient with Crimean Congo haemorrhagic fever, *J Med Microbiol* 2007;56(8):1126-8.
56. Tasdelen Fisgin N, Fisgin T, Tanyel E, Doganci L, Tulek N, Guler N ve ark. Crimean-Congo hemorrhagic fever: five patients with hemophagocytic syndrome, *Am J Hematol* 2008;83(1):73-6.
57. Geisbert TW, Jahrling PB. Exotic emerging viral diseases: progress and challenges. *Nat Med*. 2004 Dec;10(12 Suppl):S110-21
58. Tignor GH, Hanham CA. Ribavirin efficacy in an in vivo model of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHF) infection. *Antiviral Res* 1993; 22:309-25.
59. Sanchez A, Lukwiya M, Bausch D, Mahanty S, Sanchez AJ, Wagoner KD, Rollin PE. Analysis of human peripheral blood samples from fatal and nonfatal cases of Ebola (Sudan) hemorrhagic fever: cellular responses, viral load, and nitric oxide levels. *J Virol* 2004;78: 10370-7.
60. Sylvia K, Shenouda ve Suresh K. Alahari. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? Department of Biochemistry and Molecular Biology, Stanley S Scott Cancer Center, Louisiana State University Health Sciences Center, 1901 Perdido Street, New Orleans, LA 70112, USA *Cancer Metastasis Rev*, Dec; 28: 369-78, 2009.

61. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004; 431(7006):350-5.
62. CALIN GA, DUMITRU CD, SHIMIZU M, BICHI R, ZUPO S, NOCH E, ALDLER H, RATTAN S, KEATING M, RAI K, RASSENTI L, KIPPS T, NEGRINI M, BULLRICH F, CROCE CM. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99: 15524-15529, 2002.
63. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science*, 294: 797–799, 2001.
64. LEE RC, FEINBAUM RL, AMBROS V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75: 843-854, 1993.
65. LAGOS-QUINTANA M, RAUHUT R, LENDECKEL W, TUSCHL T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*, 294: 853-858, 2001.
66. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 403:901–906, 2000.
67. Esquela-Kerscher A ve Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*, 6:259-269, 2006.
68. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature*, 409:363-366, 2001.
69. Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III *Drosha* initiates microRNA processing. *Nature* 2003;425:415-419.
70. Saini HK, Griffiths-Jones S, Enright AJ. Genomic analysis of human microRNA transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:17719-24.
71. Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF ve ark. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature*. 2004;432:231-5.

72. Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, Chendrimada T ve ark. The microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature*. 2004;432:235-40.
73. Han J, Lee Y, Yeom KH, Kim YK ve ark. The Dorsal-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes Dev*. 2004;18: 3016-27.
74. Landthaler M, Yalcin A, Tuschl T. The human DiGeorge syndrome critical region gene 8 and its *D. melanogaster* homolog are required for miRNA biogenesis. *Curr Biol*. 2004;14: 2162-2167.
75. Zeng Y, Yi R, Cullen BR. Recognition and cleavage of primary microRNA precursors by the nuclear processing enzyme Drosha. *EMBO J*. 2005;24:138-148.
76. Han J, Lee Y, Yeom KH, Nam JW ve ark. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. *Cell*. 2006;125:887-901.
77. MacRa JI, Doudna JA. Ribonuclease revisited: structural insights into ribonuclease III family enzymes. *Current Opinion in Structural Biology*, 2007; 17: 138–145.
78. Wang Z. MicroRNA: A matter of life or death. *World J Biol Chem*, 2010; 1(4): 41-54.
79. Almeida, M.I., Reis, R.M., Calin, G.A., 2011, MicroRNA history: Discovery, recent applications and next frontiers, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 717(1-2), 1-8.
80. Khvorova, A., Reynolds, A., Jayasena, S.D., 2003, Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias, *Cell*, 115, 209-16.
81. IORIO MV, CROCE CM. MicroRNAs in cancer: Small molecules with a huge impact. *Journal of Clinical Oncology*, 27: 5848-5856, 2009.
82. Siomi, H., Siomi, M.C., 2010, Posttranscriptional regulation of microRNA biogenesis in animals, *Mol Cell*, 38(3), 323-32.
83. Gunel, T., Hosseini, M K., Gumusoglu, E., Dolekcap, I., Aydinli, K., 2014, Future Perspective of Preeclampsia by miRNA, *Pharma publisher*, 10, 68-78.
84. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanism of posttranscriptional regulation by microRNAs: Are the answers in sight? *Nature Reviews Genetics*, 9: 102-114, 2008.

