

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**HIV-1 POZİTİF PEDIATRİK HASTALARDA VİRUS
TİPLENDİRMESİ VE DİRENÇ BELİRLENMESİ**

ÖZLEM YOLDAŞ

**DANIŞMAN
PROF. DR. ALİ AĞAÇFİDAN**

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2011

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında Özlem Yoldaş tarafından hazırlanan HIV-1 Pozitif Pediatrik Hastalarda Virus Tiplendirilmesi ve Direnç Belirlenmesi başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

27 / 07 / 2011

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof Dr Emel Bozkaya	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.
2.Prof Dr Yıldız Yeğenoğlu	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.
3.Prof Dr Ali Ağaçfıdan (Danışmanı)	İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD.
4.Prof Dr Dilek Yaylalı	İ.Ü.Dişhekimliği Fak.Mikrobiyoloji Bilim Dalı
5.Prof Dr Nevriye Gönüllü	İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp.Fak. Mik.ve Klinik.Mik. AD.

BEYAN

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

Özlem Yoldaş

İTHAF

Hayattaki en değerli varlıklarım, sevgili aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başlamamda ve sürdürmemde büyük destek ve katkısını gördüğüm Sayın Hocam Ana Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Bülent Gürler'e teşekkürlerimi sunarım.

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Temel İmmunoloji ve Viroloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, ilgi ve sabırla bana her konuda yardımcı olan Değerli Hocam Prof.Dr. Ali Ağaçfıdan'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans süresi boyunca yardımlarını aldığım, her konuda desteğini hissettiğim Bilim Dalı Başkanımız Kıymetli Hocam Prof. Dr. Emel Bozkaya'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum Değerli Hocalarım Prof.Dr. Selim Badur, Prof. Dr. Şengül Derbentli, Prof. Dr. Nezahat Gürler, Prof.Dr. Yıldız Yeğenoğlu, Prof. Dr. O. Şadi Yenen, Prof.Dr. Çiğdem Kayacan, Prof. Dr. Betigül Öngen, Prof. Dr. Derya Aydın, Prof. Dr. Y. Ali Öner, Prof. Dr. Meltem Uzun, Prof. Dr. Zayre Erturan, Doç. Dr. Özden Boral ve Yar. Doç. Dr. Zerrin Aktaş'a teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimim süresince yanımda olan, yardımlarını esirgemeyen, manevi rehberim Dr. Hayati Beka'ya, Dr.Mustafa Önel'e ve tüm Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğrencileri ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Değerli Hocam Prof. Dr. Ayper Somer'e ve Dr.Selda Hançerli'ye örnek toplama aşamasındaki katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Tezimin sekans ve analiz deney aşamalarında yardım ve desteklerini esirgemeyen Köln Üniversitesi Viroloji Enstitüsü'nden Doç. Dr. Baki Akgül ve Dr. Rolf Kaiser'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Güveni, sabrı, bitmek bilmez desteği ve karşılıksız sevgisi için aileme tüm kalbimle teşekkür etmeyi bir borç bilirim...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 10702

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1.HIV'in Kökeni ve Sınıflandırılması.....	4
2.2.Virusun Özellikleri.....	5
2.3.Virion Yapısı.....	6
2.4.Genomik Organizasyon	7
2.4.1.Majör Yapısal Proteinler.....	8
2.4.2.Düzenleyici Proteinler.....	9
2.4.3.Aksesuar Proteinler	9
2.4.4.HIV Genomunun Yapısal Elemanları.....	9
2.5.Yaşam Döngüsü.....	10
2.5.1.Virusun konak hücresine bağlanması ve girişi	10
2.5.2.Konak hücre nükleusuna giriş	12
2.5.3.Transkripsiyon	12
2.5.4.Toparlanma ve tomurcuklanma	14
2.6.Epidemiyoloji.....	14
2.6.1.Türkiye'de HIV/AIDS	16
2.7.HIV-1 İnfeksiyonu.....	19
2.7.1.Virusun Bulaşması ve Risk Grupları	20
2.7.2. Akut HIV İnfeksiyonu (Primer İnfeksiyon)	23

