



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ'NDE
SAPTANAN HIV-1 İZOLATLARINDA SEKANS ANALİZİ YÖNTEMİ İLE ALT
GRUPLARIN SAPTANMASI**

İhsan DEVECİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. Yasemin ZER

Gaziantep
2016

T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ'NDE
SAPTANAN HIV-1 İZOLATLARINDA SEKANS ANALİZİ YÖNTEMİ İLE ALT
GRUPLARIN SAPTANMASI**

İhsan DEVECİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. Yasemin ZER

Gaziantep
2016

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ'NDE
SAPTANAN HIV-1 İZOLATLARINDA SEKANS ANALİZİ YÖNTEMİ İLE ALT
GRUPLARIN SAPTANMASI

İhsan DEVECİ

Tez Savunma Tarihi: 15.12.2016
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof.Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir "Yüksek Lisans" derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.



Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir "Yüksek Lisans" tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yasemin ZER
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir "Yüksek Lisans" tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof.Dr. Tekin KARSLIGİL

Prof.Dr. Ayşen BAYRAM

Prof.Dr. Yasemin ZER

İmzası


BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilen bütün bilgi ve yorumlamalara kaynak gösterdiğim ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışım olmadığı beyan ederim.

Aralık-2016

İhsan DEVECİ

TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca desteğini ve yardımlarını esirgemeyen başta tez danışman hocam Prof. Dr. Yasemin ZER'e, çalışmam aşamasında desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Murat SAYAN'a, eğitim sürecimde deneyimlerini ve bilgi birikimleri ile her türlü yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım, Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL ve Doç.Dr. Fahriye EKŞİ'ye teşekkür ederim.

Her anımda yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve sevgili eşim Zehra DEVECİ'ye, çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım ve laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Tarihçe.....	5
2.2. HIV Biyolojisi.....	6
2.3. Viral Genom Organizasyonu.....	8
2.4. Yapısal Proteinler.....	10
2.5. HIV'in replikasyon döngüsü (Şekil 3).....	14
2.6. HIV'in Enfekte Ettiği Hücreler.....	16
2.7. CCR5 ve CXCR4'ün Klinik Yansımaları.....	17
2.8. Füzyon sonrası olaylar.....	17
2.9. HIV ve Antijen Sunan hücreler.....	20
2.10. İmmünopatogenez.....	22
2.11. HIV Enfeksiyon Seyri.....	22
2.12. HIV'in İmmün Yanıttan Kaçış Mekanizmaları.....	27
2.13. HIV Enfeksiyonunun seyrini etkileyen konak faktörleri ve virolojik faktörler.....	29
2.14. Bulaşma.....	31
2.15. Epidemiyoloji.....	36
2.16. HIV'in Kliniği ve Laboratuvar Tanısı.....	43
2.17. Tedavi, Kontrol ve Korunma.....	49
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	53
3.1. Hasta Grubunun Belirlenmesi.....	53
3.2. HIV RNA testi.....	54
3.3. Filogenetik Analiz.....	56
3.4. Hastaların demografik ve özgeçmiş özellikler.....	57
3.5. İstatistik Analiz.....	57
4. BULGULAR.....	58
5. TARTIŞMA.....	64
7. SONUÇLAR.....	71
8. ÖNERİLER.....	72
9. KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	81

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. HIV’in genom organizasyonu.....	9
Tablo 2. HIV’in genleri ve ürünleri	10
Tablo 3. HIV’in bulaşma şekilleri.....	32
Tablo 4. 2014 Yılı HIV/AIDS Vaka Dağılımı	41
Tablo 5. Türkiye’de AIDS vaka/taşıyıcıların yıllara göre dağılımı (48).	42
Tablo 6. Test prosedürüne uygun olarak lizis tamponu hazırlama tablosu.....	55
Tablo 7. Hastaların demografik özellikleri	58
Tablo 8. Hastaların T hücre özellikleri	59
Tablo 9. HIV izolatlarının subtipleri.....	61
Tablo 10. Saptanan türlerin sıklık sırasıyla dağılımı	62

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. HIV genel yapısı.....	6
Şekil 2. HIV enzimleri ve antijenleri.....	7
Şekil 3. HIV'in yaşam döngüsü.....	16
Şekil 4. Filogenetik Analiz	63



KISALTMALAR LİSTESİ

AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome

APC: Antigen Presenting Cells

ARC: AIDS Related Complex

AZT: Azidothymidine

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

CT: Cinsel Temas

DH: Dentritik hücreler

ddI EC: Enteric Coated Didanosine

Env: Envelope

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Gp: Glycoprotein

HIV: Human Immunodeficiency Virus

HLA: Human Leukocyte Antigen

IL: İnterlökin

IFA: İmmuno Fluorescence Assay

IV: İntravenöz

LTR: Long Terminal Repeats

MAP: Mitogen Activating Protein

MHC: Major Histocompatibility Comple

mRNA: Messenger RNA

Nef: Negative Factor

NK: Natural killer

MIP: Makrofaj inhibitör protein

PIs: Protease Inhibitors

PIC: Preintegration Complex

Pol: Polimeraz

PCR: Polymerase Chain Reaction

RNA: Ribonucleic Acid

RT: Reverse Transcriptase

RT- PCR: Real Time Polymerase Chain Reaction

RIPA: Radio İmmuno precipitation Assay

TAR: Transactivation response

Tat: Transcription Transtivator

T.C: Türkiye Cumhuriyeti

TCR: T Cell Receptor

TNF: Tumor necrosis factor

T-Tropik: T hücre tropik

Vif: Viral Infectivity Factor

WB: Western Blot

WHO: Wrold Health Organisatino

ZDV: Zidovudine

µL: Mikrolitre

ÖZET

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde saptanan HIV-1 izolatlarında sekans analizi yöntemi ile alt gruplarının saptanması

Prof. Dr. Yasemin ZER

Bio. İhsan Deveci

Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Keşfedileli çok az zaman olmuş olmasına rağmen Human Immunodeficiency Virus(HIV) günümüzde enfeksiyon hastalıkları etkenleri içerisinde önemli bir yere oturmuştur. Özellikle CD4+T lenfositleri hedef alan virüsün, sahip olduğu bazı enzimatik mekanizmalarla konak hücre DNA'sına integre olmasıyla seyreden süreç, virüsün tüm bağışıklık mekanizmalarını yetersiz hale getirmesi, ardından gelişen malignite ve enfeksiyonlar ile hastanın ölümüne kadar giden bir seyir göstermektedir. Virüsün HIV-1 ve HIV-2 olarak iki alt türü tanımlanmış olup, coğrafik olarak dünya üzerindeki dağılımları farklılık göstermektedir. Gaziantep ili son yıllarda göçmen hareketliliğinin sık rastlandığı illerden biri olup, bu çalışma ilimizde saptanan HIV izolatlarının alt-tür dağılımının belirlenmesi ve HIV enfeksiyonlarındaki epidemiyolojik bulguların (bulaş kaynağı, yaş dağılımı, vb.) irdelenmesi amacıyla yapılmıştır. Mart-Kasım 2015 tarihleri arasında laboratuvarımıza HIV RNA testi çalışması amacıyla gönderilen ve RNA testi >1000 kopya/mL olarak saptanan 35 hasta çalışmaya dahil edildi. HIV-1 RNA testi real-time PCR ile QIA-symphony SP/Artus HIV-1 QS-RGQ Kit (QIAGEN GmbH, Almanya), kiti kullanılarak yapıldı. Çalışmaya dahil edilen hastalardan 2'sinde amplifiye edilen RNA dizileri, sekans için uygun olmadığından 33 örnekte sekanslama yapılarak subtip analizi ve filogenetik değerlendirme yapıldı. HIV-1 (ters transkriptaz domaini, kodon 41-232) dizilenmesinde, The French ANRS (National Agency for AIDS Research) AC11 Direnç Grubu'nun PCR ve dizileme algoritmasından yararlanıldı. Filogenetik analiz çalışmaları sonucunda HIV-1 subtiplendirmesi sonucunda 33 hastanın 22'si (% 66.6) subtip B olarak saptanmıştır. Hastaların 7'sinde (% 21.21) subtip A1 saptanmıştır. Hastaların 3'ünde (% 9.09) CRF02_AG olarak saptanmıştır. Bir (% 3.03) hastada ise subtip C olarak saptanmıştır. Dünya üzerinde eskiye oranla sık yaşanan insan hareketliliğinin, enfeksiyon etkenlerinin dağılımına da etkisi olacağından, HIV'in subtip analizlerinin yapılması virüsün yayılımını gözlemlemek açısından önemlidir.

Anahtar kelimeler. HIV-1, filogenetik analiz, subtip B

ABSTRACT

The determination of sub-groups of HIV-1 isolates with method of the sequence analysis which is detected in Faculty of Medicine Hospital of Gaziantep University

Prof. Dr. Yasemin ZER

Bio. İhsan DEVECİ

University of Gaziantep, Institute of Health Sciences

Department of Microbiologym Dahi

Although it has discovered currently Human Immunodeficiency Virus has an important place among the agents of infectious diseases today. Especially the process beholding the integration to host cell DNA by some enzymatic mechanisms of the virus in particular targets CD4 T lymphocytes indicates a trend leading up the patient's death by making all the immune mechanism deficient, developing malignancy and infections. The virus has two sub-types such as HIV-1 and HIV-2 that the geographical distributions in the world of these have differences. This study was conducted to determine the distribution of sub-species of HIV isolates and to examine the epidemiological findings (transmission source, age distribution, etc.,) in HIV infections detected in Gaziantep which is one of the provinces that has frequent immigrant mobility in recent years. A total of 35 patients sent to our laboratory between March and November 2015 for HIV RNA testing and having the RNA test results of >100 copies/mL were included in the study. HIV-1 RNA test was conducted with real-time PCR by using QIAasymphony SP/Artus HIV-1 QS-RGQ Kit (QIAGEN GmbH, Germany). Since the amplified RNA sequences are not suitable for sequencing in 2 patients included in the study, sub-type analysis and phylogenetic evaluation were performed in 33 samples by sequencing. In the sequencing of HIV-1 (reverse transcriptase domain, cord 41-232) the PCR and sequencing algorithm of "The French ANRS (National Agency for AIDS Research) AC11 Resistance Group" was used. As a result of the phylogenetic analysis in order to determine the sub-types of HIV-1 22 of 33 patients (66.6%) found as sub-type B. In 7 patients (21.21%) A1 subtype was determined. In 3 patients (9.09%) CRF02_AG was determined. In 1 patient (3.03%) C subtype was determined. Since the frequent human mobility compared to the past has an affect on the distribution of infection agents, the sub-type analyzes of HIV are important for the observation of the distribution of virus.

Key word. HIV-1, phylogenetic analysis, subtype B

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlk kez 1982 yılında *Pneumocystis carinii* pnömonisi ve Kaposi sarkomu gibi ortak özellik barındıran eş cinsel bir erkekte yeni bir hastalık etkeni saptanmıştır (1, 2). Hastalığın bulunduğu yıllarda toplumlarda çok ciddi bir korku ve panik meydana gelmesine sebep bu virüs 1983 yılında izole edilerek tanımlanmış, 1986 yılında Human Immunodeficiency Virus (insan immun yetmezlik virusu- HIV), olarak isimlendirilmiştir. Virüsün meydana getirdiği hastalık tablosu da Erişkin Bağışıklık Yetmezliği Sendromu (AIDS=Acquired Immune Deficiency Syndrome) olarak isimlendirilmiştir. Günümüzde HIV/AIDS hastalığı sahra-altı Afrika'da ilk sırada, Dünya genelinde ise dördüncü ölüm nedeni olarak bildirilmekte olup mortalite bakımından tüm dünyada önemli bir yere sahiptir (3).

HIV; cinsel yolla, enjeksiyon yolu ile (özellikle ilaç bağımlılarında), perinatal yolla (hamilelikte, doğum sırasında, emzirme ile), kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu ile ve sağlık çalışanlarında kaza yolu ile yaralanmayla bulaş gibi bir çok yol ile bulaşabilir.

Hastalığın tespit edilip tanımlandığı yıllarda en sık rastlanan bulaş yolunun homoseksüel (eşcinsel) cinsel temas olduğu düşünülse de günümüzde HIV'in pek çok ülkede % 60-65 oranında korunmasız heteroseksüel cinsel temas ile bulaştığı bilinmektedir. Bu temas perinatal geçiş de zemin oluşturmaktadır (4, 5).

İnsan yaşamını oldukça ciddi olarak tehdit eden bu virüsün toplumda kontrol altında alınması gelecek nesiller açısından ve toplum sağlığı bakımından oldukça önemlidir. HIV ile infekte olmuş bir kişide virüs 2-3 hafta içinde çoğalmaya başlayarak ilk ay içerisinde yüksek seviyelere çıkar. Bu noktada kişinin immun sistemi devreye girerek virüs replikasyonunu yavaşlatır ve 6 ay gibi bir sürede stabil bir noktaya getirir. Kişi bu aşamada HIV taşıyıcısı durumuna geçer bu süre kişinin immun sistemine göre değişkenlik gösterebilir. Bazı kişilerde latent dönem uzayabilir. Taşıyıcı durumundaki kişilerde günde ortalama 10^1 - 10^9 arasında HIV üretilir ve bunun sonucunda hedef hücre olan CD4 T- lenfositleri sayısında progresif bir azalma meydana gelir. Vücut immun sisteminin en önemli yapı taşlarından biri olan bu CD4 T lenfositlerin sayısındaki azalma bireyi pek çok fırsatçı enfeksiyona karşı savunmasız bırakır.

CD4 T lenfosit sayısı kritik düzeyin (<350 hücre/mL) altına düşmüş bireylerde AIDS gelişir ve vücut fırsatçı bir çok mikroorganizmaya karşı savunmasız hale gelir, enfekte olan kişilerin çoğunluğu 1-2 yıl içinde ölür (6). Virüsün sahip olduğu enzimleri sayesinde konak DNA'ya integre olması, replikasyon sırasında RNA polimerazın hata payı ve antijenik varyasyonların ortaya çıkması virüsün konak tarafından eliminasyonunu engelleyen başlıca faktörlerdir.

Virüsün HIV-1 ve HIV-2 olarak iki alt türü tanımlanmış olup, HIV-1 özellikle Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da, HIV-2 ise daha çok Güney ve Orta Afrika'da yaygın olan alt türlerdir. Birbirlerine çok benzer yapıda olmalarına rağmen genetik olarak farklılıklar mevcuttur. Tüm sub tiplerin en yüksek prevalansa sahip olduğu bölge ve çıkış noktası Sahra altı Afrika ve özellikle de Haiti olarak gözlemlenmiştir (7). Türkiyede ise HIV-1'in B sub tipi en sık rastlanan alt türdür (8).

Türkiye'de ilk HIV/AIDS olgusu 1985 yılında bildirilmiş olup, Sağlık Bakanlığı'nın Ekim 1985-Aralık 2014 tarihleri arasındaki HIV/AIDS süreyans verilerine göre HIV-1 enfeksiyonu olgu sayısı 8105'dir (9). Ülkemizde HIV/AIDS olguları her ilin İl Sağlık Müdürlüklerince bildirim zorunlu hastalıklar grubunda (A grubu) yer almaktadır. HIV/AIDS'li hasta verilerini standart bir şekilde toplanmasını amaçlayan veri tabanı programı çabaları da mevcuttur. Bununla birlikte henüz ülkemizde mevcut HIV-1 sub tipleri konusunda bilgilerimiz oldukça yetersizdir. Ülkemizde HIV-1 ile enfekte bireylerdeki ilk araştırma, 2006 yılında İstanbul'da, 27 vaka üzerinde yapılmış ve bu araştırma HIV-1 sub tip B predominant olarak bulunmuştur (10).

Gaziantep ilinde de son yıllarda dikkat çekici bir şekilde yeni HIV pozitif hasta sayısında artış olması ve de son yıllarda rastlanan göçmen hareketliliği göz önüne alınarak bu çalışmanın yapılması planlanmıştır. Çalışmamızda HIV RNA pozitif saptanan hastalarda, HIV RNA sekans analizi ile alt tür ve flogenetik analizinin belirlenmesi, HIV bulaş yolları ve hastaların demografik özelliklerinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

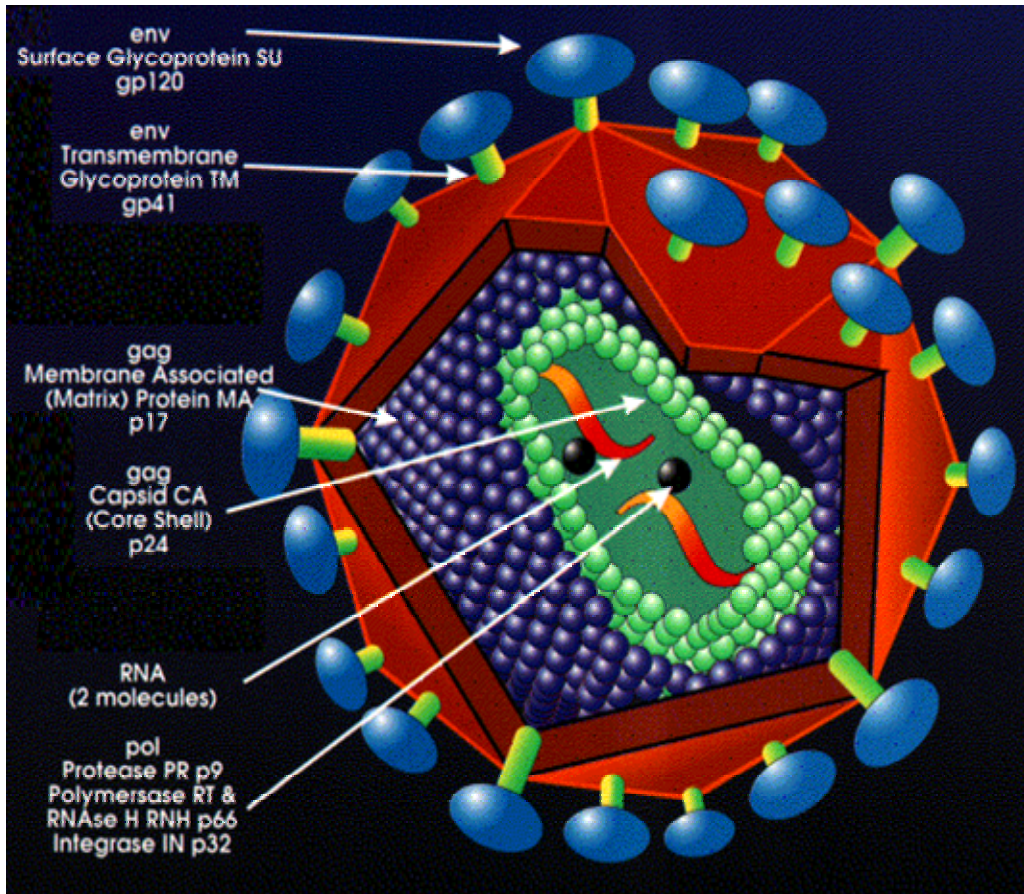
Human immunodeficiency virus *Retroviridae* ailesinden *Lentivirinae* alt ailesinde bulunan, zarflı pozitif zincirli bir RNA virüsüdür. İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü HIV-1 ilk olarak Barre-Sinoussi ve ark. (11) tarafından 1983 yılında izole edilmiştir. Diğer sub tipi olan HIV-2 ise ilk olarak Clavel ve ark. (12) tarafından 1986 yılında izole edilmiştir. Retrospektif serolojik araştırmalar HIV-1'in AIDS tablosu oluşumundan önce uzun bir latent dönemi gösterdiğini ve 1977 yılından itibaren Amerikan eşcinsel erkekler arasında oldukça yayılmaya başladığını göstermiştir. Yapılan bir araştırmada, 1959 yılında Kongo Leopoldville'de alınmış kan örneklerinde, Bantu soyuna ait bir erkek hastanın kan örneğinde HIV dizileri saptanmıştır. Bu örneğin analizi ile HIV-1'in 1915-1941 tarihleri arasında bir zamanda ortaya çıktığı görüşü ileri sürülmüştür (13-15).

HIV-1'in, insana en az 4 zoolojik kökenli bulaşma yolu ile geçtiği düşünülmektedir. Bu bulaşmanın mevcut moleküler filogenetik biyolojik bilgilere göre ortalama 1930'lu yıllarda meydana gelmiş olacağı tahmin edilmekle beraber 20 yıl öncesine veya 20 yıl sonrasında da olabileceği tahmin edilmektedir. HIV-2, A-H şeklinde sınıflandırılmış olup, A ve B grubu patojenik olan ve en yaygın görülen gruplardır. Her grupta bulunan bir virüsün farklı ve birbirine bağımlı olmayan zoonotik yollar ile insanlara geçtiği ve sonrasında insanlar arasında cinsel ilişki ilk sırada olmak üzere diğer bulaş yolları ile yayılım gösterdiği düşünülmektedir. Nükleik asit dizisi verilerinin hesaplanması sonucunda HIV-2'nin insanlarla tanışmasının tahminen 1940'lı yıllar olduğu düşünülmektedir (16).

2.2. HIV Biyolojisi

Morfolojik özellikleri

Elektron mikroskobu ile yapılan inceleme ile HIV-1 ve HIV-2 birbirinden ayırt edilememektedir. Ayrımları içerdikleri proteinlerin moleküler ağırlıkları ve aksesuar genlerindeki değişikliklere göre yapılır. HIV-1 ikozahedral (tip D, bar şeklinde) nükleokapsid partikülünün çapı 100 nm'dir ve çift katlı lipoprotein membran ile çevrelenmiştir (17) (Şekil 1).

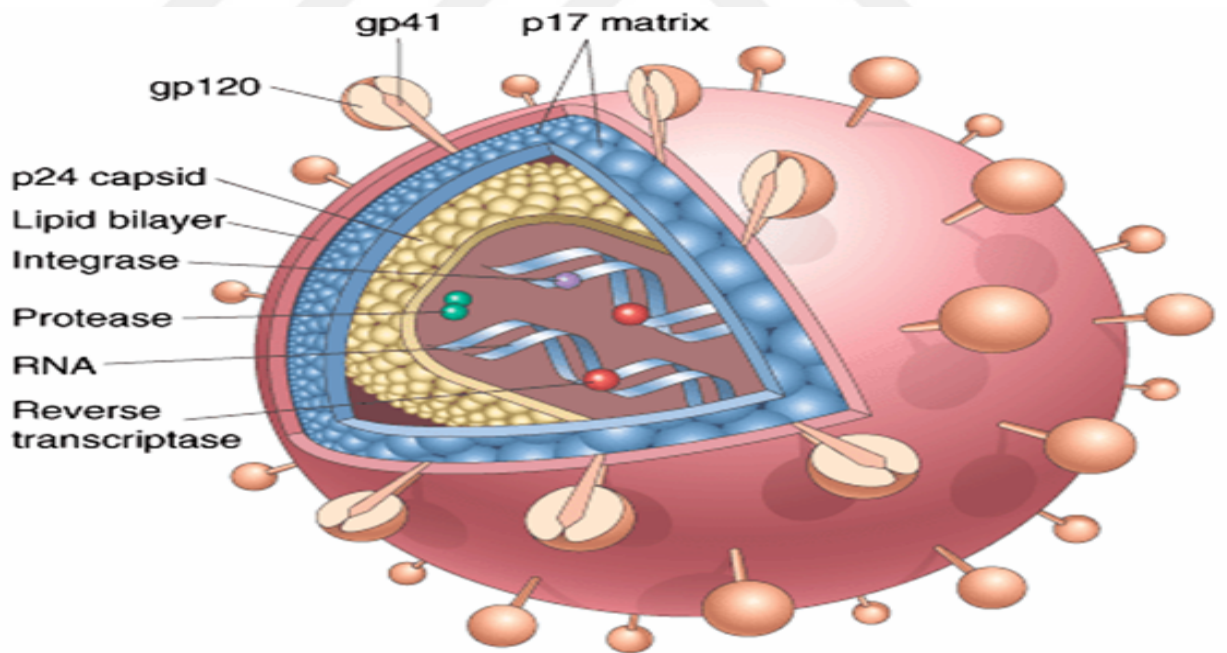


Şekil 1. HIV genel yapısı

Her bir virüs partikülünde bu lipid membranın içine entegre olmuş 72 glikoprotein kompleksi bulunur ve bunlar 9-10 nm uzunluğunda eksternal glikoprotein gp120 ve 13-15 nm uzunluğunda trans membrana geçen protein gp41 trimerinden oluşurlar. gp120 ve gp41 arasındaki bağ çok gevşek olduğundan, gp120 lokal çevreye kendiliğinden saçılır. gp120 ve gp41 tip spesifik kılıf glikoproteinleridir.