85. CHO WC. OncomiRs: The discovery and progress of microRNAs in cancers. *Molecular Cancer*, 6: 1-7, 2007.
86. DI LEVA G, CALIN GA, CROCE CM. MicroRNAs: Fundamental facts and involvement in human diseases. *Birth Defects Research*, 78: 180-189, 2006.
87. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer : oncogene or a tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev.* 2009;28: 369-378.
88. Sun W, Li YSJ, Huang HD, Shyy JYJ, Chien S. microRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2010;12: 1-27
89. Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA? *RNA*.2005;11: 1753-1761.
90. Lodish HF, Zhou B, Liu G, Chen CZ. Micromanagement of the immune system by microRNAs. *Nat Rev Immunol*, 2008; 8: 120-130.
91. Lacellier CH, Dunoyer P, Arar K, Lehmann-Che J, Eyquem S, Himber C, Saib A, Voinnet O. A cellular microRNA mediates antiviral defense in human cell. *Science*, 2005; 308: 575-560.
92. Zhou Y, Wang X, Liu M, Hu Q, Song L ,Ye L, Zhou D, Ho W. A critical function of toll-like receptor-3 in the induction of anti-human immunodeficiency virus activities in macrophages. *Immunology*, 2010; 131: 40-49.
93. Pedersen IM, Cheng G, Wieland S, Volinia S, Croce CM , Chisari FV, David M. Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism. *Nature*, 2007; 449(7164): 919-922
94. Bakır, M., Engin, A., Gozel, M.G., Elaldı, N., Kılıçkap, S., Çınar, Z. (2012). A new perspective to determine the severity of cases with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Vector Borne Disease*; 49: 105-10.
95. 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.

96. Peters CJ. , Zaki SR. , Overview of viral hemorrhagic fevers. Guerrant RL, Walker DH, Weller PF, eds. Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens, and Practice. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone, 2006, 726-33.
97. Ergonul O., Battal İ., Potential sexual transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever infection., Jpn J. Infect Dis. 2014, 67(2),137-8
98. Bray M., Comparative pathogenesis of CCHF and Ebola Hemorrhagic fever, springer, 2007, 221-231.
99. McDermott AM., Heneghan HM., Miller N., Kerin MJ., The therapeutic potential of microRNAs: disease modulators and drug targets. Pharm Res. 2011: 28(12):3016-29.
100. Paranjape T. Slack FJ., Weidhaas JB. microRNAs: tools for cancer diagnostics. Gut 2009: 58(11): 1546-54
101. Shomron N., Levy C., MicroRNA biogenesis and pre-mRNA splicing crosstalk. J Biomed Biotechnol 2009, Article ID 594678
102. Mitchell PS., Parkin RK., et al. , Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. Proc Natl Acad Sci USA 2008: 105(30): 10513-8.
103. Jeffery Ho., Hung Chan, Sunny HW et al., The involvement of regulatory non-coding RNAs in sepsis: a systematic review, (2016). Critical care 20: 383
104. Nicoloso MS, Spizzo R, Shimizu M, Rossi S, Calin GA. MicroRNAs-the micro steering wheel of tumour metastases. Nat Rev Cancer, 9(4):293-302, 2009.
105. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, ve ark. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. Proc Natl Acad Sci USA, 101(9):2999-3004, 2004.
106. Kumar MS, Pester RE, Chen CY, Lane K, Chin C, ve ark. *Dicer1* functions as a haploinsufficient tumor suppressor. Genes Dev, 23: 2700–2704, 2009.
107. Merritt WM, Lin YG, Han LY, Kamat AA, Spannuth WA, ve ark. *Dicer*, *Drosha*, and outcomes in patients with ovarian cancer. N Engl J Med, 359: 2641–2650, 2008.

