



T.C.

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞİ HASTALARINDA KEMOKİN RESEPTÖR

5 (CCR5) GENİ DELTA 32 MUTASYONUNUN ANALİZİ

Hazırlayan

Duygu EKİNCİ

Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU

TOKAT – 2015

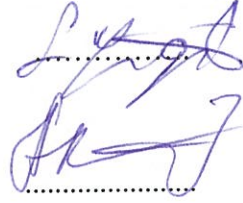
**KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞİ HASTALARINDA KEMOKİN
RESEPTÖR 5 (CCR5) GENİ DELTA32 MUTASYONUNUN ANALİZİ**

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: / /

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

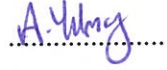
Başkan : Yrd. Doç. Dr. Serbülent YİĞİT



Üye : Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU



Üye : Yrd. Doç. Dr. Akın YILMAZ



Üye :

.....

Üye :

.....

Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun
...../...../..... tarih vesayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul
edilmiştir.

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Hacı Ömer ATEŞ



Doç. Dr. H. Ömer ATEŞ
Gaziosmanpaşa Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Harcama Yetkilisi

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

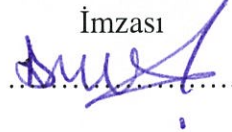
(.../.../2015)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Duygu EKİNCİ

İmzası



ÖZET

KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞİ HASTALARINDA KEMOKİN RESEPTÖR 5 (CCR5) GENİ DELTA32 MUTASYONUNUN ANALİZİ

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü, *Bunyaviridae* ailesinden *Nairovirus* grubunun alt gruplarında yer alan, ateş, ekimoz, kanama, trombositopeni ve karaciğer fonksiyon bozukluğu gibi bulgular ile seyreden akut zoonotik viral enfeksiyona yol açan bir virüsdür. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) bir akut viral kanamalı ateştir. KKKA enfeksiyonunun klinik seyri ve sonucu insanlar arasında farklılık göstermektedir. Kesin tedavisi olmayan bu hastalığın neden bazı insanlarda mortalite, bazı insanlarda ise iyileşme ile sonuçlandığına dair kesin bilgiler mevcut değildir.

Kemokin reseptör 5 (*CCR5*) geni 3. kromozomda 3p. 21. 3 bölgesinde çeşitli kemokin reseptörü kodlayan bir grup genin arasındadır (3p21-3p24). *CCR5 delta32* (*CCR5 Δ32*), *CCR5* kemokin reseptörünün delesyon mutasyonudur. Bu mutasyon sonucunda dokuda ve periferik hücrelerde *CCR5*'in ekspresyonunda önemli azalma görülmektedir. *CCR5 Δ32* gen delesyonunun HIV, HBV vb. bazı viral enfeksiyonlarda hastalığa karşı koruyucu etkisinin olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir.

Çalışmamızda, *CCR5 Δ32* mutasyonunun KKKA hastalığının ortaya çıkışı, seyri ve şiddeti ile ilişkili olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Bu çalışmada, Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) yöntemi ile KKKAV RNA'sı pozitif bulunan 133 hastanın kan örneklerinden elde edilen DNA'lar kullanılarak PZR yöntemi ile *CCR5 Δ32* gen mutasyonu incelenmiştir. *CCR5 Δ32* gen mutasyonu çalışmasının sonuçlarının yanı sıra, hastaların tedavileri sırasında kaydedilmiş çeşitli verileri ve laboratuvar değerleri istatistiksel analizde kullanılmıştır.

Ki-Kare (X^2) testi kullanılarak yapılan istatistiksel analiz sonucunda, *CCR5 Δ32* gen mutasyonunun, hastalığın kliniği ağır seyreden ve hafif seyreden olgular arasında anlamlı bir farklılık göstermediği bulunmuştur ($p>0.05$). Kliniği ağır seyreden hastalarda *CCR5/CCR5* normal homozigot bireyler için sıklık %100, kliniği hafif seyreden hastalarda *CCR5/CCR5 Δ32* heterozigot bireyler için %2.08 bir sıklık saptandı. Bununla birlikte çalışılan bireylerde hiçbir *CCR5 Δ32* homozigot birey

saptanmamıştır. *CCR5* $\Delta 32$ gen mutasyonuna göre, kliniği ağır ve hafif seyreden olgular arasında bazı klinik ve demografik özellikler ile KKKA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı gözlenmiştir.

Ağır ve hafif hasta sayısının az olması bu çalışmayı kısıtlamaktadır. Her ne kadar *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonu ile KKKA hastalık seyri ve semptomları arasında istatistiksel ilişki görülememiş olsa da, *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonunun ağır hastalarda tespit edilememesi, hastalarda tespit edilen mutasyon sıklığının literatürde belirtilen normal Türk popülasyonu sıklığından daha düşük çıkması (%1.12 hasta ve %6.20 sağlıklı popülasyon) bu mutasyonun ve dolayısıyla *CCR5*'in KKKA hastalığının patogenezinde ve klinik seyrinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Elde edilen bulgular daha fazla hasta içeren örneklemeler ile yeni çalışmaların yapılması ihtiyacı doğurmuştur. Yapılacak çalışmalardan elde edilecek veriler KKKA hastalığının patogenezinde ve prognozunda *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonunun rolünü ortaya çıkararak hastalığın tedavisine yardımcı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi, *CCR5*, *CCR5 delta32*, mutasyon, polimorfizm.

ABSTRACT

CHEMOKINE RECEPTOR 5 GENE ANALYSIS OF DELTA32 MUTATION IN PATIENTS WITH CRIMEAN-CONGO HEMORRHAGIC FEVER

Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus (CCHFV) is one of the subgroups of *Nairovirus* group's which involved to *Bunyaviridae* family, leads to acute zoonotic viral infection associated with findings as fever, ecchymosis, bleeding, thrombocytopenia and liver dysfunction. Crimean-Congo hemorrhagic fever is an acute viral hemorrhagic fever. The clinical course and outcome of the Crimean-Congo hemorrhagic fever infection are different in humans. The precise information about why this disease causes death at some people, and why results by healing at some patients is unknown yet.

Chemokine receptor 5 (*CCR5*) gene is localized on 3p. 21. 3, in the region among a group of genes encoding various chemokine receptors (3p.21-3p.24). *CCR5 delta32* (*CCR5* Δ 32) is a deletion mutation of chemokine receptor *CCR5*, that decreased expression level of *CCR5* in expressed cells. The protective effect of *CCR5* Δ 32 in HIV, HBV, and certain viral infections has been shown in previous studies.

In this study, we aimed to investigate association between *CCR5* Δ 32 mutation, and CCHF infection outbreak, severity, and mortality.

We were investigated *CCR5* Δ 32 mutation frequency by PCR method using DNA samples of 133 CCHF patients isolated from blood samples of patients, which were diagnosed by detection of RNA positivity with virus specific RT-PCR. In this study we also used, various data which recorded when patient hospitalized and some laboratory values.

Result of statistical analysis using by Chi-square test, showed that distribution of *CCR5* gene Δ 32 mutation frequency between severe clinic cases and mild clinic cases were not significantly different ($p > 0.05$). All patients with severe clinic were detected *CCR5/CCR5* homozygous genotype, whereas in the patients with severe clinic frequency of *CCR5/CCR5* Δ 32 heterozygous individuals were found 2.08 %. However, no homozygous *CCR5* Δ 32/*CCR5* Δ 32 individual was detected among the all individuals

which examined. Other than, no statistical significance between some clinical and demographic characteristics for *CCR5* $\Delta 32$ mutation frequency were found.

The limitation of this study was, relatively small size of severe and mild patients. Although to lack of association between *CCR5* $\Delta 32$ mutation, and progression and symptoms of CCHF, the allele frequency of *CCR5* $\Delta 32$ mutation in CCHF patients were detected lower than the normal Turkish population frequency which emphasized in the literature (%1.12 vs %6.20). The lower *CCR5* $\Delta 32$ mutation frequency in CCHF patients than normal population, and lack of mutation in severe patients, suggest that the *CCR5* $\Delta 32$ mutation might have been a role in the pathogenesis of CCHF disease. These findings have led to the need to carry out work with samples containing more patients. The future studies may be help to treat of disease, and uncovering the role of *CCR5* $\Delta 32$ mutation in the pathogenesis and prognosis of CCHF.

Key Words: Crimean-Congo hemorrhagic fever, *CCR5*, *CCR5* $\Delta 32$, mutation, polymorphism.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans yaptığım dönem süresince eğitimliliği ve öğreticiliği ile örnek aldığım, her türlü bilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU'na teşekkür ederim.

Laboratuvarda yaptığım çalışmalarda ve tezimin hazırlanmasında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Hacı Ömer ATEŞ, Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ, Yrd. Doç. Dr. Serbülent YİĞİT, Arş. Gör. Nihan BOZKURT, Arş. Gör. Saime SEZER, Arş. Gör. Emel ENSARİ'ye teşekkür ederim.

Zorlukları her zaman başarabileceğime benden çok inandıkları için ve yaptığı tüm fedakarlıklar için, kardeşlerim Ersan EKİNCİ, Betül EKİNCİ ve Mert EKİNCİ'ye bana inandığı ve yanımda olduğu için, sıkıntılarımı paylaşan ve var olmamı sağlayan sevgili annem Selvinaz EKİNCİ'ye ve bugün yanımda olmasını ve başarıyı görmesini en çok istediğim canım babam Zühtü EKİNCİ'ye nasıl bir insan olmam gerektiğini bana öğrettiği için sonsuz teşekkür ederim.

Duygu EKİNCİ

TOKAT -2015

İÇİNDEKİLER

ETİK SÖZLEŞME.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ.....	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞİ.....	5
2.1.1. Kırım-Kongo kanamalı ateşi ve viral kanamalı ateş tanımı	5
2.1.2. Tarihçesi	5
2.1.3. Etken.....	6
2.1.3.1. KKKA virüsünün moleküler yapısı ve enfeksiyon döngüsü	7
2.1.4. Vertebralı rezervuarlarda yaşam ve vektör olarak keneler.....	10
2.1.5. Hastalığın ve virüsün epidemiyoloji ve ekolojisi	12
2.1.6. Bulaşma	15
2.1.7. Risk faktörleri.....	16
2.1.8. KKKA hastalığının patogenezi	16
2.1.9. KKKA hastalığının tanısı	20
2.1.9.1. Ayırıcı tanı	22
2.1.10. Kötü Prognoz Kriterleri.....	23
2.1.11. KKKA Hastalığında Klinik	24
2.1.11.1. Laboratuvar bulguları	26
2.1.12. KKKA hastalığında tedavi	26
2.1.13. KKKA'da Korunma Yolları.....	29
2.1.13.1. Maruziyet Sonrası Profilaksi	30
2.1.13.2. Aşı.....	31
2.1.14. Biyoterörizm ve viral kanamalı ateşler	31
2.2. KEMOKİNLER	31
2.2.1. Kemokinlerin Tanımı ve İşlevleri	31

2.2.2. Kemokinlerin Moleküler Yapısı.....	33
2.2.3. Kemokin Reseptörleri.....	36
2.2.3.1. CC- Kemokin Reseptör 5 (<i>CCR5</i>).....	38
2.2.4. Enfeksiyon Hastalıklarında Kemokinlerin Rolü	41
2.2.5. Polimorfizm ve Tanımı	42
2.2.5.1. <i>CCR5</i> Mutasyonu	42
3. GEREÇ ve YÖNTEM	45
3.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER	45
3.1.1. Aletler ve Cihazlar.....	45
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	45
3.1.3. Kullanılan solüsyonlar ve tamponlar.....	46
3.1.3.1. EDTA Solüsyonu (0.5 M) Hazırlanışı	46
3.1.3.2. 5XTBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu	46
3.1.3.3. Etidyum Bromür Solüsyonu (10 mg/ml).....	46
3.1.3.4. Elektroforez Yürütme Tamponu.....	46
3.1.3.5. %2.5'lik Agaroz Jel (100 ml)	46
3.1.3.6. dNTP çalışma solüsyonu: (5 mM stok çözeltisi için).....	46
3.1.3.7. Primer stoklarının hazırlanması.....	47
3.2. ÇALIŞMA GRUBU.....	47
3.2.1. Hasta Grubu.....	47
3.2.2. Çalışma Gruplarının Tanımlanması	47
3.2.3. Etik Kurul İzni ve Bilgilendirilmiş Onam.....	48
3.2.4. Örneklerin alınması	48
3.3. YÖNTEM.....	49
3.3.1. Genomik DNA İzolasyonu	49
3.3.2. DNA'nın Kalitatif Tayini	49
3.3.3. DNA'nın Kantitatif Tayini	49
3.4. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR) TEKNİĞİ	49
3.5. ELEKTROFOREZ TEKNİĞİ.....	50
3.6. <i>CCR5 DELTA32</i> GEN MUTASYONUNUN ANALİZİ	50
3.6.1. <i>CCR5</i> Gen Mutasyonu.....	50
3.6.2. Agaroz jelde PZR ürünlerinin koşturulması.....	52

3.7. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER	52
4. BULGULAR	53
4.1. ÇALIŞMA GRUBUNDA YER ALAN HASTALARIN DEMOGRAFİK ve KLİNİK BULGULARI.....	53
4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Analizi.....	54
4.3. İstatistiksel Bulgular	54
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	61
6. KAYNAKLAR	70
7. ÖZGEÇMİŞ	86

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1 Swanepoel ve arkadaşlarının ağır olgu tanımlamada kullandığı laboratuvar ... bulguları.....	23
Tablo 2.2 Kemokinler, hedef hücreleri ve biyolojik aktiviteleri	35
Tablo 2.3 Kemokin reseptör-ligand ilişkisi.....	37
Tablo 2.4 <i>CCR5</i> genine ait baz dizisi.....	39
Tablo 3.1 Swanepoel ve Ergönül'ün çalışmalarında belirledikleri hastalık prognoz düzeylelerinin sınıflandırılmasında kullanılan kriterler	48
Tablo 3.2 <i>CCR5</i> geninin $\Delta 32$ bölgesindeki mutasyonun analizinde kullanılan primerler	51
Tablo 3.3 <i>CCR5</i> geni $\Delta 32$ bölgesindeki mutasyonun belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı.....	51
Tablo 3.4 <i>CCR5</i> geni $\Delta 32$ bölgesindeki mutasyonun belirlenmesinde kullanılan PZR programı	52
Tablo 4.1 Çalışmaya dahil edilen KKKA hastalarının demografik ve laboratuvar bulgularına ait istatistik veriler.....	53
Tablo 4.2 Ağır ve hafif olgu gruplarında <i>CCR5</i> geni mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları.....	55
Tablo 4.3 AST değeri 700 üstü ve 700 altı olan KKKA hastalarında <i>CCR5</i> geni mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları	56
Tablo 4.4 ALT değeri 900 üstü ve 900 altı olan KKKA hastalarında <i>CCR5</i> geni mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları	57
Tablo 4.5 PLT değeri 20000 üstü ve 20000 altı olan KKKA hastalarında <i>CCR5</i> gen mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları	58
Tablo 4.6 aPTT süresi 60 saniye üstü ve 60 saniye altı olan KKKA hastalarında <i>CCR5</i> gen mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları.....	59
Tablo 4.7 Ex olan ve yaşayan KKKA hastalarında <i>CCR5</i> gen mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları.....	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Bunyaviridae</i> ailesine ait virüsler	6
Şekil 2.2. Kırım-Kongo hemorajik ateş virüsü	8
Şekil 2.3. KKKA virüsünün enfeksiyon döngüsünün ana evreleri	9
Şekil 2.4. Kenelerin yaşam döngüsü	11
Şekil 2.5. KKKA virüsünün coğrafi dağılımı	13
Şekil 2.6. KKKA'nın klinik ve laboratuvar seyri.....	26
Şekil 2.7. CC kemokin reseptör 5 (<i>CCR5</i>) proteininin yapısı ve aminoasit dizisinin organizasyonu	38
Şekil 2.8. <i>CCR5</i> geninde intron ve ekzonlar.....	39
Şekil 4.1 %2.5'lik Agaroz jelde koşturulan homozigot genotipe (<i>CCR5+/CCR5+</i>) sahip ve mutant genotipi (<i>CCR5+/Δ32</i>) içeren bazı heterozigot bant örnekeleri.....	54

KISALTMA ve SİMGELER LİSTESİ

AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
aPTT	: Aktive parsiyel trombin time
ARDS	: Erişkin tipi solunum yetmezliği
bç	: Baz çifti
BK	: Beyaz küre
BSL-4	: Biyogüvenlik seviye-4
C	: Sistein
°C	: Santigrat Derece
cDNA	: Tamamlayıcı DNA
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CCR5	: CC Kemokin reseptör 5
CCR5-DELTA32	: 32 baz çifti delesyonu
CCRL2	: Kemokin (C-C motif) Reseptör benzeri 2
CXCR2	: CXC kemokin reseptör 2
CMV	: Sitomegalovirüs
CPK	: Kreatin fosfokinaz
DARC	: Duffy Antigen Receptor Chemokine
DENV	: Dengue virüs
DH	: Dentritik hücre
ĐİK	: Dissemine intravasküler koagülasyon
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksiribonükleotid Trifosfat
EDTA	: Etilendiamintetra Asetik Asit
ELİSA	: Enzyme-linked immunoassay
EtBr	: Ethidium Bromür

g	: Gram
HCl	: Hidroklorik Asit
HCV	: Hepatit C virüs
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Sendromu (Human Immunodeficiency Virus)
IFA	: İndirektfluoresans antikor
IgG	: Immunoglobulin G
IgM	: Immunoglobulin M
IL	: İnterlökin
INR	: İnternational normalized ratio
kb	: Kilo Baz
kDa	: Kilo Dalton
G-PR	: G-protein çiftli reseptör
kg	: Kilo Gram
KKKA	: Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi
KKKAV	: Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LRG-1	: Leucine Rich Alpha ₂ Glycoprotein 1
LARC	: Liver and Activation Regulated Chemokine
M	: Marker
MCP	: Monocyte Chemoattractant Protein
mg	: Miligram
MgCl₂	: Magnezyum Klorür
MIG	: Monokin induced by interferon gamma
MIP	: Macrophage inflammatory protein
µl	: Mikrolitre
mM	: Milimolar
ml	: Mililitre
M-Tropik suş	: Makrofaj tropik suş
N	: Nükleokapsid
NaOH	: Sodyum Hidroksit
NK	: Natural killer

nm	: Nanometre
OD	: Optik Yoğunluk (Optic Density)
ORF	: Açık okuma çerçevesi
PAI	: Plazminojen aktivatör inhibitör
PF	: Platelet factor
PI	: Plazmodium
Plt	: Platelet
pmol	: Pikomol
PT	: Protrombin zamanı
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RANTES	: Regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted
RT-PCR	: Real time polymerase chain reaction
RNA	: Ribonükleik Asit
SDF-1α	: Stromal cell derived factor-1 α
Sn	: Saniye
St	: Standart sapma
TBE	: Tris-Borat-Edta
TDP	: Taze donmuş plazma
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör- α
UV	: Ultraviyole
V	: Volt
VKA	: Viral kanamalı ateş
X²	: Ki-Kare

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Enfeksiyon hastalıkları, insanın varoluşundan günümüze kadar geçen süreçte dünya genelinde çok önemli sorunlardan biri olup, insan sağlığını tehdit eden, mortalite ve morbidite oranının artmasına en büyük katkıda bulunan sağlık problemlerinden biridir. Viral kanamalı ateş (VKA), insanlarda farklı virüsler tarafından oluşturulan, aniden gelişen, ateşli ve kanamalı klinik bir sendromdur [1]. VKA gibi bazı enfeksiyon hastalıkları hem genel popülasyonda hem de dünya genelinde büyük korku ve merak uyandırmaktadır. Günümüzde VKA oluşturan virüsler; *Filoviridae* (*Marburg* virüs ve *Ebola* virüs), *Arenaviridae* (*Lassa* virüs, *Junin*, *Machupo*, *Sabia* ve *Guanarito* virüs), *Bunyaviridae* (Kırım-Kongo Hemorajik Ateşi virüsü, *Rift Valley fever* virüs ve *Hantavirüs*) ve *Flaviviridae* (*Yellow fever* virüs ve *Dengue* virüs) ailelerine ait RNA (Ribonükleik asit) virüsleridir [2, 3, 4]. Bu kanamalı ateş virüslerinden bazıları, insandan insana bulaşabilme özelliğini taşımalarından dolayı toplum sağlığı açısından önemli sonuçlar ortaya çıkarabilir. VKA enfeksiyonları günümüzdeki modern yoğun bakım tekniklerine rağmen önemli oranda ölümle sonuçlanmaktadır.

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü (KKKAV), *Bunyaviridae* ailesinden *Nairovirus* grubunda yer alan, %10-60 mortalite oranına sahip, Kırım- Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) olarak tanımlanan, insanda şiddetli kanamalı ateşi hastalığının etkeni olan bir virüstür [5]. Hastalığa aynı zamanda evcil ve yabani memeliler ve kuşlarda da rastlanmakla birlikte; bu hayvanlarda ölüme sebep olmamaktadır. Bu nedenle zoonoz bir hastalıktır [6, 7]. Çoğunlukla kene ısırığı ile meydana gelen KKKA hastalığının inkübasyon süresi 2-9 gün arasında değişip; bu süre virüsün giriş yoluna, alınan virüs miktarına ve konağının immünesine bağlı olarak seyir gösterir. İnkübasyonun akabinde ani başlayan şiddetli baş ağrısı, ateş ve titremeler, halsizlik, bulantı ve kusma görülür. Kanamaların olduğu dönemin hemen öncesinde karın ağrısı, tekrarlayan kusmalar ve ciddi bel ağrıları klinik olarak önemli tanısasal semptomlardır. Hastaların bazılarında kanama bulguları görülür. Bunlar gastrointestinal ve genitoüriner sistem, diş eti, akciğer ve beyin kanamalarıdır. Peteşi ve ekimoz gibi cilt kanamaları da görülebilmektedir. Ölüm genellikle hastalığın ikinci haftasında görülmekte olup; başlıca sebepleri kanamalar, organ yetmezlikleri ve şoktur. KKKA'nın kliniği bazı olgularda

hafif seyredip hastalar kısa sürede iyileşmekte, bazılarında ise ağır seyredip ölüm ile sonuçlanmaktadır [8].

KKKA hastalığının patogenezi bakıldığı zaman, virüsün öncelikle dendritik hücrelerde ve diğer lokal dokularda replike olduğu görülmektedir. Daha sonra virüs aşamalı olarak bölgesel lenf nodüllerine, lenf ve kan lenfositleri aracılığı ile de çeşitli doku ve organlara (karaciğer, dalak) yayılmaktadır. KKKA patogenezi endotelin rolü önemlidir. En önemli hedef vasküler endotel olup hem direkt hem de indirekt hasarlanır [9].

Bugüne kadar ne KKKA patogenezi ne de bu hastalığın prognozunu neden bazı hastalarda hafif bazı hastalarda ağır seyrettiği tam olarak aydınlatılamamıştır.

Kemokinler farklı hücre tiplerini aktive eden ve selektif olarak onlarla ilişki içerisinde olan bir polipeptid ailesidir. Kemokinler inflamasyon, enfeksiyon, doku hasarı, allerji, kardiyovasküler hastalıklarda, ayrıca malign tümör patofizyolojisinde de görev alırlar. İnflamasyonda ve enfeksiyonlara karşı konakçı cevabında lökositlerin dokulara yerleşimi önemli bir basamağı oluşturur [10]. Kemokinler, inflamasyonda ve homeostazda lökositlere ve kök hücrelere kemotaksi yaptıran sitokinlerdir. Dendritik hücre işlevlerinde, T hücre farklılaşması ve işlevlerinin sağlanmasında, efektör T hücre cevabında ve inflamatuvar hastalıklarda, mukozomal immünitede ve Human Immunodeficiency Virüs (HIV-1) virüsünü de içeren çeşitli virüsler tarafından konakçı immün cevabını baskılayan olaylarda işlev görürler [11].

Kemokin ailesinin hücreler üzerinde bağlandıkları 20 kadar kemokin reseptörü tanımlanmıştır. Kemokin reseptörleri G-protein bağımlı türde hücre içi sinyal ileten yapılardır. Kemokinlerin uygun reseptöre bağlanması sonucunda sinyal iletimi ile uyarılan hücreler, doku zedelenmesi, inflamasyon veya gerek görülen bölgeye migrasyon yapmak üzere harekete geçerler [11, 12].

CC kemokin reseptör tip 5 (*CCR5*) “G-protein bağımlı reseptör” (GPCR) ailesinin bir üyesi olup, T hücreleri, makrofajlar ve olgunlaşmamış dendritik hücrelerin kemokinlerle etkileşimini sağlar ve bu hücrelerin inflamasyon bölgelerine hareketini düzenler [10]. *CCR5* geni 3p21 kromozomu üzerinde yer alır ve bu gende çeşitli polimorfizmler ve mutasyonlar tanımlanmıştır. Bunlardan *CCR5* $\Delta 32$ genetik mutasyonu genin açık okuma çerçevesi içerisinde 32 baz çiftlik (bç) delesyonla

tanımlanmaktadır. Bu delesyon sonucu okuma çerçevesinde kayma ve buna bağlı olarak erken sonlanma kodonu oluşur. Hatalı sentezlenen protein hücre zarına gönderilmez ve böylece mutasyon fonksiyonel *CCR5* eksikliği ile sonuçlanır. Bu mutasyon sonucu *CCR5*'in ifade edildiği hücrelere HIV virüsünün girişi engellendiği gibi, kemokin aracılıklı makrofaj göçü de yavaşlamaktadır. *CCR5* $\Delta 32$ delesyonunun HIV, Hepatit C Virüs (HCV), kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıklarla ilişkisi olduğu saptanmıştır [13, 14].

Hütter ve arkadaşları, *CCR5* $\Delta 32$ delesyonunun bağışıklık sistemi ve inflamasyon üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. *CCR5*'in doğal işlevi tam olarak anlaşılammıştır. Bu delesyonun, T hücrelerinin inflamasyondaki yanıtlarında bir değişikliğe neden olduğu tahmin edilmektedir. Bu çalışmada Graft Versus Host hastalığı gelişiminde ve immün bağışıklık yanıtında yer alan kritik genlerin *CCR5* ile ilişkisine bakılmıştır. Çalışmada *CCR5* $\Delta 32$ delesyonunu belirlemek için 19 sağlıklı gönüllü kişilerin kemik iliğinden kökenli *CCD34+* hemotopoetik öncül (progenitör) hücreler çalışılmıştır. Çalışmalarında 11 farklı genin global gen ekspresyonuna göre analizlerini yapmışlardır. Yapılan global gen ekspresyonu analizlerine göre 6 genin (*LRG1*, *CXCR2*, *CCRL2*, *CD6*, *CD7*, *WD* ve *CD30L*) bağışıklık yanıt mekanizması ile bağlantılı olduğu bulunmuştur. Bu 6 genin ifadesi ile *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonunun ilişkili olabileceği tespit edilmiştir. Bu verilere dayanılarak *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonunun farklı gen ekspresyonları ile ilişkili ve immün yanıtlarının oluşmasında kritik bir role sahip olduğunu göstermişlerdir [15].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda *CCR5* mutasyonu ile HCV enfeksiyonu arasındaki ilişki ortaya konmuştur. Bu çalışmalarda mutasyon saptanan hastalarda karaciğerdeki inflamasyonun ve fibrozis derecesinin daha düşük olduğu ve klinik seyrin daha yavaş olduğu bildirilmiştir [16-18].

Rouhou ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 96 HCV enfeksiyonlu Tunuslu hemodiyaliz hastasında kemokin ve kemokin reseptörlerinin bazı değişimleri (*CCR5* $\Delta 32$, *CCR5* (-59029) A/G (Adenin/Guanin), *CCR2* (64Ile) incelenmiştir. Bu hastalar HCV RNA'sı pozitif olan (n=73) ve kendiliğinden virüsün etkisinden kurtulmuş olan (n=23) iki grup şeklinde ayrılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HCV ile enfekte olmuş hastalarda, *CCR2* (64Ile) ve *CCR5* A

allellerinin frekansının önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Çalışma ile HCV'in direnç ve netlik kazanmasında kemokin polimorfizminin önemli bir rolü olduğu belirlenmiştir [19].

Viral kanamalı ateş hastalıklarından biri olan Dengue Hemorajik Ateşi ile ilgili olarak Oliveira-Pinto ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları araştırmada DENV-2 ve DENV-3 salgınları ile gelen akut dönemdeki ya da iyileşmiş hastalardan prospektif olarak inceleme yapılmıştır. Akut DENV enfeksiyonunda T yardımcı/T-sitotoksik tip 1 hücreleri ile ilişkili *CCR5* ekspresyonunun her iki CD4 ve CD8 T hücrelerinde anlamlı düzeyde yüksek ifade edildiği gözlenmiştir. Ayrıca, Dengue ateşinden ölen bireylerin karaciğerinde *CCL5/RANTES* ekspresyonunun başka nedenler sonucu ölen hastaların karaciğerindeki ifade düzeyinden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular *CCR5*'in Dengue ateşi enfeksiyonu ile ilişkili olabileceğini göstermiştir [20].

Günümüzde literatürde KKKA hastalığının patogenezinin aydınlatılabilmesine yardımcı olabilecek çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Aynı zamanda hastalığın seyri ile çeşitli gen polimorfizmleri ve mutasyonları arasındaki bağlantıyı inceleyen bazı çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda genetik değişikliklerin (mutasyon ve/veya polimorfizmler) bazı enfeksiyonlara (virüs enfeksiyonları da dahil) yatkınlık ya da direnç oluşturduğu veya enfeksiyon hastalıklarının bireyler arasında farklı klinik seyir gösterdiği gözlenmiştir [8, 21].