Hücre yüzeyinden dışarı çıkan gp120, hücre yüzeyindeki CD4 ile ilişki içerisine girer. gp41 enfeksiyon hemen viral kılıfın hücre membran ile birleşmesini sağlar. gp120'yi kodlayan gen oldukça süratli bir şekilde mutasyona uğradığından birçok antijenik varyantı vardır. gp120'nin en immünojenik bölgesi V3 lupudur. gp120'ye karşı oluşan antikor enfektiviteyi nötralize eder ancak gp120 varyantlarının hızlı oluşması sebebiyle aşı çalışmalarından henüz başarı elde edilememiştir.

Nükleokapsid ile kılıf arasında matriks (M) proteini (p17) bulunur. Gruba özgü antijen olan p24 korda bulunur ve varyans göstermez. p24'e karşı oluşan antikorlar HIV enfektivitesini nötralize edemez ancak serolojik açıdan çok önemli bir göstergedir. p24 kor antijeni iki pozitif polariteli HIV-1 RNA kopyası (diploid) içerir. HIV-1 RNA, protein-nükleik asit kompleksinin bir üyesidir ve bu kompleksin diğer üyeleri nükleoprotein p7 ve revers transkriptaz (RT) p66/51'dir. Virüs partikülü replikasyonu için gerekli olan tüm enzim ekipmanını – RT, integras P32 ve proteaz p11 içerir (17) (Şekil 2).



Şekil 2. HIV enzimleri ve antijenleri

2.3. Viral Genom Organizasyonu

HIV-1 proviral DNA'dan (viral nükleik asitin DNA formu) üç tip RNA transkripsiyonu olur (17). 9.1 kb büyüklüğündeki birinci tipte genomik RNA, gag- pol mRNA ve pre-mRNA bulunur. 4.3 kb büyüklüğündeki ikinci tipte *env*, *vif*, *vpr* ve *nef* proteinlerini sentezleyen tekli kesilmiş mRNA'lar bulunur. 1.8 kb büyüklüğündeki üçüncü tipte tat, rev ve nef geni bulunur. Üçüncü tip enfeksiyondan sonra ilk biriken RNA molekülleridir. Rev proteini biriktikçe diğer iki tip daha fazla yapılmaya başlanır. Retrovirüslerin replikasyonu üç gene bağlıdır: gag, pol ve env. gag grup antijeni, pol polimerazı ve env de kılıfı (envelop) temsil etmektedir.

Retroviral genomun "klasik" yapısal şeması şu şekildedir: 5' LTR-gag-pol-env-LTR3' 634 baz çiftinden oluşan LTR (long terminal repeat: uzun uç tekrarı), viral genomun iki ucunda bulunur ve yapısındaki cis-etki eden eleman viral integrasyon ve transkripsiyon için gereklidir. Herhangi bir viral protein kodlanmaz. LTR'de bulunan, U3 ve R bölgeleri arasındaki transkripsiyon kontrol bölgesi, integre HIV DNA'nın transkripsiyon mekanizmaları tarafından tanınır. LTR'nin çeşitli hücre tiplerinde promoter olarak görev yaptığı gösterilmiştir (18).

HIV'in genleri ve viral replikasyondaki fonksiyonları Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir(18).

Tablo 1. HIV'in genom organizasyonu

HIV AİT GENLER VE GEN ÜRÜNLERİ		
	GEN	GEN ÜRÜNLERİ
Temel Genler	• Gag	Türe özgü antijenler-matriks, kapsid, p2
	• Pol	Polimeraz, p6, protease, RT
	• Env	Zarf
Düzenleyici Genler	• Nef	Negatif faktör
	• Rev	Viral ekspresyon regülatör
	• Tat	Transkripsiyon transaktivatör
	• Vif	Viral infectivity faktör
	• Vpr	Viral protein R
	• Vpu	Viral protein U
Kodlanmayan Sekanslar	• R	Tekrar sekansı
	• U3	3' genom ucundaki özgün sekans
	• U5	5' genom ucundaki özgün sekans
5'genom ucundaki bölgeler	• TAR	Transaktivasyon yanıt elemanı(trans-acting response element)
	• Poly-A	Poliadenilasyon sinyali
	• PBS	Primer bağlanma bölgesi
	• DIS	Dimerizasyon başlama bölgesi
	• SD	Splice donör bölgesi
	• Psi	Ana sinyal paketlenme bölümü
	• AUG	Gag geni başlama kodonu

Tablo 2. HIV’in genleri ve ürünleri

Gen Tipi	Gen Adı	Gen Ürünü
Yapısal	• Gag geni	• P17 (matriks (MA)) • P24 (kapsid(CA)) • P7 (nükleokapsid (NC))
	• Env	• gp120 ve gp41
	• Pol	• Proteaz(PR) • Reverz Transkriptaz (RT) • İntegraz (IR)
Düzenleyici	• Tat	• Tat
	• Rev	• Rev
Aksesuar	• vpu • vif • vpr • nef	• vpu • vif • vpr • nef

2.4. Yapısal Proteinler

a. Pr55 gag ve Ürünleri (GAG)

1536 nükleotiten meydana gelen gag geninin translasyonu sonucu 55 kDa aralığındaki Gag-prekürsörü (Pr55Gag) meydana gelir. Viral proteaz tarafından parçalanan bu protein daha küçük çaptaki proteinlere dönüşür. Bu parçalanma süreci konak canlıının hücre membranında veya virüs partikülünün içinde meydana gelir. Meydana gelen bu protein ürünlerinden p17 matriks proteini, p24 kapsid proteini ve p15 nükleokapsid prekürsörüdür. p15 proteini p2, p7 (nükleokapsid) p1 ve p6 proteinlerini meydana getirir. p17 matriks proteini viral assemblede oldukça önemli görevi bulunmaktadır.

Gag poliprotein hücre içi taşınmasını yönlendirir. Preintegrasyon kompleksinin bir parçası olan p17 ayrıca bu kompleksin nükleusa taşınımını da sağlar. p24 kapsid proteini matür virionun korunu oluşturur. Viral assemblasyonda rol alır.

Viral assemblasyonda ve kapsid morfolojisinde önemli rolü vardır. p15 nükleokapsid prekürsör proteininde iki çinko bağlayan motif diğer adıyla çinko parmakları bulunur. p15 proteinin p2,p7, p1 ve p6'yi oluşturması gag prekürsörünün proteazlarca parçalanmasında hız-sınırlayıcı basamaktır. Oluşan dört proteinden sadece p7 matür virionda bulunur ve çinko parmağı taşır. p7 revers transkripsiyonu uyarır. Viral genomik RNA'nın paketlenmesine yardımcı olur ve viral DNA'nın polimerizasyonunu yönlendirir ve p6 viral tomurcuklanmada görev alır (18).

b. Pr160 ve Ürünleri (Gag-Pol öncülü)

3045 nükleotidden oluşan pol geninden Pr160 gag-pol füzyon proteini meydana gelir. Matür virionda gag ve pol genlerinin ürünlerinin birbirine oranı 20:1'dir. Pol prekürsöründen p10 proteaz, p66'51 revers transkriptaz ve p32 integrazdan meydana gelir. Proteaz gag ve gag-pol prekürsörlerinin parçalanmasından rol alan enzimdir. Revers transkriptaz iki fonksiyona sahiptir: viral RNA'nın DNA'ya dönüşmesini sağlamak ve ribonükleaz H aktivitesi ile RNA'yı RNA- DNA hibrid molekülü formunda bulunuyor ise parçalamak. İntegraz viral genomun konak genomuna girişinde görev alır (18).

c.Env Geni ve Ürünleri

Env geni 160 kDa ağırlığında glikoz ile prekürsör poliprotein yapar. N terminalindeki yaklaşık 30 amino asitten oluşan sinyal peptidinin uzaklaştırılmasından sonra golgi cisimciğindeki proteolitik reaksiyona bağlı olarak N-terminalinden gp120 ve C-terminalinden de gp41 meydana gelir. Gp120 CD4 reseptörü ve/veya ko-reseptör ile teması kurması sağlarken; transmembran gp41 proteini non kovalent bağlarla gp120'yi viral yapıya bağlı tutarak virüs ile hedef hücre arasında oluşacak füzyonu yönetir (18).

d. HIV Regülatör ve Aksesuar Genlerinin Ürünleri

HIV'in ayrıca regülatör ve aksesuar görevi olan, 9 kb'lik RNA yapısının içerisinde altı geni daha barındırır: vif, vpu (HIV-2'de bulunmaz. HIV-2'de vpr'nin duplikasyonu olan vpx bulunur) vpr, tat (transactivation of transvription: transkripsiyonun

transaktivasyonu), rev ve nef. nef, vif (viral infectivitiy: viral enfektivite), vpr ve vpu aksesuar genler, tat ve rev ise regülatör genler olarak guruplandırılırlar (18).

e. Tat ve Proteini veya Viral Transaktivatör

Ökaryotik regülatör proteinler gurubuna ait olan 14 kDa büyüklüğündeki Tat proteini enfekte hücrelerinin çekirdek ve çekirdekçiğinde yoğunlaşır. Viral RNA'daki LTR'de bulunan TAR'a (transactivation response element: transaktivasyon yanıt elemanı) 1-57 pozisyonda bağlanır. Tat-RNA ilişkisi sonucunda RNA polimerazın stabilitesi, RNA inisiasyon sıklığı ve RNA'nın translasyon etkinliği artar. Siklin T1 Tat'ın hücrel kofaktörüdür. Tat sitotoksik ve nörotoksiktir. Endotel hücrelerinin yüzeyinde adezyon moleküllerinin sayısını artırır. Hücrelerin depolarizasyonuna ve hücre membranının dejenerasyonuna neden olur. Ayrıca enfekte hücrenin ölümünü(apoptozisini) aktifleştirir. Proviral HIV-1 DNA'sının RNA'ya transkripsiyonunu uyarır. RNA'nın elongasyonunu sağlar. HIV-RNA'nın çekirdekten sitoplasmaya taşınmasını kolaylaştırır ve translasyonda gereklidir (18).

f. Rev Proteini (Viron Protein Ekspresyonunun Düzenleyicisi)

19kDa büyüklüğünde olan Rev de oldukça mühim bir nüklear eksport proteindir ve erken regülatör protein ekspresyonundan geç yapısal protein oluşumuna geçişe kadar gereklidir. Tat proteini gibi Rev proteinini de çekirdekte toplanır ve viral RNA'nın env geninde bulunan RRE'ye bağlanır. Yine Tat proteini gibi, proviral HIV-1 DNA'sının RNA'ya transkripsiyonu uyarır. RNA'nın elegasyonunu sağlar. HIV-RNA'nın nükleustan sitoplasmaya taşınmasını kolaylaştırır ve translasyonda mutlaka olması gereklidir (18).

g. Vif veya Viron Enfektivite Geni

Hücre sitoplasmasında yer alan ve 23 kDa ağırlığında olan Vif, retroviral DNA'da hipermutasyona neden olan APOBEC3G enziminin aktivitesini baskılıyarak HIV enfektivitesini artırır.

APOBEC3G (apolipoprotein B RNA-eğitim enzimi) mRNA ve retroviral DNA'da sitozini deamine ederek bu moleküllerinin aktivitesini durdurur ve enfekte etme özelliğini azaltır.

APOBEC3G aktivitesini engelleyerek kontrolsüz virüs hipermutasyonuna engel olur. Vif viral içeriğin intraselüler taşınma aşamalarında önemli yeri vardır. Vif delesyonu olan virüslerde hücreden hücreye virüs geçişi devam ettiği fakat dış-hücre dış ortamdan hücre içine geçişin olmadığı ortaya konulmuştur. Vif ayrıca viral morfogenezini de etkiler.

HIV enfeksiyonunun ileri evrelerinde viron içinde az miktarlarda bulunan bu proteinin assemlede indirekt rolü olduğu düşünülmektedir (18).

h. Vpu Proteini

16kDa ağırlığında olan Vpu virüsün tomurcuklanarak hücreden ayrılmasında önemlidir. CR4- env kompleksini parçalayarak CD4' ün parçalanmasına sebep olurlar. Enfekte olmuş hücrelerde perinükleer bölgelerde toplanır. Ekspresyonu vpr tarafından düzenlenir. Ayrıca gp160'ın yeni vironlar tarafından tekrar tekrar kullanılmasını da sağlar (18).

i. Vpr Regülatör Proteini ve Vpx proteini

Viron içerisinde yer alan ve 15 kDa ağırlığında olan Vpr makarofajlar gibi çoğalmayan hücrelerde viral replikasyonun yapılabilmesi için gereklidir. Vpr çeşitli hücresel ve viral promoterin yanı sıra HIV-LTR'yi de uyarabilir. Vpr ayrıca viral preintegrasyon kompleksinin çekirdeğe taşınmasında da rol oynar ve hücreyi G2 siklusunda durdurabilir. 15 kDa ağırlığında olan Vpx, Vpr'nin duplikasyonudur ve 15 kDa ağırlığındadır (18).

i.Nef Proteini

Nef transkriptlerinin 5''ucunda iki adet başlangıç kodonu olduğundan molekül ağırlıkları farklı (27 ve 37 kDa) iki Nef proteini sentezlenir. Hücre sitoplasmasında ve membranında bulunur. Nef proteinine miristik asite bağlanarak hücresel serin kinaz aracılığıyla plazma membranına tutunma gerçekleşir ve CD4, HLA1 ve HLA2 moleküllerinin aşağı regülasyonu gerçekleşir. Bunun sonucunda da virüs enfekte ettiği hücrenin sitotoksik CD8 pozitif hücrelerden kaçınmasını sağlar ve CD3 pozitif T hücrelerce tanınmasını engeller.

Nef ayrıca intrasellüler sinyal ileti yolladığında rol alan çeşitli proteinlere (vav, PAK gibi) bağlanarak T hücrenin aktivasyonun da engelleyebilir. Nef ayrıca DOCK2 ve ELMO1 proteinleri ile kompleks oluşturarak Rac enzimlerinin aktivitesini de düzenler.

Rac enzimin lenfosit göçü ve antijene özgü yanıtlarda rolü olduğu bilinmektedir. Nef delesyonu varlığında hastalık progresyonu yavaşlar (18).

2.5. HIV'in replikasyon döngüsü (Şekil 3)

HIV, CD4 T-lenfositleri ile kemik iliği ve timustaki T-hücre prekürsörlerinin % 60'ında bununla birlikte, monositlerde, makrofajlarda, eozinofillerde, dendritik hücrelerde ve santral sinir sistemi mikrogial hücrelerinde bulunmaktadır (17). HIV gp120 zarf glikoproteini ile T hücrelerinde bulunan CD4 reseptörlerine tutunur. CD4 üç kısımdan oluşur: 370 aminoasitten oluşan ekstrasellüler kısım; 25 amino asitten oluşan hidrofobik transmembran kısım ve 38 amino asitten oluşan sitoplazmik. CD4'ün V2 bölgesindeki rezidüleri (40-55. amino asitler) gp 120'nin CD4'e bağlanmasında önemlidir. CD4, CD4+T hücrendeki T hücre resptörüne (TCR) yapışır ve antijen sunucu hücredeki (APC) HLA class II moleküllerine bağlanır.

CD4-gp120 bağlanması virüsün girişinde önemli bir adım olmasının yanında, intrasellüler sinyal ileti yollarının engellenmesinde ve CD4 T hücrelerinin hücre ölümünün indüklenmesinde de önemli rolü vardır. HIV'in hücre içerisine girebilmesi için sadece gp120 CD4 ilişkisinin yeterli olmadığı yapılan in vitro çalışmalarda bilinmektedir (19).

1995 yılında Cocchi ve ark (20). HIV ile enfekte olan hastadan elde edilen CD8+T hücrelerinin süpernatantında MIP-1 (makrofaj inhibitör protein), MPI-1 ve Rantes (regulated upon activation T cell expressed and secreted: T hücrende eksprese edilen ve salınan, aktivasyonla düzenlenen) kemokinlerinin viral izolatların bir bölümünde virüs replikasyonun baskılandığını göstermişlerdir. MIP-1 ve Rantes'in ortak özelliklerinin kemokin reseptörü CCR5'in ligandları olduğu bilgisinden yararlanılarak birkaç ay sonra yayınlanan çalışmalarda monostiotropik (M-tropik) HIV-1 izolatlarında CCR5'in gerekli bir ko-reseptör olduğu bildirilmiştir.

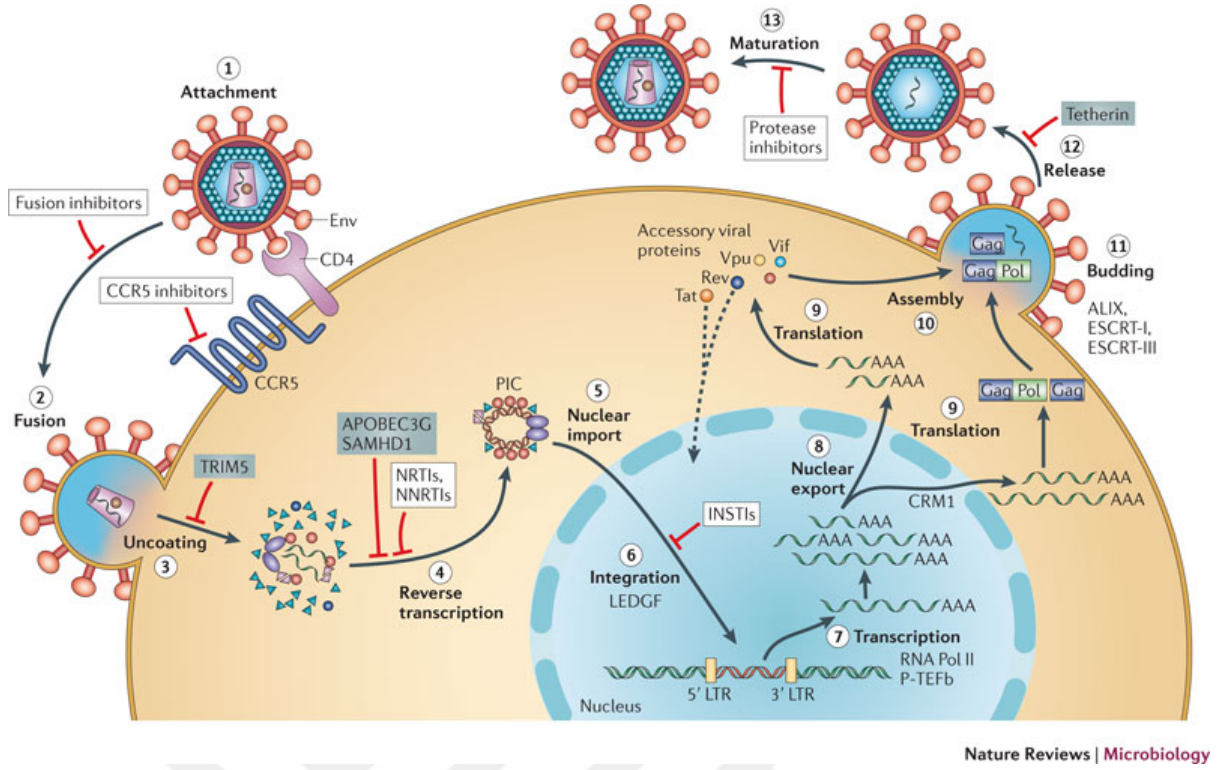
CCR5' in ko-reseptör olarak tanımlanmasından birkaç hafta önce de CXCR4'ün (fusin) T-hücre tropik(T-tropik) HIV izolatlarının kullandığı ko-reseptör olduğu rapor edilmiştir. 68-120 aminoasitlik proteinler olan kemokinler (kemotaktik sitokinler) yapılanlarda bir sistein motifi barındırırlar ve C-X-C (α - kemokinler), C-C (β -kemokinler) ve C-kemokinler olarak sınıflandırılırlar.

Kemokin reseptörleri yedi transmembranlı bölge içerirler ve intraselüler olarak G-proteinlerine bağlıdırlar. M- tropik HIV-1 izolatları makrofaj kültürlerinde rahatlıkla üretilen, T hücrelerini enfekte edemeyen ve periferik kan numunelerinden elde edilen primer T hücrelerini rahatlıkla enfekte edebilen virüslerdir. Sitopatik etki olarak sinsityum oluşturmazlar.

T-tropik HIV-1 izolatları ise T-hücre kültürlerinde rahatlıkla üretilen makrofaj kültürlerinde kolayca üremeyen fakat M-tropik virüsler gibi periferik kan primer T hücrelerini kolaylıkla enfekte edebilirler. Sitopatik etki olarak sinsityum oluşturmazlar.

CCR5'i kullanan virüsten, CXCR4 kullanan virüse geçişte ortaya çıktığı düşünülen dual-tropik HIV, adından anlaşılacağı gibi M ve T-tropik HIV özelliklerini bünyesinde taşır. SDF- 1 (stromal cell derived factor-1: stromal hücre derisevi faktör-1) CXCR4'ün doğal ligandıdır ve T-tropik HIV-1'in aktive CD4+ T hücrelerine girişine engel olabilir. Rantes, MIP-1 ve MIP-1-CCR5'in doğal ligandlarıdır ve M- tropik HIV-1'in T hücrelerine girişine engelleyebilir.

Peptidlerden biri olan T20 kısa bir süre önce klinik kullanıma sunulmuştur. Yapılan ön analizlerde CCR5 ve CXCR4'ün yanı sıra CCR3,CCR2,CCR8,CCR9,STRL33, (Bonzo) Gpr15(Bob), Gpr1, APJ (santral sinir sistemindeki önemli ko-reseptörü) ve ChemR23 gibi kemokin reseptörlerinin de bazı HIV izolatları tarafından hücre içine girerken kullanıldığı ortaya konulmuştur. HIV'in hücreye girişi, doğrudan hücreden hücreye geçişle veya antikor kompleksleri vasıtası ile hücre yüzeyinde bulunan galaktosil seramid veya Fc reseptörlerine bağlanarak da olabilir (18, 21).



Şekil 3. HIV'in yaşam döngüsü

2.6. HIV'in Enfekte Ettiği Hücreler

Periferik monositler

HIV-1 çok az sayıda monositi enfekte eder (% 0.001-0.1) (17). Periferik kan monositlerden köken alan makrofajlar, HIV-1 enfeksiyonuna duyarlıdır. Monositler makrofaja dönüşürken CCR5 prezentasyonu artar. CD4 hücre yüzeyinde önce azalır sonra artar. CXCR4 ve CCR2b ko-reseptörü azalır.

Doku Makrofajları

Alveoler, peritoneal, plasental makrofajlar ve mikroglialar HIV-1 enfeksiyonuna duyarlıdır. Dokulardaki HIV ile enfekte makrofaj oranı %1-50 arasında değişir. Mikroglial hücrelerdeki CCR4 ve CCR3 yüzey molekülleri M-tropik HIV'in hücreye girişini sağlar. Mikroglial hücreler CXCR4'de bulundurur fakat T- tropik HIV'ı genellikle tercih etmez.

Dendritik Hücreler

Yüksek düzeyde CCR5 ko-reseptörü taşıyan dendritik hücreler, mukozadan T hücrelerine HIV'in taşınmasında rol alırlar.

2.7. CCR5 ve CXCR4'ün Klinik Yansımaları

CCR5 genetik defekti olan bireylerin çoğu HIV-1'e doğal dirençlidir. Epidemiyolojik çalışmalarda CCR5 gen delesyonunun allelik sıklığı beyaz ırkta % 10-20 olduğu ve Kuzey Avrupa'da bu sıklığın en yüksek düzeylere ulaştığı gösterilmiştir. Beyazlarda homozigot delesyon sıklığı ise % 1'dir. Afrika ve Asya toplumlarında yapılan çalışmalarda 32bp'lik bu delesyonun varlığı saptanmamıştır. Heterozigot 32 bp CCR5 delesyonu olanlarda hastalığın seyri daha yavaş olmaktadır. Hastalık seyri hızlı olan kişilerde, enfeksiyon etkeni virüsün ko- reseptör olarak CXCR4'ü kullanma eğiliminde olduğu gösterilmiştir.