108. Guo X, Liao Q, Chen P, Li X, Xiong W, ve ark. The microRNA processing enzymes: *Drosha* and *Dicer* can predict prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 138: 49–56, 2012.
109. Sugito, N., Ishiguro, H., Kuwabara, Y., Kimura, M., Mitsui, A., Kurehara, H., ve ark. RNA SEN regulates cell proliferation and affects survival in esophageal cancer patients. *Clin Cancer Res*, 12: 7322-8, 2006.
110. Chiosea, S., Jelezcova, E., Chandran, U., Acquafondata, M., McHale, T., Sobol, R.W., ve ark. Up-regulation of *Dicer*, a component of the MicroRNA machinery, in prostate adenocarcinoma. *Am J Pathol*, 169: 1812-20, 2006.
111. Lin RJ, Lin YC, Chen J, Kuo HH, Chen YY, Diccianni MB, ve ark. microRNA signature and expression of *Dicer* and *Drosha* can predict prognosis and delineate risk groups in neuroblastoma. *Cancer Res*, 70:7841–50, 2010.
112. Chiosea S, Jelezcova E, Chandran U, Luo J, Mantha G, Sobol RW, ve ark. Overexpression of *Dicer* in precursor lesions of lung adenocarcinoma. *Cancer Res*, 67:2345–50, 2007.
113. Wu JF, Shen W, Liu NZ, Zeng GL, Yang M, Zuo GQ, ve ark. Down-regulation of *Dicer* in hepatocellular carcinoma. *Med Oncol*, 10(1007):12032-010-9520-5, 2010.
114. Torres, A., Torres, K., Paszkowski, T., Jodlowska-Jedrych, B., Radomanski, T., Ksiazek, A. ve ark. Major regulators of microRNAs biogenesis *Dicer* and *Drosha* are down-regulated in endometrial cancer *Tumor Biol*, 32:769-776, 2011.
115. Kumar A. MicroRNA in HCV infection and liver cancer. *Biochimica et Biophysica Acta* 2011;1809 (11-12):694-99.
116. Ura S, Honda M, Yamashita T, Ueda T, Takatori H, Nishino R, Sunakozaka H, Sakai Y, Horimoto K, Kaneko S. ve ark. Differential microRNA expression between hepatitis B and hepatitis C leading disease progression to hepatocellular carcinoma. *HEPATOLOGY* 2009;49:1098-1112.
117. Honda M, Yamashita T, Ueda T, Takatori H, Nishino R, Kaneko S. Different signaling pathways in the livers of patients with chronic hepatitis B or chronic hepatitis C. *HEPATOLOGY* 2006;44:1122-1138.

118. Oksuz Z, Serin MS, Kaplan E, Dogen A, Tezcan S, Aslan G, Emekdas G, Sezgin O, Altintas E, Tiftik EN. ve ark. Serum microRNAs; miR-30c-5p, miR-223-3p, miR-302c-3p and miR-17-5p could be used as novel non-invasive biomarkers for HCV positive cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Molecular Biology Reports* (2015) 42(3):713-20.
119. Nohata N, Hanazawa T, Enokida H, Seki N (2012) microRNA-1/133a and microRNA-206/133b clusters: dysregulation and functional roles in human cancers. *Oncotarget* 3:9–21
120. Xu H, He JH, Xiao ZD, Zhang QQ, Chen YQ, Zhou H, Qu LH (2010) Liver-enriched transcription factors regulate microRNA-122 that targets CUTL1 during liver development. *Hepatology* 52:1431–1442
121. Girard M, Jacquemin E, Munnich A, Lyonnet S, Henrion-Caude A (2008) miR-122, a paradigm for the role of microRNAs in the liver. *Journal of Hepatology* 48:648–656
122. Chen L, Jiang M, Yuan W, Tang H (2012) miR-17-5p as a novel prognostic marker for hepatocellular carcinoma. *J Invest Surg* 25:156–161
123. Vasilescu C, Rossi S, Shimizu M, Tudor S, Veronese A, Ferracin M, Nicoloso MS, Barbarotto E, Popa M, Stanciulea O, Fernandez MH, Tulbure D, Bueso-Ramos CE, Negrini M, Calin GA. ve ark. MicroRNA fingerprints identify miR-150 as a plasma prognostic marker in patients with sepsis. *PLoS One*. 2009, 12;4(10):e7405.
124. Tili E, Michaille JJ, Cimino A, Costinean S, Dumitru CD, et al. (2007) Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF-alpha stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock. *J Immunol* 179:5082–5089.
125. Hotchkiss RS, Nicholson DW (2006) Apoptosis and caspases regulate death and inflammation in sepsis. *Nat Rev Immunol* 6: 813–822.
126. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Grayson MH, Osborne DF, et al. (2002) Depletion of dendritic cells, but not macrophages, in patients with sepsis. *J Immunol* 168: 2493–2500.