Yaptığımız Türk ve Dünya literatürü taramasında KKKA hastalığının patogenezinin aydınlatılmasına yardım edecek bazı çalışmalar olmasına rağmen, hala büyük eksikliklerin olduğu gözlenmektedir. Bu çalışma HIV, HCV, etyopatogenezi ve klinik semptomları KKKA'ya benzer diğer bir VKA olan Dengue ateşi vb. hastalıklarda etkisi olduğu gösterilen *CCR5*'in KKKA hastalığı ile de ilişkili olabileceği düşüncesinden yola çıkılarak planlanmıştır. Çalışmamızda KKKA patogenezinde *CCR5* geni rolünün anlaşılmasına katkıda bulunmanın yanı sıra, kliniği şiddetli olan veya ölümcül seyreden KKKA hastalarında *CCR5* $\Delta 32$ gen mutasyonunun bir bağlantısının olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Daha önce benzer bir araştırmanın yapılmamış olması bu çalışmayı daha değerli kılmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞİ

2.1.1. Kırım-Kongo kanamalı ateşi ve viral kanamalı ateş tanımı

KKKA; keneler yoluyla bulaşan, Afrika, Asya, Doğu Avrupa ve Orta Doğu olmak üzere yaklaşık otuz ülkede tanımlanmış, insanlarda ciddi seyir gösterip, ölümcül seyredebilen viral kanamalı bir enfeksiyondur [22]. Virüs, *Bunyaviridae* ailesinin *Nairovirus* alt grubuna mensuptur [22, 23, 24].

Viral kanamalı ateşler (VKA) dünyanın farklı bölgelerinde farklı etkenlerin neden olduğu, yaşamı tehdit eden ağır hastalıklardır. VKA'lar ağır klinik seyirli olabilen, modern yoğun bakım ünitelerine rağmen mortalitesi yüksek, çoğu şiddetli vakalarda kanama ve şok ile seyreden, ateş ile karakterize bir enfeksiyon hastalığı grubudur [1]. *Filoviridae* (*Marburg*, *Ebola* virüsü), *Arenaviridae* (*Lassa* virüs, *Junin*, *Machupo*, *Sabia*, *Guanarito* virüsleri), *Bunyaviridae* (Kırım-Kongo kanamalı ateş virüsü, Rift Vadisi ateşi virüsü ve *Hanta* virüs) ve *Flaviviridae* (*Yellow fever* virüsü ve *Dengue* virüsü) VKA etkenleridir. VKA etkeni virüslerden *Lassa*, *Marburg*, *Ebola*, KKKA ajanlarının insandan insana bulaş ile önemli salgınlar oluşturduğu bilinmektedir [2, 3, 4].

2.1.2. Tarihçesi

Kırım-Kongo kanamalı ateşi, tarihte ilk olarak Orta Asya'da, günümüzde Tacikistan olarak bilinen bölgede 12. yüzyılda yaşayan bir hekim tarafından tanımlanmıştır. Tanıma göre; idrarda, dışkıda, diş etlerinde, balgam, kusmuk ve karın boşluğunda kanama ile karakterize bir sendromdur [22]. Bu hastalığa normalde kara tavuk paraziti olan bir kene ya da bitin sebep olduğu bildirilmiştir [22, 25]. Hastalığın kanamalarla ölümcül seyretmesi nedeni ile "kara ölüm" ve "kan alımı" gibi isimler verilmiştir [26].

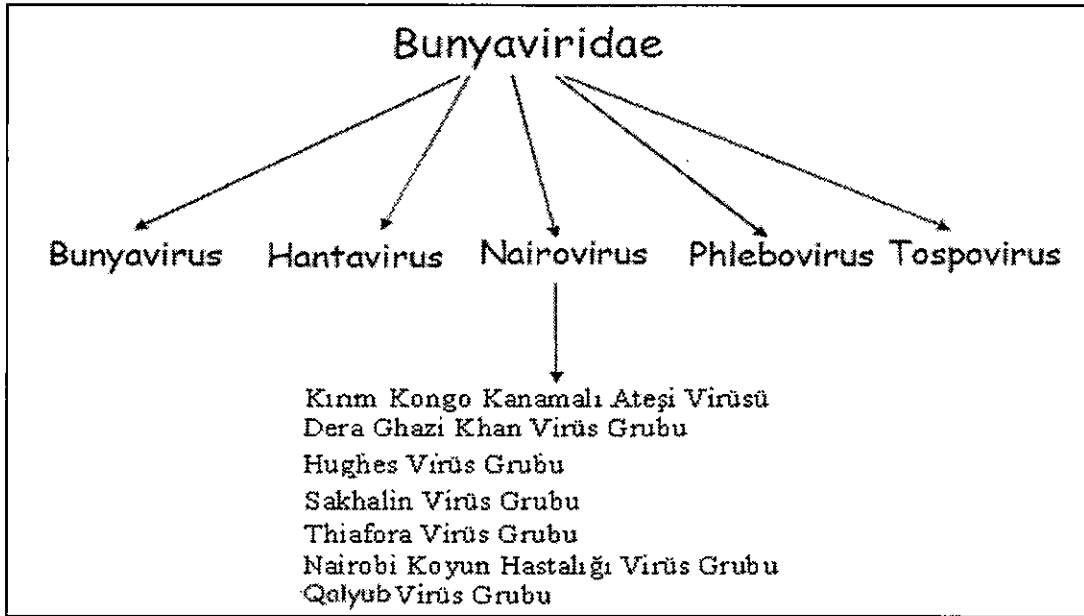
KKKA ile ilgili ilk resmi kayıtlar II. Dünya savaşı yıllarında 1944-1945 yaz aylarında, Batı Kırım steplerinde çoğunlukla ürün toplamaya yardım eden 200'den fazla enfekte olmuş Sovyet askerinde bir klinik antite olarak tanımlanmıştır. Keneler ile ilişkisi belirlendikten sonra hastalığa Kırım Kanamalı ateşi adı verilmiştir [25, 27, 28].

1956 yılında Zaire’de ateşli ve kanamalı bir hastadan izole edilen Kongo virüs ile 1969’da Kırım hemorajik virüslerinin aynı virüs olduğunun anlaşılması üzerine Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü olarak yeniden adlandırılmıştır [22, 23, 25, 29-31].

Elektron mikroskopik olarak virüs ilk defa 1974’de tespit edilmiş ve boyutları 100-300 nm olarak bildirmiştir [25].

2.1.3. Etken

KKKA hastalığına sebep olan etken KKKAV’dır. KKKAV virüsü *Bunyaviridae* ailesinden *Nairovirus* cinsi içerisinde yer alıp, helikal kapsidli, zarflı, 3 segmentli, tek sarmallı, negatif polariteli bir RNA virüsüdür [32, 33]. Aynı aile içindeki diğer cinsler *Orthobunyavirus*, *Hantavirus*, *Phlebovirus* ve *Tospovirus* (Şekil 2.1). *Nairovirus* genusu, 7 serogrup altında gruplandırılan 34 virüsü barındırmaktadır [23, 26]. En önemli serogruplar; KKKAV virüsünü, Hazara virüsünü (insanlar için patojenik olmadığı gösterilmiş) içeren KKKAV grubu, Nairobi koyun hastalığının ve Dugbe virüslerinin yer aldığı Nairobi koyun virüsü grubudur. KKKAV virüsünün filogenetik analiz çalışmalarıyla farklı coğrafik bölgelerde görülen 8 genotipi tanımlanmış, Türkiye’den izole edilen KKKAV virüslerinin Kosova ve Güney Batı Rusya tipi ile benzer filogenetik yapıda olduğu belirlenmiştir [22].



Şekil 2.1. *Bunyaviridae* ailesine ait virüsler [23]

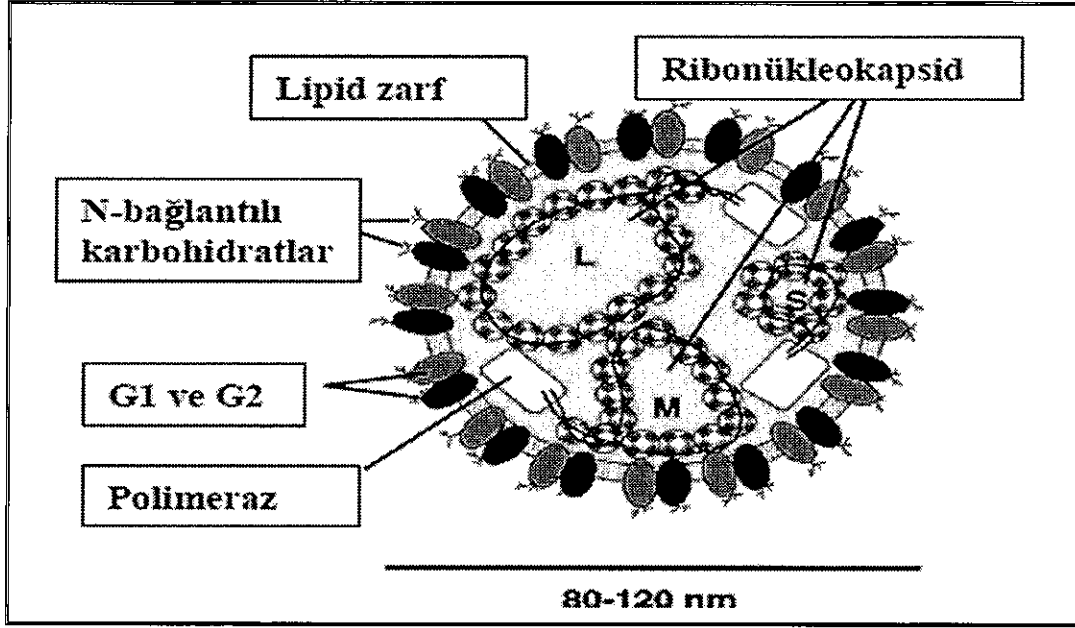
2.1.3.1. KKKA virüsünün moleküler yapısı ve enfeksiyon döngüsü

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü (KKKAV), *Bunyaviridae* ailesinde *Nairovirüs* cinsinde yer alan 80-120 nanometre (nm) büyüklüğünde, zarflı, negatif polariteli, üç parçalı, küresel, RNA içeren bir virüstür. Genellikle KKKA virüsü ve Nairovirüslerin belirgin özellikleri olan morfogenez, üreme siklusu ve fizikokimyasal özelliklerinin *Bunyaviridae* ailesindeki üyeler gibi olduğu bilinmektedir. Murphy ve arkadaşları KKKA virüsünün morfolojisini ilk defa yenidoğan infekte farelerin beyinlerinde tanımlamış ve *Bunyaviridae* ailesine benzerliğini kaydetmiştir [34].

KKKA virüsü dayanıksızdır ve konakçı dışında yaşayamaz. Bu virüsler kanda 40 °C'de 10 gün yaşayabilirler ve 56 °C'de 30 dakikada inaktive olurlar. KKKA virüsü dezenfektanlardan %1 hipoklorit, %2 glutraldehite duyarlıdır ve ultraviyole ışınları ile hızla inaktive olur [4].

Virüsün dört yapısal protein kodlayan üç genom segmenti mevcuttur ve bu proteinler hassas hücre reseptörleri aracılığı ile virüsü tanımlamaktadırlar. Bu segmentler büyüklüklerine göre isimlendirilirler; geniş segment (L), orta segment (M), küçük segment (S) (Şekil 2.2) [35]. S segmenti bir nükleokapsid (N) proteini, M segmenti iki zarf proteini; G1 ve G2 için prekürsör, L segmenti de RNA bağımlı RNA polimerazı kodlamaktadır [35, 36]. Viral zarf glikoproteinleri olan G1 ve G2, duyarlı hücrelerde spesifik reseptörleri tanımada rol oynar.

KKKA virüsünün glikoproteinlerinin moleküler özellikleri son zamanlarda çalışılmıştır. KKKA virüsü enfeksiyonu sırasında olgun G1 ve G2 proteinlerinin, virüsün predominant yapısal glikoproteinlerini oluşturduğunu belirtmişlerdir [32].



Şekil 2.2. Kırım-Kongo hemorajik ateş virüsü [35]

RNA segmenti (Small, Medium, Large) nükleokapsid proteini ile kompleks yaparak ribonükleokapsid yapıları oluşturur. Bu nükleokapsidler ve RNA bağımlı RNA polimeraz, G1 ve G2 viral glikoproteinlerini içeren bir lipid zarf içerisinde paketlenmiştir [35].

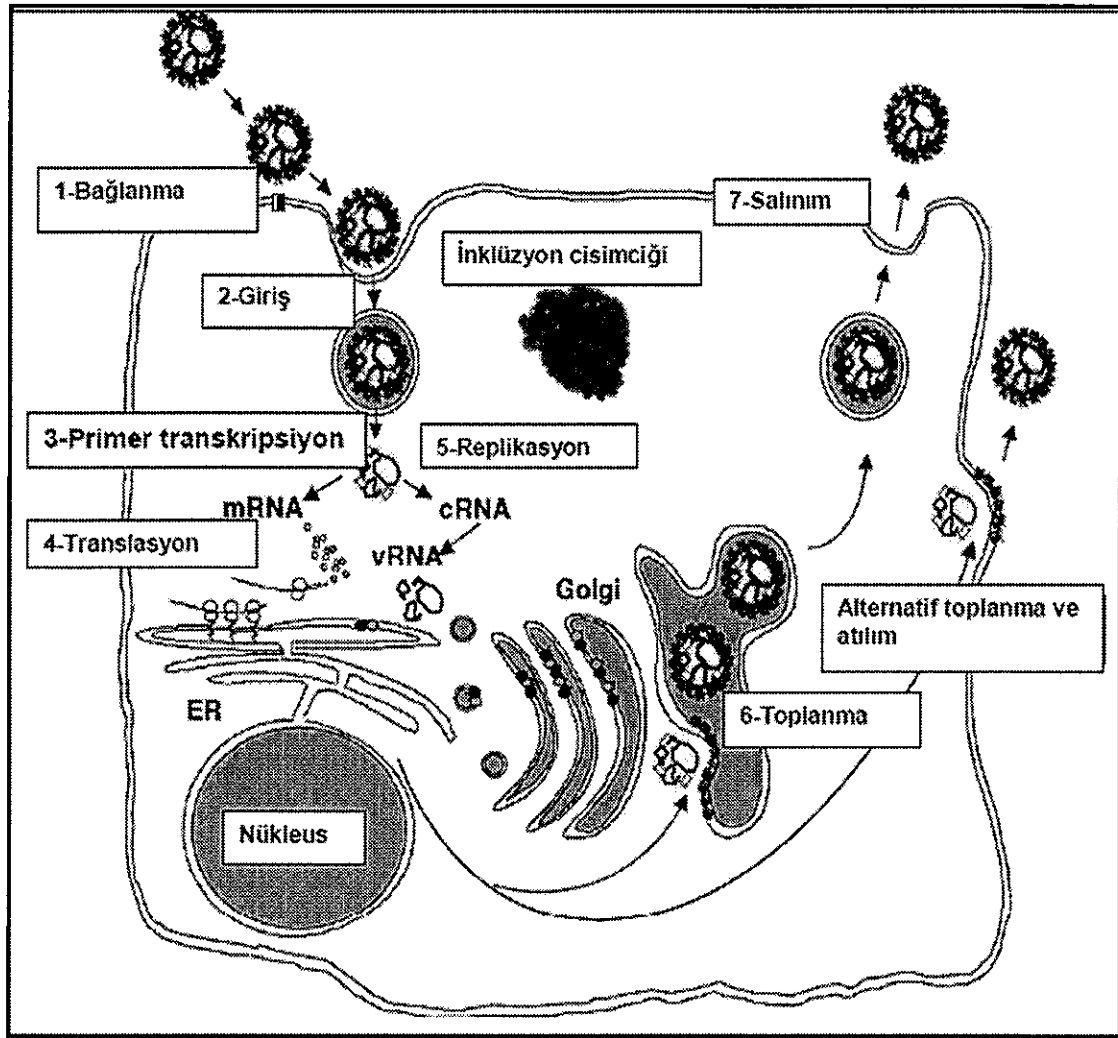
Virüse ait glikoproteinler, hedef hücrelerin reseptör bölgelerinin tanınmasından sorumludur. Hedef hücrelerin reseptörlerini tanıyarak hücre yüzeyine bağlanan virüs endositozla hücre içine alınır. Replikasyon sitoplazmada meydana gelir. Olgunlaşmış virüsler (virionlar) endoplazmik retikulum üzerinden golgi bölgesindeki sitoplazmik veziküller içinde tomurcuklanırlar ve bunlar virüsü salmak için sitoplazma membranı ile birleşmektedir [22, 36, 37].

KKKAV'nin enfeksiyon döngüsü 7 önemli aşamada gerçekleşmektedir (Şekil 2.

3). Bu aşamalar:

1. Bağlanma: Viral proteinlerin konakçı reseptörleri ile etkileşimi ve bağlanma.
2. Giriş: Reseptör aracılı endositozla konak hücreye giriş.
3. Primer Transkripsiyon: Endozomal membran viral membran füzyonu ile endositik veziküllerin asidifikasyonu sonucu kapsid soyulması. Konakçı hücrede türeyen primerler ve virionla ilişkili polimeraz kullanımı ile genom kalıplarından viral komplementer RNA (cRNA), erken RNA (mRNA) türlerinin primer transkripsiyonu,

4. Viral Proteinlerin Translasyonu: M segment poliproteininin kotranslasyonel parçalanması ve endoplazmik retikulumdaki Gc ve Gn'nin dimerizasyonu,
5. Genom Replikasyonu: Çift sarmallı genler için kalıp işlevi gören cRNA'nın sentezi, cRNA aracılıklı vRNA replikasyonu ve kapsitle çevrilmesi, mRNA sentezlenmesi,
6. Toplanma: Dış yapının gelişen kısımlarındaki nükleoproteinlerin yerinin belirlenmesi, dimerleşen Gn ve Gc'nin golgiye taşınması, glikozilasyon, modifiye edilmiş konakçı membranlarının elde edilmesi.
7. Salınım: Plazma membranı ile virüs içeren sitoplazmik veziküllerin füzyonu ve olgun virionların salınması, daha seyrek olarak bazı hücre tiplerindeki virüslerin doğrudan konakçı hücrenin plazma membranından tomurcuklanarak salınımı [31, 38, 39].



Şekil 2.3. KHK virüsünün enfeksiyon döngüsünün ana evreleri [35]

2.1.4. Vertebralı rezervuarlarda yaşam ve vektör olarak keneler

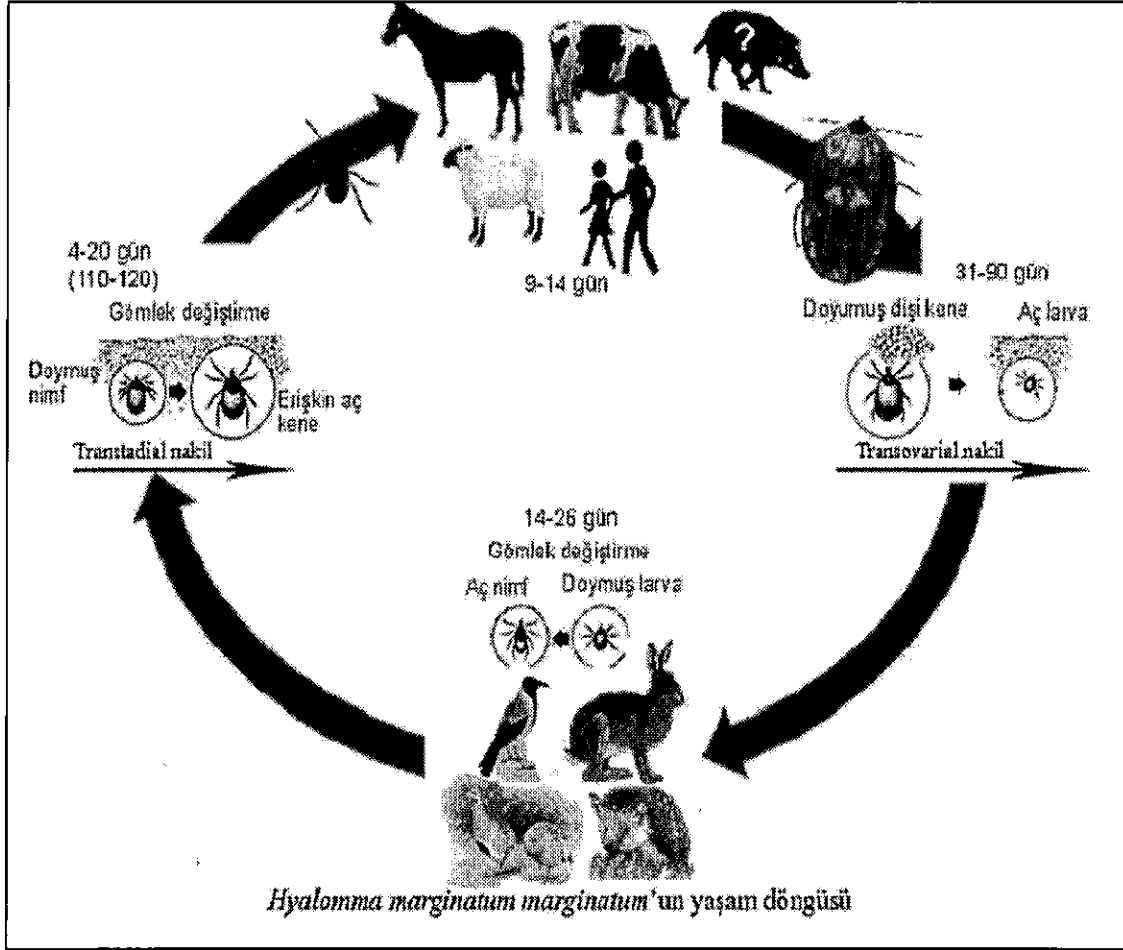
Keneler, *Arthropoda* şubesi, *Arachnida* sınıfı, *Acarina* alt sınıfı, *Ixodidae* üst familyasından olup, *Ixodidae* (Sert Keneler) ve *Argasidae* (Yumuşak Keneler) olmak üzere iki familya adı altında incelenmektedirler [40, 41].

Günümüzde, dünyada kabul edilen 899 (*Argasidae* 185 tür, *Ixodidae* 713 tür, *Nuttal-liellidae* 1 tür) kene türü bulunmaktadır ve bunların yaklaşık %10'u, 200 kadar hastalığın bulaştırılması ile ilişkilidir [42-44].

Keneler dünyanın her bölgesinde görülen kan emici arthropodlardır. Morfolojileri diğer arthropodlardan farklıdır ve vücutları tek parçadan oluşur. Bu arthropodlar 3 mm kadar boyda, kırmızı kahverenginde, yassı ve oval parazitlerdir. Larva döneminde 3 çift, nimf ve olgun dönemlerinde 4 çift bacaklıdırlar. Birçok türde göz bulunmayabilir. Bu durumda gözün bulunduğu yerde ışığa hassas sahalar yer almaktadır. Ancak kenelerde ışığa karşı negatif reaksiyon görülmektedir [45, 46].

Keneler hayvanların kulak kepçesi içinde ve dışında, boyun altında, karın, anal ve perianal bölgeler ile sırt ve kuyruk üzerinde bulunurlar. Kenelerin yaşamlarında 3 dönem bulunur. Bunlar larva, nimf ve olgun dönemlerdir. Hayatlarının her döneminde yaşayabilmek için kan emerler hatta dişiler daha fazla kan emerler. Bu kenelerin çiftleşmesi de kan emme sırasında olup, dişi keneler yumurtalarını taş, toprak ve merada yaprakların altına toplu ve birbirine yapışık şekilde bırakırlar. Kene türüne göre farklılık göstermekle beraber ortalama 3000-15000 arasında yumurta bırakırlar. Yumurtladıktan sonra dişi kene ölür. Yumurtadan çıkan larva 3 çift bacaklıdır. Kan emip büyüdükçe 4 çift bacaklı olan nimfe dönüşür. Kan emip büyümesini tamamladıktan sonra genital organlar olgunlaşır ve kan emerken çiftleşirler. Çiftleşme sonrası dişi kene toprağa düşüp yumurtlama işlemini tamamlar ve böylece yaşam döngüsü devam eder [47-49].

Kenelerin çoğu birden fazla konakta yaşam döngüsünü tamamlar ve yaşamlarının bir döneminde enfekte bir konaktan aldıkları hastalık etkenini daha sonra kan emdikleri bir başka konağa taşıyabilirler (Şekil 2.4) [46, 47, 50].



şekil 2.4. Kenelerin yaşam döngüsü [57]

Ixodidae ve *Argasidae* ailesine üye 31 kene türünün virüsün vektörü olabileceği bildirildiği halde, günümüzde hastalığın başlıca vektörleri *Hyalomma* türleri olarak kabul edilmektedir. *Hyalomma marginatum*, *Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma detritum*, *Hyalomma anaticum*, *Hyalomma turanicum*, *Rhipicephalus bursa* ve *Rhipicephalus sanguineus* türlerinde KKKAV varlığı çeşitli araştırmacılar tarafından kaydedilmiştir [55, 56].

Keneler arasında virüs değişik yollarla aktarılır. Larva veya nimf döneminde patojen ile enfekte konaklardan kan emen keneler aldıkları etkenleri bir sonraki dönemlerine geçirebilir (transstadial bulaşma). Aynı şekilde bazı hastalık etkenleri dişi

kenelerden yumurtalarına ve dolayısıyla yeni larvalara geçer (transovarial bulaşma). Bazı kene türlerinde ise erkek ve dişi kenelerin çiftleşmesi sırasında birbirini enfekte etmesi de görülür (veneral bulaşma). Yabani tavşanlar ve domuzlar virüsün en önemli memeli rezervuarlarıdır. Yerden beslenen kuşlar hastalık etkeninin uzak coğrafyalara yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Virüs doğada fokal olarak kenelerde ve vahşi hayvanlarda bulunmakta, ekolojik dengenin bozulması insanlarda epidemilerin ortaya çıkmasıyla sonuçlanmaktadır [25, 26, 57].

Kenelerin varlığının devam edebilmesi için; etken, duyarlı omurgalı konak, vektör ve uygun çevre koşulları ve bunların sürekliliği gereklidir. İnfeksiyonun süreklilik gösterdiği bu alanlara girildiğinde hastalık riski ile karşılaşılır [25].

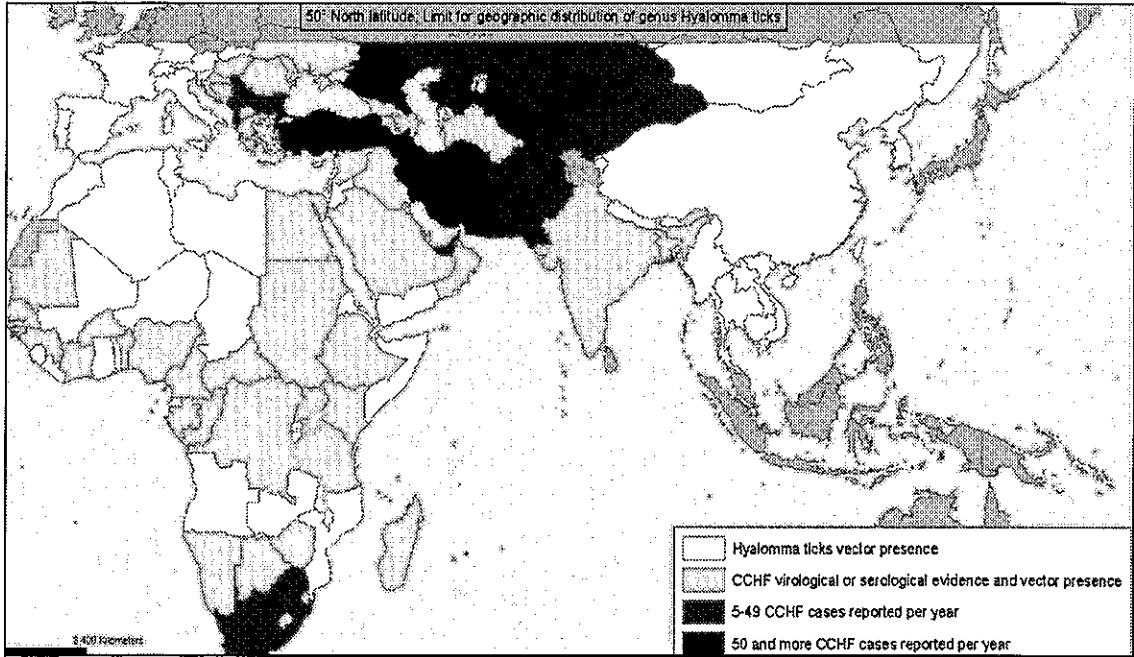
2.1.5. Hastalığın ve Virüsün Epidemiyoloji ve Ekolojisi

Viral hemorajik ateşler; ağır klinik seyirli olabilen, mortalitesi yüksek, ateş ve şiddetli olgularda kanama ve şok ile seyreden bir enfeksiyon hastalığı grubudur. Viral kanamalı ateşler içinde dünya coğrafyasında en yaygın olarak görüleni Kırım-Kongo kanamalı ateşidir. Afrika, Balkanlar, Orta Doğu ile Asya'da 50. paralelin güneyinde 30'un üzerinde ülkede endemik olarak görülür (Şekil 2.5) [27, 28, 30, 35, 58].