CXCR4 özellikle naif T hücrelerinde eksprese olur. CCR5 ise aktive ve enfektör/hafıza T hücrelerinde bulunur. HIV-1 enfeksiyonu erken döneminde M-tropik HIV baskınlığı saptanır.

Şu anda in vivo M-tropik tercihinin iki nedeni olabileceği düşünülmektedir: submukozal dendritik hücrelerin M-tropik HIV geçişini tercih etmesi; lokal sitokin/kemokin ortamının M-tropik HIV replikasyonuna izin vermesi. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde CXCR4 ko-reseptörünü kullanan virüs sayısı hızla artar ve CD4+ T hücre sayısı hızla azalır. CCR5'in blokajının terapötik açıdan gelecek vaat edici olduğu düşünülmektedir.

Fakat fare çalışmalarında CCR5 blokajının virüste CXCR4'e yönelmeye neden olduğu ve ayrıca blokaja bağlı olarak hematopoiezde ciddi defektler ve serebellum gelişiminde problemler yarattığı gösterilmiştir (18, 21).

2.8. Füzyon sonrası olaylar

Füzyon sonrası revers transkripsiyon integrasyon, viral gen ekspresyonu ve paketlenme/assemble gelişir (17).

Revers Transkripsiyon

Revers transkriptaz (RT) vasıtasıyla viral RNA'nın proviral DNA'ya dönüştürülmesi sitoplazmada ve hücre enfeksiyonundan sonraki 4-6 saat içinde gerçekleşir. RT'nin zidovudin ile blokajı, HIV tedavisinde atılmış ilk adımdır.

Revers transkriptazın en az üç enzimatik fonksiyonu olduğu bilinmektedir: RNA-bağımlı DNA polimeraz aktivitesi, DNA-bağımlı DNA polimeraz aktivitesi ve ribonükleaz H aktivitesi. Revers transkripsiyon birçok basamak sonucunda gelişir. tRNA primerinin bağlanmasını takiben proviral DNA sentezi başlar. Proviral DNA sentezi negatif-sarmal polimerizasyonu olarak PBS'den (primer binding site:primer bağlanma bölgesi) başlar ve 5' tekrar bölgesine değin kısa R /U5 DNA olarak gider. Bir sonraki adım RNAaz H ile PBS'nin üzerindeki RNA'nın degradasyonudur. Revers transkripsiyon sonucu her bir ucunda LTR bölgesi olan çift sarmallı HIV DNA oluşur (18,19).

İntegrasyon

Enfekte hücrenin sitoplasmasında gerçekleşen revers transkripsiyon ürünleri yani çift sarmallı DNA'nın (dsDNA) nükleusa transportu gerçekleştikten sonra viral DNA konağın kromozomal DNA'sına yerleşir.

HIV-1 pre-integrasyon kompleksi integraz, revers transkriptaz, p17 (preintegrasyon kompleksinin nükleusa gitmesini sağlar) ve dsDNA'dan oluşur. İntegrasyon reaksiyonu, viral partikül içinde bulunan ve virüsün kodladığı integraz tarafından katalizlenir.

İntegraz ilk olarak viral DNA'nın 3' uçundaki iki nükleotidi uzaklaştırır ve daha sonra konak DNA'sını keser bunu viral DNA'nın konak DNA'sına insersiyonu takip eder.

Provirüsteki - uçtaki açıklık ve iki nükleotit'lik eksik hücre enzimleri tarafından onarılır veya uzaklaştırılır. İntegrasyon sonrası viral DNA, hücre yaşadığı sürece hücre genetik materyalinin bir parçası olarak kalır (21).

Genel olarak monositler, makrofajlar, mikroglial hücreler ve latent sessiz T- hücreleri, hücrel HIV rezervuarlarıdır. Antiretroviral tedavi alan kişilerde verilen antiviraller replikasyon göstermeyen provirüsle etkiye bulunamayacağından, ilaç verilmesi kesildiği anda virüs hızla bu hücrelerden tekrar ortaya çıkar. İn vitro koşullarda antijen veya mitojenlerle, in vivo koşullarda ise antijen teması, aşılama veya fırsatçı enfeksiyonlarla hücrel aktivasyon gelişirse proviral DNA, hücre genomuna entegre olabilir.

Viral Gen Ekspresyonu

HIV genomunun transkripsiyonu hem hücrel hem de viral faktörleri içine bulunduran kompleks mekanizma serilerini gerektirir. NF-kB gibi hücrel transkripsiyon faktörleri LTR'ye bağlanarak transkripsiyonun başlama hızını artırır. Mitojen veya sitokinlerle uyarılma sonucunda NF-kB nükleusa geçer ve HIV LTR bölgesine bağlanır ve sonuçta HIV geninin transkripsiyonu başlatır.

Provirüsün primer RNA transkriptleri konak hücresinin RNA polimeraz II'si aracılığıyla yapılır bu transkriptler viral poliprotein sentezi için mRNA aktivitesi gösterirler.

Hücredeki ribozomlar proviral mRNA'nın viral proteinlere translasyonunu gerçekleştirir. Tüm viral yapısal proteinler poliprotein olarak yapılırlar. Transkripsiyon sonrasında birinci sırada tat veya rev'den erken regülatör protein sentezi gerçekleşir. TAR bölgesine bağlanan Tat transkripsiyonu uyarır ve uzun RNA transkriptlerinin yapılmasına neden olur. Rev yapısal ve enzimatik genlerin yapımını artırır ve regülatör proteinlerin yapımını indükler. Böylece olgun viral partikül oluşumu yönüne kayılır. Pol ve gag tarafından yapılan proteinler olgun HIV partikül'ünün nükleusunu; env tarafından yapılan proteinler de gp160'ı oluşturur. 53 kD gag prekürsör molekülünün HIV proteaz tarafından parçalanması sonucu p24 (esas kro proteini) p17 (matriks proteini) p9 ve p7 gag proteinleri meydana gelir (18).

Paketleme ve Assemblasyon

Viral poliproteinlerin hücrel enzimlerle modifikasyonu viral assemblasyon için gereklidir. Örnek olarak Env proteinin glikozilasyonu, gag ve Gag-Pol poliproteinlerindeki p17 elementinin N-terminal rezidüsünün miristilasyonu verilebilir. p17 elementi bu proteinlerin hücre membranına yapışması için gereklidir.

İki ucu açık viral mRNA viral assemblasyonun başlatılmasında önemlidir fakat HIV-1 paketleme sinyalinin yerleşim yeri tam olarak belirlenememiştir.

Yeni virüs partikül'ünün oluşma süreci adım adım gelişir: HIV-1 RNA, gag proteinleri ve pol enzimlerinden oluşan virüs koru hücre yüzeyine doğru hareket eder. Büyük öncül moleküller HIV-1 proteazı tarafından parçalanır ve sonuç olarak hücre membranından tomurcuklanarak enfeksiyöz virüs partikülü çıkışı görülür. Tomurcuklanma'nın olduğu hücrel membran alanında sisklofilin ve MHC antijeni gibi konak hücresi elementleri ile viral komponentlerde bir yığılma oluşu göze çarpar. Tomurcuklanma sürecinde virüsün lipid membranı konak hücrenin çeşitli proteinlerini ve kolesterolü de yapısına katar. T hücrelerinde tomurcuklanma hücre yüzeyinde olur ve virüsün ekstrasellüler boşluğa bırakılır. Monosit ve makrofajlarda ise viron hücrel vakuollerde birikir. HIV ile enfekte kişide viral replikasyon hızı çok yüksektir: ortalama olarak günde 1 milyar virüs partikülü yapılır ve parçalanır.

Retrovirüs replikasyonu hata yapma eğilimindedir ve yüksek spontan mutasyon hızına sahiptir. Ortalama olarak revers transkripsiyon sonucu genom başına ve replikasyon başına 1-10 hata düşer. Mutasyon sonucu replikasyon yetisinde azalma ve ilaç direnci ortaya çıkabilir (18-21).

2.9. HIV ve Antijen Sunan hücreler

Antijen sunan hücrelerin prototipi

Dendritik hücreler

Dendritik hücreler (DH), makrofajlar ve B hücreleri, bağışıklık sisteminin en önemli antijen sunan hücrelerdir (APC). DH spesifik immün yanıtın en güçlü uyarandır ve primer antijen-spesifik immün yanıtın başlayabilmesi için gereklidir. DH öncülleri kemik iliğinden primer lenfatik organlara ve bağırsak, genitoüriner sistem ve solunum yollarına ulaşır. Solübl antijenleri toplayıp bir dizi işlemlere tabi tutularak ve sekonder lenfatik organlara hareket ederek antijen spesifik T hücrelerini aktive ederler.

İmmatür DH yabancı antijenleri toplayıp bazı aşamalardan geçirebilir fakat T hücresini uyarma kapasitesi azdır. Matür DH ise immüno simülatördür (22).

Dendritik Hücre ile B/T hücresi Arasındaki İlişki

Antijen spesifik immün yanıtın ana hücreleri B ve T lenfositlerdir (23). Fakat bu hücreler DH'nin kontrolü altındadır. Periferden DH tarafından toplanan antijenler, ko-sitümülator moleküllerle beraber T hücresine sunulur. T hücresi üzerinde peptitlere bağlanacak farklı T hücre reseptörleri (TCR) bulunmaktadır: MHC class I peptitkompleksi CD8+ T hücresini, MHC class II-peptit kompleksi ise CD4+ T hücresini uyarır. DH'nin T hücresini aktive etmesinde IL-12 gibi stimulator sitokinlere de ihtiyaç duyulur. IL-12 TN1 ve doğal katil hücrelerin yapımında ve aktivasyonunda önemli rol sahibidir. Adezyon molekülleri ve DC-SIGN gibi lektinin ekspresyonu DH ve T hücrelerinin agregasyonuna neden olur ve bunun sonucunda da TCR angajmanı gerçekleşir. Submukozal ve intradermal DH'de varlığı gösterilmiş olan DC-SIGN HIV'in T hücrelerine bulaşını artırır (17).

Lenfatik Dokuda Viral Replikasyon

Hastalığın ilk aşamasından itibaren lenfatik dokuda özellikle lenf nodunun parakortikal kısmında viral replikasyon olur (23). HIV'in vücuda girmesi ile birlikte plazmada yüksek düzeyde viremi olur ve daha sonra da HIV-1 spesifik sitotoksik T hücre yanıtıyla birlikte bu düzeyde azalma görülür.

Vironlar lenfoid dokudaki folliküler DH tarafından alınır. Virüsün ana hedefi makrofajlar ve aktif sessiz CD4+ T hücrelerdir. Enfeksiyonun devamı boyunca lenfoid doku HIV-1 replikasyonunun olduğu esas bölgedir. Kan dolaşımındaki periferik mononükleer hücrelere kıyasla lenfoid dokularda proviral DNA 5-10 kat daha fazladır. HIV-1 sessiz T hücresine girip revers transkripsiyon işlemini bitirdikten sonra proviral DNA hücre genomuna girmeden hücrede bulunmaya devam eder.

Viral DNA integrasyonu için hücre uyarılmış ve aktif olmalıdır. Bunun için de en uygun ortam lenfoid dokulardır. Çünkü burada CD4+ T hücresi ile DH arasında yakın temas ve viral replikasyonu indükleyebilecek fazla miktarlarda IL-1, IL-6 veya TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler vardır.

Hastalığın ilerleyen dönemlerinde plazma virüs yükünde artış, CD4 sayısında azalma görülürken, lenfoid dokuda da yapısal destrüksiyon ve virüsü yakalama yetisinde azalma görülür (17,18).

HLA Sisteminin Rolü

Yapılan çalışmalarda HLA Bw4 homozigot olanlarda HIV'in daha yavaş bir seyir izlediği gösterilmiştir (24). HLA B14, B27, B51, B57 ve C8 varlığında hastalığın yavaş seyrettiğini, HLA A23, B37 ve B49 varlığında ise hızlı geliştiğini göstermişlerdir. HLA B35 pozitif kişilerin tümünde AIDS semptomları enfeksiyonundan sonraki 8 yıl içinde gelişmektedir. HLA sınıf I uyumsuzluğu olan çiftlerin heteroseksüel HIV bulaşından korundukları bilinmektedir. Ayrıca vertikal HIV bulaşına HLA DR13'ün de koruyucu rol olduğu gösterilmiştir. Hastalık progresyon hızı yavaş olan hastalarda CD4+ T hücre sayısında hızlı düşme olan hastalara kıyasla sitotoksik T lenfosit sayısı daha yüksek olduğu bulunmuştur (24).

2.10. İmmünopatogenez

HIV biyomedikal araştırma alanında belki de en fazla çalışılan virüs konusu olmuştur. Pek çok izolat klonlanmış virüsün genleri ve bu genlerin protein ürünleri tanımlanmış ve hastalığa yol açan patojenik mekanizmalar ortaya konulmuştur. Bütün bu araştırmalar ışığında verilen karar HIV'in kendisi patojenik prosesin başlamasında ve ilerleyişinde primer rolünün olduğu yolundadır. Bütün bunlara karşın henüz virolojik ve immünolojik açıdan patogenezi ilgilendiren pek çok konu tam olarak aydınlık kazanmış değildir.

İmmünoregülatuvar dengede CD4+ T hücreleri çok önemli role sahiptirler. CD4+ T hücreleri B hücreleri ile, antijen sunan monosit/makrofaj hücreleri, sitotoksik hücrelerle ve natural killer (NK) hücreleri ile yakın ilişki içerisindeyler. HIV enfeksiyonunda da esas olan CD4+ T sayısının progresif azalması olmasına rağmen, pek çok hücre tipinin immün fonksiyonunda farklı derecelerde değişiklikler olur (21).

2.11. HIV Enfeksiyon Seyri

HIV enfeksiyonu doğal seyir, üç faza ayrılır: geçici akut retroviral sendrom, klinik latent dönem, AIDS gelişimi. Üç aşamada da, virolojik ve immünolojik parametrelerde spesifik değişiklikler olur. HIV ile enfeksiyonu takiben, kanda HIV'e özgü göstergeler şu kronolojik sırada saptanır:

HIV RNA, p24 antijeni ve HIV antikorları. Bu üç göstergenin kandaki saptanma zamanı, kullanılan test şekli, enfekte eden virüsün özellikleri, konağın bağışıklık yanıtının derecesi gibi, çeşitli faktörlere dayanır. Enfeksiyonun oluşmasını takiben, ilk hafta viral replikasyon olmasına rağmen, HIV RNA, antijen ve antikor genellikle saptanmaz. Enfeksiyonu takiben 1- 4 hafta içinde viral RNA oldukça hızlı bir şekilde artar ve viral antijen de tayin edilebilir hale gelir. Ancak HIV antikorları genellikle henüz tayin edilebilir değildir. HIV antikorlarının saptanmadığı döneme, pencere dönemi denir. Çoğu enfekte kişide, HIV antikorları 1-2 ay içinde saptanırlar. Az oranda kişide serkonversiyonun oluşması 6 ayı bulur.

Başlangıçta çok yüksek düzeye çıkan HIV RNA'sı çoğunlukla başlangıca göre nispeten daha düşük ve sabit düzeye geriler. Bu da, devam eden viral replikasyonun ve bağışıklık sistemin hasarının bir göstergesidir. Perinatal olarak enfekte olan bebeklerde, HIV RNA düzeyinin seyri, erişkinlere göre daha farklı seyir gösterir. HIV ile enfekte çocuklarda, yüksek HIV RNA düzeyi, uzun süre persiste eder (21).

Akut Retroviral Sendrom

Akut HIV-1 enfeksiyonu, yüksek düzeyde HIV-1 replikasyonunun ve gelişmekte olan virüse has immun yanıt ile beraber geçici, semptomatik bir hastalığa neden olur. Akut HIV-1 enfeksiyonu, genellikle dikkate alınmaz. Çünkü semptomlar nonspesifik olup, bu dönemde HIV-1 spesifik antikorlarının oluşumu saptanmazlar. Semptomlar primer enfeksiyonu takiben, 3 ila 6 hafta içinde olguları % 40-80'inde mevcuttur ve genellikle 10 gün kadar sürer (25).

Akut HIV-1 enfeksiyonun klinik semptomları, ilk kez 1985 yılında mononükleoz benzeri sendrom olarak tanımlanmıştır. En sıklıkla ateş, makülopapüler döküntü, oral ülser lenfadenopati, yorgunluk, kilo kaybı ve gece terlemeleri görülür (25,26). Akut HIV-1 enfeksiyonu sırasında, plazma viremi düzeyinde, 100 milyon HIV-1 RNA kopya/mL'ye varan bir başlangıç çok yükselme aşaması vardır (27). Ek olarak HIV-1'e özgü CD4+ T lenfositlerin yıkılımı ve lenfoid organ ve diğer doku rezervuarlarının enfekte olması ile sonuçlanan yaygın bir virüs yayılımı gerçekleşir.

Primer enfeksiyonun rezolüsyonu sırasında CD4+ T lenfositlerin parçalanması, lenfoid organ ve diğer doku rezervuarlarının enfekte oluşumu ile sonuçlanan yaygın bir virüs yayılımı meydana gelir.

Primer enfeksiyonun rezolüsyonu sırasında CD4+ T hücreleri artar ve viremi sabit bir düzeye ulaşmadan bir düşüş gösterir. Bu sonradan ulaşılan sabit düzey, hastalık gelişiminin önemli bir göstergesidir (28, 29).

Klinik Latent Dönem

Aseptomatik dönem, çoğunlukla yıllar sürer ve primer enfeksiyonla, klinik olarak immün sistem yetersizliğinin gelişmesi arasındaki dönemdir. Bu dönemde, CD4+ T lenfositleri yavaş yavaş azalır ve nispeten stabil düzeyde kalan viral yüke rağmen, virüs çoğalmaya devam eder bu klinik olarak latent dönemde yüksek titrede virüs lenfoid ve diğer doku kompartımanlarında bulunur (30). Klinik olarak latent dönem süresi, değişebilir ancak yaklaşık 10 yıldır. Hastalıkları hızlı ilerleyen hasta gurubunda ise AIDS 1-2 yıl içinde gelişir (31).

Son zamanlarda yayımlanan New York'da bulunan olguda olduğu gibi klinik latent dönem kısa olabilir ve semptomatik AIDS 4 ila 20 ayda gelişebileceği gibi aksine HIV ile enfekte kişilerin %5-10 kadarı uzun süre hastalıkları ilerlemeyen gruba girerler ve 20 yıldan uzun süre klinik bulgu olmadan yaşayabilirler (32). Çeşitli etmenler, viral replikasyonun sabit düzeyde oluşunu ve hastalığın ilerleme hızını değiştirebilir. Bunlar arasında; konağın immün yanıtı, konağın genetik yapısı, özellikleri ve enfekte eden virüsün uyumu da etkilidir. Virüs replikasyon hızını etkileyen en önemli faktörlerden biri de CCR5 delesyonudur. CCR5'da 32bp'lik delesyon için homozigot olan çoğu kişiler, HIV-1 enfeksiyonuna daha dirençlidir (33). Kemokin reseptör genlerindeki mutasyona ek olarak bazı HLA sınıf 1 alleleri, düşük düzeyde virüs seviyeleri ile ilişkili bulunmuştur (34). Hastalığın ilerleme hızının, başka enfeksiyonlar ile kombine gelişmesinde etkilendiği de ileri sürülmüştür (35).

AIDS Gelişimi

HIV-1'in devamlı replikasyonunu, enfekte konak hücrelerin harabiyeti ve kronik bağışıklık sistemi aktivasyonu yıllar içinde bağışıklık sistemin yetersizliği ile son bulur. HIV-1'in replikasyon dinamikleri üzerinde yapılan araştırma ve çalışmalar, enfekte lenfositlerde enfeksiyonu takiben virüs üretimi ve hücre ölümüne kadar geçen sürenin, çok kısa bir zaman dilimi olduğunu göstermiştir.

HIV-1'in plazmadaki yarı ömrünün 6 saat, CD4+ lenfositlerde replikasyon siklusunun uzunluğunun 2 ila 6 gün olduğu ve günde 35 milyon CD4+ hücre kaybı olduğu düşünülmektedir (36).

Konağın virüs üreten enfekte hücreleri, elimine etme yeteneği düştükçe, integre provirüs taşıyan CD4+ lenfosit sayısı artar.

Bu dinlenme halindeki hafıza CD4+ lenfositler, HIV-1 için uzun ömürlü rezervuar olarak hareket ederler. Bu latent rezervuar hücrelerin yarı ömrünün, çoğu hastada 40 ay kadar olduğu bildirilmiştir (37).

Klinik bulgular hemen hemen bütün organ sistemleri ile ilişkilidir. Ayrıca bağışıklık sistemin harabiyeti, fırsatçı enfeksiyonların ve tümörlerin ortaya çıkmasıyla anlaşılır ve santral sinir sistemi tutulumu da HIV ile ilişkili demans olarak görülür (38). AIDS süreyans olgu tanımlanması 1993'te, CD4 T hücre sayısının 200'den düşük olması, virüsler, bakteriler, mantarlar ve protozonların yol açtığı fırsatçı enfeksiyonlar, neoplasti hastalıklar, HIV ensefalopatisi, tükenmişlik sendromu, progresif multifokal lökonesefalopati sayılıyordu. Bu klinik tablolar HIV-1 enfeksiyonunun klinik seyrine eklenir ve sıklıkla ölümle sonuçlanır. CDC ve WHO dahil olmak üzere çeşitli halk sağlığını evrelemek için HIV-1 ile enfeksiyonun yol açtığı hastalığı sınıflandırma sistemleri geliştirilmiştir.

HIV-1 ile enfeksiyonu evrelendirme, prognoza göre yapılır ve tedaviyi yönlendirmede çok yararlıdır. 13 yaşından büyük erişkinler için olan şu anki CDC sınıflandırması, CD4 sayılarının üç kategorisini (**kategori 1:**>500, **kategori 2:**200-499 arası, **kategori 3:**< 200 hücre/mm³) üç semptom grubu ile (A, B ve C grubu) birleştirilmiştir. HIV ile enfeksiyonun seyri ve klinik bulguları, çocuklarda erişkinlere göre farklıdır. Bu nedenle CDC HIV ile enfekte anneden doğan 13 yaş altındaki çocuklar için farklı bir sınıflandırma sistemi geliştirmiştir (39). Vertikal HIV enfeksiyonunda, hastalık hızla ilerler. AIDS'de *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi, lenfoid interstisyel pnömoni, pulmoner lenfoid hiperplazive rekürren bakteriyel enfeksiyonlar sık görülür.

HIV’le temastan sonra gelişen ilk patolojik olaylar

Vajinal temas sonrası HIV ilk olarak mukozal dendritik hücreler karşı karşıya gelir. İki tip dendritik hücre vardır: epidermal veya epitelyal dendritik hücreler ve dermal veya subepitelyal DH. Epidermal DH’de eksternal mannoz bağlayan, C-tipi lektin domaini olan tip II membran proteini (DC-SIGN) bulunur ve T hücrelerinde bulunan intraselüler adezyon molekülüne (ICAM)-3 bağlanmayı ve hücre immün yanıtının başlatılmasını sağlar (22).

DC-SIGN’in diğer bir önemli fonksiyonu virüsün hücre içine girmesine izin vermeksizin HIV-1’i yakalayıp tutmaktır. Bu şekilde HIV en yakın lenfoid dokuya taşınarak o bölgedeki hücrelerin de enfekte olması sağlanır. Dendritik hücreler ayrıca salgıladıkları kemokinler aracılığıyla da T hücre immünitesini uyarır.

DC-SIGN negatif domaini oluşturduğu sorusunun yanıtı ko-reseptörlerin tanımlanması ve T hücre kemotaksisiyle ilgili bazı bilgilerin edinilmesiyle yanıtlanmıştır. İki kemokin sınıfı vardır: CC ve CXC ilk iki sistein yan yana ise CC kemokini, arada bir amino asit varsa CXC olarak adlandırılmıştır. CC-kemokin reseptörü (CCR)-5 G proteinine bağlı yedi transmembran reseptörden oluşur ve M-tropik veya R5 HIV’in majör ko-reseptörüdür (40). CXCR4 ise T-hücre tropik veya X4 HIV’in majör ko-reseptörüdür. Epitelyal DH sadece CCR5 eksprese ettiğinden doğal olarak R5 HIV bulaşını tercih eder. Hem M-tropik hem de T-tropik HIV DC-SIGN taşıyan epidermal DH’lere bağlanır fakat sadece R5 HIV CD4+ T hücrelerine aktivasyon sinyali gönderir ve kemotaksislerin sağlar.