2.7.3. Klinik Latent Dönem (Asemptomatik Dönem)	23
2.7.4. AIDS Dönemi.....	24
2.7.5. İkincil Komplikasyonlar (78)	24
2.8. Tanı.....	25
2.8.1. HIV DNA PCR.....	26
2.8.2. HIV RNA PCR.....	27
2.8.3. HIV Viral Kültürü.....	27
2.8.4. Antikor Testleri.....	27
2.8.5. Antijen Tayini.....	28
2.9. Tedavi.....	28
2.10. Pediatrik HIV-1 Enfeksiyonu ve AIDS	31
2.10.1. HIV Enfeksiyonu Patogenezi	33
2.10.2. Sınıflandırma	34
2.10.3. HIV Enfeksiyonu Açısından Riskli Çocuğa Yaklaşım.....	38
2.10.4. Tedavi.....	39
2.10.5. Antiretroviral Tedavi.....	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	56
3.1. GEREÇ:	56
3.2. YÖNTEM:	57
3.2.1. Hasta Kanından Serum Eldesi:	57
3.2.2. Plazmadan RNA izolasyonu:	57
3.2.3. RT-PCR aşaması:.....	57
3.2.4. Nested PCR aşaması:	58
3.2.5. Jel Elektrophorez İşlemi:	59
3.2.6. Saflaştırma:	59
3.2.7. Sekans:	60
3.2.8. Sekans Sonrası Saflaştırma:	60
3.2.9. Kurutma ve Liyofilizasyon (ABI Prism 3100 kapiler Sekans Cihazına Hazırlık):	60
4. BULGULAR.....	62
5. TARTIŞMA	67
KAYNAKLAR	73
FORMLAR	84

ETİK KURUL KARARI	85
ÖZGEÇMİŞ	86

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: HIV'in Genomik Organizasyonu.....	8
Tablo 2-2: Türkiye'de HIV/AIDS Olgularının Yaşa ve Cinsiyete Göre Dağılımı.....	18
Tablo 2-3: Türkiye'de HIV/AIDS Olgularının Yıllara Göre Dağılımı.....	19
Tablo 2-4: Bulaşma Yollarına Göre HIV/AIDS Olgularının Dağılımı.....	20
Tablo 2-5: Yetişkin ve Pediatrik HIV/AIDS Enfeksiyonunda Benzerlikler ve Farklılıklar	26
Tablo 2-6: Multi-class Kombine Antiretroviraller.....	30
Tablo 2-7: Nükleosid Revers Transkriptaz İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller (NRTIs)	30
Tablo 2-8: Non-Nükleosid Revers Transkriptaz İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller (NNRTIs).....	31
Tablo 2-9: Proteaz İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller (PIs).....	31
Tablo 2-10: Füzyon İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller.....	32
Tablo 2-11: Giriş İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller (CCR5 ko-reseptör antagonisti)...	32
Tablo 2-12: İntegraz Strand Transfer İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller.....	32
Tablo 2-13: HIV enfeksiyonunun immünopatolojik sonuçları.....	35
Tablo 2-14: Yaşa göre CD4+ lenfosit sayı ve oranlarına göre immün sınıflama.....	36
Tablo 2-15: İmmünolojik kategoriye göre sınıflama.....	36
Tablo 2-16: HIV ile enfekte çocuklarda antiretroviral tedavi başlama endikasyonları...41	
Tablo 4-1: Hastaların Özellikleri.....	63
Tablo4-2: Direnç geliştiren mutasyonların subtip ve antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.....	63
Tablo 4-3: Direnç geliştiren mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.....	64
Tablo 4-4: Direnç geliştiren mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.....	64
Tablo 4-5: Direnç geliştiren mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.....	65
Tablo 4-6:Direnç geliştiren mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.....	65

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Viral proteinlerin lokalizasyonlarını gösteren olgun HIV virionunun şematik şekli.....	6
Şekil 2-2: HIV'in Genomik Organizasyonu.....	7
Şekil 2-3: HIV'in Yaşam Döngüsü.....	10
Şekil 2-4: 2009 Yılında HIV ile infekte Yetişkin ve Çocuk Sayısının Dağılımı.....	15
Şekil 2-5: HIV enfeksiyonunun seyri.....	20
Şekil 2-6: Antiretrovirallerin hedefleri.....	43
Şekil 2-7: Direnç oluşumunu etkileyen faktörler.....	48
Şekil 2-8: NRTI ile seçilen mutasyonlar.....	51
Şekil 2-9: NNRTI ile seçilen mutasyonlar.....	52
Şekil 2-10: PI ile seçilen mutasyonlar.....	53
Şekil 4-6: CRF01_AE Subtip Genomik Organizasyonu.....	66
Şekil 4-7: CRF03_AB Subtip Genomik Organizasyonu.....	66
Şekil 4-8: CRF02_AG Subtip Genomik Organizasyonu.....	66