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi virüsünün diğer kenelerle bulaşan virüsler gibi çok geniş bir coğrafi alanı çevreleyen bir dağılımı vardır. Kene ile bulaşan virüsler içinde en yaygın coğrafi yayılımı gösterir ve tıbbi önemi olan *Arbovirusler* içinde Dengue Ateşi virüsünden sonra en yaygın olarak gözlenen virüstür [27, 28, 30, 34]. Bilinen ilk salgın 1965 yılında Çin'de meydana gelmiş ve %80 oranında ölüm görülmüştür [59] ancak ayrıntılı bilgi sunulmamıştır. 1970 yılından önceki olguların çoğu Sovyetler Birliği'nden (Kırım, Özbekistan, Tacikistan, Kazakistan, Astrakhan, Rostov) ve Bulgaristan'dan bildirilmiştir [55]. Güney Afrika'da 1960 yılında ciddi ve ayrıntılı bir çalışmanın yapılmasıyla ve ek olarak Kongo, Moritanya, Burkina, Faso, Tanzanya ve Senegal'de ortaya çıkan olguların bildirilmesi ile hemorajik vakalar ilk kez tanımlanmıştır. En çok vaka bildirimini yapılan Afrika ülkelerinden olan Güney Afrika'da 1981 yılına kadar 123 KKKA vakası belirtilmiş, bu vakalardan 27'si (%22) ölüm ile sonlanmıştır [56].

Orta Doğu ülkelerinden Irak, Pakistan, Birleşik Arap Emirlikleri, Suudi Arabistan, Umman Krallığı ve Çin'den önemli sayıda olgu bildirilmiştir. 2000'li

yıllarda Pakistan, İran, Senegal, Arnavutluk, Yugoslavya, Bulgaristan, Türkiye, Kenya ve Moritanya'dan yeni salgınlar bildirilmiştir. Pakistan'da 1975, 1986, 1996, 1998, 1999, 2000 yıllarında KKKA majör epidemilerinin meydana geldiği bildirilmiştir. 1976-2000 yılları arasında Pakistan Sağlık Bakanlığınca bildirilen resmi kayıtlara göre toplam 101 KKKA vakası belirtilmiştir ve bu vakalardan %40'nın hastalık sebebiyle öldüğü bildirilmiştir [58, 59]. Serolojik bulgular Yunanistan, Hindistan, Mısır, Portekiz, Macaristan, Fransa, Benin'den bildirilmesine rağmen olgu rapor edilmemiştir. KKKA Bulgaristan'ında bulunduğu Balkanlarda, Birleşik Yugoslavya'da ve Arnavutluk'ta endemiktir.



Şekil 2.5. KKKA virüsünün coğrafi dağılımı [35]

Türkiye'de ilk kez 2002 yılının ilkbahar ve yaz aylarında başta Tokat, Sivas, Çorum, Amasya, Yozgat, Gümüşhane, Bayburt, Erzurum, Erzincan ve çevresi olmak üzere İç ve Doğu Anadolu bölgelerinin kuzeyi ile Karadeniz bölgesinin güney kesimlerini içine alan geniş bir coğrafyada kene teması öyküsü olan, ateş ve kanama ile seyreden bir salgın dikkat çekmiş, 2003 yılında da hastalığın KKKA olduğu belirtilmiş ve böylece KKKA hastalığının ülkemizde tanınması sağlanmıştır. İleriki zamanlarda Kastamonu, Bartın, Ankara, Çankırı, Bolu, Balıkesir gibi illerde de olguların görülmesiyle hastalığın gözlemlendiği alan giderek artmıştır.

Türkiye’de KKKAV ilk kez Ege bölgesinde Demir Serter ve ekibi tarafından araştırılmış ve serolojik olarak pozitiflik gösterilmiştir [22]. Türkiye’de M segment analizine göre 2 ayrı suşun izole edildiği ve bu suşların Kosova ve Güneydoğu Rusya’da izole edilen suşlarla aynı olduğu rapor edilmiştir. KKKA virüsü 30 civarında keneden izole edilebilmiştir [24, 60].

Doğu Avrupa ve Asya’daki KKKA epidemilerinin genellikle insanlar tarafından oluşturulan çevresel şartlara bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir. Kırım’daki ilk epideminin, İkinci Dünya Savaşı yıllarında kene ile infekte olmuş bölgelerin tarıma açılması nedeniyle oluştuğu sanılmaktadır. Daha sonra eski Sovyetler Birliği ve Bulgaristan’da olan epidemiler ise, ziraatçılık ve hayvancılıktaki değişmelere bağlıdır [61, 4].

Olguların bildirim zamanları dikkate alındığında, hastalığın mevsimsel özellik gösterdiği dikkat çekmektedir. Eski Sovyetler birliğinde haziran ve temmuz aylarında vaka sayısının en yüksek sayıya ulaştığı gözlenmiştir. Güney Afrika Cumhuriyeti’nde olguların çoğu ilkbahar ve sonbaharda gözlenmektedir. Ilıman alanlarda KKKA vakaları, kene aktivitesinin yüksek olduğu ilkbahar ve sonbaharın başlarında görülmesine rağmen tropikal ve subtropikal alanlarda bölgesel sıcaklık ve nem oranına bağlı olarak çeşitli mevsimsel modeller göstermektedir. Kışın ortalarında hatta ocak ayında bile hastalığın ortaya çıktığı saptanmıştır. Özellikle sıcak havalarda kene popülasyonunda artış olduğu, hastalığın arttığı ve soğuk havalarda ise KKKA hastalığının azaldığı gösterilmiştir. Kuzey yarımkürede, ısının baharda artması ile *H. marginatum*, özellikle nisan ve mayıs aylarında aktive olmaktadır. İmmatür aşamadaki keneler de mayıs ile eylül arasında aktive olurlar [22].

Ülkemizin coğrafi ve iklim yapısı kenelerin yaşamaları için oldukça elverişli bir bölgedir. Son zamanlarda bu hastalığın artışında rol oynayan etmenler arasında iklim ve çevre koşullarındaki değişiklikler (günlük 5-9 °C sıcaklık artışı olduğunda enfeksiyon riski artmaktadır), küresel ısınmaya bağlı tarım alanlarında, bitki örtüsünde ve ormanlık alanlardaki değişiklikler, vahşi hayvan popülasyonundaki değişiklikler (yaban domuzu artışı vs), keneleri taşıyan hayvanların kene kontrolü yapılmadan ticaretinin yapılması veya gıda kontrolünün yapılmaması gibi faktörler yer almaktadır. Ayrıca göçmen kuşlar

da kenelerin ülkeler arasında taşınmasında ve enfeksiyonun yayılmasında rol oynamaktadır.

2.1.6. Bulaşma

Zoonotik bir hastalık olan KKKA'nın insanlara bulaşması, enfekte kenelerin ısırmasının yanı sıra enfekte hayvanların kan ve dokularıyla temas sonucu oluşmaktadır. Ayrıca akut hastalık dönemindeki hastaların kan ve enfekte sekresyonları ile mukozomal veya bütünlüğü bozulmuş deri temasıyla da olmaktadır [62]. En sık karşılaşılan bulaş yolu enfekte kenelerin (özellikle *Hyalomma marginatum*) deriye tutunmasıdır [63].

Diğer kene kaynaklı zoonotik ajanlar gibi, KKKA virüsü genellikle kene-vertebrali-kene döngüsünde doğada dolaşır. KKKA virüsünün temel rezervuarı domuz, tavşan, fare gibi vertebrali yabancı hayvanlardır. KKKA virüsü sığır, keçi, koyun, tavşan, kirpi, fare, domuz gibi pek çok evcil ve vahşi hayvanlardan izole edilmesine rağmen virüsün hayvanlarda klinik olarak hastalığa neden olduğuna dair herhangi bir bulguya rastlanmamıştır [23]. Bulaşma en sık enfekte keneler tarafından ısırılma ile oluşur. Henüz ergin olmamış *Hyalomma* soyuna ait keneler küçük omurgalılarından kan emerken virüsleri alır, gelişme evrelerinde muhafaza eder; ergin kene olduğunda da hayvanlardan ve insanlardan kan emerken bulaştırır [62]. Birçok evcil ve vahşi omurgalı KKKA virüsü ile enfekte olmasına rağmen, kuşlar KKKAV'ye karşı dirençlidir [23]. Kuşların göçleri esnasında taşınan virüsün kıtalar arasında yayılıma neden olabileceği düşünülmekle beraber kesin veri bulunamamıştır. KKKAV'nin, kuşlar veya kuş paraziti kenelerce taşındığına dair kesin bilgi olmamakla beraber Balkanlardan göçen kuşların Türkiye'de 2002 yılındaki salgına sebep olduğu düşünülmektedir [64, 65].

Omurgasızlar arasında virüs sadece kenelerde görülmüştür. Virüs kenelerde transstadial (larvadan nimfe, nimfden erişkine) veya transovarial (anneden yumurtaya) geçmektedir. Virüs kenelerde ömür boyu (1-1.5 yıl) hatta nesiller boyu (transovarial + transstadial geçiş) kalmakta ve çoğalabilmektedir [66].

KKKA virüsü vertebralılardan sadece insanlarda hastalık oluşturabilmektedir ve belirtili enfeksiyonun belirtisiz enfeksiyona oranı bilinmeyip %20 olarak tahmin edilmektedir [4].

KKKA hastalığı, hastalardan hasta yakınlarına ve sağlık çalışanlarına hasta kanyla temas edilmesi veya nozokomiyal yolla bulaşmaktadır. Nozokomiyal epidemilerin; ağır kliniği olan olguların kan ve/veya kanlı sekresyonlarıyla doğrudan temas ve hava yoluyla oluşabileceği açıktır. 1960'larda Bulgaristan'da görülen bir epidemide sağlık çalışanları arasındaki nozokomiyal salgında mortalitenin %40'larda olduğu bildirilmiştir [67, 68, 69]. Ayrıca Suudi Arabistan, Irak, Dubai, Güney Afrika Cumhuriyeti ve İran'dan da nozokomiyal bulaş bildirilmiştir [30, 70, 71]. KKKA virüsünün nozokomiyal bulaşında en tehlikeli durumlar gastrointestinal kanamaya müdahale ve acil cerrahi gerekli hastalardır [72]. Hastane çalışanlarında virüs ile temas sonrasında Amerikan CDC (Centers for disease control and prevention) örgütü tarafından profilaktik tedavi verilmesi önerilmektedir [73, 74].

2.1.7. Risk faktörleri

KKKA hastalığı için risk altındaki meslekler; çiftlik çalışanları, çobanlar, kasaplar, mezbaha çalışanları, et ve et ürünleri işleyen ya da satan market işçileri, hayvancılık ile uğraşanlar, veterinerler, hasta hayvan ile teması olan ve akut hastalarla temas olasılığı bulunan endemik bölgede görevli sağlık personeli, askerler ve kamp yapanlar olarak sayılabilir [28, 62, 75].

2.1.8. KKKA hastalığının patogenezi

Viral kanamalı ateşlerin patogenezi benzerdir. Patogenezin anlaşılması, tedavinin planlanması için gereklidir. Son zamanlarda yapılan çalışmalara rağmen viral kanamalı ateş hastalıklarının patogenezinin özgül mekanizmaları tam olarak anlaşılammıştır. KKKA'nın temel patogenezi moleküler seviyede karışık olup, yeterince aydınlatılamamıştır. KKKA'nın patogenezinin tam olarak açıklanamamasının sebepleri: KKKA enfeksiyonu sporadik olarak, klinik uygulamaların yeterli olmadığı yerlerde oluştuğu için enfeksiyondan ölen olgulara tam otopsi yapımını engellemektedir. Diğer faktörler ise virüs kontrolünde biyogüvenlik düzeyi -4 olan (Biosafety level 4=BSL-4) laboratuvarlara gereksinim olması ve hastalığın hayvan modellerinin olmamasıdır. Bu nedenle, KKKA patogenezi hakkındaki kısıtlı bilgiler de çoğunlukla kan testlerinden, otopsilerden ve hastaların karaciğer biyopsilerinden elde edilmektedir [23].

VKA'larda hastalığın iyileşmesi için vireminin kontrol edilmesi önemlidir. Virüs konağa deriden kenenin kan emmesi esnasında verildiğinde deri ve deri altı dokuları ile bölgesel lenf dokusundaki bölgesel replikasyonun akabinde kısa bir viremi ile karaciğer, lenfoid dokular, kaslar ve bağ dokusu gibi önemli organlara yayılmaktadır. Buradaki ikinci replikasyondan sonra ikincil viremiyi meydana getirmektedir [76, 77]. Viremi kontrol edilemediğinde Ebola kanamalı ateşi, Lassa ateşi ve Rift vadisi ateşinde olduğu gibi KKKA'da da ölüm kaçınılmazdır. VKA'larda bağışıklık sistemi hastalığın iyileşmesi için önemlidir. KKKA hastalığında yüksek viremi ölüm ile ilişkili bulunmuştur. KKKA nedeniyle ölen vakalarda ve ağır olgularda bağışıklık cevabı bozulmuştur. Virüs, kontrolsüz replikasyon ve sistemik yayılıma neden olacak şekilde immün yanıtı bloke edecek birçok değişik yol kullanmaktadır [78]. Makrofajlar ve dendritik hücreler (DH), KKKA enfeksiyonunun her evresinde önemli rol oynamaktadır. Bunlar proinflamatuvar sitokinler ile kemokinleri salarak adaptif immün yanıtın başlatılmasını ve kontrolünü de etkilemektedirler [79, 80]. KKKA hastalığından ölen hastalarda antikor yanıtının da yetersiz olduğu bildirilmiştir [81, 82].

Hemofagositik sendrom KKKA olan hastaların %50'sinde saptanmış olup özellikle de ciddi kanaması olan hastalarda gösterilmiştir [64, 83, 84]. Hemofagositik sendrom, monosit ve makrofajların hiperaktivasyonu ile ilişkili nadir görülen ciddi bir hastalık olup, kan hücrelerinin aşırı tüketimiyle sitopeniye neden olmaktadır [84-86]. Ölümcül olgularda, inflamatuvar mediatörler önemli rol oynamaktadır. *İnterlökin-6 (IL-6)*, *IL-10*, *IL-12* ve tümör nekrozis faktör- α (*TNF- α*) gibi sitokinlerin KKKA nedeniyle ölen hastalarda yaşayan hastalara göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [87, 88].

Yapılan çalışmalarda KKKA patogenezinde antikor yanıt yetersizliği ve viral yük dışında endotel hücrelerin, immün cevabın ve pıhtılaşma yolağının önemli görevleri olduğu açıklanmıştır [86, 87].

VKA meydana getiren virüsler genel olarak çok sayıda hücre tipini enfekte ederler. KKKA'da virüsün esas hedef hücreleri monositler, endotel hücreler ve hepatositlerdir. İmmünohistokimyasal ve benzeri çalışmalarda KKKA tanılarının endotel hücrelerinde virüs gösterilmiştir. Patogeneizde endotel enfeksiyonu en önemli basamaktır. Endotel iki şekilde hedeflenir:

- 1) Dolaylı olarak viral veya virüsün yönlendirdiği konak kökenli faktörlerin endotel aktivasyona ve disfonksiyona yol açması ve/veya
- 2) Doğrudan virüsün enfeksiyonu ve endotel hücreleri içinde çoğalması [89].

Virüsün etkisi ile salınan proinflamatuvar sitokinler damar endoteli, hedef hücreler ve dokularda inflamatuvar immün yanıtı neden olur. Endotel hasarı trombosit agregasyonu ve degranülasyonunun stimülasyonu ile intrensek koagülasyon kaskadını aktive ederek hemostatik yetmezliğe katkıda bulunur. Gerçekten de ölen olgularda hastalığın erken evrelerinden başlayarak koagülasyon bozukluğunun göstergeleri vardır. Dissemine intravasküler koagülasyon (DİK) hastalığın erken bulgularından biridir. Ölen hastalarda anlamlı olarak daha belirgin DİK saptanmıştır [87]. Hemostazın bozulması; endotel hücreleri, trombositler ve/veya koagülasyon faktörlerinin disfonksiyonu sonucunda gelişir. DİK pek çok VKA'da öne çıkar.

Trombositopeni ile VKA sendromunda sıklıkla karşılaşılır. Özellikle ölümcül seyreden olgularda erken dönemde şiddetli trombositopeni gözlenmektedir. Trombositopeni, trombosit üretiminde azalma ya da trombosit yıkımı ve endotel hasarı sonucu oluşmaktadır. Trombositopeni, KKKA'nın ısrarcı özelliğidir ve trombosit sayısının 20.000 altında olması kötü prognozun bağımsız risk faktörüdür [90]. Kemik iliği hipoplazisinde sekonder azalmış trombosit üretimi veya artmış trombosit tüketimi trombositopeninin nedenidir [91].

Plazma koagülasyon faktörlerinin azalmış olması ya DİK'e bağlı tüketimden ya da karaciğer hasarına bağlı üretim yetmezliğinden olmaktadır [91]. Klinik pratikte uzamış protrombin zamanı (PT) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) değerleri ve yüksek international normalized ratio (INR) seviyeleri ile kendini gösterir. Hastalığın ciddiyeti hemostatik bozuklukların derecesiyle kuvvetli olarak ilişkilidir [90, 92-94]. KKKA'da kemik iliği incelemelerinde hematopoetik öncül hücrelerinin fagositozu (hemofagositoz) ve kemik iliği hipoplazisi gözlenmiştir [62].

Kanda kompleman sisteminin aktivasyonu ile birlikte immünkompleks oluşumu ile ilgili semptomlar bulunur ve bu şekilde kapiller yatak hasar görüp, renal ve pulmoner yetmezlik oluşabilir [83, 92]. İmmünkomplekslerin, komplemanın C3a ve C5a fragmanlarını aktive ederek vasküler hasar meydana getirdiği saptanmıştır. Bu

fragmanlar aynı zamanda mast hücreleri, bazofiller ve trombositlerden vazoaktif aminlerin salınımını yaparlar. C5a aynı zamanda monositlerden *IL-1*, *IL-6*, *IL-8* ve *TNF* salgılanmasını sağlar. Salgılanan *IL-1* ve *TNF* ile endotel hücrelerinden fibrinolizin baskılanması için plazminojen aktivatör inhibitör (PAI) ve dıştan gelen (ekstrinsik) koagülasyon yolağının başlaması için de doku faktörü serbest kalır. Sonuçta vasküler hasar ve permeabilite artışıyla damar içi koagülasyon şiddeti artar. Endotel hasarı döküntüye sebep olabilir ve trombosit birikimi ve degranülasyonu ile intrinsik koagülasyon mekanizmalarını aktive edebilir [92].

Plazma koagülasyon faktör sentezinin bozulması ise karaciğer disfonksiyonunun sonucudur. Karaciğer çoğu koagülasyon faktörünün sentez yeridir. KKKKA'da karaciğer fonksiyon bozukluğu özellikle hastalığın geç döneminde hemostazın bozulmasına katkıda bulunmaktadır [82]. Hastalıkta oluşan karaciğer hasarının doğrudan viral sitopatik etkiye bağlı olduğu anlaşılmaktadır [81]. KKKAV'nin temel replikasyon bölgeleri olan karaciğer ve dalakta belirli histopatolojik değişiklikler olmaktadır. Karaciğerin KKKKA virüsü amplifikasyonunda önemli bir rol üstlenmesinden dolayı hepatositler de hızlı bir şekilde yüksek titrelere ulaşır [95, 96].

Hayvan modellerinde ve otopsilerde yapılan immünohistokimyasal çalışmalar; Kupffer hücreleri, hepatik endotelyal hücreler ve hepatositlerde enfeksiyonu göstermiştir. Değişen derecelerde hepatoselüler nekroz, Kupffer hücrelerinde hiperplazi, yağlı değişiklik ve portal alanda mononükleer infiltrasyon mikroskopik bulgulardır [81]. Genellikle hepatosit nekrozu birçok odakta, hafiften şiddetliye değişen oranda, az ya da çok inflamatuvar infiltrasyon şeklinde görülür [81, 95, 97]. Nekrotik alanlar hemoraji ile karakterizedir ve hepatositlerin eozinofilik değişimi ve councilman cisimcikleri ile ilişkilidir [81]. Ek olarak; nekrozun genişlemesi, mortalite için prognostik faktör olan karaciğer enzimlerinin alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) yükselmesiyle ilişkilidir [81, 90-94, 93]. Steatoz, yağlı değişiklik, hepatositte şişme, intraselüler ödem ve hemoraji diğer viral hemorajik ateşlerde de gösterilmiştir [99-101].

Dalak, virüs için bir diğer önemli hedeftir. Dalaktaki patolojik bulgular; karyoretik artıklar, splenosit nekrozu ve dilate sinüsoidlerin eşlik ettiği belirgin splenik lenfoid apoptozistir [95, 96]. Endotelyal hücreler de etkilenmiştir. Enfeksiyon;

hemoraji, ödem ve/veya inflamatuvar infiltratlar olmaksızın nekrozdan oluşmaktadır [78, 81, 97, 102]. Makroskopik bulgular; serozal peteşilerin olduğu renksiz karaciğer ve dalaktır [100]. Diğer dokulardaki farklı bulgular ise intertisyel pnömoni ve intestinal hemorajidir. Diffüz alveolar hasar ve intraalveolar hemoraji akciğerlerde mevcuttur [81].

2.1.9. KKKA Hastalığının Tanısı

Hastalığın morbidite ve mortalitesinin yüksek olması nedeniyle hızlı bir şekilde tanı konması gerekmektedir. Erken tanı; hem hastanın sonucu hem de nozokomiyal enfeksiyon potansiyeli sebebiyle hastalığın daha fazla yayılımını önlemek açısından büyük önem taşır. Hastalığın erken dönem klinik semptomlarının spesifik olmaması sebebiyle; hastaların öykülerinin alınması, özellikle KKKA yönünden endemik bölgede yaşama, benzer kliniği olan hastalarla veya hasta hayvanların kan ya da dokularıyla temas ya da kene ısırığı varlığı sorgulanmalıdır. Kesin tanı laboratuvar bulgularının yardımıyla konur.

Hastalığın özgül tanısında kullanılan yöntemler: virüs izolasyonu, serolojik tanı yöntemleri ve moleküler tanı yöntemleridir.

Virüs İzolasyonu: Virüsün izolasyonu ve kültürüne yönelik çalışmalar BSL-4 standartlarında olan laboratuvarlarda yapılmalıdır. Akut dönemdeki hastalardan alınan kan örneklerinin ya da kene homojenat sıvılarının yeni doğmuş fareye intrakranial (kafa içi) veya intraperitoneal (periton içi) inokülasyonu ile yapılmaktadır [22, 23].

Serolojik Tanı: Virüse ve virüs antijenlerine karşı kanda oluşan İmmunoglobulin M (IgM) ve İmmunoglobulin G (IgG) yapısındaki antikorların her ikisinin de serolojik olarak gösterilmesi esasına dayanan bir yöntemdir. Hastalığın 6. gününden itibaren alınan kan örneklerinde virüse karşı oluşmuş IgM ve IgG antikorları hızlı bir biçimde enzyme-linked immunoassay (ELISA) ve indirektfluoresans antikor (IFA) yöntemi ile saptanabilmektedir [103, 104]. ELISA, IFA'dan daha duyarlı bulunmuştur ve antikor saptanmasında en sık kullanılan tekniktir [9].

Hastalığın ortalama 7-9. günlerinden itibaren IgM ve IgG antikorları ortaya çıkar, ilerleyen zamanlarda ise titre artar. Mortalite erken oluşabildiğinden özellikle ciddi hastalarda yeterli antikor titresi gelişmeden hastalar kaybedilebilir. Bu yüzden

antikor seviyeleri hastalığın ilk haftasında yardımcı olamaz. IgG antikorları 5 yıla kadar saptanabilecek seviyede kalabilirken, IgM antikorları 4 ay kadar serumda tespit edilebilir [9].

Moleküler tanı: KKKA virüsü Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) yöntemleriyle saptanabilmektedir. Real Time polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle kanda viral nükleik asit aranması, yüksek spesifiklik ve duyarlılıkla birlikte hızlı tanı avantajı sağlamaktadır. Moleküler epidemiyoloji çalışmalarında da başarı ile kullanılmaktadır [105, 106, 107, 108]. Real Time PZR bir saatten kısa sürede sonuç verir ve konvansiyonel PZR testine kıyasla daha yüksek duyarlılık ve spesifikliğe sahiptir [109, 110].

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı genelgesine göre KKKA'da klinik tanımlama, vaka tanımı ve vakalara yaklaşım önerileri aşağıda belirtilmiştir.

Klinik Tanımlama:

- Şikayetler: Ateş, ani başlayan baş ağrısı, genel vücut ağrısı, halsizlik, bulantı-kusma, karın ağrısı, ishal
- Laboratuvar bulguları: Lökopeni, trombositopeni, karaciğer enzimleri ALT, AST, Laktat Dehidrogenaz (LDH) ve CPK değerlerinde yükselme.

Destekleyici Bulgular:

Kanama belirtileri

- Hemorajik ya da purpurik döküntü,
- Epistaksis,
- Hemoptizi,
- Melena,
- Diğer hemorajik semptomlar.

Epidemiyolojik Hikaye:

- Kene ısırığı veya kene ile temas, hayvanlarla yakın temas
- Kırsal kesimde yaşama, son iki hafta içinde kırsal alan ziyareti
- Hayvan dokusu, kanı veya vücut sıvıları ile yakın temas (Kasap, kesimhane çalışanları, veteriner hekimler vb.)

- Hastaların kan veya vücut sıvıları ile temas veya laboratuvarında çalışma
- Hasta çevresinde benzer şikayeti olan başka vakaların varlığı

Vaka Tanımları:

Şüpheli vaka:

- Klinik tanımlamaya uyan ve başka bir nedenle açıklanamayan vaka.

Olası vaka:

- Şüpheli vaka tanımlaması ile epidemiyolojik hikayeye uyan ve destekleyici bulgulardan en az ikisinin bulunduğu vaka veya bir bölgede herhangi bir nedenle açıklanamayan birden fazla vakanın görülmesi halinde, destekleyici bulgular olmasa da klinik tanımlamaya uyan vaka.

Kesin vaka:

- Klinik tanımlamaya uyan ve laboratuvar kriterlerinden en az birisi ile doğrulanmış vaka veya kesin tanı almış bir vaka ile epidemiyolojik olarak bağlantısı olan vaka.

Tanı için laboratuvar kriterleri:

- Kan, vücut sıvısı veya doku örneklerinden virüs izolasyonu veya virüs RNA'sının gösterilmesi
- Virüse özgül IgM antikoru pozitifliği
- Akut ve konvelesan dönem serumlarında virüse özgül IgG titresinde > 4 kat artış
- Hastalığın tanısında RT-PZR gibi moleküler tanı yöntemleri de uygulanmaktadır [9, 111].

2.1.9.1. Ayırıcı tanı

Ayırıcı tanıda enfeksiyöz olan ve olmayan nedenler düşünülmelidir. KKKA ayırıcı tanısı ortaya çıktığı coğrafik bölgeye dayanır. Riketsiyoz, Q ateşi, Brusellozis, Leptospirozis, döne ateş, Lyme hastalığı, viral hepatit, menenjit, sepsis, meningokok enfeksiyonu, Hantavirüs kanamalı ateşi, sıtma, sarı humma, böbrek sendromu ile birlikte kanamalı ateş, Dengue kanamalı ateşi, Derin vadi ateşi, Lassa virüs enfeksiyonu, Ebola, Marburg kanamalı ateşi ve Kyasanur Orman hastalığını içerebilir [22, 23, 71, 112, 113]. KKKA aynı zamanda kemik iliği infiltrasyonunu, tifüs ateşini ve acil cerrahi girişim gerektiren intra-abdominal durumları da taklit edebilir [114, 115].

2.1.10. Kötü Prognoz Kriterleri

Swanepoel ve arkadaşları, hastalığın klinik semptomlarının başlamasından sonraki ilk beş gün içinde elde edilen bazı laboratuvar verilerine dayanarak %90 ve üzerinde mortaliteyle ilişkili laboratuvar eşik değerlerini tanımlamışlardır. Bu laboratuvar verilerinden en az biri varsa ağır olgu, hiçbiri yoksa hafif olgu olarak tanımlamışlardır. Bu kriterler; 10.000/ml'nin üzerinde beyaz küre (BK), 20.000/ml'nin altında trombosit sayısının olması, AST>200 U/L, ALT>150 U/L, aktive PTT 60 saniye ya daha uzun, ya da fibrinojen seviyesi 110 mg/dL veya düşük olmasıdır. Ağır seyirli vakalarda AST ve ALT seviyeleri dikkat çekici ölçüde yüksek bulunmuştur (Tablo 2-1) [22, 92].

Tablo 2.1. Swanepoel ve arkadaşlarının ağır olgu tanımlamada kullandığı laboratuvar Bulguları [92]

Değişkenler	Laboratuvar Bulguları	Referans Değeri
Kan lökosit sayısı ($\times 10^9/L$)	$\geq 10.000/mm^3$	4.0-11.0
Kan trombosit sayısı ($\times 10^9/L$)	$\leq 20.000/mm^3$	150-450
AST değeri (IU/L)	$\geq 200 IU/L$	9-36
ALT değeri (IU/L)	$\geq 150 IU/L$	10-28
aPTT (s)	$\geq 60 s$	25.1-34.7
Fibrinojen seviyesi ($\mu g/dl$)	$\leq 110 \mu g/dl$	200-450

Ergönül ve arkadaşlarının KKKA hastalarında mortalite prediktörlerini araştırdıkları çalışmalarında mortalite prediktörü olarak AST ve ALT için daha yüksek (AST değeri>700 U/L ve ALT değeri>900 U/L) değerlerini önermişlerdir. Lökositöz ölen dört hastadan sadece birinde görülmüştür [94].

Konfüzyon, ense sertliği, birden fazla bölgeden kanama, uzun süren ateş, şuur bozukluğu, splenomegali, hematemez, melena, DİK, böbrek yetmezliği klinik olarak tanımlanmış kötü prognoz kriterleridir [78, 93].

2.1.11. KKKA Hastalığında Klinik

İnsanlar KKKA hastalığının klinik semptomlarının belirlendiği tek konaktır. Kırım-Kongo kanamalı ateşi insanlarda semptom vererek klinik ve subklinik olarak, sporadik vakalar veya salgınlar şeklinde görülebilir [22]. İnsanlarda enfeksiyonun %88'inin subklinik olduğu tahmin edilmektedir [116].