Sonuç olarak hem ko-reseptörlerin viral tropisin seçiciliği hem de kemotaksis indüksiyonun M- tropik virüslerle yapılması nedeniyle bulaş özellikle M-tropik virüslerle olmaktadır. Enfeksiyonun ikinci günü içinde HIV drene olan lenf nodlarında saptanabilir ve hızla lenfoid sisteme yayılır. Daha sonra HIV kana geçer. Enfeksiyonun 4-11 gününde plazmada viral replikasyon varlığı gösterilmiştir (18).

Primer HIV Enfeksiyonlarında lenf nodlarının rolü

Akut enfeksiyon'dan 5 gün sonra virüs lenf nodlarında saptanabilir ve kan ve lenf nodunda virüs eksprese eden hücre sayısı en yüksek değere akut enfeksiyonun 7. gününde tespit edilir (41). Primer enfeksiyon'dan kronik enfeksiyona geçişte virüs lenf nodu germinal merkezindeki foliküler dendritik hücre ağına geçiş yapar. Nedeni HIV'e spesifik humoral yanıtıdır. HIV immünoglobulin ve komplemana bağlanır ve oluşan bu kompleks yapı foliküler dendritik hücre yüzeylerinde bulunan kompleman reseptörü aracılığıyla bağlanır. Bu sırada plazma virüs yükünde belirgin düşme olur ve akut klinik sendrom bulguları ortadan kalkar.

Virüsün immün sistemden kaçış mekanizmaları ve kronik enfeksiyon

Primer HIV enfeksiyonu sırasında oluşan virüse spesifik immün yanıt hem başlangıçtaki virüs replikasyonunu kontrol eder hem de plazma viremisini azaltır. Fakat sonuçta HIV kronik enfeksiyona ilerler ve immün yanıtta progresif azalmaya neden olur.

2.12. HIV'in İmmün Yanıttan Kaçış Mekanizmaları

2.12.1. Virolojik Mekanizmalar

a. Virüsle latent enfekte olmuş CD4+ T hücre havuzu

HIV'le latent enfekte olmuş CD4+T hücre havuzu virüsün vücuda girmesinden hemen sonra ve konağın HIV'e spesifik immün yanıtı gelişmeden önce oluşur (42). Bu nedenle tanı konduğu anda veya akut HIV enfeksiyonu sırasında tedavinin başlanması havuzu üzerinde etkili olmaz. Ayrıca antiretroviral tedavi başlanmış hastalarda alınan lenf nodu örneklerindeki virüsün wild tipte olduğu gösterildiğinden antiretroviral ilaçların bu havuzdaki virüse etki edemediği de saptanmıştır. Bu nedenle günümüzdeki antiretrovirallerle virüsün eradike edilmesi pek mümkün olmamaktadır.

b. Virüsün genetik değışkenliği

HIV'in intrinsik hızlı mutasyon geçirebilme özelliği vardır (43). HIV epitoplarındaki hızlı mutasyonlar sitotoksik T hücrelerinin virüsü tanıma yetisini kısıtlar ve virüse karşı oluşan hem humoral hem de hücresele immün yanıt virüsü kontrol altına alma yetisini kaybeder.

c. Enfeksiyöz vironların foliküler dendritik hücre yüzeyinde yakalanması

Lenfoid doku germinal merkezindeki folliküler dendritik hücreler HIV'i yakalar ve enfeksiyöz vironlar için stabil bir depo oluştururlar. Böylelikle CD4+ T hücreleri için sürekli bir enfeksiyon kaynağı oluşur ve ayrıca burada devam eden kronik enflamatuvar reaksiyon sonunda lenfoid dokunun destrüksiyonuna neden olur.

2.12.2. İmmünolojik Mekanizmalar

a. HIV spesifik CD4+ T hücre klonunun delesyonu

Enfeksiyonun tipik olarak ilerlediği hastalarda zaman içerisinde HIVspesifik CD4+ T hücre klonunda delesyon olur (42). Hastalığın ilerlemediği grupta ise bu delesyon gözlenmez. Delesyon virüsün direkt veya indirekt sitopatolojik etkisi sonucunda hastalığın çok erken döneminde genellikle de primer HIV enfeksiyonu sırasında gelişir. Antiretroviral tedaviyle HIV spesifik CD+4 T hücre kolunda hastaların % 30-40'ında restorasyon olur.

Primer HIV enfeksiyonu sırasında başlanan antiretroviral tedavi ile bu klonun kaybının önlenebileceği düşünülmektedir. HIV spesifik CD4+T hücre klonunun delesyonunun iki önemli sonucu; HIV'e spesifik sitotoksik T hücre yanıtı ve humoral immün yanıtın indüksiyonu ve pesistansının ortadan kalkmasıdır.

b. HIV spesifik CD8+ T hücre klonunun delesyonu

Akut enfeksiyon sırasında HIV spesifik CD8+T hücre klonunda hızlı bir ekspansiyon olur ve bunu klonla delesyon izler (44). Sitotoksik lenfositler virüs replikasyon hızının kontrolünde ve sonuçta hastalığın seyrinin görmede önemli yeri vardır. Öte yandan sitotoksik T hücrelerinin selektif baskı yaparak mutant virüslerin seçilmesine katkıda bulunduğu da gösterilmiştir.

c.Sitotoksik T lenfositlerinin lenf nodlarından çıkışı

Primer enfeksiyon sırasında viral replikasyonun en çok olduğu bölgenin lenf nodları olduğu bilinmektedir (44). Bu nedenle etkin konak savunması için sitotoksik T hücrelerinin bu bölgede yoğunlaşması beklenir. Fakat HIV enfeksiyonunda bu hücreler en çok virüs yükünün daha düşük olduğu kanda bulunurlar. Genel olarak immün yanıtın doğal bir parçası olan bu durum, antijen-spesifik efektör hücrelerin tüm vücut alanlarına dağılması ve sonuçta da konağın her yerinde etkin bir savunmanın oluşturulması amacıyla planlanmıştır. Fakat HIV’de konağın normal savunma mekanizmasının bir parçası olan bu tercih konağın lehine olmayan bir durum halini alır.

d.Antijen sunan hücre fonksiyonunun bozulması

HIV’in direkt sitopatogenetik etkisi ve MHC sınıf I molekülerinin aşağı-regülasyonundan HIV-1 Nef proteini sorumludur.

e.Humoral nötralizasyon yanıtının bozulması

HIV’e yönelik humoral yanıt erken dönemde saptanır (45). Oluşan antikor ENV-spesifik IgG’dir ve aviditesi düşüktür. Nötralizasyon kapasitesi yok kabul edilebilir. Humoral yanıtın geç oluşmasının mekanizması hala bilinmemektedir.

2.13. HIV Enfeksiyonunun seyrini etkileyen konak faktörleri ve virolojik faktörler

Kronik HIV enfeksiyonu oluşmasında konak faktörleri ve virolojik faktörler önem taşır. Enfeksiyonun immünopatogenezinde anahtar dönem primer HIV enfeksiyonu dönemidir.

Bu dönemdeki olaylar hastalık paternini ve progresyon hızını belirler. Primer enfeksiyondan erken kronik HIV enfeksiyonuna geçiş sırasındaki plazma virüs yükünün saptandığı değer hastalığın nasıl bir hız ile ilerleyeceği hakkında bilgi verir.

a.Genetik Konak Faktörleri

Bazı HLA sınıf I haplo tipler virüs spesifik sitotoksik T hücrelerin tanıdığı epitoplara uyan peptidleri tanırlar. HIV enfeksiyonu geliştiğinde de daha etkin bir antiviral yanıt ortaya çıkar. HIV bulaşına yatkınlık ve hastalık progresyon hızına bazı alfa ve beta kemokinlerin katkısı olduğu gösterilmiştir (46).

Alfa kemokinler veya CXCL, beta kemokinler veya CC olarak da tanımlanır. Yüksek maruziyet riski altında bulunan bazı HIV negatif kişilerde üçüncü kromozomun p21'inde bulunan CCR5 yapısal geninin haritası çıkarıldığında 32 baz çiftinden oluşan delesyon alleli saptanmıştır.

Bu allel hücre yüzeyine ulaşmayı başaramayan, kısa ve fonksiyonu olmayan bir molekül kodlar. Sonuç olarak HIV'e duyarlı hücreler R5-HIV'e dirençli hale gelir. Avrupalıların % 15-20'si bu mutasyon için heterozigot iken, % 1'i homozigottur. Heterozigot olan kişilerde HIV daha yavaş bir seyir gösterir. CCR5 genindeki m303 mutasyonu sonucu prematür stop kodunu girer ve sonuçta reseptörün hücre yüzeyinde ekspresyonu engellenir. Mutant CCR2B alleli (V64I) ve CXCR4'ün ligandı olan SDF-1'deki G801A mutasyonu HIV'in progresyonunu geciktirir. Hastalığın ileri döneminde T-tropik virüs daha fazla olacağından SDF-1'deki mutasyon bu dönemde hastalık progresyonunu yavaşlatır.

Beta kemokinlerden RANTES (normal T hücrelerinden eksprese edilen ve salınan, aktivasyonla regüle edilen: regulated upon activation, normal T expressed and secreted) makrofaj enflamatuvar protein (MIP)-1 α ve MIP-1 β , CD8+T hücrelerinden salınan majör HIV süpresif faktörlerdir. Kemokinlerin reseptörlerine bağlanmasının hücre yüzeyinde kemokin reseptör ekspresyonunu aşağı-regüle ettiği bilinmektedir. RANTES, MIP- α ve MIP-1 β delta32CCR5-delta32CCR5 homozigotlarda ve hemofili hastalarında yüksek düzeylerde bulunur ve hücre yüzeyindeki kemokinleri azaltarak HIV bulaşını riskini azaltır. Kanda MIP-1 düzeyi yüksek bulunan hastalarda hastalık progresyonunun daha yavaş olduğu gösterilmiştir (18).

b.İmmünolojik Konak Faktörleri

HIV bulaşından sonra HIV-spesifik CD4+ T hücrelerinin sayısında hızlı bir artış olur ve bunu sitotoksik T hücrelerinin artışı izler. Sitotoksik T hücreleri akut HIV enfeksiyonu sırasında gelişen vireminin kontrolünde önemli görev üstlenir. Sitotoksik T henfositler HLA sınıf I aracılığıyla sunulan virüsü tanıdığından, immün yanıtta konağın taşıdığı HLA tipinin de önemi vardır. Örneğin HLA-B27 ve HLA-B57 yavaş, HLA-B35 ise hızlı hastalık progresyonuyla ilişkilidir.

Enfeksiyonun başında itibaren virüse yönelik immün yanıtta önemli rol üstlenen sitotoksik T hücrelerinin HIV'in progresyonunu engellemede başarısız kalmasının nedenini saptamaya yönelik yapılan çalışmalarında HIV'e yönelik CD+4 T hücrelerinde fonksiyonel ve gelişimsel bazı defektler olduğu saptanmıştır.

Bu hücrelerde litik kapasiteden büyük ölçüde sorumlu olan perforin düzeyi çok düşük bulunmuştur ayrıca bu hücrelerin matürasyon düzeylerinin düşük olduğu ve diferansiyasyonunun pre-terminal düzeyde olduğu gösterilmiştir (24).

c.Virolojik Faktörler

Kronik asemptomatik fazda ölçülen plazma virüs yükü prognozu belirlemeye yardımcı olur. Akut enfeksiyon döneminde gelen hastada ise retroviral sendrom 14 günden uzun sürmüştü, klinik belirtilerin şiddeti fazlaysa, santral sinir sistemi tutulumu varsa ve T-tropik HIV bulaşı olmuştusa prognoz kötüdür. Eğer bulaş kan transfüzyonu gibi yüksek virüs yükü transferiyle olmuşsa asemptomatik dönemin daha kısa sürmesi beklenir.

2.14. Bulaşma

HIV bulaşı genel olarak bulaş ihtimali olarak düşük fakat sonuç bakımından değerlendirildiğinde büyük bir enfeksiyondur. Bulaş riski, hücre içindeki veya dışındaki virüsün vücut sıvısındaki konsantrasyonuna, temas süresine, virüsün hücre tropizmine, formuna ve temasta bulunan kişinin HLA yapısına göre değişkenlik gösterir. Genel olarak bulaş riskinin, vücut sıvısındaki virüs konsantrasyonuyla doğru orantılı olduğu varsayılmaktadır. HIV bulaşı cinsel temas sonucu, kan ve kan ürünleri ile temas sonrası ya da gebelik sırasında anneden bebeğe vertikal yolla ve sağlık çalışanlarına bulaş şeklinde olabilir (Tablo 3) (47).

Tablo 3. HIV'in bulaşma şekilleri

Olası bulaş yolu	Olgu sayı/yüzde (%)
Heteroseksüel cinsel ilişki	510 (28.86)
Homoseksüel cinsel ilişki	274 (15.51)
Damar içi madde bağımlılığı	12 (0.68)
Anneden bebeğe geçiş	19 (1.08)
Nozokomiyal bulaşma	8 (0.45)
Homoseksüel ve madde bağımlısı	1 (0.06)
Hemofili hastası	1 (0.06)
Enfekte kan transfüzyonu	5 (0.28)
Bilinmeyen	937 (53.03)
Toplam	1767 (100)

Cinsel temas

Tüm dünyada HIV bulaşı en sık görülen bulaş yoludur (% 85). Özellikle gelişmişlik düzeyi düşük olan veya gelişmemiş ülkelerde heteroseksüel yolla bulaş ön plandayken, gelişmiş ülkelerde homoseksüel (eş cinsel ilişki) temas daha ön plana çıkmaktadır. Korunmasız vajinal cinsel temas sonrası HIV bulaş riskinin her ilişki için 0.0005-0.002 arasında olduğu öngörülmektedir.

Seminal sıvıda HIV varlığı hem enfekte mononükleer hücrelerde hem de hücre dışı ortamda gösterilmiştir. Seminal sıvıda lenfosit ve monositlerin arttığı durumlarda olağan olarak virüs yükü de artacağından bulaş riskide buna paralel oranda artar. Seminal sıvıda bu hücrelerin sayısını arttıran en önemli bir diğer nedende cinsel yolla bulaşan hastalıkların varlığıdır. Virüsün varlığı servikal sıvıda ve vajinal salgılarda da gösterilmiştir. HIV bulaşı ile cinsel davranış arasındaki ilişki ve bulaşta rolü olan diğer bazı faktörler gösterilmektedir.

Çoklu cinsel partneri olduğu bilinen kişiler, para karşılığı seks yapanlar, cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü olanlarda, genital bölgede ülser lezyonu olan kişilerle ve HIV pozitif olduğu bilinen kişi ile korunmasız cinsel temas bulaş açısından en riskli davranışlar açısından en önemli olandır. Cinsel temasla HIV bulaşında en çok risk altında bulunan grup anal alıcı cinsel ilişkide bulunanlardır.

Nedeni semenle mukoza altındaki HIV'e duyarlı hücreleri birbirinden sadece ince ve frajil olan bir rektal mukozal membranın ayırması ve temas sırasında travmatik mikrokanamaların sık olmasıdır. Bu gruptaki kişilerde travma'nın diğer önemli nedenleri anal duş ve rektuma sert objelerin sokulmasıdır.

Vajinal cinsel temasla bulaş riski anal temasa kıyasla oranı çok daha düşük seviyededir. Nedeni vajen mukozasının kalın olması, HIV ko-reseptörü taşıyan hücre sayısının az olması ve temas sırasında travma riskinin daha düşük olmasıdır. Vajinal temas sırasında HIV'in erkekten kadına bulaşma riski, kadından erkeğe bulaş riskinin 20 katıdır. Nedeni vajen, serviks mukozasının ve endometriumun enfekte semen sıvısına daha uzun süre maruz kalmasıdır. Buna karşılık erkekte penis ve üretral orifis vajen sekresyonuyla çok daha kısa süreli temasta kalır (18).

Oral cinsel temasla bulaş riski daha düşüktür. Çünkü burada virus taşıyan hücrelerin sayıca daha az olması ve bulaşı inhibe eden sekretuar lökosit proteaz inhibitörü içermesidir. Fakat sadece oral cinsel temasla HIV bulaşının bildirildiği olguların olduğu da vardır.

Ayrıca maymun immün yetmezlik virüsü modeliyle yapılan çalışmalarda virüsün oral sekresyonlarla bulaşabildiğinin mümkün olduğu gösterilmiştir. Kondomla cinsel temas, en riskli cinsel ilişkide bile bulaşı en az 20 kat azaltır bu yöntem HIV'den korunmada en etkili yöntemler arasındadır. HIV- pozitif erkeklerin HIV-negatif cinsel eşleriyle korunmalı cinsel temasta HIV bulaş riski 1.1/100 kişi/yıldır. Buna karşılık düzensiz kondom kullanıldığında risk 7.2/100 kişi/yıl olmaktadır. Sünnetli erkeklerle cinsel temas cinsel eş bulaşı azaltan diğer önemli faktörlerdendir.

Sünnetsiz erkeklerde genital ülseratif hastalık riski daha yüksek olduğundan, mikrotravma daha sık görüldüğünden ve sünnet derisinin katlantıları virüs için uygun ortam yarattığından bulaş riski artmaktadır. Tek cinsel eşlilik ve korunmalı cinsel ilişki HIV bulaşını engellemenin en kolay yoludur. Öte yandan cinsel perhiz cinsel yolla bulaşı kesin olarak engellemenin de tek yoludur.

Sifiliz, şankroid ve genital herpes simplex enfeksiyonu gibi ülseratif cinsel yolla bulaşan hastalıklar HIV'in bu ülserler aracılığıyla bulaşmasına sebep olmalarının yanı sıra, enfekte olan mononükleer hücrelerin gelmesini de sağlayarak HIV seyrini hızlandırırlar.

Gonore, trikomoniyaz ve *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonu gibi veneryal hastalıklar genital traktusa lökositlerin yığılmasını ve sitokin/ kemokinlerin salınmasını sağlayarak HIV bulaş riskini artırdığı bilinmektedir.

Oral kontraseptif kullanımının HIV bulaş riskini artırdığı bilinmektedir. Bunun nedeni hormonal kontraseptiflerin servikal ektropiona neden olarak ince mukozalı, vaskülaritesi yüksek endoservikisin enfekte semenle temasını sağlaması ve en önemlisi de cinsel eşlerin korunuyor oldukları düşüncesi ile kondom kullanmaya gerek duymamasıdır (18).

Kan ve kan ürünleriyle bulaş

HIV intravenöz ilaç bağımlılarına ve kan/kan ürünü transfüzyonu alıcılarına bulaşabilir. İntravenöz ilaç bağımlılarında bulaş riski ilaç kullanım süresine ve iğne paylaşma sıklığına bağlı olarak artar. Ortak iğne kullanımı durumunda iğnenin yıkandıktan sonra çamaşır suyuna konması ve iki kullanım arasında en az 5 dakika olması bulaş riskini bir nevi azaltıcı bir önlemdir.

Fakat bu kişilerde tek kullanımlık steril iğnelerin kullanılması bulaş riskini tamamen ortadan kaldırır. 1985 yılından beri kan ve kan ürünleri HIV açısından test edilmektedir. Bu amaçla HIV ELISA testi kullanılmaktadır. Fakat enfeksiyon ile antikor yanıtının oluşması arasında geçen süre yaklaşık 1-2 haftadır(pencere periyodu) ve bu sürede verilen kan örneğinde ELISA testi sonucu yanlış olarak negatif çıkabilir. Bu nedenle HIV'in kan transfüzyonu ile bulaş riski 1/500.000 ünite kandır. Gelişmiş ülkelerde ELISA testinin yanı sıra p24 antijen testi de yapılarak pencere periyodu 6 güne kadar indirilebilir. Bu testin kullanıldığı ülkelerde bulaş riski 1/600.000-800.000 ünite kandır bu da oldukça düşük bir orandır.

Ülkemizde kan ve kan ürünü transfüzyonu öncesi HIV ELISA testi yapılmaktadır henüz p24 antijeni bakılmamaktadır. HIV ile enfekte kanın transfüzyonu sonucu bulaş riski % 90-100'dür. Tam kan, eritrosit, trombosit, lökosit ve plazma transfüzyonu ile HIV bulaşabilir. Buna karşılık hiperimmün gama globülin, hepatit B immün globülin, plazma-derivesi hepatit B aşısı ve RH0 immünglobülinle bulaş olmaz (18,19).

Anneden bebeğe bulaş

Anneden bebeğe HIV geçişi % 90 olguda perinatal dönemde olur. Perinatal dönemde bulaşın 8.haftada olduğunu bildiren olgu sunumları bulunmasına karşın bulaşın özellikle son trimesterde olduğu görüşü kabul görmektedir (47). HIV bulaşı annenin kan, servikal sekresyon veya amniyon sıvısına maruziyet nedeniyle en sık (%50-70) doğum sırasında olmaktadır.

Doğum sonrası bulaş özellikle gelişmemiş ülkelerde yaygın bir emzirme alışkanlığı olduğundan ve ekonomik nedenlerden dolayı emzirme dışında bir yönteme başvurulmadığından daha sıktır.

Emziren annelerde emzirmeyenlere kıyasla bulaşta % 10-14'lük bir artış görülmektedir. Tedavi edilmeyen annelerin bebeklerine virüsü bulaştırma riski yaklaşık % 25'tir.

Anneden bebeğe HIV bulaş riskini artıran faktörler ileri dönem HIV enfeksiyonu, düşük CD4+T hücre sayısı, yüksek viremi, annede vitamin A eksikliği, koryoamniyonit ve funisit varlığıdır. Doğum eyleminin ne kadar uzarsa, membran rüptürü ile doğum arasındaki sürenin uzun olacağından, fetal-kafa derisi elektrod uygulaması, epizyotomi ve servikal/vajinal laserasyon bulaş riskini artırır. Gebelik sırasında geçirilen akut HIV enfeksiyonu da bulaş riskini artıran bir diğer etmendir. Kolostrumda ve anne sütünde HIV varlığı gösterilmiştir.

Gelişmiş ülkelerde anne sütü verilmemesi kolaylıkla önerilebilir. Fakat ekonomisi zayıf, gelişmemiş ülkelerde dünyaya gelen çocuklar için tek beslenme kaynağı olan emzirmenin engellenmesinin olumlu ve olumsuz yönleri düşünülerek karar verilmesi daha uygun olacaktır (18).

Sağlık çalışanlarda bulaşma

Sağlık çalışanlarına HIV bulaşı enfekte kişinin kanıyla peruktan temastan sonra, mukoza temasından sonra veya zedelenmiş deri temasından sonra gerçekleşmesi en sık olarak kesici ve delici alet yaralanmalarından sonra olmaktadır.

2.15. Epidemiyoloji

Günümüzde HIV/AIDS hastalarının sayısındaki ve AIDS'e bağlı ölümlerdeki artış ne yazık ki hala artarak devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre aralık 2014'de dünyada ortalama 35 milyon HIV enfekte kişi yaşamakta olup, hastalığın tanımlandığı ilk günden beri 39.1 milyon kişi hayatını bu hastalık nedeni ile kaybetmiştir. 2013 yılı içinde 2.1 milyon yeni vaka bildirilmiş olup, bu sayılara günde 6.000 yeni vaka ilave olmaktadır.

Tüm HIV enfekte vakaların %95'inden fazlası gelişmekte olan ülkelerde, % 80'i de Sahra-altı Afrika, Güney-doğu Asya'da görülmektedir.

Günümüzde HIV/AIDS hastalığı Sahra-altı Afrika'da birinci, dünyada ise 4. ölüm nedeni olarak bildirilmektedir. Sovyetler Birliğinin parçalanması ile meydana gelen değişimlerle Doğu Avrupa ülkeleri ve Rusya'da HIV enfeksiyonun süratle yayıldığı görülmektedir.