127. Ne'meth K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, Mayer B, Parmelee A, et al. (2009) Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med* 15: 42–49.
128. Abe R, Hirasawa H, Oda S, Sadahiro T, Nakamura M, et al. (2008) Upregulation of interleukin-10 mRNA expression in peripheral leukocytes predicts poor outcome and diminished human leukocyte antigen-DR expression on monocytes in septic patients. *J Surg Res* 147: 1–8.
129. Atalay A., RNA İnterferans Kursu, s. 25, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Yaşam Bilimleri Kursları Serisi, Ankara, 2007.
130. RNA Interference, 2005/2006 Dharmacon Applications Handbook and Catalog, pp. 3- 5, 2005.
131. Agrawal N., et al., RNA Interference: Biology, Mechanism, and Applications, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67 (4), 657- 685, 2003.
132. Zeng Y., Cullen B.R., RNA Interference in Human Cells is Restricted to The Cytoplasm, *RNA*, 8, 855- 860, 2002.
133. Reddy L.S., Sarojamma, V., Ramakrishna, V., Future of RNAi in Medicine. A Review, *World Journal of Medical Sciences*, 2 (1), 1- 14, 2007.
134. Maran, A., and M. B. Mathews. 1988. Characterization of the doublestranded RNA implicated in the inhibition of protein synthesis in cells infected with a mutant adenovirus defective for VA RNA1. *Virology* 164:106–113.
135. Lu S, Cullen BR. Adenovirus VA1 noncoding RNA can inhibit small interfering RNA and MicroRNA biogenesis. *J Virol.* (2004), 78(23):12868-76.
136. Casseb SM, Simith DB, Melo KF, Mendonça MH, Santos AC, Carvalho VL, Cruz AC, Vasconcelos PF. Droscha, DGCR8, and Dicer mRNAs are down-regulated in human cells infected with dengue virus 4, and play a role in viral pathogenesis. *Genet Mol Res.* (2016) 9;15(2).
137. Sullivan CS (2008). New roles for large and small viral RNAs in evading host defences. *Nat. Rev. Genet.* 9: 503-507.

138. Kakumani PK, Ponia SS, S RK, Sood V, et al. (2013). Role of RNA interference (RNAi) in dengue virus replication and identification of NS4B as an RNAi suppressor. *J. Virol.* 87: 8870-8883.
139. K. Burger, M. Gullerova, Swiss army knives: non-canonical functions of nuclear Drosha and Dicer, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* (2015). (accessed June 21, 2015)
140. Hessam S, Sand M, Skrygan M, Gambichler T, Bechara FG. Inflammation induced changes in the expression levels of components of the microRNA maturation machinery Drosha, Dicer, Drosha co-factor DGRC8 and Exportin-5 in inflammatory lesions of hidradenitis suppurativa patients. *J Dermatol Sci.* (2016) 82(3):166-74.
141. Zamore P.D., et al., RNAi: Double-Stranded RNA Directs The ATP Dependent Cleavage of mRNA at 21 to 23 Nucleotide Intervals, *Cell*, 101, 25- 33, 2000.
142. Khanna D., Balgir P.P., Gurlovleen K., RNA Interference: An Ancient Mechanism For Novel Therapeutics, *The Internet Journal of Genomics and Proteomics*, 2 (2), 1- 45, 2007.
143. Szweykowska- Kulinska Z., et al., RNA Interference and Its Role in The Regulation of Eucaryotic Gene Expression, *Acta Biochimica Polonica*, 50 (1), 217- 229, 2003.
144. Ambion Applied Biosystem
<http://www.ambion.com/techlib/resources/RNAi/overview/2.html>, 2008.

7. EKLER

Ek 1. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığında Drosha, Dicer, Exportin-5 Protein Düzeylerinin Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 219 10 10 / Dahili: 2092
	FAKS	-
	E-POSTA	cuetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Sevtap Bakır			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	--			
	DESTEKLEYİCİ	--			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	--			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	--			
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dıőı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığında Drosha, Dicer, Exportin-5 Protein Düzeylerinin Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
		BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
		OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>			
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>			
	İLAN	<input type="checkbox"/>			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
DİĞER:	<input type="checkbox"/>				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2017-01/04	Tarih: 17.01.2017			
	<p>Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacı/çalışmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmacı/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.</p> <p>İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.</p>				

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Emin Yener Gültekin

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Emin Yener Gültekin	Üroloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Kürşat Karadayı	Genel Cerrahi	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Raporlu
Prof. Dr. Hülya Toker	Periodontoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayşe Demirkazık	Biyofizik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Aynur Engin	Enfeksiyon Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Görevli
Doç. Dr. Gülşay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ali Şahin	Romatoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar	Biyostatistik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Altun	Tıbbi Farmakoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmaktadır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığında Drosha, Dicer, Exportin-5 Protein Düzeylerinin Belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Yrd. Doç. Dr. Mahmut Ekici	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Levent Sağlam	Aile Hekimi	Sivas Halk Sağlığı Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Hüseyin Saygın	Üroloji	Sivas Numune Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Araş. Gör. Emine Özdamar	Avukat	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğret. Melih Arslan	Sınıf Öğretmeni	Emekli	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