Virüsün oluşturduğu hastalığın klinik tablosu; hafif, orta, ciddi-ağır olmak üzere üç formda görülür. Hastaların yaklaşık %90'ı hafif bir klinik seyir gösterir ve kendiliğinden iyileşir. Klinik olarak; ateş, halsizlik, kas ağrıları, baş ağrısı, iştahsızlık, bulantı, kusma bazen ishal gibi belirtiler olur. Ciddi vakalarda kanamaların yanında şuur değişiklikleri, ajitasyon, konvülziyon, akut respiratuar distres sendromu (ARDS), böbrek yetmezliği, DİK tablosu, koma ve ölüme kadar giden ağır tablolara neden olabilir [94].

KKKA'nın tipik seyri dört evre olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu dönemler; inkübasyon, prehemorajik, hemorajik ve iyileşme (konvelesan) dönemleridir (Şekil 2.6) [22]. En sık klinik bulguları; ateş, bulantı, baş ağrısı, diyare, miyalji, peteşiyal döküntüler ve kanamadan oluşur [117].

İnkübasyon dönemi: Kenenin tutulması ile hastalık gelişmesi arasındaki süredir. Kene ısırığından sonra inkübasyon dönemi, 1-3 gün gibi kısa bir süre olabileceği gibi, 9 güne kadar uzayabilir. İnkübasyon dönemi viral yük ve bulaşma şekline göre değişim gösterir. İnfekte kan veya çiftlik hayvanı dokusu ile etkilenenlerde beş gün ve insan vakalarının kanına temastan sonra 5-6 gündür. Semptomların başlamasıyla hastaneye başvuru arasındaki süre 3.5-5.5 gün arasında değişmektedir. İnkübasyon dönemindeki değişikliklerin ve hastalığın sonuçlarının virüs soyuna veya viral doz gibi diğer faktörlere bağlı olabileceği varsayılmaktadır [23].

Prehemorajik dönem: Prehemorajik dönemde halsizlik, ateş, makülopapuler döküntü, şiddetli baş ağrısı, titreme, fotofobi, ani başlangıçlı sırt ve bel ağrısı bulguları gözlenir [22, 23, 108, 118].

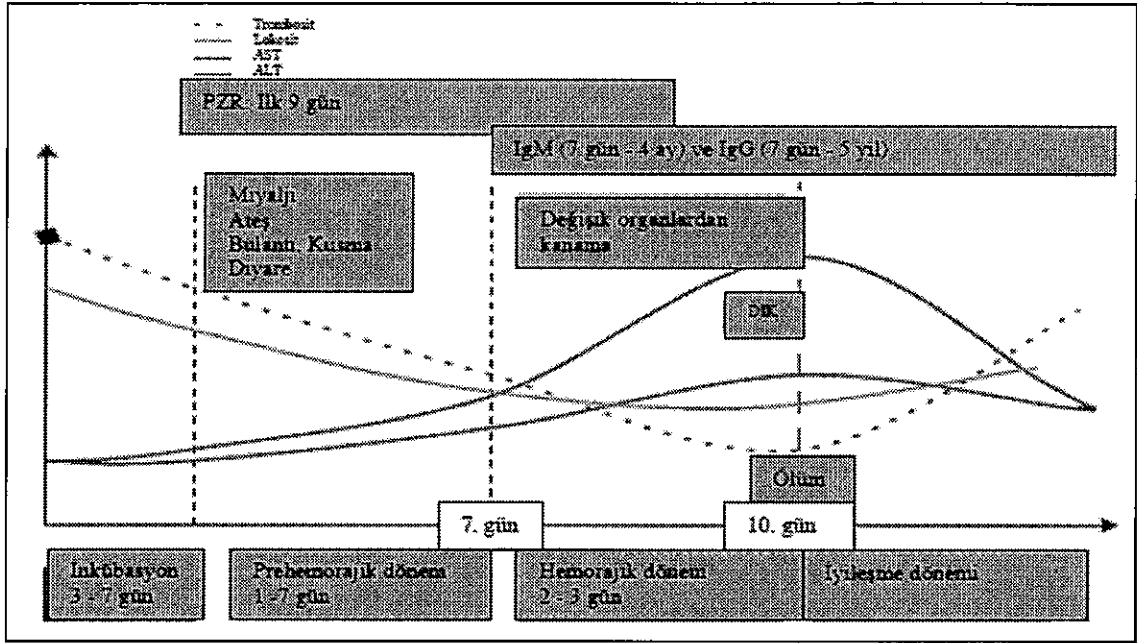
Bazı hastalarda diyare, mide bulantısı, karın ağrısı ve kusma gibi gastroenterolojik bulgular görülebilir. Yüzde, boyunda ve göğüste hiperemi, sklera ve konjunktivalarda kanama gözlenebilir. Prehemorajik dönem 1-7 gün arasında sürmekle

beraber ortalama 3 gün devam eder [22]. Çoğu zaman ilk 5 günde saptanan ateş devamlı veya aralıklı gözlenebilir. Bazı KKKA hastalarında nöropsikiyatrik değişiklikler gözlenmiştir [23]. Mortaliteyi %5- %80 arasında bildirilen yayınlar mevcuttur [22, 54, 108, 118].

Hemorajik dönem: Çabuk gelişen, kısa süren, mukoza ve deride yaygın kanamaların görüldüğü dönemdir. Bu dönem 2-3 gün kadardır ve genellikle hastalığın 3. ve 5. günlerinde başlar. Hastaların büyük bölümünde hastalığın başlamasından sonra 5-7 gün içinde ve hastanede yattıkları sırada kanama gözlenir. Kanamalar müköz membranlar ve derideki peteşiler ile büyük hematomlar arasında değişir. En sık görülen kanamalar, diş eti kanaması, gastrointestinal sistemden hematemez, melena şeklinde kanama, intraabdominal kanama, vajinal kanama, üriner sistemden hematüri, burun ve solunum yollarından hemoptizi şeklinde olanlardır [22, 119].

Oblik kas, çekum gibi nonspesifik kanamalar gözlenebildiği gibi, apandisit taklit eden vakalarda mevcuttur. Ateşli hastada ateşin derecesi ile kanama arasında ilişki bulunamamıştır [22, 94, 115]. Hepatosplenomegali vakaların üçte birinde bildirilmiştir ve hepatit hastalığın seyri sırasında gelişebilir. Hepatomegali oranı Türkiye’de %20-40 oranında rapor edilmiştir [64, 93, 108]. Splenomegali oranı ise Türkiye’de %14-23 oranında bildirilmiştir [23]. Beyin kanaması ve masif karaciğer nekrozu olan vakalarda prognoz çok kötüdür [22].

Konvelesan (iyileşme) dönem: Hastalığı atlatanlarda görülen bu dönem, hastalığın başlangıcından itibaren 10-20 gündür [22, 25, 115, 119]. Hastanede kalma süresinin yaklaşık 9-10 gün olduğu bildirilmektedir. Tam iyileşme süreci 2-6 hafta sürer. Bu dönemde değişken nabız, taşikardi, geçici saç dökülmesi, solunum güçlüğü, kserostomi, zayıf görme, işitme ve hafıza kaybı bildirilmiştir. Bir vakada hepatorenal yetmezlik bildirilmiştir [38]. Hastalık bir defa geçirildikten sonra tekrarlamaz [102, 119].



Şekil 2.6. KKKA'nın klinik ve laboratuvar seyri [22]

2.1.11.1. Laboratuvar bulguları

Trombositopeni KKKA'nın en sık saptanan laboratuvar bulgusudur [22, 23]. Hastalarda anemi, lökopeni veya lökositoz gözlenir. Klinik seyri ağır hastalarda eritrosit sayısında ve hemoglobinde de düşme gözlenir. Aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) ve kreatin fosfokinaz (CPK) değerleri artmıştır. Hastalarda protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanları (aPTT) ve INR (international normalization ratio) gibi kanama testleri uzayabilir. Fibrinojenin değeri akut fazda artar, DİK gelişirse azalır ve fibrin yıkım ürünleri artar. İdrar tahlilinde proteinüri ve hematüri görülebilir, oligüri ve azotemi gelişebilir. Terminal dönemde ARDS, kardiyovasküler kollaps, şok, hepatorenal yetmezlik ve yaygın damar içi pıhtılaşması gelişebilir. Hayatta kalan hastalarda tam kan sayımı ve biyokimyasal testlerin de dahil olduğu laboratuvar testleri yaklaşık 5-9 gün içinde normal değerlerine dönmektedir [22].

2.1.12. KKKA Hastalığında Tedavi

KKKA kendiliğinden iyileşen bir özelliğe sahiptir. Ancak klinik seyri orta ve ağır seyreden vakalarda tedavi gerekebilir. Kırım-Kongo kanamalı ateşi hastalığının tedavisinde üç ana yaklaşım söz konusudur.

1. Destek tedavisi: KKKA hastalığının tedavisinde ana unsur destek tedavidir. Destek tedavisinin ayarlanmasında hastaların vital bulguları ve laboratuvar değerleri yakından takip edilmeli ve desteklenmelidir. Mekanik ventilatör ihtiyacı olan hastalarda yoğun bakım gereksinimi olabilir. Hastalar hemodinamik yönden yakın izlenip sıvı ve elektrolitler eksik ise yerine konmalıdır. Kardiyotonik, vazopressörler ve sedatifler ihtiyaç halinde kullanılabilir [118]. Solunum yetmezliği durumunda mekanik ventilasyon desteği, böbrek yetmezliği geliştiğinde de hemodiyaliz uygulanmalıdır. Ülser profilaksisi ve oral beslenemeyen hastalarda parenteral beslenme desteği sağlanmalıdır.

Hematolojik parametreler yakından takip edilmelidir ve gerektiğinde trombosit sayısı ve pıhtılaşma faktörleri yerine konulmalı, masif kanama durumunda tam kan transfüzyonu yapılmalıdır. Ampirik olarak kan ürünleri verilmez, klinik ve laboratuvar sonuçlarına göre kan ürünü verilmelidir. Trombosit süspansiyonu transfüzyonu; kanaması olan hastalarda ve cerrahi operasyon yapılacaklarda, trombosit sayısı 50.000/ml'nin altında, kanaması olmayan hastalarda trombosit sayısı 10.000/ml'nin altında ise verilmelidir (1-2 U/10 kg) [118].

Taze donmuş plazma (TDP, 15-20 ml/kg) fibrinojen düzeyi 100 µg/dl'nin altında olduğu zaman düşünülmelidir. Taze donmuş plazma yerine, fibrinojen konsantreleri (total doz 2-3 g) veya kriyopresipitatlar (1 U/10 kg) verilebilirse de TDP, dissemine intravasküler koagülasyonda (DİK)'te eksik olan tüm koagülasyon faktörlerini kapsadığından teorik olarak daha avantajlıdır. Vitamin K (ardışık 2 gün, 10 mg) DİK'li hastalarda özellikle altta yatan karaciğer hastalığı mevcut olanlara verilebilir [118].

2. Antiviral Tedavi: KKKA'da etki mekanizması tam olarak bilinmesede günümüzde hastalığın özgül tedavisinde kullanılan tek ilaç ribavirindir. Bu enfeksiyonda RNA virüslerine karşı geniş spektrumlu bir antiviral ajan olan ribavirinin in vitro çalışmalarda hücre kültüründe virüs replikasyonunu engellediği saptanmıştır. Farelerde yapılan deneysel bir çalışmada, ribavirin tedavisinin mortaliteyi anlamlı olarak azalttığı ve yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir [120].

Ribavirin yapı yönünden guanozine benzemesi nedeniyle guanozin ön maddelerinin sentezini bozarak viral replikasyonu engellemektedir. Ribavirin bir guanozin analogu olup hücre içi fosforilasyondan sonra ribavirin trifosfata dönüşerek viral transkripsiyonunun erken fazını inhibe eder. Bazı araştırmacılar oral ribavirinin ağır seyirli olgularda faydasının olmadığını mutlaka parenteral kullanılmasını önermektedir [121].

Pakistan'da bir sağlık merkezinde nozokomiyal yolla bulaşan ve hastalık gelişen üç sağlık çalışanında oral ribavirin tedavisi oldukça başarılı olmuştur ve 48 saat sonrasında tedavi ile klinik ve laboratuvar düzelme gözlenmiştir [122]. Ülkemizde Elaldı ve arkadaşları tarafından yapılan ve ribavirin alan 126 hasta ile almayan 92 hastanın karşılaştırıldığı çok merkezli yarı deneysel çalışmada ise ribavirinin mortalite üzerine etkisinin olmadığı, paradoksal olarak ilk sekiz günde ribavirin alan hastalarda mortalitenin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durumun nedeni olarak karaciğer ve böbreğe toksik olan ribavirinin, KKKA enfeksiyonunun renal ve hepatotoksik etkilerini potansiyalize edebileceği üzerinde durulmuştur [8, 29].

Ayrıca ribavirinin çeşitli viral enfeksiyonlarda kullanımıyla ilgili bazı çalışmalarda ribavirine bağlı pek çok yan etki ortaya çıktığı bildirilmiştir. Hastalarda hipomagnezemi, hipokalsemi, hemolitik anemi gözlenmiştir [121]. İn vitro olarak ilaç denemeleri faydalıdır ancak yenidoğan farelerden başka hayvan modelinin olmaması tedaviyi geliştirme çabalarını engellemektedir.

3. Hiperimmün serum tedavisi: İyileşmiş hastalardan elde edilen serum naklinin uygulaması yararlı olduğu ileri sürülsede, bu konuda yeterli klinik veri yoktur [22, 23]. KKKA tedavisinde hiperimmün serum etkinliği hakkında ilk tecrübe Eski Sovyetler Birliğindeki çiftçilerde görülen salgında edinilmiş ve konvelesan fazdaki hastaların serumlarının akut hastalık döneminde kullanılabileceği belirtilmiştir. Vassilenko ve arkadaşları, Bulgaristan'da 1970'li yıllardan itibaren aşı sonrası sağlıklı donörlerden elde edilen immünglobülinlerin tedavide kullanıldığını ve başarılı sonuçlar alındığını belirtmişlerdir. KKKA tedavisinde hiperimmünglobulin uygulamasının araştırıldığı Kubar ve arkadaşlarının çalışmasında, KKKA enfeksiyonu geçiren sağlıklı donörlerden alınan serumlardan oluşturulan plazma havuzundan elde edilen hiperimmünglobülin,

mortalite açısından yüksek riskli hastalarda kullanılmış ve yüksek riskli grupta yer alan 15 hastanın sağ kalım oranları %86.6 (13/15) bulunmuştur [123].

2.1.13. KKKA'da Korunma Yolları

KKKA'dan korunmak için etkili bir aşı olmadığından, endemik alanlarda yaşayan kişilerin kendilerini korumak için pratik kişisel korunma önlemleri almaları, en önemlisi kene ile temastan kaçınmaları hastalığın önlenmesinde ve kontrolünde en etkin yoldur [23, 124, 125].

Giysilerin ve cildin düzenli olarak kene açısından kontrolü yapılmalı, kene varsa çıkarılmalıdır. Keneler çıkarılırken, kenelerin kusmasına böylece daha fazla virüsün inokülasyonuna neden olacağından kesinlikle kimyasal madde kullanılmamalıdır. Uzun çorap, bot, uzun pantolon giyilmeli ve pantolon çorabın ya da botların içine yerleştirilmeli, uzun kollu gömlekler giyilmeli ve gömleğin alt kısmı bele yerleştirilmelidir [125].

Endemik alanlarda çiftlik hayvanları ve diğer hayvanlarla uğraşan kişiler, viremik hayvan kanı ile temas riski bulunan çalışanlar kendilerini korumak için önlemler almalıdırlar. Bu önlemler; cilde ve giysilere repellent (böceksavar) sürmek, cildin enfekte doku ve kanla temasını önlemek için eldiven ve koruyucu giysiler giyinmektir. Akarisidler ile kene kontrolü en etkin ve akılcı uygulamadır [22, 125].

Bunyavirüs ile enfekte kan ve vücut sıvıları ile direkt temas sonrasında bulaşıcılık oldukça yüksektir. Enfekte kan ve vücut sıvıları ile temas insandan insana geçişten direkt sorumludur. KKKA epidemisi sonrası Türkiye'de sağlık çalışanlarına hava yolu ile bulaş bildirilmemiştir. El hijyeni, eldiven, önlük, yüz- göz koruyucu (veya cerrahi maske ve gözlük) kullanımı gibi standart önlemler korunmak için yeterli olacaktır. Ancak aerosol üreten işlemler öncesi sağlık çalışanlarının N95 veya FFP2 respiratuar maske kullanması önerilir [9].

KKKA tanısı alan ya da şüphelenilen hastalar tuvalet, hasta odası, değişim odası içeren üç bölümden oluşan odalarda izole edilmelidir. Hasta odasına hastaya bakım veren sağlık personeli ve refakatçi dışındaki kişiler alınmamalı, hastaya bakım veren herkes izolasyon önlemleri ile ilgili eğitilmelidir. Hasta için kullanılan tıbbi malzeme ve ekipman mümkünse tek kullanımlık olmalı ya da bu odaya ait olmalıdır. Tekrar

kullanılacak olan aletler uygun şekilde toplanıp, mümkünse oda içerisinde hazır bulunması gereken dezenfektanlarla uygun şekilde yeniden kullanıma hazır hale getirilmelidir. Kontamine aletler önce su ve sabunla yıkanıp, daha sonra 1:100 konsantrasyonda hazırlanmış çamaşır suyu solüsyonlarında bekletilmelidir. Virüs yaygın kullanılan dezenfektanlarla, solventlerle ve kuru ısı (60 derecede 1 saat) ile inaktive olur. Sterilizasyon gerektiren malzemeler otoklavlanabilir ya da 20 dakika kaynatılması viral hemorajik ateş etkenlerini yok etmek için yeterlidir [125, 126].

Tanı amacıyla hastadan alınan kan ve doku örnekleri toplanırken ve yollanırken üniversal korunma önlemleri alınmalıdır. Klinik örneklerin referans laboratuvarlara gönderilirken iç içe üç katlı bir şekilde paketlenmesi gerekir [125, 127]. Klinik örnekler 2. sınıf emniyet kabinine sahip biyogüvenlik düzeyi 3 olan laboratuvarlarda çalışılmalı, virüs izolasyonu ise sadece 4. derece emniyet düzeyi özelliklerine sahip laboratuvarlarda yapılmalıdır

Sağlık çalışanının hastaların kan ve kan ürünleriyle parenteral teması söz konusu olduğu durumlarda 14 gün süre ile BK sayımı ve biyokimya takibi yapılmalıdır [22].

2.1.13.1. Maruziyet sonrası profilaksi

Maruziyet sonrası profilaksi, esasen yüksek riskli kişilerde düşünülmelidir. Bu gruba en iyi örnek, KKKA hastalarının kanı ile kontamine iğne batmasıdır. İnfeksiyona maruz kalan kişi tam kan sayımı ve biyokimya testleri ile takip edilmelidir [128].

Sağlık çalışanları cerrahi prosedürler esnasında oluşabilecek penetran yaralanmalar nedeniyle yüksek risk altındadır. Eğer delici, kesici bir aletle oluşan penetran yaralanma mevcut ise 20-30 saniye %70 alkol sürülmesini takiben bol su ve sabunla yıkanmalı ve 20-30 saniye kadar akan suyun altında tutulmalıdır. Profilaktik ribavirin kullanımı ile hastalığın önlenebileceğine dair yayınlar mevcuttur [68, 106]. Ancak profilaktik ribavirin kullanımının hastalığı önlemeyeceği, hastalığın başlamasını geciktireceğini öne sürenler de vardır [125]. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) de KKKA'lı hastayla temastan sonra ribavirin profilaksisini önermez ve ribavirinin bu endikasyon ile kullanımını FDA'da onaylamamıştır [129].

2.1.13.2. Aşı

Aşı 1974 yılından beri Bulgaristan'da yüksek risk gruplarında kullanılmaktadır. Gözetim verileri; aşının kullanıma girmesinden sonra bildirilmiş KKKA olgularının sayısında dört kat azalma gösterse de, aşının etkinliğine ilişkin veri yayınlanmamıştır [130]. Yakın zamanda, aşı hazırlanması için kullanılan KKKA virüsü suşları genetik olarak belirlenmiştir ve daha sonraki çalışmalar için temel oluşturacağı düşünülmektedir [131]. Olası otoimmün yanıtlar nedeniyle sıçan beyni aşılarının kullanımına ilişkin endişeler mevcuttur. KKKA büyük oranda kaynakların kısıtlı olduğu ülkelerde bulunmaktadır ve araştırmalar çok yavaştır [132].

2.1.14. Biyoterörizm ve Viral Kanamalı Ateşler

Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Allerji ve Enfeksiyon Hastalıkları Enstitüsü tarafından yapılan sınıflandırmada kanamalı ateşler A kategorisinde değerlendirilmişlerdir. Bu kanamalı ateşler, Arenavirüsler (Junin virüs, Machupo virüs, Guanarito virüs, Lassa ateşi virüsü), Bunyavirüsler (Hantavirüsler ve Rift Vadisi ateşi), Flavivirüsler (Dengue), Filovirüsler (Ebola ve Marburg) olarak belirtilmiştir. Ancak, KKKA virüsü C kategorisinde sınıflandırılmıştır. Tüm dünyada kategori C öncelikli patojen olarak bilinmektedir [133, 134].

Centers for Disease Control and Prevention (CDC)'nin potansiyel biyoterörizm listesinde KKKA, Rift Vadisi ateşi ile birlikte B kategorisinde yer almaktadır [135].

Tüm *Bunyaviridae* virüs ailesi, askeri operasyonlarda potansiyel etkili ajanlar olarak kullanılabilirler [67]. KKKA virüsünün aşısının üretilmemesi, kolayca kültüre alınabilmesi, insanlar arasında kolay taşınabilmesi, sağlık personelinin yüksek risk altında bırakması, lokal epidemiler yanı sıra nozokomiyal enfeksiyonlar oluşturabilmesi, onun biyolojik silah olarak kullanılabilme şansını ve önemini artırmaktadır [67].

2.2. KEMOKİNLER

2.2.1. Kemokinlerin Tanımı ve İşlevleri

Kemokin terimi; sitokin ve kemotaksis kelimelerinin birleşiminden türemiş olup, çok küçük molekül ağırlıklı kemoatraktan regülatör proteinlerini tanımlamaktadır.

Enflamasyonda ve enfeksiyonlara karşı konakçı yanıtında lökositlerin dokulara yerleşimi önemli bir adımı teşkil etmektedir. Patologlar lökositlerin kandan dokuya kapiller damar duvarından geçerek ulaştıklarını ve enflamasyon olan dokuda biriktiklerini biliyorlardı. “Diapedez” olarak adlandırılan bu göçün amacının bakteriyi yakalamak, öldürmek olduğu ve bağışıklık sistemi için ne kadar önem taşıdığını Elias Metschnikoff bunu ortaya çıkarana kadar bilinmiyordu. *İnterlökin-8 (IL-8)*’in keşfi ile kemokinlerin lökosit göçünde önemli bir yer tuttuğu ortaya çıkmıştır [136].

1992 yılında lökosit göçü, enfeksiyon hastalıkları ve enflamasyon, anjiyogenezis, hematopoezis ve organogeneziste görev alan bir grup sitokine kemotaktik sitokinlerden esinlenerek “Kemokin” adı verilmiştir [136].

Kemokinler farklı hücre tiplerini aktive eden ve selektif olarak onlarla ilişki içerisinde olan bir polipeptid ailesidir. Kemokinler; lökosit-endotelial hücre ilişkilerinde, T ve B hücre oluşumunda, enflamasyon, enfeksiyon, doku hasarı, immün denetim, allerji, tolerans ve immünitinin meydana gelmesinde, T-B hücre iletişimde ve birincil immün yanıtın oluşmasında, kardiyovasküler hastalıklar ayrıca malign tümör patofizyolojisinde etkin olmaktadır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda 50’ nin üzerinde kemokin molekülü, 20 kadar kemokin reseptörü tanımlanmıştır [10, 11, 136].

Kemokinler, enflamasyonda ve homeostazda lökositlere ve kök hücrelere kemotaksi yaptıran sitokinlerdir [137]. Kemokinlerin lökositlerle olan etkileşimi; iyon akışı, transmembran potansiyeli, integrin aviditesi ve hücrede şekil değişikliğinin yanı sıra lizozomal enzimlerin sekresyonu, süperoksit anyonlarının oluşumu gibi birçok hücrel ve biyokimyasal tepkimelerin başlamasını sağlar. Kemokinler; heparin bağlayan proteinlerdir ve lökosit migrasyonunu düzenlemekte bunun yanında anjiyogenez ve lökosit degranülasyonu gibi süreçlerin de gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır [136]. Kemokinler ayrıca; dendritik hücre fonksiyonlarında, T hücre farklılaşması ve fonksiyonlarının sağlanmasında, efektör T hücre cevabı ve inflamatuvar hastalıklarda, mukozal immünitide, embriyolojik gelişimin düzenlenmesinde, lenf organ gelişiminde, transplant rejeksiyonunda ve HIV-1 virüsünü de içeren çeşitli virüsler tarafından konakçı immün cevabı baskılayan olaylarda rol oynamaktadırlar [10, 11, 136].

2.2.2. Kemokinlerin Moleküler Yapısı

Kemokinler 8-10 kilodalton (kDa) ağırlığında, %20-70 oranında aminoasit dizilimlerinde homoloji gösteren proteinlerdir. Kemokinler G-proteini çiftli reseptörler ve yedi transmembran bölgesi (hidrofobik) reseptörler ailesindedir [138-140]. Yapılarında bulunan sistein (cystein) rezidülerinin bulunduğu molekülün yerleşim pozisyonlarına göre alt gruplara ayrılmaktadırlar [140].

Moleküldeki sistein (C) aminoasidinin konumuna göre; CXC, CC, XC, CX₃C ve CX şeklinde 5 alt gruba ayrılırlar [141]. Tüm kemokinler; en azından üç beta tabakası (β 1-3) ve C-terminal alpha heliks yapısı açısından benzerdir. Alfa (α) ve beta (β) kemokinler, yapılarında 4 sistein bulundurmakta olup kemokinlerin en büyük grubunu oluşturmaktadırlar [142].

Alfa kemokinler, amino terminal ucundaki iki sistein arasında bir amino asit bulunduğu için CXC (Cysteine-X amino asit-Cysteine) kemokinleri olarak adlandırılırlar. Beta kemokinler ise uçtaki sisteinler yanyana oldukları için CC-kemokinler (Cysteine-Cysteine) olarak tanımlanırlar. Kemokin ailesinin hücreler üzerinde bağlandıkları 20 kadar kemokin reseptörü tanımlanmıştır. Kemokin reseptörleri G-protein bağlı türde hücre içi sinyal ileten yapılardır. Kemokinlerin uygun reseptöre bağlanması sonucunda sinyal iletimi ile uyarılan hücreler; doku zedelenmesi, inflamasyon veya gerek görülen bölgeye migrasyon yapmak üzere harekete geçerler [11, 12].

CXC kemokin ailesi olarak da bilinen alfa kemokin ailesinde N terminaline yakın 2 sistein aminoasidi farklı bir aminoasit tarafından ayrılmıştır. Bu kemokinin kromozomu 4q12-21 üzerindedir. Bu grupta yalnızca SDF-1 α (Stromal cell derived factor) 10 kromozomundadır. Alfa kemokinler nötrofillere etki ederken lenfositlere karşı etki göstermezler. CC kemokinlerde (beta kemokin) alfa kemokinlerden farklı olarak N terminaline yakın 2 sisteini ayıran aminoasit yoktur. Beta kemokin geni 17q 11.2-12 dedir. Sadece *MIP-3 β* (Macrophage inflammatory protein) kromozomu 9'da, *MIP-3 α* /*MIP-3 β* (liver-and activation-regulated chemokine) da kromozom 2'dedir. Beta kemokinler de kendi içinde iki alt gruba ayrılır. Monocyte chemoattractant protein (*MCP-5*) ve eotaksin içeren *MCP-eotaksin* ailesi ve diğer beta kemokinler olarak 2 alt gruba ayrılır. CC kemokinler ise genellikle nötrofillere karşı etki göstermezken;

monosit, eozinofil, bazofil ve lenfositlere değişik derecelerde etki ederler [10, 11, 136].

C kemokin olarak adlandırılan Lenfotaktin tek sistein içerir, 1. kromozomda 1q.23 bölgesinde konumlanır. CX₃C kemokin ise Fraktalkin veya Nrotaktin olarak adlandırılmaktadır ve geni 16. kromozomda konumlanmaktadır [136].

Alfa kemokinler N terminallerinde glutamikasit-lösin-arjinin (Glu-Leu-Arg) dizilimi gösterenler (ELR kemokinler) ve göstermeyenler (non-ELR kemokinler) olarak 2 alt gruba ayrılırlar. Glu-Leu-Arg diziliminin eksikliği nötrofillere karşı olan etkilerinin zayıf olmasına sebep olur. Bu grupta *PF-4* (Platelet factor), *IP-10* (*Gamma interferon inducible protein*) ve *MIG* (Monokin induced by interferon gamma) yer alır. *PF-4*'ün N terminali Glu-Leu-Arg olarak değişirse *IL-8* reseptörlerine bağlanabilir ve nötrofillere karşı güçlü etki gösterir [11]. Kemokinlerin bazılarının hedef hücreleri ve biyolojik aktiviteleri tablo 2-2'de gösterilmiştir [126].

Beta kemokinleri RANTES (Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted) T memory hücrelerinin bu kemokine en yüksek afiniteyi göstermesiyle birlikte; RANTES T memory hücrelerinin, monositlerin, bazofillerin, eozinofillerin, NK hücrelerinin, dendritik hücrelerin ve mast hücrelerinin migrasyonunu düzenler [11].