Dünya nüfusunun 1/5'nin yaşadığı Çin'de, özellikle damar içi uyuşturucu madde kullananlar arasında HIV pozitiflik oranının kısa sürede hızlı bir yükseliş göstererek % 70'lere ulaştığı gözlemlenmiştir (48). HIV/AIDS hastalığı, tanımladığı 1980'li yılların başlarında korunmasız yapılan homoseksüel cinsel temas ile bulaşmaktadır diye bilinirken, 1990'lı yıllarından beri çoğu ülkede en sık korunmasız yapılan heteroseksüel cinsel temas ile, ikinci sıklıkta damar içi madde kullananların ortak paylaştığı enjektör ile, üçüncü sıklıkta ise korunmasız yapılan homoseksüel cinsel temasla bulaşmaktadır. 1990'lı yıllarından beri çoğu ülkede en sık korunmasız yapılan heteroseksüel cinsel temas ile bulaş birinci sırada bulaş yolu olarak görülmüştür.

İlk vakaların görüldüğü Kuzey Amerika ve Avrupa ülkelerinde 1994 yılından beri her yıl tanı konan yeni vaka sayıları bir önceki yıldan fazla değil iken, Afrika gibi ekonomik seviyeleri düşük gelişmemiş ülkelerde vaka sayıları katlanarak artmaktadır. Bu ülkeler etkin eğitim programları ile hastalık ve korunma yollarını halkına öğretebilmeyi başarmış gözükmemektedir. Eğitimde bir diğer önemli faktörde ekonomik güçtür. Gelişmekte olan ülkeler kısıtlı bütçeleri ile giderek artan sayıdaki hastaların tedavi için gerekli masrafı yapmakta zorlanırken, beraberinde eğitim programlarını yürütmekte oldukça zorlanmaktadırlar (48).

Doğu ve Orta Afrika

Doğu ve Orta Afrika'da HIV prevalansında değişiklik gözlenmemiştir. Sadece Uganda'da anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Etiyopya'da genel HIV prevalansı % 4-7, Kenya'da gebelerde % 10 ve Rwandan'da yine gebelerde % 13 civarında olduğu görülmektedir (48).

Batı Afrika

Senegal kararlarının uygulamaya konulmasıyla birlikte Batı Afrika'da HIV prevalansı stabilize olmuş durumdadır. Prevalansın en yüksek olduğu Cöte d'Ivoüire'da gebe kadınların % 10'u HIV ile enfekte durumdadır. Yapılan araştırmalarda prevalansın yüksek olduğu diğer yerleşim yerlerinden Akar'da seks işçileri arasında HIV prevalansı % 14, Kaolack'ta ise % 23'tür. HIV prevalansı Mali'de % 2, Gambia, Moritanya ve Nijer'de ise % 1'in altında olduğu saptanmıştır (48).

Kuzey Afrika

HIV prevalansının en yüksek olduğu ülke Sudan ve özellikle de bu ülkenin güneyidir (% 2). Bu bölgede Tunus antiretroviral tedavinin ücretsiz olarak sağlandığı bir ülke olduğundan bu durumdan yararlanmak için HIV pozitif hastalar sıklıkla bu ülkeye göç etmekte ve buda Tunus'ta HIV prevalansını yanlış olarak yüksek düzeyde görülmesine neden olmaktadır. Tunus'a bu nedenle göç en sık Libya'dan olmaktadır. Kuzey Afrika ülkelerinde kan ve kan ürünlerinin HIV ELISA ile taranmasında hala sorunlar yaşanmakta olup bu sorunlar aşılamamıştır (48).

Sahra Altı Afrika

Sahra-Altı Afrika hala HIV epidemisinin en yüksek düzeyde olduğu bölgedir ve HIV'in çıkış yeri olarak da bilinmektedir. Bu bölgedeki kadınlar diğer dünya ülkelerindeki kadınların tersine, erkeklerden 1.2 kat daha fazla sıklıkta HIV'le karşılaşmaktadır. 15-24 yaşlarındaki kadınlarda bu oran 2.5 kata kadar yükselmektedir. Epideminin en yüksek olduğu yerler Botswana ve Swanziland olarak görülmektedir (% 40).

Yine Botswana'da gebelerde yapılan antenatal HIV taramasında HIV pozitiflik % 40 vakada tespit edilmiştir. Sahra-Altı Afrika'da genel olarak gebe olan bayanlarda HIV pozitiflik oranı % 20-25 civarındadır. Bunun yanında gebe olan kadınların ancak % 1'i antenatal bakım için hekime başvurabilmektedir (48)

Avrupa

HIV'in en yaygın olduğu ülkeler Rusya, Ukrayna ve Baltık ülkeleridir (Estonya, Latviya ve Litvanya). Bu ülkelerde en önemli HIV bulaş yolu intravenöz uyuşturucu madde kullanımudur. Sadece Rusya'da 3 milyon uyuşturucu bağımlısı bulunmaktadır. Ukrayna'daki intravenöz olarak uyuşturucu bağımlısı sayısı 600.000 ve Kazakistan'da bu rakam 200.000'dir. Estonya halkın % 1'i, Kırgızistan toplumun ise % 2'si intravenöz ilaç bağımlısıdır. Bu ülkelerdeki İV ilaç bağımlılarının çoğunluğu genç erkeklerdir. Başta Rusya olmak üzere Doğu Avrupa ülkelerinde anneden bebeğe bulaş hızında bir artış olduğu görülmektedir.

Rusya, Ukrayna ve Litvanya'da önemli bulaş yollarından bir diğeri de homoseksüel (eş cinsel) cinsel temastır. Polonya; Çek Cumhuriyeti, Hollanda ve Slovenya gibi ülkelerde HIV enfeksiyonu hızında bir artış gözlenmemektedir.

En önemli bulaş yolu korunmasız olarak yapılan cinsel temastır. Almanya, Yunanistan, Hollanda'da HIV bulaşı en çok homoseksüel erkeklerde görülmektedir. İngiltere'de heteroseksüel cinsel temas sonucu olmaktadır. Portekiz'de bulaşın yaklaşık yarısı kadarından intravenöz ilaç bağımlılığı sorumlu tutulmaktadır (48).

Asya

En yeni HIV epidemisinin başladığı ülkeler Orta Asya ülkeleridir (Kazakistan, Kırgızistan ve Özbekistan). Kırgızistan, komşu ülkelere ilaç transferinin yapıldığı kilit noktalardan birisinde bulunduğundan bu ülkede iv ilaç bağımlılığı yaygındır.

Orta Asya ülkelerinin birçoğunda eroin alkolden daha ucuz parlarla alınabilmektedir. Öte yandan bazı Orta Asya ülkelerinde örneğin Tacikistan'da kan transfüzyonu öncesi HIV ELISA testi yaygın olarak kullanılmaktadır buda bulaş riskini bir kat daha artırmaktadır.

Genel olarak Güney Asya ülkelerinde HIV prevalansı % 1'in altındadır. Bu ülkelerde iv ilaç bağımlılığı, homoseksüel cinsel temasta bulunan kişilerin sayısındaki artış, tedbir alınmazsa bu ülkelerde de HIV prevalansında yakın gelecekte artış olacağı fikri ön plana çıkmaktadır.

Çin'in Xinjiang ve Guangdong isimli bölgelerinde iv ilaç bağımlıları arasında HIV prevelansı sırasıyla % 35-80 ve % 20 olarak saptanmıştır. Bu ülkede iv ilaç bağımlıları sayısındaki artışın yanı sıra HIV bulaşında önemli bir risk faktörü olan kondom kullanmama sıklığı da yüksektir.

Kamboçya, Myanmar ve Tayland'da etkin kondom kullanma programı ile gelişebilecek HIV epidemisinin önüne geçilmiştir. Endonezya'da HIV'in en önemli bulaş yolu olarak intravenöz ilaç bağımlılığı ön plana çıkmaktadır.

Hindistan'da son bir yıl içinde 300.000 yeni HIV vaka saptanmıştır. Bu ülkede iv ilaç bağımlıları sayısında ve homoseksüel cinsel temas sıklığında bir artış olduğu gözlemlenmektedir. Bangladeş ve Nepal'de HIV prevelansı % 1 civarındadır. Bangladeş'te seks işçisi kadınların % 90'ı kondom kullanmamaktadır. Ayrıca bu ülkede gençlerin % 65'i, evli kadınların % 25'i ve evli erkeklerin % 33'ü AIDS hakkında bilgi sahibidir. Pakistan'da HIV prevelansı % 1'in altındadır fakat eroin bağımlısı sayısının 3 milyon olduğu göz önüne alınırsa, tedbir alınmadığı takdirde gelecekte yaşanacak patlamalar kaçınılmaz olacaktır. Vietnam'da HIV prevelansı genel olarak % 1'in altındadır. Fakat iv ilaç bağımlıları sayısındaki artış HIV bulaşı açısından alarm verici düzeylerdedir. HIV ile enfekte olguların % 65'ini iv ilaç bağımlıları oluşturmaktadır.

Papua Yeni Gine HIV prevelansının en yüksek olduğu Pasifik ülkesidir. Bu ülkede gebe olan kadınlarda HIV prevelansı % 1'dir. Japonya'da 1990'dan beri yıllık insidans bir önceki yıl ile kıyaslandığında iki kat artış gözlemlenmektedir. Bulaş bu ülkede en çok korunmasız cinsel temasla olmaktadır. Avusturalya'da yeni tanı konulan HIV olgularının % 86'sını homoseksüel erkekler ve % 25'ini de IV uyuşturucu madde bağımlılığı oluşturmaktadır.

Bahreyn, Libya ve İran'da iv ilaç bağımlıları arasında HIV prevelansının arttığı görülmektedir. Yine Ceyazir, Mısır, Kuveyt, Morokko, Oman ve Tunus'ta uyuşturucu madde kullanımına bağlı HIV bulaşı bildirilmiştir. İran'da iv ilaç bağımlıları dışında hapishanelerdeki tutuklularda da HIV prevelansı yüksektir (% 63).

Yemen’de seks işçilerinde HIV prevalansı % 7 olarak bulunmuştur. Bu bölgede homoseksüel erkeklerde HIV prevalansına yönelik bir bilgi elde edilememiştir. Sadece Mısır’dan yapılan bir bildiride Mısır’da homoseksüel prevalansının % 1 olduğu ve bu kişilerde de HIV prevalansını % 21 olduğu bildirilmiştir. Orta Doğu Asya’da HIV bulaşı açısından önemli bir risk faktörü de kondom kullanım oranının çok az miktarda olmasıdır (48).

Amerika

Latin Amerika ve Karayip ülkelerinde HIV prevalansı genel olarak % 1’in üstündedir. Altı ülkede hamile olan kadınlarda HIV prevalansı % 2 civarındadır: Bahma, Belize, Dominik Cumhuriyeti, Guyana, Haiti, Trinidad ve Tobago HIV’in en yaygın olduğu ülke Brezilya’dır. Bu ülkelerde HIV bulaşında en önemli yol iv ilaç bağımlılığı yani uyuşturucu madde kullanımı ve özellikle homoseksüel erkekler arasında olmak üzere konmasız cinsel temastır. Karayiplerde heteroseksüel cinsel temas en önemli bulaş yolu olarak saptanmıştır. Porto Riko’da ise en önemli bulaş yolu intravenöz ilaç bağımlılığıdır.

Bu bölgede günümüzde en ciddi epidemi Haiti ve Dominik Cumhuriyeti’nde yaşanmaktadır. Haiti’deki % 5-6’lık prevalans 1980’li yıllardan beri devam etmektedir ve Haiti HIV’in çıkış yeri olarak kabul görmektedir. Orta Amerika ülkelerinden Guatemala, Honduras ve Panama’da HIV prevalansı % 1 civarındadır. Seks işçilerinde HIV prevalansı, Nikaragua’da % 1’in altında, Panama’da % 2, El Salvador’da % 4, Guatemala’da % 5 ve Honduras’ta % 10’dur. Homoseksüel erkeklerde HIV prevalansı Nikaragua’da % 9, El Salvador’da % 18’dir.

Kuzey Amerika’da etkin antiretroviral tedavi nedeniyle HIV pozitif hasta sayısında artma, ölüm hızında da düşme olduğu göze çarpmaktadır.

Amerika’da her yıl yeni tanı alan 40.000 HIV pozitif hastanın yarısını Afrikalı-Amerikalılar oluşturmaktadır. Bu grupta özellikle kadınlar risk altındadır. Bu kadınların eşleri genellikle ya biseksüel (% 34) ya da iv ilaç bağımlıdır. Amerika’da 25-34 yaşlarındaki Afrikalı-Amerikalılarda ölümün en önemli nedeni AIDS’tir. Amerika’daki HIV pozitif hastaların dörtte biri HIV ile infekte olduğunu bilmemektedir. Amerika ve Kanada’da yeni HIV olgularının % 25’inden ilaç bağımlılığı sorumludur (48).

Türkiye

Ülkemiz düşük prevalanslı (< %1) ülkeler arasında olmakla beraber olgu sayısı hızla artmaktadır. Dünya'nın tersine Türkiye'de vaka sayısı son 9 yıl baz alınırca yaklaşık 10 kat gibi ciddi bir artış gözlemlenmektedir. İki yıl önce Türkiye'de kayıtlı HIV virüsü taşıyanların sayısı 4000-4500 civarında iken, Aralık 2014'te 8105 olarak bildirilmiştir. Bu son iki-üç yıl içerisinde % 50'ye oranında bir artışı göstermektedir (Tablo 4, 5).

Türkiye'de HIV bulaşmasında en önemli risk bu virüsü taşıyan partnerle yapılan kontrolsüz ilişkidir. Burada seks çalışanları önemli bir risk oluşturmaktadır. Yine damar içi madde bağımlılığı da önemli risklerdendir. Ayrıca HIV pozitif bir anneden, bebeğe geçme olasılığında yüksektir 2014 yılı sağlık bakanlığı HIV/AIDS vaka dağılımı (48, 49).

Tablo 4. 2014 Yılı HIV/AIDS Vaka Dağılımı

Yaş grubu	Erkek	Kadın	Cinsiyeti bilinmeyen	TOPLAM
0	5	5		10
1-4	5	3		8
5-9	1	-		1
10-14	3	3		6
15-19	30	12		42
20-24	180	21		201
25-29	266	56		322
30-34	244	70	1	314
35-39	210	57		267
40-49	269	54		323
50-59	148	43	2	191
≥60	65	17		82
TOPLAM	1426	341	3	1767

Tablo 5. Türkiye’de AIDS vaka/taşıyıcıların yıllara göre dağılımı (48).

YILLAR	HIV (+)	AIDS	TOPLAM
1985	0	3	3
1986	1	1	2
1987	32	8	40
1988	21	11	32
1989	22	11	33
1990	23	13	36
1991	27	24	51
1992	36	29	65
1993	47	33	80
1994	48	35	83
1995	59	28	87
1996	92	35	127
1997	95	38	133
1998	82	42	124
1999	89	28	117
2000	111	46	157
2001	137	45	182
2002	136	41	177
2003	136	46	182
2004	175	58	233
2005	246	46	292
2006	253	44	297
2007	345	24	369
2008	390	53	443
2009	437	66	503
2010	516	73	589
2011	632	78	710
2012	973	95	1068
2013	1296	101	1397
2014	1648	119	1767
TOPLAM	8105	1274	9379

2.16. HIV'in Kliniği ve Laboratuvar Tanısı

HIV enfeksiyonunda çok geniş spektrumlu klinik şekiller ve hastalıklar meydana gelmektedir. HIV ile ilk enfeksiyon genellikle asemptomatik özellik görülmektedir. Bazı olgularda enfeksiyonun 2-4. haftalarında mononükleozis benzeri bir hastalık tablosu oluşur ve 1 ay içerisinde tamamıyla iyileşme meydana gelir. Hastalığın belirtileri ateş, yorgunluk hissi, lenfadenopati, hepatosplenomegal, artralji ve döküntüdür. Bazen çok hafif geçen aseptik menenjit gibi hastalık tabloları görülebilir. Bu belirtiler gelişsin veya gelişmesin virüs konakta hedef hücrelerde çoğalmaya devam etmektedir. Konak hücre genomuna integre olur ve hayat boyu konakta kalır. İlk HIV enfeksiyonunu takiben asemptomatik dönem başlar. Asemptomatik dönem kişiden kişiye farklılıklar göstermekle beraber yıllarca sürebileceği gibi kısa sürede görülebilir. Bu peryot içinde virüs kandan, seksüel sıvılardan ve serviksten izole edilebilir. Ortalama enfekte kişilerin % 50'sinden fazlasında ilk 10 yıl içerisinde klinik AIDS geliştiği görülmektedir. Hastalığın ortaya çıkması üç şekilde ortaya çıkar (21).

1. Jenaralize peristan lenfadenopati sendromu: Özellikle 6 aydan fazla devam eden birçok bölgedeki lenf nodlarının büyümesi ile karakterize bir sendromdur.

2. AIDS-related kompleks (ARC): Bu dönemde ateş, zayıflama, iştahsızlık, gece terlemeleri ve immün sistem işlevinin azaldığını ortaya koyan laboratuvar bulguları ortaya çıkmaktadır. Bu devrede bazı minör fırsatçı enfeksiyonlar dikkati çeker.

3. Full blown AIDS: Bu devrede viral, bakteriyel, fungal ve parazitler enfeksiyonlar, bazı malignant hastalıklar, ileri derece zayıflama ve ensefaloopati görülmektedir. Hastalık ilerledikçe CD4+ T lenfosit sayılarında azalmalar meydana gelir. AIDS tablosunun ağırlığı için en iyi gösterge CD4+ T lenfosit sayısıdır ki bu full blown AIDS sırasında 400 hücrenin altına düşer.

Serolojik olarak HIV enfeksiyonu takip edilecek olursa akut enfeksiyon sırasında serumda ilk saptanan virüs markerı p24 antijenidir. Serokonversiyon meydana gelmeye başladığında hem gp120 hem de p24 antijenlerine karşı anti-gp120 ve anti-p24 antikorları oluşur. Bu safhada p24 antijeni kaybolur. ARC devresinde anti-p24 antikorları kaybolurken anti-p120 antikorları devam eder.

Bu dönemde kaybolmuş p24 antijeni tekrar serumda yükselir. Full blown AIDS sırasında serumda anti-p24 saptanmazken p24 antijeni yüksek düzeyde saptanır.

HIV antikorlarının saptanması kişilerin HIV virüsü ile karşılaşmış veya karşılaşmadığının ortaya çıkarılmasında veya kan veya kan ürünlerinin bu enfeksiyon etkeni ile kontamine olup olmadığını ortaya çıkarmakta hala en geçerli yöntem olarak kullanılmaktadır (21).

Örneklerin toplanması, saklanması ve laboratuvar güvenliği

Serolojik analiz veya virüs saptanması için rutin olarak venöz kan örneği alınır. Periferik kan mononükleer hücrelerinden virüs izolasyonu için heparin ile veya EDTA ile muamele edilmiş kan örneğinin alınması gerekmektedir. HIV ayrıca plazma, serum, BOS, tükürük, gözyaşı, süt, idrar, genital salgı, gibi vücut sıvılarından veya enfekte doku örneklerinden de izole edilebilir. Ancak her türlü klinik örneğin alınmasında ve işlenmesinde çok dikkatli olunması, eldiven giyilmesi önerilmektedir aksi takdirde çok olumsuz sonuçlarla karşı karşıya kalınabilir.

Serolojik testler için alınan plazma, serum ve diğer vücut sıvıları -20 °C veya -70 °C’de muhafaza edilmelidir. Eğer daha sonra örnekte virüs veya viral antijen aranacaksa örneklerin -70 °C’de saklanması tavsiye edilir. Virüs izolasyondan iyi sonuç elde etmek isteniyorsa örnek alınmasından hemen sonra çalışması çalışma açısından daha önemlidir. Ancak kandaki periferik mononükleer hücreler virüs izolasyonu için % 10’luk dimetil sulfoksit içerisinde de likid nitrojende saklanabilir.

HIV antikor testi yapan laboratuvarlarda biyogüvenlik düzeyi 2 standartlarının oluşturmuş olması gerekmektedir. Bütün bireylerden gelen klinik örneklerinin enfektif olacağı kabul edilerek ona göre işleme tabi tutmalıdır. HIV klinik laboratuvar şartlarında bazı metodlarla kolaylıkla inaktive edilebilmektedir. Virüs kuru ve liyofilize şekillerde oldukça dayanıklı olup, bazı deterjanlar oldukça da duyarlılık gösterir. Örneğin virüs Triton-X ve nonidet P-40 ile kolaylıkla inaktive olur. Virüs ayrıca sabun ve çamaşır suyuna (% 0.5 hipoklorit) duyarlıdır. %70’lik ve üstü alkol ve aseton-alkol karışımı oda ısısında virüsü inaktive eder. HIV suşları iodoforlara geniş bir pH spektrumu içerisinde (pH 2-12) duyarlılık gösterirler.

Virüsü inaktive etmekte UV, X-ray veya sıvı şeklide 56 °C’de ısıtmak etkin olmaktadır. Serolojik testlere alınacak bütün serum örnekleri 56 °C’de 30 dakika inaktive edilmelidir (21).

HIV enfeksiyonunun saptanmasında kullanılan serolojik testler

ELISA: Bugün HIV taramasında veya tanıda daha ucuz olması ve çalışılması daha kolay olması, standardize edilmiş bir yöntem olması, güvenilirliğinin fazlalığı ve çabuk sonuç alınması yönünden en fazla ELISA testi kullanılmaktadır. Bu testin duyarlılığı % 93-100 arasında değişkenlik göstermektedir. Optimal laboratuvar şartları altında birçok vakada duyarlılık ve özgüllük % 99 civarındadır. FDA tarafından lisans alan ELISA kitleleri tanıda kullanılmaktadır. Genellikle immobilize edilmiş sabit HIV antijeni kullanılarak kompetitif olmayan indirekt boyama yönteminden yararlanılmaktadır. Bunun için HIV antijeni katı bir yüzeye bağlanmıştır ve bu antijen hasta serumunda bulunan anti-HIV antikorlarını bağlanmaktadır. Bu antijen antikor kompleksi enzimle işaretli anti-insan immünoglobulin G’si tarafından tespit edilir. Bu kompleks ise bir renk substratı tarafından katalize edilerek bir renk reaksiyonu oluşur. Renk değişimi spektrofotometrede okunarak optik dansite kaydedilir. Optik dansite direkt olarak mevcut antikor düzeyi ile doğru orantılıdır. Her testte pozitif ve negatif kontrol kullanılır ve sonuçlar cut-off olarak saptanan optik dansite değerine göre kaydedilir. Birçok ELISA testinde HIV ile enfekte T-lenfosit hücre kültürlerinden elde edilen viral antijenler kullanılmaktadır. Bu antijenler genellikle p24, p17, gp160, gp120 ve gp41’den zengindirler. Primer olarak **zarf glikoproteinlerine** (gp41, gp120, gp160) karşı oluşmuş olan antikorlar araştırılır. Enfeksiyonu takiben HIV antikorları **2. haftadan** itibaren serumda saptanabilir. Antikorların saptanmaya başladığı döneme kadarki süre **PENCERE DÖNEMİ**, Enfekte kişilerin % 80’inde 6 haftada, % 99-100’ünde 12. haftada antikorlar pozitifdir. Antikorların araştırılmasına yönelik serolojik yöntemler 2 ye ayrılır. Tarama testleri

ELISA 1. Tarama testleri,

- Enzim linked immunosorbent assay (ELISA/EIA),
- Aglütinasyon testleri
- Dot blot immunobinding assay
- 2. Doğrulama testleri

1. jenerasyon HIV üretilmiş T hücre kültürü lizatlarından hazırlanıyor, hücresel komponentlere ait çok sayıda proteine bağlı, yalancı pozitiflik sık,

2. ve 3. jenerasyon testlerde rekombinan DNA teknolojisine göre hazırlanan sentetik peptid antijenleri kullanılır. Özgüllük yüksek. Ancak genetik olarak stabil immünodominan bölgeler seçilmelidir.