Ek 2. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Bilgilendirilmiş Olur Formu



C.Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Sayın Katılımcı,

Bu katılacağınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalarında (Bu hastalık keneler tarafından taşınan Nairovirüs isimli bir mikrobiyal etken tarafından neden olunan ateş, cilt içi ve diğer alanlarda kanama gibi bulgular ile seyreden hayvan kaynaklı bir enfeksiyondur ve son yıllarda tedavideki gelişmelere rağmen ölüm oranları hala yüksektir.)Drosha, Dicer ve Exportin-5 Protein (miRNA’lar hücre için oldukça önemli olan birçok yolda görev alırlar ve bundan dolayı, işlevlerini yerine getiremediklerinde çeşitli hastalıklara yatkınlık oluşturabilirler.) Düzeylerinin Belirlenmesi’ dir.

Bu araştırma ile, KKKA hastalarında drosha / dicer / exportin-5 protein düzeylerinin incelenmesi, hastalığın seyri hakkında tahmini ve iyileşme şansı olup olmadığı, hastalığın kaynağı ve gelişmesi sırasında vücutta meydana gelen değişiklikler bütünüünün öneminin incelenmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca çalışılacak yöntem ve değişkenlerin çeşitliliğinin birbiri ile bağlantı kurma olanağı sağlayacağı düşünölmektedir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllölük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu araştırmada yer almanız için bir defa gelmeniz yeterli olup, araştırmada sizin gibi gönüllölüler yer alacaktır. Çalışma 24 ay sürecektir.

Bu araştırmayı yapmak istememizin nedeni, Kırım Kongo Kanamalı Ateşi gibi tehlikeli ve hala ölüm riskinin yüksek olduğu bu hastalığın altında yatan sebepleri biyokimyasal yönden incelemek ve uluslararası bilim dalında yazılmış olan yazılara katkıda bulunmaktır. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Faköltesi Araştırma ve Uygulama

Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği ve Biyokimya Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirilecek bu çalışmaya katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.

Bu araştırma ile ilgili olarak sizden beklenen, istenen tahlilleri yaptırmak, araştırmacının sorularına uygun ve doğru cevap vermek ve sonuçlarını zamanında araştırmacıya ulaştırmaktır. Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve zarar söz konusu değildir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Prof. Dr. Sevtap BAKIR veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından muayene edileceksiniz ve bulgular kaydedilecektir. Muayene sonucunda doktorunuz uygun görürse bu çalışmaya alınacaksınız. Yine izniniz doğrultusunda bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 5 ml kadar kan almamız gerekmektedir. Alınan kanda biyokimyasal parametrelerin (Drosha , Dicer, Exportin-5 Protein) gibi maddelerin miktarı ölçülecektir. Ayrıca yaş, cinsiyet, kilo, doğum tarihi gibi bilgilerinizde kayıt altına alınacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: 1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. 2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması riski vardır.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için ,05319230670 numaralı telefonda araştırmacınız Zehra DOĞAN'a başvurabilirsiniz.

Ayrıca bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununuzun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahale sizden ücret talep edilmeden ve sosyal güvenceniz kullanılmadan sağlanacaktır.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının

gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır, çalışmadan çekilmeniz ya da araştırıcı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntısıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın gönüllü olarak kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı: Zehra DOĞAN

Görevi: Yüksek Lisans Öğrencisi

Adresi: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D.

Tel.-Faks: 05319230670

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı: Seyit Ali BÜYÜKTUNA

Görevi: Dr. Öğretim Üyesi

Adresi: Cumhuriyet Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği

Tel.-Faks: 05053869882

Tarih ve İmza:



8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad-Soyad	Zehra DOĞAN
Doğum Yeri ve Tarihi	Tokat, 03.10.1991
Medeni Hali	Bekâr
Yabancı dil	İngilizce
e-posta:	zhradgn@gmail.com

Eğitim Bilgileri

Lise	Zile Dinçerler Lisesi, TOKAT, 2009
Üniversite	Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği, SİVAS, 2015
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya ABD, SİVAS, 2018