RANTES sadece *CCR5* ile değil aynı zamanda *CCR1*, *CCR3* ve *CCR4* gibi G-proteini ile kenetli diğer çeşitli reseptörler ile etkileşerek hücre gne aracılık eder. RANTES fibroblastlar, T-lenfositler, monositler/makrofajlar ve epitelyal hücreler tarafından, bir hücrel hasar sinyali olan *TNF-* veya T hücre aktivasyonu gibi çeşitli faktörlerin uyarısından sonra saatler içerisinde kısa sürede üretilir. Ayrıca HCV ve diğer virüsler de RANTES ekspresyonunu uyarır [10, 11, 136].

Tablo 2.2. Kemokinler, hedef hücreleri ve biyolojik aktiviteleri [10, 11]

KEMOKİNLER	HEDEF HÜCRE	BIYOLOJİK AKTİVİTELERİ
CXC Kemokin		
ELR		
IL-S	Nötrofil, T lenfosit, bazofil, endotel hücre	Kemotaksis, adezyon, süperoksit, histamin ve granül salınımı, mitogenezis, angiogenezis
GRO-a (MGSA)	Nötrofil, endotel hücre, melanosit	Kemotaksis, adezyon, angiogenezis, aktivasyon
GRO-p (MIP-2 a)	Nötrofil, endotel hücre	Kemotaksis, adezyon, angiogenezis, aktivasyon
GRO-y (MIP-2 p)	Nötrofil, endotel hücre	Kemotaksis, adezyon, angiogenezis, aktivasyon
ENA-7S	Nötrofil	Kemotaksis, aktivasyon
GCP-2	Nötrofil	Kemotaksis
CTPA-III	Fibroblast	Kemotaksis
B-Tromboglobulin	Fibroblast	Kemotaksis
NAP-2	Nötrofil	Kemotaksis
Non-ELR		
Platelet factor-4	Fibroblast, endotel hücre, aktive T lenfosit	Kemotaksis, angiogenez inhibisyonu
IP-10	endotel hücre, NK hücre	Kemotaksis, sitolitik aktivite, angiogenez inhibisyonu
MIG	Aktive T lenfosit	Kemotaksis
SDF-1a	T lenfosit, CD34(+) progenitör, B lenfosit	Kemotaksis
CC Kemokin		
MCP-1	Monosit, memory-T lenfosit, bazofil, NK hücre, hematopoietik progenitörler, dentritik hücre	Kemotaksis, adezyon, süperoksit, histamin salınımı
MCP-2	Monosit, memory-T lenfosit, eozinofil, bazofil, NK hücre	Lökotrien sentezi, araşidonik asit aktivasyonu, histamin salınımı
MCP-3	Monosit, memory-T lenfosit, eozinofil, bazofil, NK hücre, dentritik hücre	Kemotaksis, araşidonik asit aktivasyonu, histamin salınımı
MCP-4	Monosit, T lenfosit, eozinofil	Kemotaksis
MIP-1 a	Monosit, T lenfosit, NK hücre, bazofil, eozinofil, dentritik hücre, hematopoietik progenitörler	Kemotaksis, adezyon, kollojenaz, histamin ve katyonik protein salınımı, tümör sitotoksitesi
MIP-1p	Monosit, T lenfosit, dentritik hücre, hematopoietik progenitörler	Kemotaksis, adezyon, angiogenez inhibisyonu
RANTES	Memory T lenfosit, NK hücre, bazofil, eozinofil, dentritik hücre,	Kemotaksis, adezyon, histamin ve katyonik protein salınımı
Eotaksin	Eozinofil	Kemotaksis

2.2.3. Kemokin Reseptörleri

Kemokinler; hedef hücreler üzerindeki spesifik G-protein eşleşmeli hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak hücre içi sinyali başlatırlar, akabinde de hücre migrasyonu ve aktivasyonunun indüklenmesine neden olurlar. Hücre göçü ve aktivasyonu için bu moleküllerin hücre üzerindeki özgül reseptörlere bağlanması gerekir. Kemokin reseptörleri; kemokin denilen küçük peptidleri bağlayan hücre yüzey proteinleridir. Tüm kemokin reseptörleri membran bağımlı moleküller olup yapılarında 7- transmembran domainleri bulunmaktadır ve G-proteinleri ile çiftler oluşturmaktadır. Kemokin reseptörleri, (G-proteini eşleşmiş) proteinler olup lökositler ve diğer bazı hücreler üzerinde eksprese olmaktadır. Günümüzde insan genomunda bilinen 23 kemokin reseptörü tanımlanmıştır [10, 141, 143].

Kemokin reseptörleri, bağladıkları kemokin ligandlarına göre sınıflandırılırlar: CC, CXC ya da her ikisi. Bazı reseptörler ligand bağlama açısından seçici iken, bazılarının böyle bir özelliği yoktur. Reseptörler hematopoietik ve diğer hücrelerde geniş oranda dağılım göstermişlerdir. Çeşitli insan kemokin reseptörleri gen dizileri ve ürettikleri protein yapılarının benzerliğine göre sınıflara ayrılmıştır. Kemokin reseptörlerinden bazılarının ligand ilişkisi tablo 2-3'de gösterilmiştir. CC ya da beta kemokin reseptörleri heterotrimerik GTP-bağlayan protein bağlantılı reseptör ailesinde bulunurlar. Reseptörlerin hücre içi kısımları hücre sinyalinde görev alırken, hücre dışı kısımlar ise kemokin bağlamada rol üstlenirler. Reseptör ligand etkileşimine G-protein bağlantılı etkileşimler aracılık yapar [141, 144].

Bugüne kadar 7 tane CXC (CXCR1- CXCR7), 10 tane CC (CCR1- CCR10) ve 1 adet de CX₃C (CX₃CR) kemokin reseptörü tanımlanmıştır [143]. Bazı reseptörler tek bir hücrede yoğunlaşmışken (CXCR1 sıklıkla nötrofilde); diğer reseptörler farklı hücrelerde görülürler (CCR2 monosit, T lenfosit, NK hücre, dendritik hücre ve bazofilde). CCR1 ve CCR2 özellikle monositlerde bulunurken; sadece IL-2 uyarımından sonra lenfositlerde belirir [10, 145].

Tablo 2.3. Kemokin reseptör –ligand ilişkisi [10, 11, 141, 143]

Reseptör	Ligand
CXC Reseptör	
CXCR1 IL	CXCL5, CXCL8, CXCL6
CXCR2	IL-8, GRO- α , GRO- β , GRO- γ , NAP-2, CXCL1, CXCL2
CXCR3	IP-10, MIG, CXCL4, CXCL9
CXCR4	SDF-1 α , CXCL12
CC Reseptör	
CCR1	MIP-1 α , RANTES, MCP-3, CCL7, CCL5
CCR2	MCP-1, MCP-3, MCP-5, CCL8, CCL2
CCR3	Eotaksin, RANTES, MCP-2, MCP-3, MCP-4, CCL4, CCL13
CCR4	MIP-1 α , RANTES, MCP-1, TARC, CCL12, CCL22
CCR5	MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, CCL14, CCL15, CCL16
CCR6	MIP-3 α / LARC, CCL20
CCR7	MIP-3 β / ELC, CCL19, CCL21

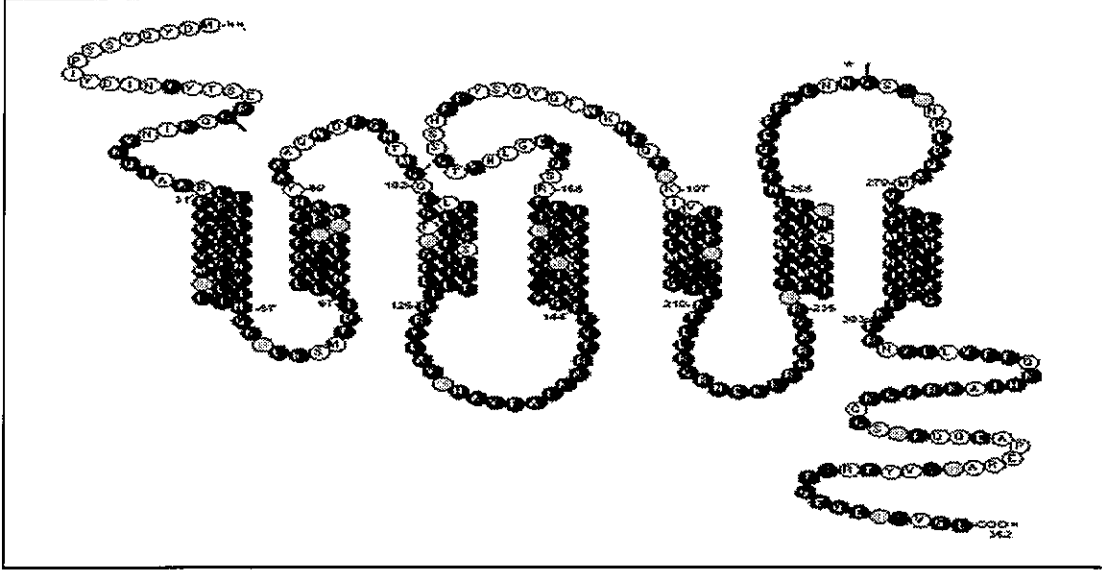
Birçok kemokin reseptörü birden fazla kemokinle bağlanmaktaysa da CC reseptörleri sadece CC kemokinleri, CXC reseptörleri de CXC kemokinlerini bağlamaktadır. Bu reseptör-ligand sınırlılığı muhtemelen primer, sekonder ve tersiyer yapıları benzer ancak kuaterner yapıları birbirinden farklı olan CC ve CXC kemokinlerin yapısal farklılığından kaynaklanmaktadır [10, 11, 136, 146].

Bazı kemokin reseptörleri de nöronlar, astrositler, epitelyal hücreler ve endotelial hücreler gibi non-hematopoietik hücreler üzerinde eksprese olmaktadır. Bu bilgiler kemokin sisteminin lökosit kemotaksisi dışında diğer önemli görevlerinin de bulunduğunu göstermektedir [136]. Kemokinler iki tip sinyal oluşturmeyen molekülle etkileşime girmektedir. Birincisi, eritrosit kemokin reseptör ve DARC (Duffy antigen receptor for kemokin) dir. Bu reseptörün görevinin CC ve CXC kemokinleri dolaşımdan uzaklaştırmak olduğu düşünülmektedir. İkinci tipi ise heparin sülfat proteoglikan grubu moleküllerdir. Heparin sülfat proteoglikanlar ekstraselüler matrikste ve endotelial hücre yüzeyinde kemokinleri tutar ve bölgesel bir yoğunluk farkı

oluşturarak kemokin salınımına neden olur [10, 11, 136].

2.2.3.1. CC- Kemokin Reseptör 5 (*CCR5*)

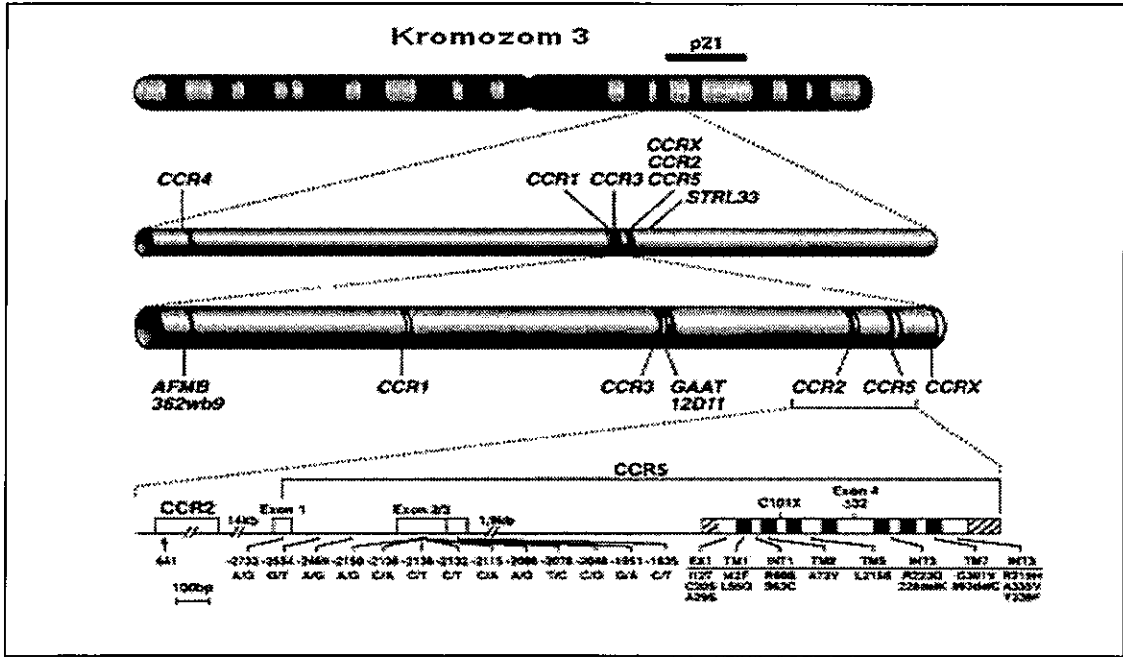
CCR5 yapısal geni 3. kromozomda 3p21.3 bölgesinde çeşitli kemokin reseptörleri kodlayan bir grup genin arasında yer alır (3p21-3p24). *CCR5* geni 352 aminoasitlik diziye sahip olup moleküler kütlesi 40.600 daltondur (Şekil 2.7) [13, 14].



Şekil 2.7. CC kemokin reseptör 5 (*CCR5*) proteininin yapısı ve aminoasit dizisinin organizasyonu [13, 14]

CCR5 proteininin aminoasit dizisi analizinde; G protein çiftli reseptör (GPCR) ailesine üye yedi tane hidrofobik aminoasit grubunun aralıklı yedi transmembran (alfa sarmalına uygun) bir yapıda (yedi transmembran bölgesi reseptör ailesi üyesi), ekstraselüler amino ucu ve intraselüler karboksil ucuna sahip olduğu görülmüştür [13, 147, 148].

CCR5 dört ekzon ve iki intron bölge içermektedir. Ekzon 2 ve ekzon 3 devamlıdır, intronlar tarafından kesilmez (Şekil 2.8) [149].



Şekil 2.8. CCR5 geninde intron ve ekzonlar [149]

Tablo 2.4. CCR5 genine ait baz dizisi (Kaynak: NCBI)

1	CTTCAGATAG ATTATATCTG GAGTGAAGAA TCCTGCCACC TATGTATCTG GCATAGTgtg
	Ekzon 1
61	agtcctcata aatgcttact ggtttgaagg gcaacaaaat agtgaacaga gtgaaaatcc
121	ccactaagat cctgggtcca gaaaagatg ggaacctgt ttagctcacc cgtgagccca
-	
421	ttgaaaagcc ctgtgatctt gtacaaatca tttgcttctt ggatagtaat ttcttttact
481	aaaatgtggg cttttgacta gatgaatgta aatgttcttc tagctctgat atcctttatt
541	ctttatattt tctaacagAT TCTGTGTAGT GGGATGAGCA GAGAACAAAA ACAAATAAAT
601	CCAGTGAGAA AAGCCCGTAA ATAAACTTTC AGACCAGAGA TCTATTCTCT AGCTTATTTT
661	AAGCTCAACT TAAAAGGAAG AACTGTTCTC TGATTCTTTT CGCCTTCAAT ACACTTAATG
721	ATTTAACTCC ACCCTCCTC AAAAGAAACA GCATTCCTA CTTTATACT GTCTATATGA
781	TTGATTGCA CAGCTCATCT GGCAGAGAG GGTGAGACAT CCGTTCCCTT AGAAGAAACT
	Ekzon 2 Ekzon 3
841	ctccaccgta agtaacctct cagctgcttg gectgttagt tagcttctga gatgagtaa
	Ekzon 3
901	agactttaca ggaacccat agaagacatt tggcaaacac caagtgtca tacaattatc
-	
2641	gtaggcaatt aaaacctat tgatgtataa aacagtttgc attcatggag ggcaactaaa
2701	tacattctag gactttataa aagatcactt tttatttatg cacagGTCG AAGAA
2761	
2821	
2881	
2941	
3001	
3061	

Ekzon 4

CCR5 yüzey reseptörünün yoğun olarak bulunduğu hücreler:

- T hücreleri, eozinofil, bazofil, platelet, birincil ve ikincil lenfoid organlarda,
- Lenfosit, monosit/makrofaj alt grupları üzerinde,
- Merkezi sinir sistemindeki hücrelerde (nöronlarda, astrositlerde, dendritlerde, mikroglia),
- Epitelyumda, endotelyumda,
- Vasküler düz kaslarda,
- Fibroblastlarda,
- Erken plasentadaki trofoblastik hücrelerde,
- Epidernal langerhans hücrelerinde,
- Hematopoetik kök hücrelerde eksprese olur.

Ek olarak; *CCR5* geninin immün sistem elemanlarından T yardımcı hücrelerin aktivasyon mekanizması ile de ilişkili olduğu bilinmektedir [150-152].

2.2.4. Enfeksiyon Hastalıklarında Kemokinlerin Rolü

Kemokin reseptörleri iki önemli insan patojeni için koreseptör taşıır. HIV; lenfosit ve makrofajlardaki *CXCR4* ve *CCR5* kemokin reseptörlerine, Plasmodium (PI) ise vivax eritrositler üzerindeki DARC kemokin reseptörüne bağlanır. Bu reseptörler hücreye girişe aracılık ederek viral tropizmi belirler. HIV başlangıçta virionu saran glikoprotein gp 120/41 ile en azından 2 hücrel reseptör (CD4 molekülü ve kemokin reseptörü) ile iletişime girer. HIV-1'in makrofaj tropik suşu (M-tropik suş) *CCR5* kemokin reseptörünü kullanır. T tropik suş ise; T hücrede bulunan *CXCR4* reseptörüne, az bir kısmı da *CCR5*'e bağlanır. RANTES, *MIP-1a* ve *MIP-1b* *CCR5* reseptörüyle etkileşime girerek HIV-1'in M ve T tropik suşlarının hücreye girişine engel olurlar. *CCR5* geninde 32 baz çift delesyonu için homozigot olan bireyler HIV-1 enfeksiyonuna dirençli olurken, heterozigot olan bireylerde ise hastalık ilerleyici seyretmez ve fırsatçı enfeksiyonlara karşı koruyucudur. Ayrıca koreseptör olarak nadiren kullanılan *CCR2*'deki allellik varyantı ve SDF-1 beta geninde de mutasyonu olan kişilerde AIDS'in ilerlemesi gecikmiştir. *CCR2* mutasyonu *CCR5* promotor mutasyonu ile birlikte olabilir; bu durumda enfeksiyona karşı koruyucudur [153, 154, 155].

Bunların yanı sıra, tüberkülozlu hastaların akciğerlerinde muhtemel bronko

alveoler makrofajlardan salınan kemokinler görülmüştür. Bakteriyel menenjitte monosit ve nötrofiller dokuya geçerken, viral menenjitte bu hücrelerin yerini monosit ve lenfositler alır. Bakteriyel menenjitte; *IL-8*, *GRO-alfa*, *MCP-1*, *MIP-1*

alfa ve *IP-10* gibi kemokinler artmış olup, bu artış mononükleer hücre miktarı ile ilişkilidir [153, 156].

Bu araştırmalar bize kemokinlerin bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlara karşı konak direncinde önemli bir rol üstlendiğini kanıtlamaktadır.

2.2.5. Polimorfizm ve Tanımı

Poli ve morfizmos kelimelerinden oluşan polimorfizm, eski Yunanca'da çok şekillilik anlamına gelmektedir. Polimorfizm, herhangi bir populasyonda bir olgu ile ilgili (fenotipik, biyokimyasal, genetik vb.) iki veya daha fazla varyasyonun bulunması durumudur. Polimorfizm; tüm birey düzeyinde (fenotip), proteinlerin ve kan grubu bileşiklerinin varyant formlarında (biyokimyasal polimorfizm), kromozomların morfolojik özelliklerinde (kromozomal polimorfizm), DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları (DNA polimorfizmi) şeklinde oluşabilir [157, 158].

Genetik polimorfizm; bir gen veya DNA bölgesinde birden fazla varyasyonun, yani allelin bulunması olgusudur. Polimorfizmlere bir veya daha fazla bazın diziye katılması (insersiyon), diziden baz eksilmesi (delesyon) veya bir bazın diğeri ile yer değiştirmesi (substitüsyon) gibi bir çok neden yol açabilir. Polimorfizmin farklı habitatlarda adaptasyon imkanı sağlayan allellere yönelik baskıdan dolayı ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bir değişikliğin polimorfizm olarak adlandırılması için bir hastalık nedeni olmaması ve popülasyondaki sıklığının %1'den daha fazla olması gerekir [157, 158].

2.2.5.1. CCR5 Δ 32 Mutasyonu

Bazı bireylerin *CCR5* geninde gözlenen polimorfizmler enfeksiyonun ve hastalığın seyrini belirlerler. Literatürdeki birçok çalışmada, *CCR5* geninde görülen farklı polimorfizmlerin HIV/AIDS ile ilişkisi belirlenmiştir [159, 160].

CCR5 geninde tanımlanmış mutasyonlardan 32 baz çiftlik bir kayıptan kaynaklanan Δ 32 delesyonu, HIV'e direnç sağlama konusundaki en önemli

mutasyondur. Yapılan bir çalışmada, HIV-1 pozitif oldukları saptanan kişilerle, hiçbir koruma önlemi almadan birçok kez cinsel ilişkiye girmiş fakat hastalığa yakalanmamış iki kişi çalışılmıştır. Araştırmacılar çalışılan bu iki kişinin *CCR5* genlerinin kodlama bölgesinde 32 baz çiftlik bir delesyon açısından homozigot olduklarını saptamışlardır [14]. Delesyon nedeniyle, kodlanan protein oldukça kısa ve fonksiyonsuzdur. Aynı mutant alleli başka bir çalışma grubu da bu araştırmacılardan bağımsız olarak bulmuşlardır [144].

CCR5 yapısal geninin kodlama bölgesindeki yaygın genetik varyant, baş kısmı kesilmiş bir protein oluşturmak için açık okuma çerçevesi değişen 32 baz çiftinin (*CCR5* $\Delta 32$) delesyonunu kapsar. İkinci eksternal ilmek kodlayan açık okuma çerçevesinde (ORF) oluşan bu eksilme, 185. amino asitte stop kodon ve 3. ekstraselüler bölgede bir çerçeve kaymasına yol açar. Bu durumda hücre zarında yer almayan tamamen fonksiyonsuz bir protein kodlanır ve reseptör ekspresyonu engellenmiş olur. Bu protein, mutasyon açısından homozigot bireylerde hücre yüzeyine yerleşemez. Kusurlu olan *CCR5* $\Delta 32$ gen ürünü endoplazmik retikulumda yabancı tip *CCR5* içeren oligomerler şeklinde olabilir ve bundan dolayı *CCR5*/ $\Delta 32$ heterozigotlarda hücre yüzeylerindeki *CCR5*'in %50'den fazlasını kaybetmesi mümkündür. $\Delta 32$ delesyonu, HIV-1 enfeksiyonu için önemli olan yardımcı reseptör aktivitesinin yok olmasına neden olur ve bu durumda HIV-1 enfeksiyonuna karşı bir direnç oluşur. *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonunun homozigot görüldüğü kişilerde herhangi bir immünolojik ve biyolojik değişim ya da klinik bir belirti saptanmamıştır [13, 14].

Birçok araştırmada *CCR5* geni çeşitli hastalık gruplarıyla ilişkilendirilmeye çalışılmıştır. *CCR5* geninin romatoid artrit, vitiligoya, multiple sklerozis, iltihaplı bağırsak hastalıklarına, Alzheimer'da da beyin lezyonlarındaki mikroglial hücrelere, HIV-1 ensefalitine, astıma, sedef hastalığına, bakteriyel menenjitte, damar tıkanıklığına, metastatik melanomaya, renal transplantasyon reddine, parkinsona, göğüs kanserine, hipertansiyona, bruselloza, orak hücre anemisine ve Chagas hastalığına karşı direnç oluşturup oluşturmadığı araştırılmıştır [149, 161-168]. Ayrıca *CCR5* $\Delta 32$ genotipindeki kişilerin non- Hodgkin's B hücre habis ve AIDS ile ilişkili lenfoma tümörlerine, HIV-1 ve HIV-2 enfeksiyonuna, Hepatit C, yetişkin sitomegalovirüs (CMV), HIV-1 hastalık gelişimi, koroner arter hastalıkları, pediatrik astım, Crohn's hastalıklarına karşı dirençli oldukları yapılan araştırmalarda saptanmıştır [167].

Hütter ve arkadaşları, *CCR5* $\Delta 32$ delesyonun bağışıklık sistemi ve inflamasyon üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. *CCR5*'in doğal işlevi tam olarak anlaşılammıştır. Bu delesyonun T hücrelerinin inflamasyondaki yanıtlarında bir değişikliğe neden olduğu tahmin edilmektedir. Bu çalışmada Graft Versus Host hastalığı gelişiminde ve immün bağışıklık yanıtında yer alan kritik genlerin *CCR5* ile ilişkisine bakılmıştır. Çalışmada *CCR5* $\Delta 32$ delesyonunu belirlemek için 19 sağlıklı gönüllü kişilerin kemik iliğinden kökenli *CCD34+* hemotopoetik öncül (progenitor) hücreler çalışılmıştır. Çalışmalarında 11 farklı genin global gen ekspresyonuna göre analizlerini yapmışlardır. Yapılan global gen ekspresyonu analizlerine göre 6 genin (*LRG1*, *CXCR2*, *CCRL2*, *CD6*, *CD7*, *WD* ve *CD30L*) bağışıklık yanıt mekanizması ile bağlantılı olduğu bulunmuştur. Bu 6 genin ifadesi ile *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonunun ilişkili olabileceği tespit edilmiştir. Bu verilere dayanılarak *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonunun farklı gen ekspresyonları ile ilişkili ve immün yanıtlarının oluşmasında kritik bir role sahip olduğunu göstermişlerdir [15].

Rouhou ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada HCV enfeksiyonlu Tunuslu hemodiyaliz hastalarında kemokin ve kemokin reseptörlerinin polimorfizmi incelenmiştir (*CCR5* $\Delta 32$, *CCR5*(-59029) A/G (Adenin/Guanin), *CCR2* (64Ile). Bu hastalar HCV RNA'sı pozitif olan (n=73) ve kendiliğinden virüsün etkisinden kurtulmuş olan (n=23) iki grup şeklinde ayrılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HCV ile enfekte olmuş hastalarda, *CCR2* (64Ile) ve *CCR5* A allellerinin frekansının önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Çalışma ile HCV'nin direnç ve netlik kazanmasında kemokin polimorfizminin önemli bir rolü olduğu belirlenmiştir [19].

Literatürde incelenebildiği kadarı ile daha önce KKKK hastalığının *CCR5* gen mutasyonu ile ilişkisini inceleyen herhangi bir yayın bulunamamıştır. Bu çalışmada *CCR5* geninin viral enfeksiyonlardaki önemi ve ayrıca *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonunun KKKAV gibi bir RNA virüsü olan HIV'nin klirensi ile yüksek ilişkisi göz önüne alınarak KKKK hastalığının kliniği ve prognozu ile *CCR5* gen mutasyonu arasında bir ilişki olup olmadığı değerlendirilmek istenmiştir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER

3.1.1. Aletler ve Cihazlar

1. PZR Cihazı (Termal Cyclers) (Techne, TC 4000, TC 412)
2. Elektroforez Tankı (Cleaver Scientific, MSCHOİCE)
3. Elektroforez Güç Kaynağı (Thermo Scientific, EC 300 x L)
4. Jel Görüntüleme Sistemi (QUANTUM-ST4, 1000/20M- 09200806)
5. Bilgisayar (Exper, İntelcore2)
6. Manyetik Karıştırıcı (Velp Scientifica, F20520162)
7. Mikrodalga Fırın (Arçelik İntellowave, MD 554)
8. Hassas Terazı (Kern, ABJ 220-4M)
9. Mikrosantrifüj (Mikro 120, Hettich Zentrifugen D- 78 532n)
10. Vorteks (Velp Scientifica; F20220176)
11. Mikropipet Seti (Thermo Scientific)
12. Etüv (Memmert, Beschickung-Loading 100- 800)
13. Otoklav (HMC Hirayama, HV-25L)
14. Buzdolabı (Vestel, BZP-L3302W)
15. pH metre (İHANNA, 507702)

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific, Lot: 00143211)
2. 10x PCR Buffer (İnvitrogen, Lot: YD1BB1b)
3. Primerler CCR5 ($\Delta 32$) F (İnvitrogen)
CCR5 ($\Delta 32$) R (İnvitrogen)
4. Agaroz (İnvitrogen, Lot: 0000230689)
5. MgCl₂ (İnvitrogen, Lot: yd6B1a)
6. pUC mix marker (Femantas Lot: 00052038)
7. Loading dye Buffer Blue (Solis Biodyne, Lot: 0LB0054)
8. 100 mM dNTP set (Sigma- Aldrich, Lot: 040M6042)
9. Trisma Base (Amresco, Lot: 1621726)
10. Borik Asit (Amresco, Lot: 111110625)

11. EDTA (Amresco, Lot: 3228B038)
12. Ethidium Bromide (Serva, 090107)
13. NaOH (Sodyum Hidroksit) (Riedel-de Haen, Lot: 70440 UN 1823)

3.1.3. Kullanılan Solüsyonlar ve Tamponlar

3.1.3.1. EDTA Solüsyonu (0.5 M) hazırlanışı

18.16 g Na₂EDTA·2H₂O 80 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözülmenin oluşabilmesi için 2.0 g NaOH karışma eklendi (pH: 8.0 olacak). pH ayarlaması HCl ile yapıldı ve 100 ml'ye tamamlandı (distile su ile). Hazırlanan EDTA solüsyonu, otoklavlanıp oda sıcaklığında saklandı.