Dördüncü-jenerasyon tarama testleri: Hem antijen hem de antikor belirleyen kitlerdir. En sık kullanılan antijen bir core proteini olan **p24** antijenidir. Üçüncü jenerasyon testlerle karşılaştırıldıklarında tanıda 3-5 günlük zaman kazanımı sağlarlar. DSÖ, HIV-1 (M, O, N alt türleriyle beraber) ve HIV-2'yi saptayan kitlerin kullanılmasını önermekte, 3.&4. Jenerasyon En sık kullanılan tarama testi ELISA dır. Özgül ve duyarlı testlerdir (% 99.5 - % 99.8),

Yalancı negatiflik; Örnek henüz serumda antikor oluşmadan alındıysa (pencere dönemi), immünosupressif tedavi, malignite, replasman transfüzyonu, kemik iliği transplantasyonu, B hücre disfonksiyonu, RF pozitifliğinde,

Yalancı pozitiflik; deneysel hatalar, T- hücre antijenlerine karşı antikor varlığı (çok doğum yapan kadınlarda, sık transfüzyon yapılanlarda), primer bilier siroz, sklerozan kolanjit, RPR pozitifliği, renal ransplantasyon, kronik renal yetmezlik, anti-HAV IgM, Anti-HBc IgM pozitifliği, DNA virusları ile aktif infeksiyonlar, otoimmün hastalıklar,

Bazen yalancı pozitif reaksiyon kültür materyaline non-HIV antikorlarının cevabı nedeniyle oluşmaktadır. En sık yalancı pozitif sonuç uyandıran HLA-DR antijenidir. Bu nedenle son zamanlarda birçok ticari kitlerde rekominat ve sentetik peptid antijenleri kullanılmaktadırlar. Eğer test serokonversiyondan önce yapılırsa yalancı-negatif sonuç elde edilebilir. Ayrıca bazı ELISA kitleleri HIV-1'i saptamakta ancak HIV-2'yi saptanmamaktadır. Yalancı pozitif sonuçların varlığı nedeniyle pozitif sonuç çıkarsa ELISA testinin tekrar tekrar yapılması gerekmektedir. Ayrıca sonucu Western Blot ve İmmün Floresan Assay (IFA) ile doğrulanmasının yapılması şarttır (21).

Çabuk Aglütinasyon testi

Bu testte lateks boncukları rekombinant ve sentetik antijenlerle kaplıdır. Serum örneği bir miktar lateks partikülü ile karıştırılarak kart üzerinde rotasyon hareketi ile karıştırılır. Sonuç birkaç dakika sonra ışık mikroskopunda negatif kontrolle karşılaştırılarak değerlendirilir.

Testin avantajı kolay ve zahmetsiz uygulanması, az elektrikli alete gereksinim olmasıdır. Testin tek dezavantajı duyarlılığının değişken olmasıdır. Testin özgüllüğü ise % 93-99 arasında değişmektedir (21).

Western Blot (WB)

Western Blot testi HIV'e özgül antikorun saptanması ve doğrulanması için en sık kullanılan bir yöntem şeklindedir. Ancak WB, ELISA testinden daha pahalıya mal olmakta ve daha uzun sürede sonuçlanmaktadır.

Yorum kriterlerinin bağımlı olmakla beraber testin özgüllüğü ve duyarlılığı oldukça yüksektir. WB, enfekte hücrelerden elde edilen kısmen saflaştırılmış tüm virustan veya rekombinant viral proteinlerin jel üzerinde elektroforezinden elde etme yöntemine dayanır (21).

Enfekte hücre lizatının kullanılmasının avantajı bol miktarda viral antijenin elde edilmesidir. Jel üzerinde ayrılan viral proteinler nitrosellüloz kağıda transfer edilirler. Bu nitrosellüloz kağıt viral proteinleri sabitleştiren özgül olmayan proteinler içeren tampon solüsyonu ile muamele edilir. Daha sonra bu kağıt hasta serumu ile reaksiyona konur. Eğer hasta serumunda antikor mevcutsa, her antikor kendisine özgül viral proteinlerle birleşir. Bu birleşmeyi saptamak için enzimle işaretli anti-globulinle kağıtlar muamele edilirler. Daha sonra substart ilavesi ile antikorun birleştiği bantların renk reaksiyonuna girmesi sağlanır. Negatif ve pozitif kontrollerle birlikte moleküler ağırlığı saptayan işaretler de teste konulmaktadır. İki veya üç bandın ortaya çıkması pozitif sonuç olarak değerlendirilir (21).

Radioimmuno precipitation assay (RIPA): HIV'una karşı antikorlar sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel elektroforezinde radyoaktif işaretli HIV proteinleri ile presipite edilme esasına dayanan RIPA testi ile de saptanabilir. RIPA HIV-1 ve HIV-2 ile infekte kişilerin immün durumunu göstermekte kullanılan bir testtir.

İndirekt immün floresan testi (IFA)

İndirekt IFA testi de Western blot gibi ELISA testi ile devamlı pozitif çıkan olguları doğrulamak için kullanılan çok iyi bir yöntemdir. Avantajı WB'den biraz daha uygun fiyatta olması ve daha çabuk sonuç elde edilmesidir. Testte lam üzerine aseton ile tespit edilmiş kronik olarak infekte T hücre kültürü kullanılır. Kurutulan lam hasta serumu ile muamele edilir. Daha sonra yıkanan preparta floresinle işaretli anti-insan IgG'si ilave edilir. Preparat tekrar yıkanarak evans blue ile boyanır. Sonuç floresan mikroskopu altında değerlendirilir (21).

Tanı için serolojik testlerin beraberce kullanılması

Hastadan alınan veya tarama için mevcut serum önce ELISA 1. testine alınır. Eğer sonuç negatif ise sonuç bildirilir. Eğer 1. ELISA testi ile serum reaktif bulunursa yani sonuç pozitif ise test iki defa daha tekrarlanır. Eğer her ikisinde bu defa negatif sonuç elde edilirse negatif olarak kabul edilir. Fakat tekrar tekrar pozitif sonuç elde ediliyor ise kişiden bir serum örneği daha alınır ve iki defa daha ELISA testi uygulanır. Bu serum negatif çıkarsa sonuç negatif olarak kabul edilir. Bu serum sonuçları da pozitif çıkarsa örnek doğrulama testine tabi tutulur. Bunun için western blot veya IFA testi uygulanır. Doğrulama testi negatif çıkar ise daha önceki sonuçlar yalancı pozitiflik olarak kabul edilir. Ancak doğrulanma testi ile de pozitif sonuç elde edilir ise pozitif HIV antikor testi olarak rapor edilir. Eğer sonuç indetermiante ise direkt saptama testi ve 2. Doğrulama testi uygulanır ve 6 ay içerisinde testler tekrarlanır (21).

Viral Nükleik Asitleri Saptanması

Klinik örnekten viral RNA'nın saptanması için revers transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve brunched-chain DNA (b-DNA) testleri amplifikasyon esasına dayalı olarak geliştirilmiştir. RT-PCR testi enzimatik bir yöntem olup HIV RNA'sını amplifiye eder. Ayrıca b-DNA testi sırasal oligonükleotid hibridizasyon basamakları ile viral RNA'yı amplifiye etmektedir. Eğer referans standartları kullanılırsa bu testler kantitatifdir ve mutlaka uygun negatif ve pozitif kontrollerin ilavesi gerekir (21).

Diğer bir moleküler esaslı ve çok duyarlı olan test, plazmadaki viral yükün saptanmasıdır. Plazmadaki HIV RNA düzeyinin saptanması yani viral yükün düzeyinin gösterilmesi hastalığın ilerleme derecesini göstermek veya kullanılan anti viral tedavinin etkinliğini saptamak yönünden önem arz etmektedir (21).

Virus izolasyonu ve kültürü

Aktif enfeksiyonu göstermek için en kesin tanı yöntemi olarak virusun izolasyonu gösterilir. Hastadan alınan klinik örneğin HIV üremesine uygun olan hücre kültürü ile beraberce ekimi yapılır. En uygunu hastadan alınan örneğin seronegatif bir bireyden elde edilen phytohemagglutininle stimüle edilmiş periferik kan mononükleer hücreleri ile interleukin-2 varlığında kültürüdür.

Genellikle hastadan alınan $3-6 \times 10^6$ mononükleer hücre, enfekte olmamış aynı sayıda hücre ile birlikte kültüre edilir. Kültürler 37 °C’de ve % 5 CO₂’li atmosferde inkübe edilir ve virüs üremesi p24 antijeni veya revers transkriptaz saptanması yöntemi ile ortaya çıkarılır (21).

2.17. Tedavi, Kontrol ve Korunma

Günümüze kadar HIV enfeksiyonunda uygulanan tedavilerin hiç birinde etki virusun konaktan temizlenmesine yönelik değildir. Çünkü virüs primer enfeksiyondan sonra replikasyon sırasında oluşturduğu proviral DNA’yı revers transkriptaz yardımıyla sentezleyerek hücre genomuna integre etmektedir. Bu integrasyondan sonra proviral DNA’dan viron sentezi yapılmaktadır. Bunun için kullanılan tedavide viral sentez ancak çoğalmasını engellemeye yöneliktir. Bu baskılanmanın amacı ise plazmada mevcut viral yükü azaltarak yaşam kalite ve süresini arttırmak ve HIV enfeksiyonunun etkilerini azaltmaktır.

Tedavide kullanılan ilacın etkinliğini klinik olarak takip edebilmek için çeşitli yöntemleri kullanılmaktadır. Önceleri CD4 lenfosit sayısındaki yükselme veya fırsatçı enfeksiyonların ortaya çıkmasının takibi gibi yöntemlerle ilacın etkinliği değerlendirilirken, bugün hasta plazmasındaki viral yük tayini duyarlı bir şekilde tedavinin etkinliğini ortaya çıkarmaktadır.

Bugüne kadar birçok retroviral ilaç HIV tedavisinde kullanılmak üzere onay almıştır. Bu ilaçlardan en sık kullanılanlar viral enzim revers transkriptaz inhibitörlü olan nükleosid ve non-nükleosid inhibitörleri ve proteaz enzimi inhibitördedir. Özellikle proteaz inhibitörleri oldukça etkindirler. Zira proteaz enzimi aktivitesi viral replikasyon ve enfeksiyöz virüs oluşumu için mutlaka gereklidir. Revers transkriptaz enzimi viral DNA'yı kalıp olarak kullanıp DNA sentezleyen bir enzimdir. Bu enzim virusun oluşturduğu proviral DNA'nın hücre genomuna integrasyon için şarttır (21, 49).

Revers transkriptaz inhibitörleri iki tipte mevcuttur:

1. Deoksinükleosid analogları (AZT, ddI, d4T, 3TC)
2. Non-nükleosid inhibitörleri (Nevirapine, Delaviridine)

1. Didoksinükleosid Analogları

Zidovudine (AZT, Ritrovir): AZT HIV tedavisinde ilk lisans alıp kullanılan anti retroviral ilaçtır. Bir revers transkriptaz inhibitörü olup viral RNA'dan proviral DNA yapımını önler. Periferik kanda bulunan mononükleer hücrelerdeki ve plazmadaki HIV miktarının azalmasına neden olur. Oral olarak kullanıldığında emilimi iyidir. En önemli yan etkileri nötropeni, anemi ve miyopatidir.

Ancak bu yan etkiler doza bağlı olarak gelişir ve genellikle HIV enfeksiyonun son devresinde daha belirgindir. Şu anda en önemli problemlerden birisi AZT'ye karşı oluşan dirençtir.

Özellikle bir yılı aşkın AZT kullanımından sonra AZT'ye duyarlılık 50-100 kat azalmaktadır. Bu direncin gelişmesinde revers transkriptazda meydana gelen nokta mutasyonlarının oldukça önemi vardır (50-52).

Didaosine (DDI, Videx): Didanosine de bir revers transkriptaz inhibitörüdür. İlacın gıdalarla birlikte alınmaması önerilir. Periferik nöropati ve pankreatit DDI'nın en önemli yan etkileri arasındadır. Farklı yan etkileri nedeniyle AZT ve DDI beraberce kullanılır. ddI özellikle AZT'ye dirençli HIV enfeksiyonlu olgularında kullanılmaktadır. DDı özellikle AZT'ye dirençli HIV enfeksiyonu olgularında kullanılmaktadır. DDI'ya karşı direnç saptanmış ve revers transkriptazdaki nokta mutasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir.

Zalcitabine (ddC, Hivid): Viral revers transkriptaz aktivitesini önleyen bir dideksinükleosid analogudur. ddC'nin belirgin bir hematolojik toksisitesi yoktur. Özellikle HIV enfeksiyonun ilerlemiş dönemlerinde AZT ile birlikte kombine kullanılabilir.

Stavudine (d4T, Zerit) ve Lamuvidine (3TC, Epivir): Revers transkriptaz inhibitörü olan diğer iki nükleotid analoglarıdır. Diğer ilaçlara dirençli olgularda kullanılmaları önerilmektedir.

2. Non-nükleosid İnhibitörleri

Bu grupta bulunan ilaçlar da revers transkriptaz inhibitörleridir. Özellikle etki sonucunda viral p24 antijen ve plazmadaki viral RNA düzeyinde belirgin bir azalmaya neden olurlar. Bu gruptaki ilaçlara çabuk direnç gelişmesi en önemli problemdir (53).

Nevirapine: Çok düşük düzeylerde revers transkriptaz ve viral RNAase üzerinde inhibitör etki yapar. Özellikle dideksinükleotid analogları (AZT, DDI) ile kombine edildiğinde HIV replikasyonunu kuvvetli bir şekilde inhibe eder. Döküntü dışında önemli bir yan etkisi yoktur.

Delaviridine: Kuvvetli bir revers transkriptaz inhibitörü olup, AZT ile birlikte sinerjik bir etkiye sahiptir. Diğer ilaçlara direnç halinde kullanıldığında etkindir.

Foscarnet: Stimegalovirusu üzerine etkili bir ilaçtır. Aynı zamanda anti-retroviral etkiye sahiptir. Ancak böbrek toksisitesi nedeniyle sadece sitomegalovirusa bağlı koriortinit olgularında kullanılmaktadır.

Interferon-alfa; Kaposi sarkoma olgularında pareneteral kullanılmaktadır. Viral replikasyon üzerinde etkili olmasına karşın yan etkileri nedeniyle kullanımı sınırlıdır.

Proteaz İnhibitörleri

HIV proteazı; viral yaşam döngüsünde önemli bir rol oynar. Viral Gag ve GagPol öncül proteinin kesillenmesi ve olgun enfeksiyöz virüs partiküllerinin oluşumunu sağlar.

Gag öncül proteini, matirks (P17, MA), kapsid (P24, CA), nükleokapsid, p6 proteini ve iki kesici protein P2 (SP1) ve P1 (SP2)'i kodlamaktadır. HIV-1 proteazı, belirli bir amino asit dizisi yerine peptit substratlarının asimetrik şeklini tanır.

HIV proteaz aspartik proteazlar ailesinin bir parçasıdır ve 99 amino asitlik 2 eşlenik alt ünitelerden oluşan, simetrik olarak biraraya gelmiş bir homodimerdir (54).

Korunma-kontrol

HIV enfeksiyonlarına karşı kontrol önlemlerinin başında yüksek risk faktörlerinin ortadan kaldırılması gelmektedir. Bu güne kadar HIV enfeksiyonun aksırık, öksürük, yemeklerin yapılması veya diğer günlük sosyal temaslarla geçmediği gösterilmiştir. HIV enfeksiyonunun en önemli geçiş yolu kan olması nedeniyle bütün verici kanları kullanılmadan önce antikor yönünden test edilmelidir. Ayrıca şüpheli olgularda kanın virüs veya viral antijen yönünden test edilmesi uygundur. Seksüel yolla bulaş söz konusu olduğu için şüpheli beraberlikler de özellikle kondom kullanılması geçiş riskini azaltmaktadır. Özellikle kanla geçiş söz konusu olabileceği için kanla kontamine herhangi bir alet veya eşyanın (jilet, iğne, diş fırçası vb.) kullanılmaması gerekir.

Kontrolde en önemli noktalardan biri ise halkın, özellikle de risk gruplarının eğitimidir. HIV'e karşı korunmada aşı çalışmaları halen devam etmesine rağmen aşının geliştirilmesi oldukça problemlidir. Zira HIV çok sık mutasyona uğrayan bir virüstür. HIV izolatları arasında çok farklılıklar saptanmaktadır. Hatta primer enfeksiyonu yapan virusla, hastalığın diğer evrelerinde saptanan viruslar arasında bile farklılıklar saptanmaktadır. Bu değişim özellikle virusun CD4 reseptörlerine afinitesi olan gp120 zarf proteininde meydana gelmektedir. Bu olayda nötralizasyona rezistan mutantların oluşumunu sağlamaktadır. Bu gün için deneysel olarak HIV'e duyarlı olan şempanzeler kullanılmaktadır. Ancak bu hayvanlarda virüs, viremi ve antikor oluşturmaya rağmen immünyetmezliğe neden olmamaktadır. Üzerinde çalışılan en önemli aşı şekilleri arasında tüm virüs partikülü ile hazırlanan canlı atenüe, inaktif ve defektif virüs aşılardır. Bunun yanı sıra subünite aşıları da deneysel olarak kullanılmaktadır. Gelecekte nötralizasyon epitopları haritalanarak multivalan bir aşı hazırlanması yönünde halen çalışmalar devam etmektedir (21, 48,49).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Mart-Kasım 2015 tarihleri arasında laboratuvarımıza HIV RNA testi çalışılması amacıyla gönderilen ve RNA testi >1000 kopya/mL olarak saptanan, daha önce antiretroviral tedavi (ARVT) almamış (naif) hastalarla yapıldı. Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan tam kan örneklerinden elde edilen plazma örneklerinden en az iki alikot hazırlanarak -20 °C’de muhafaza edildi. Çalışma, toplanan örnekler uygun şekilde taşınarak, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı PCR Ünitesinde, Doç. Dr. Murat Sayan’ın gözetiminde yapıldı.

Bu hastalara ait serum örnekleri çalışma yapılana dek muhafaza edildi. Hastaların demografik özellikleri ve özgeçmişi ile ilgili bilgilere hastane otomasyon sisteminden ulaşıldı.

Çalışma öncesinde araştırma için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’ndan 04.05.2015 tarihinde 148 karar numarası ile onay alındı.

3.1. Hasta Grubunun Belirlenmesi

Laboratuvarımızda anti-HIV testi pozitif olarak saptanmış ve Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından doğrulanmış ve HIV RNA pozitif (>1000 kopya/mL) olarak bulunmuş olan hastalar çalışma kapsamına dahil edildi.

Anti-HIV tarama testi

Hastalarda anti-HIV-1/2 antikorları ELISA testi ile saptandı. AxSYM (Abbott Laboratories, ABD) cihazında 4. Jenerasyon ELISA kitleri kullanıldı. HIV Combo Ab-ag testinde, hem rekombinant antijenler (HIV-1 M ve grup O, Env, HIV-1 core antijeni HIV-2 Env), hem sentetik peptidler (HIV-1 Env, HIV-2 Env) hem de HIV p24 monoklonal ag içermekte olup tüm bu yapılara karşı oluşan antikor saptanabilmektedir. Ölçüm değeri >1.1 S/CO saptanan hastalar pozitif olarak değerlendirilmektedir.

HIV-Doğrulama

ELISA testi ile pozitif olarak saptanan sonuçlar için aşağıdaki algoritma izlenerek doğrulama yapılmıştır.

- ☐ İlk testte ELISA pozitifliği saptandığında, test aynı serum örneği ile tekrarlandı, pozitif saptanırsa,
- ☐ 2. serum örneği istendi,
- ☐ İkinci örnek aynı anda iki kez çalışıldı,
- ☐ İki çalışmadan biri pozitif saptansa dahi DOĞRULAMAYA gönderildi. Doğrulama işlemi sırasında Türkiye Halk Sağlığı kurumunca belirlenmiş, kısaltmak suretiyle bilgilerin kodlandığı bildirim kağıtları kullanıldı ve bu bilgiler hastane idarecisi ve laboratuvar sorumlusu hekim tarafından onaylandı. Örnekler “biyolojik materyal taşıma” kurallarına uygun olarak, canlı kurye ile Halk Sağlığı Müdürlüğüne gönderildi.

Doğrulama amacıyla Türkiye Halk Sağlığı Kurumuna gönderiler örnekler; Western blot (WB), İmmünofloresan assay (IFA) veya HIV RNA çalışılarak yapılan doğrulama testi sonucu yazılı ortamda laboratuvarımıza ulaştıktan sonra (ortalama 20 gün) hastaya raporlandı.

3.2. HIV RNA testi

RNA izolasyonu

Hastalardan alınan sitratlı tam kan örneği 6 saat içinde 20 dakika 800-1600 x g hızında santrifüje edilerek plazma ve hücresel bileşenlerine ayrıldı. İzole edilen plazma steril polipropilen tüplere aktarılıp, en az 2 porsiyon oluşturuldu. Hazırlanan alikotlardan biri HIV RNA çalışmak amacıyla 4 °C'ye kondu. Diğer alikotlar -20 °C' de muhafaza edildi. RNA izolasyonu QIAamp DSP Virüs Kiti (QIAGEN) kullanılarak, QIASempony (QIAGEN, Almanya) cihazında otomatik olarak yapıldı. Amplifikasyon, *artus* HI Virus-1 RG RT-PCR (QIAGEN, Almanya) kiti kullanılarak Rotor-gene (QIAGEN, Almanya) PCR cihazında yapıldı. Kitin kinetik ölçüm aralığı 45-45x10⁶ copy/mL (0.45 katsayısı ile çarpılarak sonuçlar IU/mL olarak dönüştürüldü)'dir.

1. Test prosedürüne uygun olarak lizis tamponu hazırlandı (Tablo 6),

Tablo 6. Test prosüdürüne uygun olarak lizis tamponu hazırlama tablosu

Örnek Sayısı	1 hasta için (µL)
Lizis Tamponu	550
Taşıyıcı RNA	6.2
Toplam Hacim	556.2
Ekstaksiyon başına hacim	500

Her izolasyon tüpüne RNA izolasyon işlemini kontrol etmek amacıyla kit içeriğine dahil olan internal kontrol (HI Virus-1 RG IC) eklendi. İnternal kontrol, 1 µL elüsyon hacmi başına 0.1 µL oranında ilave edildi. İnternal kontrol ve taşıyıcı RNA üretici firmanın önerilerine uygun olarak, sadece lizis tamponuna ve örnek materyali karışımına veya doğrudan lizis tamponuna eklenmedi.

HIV-1 Geninin Dizilenmesi ve Alttiplendirme

HIV-1 (ters transkriptaz domaini, kodon 41-232) dizilenmesinde, “The French ANRS (National Agency for AIDS Research) AC11 Direnç Grubu”nun PCR ve dizileme algoritmasından yararlanıldı (55).

Kullanılan dış primerler;

- MJ3: 5'-AGTAGGACCTACACCTGTCA-3'
- MJ4: 5'-CTGTTAGTGCTTTGGTTCCTCT-3'

İç primerler (573 bp);

- A(35): 5'- TTGGTTGCACTTTAAATTTTCCCATTAGTCCTATT-3'
- NE1(35):5'-CCTACTAACTTCTGTATGTCATTGACAGTCCAGCT-3'

Sekanslama primeri;

A(20): 5'-ATTTTCCCATTAGTCCTATT-3' şeklinde dizilemesi yapıldı.

HIV-1 cDNA sentezi M-MuLV ters transkriptaz enziminin kullanıldığı ‘First Strand cDNA Synthesis Kit’ (Thermo Scientific Inc, Fermentas, Litvanya) ile gerçekleştirildi. PCR ürünleri, “DNA Engine peltier” termal döngü (BioRad Laboratories, ABD) platformunda yapıldı.

PCR aşamaları (45 döngü);

- Ön denatürasyon 95 °C 10 dakika,
- Denetürasyon 95 °C 45 saniye,
- 55 °C’de 45 saniye,
- 72 °C’de 45 saniye,

Primerler, PCR için 0.2 µL, dizi için 0.3 µL final konsantrasyonunda kullanıldı. Tüm PCR ürünleri “High Pure PCR Product Purification Kit” (Roche Diagnostics, Almanya) ile saflaştırıldı ve ürünler ABI PRISM 310 platformunda “DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit” (Amersham Pharmacia Biotech Inc, ABD) kullanılarak dizilendi.

Direkt dizileme için kullanılan PCR protokolü (35 döngü);

- 95 °C’de 20 saniye,
- 50 °C’de 25 saniye,
- 60 °C’de 2 dakika olarak gerçekleşti.

Elektroferogramlar “VectorNTI v5.1” (InforMax, Invitrogen, Life Science Software, ABD) programı ile elde edildi. HIV-1 izolatlarının sub tiplendirmesinde en yaygın kullanılan algoritma; [HIVdb-Stanford Üniversitesi Genotipik Direnc Değerlendirme algoritması kullanıldı (55).

3.3.Filogenetik Analiz

HIV-1 alttip dağılımı “UPGMA” teknoloji nükleotid uzunluğu jülces-center’a göre yapıldı. Filogenetik ağaç “CLC Sequence Viewer 7.6.1” (CLC bio A/S, Aarhus, Danimarka) programı kullanılarak oluşturuldu ve “bootstrap” değeri 1000 olarak alındı. Ağaç oluşturulurken kullanılan referans diziler GenBank’tan alındı (56).

3.4. Hastaların demografik ve özgeçmiş özellikler

Hastaların arşiv bilgilerinden yaş, cinsiyet, HIV bulaş yolu, CD4 ve CD8 oranları, aldığı tedaviler, uyruğu, klinik tabloları açısından değerlendirilme yapıldı. Değerlendirmede hastane otomasyon bilgileri ve Enfeksiyon Hastalıkları sorumlu doktorundan bilgi alındı.

Flowcytomertre cihazı ile T lenfosit miktarının belirlenmsi

Hastalarımızda eş zamanlı olarak CD4 ve CD8 testleri hastanemizde flowcytometre cihazı (Becman Coulter naviso USA.) ile çalışıldı. Çalışmada edta'lı tam kan tüpüne alınmış örnek kullanıldı. Çalışmada kan örneklerine uygun olan CD antikorları konularak cihazda okutuldu ve klauza programında analiz yapıldı. CD4 için normal sayı 1 mm^3 kandaki miktarı yaklaşık 450-1600 hücre/ mm^3 (yüzde olarak tüm lenfositlerin yaklaşık % 40) ve CD8 için, 150-1000 hücre/ mm^3 (yüzde olarak tüm lenfositlerin yaklaşık % 20)'dir.

3.5. İstatistik Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin analizinde SPSS 16.0 (Statistical Package for Social Sciences) Paket programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama, standart sapma ve yüzde dağılımları verilmiştir.

4. BULGULAR

Mart ile Kasım 2015 ayları arasında laboratuvarımızda 20.239 HIV tarama testi yapılmış olup, bu hastaların çalışma kriterlerine uyan 35'i çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan hastaların 33'ü (% 94.3) erkek ve 2'si (% 5.7) kadın olarak bulundu. Hastalar 19-69 (39.08±12.62) yaş aralığında idi. Hastaların demografik özellikleri Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7. Hastaların demografik özellikleri

Örnek no	Yaş	Bulaş yolu	Cinsiyet	Uyruğu
1	35	IV ilaç kullanımı	Erkek	T.C
2	27	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
3	30	Homoseksüel CT	Erkek	T.C
4	35	Heteroseksüel CT	Kadın	MOLDOVA
5	41	Bilinmiyor	Erkek	T.C
6	63	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
7	34	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
8	69	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
9	43	Heteroseksüel CT	Kadın	T.C
10	27	Homoseksüel CT	Erkek	T.C
11	19	Homoseksüel CT	Erkek	T.C
12	29	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
13	36	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
14	44	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
15	64	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
16	24	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
17	55	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
18	28	Homoseksüel CT	Erkek	SURİYE
19	41	Bilinmiyor	Erkek	T.C
20	34	Homoseksüel CT	Erkek	T.C
21	31	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
22	36	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
23	46	Dövme	Erkek	T.C
24	32	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
25	40	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
26	35	Kan transfüzyonu	Erkek	T.C
27	42	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
28	46	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
29	20	Homoseksüel CT	Erkek	T.C
30	44	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
31	27	Bilinmiyor	Erkek	T.C
32	55	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
33	64	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
34	32	Heteroseksüel CT	Erkek	T.C
35	40	IV ilaç kullanımı	Erkek	T.C

¹CT: Cinsel temas

Hastaların 33'ü (% 94.3) Türkiye Cumhuriyeti, 1'i (% 2.9) Suriye ve 1'i (% 2.9) de Moldova uyruklu olarak bulunmuştur. Çalışmaya alınan hastalar ile enfeksiyon hastalıkları asistanlığı ile bulaş yolları görüşüldüğünde hastaların 28'ine (% 80) cinsel temasla, (22'sinde (% 62.9) heteroseksüel cinsel temas, 6'sında (% 17.1) homoseksüel cinsel temas) en fazla bulaş yolu olarak bulunmuştur. Hastaların 2'sinin (% 5.7) iv ilaç kullanımı, 1'inin (% 2.9) kan transfüzyonu ve 1'inin de (% 2.9) dövme yaptırma sonucu HIV etkenini almış olduğu bulunmuştur. Hastaların 3'ünde (% 8.6) bulaş yolu saptanamamıştır. Hastaların T hücre oranları Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Hastaların T hücre özellikleri

Örnek no	% CD4	% CD8	Viral yük (copy/mL)
1	23	35	1.200
2	10	41	1.600
3	6	56	1.800.000
4	9	72	37.000
5	23	49	10.000
6	36	33	37300
7	10	62	1.500.000
8	23	49	6.360
9	22	21	2.4000
10	23	48	300.000
11	25	37	116.000
12	27	43	54.000
13	41	35	41.000
14	15	39	3.300.000
15	17	56	2.000.000
16	35	35	3.100.000
17	4	67	6.400.000
18	28	40	17.000
19	10	54	13.000
20	9	45	372.000
21	33	42	3.000.000
22	7	80	14.800.000
23	12	20	42.000
24	20	42	1.020.000
25	9	55	1.030.000
26	24	49	1.300
27	20	44	476.000
28	10	63	36.000
29	25	44	216.000
30	35	41	6.651
31	16	35	5.000
32	26	45	19.000
33	13	56	2.200.000
34	25	45	290.000
35	29	42	1.700.000

Hastaların viral yükü 1.200-14.800.000 copy/mL (1.256.584.22±2734143.9copy/ mL), arasında bulunmuştur. Viral yükü eş zamanlı çalışılmış olan ortalama CD4 yüzdesi % 4-41 (20.00±9.73 ortalama), CD8 yüzdesi 20-80 (% 46.20±12.77) olarak saptanmıştır. Hastaların 34'ünde (% 97.1) CD4 değerinde azalma, 33'ünde (% 94.3) CD8 değerinde de artış saptandı. Hastaların klinik periyotları bilinmediğinden, CD4, CD8 sayıları virolojik açıdan ve subtiplere göre fark açısından değerlendirme yapılamamıştır.

Örneklerin Subtipleri

Dizileme analizleri sonucunda 2 örnekte saptanan RNA'lar dizileme yapmak için uygun olmayıp 33 örnekte dizileme yapılabilmektedir. BAP Proje kapsamında bütçe kısıtlaması nedeniyle bu iki örnek tekrar çalışılamamıştır. Sonuç alınan 33 örnekte subtip B baskın olan tip olarak bulunmuştur (22 örnek %66.7). Sonuçlar Tablo 9 da gösterilmiştir.

Filogenetik analiz

Çalışmamızda bulunan iki hastanın plazmasında PCR ürünleri sekans yapmaya uygun olmadığından değerlendirme dışında bırakılmıştır. HIV-1 sub tiplendirmesi yapılan 33 hastanın 22'sinde (% 66.6) subtip B olarak saptanmıştır. Hastaların 7'sinde (% 21.21) subtip A1 saptanmıştır. Hastaların 3'ünde (% 9.09) CRF02_AG olarak saptanmıştır. Bir (% 3.03) hastada ise subtip C olarak saptanmıştır (Tablo 9, Grafik 1). Subtip C saptanan hastanın Suruye uyruklu olan hasta olduğu bulunmuştur.

Tablo 9. HIV izolatlarının subtipleri

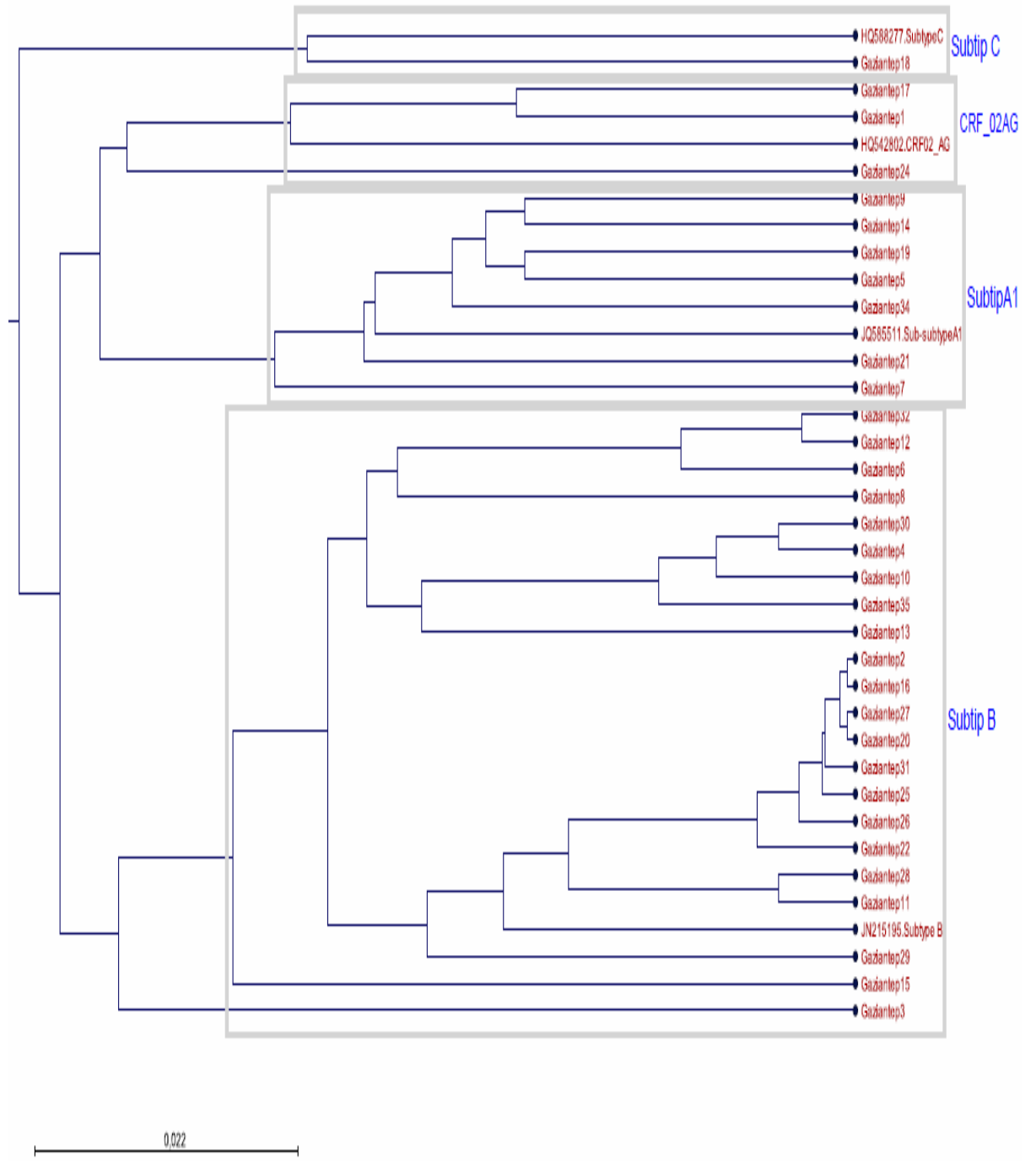
Örnek no	Subtip
1	CFR02_AG
2	Sub tip B
3	Sub tip B
4	Sub tip B
5	Sub tip A1
6	Sub tip B
7	Sub Tip A1
8	Sub Tip B
9	Sub Tip A1
10	Sub Tip B
11	Sub Tip B
12	Sub Tip B
13	Sub Tip B
14	Sub tip A1
15	Sub Tip B
16	Sub Tip B
17	CFR02_AG
18	Sub tip C
19	Sub tip A1
20	Sub Tip B
21	Sub Tip A1
22	Sub Tip B
23	Çalışılmadı
24	CFR02_AG
25	Sub Tip B
26	Sub Tip B
27	Sub Tip B
28	Sub Tip B
29	Sub Tip B
30	Sub Tip B
31	Sub Tip B
32	Sub Tip B
33	Çalışılmadı
34	Sub Tip A1
35	Sub Tip B

Tablo 10. Saptanan türlerin sıklık sırasıyla dağılımı

Subtip	N (%)
Subtip B	22 % 66.6
Subtip A1	7 % 21.21
Subtip CRF02_AG	3 % 9.09
Subtip C	1 % 3.03
Toplam	33 % 100

Çalışmamızın filogenetik analizi sonuçlarını içeren filogenetik ağaç şekil 4’te gösterilmiştir.





Şekil 4. Filogenetik Analiz

5. TARTIŞMA

1981 öncesine kadar bilinmeyen ve mutlak mortaliteyle sonuçlanan AIDS'e neden olan HIV, tüm dünyada çok hızlı bir şekilde yayılan en önemli enfeksiyöz etkenlerden bir tanesidir. Tam kür elde edilebilecek tedavisi henüz olmayan HIV/AIDS salgınından hem çocuklar hem de yetişkinler olumsuz etkilenmektedir. Dünyada epidemik boyuta ulaşan virüs saptandığı günden beri milyonlarca insanın hayatını kaybetmesine neden olmuştur. HIV/AIDS ölüme sonuçlanan ilk on hastalık arasında 1996 yılında dokuzuncu sırada iken 1997 yılında yedinci sıraya çıkmıştır. 2003 yılı itibari ile üçüncü sıradadır. Aslında yeni enfeksiyonlar da görülen artış bugün dursa ya da tersine çevrilse dahi, latent dönemin uzunluğuna bağlı olarak (yaklaşık 8-10 yıl) hasta kişilerin ve ölenlerin sayısındaki artış devam edecektir. Çoğu gelişmekte olan ülkelerde yeni HIV enfeksiyonları 15-24 yaş arasında olmaktadır. Tüm infekte kişiler göz önüne alındığında 25 yaş altı vakalar bunların yarısını oluşturmaktadır. 20 yaş altında kadınlarda ise bu oran % 60 civarındadır (9).

Her gün yaklaşık 14.000 kişi HIV ile infekte olmaktadır. Dünya çapında HIV enfeksiyonlarının yetişkinlerde % 75-80 oranında korunmasız cinsel ilişki ile, bunun da % 70 oranında heteroseksüel ilişkilerle geçtiği bilinmektedir. Çocuklarda ise % 90 oranında anneden geçiş olmaktadır. İntravenöz ilaç bağımlılarında aynı infekte enjektörü kullanma ile geçiş ise % 5-10 oranında, kan ve kan ürünleri ile geçiş ise % 3-5 civarındadır (9).

Sağlık Bakanlığı kayıtlarına göre, Türkiye'deki ilk AIDS vakası 1985 yılında bildirilmiş, yine aynı yıl bir kişinin de taşıyıcı olduğu tespit edilmiştir. Aralık 2003 tarihi itibarıyla yine resmi kayıtlara göre bilinen vaka sayısı 1805 ve 2011 yılında 5224 olarak bulunmuştur. Yıllara göre vaka sayısında artış gözlenmekle birlikte diğer ülkelerdeki sayılara bakarak bu rakamın gerçek sayıları yansıtmadığı düşünülmektedir (9,57). Özellikle kayıtsız çalışmakta olan Türk ve/veya yabancı uyruklu genel kadınların arasında son derece yaygın olduğu ve topluma yayılmada bu heteroseksüel cinsel temasın önemli olduğu bildirilmektedir.

Ülkemizde HIV-1 pozitif bireylerin çoğunun erkek ve heteroseksüel cinsel temaslara bulaşın söz konusu olduğu bildirilmektedir. Yılmaz ve ark. (10) sırasıyla erkek cinsiyetini ve heteroseksüel bulaşı % 81 ve % 74, Sayan ve ark. (58). % 81 ve % 64 olarak saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da bu oranlar % 94 ve % 62.9 olarak bulunmuş olup, Türk popülasyonunda yapılan çalışmalara benzer olduğu saptanmıştır.

Olgularımızda ortak enjektör kullanımına bağlı bulaş % 9 oranında ikinci en sık rastlanan bulaş yolu olarak bulunmuştur. Ülkemizde kan bankalarında HIV taraması zorunlu olduğu halde bir hastanın da kan transfüzyonu sonucu etkeni almış olduğu bulunmuştur. HIV'in henüz laboratuvar testleri ile saptanamadığı ilk 2-3 aylık periyotta alınan donör kanlarından veya yapılan testlerin duyarlılığındaki farklılıklardan dolayı bu tür bulaşları engellemek imkansız gibi görünmektedir. Tarama testlerinde en erken saptanan p24 antijenini de saptayabilen ELISA testlerinin kullanılması, minipool uygulamaları ile kan ve kan ürünlerinin taramasında moleküler yöntemlerin yaygınlaştırılmasının sağlanması ile bu bulaş yollarının azaltılabileceğini düşünmekteyiz.

Hastaların 3'ünde (% 13.6) bulaş yolunun saptanmamış olmasının da dikkat çekici olduğu düşünülmektedir. Bu durum, bilinen bulaş yolları yanı sıra, henüz tam tanımlanmamış olan indirek kaynakların da bulaş yolu olabileceği ihtimalini akla getirmektedir.

Tüm sağlık sorunlarında olduğu gibi, HIV/AIDS olgularında daha hızlı ve güvenilir yeni tanı yöntemlerinin bulunması, yaşam süresini uzatan ve kalitesini iyileştiren tedavilerin geliştirilmesi, ancak henüz tam kür elde edilebilecek tedavisinin olmayışı, bu alanı ekonomik değerlendirme yöntemlerinin uygulanmasına hızla açmıştır. Elde edilen bulgular, hastalığa yakalanmamak için koruyucu önlemlerin önemini vurgularken gelişmiş ülkelerde dahi bu sağlık sorununun çok büyük sosyo-ekonomik yük oluşturduğunu göstermektedir.

HIV/AIDS'in makro açıdan en büyük etkisi, üretken yatırımlara gidebilecek olan kaynakların bu hastalığın henüz iyileştirici olamayan yüksek tedavi maliyetlerine ayrılmasıdır. Mikro açıdan olan etkileri de en temel olarak bireye ve ailesine yönelik olup hem sosyal hem de ekonomik kayıpları kapsar.

HIV/AIDS konusunda ekonomik etki tayini, demografik, epidemiyolojik ve ekonomik verilerdeki önemli eksiklikler ve bu tür verileri birbirleri ile ilişkilendirecek yöntemlerin yetersizliği nedeniyle oldukça zordur. Yabancı literatürlerde bu alanda yapılan çok sayıda çalışma olmakla beraber, Türkiye’de ekonomik değerlendirme çalışmaları henüz yapılmamıştır. Ayrıca, farklı ülkelerde ve yerleşimlerde yapılan çalışmaların kaynak kullanımı ve HIV/AIDS maliyetleri açısından standart olmayışları da kıyaslamalarda önemli bir engeldir. HIV/AIDS’in ekonomik etkisinin incelenebilmesi için mevcut ve gelecekteki vakaların (HIV pozitif sayısı, bulaşma hızı, latent süre açısından) yaşa ve cinse göre dağılımı, hastalık ve ölüm hızları, bakımın maliyeti (ilaç harcamaları, hastanede kalış süresi, personel harcamaları, araştırma ve geliştirme harcamaları, tanı yöntemlerinin maliyeti, yatak işgal oranları, diğer cari harcamalar, sabit yatırımlar ve bu yatırımların aşınma ve eskime payı) ile hastalığa bağlı olarak çalışma süresi kayıplarının bilinmesi gereklidir (9).

Bu nedenle hem hasta kayıtları hem de genelde sağlık kayıtları sürekli ve tutarlı şekilde tutulmalıdır. Maliyet analizinde görünür ve görünmeyen doğrudan ve dolaylı maliyetlerin saptanması gereklidir. Doğrudan görünür maliyetler sağlık ve sosyal bakım maliyetleri olup kan taramasını, sağlık eğitimini, personel eğitimini, danışmanlık hizmetlerini ve araştırma, geliştirme gibi faaliyetleri kapsar. Doğrudan görünmeyen maliyetler hastanın ailesi, arkadaşları ve yardım kuruluşları tarafından para karşılığı olmadan verilen hizmetlerdir. Dolaylı görünür maliyetler ise hastalık ve erken ölümlere bağlı olarak doğan üretimdeki kayıplardır. Dolaylı görünmeyen maliyetler kapsamına da ağrı, kapasitede düşüş, korku, izole olma, suçlanma, depresyon vb. nedenlerden kaynaklanan yaşam kalitesindeki düşme girer. Özellikle bu son kategoriyi ölçmek her zaman mümkün olmayabilir (9).

HIV pozitif nüfusun yüzde 80’inin gelişmekte olan ülkelerde yaşadığı düşünülürse, bu sağlık sorununun kalkınma çabaları için ne denli önemli engel oluşturabileceği daha da somutlaştırmaktadır.

Her ne kadar HIV/AIDS’in tüm dünya için finansal yükünün en az 5 milyar ABD doları olduğu hesaplansa da verimlilik kayıpları, işgücü kayıpları, kaybedilen pazarlar vb. nedenlerle oluşan dolaylı maliyetlerin bu miktarın en az 10 katı olması kaçınılmazdır. HIV/AIDS yaygınlığı ile ilgili bulgular, global hastalık yükünün içindeki tahmini payının 1990 yılında yüzde 3.5 iken, 2000 yılında yüzde 8 olduğunu işaret etmektedir.

Hastalığın ekonomik etkilerinin yanı sıra demografik etkileri de olacak, tahmini olarak nüfus artış hızı yılda yüzde 0.25 puan ve ortalama yaşam süresi ortalama 6 yıl azalacak, ölüm oranları ise yüzde 25 oranında artabilecektir. Enfeksiyon hastalıklarına, özellikle tüberküloz, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar, solunum yolları enfeksiyonları ve sıtmaya karşı ilaç direnci olan vakalarda ise sorun çok daha vahimdir. Çünkü bu bireyler aynı zamanda HIV pozitif de iseler sağlık düzeyi daha kısa sürede daha da kötüleşmektedir. HIV-1 için saptanan global bu sorunlar hastalığın değerlendirilmesinde birçok kritere yer verilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Bazı HIV türlerinin bazı coğrafyalarda sık rastlanması bazı türlerin daha agresif olması gibi göstergeler tüm dünyada ilgi çekici konular olarak değerlendirilmektedir. Ülkemizde de subtip dağılımları ile ilgili az sayıda yayın olmakla birlikte, ilimizde benzer bir değerlendirme henüz yoktur. Bu nedenle bu çalışmada ilimizin HIV haritası görülmeye çalışılmıştır.

HIV subtiplerinin belirlenmesinde filogenetik analizler her ne kadar önemli olsa da kullanım kolaylığı, internet erişimi ve bilgi tecrübesi gerektirmemesi açısından otomatize subtip belirleme çalışmalarında günlük kullanımda daha çok tercih edilmektedir. Otomatize sistemlerin kullandıkları yöntemler benzer prensiplere dayanır. Bu cihazlarda benzerlik temeli filogenetik analiz ve istatiki bilgiye dayanarak analiz yapılır (59).

Otomatize sistemlerde en fazla kullanılanlar Stanford benzerlik, Regada ise filogenetik temelli değerlendirme kullanılmaktadır. Kullanımları kolay olmasına karşın filogenetik analiz ile karşılaştırılınca bu sistemlerin rekombinant form (CRF) ile birlikte subtip B dışındaki subtiplerinin analizinde oldukça kısıtlı bir performansı bulunabileceği bildirilmektedir (59, 60).

Sekans analizi ile, RT ve proteaz geninde geniş bir bölgeyi analiz etmek, potansiyel mutasyonları belirlemek, analiz edilen genom bölgesinde frame shiftleri ve insersiyon/delesyonları görmek mümkündür. Ayrıca elde edilen diziyle aynı anda HIV genotipleme, subtipleme ve CRF analizleri yapmakda mümkün olmaktadır. Sekans analizinin bu tür avantajları olduğu gibi analitik duyarlılık mutant virüs popülasyonu % 10'dan büyük ise başarı sağlanabilir.

Ayrıca HIV RNA yükü 500 copy/mL ise başarı elde etmek mümkündür. Bunun altındaki değerlerde sağlıklı sonuçlar alınamamaktadır. Bu çalışmada da otomatize bir yöntemle filogenetik analiz yapılmıştır.