3.1.3.2. 5XTBE (Tris-Borat-EDTA) tamponu

54 g Trisma Base, 27.5 g Borik Asit ve 20 ml EDTA 500 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Homojen olunca distile su ile 1 litreye tamamlanarak çözüldü. Çözelti oda ısısında saklandı.

3.1.3.3. Etidyum Bromür solüsyonu (10mg/ml)

0.1 g Etidyum Bromür 10 ml distile su içerisinde bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Kullanılacak tüpler alüminyum folyo ile kaplandı. Hazırlanan solüsyon +4 °C'de saklandı.

3.1.3.4. Elektroforez yürütme tamponu

5XTBE tamponundan distile su ile seyreltilerek 1XTBE hazırlandı.

3.1.3.5. %2.5'lik agaroz jel (100 ml)

2.5 g agaroz, 100 ml 1XTBE ile erlenmayer içerisinde karıştırılıp mikrodalga fırında 1.5 dakika ısıtıldı. Hafif soğuması beklenerek (yaklaşık 60 °C) 3µl Etidyum Bromür (10 mg/ml) eklenip hızlı bir şekilde iyice karıştırıldı ve yükleme yapılacak tarafları hazırlanmış olan kasete döküldü.

3.1.3.6. dNTP çalışma solüsyonu: (5 mM stok çözeltisi için)

100 mM Adenin, Timin, Guanin, Sitozin nükleotidlerinin her birinden 25 µl alınarak 25 mM'lik 100 µl dNTP ara stoğu hazırlanır. 25 mM ara stoktan 50 µl alınarak 200 µl distile su ile karıştırılarak 5 mM'lik dNTP çalışma solüsyonu hazırlanır.

3.1.3.7. Primer stoklarının hazırlanması

Forward primeri: 200 pmol ana stoktan çalışma solüsyonu, konsantrasyonu 20 pmol/µl olacak şekilde 180 µl distile suya 20 µl forward primeri eklenerek son hacim 200 µl olacak şekilde hazırlandı.

Reverse primeri: 200 pmol ana stoktan çalışma solüsyonu, konsantrasyonu 20 pmol/µl olacak şekilde 180 µl distile suya 20 µl reverse primeri eklenerek son hacim 200 µl olacak şekilde hazırlandı.

3.2. ÇALIŞMA GRUBU

3.2.1. Hasta Grubu

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji kliniğine Temmuz 2013-Ağustos 2014 tarihleri arasında KKKA ön tanısı ile yatırılarak takip ve tedavi edilmiş hastalardan KKKA kesin tanısı konmuş 133 erişkin hasta çalışmamıza alınmıştır. Kanları Türkiye Halk Sağlığı Referans Viroloji laboratuvarına gönderilen ve RT-PZR yöntemi ile KKKA virüs RNA'sı pozitif bulunan hastalar kesin KKKA olarak kabul edilmiştir.

3.2.2. Çalışma Gruplarının Tanımlanması

Hastalar klinik prognozu ağır ve hafif seyredenler şeklinde 2 gruba ayrıldığı gibi, Ergönül ve arkadaşları ile Swanepoel ve arkadaşlarının kötü prognoz kriterlerini belirttiği çalışmalarındaki gibi (AST>700, ALT>900 U/L, aktive PTT 60 saniye veya daha uzun, trombosit sayısı 20.000/ml veya daha altında) ciddi pronozu sahip olanlar ve olmayanlar şeklinde de 2 gruba ayrılmıştır. Hastalığın prognozu ile belirlenen bu 4 kritere bakılarak hastalar; hastalığın şiddetine göre ağır ve hafif seyredenler şeklinde ayrılmıştır. Bu 4 kriterden üçü parametredeki değerlere göre yüksek ve trombosit sayısı 20.000/ml altı ise ağır, değil ise hafif seyreden şeklinde ayrılmıştır (Tablo 3-1).

Tablo 3.1. Swanepoel ve Ergönül'ün çalışmalarında belirledikleri hastalık prognoz düzeylerinin sınıflandırılmasında kullanılan kriterler [92, 94]

Tanı Kriteri	Hastalığın Seyri	
	Ağır Olgu	Hafif Olgu
Trombosit sayısı ($\times 10^9/L$)	<20.000	>20.000
ALT (U/L)	>900	<900
AST (U/L)	>700	< 700
aPTT (s)	>60	<60
KKKAV RNA	pozitif	pozitif

3.2.3. Etik Kurul İzni ve Bilgilendirilmiş Onam

Araştırmaya katılan tüm bireylere araştırma ile ilgili ayrıntılı bilgi verilmiş ve onam formu kan örneği alınmadan önce imzalatılmıştır. Çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Etik Kurulu tarafından 2013-15 sayılı toplantısında görüşülmüştür. 08/07/2013 tarih ve 13-KAEK-170 proje nosuyla onaylanmıştır.

3.2.4. Örneklerin alınması

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları kliniğine başvuran, KKKA ön tanılı çalışmaya alınan hastalardan yatışı takiben gerekli form ve izin belgeleri doldurulup imzalandıktan sonra DNA (Deoksiribonükleit asit) ekstraksiyon işlemi yapılmak üzere, rutin tetkikler sırasında alınan kanlardan arta kalan kısımlar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuda çalışma yapılncaya kadar saklanmıştır.

3.3. YÖNTEM

3.3.1. Genomik DNA İzolasyonu

Bu çalışmada, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Enfeksiyon Hatalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji kliniğine KKKKA ön tanısı ile birbiri ardı sıra yatan ve kesin KKKKA tanısı almış olan hastalardan rutin tetkikler sırasında alınan kanlardan arta kalan kısımlar kullanılarak, hizmet alımı kapsamında biyogüvenlik kabini olan biyomedikal bir şirket tarafından Atlas Biyoteknoloji firması aracılığıyla DNA izolasyonu yapılmıştır.

3.3.2. DNA'nın Kalitatif Tayini

2 g agaroz 100 ml 1XTBE içerisinde kaynatılarak çözüldü, 60 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 3 µl EtBr (10 mg/ml) eklendi. Sıvı haldeki jel, tarakları yerleştirilmiş olan agaroz jel elektroforez kabına dökülerek donmaya bırakıldı. 1-2 µl DNA, toplam hacim 4 µl olacak şekilde 10X yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Örnekler 1XTBE tamponu içerisinde, 120 voltta (V) 15 dakika yürütüldükten sonra jel, UV altında incelendi ve genomik DNA'nın kalitesi analiz edildi.

3.3.3. DNA'nın Kantitatif Tayini

Çift zincirli DNA preparasyonlarının yaklaşık saflığı 260/280 nm'deki absorbanların oranıyla (A260/A280) belirlemek mümkündür.

Saf çift zincirli DNA için $A_{260}/A_{280} = 1.8$ 'dir. Saf RNA'nınki 2 civarında, proteininki de 1'den küçüktür. DNA'ların derişimleri, 260 nm dalga boyunda okunan OD değerinin, sulandırma katsayısı ve DNA katsayısı ile çarpılması sonucu µg/ml cinsinden belirlendi.

$$\text{DNA } (\mu\text{g/ml}) = A_{260} \times \text{Sulandırma oranı} \times 50 \text{ (katsayı)}$$

3.4. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR) TEKNİĞİ

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), yapay oligonükleotitler kullanılarak, uygun koşullar altında in vitro ortamda hedef bölgenin çoğaltılmasıdır. Diğer bir ifade ile DNA replikasyonunun in vitro ortamda gerçekleşmesidir. PZR döngüsü sırasıyla, DNA çift zincirinin ısıyla birbirinden ayrılması (94 °C Denatürasyon), oligonükleotitlerin hedef DNA'ya bağlanması (Hibridasyon 55-60 °C) ve zincirin yeni

çift zincirli DNA'lar oluşturacak şekilde uzaması (Polimerizasyon 72 °C) aşamalarından meydana gelir. PZR karışımı için kullanılan malzemeler şunlardır:

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

Polimerazlar: dNTP'ler (serbest nükleotidler) kullanılarak çalışılan hedef dizisinin sentezini katalizlerler. Çeşitli türleri olsada sıklıkla *Thermus aquaticus*'tan elde edilen Taq DNA polimerazlar kullanılır.

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

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

Tamponlar ve MgCl₂: Reaksiyon esnasında enzimin aktivitesini arttırmak için kullanılır.

dH₂O (distile su): Optimum konsantrasyon değerlerinin elde edilmesi için kullanılır [169, 170].

3.5. ELEKTROFOREZ TEKNİĞİ

Sulu bir çözelti içinde, süspanse ya da çözünmüş küçük elektrik yüklü parçacıkların, uygulanan bir elektrik alanının etkisi ile göç etmesi sürecine elektroforez denir. Agaroz, deniz yosunundan üretilen bir polisakkarittir. %0.5-2 arasındaki konsantrasyonlarda sulu çözeltilerle çözüldüğünde katı bir jel oluşturur. Elektroforez için kullanılan agaroz, bakteriyel kültür plakları yapmada kullanılan agarın saflaştırılmış formudur [171].

3.6. CCR5 Δ32 GEN MUTASYONUNUN ANALİZİ

CCR5 gen mutasyonunun belirlenmesi için kullanılan primerler, PZR karışımları ve amplifikasyon sıcaklıkları aşağıda verilmiştir.

3.6.1. CCR5 Δ32 Gen Mutasyonu

CCR5 geninin Δ32 bölgesindeki delesyonu belirlemek için yapılan PZR'lerde, hedef gen bölgelerine özgün olarak kullanılan primerler, PZR karışımları ve çoğalma sıcaklıkları sırasıyla Tablo 3-2, Tablo 3-3 ve Tablo 3-4'te gösterilmektedir.

Tablo 3.2. *CCR5* geninin $\Delta 32$ bölgesindeki mutasyonun analizinde kullanılan primerler

Gen	Spesifik Primerler	
<i>CCR5</i>	F:	5'CTCCCAGGAATCATCTTTACC-3'
<i>DELTA32</i>	R:	5'TCATTTTCGACACCGAAGCAG-3'

Tablo 3.3. *CCR5* geni $\Delta 32$ bölgesindeki mutasyonun belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı.

	PZR Bileşeni	μ l/Tüp
1	Steril bidistile Su	15.3 μ l
2	PZR tamponu	2.5 μ l
3	MgCl ₂ (50 mM)	2 μ l
4	dNTP Mix (5 mM)	1 μ l
5	Forward primeri <i>CCR5</i> ($\Delta 32$) F (20 pmol/ μ l)	1 μ l
6	Reverse primeri <i>CCR5</i> ($\Delta 32$) R (20 pmol/ μ l)	1 μ l
7	Taq Polimeraz (5 u/ μ l)	0.2 μ l
8	Genomik DNA	2 μ l

Tablo 3.4. *CCR5* geni $\Delta 32$ bölgesindeki mutasyonun belirlenmesinde kullanılan PZR programı

Program Türü	Derece°C	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	96°C	5 dk	-
Denatürasyon	94°C	30 sn	35
Bağlanma	56°C	30 sn	
Uzama	72°C	30 sn	
Final uzama	72°C	7 dk	

CCR5 geni $\Delta 32$ bölgesindeki mutasyonu PZR yöntemi ile belirlemek amacıyla Tablo 3-3'de verilen PZR karışımı Tablo 3-4'teki *CCR5* geni $\Delta 32$ bölgesinin mutasyonunun belirlenmesinde kullanılan PZR programına göre çoğaltıldı. Bir PZR tüpünde bulunan 23'er μ l'lik karışımın içerisine 2 μ l DNA ilave edilerek toplam hacim 25 μ l yapıldı.

3.6.2. Agaroz Jelde PZR Ürünlerinin Koşturulması

10 μ l PZR ürününe 1 μ l yükleme tamponu eklendi ve toplam 11 μ l karışım agaroz jeldeki kuyucuklara yüklendi. DNA fragmentlerinin baz çifti uzunluklarını karşılaştırmak için pUC mix marker DNA belirteçi kullanıldı. 1 μ l alınan belirteç 1 μ l yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Yüklenen DNA'lar 135 voltta 30 dakika koşturuldu ve UV altında görüntüledi. Görüntüleme sonucunda *CCR5/CCR5* genotipindeki bireylerde 204 bç. uzunluğunda tek bant, *CCR5/CCR5* $\Delta 32$ genotipindeki bireylerde ise 204 bç. ve 172 bç. uzunluğunda iki bant gözlemlendi.

3.7. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Çalışmamızda istatistiksel analizler için SPSS 16.0 paket bilgisayar programı kullanıldı ve $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tespit edilen genotip sıklıkları için Hardy-Weinberg dengesinden sapma olup olmadığı Ki-kare (χ^2) testi ile araştırıldı.

4. BULGULAR

4.1. ÇALIŞMA GRUBUNDA YER ALAN HASTALARIN DEMOGRAFİK ve KLİNİK BULGULARI

Çalışmamızda Temmuz 2013-Ağustos 2014 yıllarına ait KKKA kesin tanısı konmuş toplam 133 hasta değerlendirmeye alınmıştır. 133 KKKA hastasının 51'i (%38.35) kadın, 82'si (%61.65) erkek idi. Hastalarımızın yaş ortalaması (yıl \pm St. Sapma) 50.41 ± 18.43 idi. 133 KKKA hastasının 61'i (%45.86) ağır, 72'si (%54.14) hafif olgu olarak belirlenmiştir. Ayrıca takip sonucu hastaların 122'si (%91.73) sağlıklı olarak taburcu edilirken, 11'i (%8.27) ex olmuştur. Bu veriler Tablo 4-1'de gösterilmiştir (N: Hasta sayısı).

Tablo 4.1. Çalışmaya dahil edilen KKKA hastalarının demografik ve laboratuvar bulgularına ait istatistik veriler

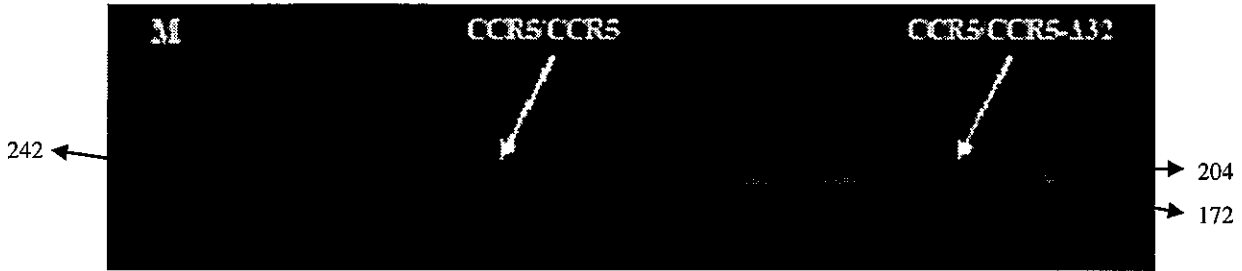
Özellik		KKKA Hastaları (N=133)	
		N	%
Cinsiyet	Erkek	82	61.65
	Kadın	51	38.35
Hastalık Seyri	Ağır	61	45.86
	Hafif	72	54.14
Trombosit sayısı ($\times 10^9/L$)	<20.000	51	38.35
	>20.000	82	61.65
ALT (U/L)	>900	10	7.52
	<900	123	92.48
AST(U/L)	>700	30	22.56
	<700	103	77.44
aPTT (s)	>60	22	16.54
	<60	111	83.46
Ex durumu	Ex	11	8.27
	Canlı	122	91.73
Yaş Ortalaması (yıl \pm St. Sapma)		50.41 \pm 18.43	

Çalışmamızda hastalığın seyri sırasındaki trombosit, aPTT, AST ve ALT değerlerine göre ciddi kabul edilen (trombosit <20.000/ml, aPTT>60 sn, AST>700 U/L ve ALT>900 U/L) hasta sayısı 61 (%45.86) iken ciddi kliniği olmayan hastaların sayısının ise 72 (%54.14) olduğu görülmüştür.

Çalışmaya dahil edilen KKKA hastalarının demografik ve laboratuvar bulgularına ait istatistik veriler Tablo 4-1’de gösterilmiştir.

4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Analizi

CCR5 geninin üzerindeki 32 baz çiftlik delesyonu kapsayan bölgenin Tablo 3-3’de verilen PZR karışımına ve Tablo 3-4’de verilen PZR programına göre çok sayıda kopyası elde edilerek %2.5’lik agaroz jel içerisinde 135 voltta 30 dakika yürütülerek UV ışık ile incelendi. *CCR5* geninin üzerindeki 32 baz çiftlik (bç.) delesyonunu kapsayan bölgenin PZR ile amplifikasyonu sonucunda *CCR5/CCR5* genotipindeki bireylerde 204 bç. uzunluğunda tek bant, *CCR5/CCR5* Δ32 genotipindeki bireylerde ise 204 bç. ve 172 bç. uzunluğunda iki bant gözlemlendi. İnceleme sonucunda elde edilen görüntü Şekil 4-1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. %2.5’lik Agaroz jelde koşturulan homozigot genotipe (*CCR5+/CCR5+*) sahip ve mutant genotipi (*CCR5+/Δ32*) içeren bazı heterozigot bant örnekleri

4.3. İstatistiksel Bulgular

Hastalığın seyrindeki ağır-hafif olgu tanımlamaları Ergönül ve Swanepoel’in çeşitli çalışmalarda belirlediği ciddiyet kriterlerine göre yapılmıştır. KKKA hasta grubunda çalışılan örneklerin PZR analizi ile elde edilen sonuçları değerlendirildiğinde, KKKA’lı ağır hasta ve hafif hasta grubunda *CCR5* geni (Δ32 delesyonu) mutasyonunun

genotip ve allel dağılım sıklıkları verilmiştir. Hastalığın seyrinde ağır ve hafif olgu grubu *CCR5* geni $\Delta 32$ mutasyonu yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptandı ($p>0.05$). KKKA'lı ağır ve hafif olgu gruplarının *CCR5* geni mutasyonunda genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesinden sapma göstermediği tespit edilmiştir ($p>0.05$) (Tablo 4-2'de gösterilmiştir). (NN: *CCR5/CCR5*, ND: *CCR5/CCR5* $\Delta 32$)

Tablo 4.2. Ağır ve hafif olgu gruplarında *CCR5* geni mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları

Kriter	Durum	Genotip		Allel	
		NN	ND	N	D
Toplam		130 (%97.74)	3 (%2.25)	263 (%98.87)	3 (%1.12)
Hastalık Seyri	Ağır (61)	61 (%100)	0	122 (%100)	0
	Hafif (72)	69 (%95.83)	3 (%4.17)	141 (%97.92)	3 (%2.08)
P		0.249		0.252	

N: Normal, **D:** Delesyon

Toplam 133 KKKA hastasından 130 (%97.74) bireyin genotipi NN olarak gözlenirken 3 (%2.25) hastanın genotipi ND olarak gözlendi. 133 KKKA hastasında N allelinin sıklığı (%98.87) iken, D allelinin sıklığı (%1.12) olarak belirlenmiştir.

KKKA hastalarından 72 hafif olgudan 69'unun (%95.83) genotipi NN tespit edilirken, 3'ünün genotipi (%4.17) ND olarak tespit edilmiştir. 61 ağır olguda ise, hastaların tamamında NN genotipi gözlenirken, hiçbirinde ND genotipine rastlanmamıştır. Ağır ve hafif olgular karşılaştırıldığında, hafif olgularda D allelinin sıklığı (%2.08) iken, ağır olgularda D alleleline rastlanmamıştır. Hasta sayısının azlığı nedeni ile iki grup arasında allel sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p=0.252$). (Tablo 4-2).

Tablo 4.3. AST değeri 700 üstü ve 700 altı olan KKKA hastalarında *CCR5* geni mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları

Kriter	Durum	Genotip		Allel	
		NN	ND	N	D
AST ¹ (U/L)	>700 (30)	30 (%100)	0	60 (%100)	0
	≤700 (103)	99 (%97.06)	3 (%2.94)	201 (%98.53)	3 (%1.47)
P		1.000		1.000	

AST değeri 700 üstünde olan 30 KKKA hastasında NN genotip dağılımı (%100) iken, hiçbirinde ND genotipi saptanmamıştır. AST değeri 700 üstünde olan 30 KKKA hastasında N allelinin sıklığı (%100) iken, D allelinin sıklığı (%) olarak tespit edilmiştir.

AST değeri 700 altında olan 103 hastanın 99'unda (%97.96) NN genotipi gözlenirken, 3'ünde (%2.94) ND genotipi gözlenmiştir. 103 KKKA hastasının N allel dağılımı (%98.53) olarak tespit edilirken, 3 (%1.47) hastanın D alleleline sahip olduğu saptanmıştır.

Karaciğer bozukluğunun göstergesi olan AST değeri 700 üstü ve 700 altındaki KKKA hastalarının *CCR5* geni $\Delta 32$ mutasyonu yönünden karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı görülmektedir (p=1). (Tablo 4-3).

¹AST: Aspartat aminotransferaz

Tablo 4.4. ALT değeri 900 üstü ve 900 altı olan KKKA hastalarında *CCR5* geni mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları

Kriter	Durum	Genotip		Allel	
		NN	ND	N	D
ALT ² (U/L)	>900 (10)	10 (%100)	0	20 (%100)	0
	<900 (123)	120 (%97.56)	3 (%2.44)	243 (%98.78)	3 (%1.22)
P		1.000		1.000	

ALT değeri 900 üstünde olan 10 KKKA hastasında NN genotip dağılımı (%100) iken, hiçbirinde ND genotipine rastlanmamıştır. ALT değeri 900 üstünde olan 10 KKKA hastasında N allelinin sıklığı (%100) iken, D allelinin sıklığı (%) olarak tespit edilmiştir.

ALT değeri 900 altında olan 123 hastanın 120'sinde (%97.56) NN genotipi gözlenirken, 3 (%2.44) hastada ND genotipi gözlenmiştir. 123 KKKA hastasının N allel dağılımı (%98.78) olarak tespit edilirken, 3'ünün (%1.22) D alleleline sahip olduğu saptanmıştır.

Karaciğer bozukluğunun diğer bir göstergesi olan ALT değeri 900 üstü ve 900 altı olan KKKA hastaları *CCR5* geni $\Delta 32$ mutasyonu yönünden karşılaştırıldığında D allelinin hastalığın seyrinde direnç oluşturabileceği düşünülürken, istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görülmektedir (p=1) (Tablo 4- 4).

²ALT: Alanin aminotransferaz

Tablo 4.5. PLT değeri 20.000 üstü ve 20.000 altı olan KKKA hastalarında CCR5 gen mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları

Kriter	Durum	Genotip		Allel	
		NN	ND	N	D
PLT ³ (X10 ⁹ /L)	<20.000 (51)	51 (%100)	0	102 (%100)	0
	>20.000 (82)	79 (%96.34)	3 (%3.66)	161 (%98.17)	3 (%1.83)
P		0.285		0.288	

KKKA hastalarında, kanama pıhtılaşma bozukluğu belirteçleri arasında yer alan trombosit sayısı PLT değeri 20.000 altı ve 20.000 üstü olan KKKA hastalarında CCR5 geni $\Delta 32$ mutasyonunun genotip dağılımı Tablo 4- 5’de gösterilmiştir.

PLT değeri 20.000 altı olan 51 KKKA hastasında genotip NN olarak tespit edildi fakat hiçbir hastada ND genotipi gözlenmedi. PLT değeri 20.000 altı olan 51 hastanın tamamında N alleli sıklığı (%100) olarak bulunurken, D alleleline rastlanmadı.

PLT değeri 20.000 üstü olan 82 KKKA hastasından 79’unun (%96.34) genotipi NN olarak gözlenirken, 3 (%3.66) hastada ND genotipi gözlendi. PLT değeri 20.000 üstü olan 82 hastanın N alleli sıklığı (%98.17) olarak bulunurken, D alleli (%1.83) olarak tespit edilmiştir.

CCR5 $\Delta 32$ mutasyonu PLT değeri 20.000 altı ve 20.000 üstü olan KKKA hastalarında genotip (p=0.285) ve allel (p=0.288) frekansları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (Tablo 4-5).

³Plt: Platelet

Tablo 4.6. aPTT süresi 60 saniye üstü ve 60 saniye altı olan KKKA hastalarında *CCR5* gen mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları

Kriter	Durum	Genotip		Allel	
		NN	ND	N	D
aPTT ⁴ (saniye)	>60 (22)	22 (%100)	0	44 (%100)	0
	<60 (111)	108 (%97.30)	3 (%2.70)	219 (%98.65)	3 (%1.35)
P		1.000		1.000	

aPTT değeri 60 sn üstü olan 22 KKKA hastasında genotip NN olarak tespit edildi fakat hiçbir hastada ND genotipi gözlenmedi. aPTT değeri 60 sn üstü olan 22 hastanın tamamında N alleli sıklığı (%100) olarak bulunurken, D alleleline rastlanmadı.

aPTT değeri 60 sn altı olan 111 KKKA hastasından 108'inde (%97.30) genotip NN olarak gözlenirken 3 (%2.70) hastada ND genotipi gözlendi. aPTT değeri 60 sn altı olan 111 hastanın N alleli sıklığı (%98.65) olarak bulunurken, D alleli sıklığı (%1.35) olarak tespit edilmiştir.

KKKA hastalarında, kanama pıhtılaşma bozukluğu belirteçleri arasında yer alan aPTT süresinde ise N ve D allel sıklıklarının hem aPTT süresi 60 saniye altı hem de 60 saniye üstü olan KKKA hastalarında *CCR5* geni $\Delta 32$ mutasyonu karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir (p=1) (Tablo 4-6).

⁴aPTT: aktif parsiyal tromboplastin zamanı

Tablo 4.7. Ex olan ve yaşıyan KKKA hastalarında *CCR5* gen mutasyonunun genotip ve allel sıklıkları

Kriter	Durum	Genotip		Allel	
		NN	ND	N	D
Ex durumu	Ex (11)	11 (%100)	0	22 (%100)	0
	Canlı (122)	119 (%97.54)	3 (%2.46)	241 (%98.77)	3 (%1.23)
P		1.000		1.000	

Yaşıyan ve ölen hasta gruplarına ait genotip ve allel sıklıkları tablo 4-7’de verilmiştir. Bu mutasyon için yaşıyan ve ex olan hasta gruplarında yer alan genotiplerin frekanslarının istatistiksel olarak uyumlu olmadığı belirlenmiştir ($p=1$).

KKKA hastalarından ex olan 11 hastanın tamamında NN genotipi gözlenirken, hiçbirinde ND genotipi tespit edilmemiştir. Ex olan 11 hastada N alleli sıklığı (%100) olarak saptanmış olup, D alleli bulunmamıştır.

Şifa olan 122 hastanın 119’unda (%97.54) genotip olarak NN saptanırken, 3 (%2.46) hastada ND genotipi tespit edilmiştir. Şifa olan 122 KKKA hastasında N alleli (%98.17) olarak bulunurken, D alleli (%1.23) bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmamasına rağmen D allelinin şifa olan hastalarda hastalığın seyrini iyileştirdiği düşünülmektedir (Tablo 4-7).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Viral kanamalı ateşler; ateş ve kanama ile karakterize, yüksek mortalite oranı ile seyreden akut enfeksiyon hastalıklarıdır. VKA etkeni olan ajanlar, birbirine benzerlik gösteren, farklı virüs gruplarına dahil olan ve insanlarda sistemik olarak seyreden, ölümcül hastalık oluşturan enfeksiyon ajanlarıdır [1]. Önemli VKA etkeni olan ajanlar; *Ebola* ve *Marburg* virüsler, *Lassa* virüs, KKKA virüsü, Dengue virüs ve Sarı Humma virüsüdür [2, 3, 4]. VKA etkenlerinin ortak noktası, hastalık etkeni olan etiyolojik ajanların konakta antiviral cevabı başlatacak hücrelere saldırarak bu hücrelerin işlevlerini bozması ve konağın bağışık yanıtını engellemesidir. Bunu da, konakta antiviral cevabı başlatacak hücreleri hedefleyip kendi amacına kullanarak gerçekleştirir. VKA virüslerinin hedeflediği hücrelerde yaptığı değişiklikler viral yükün yüksek bir seviyeye ulaşmasına, konakta bağışıklık yanıtın ve endotelin işlevsel bozukluklarına neden olmaktadır [2, 3, 4].

Son zamanlarda VKA'lar arasında KKKA'nın dünyada giderek artış göstermesi sebebi ile hastalık merak uyandırmaktadır. KKKA, *Bunyaviridae* ailesi içerisinde yer alan *Nairovirus* genusundan virüslerin etken olduğu, şiddetli bir seyir gösteren ve oldukça yüksek mortalite oranı olan viral hemorajik bir hastalıktır. [5, 6, 7]. KKKA'nın patogenezi ile ilgili araştırmaların son yıllarda artmaya başladığı görülmekteyse de bu konudaki veriler yeterli olmayıp, patogenezin temel mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Yapılan çalışmalar neticesinde Ebola kanamalı ateşi ile KKKA arasındaki yakın benzerliklerden referans alarak KKKA patogenezinin; konağın antiviral cevabının yeterli olmamasına ve/veya gecikmesine bağlı olarak viral yük miktarının artması, konak bağışık yanıtın doğrudan olmayan etkilerinin (sitokinlerin aşırı yapımının) infekte dokularda hasar oluşturmasının bir sonucu olabileceği iddia edilmektedir [2, 3, 4].

Kemokinler çeşitli hücre tiplerini aktif hale getiren, farklı lökosit subtipleri için kemoatraktan olarak davranan ve yapısal olarak onlarla ilişkili olan küçük (8-10 kDa) bir polipeptid ailesidir. Kemokinlerin ana fonksiyonu; inflamasyonda lökosit toplanması, lenfoid ve diğer dokularda hücrelerin normal anatomik organizasyonudur. İnflamasyonda ve enfeksiyonlara karşı konakçı cevabında lökositlerin dokulara yerleşimi önemli bir basamağı oluşturmaktadır. Lökositleri inflamatuvar bölgelere çeken

kemotaktik sitokinler olan kemokinlerin intrahepatik inflamasyon gelişiminde önemli işlevleri vardır. Kemokin reseptörleri G-protein bağımlı türde hücre içi sinyal ileten yapılardır. Kemokinlerin uygun reseptöre bağlanması sonucunda sinyal iletimi ile uyarılan hücreler doku zedelenmesi, inflamasyon veya gerek görülen bölgeye migrasyon yapmak üzere harekete geçerler [10, 11, 12, 136].

CCR5 geni 3. kromozomda 3p21.3 bölgesinde çeşitli kemokin reseptörleri kodlayan bir grup genin arasındadır. *CCR5* $\Delta 32$, *CCR5* kemokin reseptörünün delesyon mutasyonudur. Bu mutasyon sonucunda dokuda ve periferik hücrelerde *CCR5*'in ekspresyonunda önemli azalma görülmektedir [10, 136]. Literatürdeki çalışmalarda *CCR5* heterozigot mutasyonundan türetilmiş CD3 pozitif T hücrelerinin *CCR5*'in ekspresyonunu ve ligandlara cevabını azalttığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda *CCR5* mutasyonu ve ekspresyonunun karaciğer inflamasyonunun modülasyonunda işlevi olabileceği bildirilmiştir [157]. Woitas ve arkadaşları *CCR5* mutasyon sıklığının HCV'li hastalarda normal popülasyondan daha yüksek olduğunu ve bunun da enfeksiyonun konak savunmasını etkilediğini bildirmişlerdir [158]. Buna karşın Promrat ve arkadaşları *CCR5* mutasyonunun, HCV enfeksiyonuna yatkınlık ve sıklığı arasında korelasyon olmadığını bildirmişlerdir. [157].

Literatürdeki birçok çalışmada, *CCR5* geninde görülen farklı polimorfizmlerin HIV/AIDS ile ilişkisi belirlenmiştir [159, 160]. *CCR5* geninde tanımlanmış polimorfizmlerden 32 baz çiftlik bir kayıptan kaynaklanan $\Delta 32$ delesyonu, HIV'e direnç sağlama konusundaki en önemli mutasyondur. Delesyon nedeniyle, kodlanan protein oldukça kısa ve fonksiyonsuzdur. *CCR5* $\Delta 32$ için homozigot olan bireyler hücre yüzeyinde hiç reseptör bulundurmazlar ve HIV'e dirençlidirler [14].

Desgranges ve arkadaşları 2001 yılında Güney Amerika Şili popülasyonunda *CCR5* $\Delta 32$ allel frekansını araştırmışlardır. HIV-1 enfekteli 63 birey ve enfekte olmayan 62 bireyle yaptıkları çalışma sonucunda *CCR5* $\Delta 32$ homozigot birey hiç bulunmazken, iki grup arasında gözlenen heterozigot yüzdesi (~%2.4) arasında belirgin bir fark olmadığını saptamışlardır [172].

Oliveira-Pinto ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları araştırmada, DENV-2 ve DENV-3 salgınları ile gelen akut dönemdeki ya da iyileşmiş hastalardan prospektif olarak inceleme yapılmıştır. Akut DENV enfeksiyonunda T yardımcı/T-sitotoksik tip 1

hücreleri ile ilişkili *CCR5* ekspresyonunun her iki CD4 ve CD8 T hücrelerinde anlamlı düzeyde yüksek ifade edildiği gözlenmiştir. Ayrıca, Dengue ateşinden ölen bireylerin karaciğerinde *CCL5/RANTES* ekspresyonunun başka nedenler sonucu ölen hastaların karaciğerindeki ifade düzeyinden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular *CCR5*'in Dengue ateşi enfeksiyonu ile ilişkili olabileceğini göstermiştir [20].

Bu bulgular ışığında çalışmamızda HIV, HCV, hedef hücreleri, dokuları, patogenezi ve klinik semptomları benzer olan, diğer bir VKA etkeni Dengue ateşi vb. hastalıklar da etkisi olduğu gösterilen *CCR5*'in ve *CCR5* $\Delta 32$ gen mutasyonunun KKKA hastalığındaki etkisinin incelenmesi planlanmıştır. Çalışmamızda KKKA patogenezinde *CCR5* geninin rolünün anlaşılmasına katkıda bulunmanın yanı sıra, hastalığın şiddeti ile bir bağlantısının olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Daha önce benzer bir araştırmanın yapılmamış olması bu çalışmayı daha değerli kılmaktadır. Çalışmamızda, ilk olarak çalışma grubunda yer alan bireylerin demografik ve klinik özellikleri değerlendirilmiştir.

Hastalarımızın yaş ortalaması (yıl \pm St. Sapma) 50.41 ± 18.43 olarak bulunmuştur. KKKA'nın herhangi bir yaş grubuna özel olmadığı farklı çalışmalarda bildirilmiştir fakat ortalama 30-40'lı yaşlardaki kişilerde diğer yaşlara oranla KKKA daha fazla görüldüğü dikkat çekmektedir. Literatürler, KKKA olgularının daha fazla bu yaşlarda dağılım göstermesinin sebebini kene popülasyonuna maruz kalan ve aktif olarak çalışan bireylerin bu yaş gruplarında yer almasından dolayı kaynaklandığını ifade etmektedir. Yine yapılan bir çalışmada, ölen olguların yaş ortalamasının hayatta kalan olgulara oranla anlamlı olarak daha büyük olduğu saptanmıştır ve ileri yaşın ölüm riskini arttırabildiği öne sürülmüştür [90, 92].

Duygu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, tüm KKKA tanısı alan hastalarda yaş ortalamasının 47.11 yıl olduğu ve ölen hastaların yaşlarının daha ileri olduğu gözlenmiştir [173]. Bizim çalışmamızda da tüm hastaların yaş ortalaması Duygu ve arkadaşlarının vaka serisindeki hastaların yaş ortalamasına çok yakındır (50.41 yıl).

Literatürdeki bir çalışmada vakaların %58.2'sini kadınların oluşturduğu KKKA hastalarında çiftçilik, hayvancılık, kırsal kesimde yaşama ve kene ısırığı öyküsünün risk etkeni oluşturduğu saptanmıştır [110]. Bildirilen KKKA olguları arasında erkek kadın oranı hayvanlar ile teması gerektiren mesleklerdeki cinsiyet dağılımını yansıtmaktadır.

Ülkeler arasında, kadın ve erkek oranı, kadınların tarımsal çalışmalara katılma oranıyla ilişkili olarak farklılık gösterebilir [124]. Ülkemizde bu oran hemen hemen eşittir. Yaptığımız çalışmada ise yer alan hastaların %61.65'ini erkeklerin, %38.35'ini kadınların oluşturduğu görülmüştür.

Literatürde KKKA hastalığı için %80'lere varan çeşitli ölüm oranları bildirilmiştir. Çevik ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ölüm oranı %15.9 olarak belirlenmiştir [90]. Duygu ve arkadaşlarının çalışmasında ölüm oranı %5 olarak gözlenmiştir [173]. Bizim çalışmamızdaki ölüm oranı %8.27 olarak saptanmıştır. Türkiye ortalamasından (%5) yüksektir [174]. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı tarafından bildirilen ölüm oranı birinci, ikinci ve üçüncü basamak sağlık hizmetlerinde tedavi edilen tüm KKKA olgularını kapsar. Gaziosmanpaşa Üniversitesi enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji A.D KKKA hastalığında bölge hastanesi ve üçüncü basamak bir sağlık kuruluşu olduğu için daha komplike ve şiddetli olgular çevre hastanelerden merkezimize sevk edilmektedir. Bu yüzden çalışmamızda saptanan yüksek ölüm oranı muhtemelen daha ciddi olguların kabul edilmesine bağlıdır.

KKKA hastalarında en sık görülen laboratuvar bulguları; trombositopeni, lökopeni ve artmış transaminaz (AST ve ALT) seviyeleri olarak belirlenmiştir [92, 94]. Bu bulgular hastalığın patogenezi ve prognozu ile birebir ilişkilidir. Ülkemizde KKKA hastalarında trombositopeni (%93.2) en sık görülen laboratuvar bulgusudur, bunu lökopeni (%88.9) (akut dönemde lökositoz görülmektedir) ve artmış transaminaz (AST ve ALT) seviyeleri izlemektedir [92].

KKKA hastalarında trombositopeni ve serum karaciğer enzim seviyelerinde artmalar en önemli laboratuvar özelliklerindedir. Yapılan bir araştırmada bütün KKKA hastalarında trombositopeni ve AST, ALT seviyelerinin yükseldiğini tespit etmişlerdir. 35 hastanın 30'unu (%86) ağır olgu olarak tanımlamışlardır [108]. Bizim çalışmamızda ise 133 hastanın 61'i (%45.86) ağır olgu olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada AST/ALT seviyelerinin hafif olgulara oranla ağır olgularda daha yüksek olduğu ve bu bulguların istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır [108]. Bizim çalışmamızda örneklemdeki ağır olgulu birey sayısının az olması sebebiyle ağır olgularda AST 700 üstü (%22.56), AST 700 altı (%77.44) ve ALT 900 üstü (%7.52), ALT 900 altı ise (%92.48) olarak tespit edilmiştir. Tablo 4-1'de gösterilmiştir.

KKKA klinik seyri hastalar arasında hafif seyirliiden ağır seyirliye hatta ölümler sonuçlanmaya kadar farklılık göstermektedir. VKA'larda birçok faktör hastalık seyrini etkilemektedir. Yapılan bazı araştırmalarda, farklı Dengue Virüs serotiplerin ve genotiplerin hastalığın Şiddetini etkilediği saptanmıştır. Ülkemizde 8 farklı coğrafik sahadan hastalarla yapılan bir araştırmada virüs suşlarının benzer gruplar olduğu belirtilmiştir. Aynı virüs suşlarının hastalarda nasıl asemptomatikten mortaliteye kadar farklı klinik seyir izlediği henüz netleşmemiştir. 2008'de evik ve arkadaşlarının çalışmasında hastalık süresince, biyolojik değişkenlerin hastalığın Őiddetinin tahmin edilmesine yardımcı olabileceğini ileri sürmüşlerdir [90].

Bazı hücrelerde bulunan ve bir kemokin reseptörü olan *CCR5*'in birçok viral enfeksiyonda önemli rol oynadığı bilinmektedir [20, 159, 160, 172]. *CCR5* geni üzerinde çeşitli polimorfizmler ve mutasyonlar tanımlanmıştır. Bunlardan *CCR5* $\Delta 32$ genetik mutasyonu genin açık okuma erevesi içerisinde 32 baz çiftlik (b) delesyonla tanımlanmaktadır [13, 14]. *CCR5* $\Delta 32$ allelinin frekansı dünyadaki populasyonlar arasında farklılık göstermektedir. Örnek olarak $\Delta 32$ frekansı İzlanda'da 0.147, Rusya'da (Moskova'da) 0.122, Almanya'da (Mulheim'de) 0.106, Fransa'da (Lille'de) 0.108, İtalya'da (Milano'da) 0.086 olarak tespit edilmiştir [175].

Lucotte'nin Türkiye'de Ankara Őehrinde 117 bireyde *CCR5* $\Delta 32$ allel frekansını araştırdığı çalışmada 104 hastada *CCR5/CCR5* genotipi, 13 hastada *CCR5/CCR5* $\Delta 32$ genotipi tespit edilirken, hiçbir hastada $\Delta 32/\Delta 32$ genotipine rastlanmamıştır. $\Delta 32$ allel frekansını %6.2 olarak tespit etmiştir [175].

Çalışmamızda *CCR5* $\Delta 32$ 'nin KKKA hastalarında genotip frekansı çıkartılmış *CCR5* allelinin mutant formu içeren heterozigot düzeyi ve mutant allel sıklığı belirlenmiştir. 133 KKKA hastasının 130'unda (%97.74) *CCR5/CCR5* genotipi, 3 (%2.25) hastada da *CCR5/CCR5* $\Delta 32$ genotipi saptanmıştır. Herhangi bir mutant $\Delta 32/\Delta 32$ genotipi saptanmamıştır. N alleli frekansı 133 hastada (0.9774) iken, D allelinin frekansı (0.0117) olarak tespit edildi (Tablo4-2). Genel populusyona göre bizim sonuçlarımızda $\Delta 32$ allel frekansı (%1.12) düşüktür fakat $\Delta 32$ allelinin sadece hastalığı hafif seyreden hastalarda görülmesi $\Delta 32$ mutasyonunun KKKA hastalığına karşı bir direnç oluşturduğunu göstermektedir. Ağır ve hafif hasta sayısının az olması sebebiyle $\Delta 32$ allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı

($p=0.252$). Her ne kadar istatistiksel anlam bulamamakta, ağır hastalarda $\Delta 32$ mutasyonunun tespit edilmemesi bu mutasyonun hastalık seyri üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. İstatistiksel ilişkinin tespit edilememesinin sebebi örneklemimizin görece daha az olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bunun yanı sıra bizim çalışmamızda kontrol grubu kullanmamış olsakta daha önceki Türkiye popülasyonunda tespit edilen $\Delta 32$ mutasyon sıklıklarıyla (0.062) [175] karşılaştırdığımızda, hem total (0.0117) hem ağır (0.0) veya hafif (0.0208) KKKA hasta grupları arasında $\Delta 32$ mutasyonunun daha düşük bulunması bu öngörülerimizi destekler niteliktedir.

2000 yılında Papa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 240 HIV-1 pozitif ve 128 HIV-1 negatif birey ile çalışılması sonucunda, *CCR5* $\Delta 32$ allel frekansı %5.2 bulunmuştur. Aynı çalışmada yapılan gruplama ile HIV negatif bireylerde bir adet homozigot *CCR5* $\Delta 32$ genotip bulunurken, negatif grupta yer alan bireylerin seropozitif olanlara göre iki kat daha fazla frekansa sahip olduğu ve dolayısıyla heterozigot genotiplerin HIV enfeksiyonuna karşı kısmi bir koruma sağladığı saptanmıştır [176].

Bizim çalışmamızda 133 KKKA hastasında 130 (%97.74) hastada *CCR5/CRR5* genotipi bulunurken, sadece 3 (%2.25) hastada *CCR5/CCR5* $\Delta 32$ genotipi saptanmıştır. Hiçbir hastada homozigot *CCR5* $\Delta 32$ genotipine rastlanmamıştır. 133 KKKA hastasında N allel frekansı 0.9887 iken, D allel frekansı 0.0117 olarak tespit edildi. 133 KKKA hastasından 61 ağır olgunun tamamında *CCR5/CRR5* genotipi bulundu. 72 hafif olgudan 69'unda (%95,83) *CCR5/CRR5* genotipi, 3'ünde (%4.17) *CCR5/CCR5* $\Delta 32$ genotipi saptandı. *CCR5* $\Delta 32$ allel frekansı hafif olgularda 0.0208 olarak belirlenmiştir (Tablo 4-2). İstatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir ($p=0.252$). İstatistiksel anlam belirlemesekte, ağır hastalarda $\Delta 32$ mutasyonunun saptanmaması bu mutasyonun hastalık seyri üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Marques ve arkadaşları 2015'de yaptıkları çalışmada Dengue virüsü (DENV-2) enfeksiyonunda CC kemokin reseptörü *CCR5*'in rolünü araştırmışlardır. İn vitro çalışmalar *CCR5*'in insan ve fare makrofajlarında DENV-2 replikasyonu için gerekli bir ana faktör olduğunu göstermiştir. DENV-2 enfeksiyonu *CCR5* ligandlarının ekspresyonunu indükler. *CCR5* antagonisti ile yapılan araştırmalar sonucunda antagonist kullanımının makrofajlar içinde DENV-2 pozitif sarmallı (+) RNA miktarını

azalttığı gözlenmiştir. Bu çalışmada DENV-2 enfeksiyonuna bağıklığı olan bir fare modeli kullanarak, hedef organlarda viral yükün en az 100 kat azaltılması ve hastalık şiddetinde önemli bir azalma göstermesi sonucu farelerde ölümcül enfeksiyona dirençli *CCR5*^{-/-} fareler bulunmuştur. Araştırmacıların elde ettikleri sonuçlar *CCR5*'in DENV-2 replikasyonu ve enfeksiyonu gelişimi için gerekli bir ana faktör olduğu ve *CCR5*^{-/-} farelerin bu enfeksiyona dirençli olduğunu göstermektedir [177]. *CCR5* ekspresyonunun Dengue patogenezinde önemli bir rol oynadığı açıkça ortadadır. Çalışmamızdaki sonuçlarda *CCR5* ekspresyonunu önemli ölçüde etkileyen $\Delta 32$ mutasyonunun KKKA hastalarında düşük frekansta bulunması ve mutasyonu taşıyan hastaların hastalığı hafif atlatması bu çalışmayla uyumludur.

Çalışmamızda incelenen 133 KKKA hastasında, hastalığın seyri ve laboratuvar bulgularına bağılı olarak ağır ve hafif seyreden hasta grupları karşılaştırılmış, bunun yanı sıra bu grupta kullanılan laboratuvar bulgularının (ALT, AST, trombosit sayısı, aPTT) ağırlık seviyelerine göre ve ex durumuna göre gruplar oluşturularak karşılaştırma yapılmıştır. 72 hafif olgunun 69'unda (%95.83) mutasyona rastlanmamışken, 3'ünde (%4.17) delesyonlu allel tespit edilmiştir. Ağır olguların tamamında (61) *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonu tespit edilmemiştir (Tablo 4-2). Her ne kadar ağır ve hafif olgular arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki tespit edilemesede ($p=0.252$) *CCR5* $\Delta 32$ allelinin sadece hafif olgularda rastlanması ve sıklığının genel populasyon sıklığından düşük olması bu mutasyonun hastalığın şiddeti ile de ilişkili olabileceğini akla getirmektedir. Bu öngörüğü destekleyen diğer bulgular ise hem tek tek hastalığın şiddetini belirlemede kullanılan laboratuvar verileri bakımından ağır grupta yer alan hastalarda hem de ex olan hastalarda bu mutasyonun bulunmamasıdır. Tüm karşılaştırılan gruplar bakımından, muhtemelen gruplarda yer alan örnek sayılarının azlığı nedeni ile istatistiksel açıdan bir fark tespit edilememiştir ($p>0.05$).

AST değeri 700 üstü olan 30 KKKA hastasının hiçbirinde mutasyona rastlanmamıştır. AST değeri 700 altında olan 103 KKKA hastasından 99'unda (%97.06) *CCR5/CCR5* genotipi tespit edilirken, 3'ünde (%2.94) *CCR5/CCR5* $\Delta 32$ genotipi gözlenmiştir. AST değeri 700 altında olan hastalarda *CCR5* allel frekansı 0.9583 olarak saptanırken, *CCR5* $\Delta 32$ allel frekansı 0.0147 olarak bulundu (Tablo 4-3).

ALT değeri 900 üstü olan 10 KKKA hastasının hiçbirinde $\Delta 32$ mutasyonu gözlenmemiştir. ALT değeri 900 altında olan 123 KKKA hastasının 120'sinde (%97.56) homozigot *CCR5* genotipi saptanırken, 3 (%2.44) hastada heterozigot genotip tespit edildi. ALT değeri 900 altında olan KKKA hastalarında *CCR5* allel frekansı 0.9878 olarak saptanırken, $\Delta 32$ allel frekansı 0.0122 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4-4).

PLT değeri 20.000 altı olan 51 KKKA hastasının tamamında *CCR5/CCR5* genotipi bulundu. PLT değeri 20.000 üstü olan 82 KKKA hastasından 79'unda (%96.34) *CCR5/CCR5* genotipi bulunurken, 3'ünde (%3.66) *CCR5/CCR5* $\Delta 32$ genotipi bulundu. PLT değeri 20.000 üstü olan KKKA hastalarında *CCR5* allel frekansı 0.9817 olarak bulunurken, $\Delta 32$ allel frekansı 0.0183 olarak bulundu (Tablo 4-5).

aPTT değeri 60 sn üstü olan 22 KKKA hastasının tamamında homozigot *CCR5* genotipi tespit edildi. aPTT değeri 60 sn altında olan 111 KKKA hastasından 108'inde (%97.30) homozigot *CCR5* genotipi saptanırken, 3'ünde (%2.70) heterozigot genotip bulundu. aPTT değeri 60 sn altı olan 111 hastada *CCR5* allel frekansı 0.9865 olarak bulunurken, $\Delta 32$ allel frekansı 0.0135 olarak bulundu (Tablo 4-6).

Ex olan 11 KKKA hastasının tamamı homozigot *CCR5* genotipine sahiptir. Şifa olan 122 KKKA hastasından 119'u (%97.54) homozigot *CCR5* genotipine sahipken, 3'ü (%2.46) heterozigot genotipe sahiptir. Şifa olan 119 KKKA hastasında *CCR5* allel frekansı 0.9827 olarak tespit edilirken, *CCR5* $\Delta 32$ allel frekansı 0.0123 olarak tespit edildi (Tablo 4-7).

Çalışmamızdaki sonuçlarda mutasyon saptanmayan hasta grubunda serum ALT ve AST değerleri mutasyonlu grupla karşılaştırıldığında yüksek değerler bulundu fakat aradaki fark anlamlı değildi. İstatistiksel açıdan bu fark anlamlı olmasada mutasyonun ALT ve AST düzeylerini azalttığı görüldü. Mutasyonun inflamasyona etkisi sonucu ALT ve AST düzeyleri de düşük görülmektedir. Aynı ilişki aPTT içinde düşünülebilir.

Sonuç olarak, çalışmamızda test edilen Kırım-Kongo kanamalı ateşi hastalarında *CCR5* $\Delta 32$ mutant allelinin varlığı ile bu hastalık arasında bir ilişki kurmanın zor olduğu gözükmemektedir. Çalışmamızdaki Kırım-Kongo kanamalı ateşi hastalarının düşük sayıda olması nedeniyle mutant allel ve bu hastalık arasında doğrudan ve dolaylı bir bağlantı kurmak güçtür. Lakin *CCR5* $\Delta 32$ alleli bulunduran hastalara kliniği hafif seyreden olgularda rastlanması sebebiyle bu mutasyonun KKKA hastalığına direnç

oluşturabileceğini dūřündürmektedir. Tūrk ve Dūnya literatūründe *CCR5* $\Delta 32$ gen mutasyonu ile KKKA hastalığı arasındaki ilişkiyi inceleyen herhangi bir çalışmanın olmaması sonuçlarımızın önemini arttırmaktadır. Ayrıca bu hastalıkta daha fazla hasta içeren örneklemler üzerinde polimorfizm çalışmaları yapılmasına ihtiyaç doğmuştur. Yapılacak alışmalar, KKKA hastalığının patogenezinde ve prognozunda *CCR5* $\Delta 32$ mutasyonunun ve diğer polimorfizlerin rolünü ortaya çıkararak hastalığın tedavisine yardımcı olabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Anonymous: Management of patients with suspected viral hemorrhagic fever, MMWR 1988;37(S-3):1-16
2. Jahrling, P.B., Nichol, S.T., Rollin, P.E., Ksiazek, T.G., 2003. Filoviruses and Arenaviruses. In: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Tenover, M.C., Tenover, M.A., eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington, DC: ASM Press, 2003: 1570.
3. Özkuyumcu, C. Viral zoonozlar. Ustaçelebi, Ş., Abacıoğlu, H., Badur, S., et al., 2004. Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji'de, Ankara: Güneş Kitabevi 2004:293
4. Bakır, M.,2004. Kırım-Kongo hemorajik ateşi, ANKEM Derg 2004;18(Ek 2):90-93
5. Yapar, M., Aydoğan, H., Pahsa, A, Beşirbellioğlu, B.A., Bodur, H., Başustaoğlu, A., Güney, C., Avcı, İ.Y., Şener, K., Abu Setteh, M., Kubar, A., 2005. Rapid and quantitative detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by one-step real-time reverse transcriptase-pcr. Jpn Infect Dis.2005: 58:358-362.
6. Bossi, P., Tegnell, A., Baka, A., Van Loock, F., Hendriks, J., Werner, A., Maidhoff, H., Gouvras, G., 2004. Task Force on Biological and Chemical Agent Threats, Public Health Directorate, European Commission, Luxemburg. Bichat Guidelines for the Management of Haemorrhagic Fever Viruses and Bioterrorism-Related Haemorrhagic Fever Viruses. Euro Surveill. 9(12): E11-E12.
7. Burt, F.J., Swanepoel, R., 2005. Molecular Epidemiology of African and Asian Crimean-Congo Haemorrhagic Fever Isolates. Epidemiol Infect. 133(4): 659-666
8. Elaldi, N., Kaya, S., Dokmetas, I., 2007. Markedly Elevated Serum Cytokine Levels and High Viral Titers in Fatal Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF). 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), Chicago, Illinois, USA, Congress Book:482.
9. Ergonul, O., 2012. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: new outbreaks, new discoveries, Curr Opin Virol. 2012 Apr;2(2):215-20
10. Çağlar, M., Kansu, E., 2004. Kemokinler, Kemokin reseptörleri ve inflamasyon. Ankem Derg 2004; 18:164-8.
11. M, Zeremski., Petrovic, L.M., Talal, A.H., 2007. The role of chemokines as inflammatory mediators in chronic hepatitis C virus infection. Journal of Viral Hepatitis 2007;14:675-687.

12. Baggiolini, M., Loetscher, P., 2000. Chemokines in inflammation and immunity. *Immunol Today* 2000;21:418-20.
13. Lodi, P.J., Garrett, D.S., Kuszewski, J., Tsang, M.L., Weatherbee, J.A., Leonard, W.J., et al., 1994. High-resolution solution structure of the beta chemokine MIP by multidimensional NMR. *Science* 1994;263:1762-7.
14. Samson, M., Libert, F., Doranz, B.J., Rucker, J., Liesnard, C., Farber, C.M., Saragosti, S., Lapoumaroulie, C., Cognaux, J., et al., 1996. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCRC chemokine receptor gene. *Nature*, 382, 722-725.
15. Hütter, G., Neumann, M., Nowak, D., Klein, S., Klüter, H., Hofmann, W.K., 2011. The effect of the CCR5 delta32 deletion on global gene expression considering immune response and inflammation. *Journal of Inflammation*, 2011; 8:2
16. Wald, O., Pappo, O., Ari, Z.B., Azzaria, E., Wiess, I.D., Wald, H., et al., 2004. CCR5 delta32 allele is associated with reduced liver inflammation in hepatitis C virus infection. *European Journal of Immunogenetics* 2004;31:249-52.
17. Mascheretti, S., Hinrichsen, H., Ross, S., Buggisch, P., Hampe, J., Foelsch, U.R., et al., 2004. Genetic variants in the CCR5 gene cluster and spontaneous viral elimination in hepatitis C infected patients. *Clin Exp Immunol* 2004; 136:328-33.
18. Goulding, C., Murphy, A., MacDonald, G., Barrett, S., Crowe, J., Hegarty, J., et al., 2005. The CCR5 delta32 mutation: impact on disease outcome individuals with hepatitis C infection from a single source. *Gut* 2005; 54: 1157-61.
19. Rouhou, L., Gorgi, K. C., Skhiri, Y.L., Aouadi, H.A., Jendoubi-Ayed, H., Sfar, S., Ayed, I., Abdallah, K., 2011. Chemokine and Chemokine Receptor Gene Polymorphism in Tunisian Hemodialysis Patients with HCV Infection. *Arab Journal of Nephrology and Transplantation*. 2011:Sep;4(3):117-24
20. de-Oliveira-Pinto, L.M., Marinho, C.F., Pova, T.F., de-Azeredo, E.L., de Souza L.A., Barbosa, L.D., et al., 2012. Regulation of inflammatory chemokine receptors on blood T cells associated to the circulating versus liver chemokines in dengue fever. *PLoS One* 2012; 7:e38527.
21. Ergonul, O., Tuncbilek, S., Baykam, N., Celikbas, A., et al., 2006. 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; 193:941-944.

22. Ergönül, Ö., 2006. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis*, 2006;6:203–214
23. Whitehouse, C.A., 2004. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res* 2004; 64:145–160
24. Watts, D.M., Ksiazek, T.G., Linthicum, K.J., Hoogstraal, H., 1988. Crimean-Congo hemorrhagic fever, “Monath TP (ed): *The Arboviruses, Epidemiology and Ecology*” kitabında 1988,s.177-222, CRC Press, Boca Raton, FL
25. Hoogstraal, H., 1979. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol.* 1979 May 22;15(4):307-417
26. Bodur, H., 2007. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi ve DAS yönetimi. 5. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi. Antalya 2007. S.509-520
27. Chumakov, M.P., Butenko, A.M., Chalunova, N.V., et al., 1968. New data on the virus causing Crimeanhaemorrhagic fever. *Vop Virusol* 1968; 13: 377
28. Simpson, DIH., 1978. Viral haemorrhagic fevers of man. *Bull Wld Hlth Org* 1978; 56: 819-32
29. Elaldı, N., 2004. Kırım-Kongo Hemorajik Ateşi Epidemiyolojisi. *Klimik Dergisi* 2004;17 (3):151-155
30. Simpson, DIH., Knight, E.M., Courtois, G., Williams, M.C., Weinbern, M.P., Kibukamusoke, J.W., 1967. Congo virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa. *Human isolations-clinical notes. East Afr Med J* 1967; 44: 87
31. Flick, R., Whitehouse, C.A., 2005. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Curr Mol Med.* 2005 Dec;5(8):753-60
32. Hewson, R., Chamberlain. J., Mioulet, V., et al., 2004. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: sequence analysis of the small RNA segments from a collection of viruses world wide. *Virus Research* 2004, 102:185-189
33. Elliott, R.M., Schmaljohn, C.S., Collett, M.S., 1991. Bunyaviridae genome structure and gene expression, *Curr Top Microbiol Immunol* 1991;169:91-141
34. Murphy, F.A., Harrison, A.K., Tzianabos, T., 1968. Electron microscopic observations of mouse brain infected with Bunyamwera group arboviruses. *J Virol* 1968; 2:1315-25.