HIV-1'in M, O, N ve P grubu olmak üzere 4 filogenetik alt türü vardır. M grubunun 9 sub tipi (A-K) vardır. M grubu virüsler AIDS pandemisinden sorumludur. HIV-1 B sub tipi Kuzey Amerika ve Avrupa'daki en yaygın tiptir. Türkiye'de de en yaygın olarak bulunan tip B tipidir. Subtip E en fazla Taylan ve Güney Asya'da, Subtip F Brezilya ve Romanya'da, Subtip D Afrika'da yaygın olan subtiplerdir (61, 62). Hastalığın geçiş ve progresyonu anlamında subtipler arasında anlamlı farklar vardır. Subtip D enfeksiyonları'nın subtip A'dan progresif olduğu saptanmıştır (63). Subtip B dışı ajanlarda enfekte bireylerde, immün sistem baskısının viral alttiplerin gelişiminde önemli bir rol oynayabildiği ve bunun doğal gelişen ARV ilaç direnci profilinde etkili olabileceği düşünülmektedir (64) .

Tüm bu gerekçelerden ötürü HIV ile ilgili moleküler epidemiyolojik çalışmaların yapılması ve sistematik bir sürveyans sisteminin oluşturulması önemlidir. Bu çalışmada ilimizin komşusu olan farklı ülkelerin varlığının saptanan subtipler üzerinde etkili olup olmadığı irdelenerek, özel bir coğrafik bölgenin analizi yapılmıştır.

Ülkemizde ilk subtip belirleme çalışmaları 2006 yılında Yılmaz ve ark. (10) tarafından env geni gp41 bölgesi analiz edilerek yapılmış ve baskın olarak alttip B (% 70.4) bulunmuştur. Yine Sayan ve ark. (58) yaptığı bir çalışmada 72 HIV-1 pozitif hastada pol gen dizileri analiz edilmiş ve en sık CRF'ler (% 50) saptanırken CRF'yi subtip B (% 43) 2. sırada izlemiştir. 2011 yılında Yalçinkaya ve ark. (65) tarafından Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'nde 34 HIV-1 pozitif hastada yapılan çalışmada ise % 61.8 ile B subtip en sık rastlanan alt tip olmuştur.

Bir diğer çalışmada ise Uluer Biçeroğlu ve ark. (66) Ege Üniversitesinde yapılan çalışmada 70 HIV-1 pozitif hastada hastada yapılan çalışmada subtip B (% 34.2) CRF42_BF, (% 8.5) B/CRF02_AG rekombinanı, (% 7.1) alttip A1, (% 1.4) alttip F1, (% 1.4) CRF25_cpx, (% 1.4) CRF02_AG (% 1.4) CRF01_AE saptamışlardır. 2011 yılında Alparsar ve ark. (67) tarafından 20 HIV-1 pozitif eşcinsel erkekte yapılan çalışmada alttip B (% 50) en fazla olarak görülürken, alttip B'yi sırasıyla CRF02_AG (% 40), A (% 5), ve alttip C (% 5) izlemiştir.

2015 yılında Sayan ve ark. (68) birçok merkezden gelen 1306 örnekten % 68 oranında subtip B dominant olarak saptanmıştır. Bununla birlikte C, D, F, G ve K subtipleride saptanmıştır. Ayrıca rekombinant olarak CRF01_AE, CRF02_AG, CRF03_AB, CRF07_BC, CRF08_BC, CRF12_BF, CRF14_BG ve CRF06_cpx, CRF11_cpx, CRF13_cpx subtipleri saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda da örneklerin 22'sinde (% 66.6) subtip B saptanırken, 7'sinde (% 21.21) subtip A1, 3'ünde (% 9.09) CRF02_AG ve birinde (% 3.03) subtip C olarak saptanmıştır.

Verilerimizin Türkiye profiline uygun olduğu görülmüş olup Türkiye profilinden ciddi bir fark saptanmamıştır. Bununla birlikte henüz şehrimizde yaşanan göçmen hareketliliğine özgü değişikliklerin, virüsün latent periyodundan ötürü önümüzdeki yıllarda bulgulara yansımalarının da mümkün olabileceği düşünülmektedir.

Yılmaz ve ark. (10) yaptığı çalışmada sub tip B dışı HIV-1 enfeksiyonlarında artışın Afrika, Balkanlar ve Ortadoğu'dan göçlerin işareti olabileceği vurgulanmaktadır. Çalışmamızda saptamış olduğumuz subtip C'nin Suriye uyruklu olması bu çalışmayı desteklemektedir. Bununla birlikte çok merkezli ve çok örnekle yapılacak çalışmaların bu tür sonuçları çıkarabilmek için gerekli olduğunu düşünmekteyiz. HIV'de saptanan rekombinant formların görülme sıklığı da bölgeden bölgeye farklılıklar göstermektedir. CRF02_AG; Afrika ve Ortadoğu'da, CRF01_AE; güneydoğu Asya ve orta Afrika'da, CRF03_AB; doğu Avrupa ve orta Asya'da, CRF12_BF; güney Amerika'da yaygındır (63). Özellikle CRF'lerin, ARV ilaçlara dirençli HIV varyantlarının gelişimine neden olarak tedavilerde olumsuz sonuçlara yol açacağı ve bunun uzun dönemde hasta yönetimini zora sokacağı endişeleri bulunmaktadır (69). Bu çalışmada da bulunan hastaların tümü ARV almamış naif hastalar olmasına rağmen % 9.1 oranında CRF02_AG rekombinant forma rastlanmıştır. Saptanan rekombinant formun bulunduğu coğrafyaya uygun olan CRF olduğu gözlenmiştir.

Günümüzde HIV-AIDS ile ilgili gerek tanı, gerek tedavi alanında çok gelişmeler sağlanmış olmasına rağmen etkenin ciddiyeti ile ilgili kaygılar büyüyerek devam etmektedir. Tedavinin uzun süreli, yüksek maliyetli olması, antiretroviral ilaçlara karşı gittikçe yaygınlaşan direnç sorunu ve ilaçların tam tedavi kürü sağlayamayarak sadece latent dönemi uzatabiliyor olması başta gelen sorunlardır. Korunma ilgili bilinenler farklı coğrafik alanlarda ve farklı ekonomik dağılımın olduğu ülkelerde tam olarak uygulanmamaktadır.

HIV'in virolojik açıdan analizi hem toplumdaki yaygınlığı hem de dikkat çekici değişiklikleri saptayarak önlem alınması açısından önemlidir. Bu çalışma HIV subtiplerinin Gaziantep'te araştırıldığı ilk çalışma olup, daha sonra yapılacak çalışmalar için başlangıç noktası olacağı düşünülmektedir.

7. SONUÇLAR

- Çalışmaya 35 HIV RNA ≥ 1000 copy/ml olarak bulunan hasta alındı.
- Hastaların 33'ü (%94.2) erkek ve 2'si (%5.21) kadın idi.
- Hastalar 19 ila 69 yaş aralığında idi.
- Hastaların 33'ü (% 94.3) Türkiye Cumhuriyeti, 1'i (% 2.9) Suriye ve 1'i (% 2.9) de Moldova uyruklu olarak bulundu.
- Hastaların 28'inde (% 80) cinsel temasla, 22'sinde (% 62.9) heteroseksüel cinsel temas, 6'sında (% 17.1) homoseksüel cinsel temas en fazla bulaş yolu olarak bulundu.
- Hastaların 2'sinin (% 9) iv ilaç kullanımı, 1'inin (% 2.9) kan transfüzyonu ve 1'inin de (% 2.9) dövme yaptıрма sonucu HIV etkenini almış olduğu bulundu. Hastaların 3'ünde (% 13.6) bulaş yolu saptanamadı.
- Hastaların viral yükü 1.200-14.800.000 copy/mL (1.256.584.22±2734143.9copy/ mL), olarak bulundu.
- Viral yükü eş zamanlı çalışılmış olan ortalama CD4 yüzdesi % 4-41 (20.00±9.73 ortalama), CD8 yüzdesi 20-80 (% 46.20±12.77) olarak saptanmıştır. Hastaların 34'ünde (% 97.1) CD4 değerinde azalma, 33'ünde (% 94.3) CD8 değerinde de artış saptandı.
- Hastaların 2'sinde RNA sekanslama yapılamadı ve 33 hastada subtip analizi yapılabildi. Yeteri kadar baz dizisi elde edilemediği için çalışma dışı bırakıldı.
- 22 hastada (%66.6) subtip B en sık rastlanan subtip olarak bulundu.
- Hastaların 7'sinde (%21.21) A1, 3'ünde (%9.09) CFR02_AG, 1'inde (%3.03) subtip C saptandı.

8. ÖNERİLER

HIV dünya üzerinde pandemik kabul edilen boyutla yayılımına devam etmektedir. Dünya üzerindeki göçler, savaşlar gibi nedenlerle insan hareketliliğinin arttığı göz önüne alınarak HIV sub tiplerinin klonal yayılımının periyodik aralıklarla yapılmasının gerekli olduğunu düşünüyoruz.

HIV'in coğrafik dağılımındaki farklar bulaşma yolu, tedavi ve progresyonunu etkilediğinden hem yeni türlerin hem de mutasyonların saptanması açısından sekanslama yapılarak epidemiyolojik takip faydalı olacaktır.



9. KAYNAKLAR

1. Kassutto S, Rosenberg ES. Primary HIV type 1 infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2004; 38: 1447-53.
2. Masur H, M A Michelis, J B Grene, I Onorato, R A Stouwe, R S Hoizman, G Wormser, L Breltman, M Inage, H W Murray, S Cunningham-Rundles, An outbreak of community-acquired *Pneumocystis carinii* pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction. *N Engl J Med*. 1981; 305:1431-1438.
3. WHO/UNAIDS Aralık 2016, Adult and Children estimated to be living with HIV 2015. www.unaids.org/en/dataanalysis/knowyourresponse/HIVdata_estimates (01.12.2016).
4. Midilli K. Direnç Sorunu ve Direnç Testleri. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*. 2007; 3(28):74-84.
5. Leblebicioğlu H HIV/AIDS Epidemiyoloji. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*. 2007; 3(28): 7-10.
6. Coffin J, Swanstrom R. HIV Pathogenesis: Dynamics and Genetics of Viral Populations and Infected Cells. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013; 3: a012526.
7. Tienen C, Van der Loeff MS, Zaman SM, Vincent T, Sarge-Njie R, Peterson I, Leliqowicz A, Jave A, Rowland-Jones S, Aaby P, Whittle H: Two distinct epidemics: the rise of HIV-1 and decline of HIV-2 infection between 1990 and 2007 in rural Guinea-Bissau. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010; 53: 640–647.
8. Sayan M, Willke A, Ozgunes N, Sargin F. HIV-1 Subtypes and Primary Antiretroviral Resistance Mutations in Antiretroviral Therapy Naive HIV-1 Infected Individuals in Turkey. *Jpn J Infect Dis*. 2013; 66: 306-311.

9. Sağlık İstatistikleri Yıllığı. T.C. Sağlık Bakanlığı, Yayın No: 1010, Sentez Matbaacılık ve Yayıncılık, 2014.
http://ekutuphane.sagem.gov.tr/kitaplar/saglik_istatistikleri_yilligi_2014.pdf
(01.12.2016)
10. Yilmaz G, Midilli K, Turkoglu S, Bayraktaroğlu Z, Kuşkucu A M, Özkan E, Atasever L, Çalangu S, Altaş K Genetic subtypes of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) in Istanbul, Turkey. *Int J Infect Dis.* 2006; 10(4): 286-90.
11. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vezinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L. Isolation of a T-lymphotrophic Retrovirüs from a patient at risk for Acquired Immun Deficiency Syndrom (AIDS). *Science.* 1983; 220:868-871.
12. Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinet F, Chamaret S, Rey MA, Santos-Ferreira MO, Laurent AG, Dauguet C, Katlama C, Rouzioux C, Isolation of a new human retrovirüs from West African patients with AIDS. *Science.* 1986; 18;233:343-346.
13. Zhu T, Korber BT, Nahmias AJ, Hooper E, Sharp PM, Ho DD. An African HIV-1 sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic. *Nature.* 1998; 391: 594-597.
14. Worobey M, Gemmel M, Teuwen DE, Haselkorn T, Kunstman K, Bunce M, Muyembe JJ, Kabongo JM, Kalengayi RM, Van Marck E, Gilbert MT, Wolinsky SM. Direct evidence of extensive diversity of HIV-1 in Kinshasa by 1960. *Nature.* 2008; 455:661-664.
15. Korber B, Muldoon M, Theiler J, Gao F, Gupta R, Lapedes A, Hahn BH, Wolinsky S, Bhattacharya T, Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. *Science.* 2000; 288: 1789–1796.
16. Burgard M, Jasseron C, Matheron S, Damond F, Hamrene K, Blanche S, Faye A, Rouzioux C, Warszawski J, Madelbrot L, Mother-to-child transmission of HIV-2 infection from 1986 to 2007 in the ARNS French Perinatal Cohort EPF-CO1. *Clin Infect Dis.* 2010; 51: 833–843.

17. Köksal M.O. HIV-1 Pozitif Erişkin Hastalarda Virus Tiplendirmesi ve Direnç Belirlenmesi. 2014, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 108 sayfa, İstanbul.
18. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manuel of Clinical Microbiology. Klinik Mikrobiyoloji, 9. baskı, Cilt 1, Serhat Ünal(Çev.), Gülşen Özkaya(Çev) Atlas kitapçılık, Ankara ss. 686-773.
19. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manuel of Clinical Microbiology. Klinik Mikrobiyoloji, 9. baskı, Cilt 2, Gülden Yılmaz (ÇEV), Atlas kitapçılık, Ankara ss.1310-1311
20. Coochi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P Identification of RANTES, MIP-1a, and MIP-1b as the major HIV suppressive factors produced by CD8+ T cells. Science. 1995; 270: 1811-1815.
21. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 3. Baskı, Nobel Kitap Evi, Ankara 2008: 900-997.
22. Bouhlal H, Chomont N, Requena M, Nasreddine N, Saidi H Opsonization of HIV with Complement Enhances Infection of Dendritic Cells and Viral Transfer to CD4 T Cells in a CR3 and DC-SIGN-Dependent Manner. J Immunol. 2007; 178: 1086-1095.
23. Robinson WE. Mechanism for complement-mediated, antibody-dependent enhancement of human immunodeficiency virus type 1 infection in MT2 cells is enhanced entry through CD4, CD21, and CXCR4 chemokine receptors. Viral Immunol. 2006; 19: 434-447.
24. Kaslow RA, Dorak T, Tang JJ. Influence of host genetic variation on susceptibility to HIV type 1 infection. J Infect Dis. 2005; 191: 68-77.
25. Daar ES, Little J, Pitt, J Santangelo, P Ho N Harawa, P Kerndt, J V Glorgi, J Bai, P Gaut, DD Richman, S Mandel, S Nichols. Diagnosis of primary HIV-1 infection. Ann Intern Med. 2001; 134:25-29.

26. Hecht FM, MP Busch, B Rawal, M Webb, E Rosenberg, M Swanson, M Chesney, J Anderson, J Levy, JO Kahn. Use of laboratory tests and clinical symptoms for identification of primary infection. *AIDS*. 2002; 16:1119-1129.
27. Kahn JO, Walker BD. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl J Med*. 1998; 339:33-39.
28. Mellors J, Rinaldo WCR, Jr, P Gupta, RM White. Prognosis in HIV-1 infection predicted by quantity of virus in plasma. *Science*. 1996; 272: 1167-1170.
29. Mellors JW, Kingsley LA, Rinaldo CR, Todd JA, Hoo BS, Kokka RP, Gupta P. 1995. Quantitation of HIV-1 RNA in plasma predicts outcome after seroconversion. *Ann Intern Med*. 1995; 122: 573-579.
30. Pantaleo G, Graziosi C, Desmarest JF, Butini L, Montroni M, Fox CH, Orenstein JM, Kotler DP, Fauci AS. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature*. 1993; 362:355-358.
31. Markowitz M, Mohri H, Mehandru S, Shel A, Berry I, Kalyanaraman R, Kirn A, Chung C, Jean- Pierre P, Horowitz A, Mar MLA, Wrin T, Parkin N, Poles M, Petropoulos C, Mullen M, Boden D, Ho DD. Infection with multidrug resistant, dual-tropic HIV-1 and rapid progression to AIDS: a case report. *Lancet*. 2005; 365:1031-1038.
32. Munoz A, Kirby AJ, He YD, Margolick JB, Visscher BR, Rinaldo CR, Kaslow RA, Phair JP. Long-term survivors with HIV-1 infection: incubation period and longitudinal patterns of CD4+ lymphocytes. *AIDS*. 1995; 8:496-505.
33. Picchio G, Gulizia RRJ, Mosier DR. Chemokine receptor CCR5 genotype influences the kinetics of human immunodeficiency virus type 1 infection in human PBL-SCID mice. *J Virol*. 1997; 71:7124-7127.

34. Altfield M, Addo M, Rosenberg ES, Hecht EM, Lee PK, Vogel M, Yu XG, Draenert R, Johnson MN, Strick D, Alien T, Feeney ME, Kahn JO, Sekaly RP, Levy JA, Rockstroh JA, Jurgens K, Goulder PJ, Walker BD. Influence of HLA-B57 on clinical presentation and viral control during acute HIV-1 infection. *AIDS* 2003; 17:2581-2591.
35. Stanley S, Ostrowski KMA, Justement JS, Gantt K, Hedayati S, Mannix M, Roche K, Schwartzentruber DJ, Fox CH, Fauci AS. Effect of immunization with a common recall antigen on viral expression in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med* 1996; 334:1222-1230.
36. Ho D, Neumann AU, Perelson AS, Whitten W, Chen, Lenard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature*. 1995; 373:123-126.
37. Finzi, Blankson DJ, Siciliano JD, Margolick JB, Chadwick K, Pierson T, Smith K, Lisiewicz J, Lori F, Flexner C, Quinn TC, Chaisson RE, Rosenberg E, Walker B, Gange B, Gallant J, Siciliano RE. Latent infection of CD4 + cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nat Med*. 1999; 5: 512-517.
38. Price, R W. Neurological complications of HIV infection. *Lancet*. 1996; 348:445-452.
39. Centers for Disease Control and Prevention. 1994 revised classification system for HIV infection in children less than 13 years of age. *Morb. Morta. Wkly. Rep* 1994; 43:1-10.
40. Kedzierska K, Crowe SM, Turville S, Cunningham AL. The influence of cytokines, chemokines and their receptors on HIV-1 replication in monocytes and macrophages. *Rev Med Virol*. 2003; 13: 3956.
41. Pantaleo G, Cohen O, Schacker T, et al. Evolutionary pattern of human immunodeficiency virus (HIV) replication and distribution in lymph nodes following primary infection: implications for antiviral therapy. *Nat Med*. 1998; 4:341-345.

42. Varbanov M, Espert L, Biard-Piechaczyk M. Mechanisms of CD4 T-cell depletion triggered by HIV-I viral proteins. *AIDS Rev.* 2006; 8:221-236.
43. Ozkaya G. The adventure of human immuno deficiency virus:from where to where? *Mikrobiol Bulletin.* 2006; 40:435-443.
44. Vasan S, Schlesinger SJ, Arrode G. T cell immune responses to HIV-I. *Frontiers in Bioscience.* 2007; 12: 2330-2343.
45. Srivastava IK, Ulmer IB, Barnett SW. Role of neutralizing antibodies protective immunity against HIV. *Hum Vaccin.* 2005;1: 45-60.
46. Arenzana-Seisdedos F, Parmentier M. Genetics of resistance to HIV infection: Role of co-receptors and co-receptor ligands. *Semin Immunol.* 2006; 18:387-403.
47. Özkaya Sahin G, Çalık Başaran N, Ünal S. HIV transmission and transmission rates. *HIV-AIDS* 2005; 8:5-12.
48. http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/HIVincidenceassayssurveillancemonitoring_en.pdf (02.12.2015)
49. <http://www.hatam.hacettepe.edu.tr/virus.shtml>
50. Dolin R, Masur H, Saag M. *AIDS Therapy.* Third edition. Churchill Livingstone Elsevier. 2008: 98-104.
51. Afacan Y, Menteş UT. *AIDS Tedavisi.* J Int Med Sci. 2007, 3(28)
52. Hoffman C, Jürgen K. Rockstroh, Bernd Sebastian Kamps (2007) *HIV Medicine* 2007. Flying Publisher.
53. Douglas L, Mayers LD, Lerner AS, Marc Ouellette, Sobel DJ. *Antimicrobial Drug Resistance, Volume 1 Mechanism of Drug Resistance.* Humana Press.
54. Wapling J, Moore KL., Sonza S, Mak J, Tachedjian G. Mutations that abrogate human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase dimerization affect maturation of the reverse transcriptase heterodimer. *J Virol,* 2005;79:10247–10257.

55. <http://www.hivfrenchresistance.org/ANRS-procedures.pdf> (06.12.2015)
56. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/genomes-maps/> (06.12.2015)
57. http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2011_Estimating_Populations_en_0.pdf (13.12.2015)
58. Sayan M, Kumbasar Karaosmanoğlu H, Mete B, Gundüz A, Aydın Ö, Yemişen M, Uzun N, Tabak F Molecular Epidemiological Analysis of HIV-1 pol Gene Sequences Isolated in Istanbul, Turkey Mikrobiyol Bul. 2013; 47(1): 87-97.
59. Pineda-Pena AC, Faria NR, Imbrechts S, et al. Automated subtyping of HIV-1 genetic sequences for clinical and surveillance purposes: performance evaluation of the new REGA version 3 and seven other tools. Infect Genet Evol. 2013; 19: 337-348.
60. Yebra G, de Mulder M, Martin L, Perez-cachafeiro S, Rodriguez C, Labarqa P, Garcia F, Tural C, Jaen A, Navarro G, Holquin A; Cohort of Spanish AIDS Research Network (CoRIS). Sensitivity of seven subtyping tools differs among subtypes/recombinants in the Spanish cohort of naive HIV-infected patients (CoRIS). Antiviral Res. 2011; 89(1): 19-25.
61. Geretti AM, Booth C. HIV Virology. In Rodger AJ, Mahungu TW, Johnson MA (eds.) Atlas of Investigation and Management of HIV/AIDS. Oxford: Clinical Publishing, 2011:3-24.
62. Butler FI, Pandera I, Preston MA, Apetrei C. HIV genetic diversity: biological and public health consequences. Current HIV Research. 2007;5:23-45.
63. Hemelaar J. The Origin and diversity of the HIV-1 pandemic. Trends Mol Med. 2011; 25(5):679-689.
64. Spira S, Wainberg MA, Loomba H, Turner D, Brenner BG. Impact of clade diversity on HIV-1 virulence, antiretroviral drug sensitivity and drug resistance. J Antimicrob Chemother 2003;51(2): 229-240.
65. Yalçınkaya T, Köse Ş HIV-1 Subtiplerinin Dağılımı Türk Mikrobiyol Cem Derg 2011 41(3):116-119.

66. Uluer Biçer S, Altuğlu İ, Nazlı Zeka A, Gökegin D, Yazan Sertöz R. HIV-1 Subtype Distribution Determined by Phylogenetic Analysis of pol Gene Sequences and Automated Subtyping Tools among HIV-1 Isolates from the Aegean Region of Turkey Mikrobiyol Bul. 2014; 48(3): 420-428.
67. Alpars D, ağaçfıdan A, Lübke N, Verheyen J, Eraksoy H, Çağatay A, Bozkaya E, Kaiser R, Akgül B Molecular epidemiology of HIV in a cohort of men having sex with men from Istanbul. Med Microbiol Immunol. 2013;202:251-255.
68. Sayan M, Sargin F, Inan D, Sevgi DY, Celikbas AK, Yasar K, Kaptan F, Kutlu SS, Fisgin NT, Inci A, Ceran N, Karaoglan I, Çağatay A, Celen MK ,Tekin KS, Ceylan B, Yıldırım T, Akalın H, Korten V, Willke A. HIV-1 Transmitted Drug Resistance Mutations in Newly Diagnosed Antiretroviral-Naive Patients in Turkey AIDS Res Hum Retroviruses. 2016;32(1):26-31.
69. Frankenberry KD, Galli A, Nikolaitchik O, Mens H, Pathak VK, Hu WS. Mechanisms and factors that influence high frequency retroviral recombination. Viruses. 2011; 3(9): 1650-1680.

ÖZGEÇMİŞ

29 Mayıs 1989 yılında Gaziantep Şahinbey ilçesinde doğdum. 2009 yılında Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat bölümüne başladım 2013 yılında mezun oldum. 2014 Şubat ayında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım ve 2016 yılında mezun oldum.