35. <http://www.infectionlandscapes.org/2012/10/crimeancongo-hemorrhagic-fever.html>, 15/08/2014 .
36. Haferkamp. S., Fernando, L., Schwarz, T.F., Feldmann, H., et al., 2005. Intracellular localization of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus glycoproteins. *Virology* 2005; 2:42.
37. Morikawa, S., Saijo, M., Kurane, I., 2007. Recent progress in molecular biology of Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 30:375-389
38. Elliott, R.M., 1997. Emerging viruses: the Bunyaviridae. *Mol Med.* 1997 Sep;3(9):572-7
39. Schmaljohn, C.S., Hooper, J.W., 2001. Bunyaviridae: the viruses and their replication. In: Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds.), *Fields Virology*, vol. 1, fourth ed. 2001, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 1581–1602
40. Anonymous, 1999. Diagnostic tests for crimean congo haemorrhagic fever [CCHF] in atites. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare, 19 October.
41. Mehlhorn, H., 2004. Ticks as vectors of agents of man diseases. *Encyclopedic Reference of Parasitology. Second Edition, Online-Version: Informatik II.* <http://parasitology.informatik.uni-wuerzburg.de /login/n/h/2129.html>. Mekonen, S., 2000.
42. Despommier, D.D., Gwadz, R.W., Hotez, P.J, Knirsch, C.A., 2000. *Parasitic Diseases*, 4.ed, Apple Trees Prod, New York
43. Jongejan, F., Uilenberg, G., 2004. The global importance of ticks, *Parasitology* 2004;129(Suppl):S3-14.,
44. Labuda, M., Nuttall, P.A., 2004. Tick-borne viruses, *Parasitology* 2004;129 (Suppl): S221-45
45. Aiello, S.E., Mays, A., 2004. *Ixodes ricinus*. <http://www.cfsph.iastate.edu>.
46. Anonymous, 2004a. Better pest control. <http://www.Betterpestcontrol.Com/Tick.Html>.
47. Gargılı, A., 2009. Kenelerin vektörlüğü ve Türkiye’de durum, *ANKEM Derg* 2009;23(Ek 2):249-252

48. Balashov, Y.S., 2005. Bloodsucking insects and ticks and mites, vectors of transmissible infections of humans and domestic animals, *Entomol Rev* 2005;58:990-1007.
49. Barker, S.C., Murrell, A., 2004. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names, *Parasitology* 2004;129(Suppl):15-36.
50. Sparagano, O., Allsop, M.T., Mank, R.A., Rijpkema, S.G., Figuerova, J.V., Jongejan, F., 1999. Molecular detection of pathogen DNA in ticks (Acari: Ixodidae): a review, *Exp Appl Acarol* 1999;23(12):929-60
51. Bursalı, A., Özkan, M., Tekin, Ş., 2008. Tokat ve Civarı Sert Kenelerinin Sistematik Yönden İncelenmesi, 19. Ulusal Biyoloji Kongresi 23-27 Haziran 2008. Trabzon. s. 345.
52. Bursalı, A., Tekin, Ş., Keskin, A., Ekici, M., DüNDAR, E., 2010. Species Diversity of Ixodid Ticks Feeding on Humans in Amasya, Turkey: Seasonal Abundance and Presence of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus., *Journal of Medical Entomology* Vol. 48, no. 1
53. Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF)
31/03/2014 http://www.who.int/csr/disease/crimean_congoHF/en/
54. Yen, Y.C., Kong, L.X., Lee, L., Zhang, Y.Q., Li, F., Cai, B.J., Gao, S.Y., 1985. Characteristics of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (Xinjiang strain) in China. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34: 1179-82
55. Anonim, 2010. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Bilimsel Değerlendirme Raporu. Türk Tabipleri Birliği no:1, Ankara
56. Simpson, D.H., Knight, E.M., Courtois, G., Williams, M.C., Weinbern, M.P., Kibukamusoke, J.W., 1967. Congo virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa. Human isolations-clinical notes. *East Afr Med J* 1967; 44: 86-92.
57. <http://www.yenimakale.com/makale-resim/YeniMakale-kenenin-hayat-dongusu.JPG>
15/02/2015
58. Altaf, A., Luby, S., Ahmed, A.J., et. al., 1998. Outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Quetta, Pakistan: contact tracing and risk assessment. *Trop Med Int Health* 1998; 3: 878-82.
59. Country report Pakistan. Vector-borne diseases in Pakistan. Inter-Country workshop on developing a regional strategy for integrated vector management for malaria and other vector-borne diseases, Khortoum, Sudan, 2003: 21-3.

60. World Health Organization: Viral hemorrhagic fever, Pakistan, Wkly Epidemiol Rec 1976;51(33):261-2.)
61. Capua I: Crimean-Congo haemorrhagic fever in ostriches: A public health risk for countries of the European Union? Avian Pathology 1998;27(2):117-20(A27)
62. LeDue, J.W., 1989. Epidemiology of hemorrhagic fever viruses. Rev Infect Dis 1989; 11(Suppl. 11):730-735
63. Akıncı, E., 2008. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi: Korunma ve Kontrol, II. Türkiye Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu Kitabı, 2008;79-87
64. Karti, S.S., Odabasi, Z., Kortan, V., 2004. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. Emerg Infect Dis 2004, 19, 1379-1384
65. Acar, A., 2006. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi, TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni 2006;5(4):287-295
66. Hoogstraal, H., 1979. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. J Med Entomol, 15(1), 307-417.
67. Oldfield, EC., 3rd, Wallace, M.R., Hyams, K.C., Yousif, A.A., Lewis, D.E., Bourgeois, A.L., 1991. Endemic infectious diseases of the Middle East. Rev Infect Dis 1991;13 (Suppl 3): 199-217
68. Altaf, A., Luby, S., Ahmed, A.J., Zaidi, M., Khan, A.J., Mirza, S., McCormick, J., Fischer-Hoch, S., 1998. Outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Quetta, Pakistan: contact tracing and risk assesment, Trop Med Int Health 1998;3(2):878-82
69. World Health Organization: Viral hemorrhagic fever in Iraq confirmed as Congovirus, Wkly Epidemiol Rec 1979;54:No.46
70. Suleiman, M.N., Muscat-Baron, J.M., Harries, J.R., Satti, A.G., Platt, G.S., Bowen, E.T., Simpson, D.I., 1980. Congo/Crimean haemorrhagic fever in Dubai. An outbreak at the Rashid hospital, Lancet 1980;2:939-41.,
71. Vaneeden, P.J., Joubert, J.R., Van-deWal, B.W., King, J.B., deKocka ,Groenewald, J.H., 1985. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part I. Clinical features, SAfr Med J 1985;68(10):711-7
72. Shepherd, A.J., Swanepoel, R., Shepherd, S.P., Leman, P.A., Blackburn, N.K., Hallet, A.F., 1985. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever

at Tygerberg Hospital. Part V. Virological and serological observations. *S Afr Med J.* 1985; 68: 733 – 736

73. Weber, D.J., Rutala, W.A., 2001. Risks and prevention of nosocomial transmission of rare zoonotic diseases. *Clin Infect Dis.* 2001; 32: 446 – 456.
74. Centers for Disease Control (CDC). Management of patients with suspected viral hemorrhagic fever. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1988; 37(suppl 3):1 – 16.).
75. Gear, J.H., 1989. Clinical aspects of African viral hemorrhagic fevers, *Rev Infect Dis* 1989;11 (Suppl 4):S777-82,
76. Mammen, E.F., 2000. Disseminated intravascular coagulation. *Clin Lab. Sci.* 2000;13:239-245.
77. Geisbert, T.W., Jahrling, P.B., 2004. Exotic emerging viral diseases: progress and challenges. *Nat Med.* (Suppl 12):110-21.
78. Akıncı, E., Bodur, H., Leblebicioğlu, H., 2013. Pathogenesis of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, vector-borne and zoonotic diseases, Volume 13, Number X, Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/vbz.2012.1061
79. Connolly-Andersen, A.M., Douagi, I., Kraus, A.A., Mirazimi, A., 2009. Crimean Congo hemorrhagic fever virus infects human monocyte-derived dendritic cells. *Virology* 2009; 390:157–162.,
80. Peyrefitte, C.N., Perret, M., Garcia, S., Rodrigues, R., et al., 2010. Differential activation profiles of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus and Dugbe virus-infected antigen-presenting cells. *J Gen Virol* 2010; 91:189–198
81. Burt, F.J., Swanepoel, R., Shieh, W.J., Smith, J.F., et al., 1997. Immunohistochemical and in situ localization of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus in human tissues and implications for CCHF pathogenesis. *Arch Pathol Lab Med* 1997;121:839–846
82. Ardalan, M.R., Tubbs, R.S., Chinikar, S., Shoja, M.M., 2006. Crimean-Congo haemorrhagic fever presenting as thrombotic microangiopathy and acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 21(8): 2304–2307
83. Cagatay, A., Kapmaz, M., Karadeniz, A., Basaran, S., et al., 2007. Haemophagocytosis in a patient with Crimean Congo haemorrhagic fever. *J Med Microbiol* 2007; 56:1126–1128

84. Tasdelen, Fisgin, N., Fisgin, T., Tanyel, E., Doganci, L., et al., 2008. Crimean-Congo hemorrhagic fever: five patients with hemophagocytic syndrome. *Am J Hematol* 2008; 83:73–76
85. Favara, B.E., 1992. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: A hemophagocytic syndrome. *Semin Diagn Pathol* 1992; 9:63–74.
86. Fisman, D.N., 2000. Hemophagocytic syndromes and infection. *Emerg Infect Dis* 2000;6:601–608,
87. Watson, D.C., Sargianou, M., Panos, G., 2012. Interleukin-12 (IL-12)/IL-10 ratio as a marker of disease severity in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Clin Vaccine Immunol.* 2012 May;19(5):823-4. doi: 10.1128/CVI.00030-12
88. Bino, S., Papa, A., Velo, E., et al., 2006. Cytokine levels in Crimean- Congo hemorrhagic fever. *J Clin Virol* 2006; 36(4): 272- 276.
89. Peters, C.J., Zaki, S.R., 2002. Role of the endothelium in viral hemorrhagic fevers. *Crit Care Med* 2002; 30: S268-73.
90. Cevik, M.A., Erbay, A., Bodur, H., Gülderen, E., et al., 2008. Clinical and laboratory features of Crimean-Congo hemorrhagic fever: Predictors of fatality. *Int J Infect Dis* 2008; 12:374–379.
91. Chen, J.P., Cosgriff, T.M., 2000. Hemorrhagic fever virus–induced changes in hemostasis and vasculer biology. *Blood Coagulation and Fibrinol.* 11 (5): 461–483.,
92. Swanepoel, R., Gill, D.E., Shepherd, A.J, Leman, P.A., et al.,1989. The clinical pathology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis* 1989; 11(Suppl 4):S794–S800.
93. Bakir, M., Ugurlu, M., Dokuzoguz, B., Bodur, H., et al., 2005. Turkish CCHF Study Group. Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: A multicentre study of clinical features and outcome measures. *J Med Microbiol* 2005; 54:385–389.
94. Ergonul, O., Celikbas, A., Baykam, N., Eren, S., et al., 2006. Analysis of riskfactors among patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection: Severity criteria revisited. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12:551–554.
95. Bente, D.A., Alimonti, J.B., Shieh, W.J., Camus, G., et al., 2010. Pathogenesis and immune response of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in a STAT-1 knockout mouse model. *J Virol* 2010;84:11089–11100

96. Rodrigues, R., Paranhos-Baccala, G., Vernet, G., Peyrefitte, C.N., 2012. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus-infected hepatocytes induce ER-stress and apoptosis crosstalk. *PLoS One* 2012;7:e29712.
97. Baskerville, A., Satti, A., Murphy, F.A., Simpson, D.I., 1981. Congo-Crimean haemorrhagic fever in Dubai: Histopathological studies. *J Clin Pathol* 1981; 34:871–874.
98. Hatipoglu, C.A., Bulut, C., Yetkin, M.A., Ertem, G.T., et al., 2010. Evaluation of clinical and laboratory predictors of fatality in patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever in a tertiary care hospital in Turkey. *Scand J Infect Dis* 2010; 42:516–521.
99. Paes, M.V., Pinhao, A.T., Barreto, D.F., Costa, S.M., et al., 2005. Liver injury and viremia in mice infected with dengue-2 virus. *Virology* 2005; 338:236–246.
100. Paes, M.V., Lenzi, H.L., Nogueira, A.C.M., Nuovo, G.J., 2009. Hepatic damage associated with dengue-2 virus replication in liver cells of BALB/c mice. *Laboratory Invest* 2009; 89: 1140–1151.
101. Warfield, K.L., Bradfute, S.B., Wells, J., Lofts, L., et al., 2009. Development and characterization of a mouse model for Marburg hemorrhagic fever. *J Virol* 2009; 83:6404–6415.
102. Joubert, J.R., King, J.B., Rossouw, D.J., Cooper, R., 1985. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part III. Clinical pathology and pathogenesis. *S Afr Med J* 1985; 68:722–728.
103. Saijo, M., Qing, T., Niikura, M., et al., 2002. Recombinant nucleoprotein-based enzymelinked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G antibodies to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Clin Microbiol* 2002; 40:1587–1591.,
104. Saijo, M., Qing, T., Niikura, M., et al., 2002. Immunofluorescence technique using Hela cells expressing recombinant nucleoprotein for detection of immunoglobulin G antibodies to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Clin Microbiol* 2002; 40:372–375.).
105. Papa, A., Christova, I., Papadimitriou, E., Antoniadis, A., 2004. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Bulgaria. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10, 1465-1467.
106. Papa, A., Bino, S., Llagami, A., et al., 2002. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Albania 2001. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21:603–606.

107. Nabeth, P., Cheikh. D.O., Lo, B., et al., 2004. Crimean-Congo hemorrhagic fever, Mauritania. *Emerg Infect Dis* 2004; 10:2143–2149
108. Ergonul, O., Celikbas, A., Dokuzoğuz, B., Eren, S., Baykam, N., Esener, H. , 2004. Characteristics of Patients with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in a Recent Outbreak in Turkey and Impact of Oral Ribavirin Therapy. *Clin Infect Dis* 2004;39:284-7
109. Charrel, R.N., Attoui, H., Butenko, A.M., et al., 2004. Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10:1040–1055.
110. Duh, D., Saksida, A., Petrovec, M., et al., 2006. Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. The sensitivity, specificity, and rapidity of real time PCR are studied in the endemic area of Balkans, *J Virol Methods* 2006; 133:175–179.
111. Anonymous: Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi T.C Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü yayınları, Ankara (2004), 1-23
112. Athar, M.N., Baqai, H.Z., Ahmad, M., Khalid, M.A, Bashir, N., Ahmad, A.M., et al., 2003. Short report: Crimean-Congo hemorrhagic fever outbreak in Rawalpindi, Pakistan. *Am J Trop Med Hyg.* 2003; 69: 284 – 287.).
113. Swanepoel, R., Shepherd, A.J., Leman, P.A., et al., 1987. Epidemiologic and clinical features of Crimean-Congo hemorrhagic fever in southern Africa. *Am J Trop Med Hyg* 1987; 36:120–132
114. Fisher-Hoch, S.P., 2005. Lessons from nosocomial viral haemorrhagic fever outbreaks. *Br Med Bull* 2005; 73-74:123–137.
115. Celikbaş, A., Ergönül, O., Dokuzoğuz, B., Eren, S., Baykam, N., Polat-Düzgün, A., 2005. Crimean Congo hemorrhagic fever infection simulating acute appendicitis. *J.Infect.* 2005 May;50(4):363-5
116. Bodur, H., Akıncı, E., Ascioğlu, S., Öngürü, P., Uyar, Y., 2012. Subclinical infections with Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Turkey, *Emerg Infect Dis.* 2012 Apr;18(4):640-2).
117. Ergönül, Ö., 2009. Kırım Kongo kanmalı ateşi, *ANKEM Derg* 2009;23(Ek 2):234-240,
118. Centers for Disease Control and Prevention. Viral hemorrhagic fever: initial management of suspected and confirmed cases. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1983; 32(Suppl 2):27S-38S.

119. Wilke Topçu, A. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi İstanbul 2008 s: 1251-1265
120. Us D. Arboviruslar. In: Ustaçelebi, Ş., ed. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 957-65.
121. Knowles, S.R., Phillips, E.J., Dresser, L., Matukas, L., 2003. Common adverse events associated with the use of ribavirin for severe acute respiratory syndrome in Canada. *Clin Infect Dis.* 2003; 15;37(8):1139-42.
122. Marquardt, W.C., Demaree, R.S., 1985. *Parasitology* s.600-16, McMillan Publishing Co., New York.
123. Kubar, A., Hacıomeroglu, M., Ozkul, A., Bagriacik, U., Akinci, E., Sener, K., Bodur, H., 2011. Prompt administration of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) Virus Hyperimmunoglobulin in patients diagnosed with CCHF and viral load monitorization by reverse Transcriptase-PCR. *Jpn J. Infect. Dis.* 2011. 64, 439-443.
124. Vorou, R., Pierrotsakos, I.N., Maltezou, H.C., 2007. Crimean-Congo hemorrhagic fever, *Curr Opin Infect Dis.* 2007 Oct;20(5):495-500
125. Taşyaran, M.A., Özkurt, Z., 2004. Kırım-Kongo Hemorajik Ateşi: Tedavi ve Korunma, *Klinik Dergisi • Cilt 17, Sayı:3 • 2004, s:157-160*.
126. Centers for Disease Control and Prevention. Update: management of patients with suspected viral haemorrhagic fever, United States. *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep* 1995; 44(25): 475-9.
127. Centers for Disease Control and Prevention. Infection control for viral haemorrhagic fever in the African health care setting <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/vhfmanual.html>
128. Tarantola, A., Ergonul, O., Tattevin, P., 2007. Estimates and Prevention of Crimean Congo hemorrhagic fever risks for health care workers, “Ergonul O, Whitehouse CA (eds): Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective” kitabında 2007, s.281-94, Springer, Dordrecht
129. World Health Organization. The ribavirin recommended treatment for Crimean-Congo haemorrhagic fever patients. Document of WHO Global Alert and Response Team (CSR/GAR), Dangerous and New Pathogens Group (DNP)
130. Keshtkar-Jahromi, M., Kuhn, J.H., Christova, I., Bradfute, S.B., Jahrling, P.B., Bavari, S., 2011. Crimean-Congo hemorrhagic fever: current and future prospects of vaccines and therapies. *Antiviral Res* 2011, 90:85-92.

131. Papa, A., Papadimitriou, E., Christova, I., 2011. The Bulgarian vaccine Crimean-Congo haemorrhagic fever virus strain. *Scandj Infect Dis* 2011, 43:225-229
132. Crimean-Congo hemorrhagic fever: epidemiological trends and controversies in treatment, Helena C Maltezou and Anna Papa, Maltezou and Papa *BMC Medicine* 2011, 9:131.
133. Centers for Disease Control and Prevention:238 Bioterrorism, 2005, <http://www.bt.cdc.gov/Agent/Agentlist.asp>
134. http://www.niaid.nih.gov/dmid/biodefense/bandc_priority.htm National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). NIAID Category A, B & C Priority Pathogens.
135. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Biological agents and Diseases. <http://www.bt.cdc.gov/agent/agentlist.asp>
136. Erkasar-Çıtak, F., Çıtak, E.Ç., Karadeniz, C.,. 2002. Kemokinler ve Hastalıklardaki Yeri. *T Klinik Tıp Bilimleri* 2002; 22: 210-16.
137. Dinçer, D., 2005. Kronik Viral Hepatitler. *Mayo Klinik Gastroenteroloji ve Hepatoloji*. Çeviri ed; Ahmet Danalıoğlu, Fatih Beşışık. 1. baskı 2005:317-26.
138. Lindley, I.J.D., Westwick, J., Kunkel, S.L., 1993. Nomenclature announcement the chemokines. *Immunol. Today*, 14-24.1993.
139. Oppenheim, J.J., Zachariae, C.O.O., Mukaida, N., Matsushima, K., 1991. Properties of the novel proinflammatory supergene “intercrine” cytokine family. *Annu. Rev. Immunol.* 9, 617-648.
140. Baggiolini, M., Loetscher, P., 2000. Chemokines in inflammation and immunity. *Immunol. Today*, 21, 418-420.
141. Nomiya, H., Osada, N., Yoshie, O., 2011. A family tree of vertebrate chemokine receptors for a unified nomenclature. *Development and Comparative Immunology* 35 (2011, 705-715).
142. Luster, A.D., Unkeless, J.C., Rauetch, J.V., 1985. Gamma interferon transcriptionally regulates and early response gene containing homology to platelet proteins. *Nature*, 3,5, 672-676.
143. Bachelier, F., Baruch, A., Burkhardt, A.M., Combadiere, C., Farber, J.M., Graham, G.J., Horuk, R., Sparre-Ulrich, A., Locati, M., Luster, A.D., et. al., 2014. International Union of Pharmacology. LXXXIX. Update on the Extended

Family of Chemokine Receptors and Introducing a New Nomenclature for Atypical Chemokine Receptors. *Pharmacol Rev* 66:1–79, January 2014

144. McNicholl, J.M., Smith, D.K., Quari, S.H., Hodge, T., 1997. Host genes and HIV: the role of the chemokine receptor gene CCR5 and its allele ($\Delta 32$ CCR5). *Emerging Infectious Diseases*; Vol 3, No.3; 261-269.
145. Loetscher, P., Seitz, M., Baggiolini, M., Moser, M., 1996. Interleukin-2 regulates CC chemokine receptor expression and chemotactic responsiveness in T lymphocytes. *J Exp Med* 1996;184:569-77.
146. Sica, A., Saccani, A., Borsatti, A., Power, C.A., Wells, T.N., Luini, W., et al., 1997. Bacterial lipopolysaccharide rapidly inhibits expression of C-C chemokine receptors in human monocytes. *J Exp Med* 1997;185:969-74.
147. Murphy, P.M., Baggiolini, M., Charo, I.F., Hebert, C.A., Horuk, R., Matsushima, K., Miller, L.H., Oppenheim, J.J., Power, C.A., 2000. International Union of Pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacological Reviews*, 52, 145-176.
148. Amara, A., Vidy, A., Boulla, G., Mollier, G., Garcio-Perez, J., Akami, J., Blanpain, C., Parmentier, M., Virelizier, J.L., Chameau, P., Arenzana-Seisdedas, F., 2003. G Protein-Dependent CCR5 Signaling Is Not Required for Efficient Infection of Primary T Lymphocytes and Macrophages by R5 Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates *J. Virol.*, 77, 2550-2558.
149. O'Brien, S.J., Moore, J.P., 2000. The effect of genetic variation in chemokines and their receptors on HIV transmission and in progression to AIDS. *Immunologic Reviews* Vol., 177, 99-111.
150. Jiang, P.J., Lin, Q.D., Bao, S.M., Zhao, A.M., Zhang, Y., Xiao, S.J., 2009. Relationship between expression of chemokine receptors CCR3, CCR5 and CXCR3 on CD4+T cells and spontaneous abortion in mice. *Chin, Med. J.* , 122(4): 390-395.
151. Bajetto, A., Bonavia, R., Barbero, S., Schettini, G., 2002. Characterization of chemokines and their receptors in the central nervous system: Physiopathological implications. *Journal of Neurochemistry*, 82, 1311-1329.
152. Mueller, A., Strange, P.G., 2004. Molecules in focus The chemokine receptor, CCR5. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 36, 35-38.
153. Luster, A.D., 1998. Chemokines-chemotactic cytokines that mediated inflammation. *N Engl J Med* 1998; 338: 436-45.

154. Horuk, R., Chitnis, C.E., Darbonne, W.C., 1993. A receptor for the malarial parasite *Plasmodium vivax*: the erythrocyte chemokine receptor. *Science* 1993;261:1182-4.
155. Oberlin, E., Amara, A., Bacheleire, F., 1996. The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-lineadapted HIV-1. *Nature* 1996;382:833-5.
156. Lahrtz, F., Piali, L., Nadal, D., 1997. Chemokines in viral meningitis: chemotactic cerebrospinal fluid factors include MCP-1 and IP-10 for monocyte and active T lymphocytes. *Eur J Immunol* 1997;27:2484-9.
157. Lüleci, G., Sakızlı, M., Alper, Ö., 1995. Renkli Genetik Atlası ISBN: 975-420-035-1.
158. Database. [http://zehirlenme.blogspot.com/2010/10/polimorfizm nedir.html](http://zehirlenme.blogspot.com/2010/10/polimorfizm%20nedir.html)
159. Peterson, D.C., Katze, M.J., Zeier, M.D., 2001. Novel mutations indentified using a comprehensive CCR5-denaturing gradient gel electrophoresis assay. *AIDS*, 15, (2): 171-177.
160. Arenzona-Seisededos, F., Parmentier, M., 2006. Genetics of resistance to HIV infection: role of co-receptors and co-receptor ligands. *Semin Immunol.*, 18(6): 387-403.
161. Paxton, W.A., Martin, S.R., Tse, D., O'Brien, T.R., Skumick, J., VanDevanter, N.L., Padian N., Braun, J.F., Katler, D.P., Wolinsky S.M., Koup R.A., 1996. Relative resistance to HIV-1 İnfection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure, *Nat. Med.*, 2(4): 412-417.
162. Pehlivan, S., Özkinay, F., Alper, S., Onay, H., Yüksel, E., Pehlivan, M., Özkinay, C., 2009. Association between IL4(-590), ACE (I)/(D), CCR5(Δ)32, CTLA4 (+49) and IL1-RN (VNTR in intron 2) gene polymorphism and vitiligo. *Eur. J.Dermatol.*, 19(2): 126-128.
163. Değerli, N., Yılmaz, E., Bardakçı, F., 2005. The Δ 32 allele distribution of the CCR5 gene and its relationship with certain cancers in a Turkish population. *Science, clinicial Biochem clinicial Biochemistry*, 38, 248-252.
164. Meulemer, M., Whitworth, A.J., Armstrong-Gold, C.E., Rizzu, P., Heutink, P., Wes, P.D., Pallanck, L.J., Bonini, N.M., 2005. *Drosophila* DJ-1 mutants are selectively sensitive to environmental toxins associated with Parkinson's disease. *Curr, Biol.*, 15, 1572-1577.

165. Blanpain, C., Libert, F., Vassart, G., Parmentier, M., 2002. CCR5 and HIV infection. *Receptor channel*, 8, 19-31.
166. Yiğit, B., Bozkurt, N., Berber, I., Titiz, I., Isbir, T., 2007. Analysis of CC chemokine receptor 5 and 2 polymorphisms and renal transplant survival. *Cell. Biochem*, 25, 423-426.
167. Yang, X., Ahmad, T., Gogus, F., Wallace, G.R., Madonat, W., Kanawat, C.A., Stranford, M.R., Fortune, F., Jewell, D.P., Marshall, S.E., 2004. Analysis of the chemokine receptor 5 (CCR5) Δ 32 polymorphism in Behçet's disease. *Eur. J. Immunogenet.*, 31, 11-14.
168. Promrat, K., McDermott, D.H., Gonzales, C.M., Kleiner, D.E., Lessie, M., Koziol D.E., et al., 2003. Associations of chemokine system polymorphisms with clinical outcomes and treatment responses of chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2003; 124:352.
169. Hadidi, A.L., Levy-Podleskis, E.V., 1995. Polymerase chain reaction technology in plant pathology. In: *Molecular Methods in Plant Pathology*, pp.167-187. Eds. R. P. Singh, U. S. Singh. Boca Raton: CRS Press.
170. Watson, J.D., M. Gilman, J., Witkowski, M., 1992. The polymerase chain reaction In: *Recombinant DNA. Second Edition*. New York. 79-98.
171. Somma, M., Querci, M. Gıda örneklerinde genetiği değiştirilmiş organizma analizleri, bölüm 5, agaroz jel elektroforezi. JRC European Commission
172. Desgranges, C., Carvajal, P., Afani, A., Guzman, M., Sasco, A., Sepulveda, C., 2001. Frequency of CCR5 gene 32 base pair deletion in Chilean HIV-1 infected and noninfected individuals. *Immunology Letters*, 76, 115-117.
173. Duygu, F., Kaya, T., Baysan, P., 2011. Re-Evaluation of 400 Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Cases in an Endemic Area: Is Ribavirin Treatment Suitable? *Vector-borne and zoonotic diseases*, Volume 12, Number 9, 2012 DOI: 10.1089/vbz.2011.0694
174. Ergönül, Ö., 2006. Türkiye'de Yeni Bir Enfeksiyon: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi, cilt 15, sayı 6, 98-106
175. Lucotte, G., 2001. Distribution of the CCR5 Gene 32-Basepair Deletion in West Europe. A Hypothesis About the Possible Dispersion of the Mutation by the Vikings in Historical Times. *Human Immunology* 62, 933-936.
176. Papa, A., Papadimitriou, E., Adwan, G., Clewley, J.P., Malissiouas, N., Ntoutsos, I., Alexious, S., Antoniadis, A., 2000. HIV-1 co-receptor CCR5 and CCR2

mutations among Greeks. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*; 28: 87-89.

177. Marques. R.E., Guabiraba. R., SartoL. J., Froes, R., Queiroz, A.L., Cisalpino. D., Marques. P., Pacca. C.C., Fagundes. C., Menezes. G.V., et. al., 2015 .Dengue virus requires the CC-Chemokine Receptor 5 (CCR5) for replication and infection development Accepted Date : 30-Apr-2015 Article type : Original Article

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Duygu EKİNCİ
Doğum Tarihi/Yeri : 05.07.1986/ SİVAS
Yabancı Dili : İngilizce
Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/Program	Eğitim Kurumu	Yıl
Lise	Fen Bilimleri	Kazım Ayan Anadolu Lisesi	2000-2004
Lisans	Biyoloji	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi	2008-2012
Y.Lisans	Tıbbi Biyoloji	Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2012-2015