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABC: Abacavir

AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome

APOBEC3G: Apolipoprotein B mRNA-editing, enzyme-catalytic, polypeptide-like 3G

APV: Amprenavir

ARC: AIDS Related Complex

ARV: Antiretroviral

AZT: Azidothymidine

BAF: Autointegration Barrier

BOS: Beyin Omurilik Sıvısı

Cdk: Cycline-Dependent Kinase

CMV: Cytomegalovirus

DC-SIGN: Dendritic Cell Signal

ddI EC: Enteric Coated Didanosine

DIS: Dimerization Binding Site

D4T: Stavudine

DLV: Delavirdine

DNA: Deoxyribonucleic Acid

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EFV: Efavirenz

EIA: Enzyme Immunoassay

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Env: Envelope

FDA: U.S. Food and Drug Administration

FTC: Emtricitabine

Gp: Glycoprotein

HAART: Highly Active Antiretroviral Treatment

HIV: Human Immunodeficiency Virus
HMGI: Yüksek mobiliteye sahip DNA bağlayıcı hücresel protein grubu
IDV: Indinavir
IN: Integrase
IRS: İnhibitör RNA Sekansları
LTRs: Long Tandem Repeats
MAP: Mitogen Activating Protein
MHC: Major Histocompatibility Complex
mRNA: Messenger RNA
Nef: Negative Factor
NVP: Nevirapine
NNRTIs: Non-Nükleosid Reverse Transkriptase Inhibitors
NRTIs: Nükleosid Reverse Transkriptase Inhibitors
ORF: Open Reading Frame
PBS: Primer Binding Site
PCP: Pneumocystis carinii pnömoniae
PIs: Protease Inhibitors
PIC: Preintegration Complexi
Pol: Polimerase
PR: Protease
P-TEFb: Positive Transcription Elongation Factor
RNA: Reoxyribonucleic Acid
RT: Reverse Transcriptase
RT- PCR: Real Time Polimerase Chain Reaction
RTV: Ritonavir
SD: Splice Donor
SIV: Simian Immunodeficiency Virus
SQV: Saquinavir
3TC: Lamivudine
TDF: Tonofovir Disoproxil Fumarate

TAM: Thymidine Analog Mutations

TAR: Transactivation response

Tat: Transcription Transactivator

TM: Transmembrane

TPV: Tipranovir

UNAIDS: The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS

Vif: Viral Infectivity Factor

Vpr: Viral Protein r

Vpu: Viral Protein u

Vpx: Viral Protein x

WB: Western Blot

ZDV: Zidovudine

μl: Mikrolitre

bw: Backward

fw: Forward

ÖZET

Yoldaş, Ö. (2011). HIV-1 Pozitif Pediatrik Hastalarda Virus Tiplendirmesi ve Direnç Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Önceleri yetişkin hastalığı olarak düşünülen HIV, çocuklara çoğunlukla infekte anneden yenidoğan bebeğine vertikal olarak, adolesanlara da cinsel temas yoluyla bulaşmaktadır. T.C.Sağlık Bakanlığı Haziran 2010 verilerine göre 19 yaş altı HIV ile infekte çocuk sayısı 146'dır ve her geçen gün artmaktadır. Antiretrovirallerin sayesinde HIV/AIDS ölümcül bir hastalık olmaktan çıkıp kronik bir hastalık haline gelmiş, yetişkinler gibi çocuk hastaların da yaşam süreleri uzamış ve yaşam kaliteleri artmıştır. Ancak, direnç hasta tedavisinde önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Çocuk hastanın bağışıklık sistemi yetişkinlerden farklı olarak henüz tam olgunlaşmadığı için tam randımanlı çalışmamakta, dolayısıyla HIV 'in hastanın vücudunda hızlı gelişimine olanak vermektedir. Bu durum çocukların gelişimlerini yavaşlatmakta, erken AIDS gelişimi ile ölümlerine sebep olmaktadır. Bununla başa çıkmanın en iyi yolu tedavi öncesi ve belli aralıklarla direnç testleri yapılarak tedavinin genel gidişi hakkında fikir sahibi olmaktır, direnç oluşumu saptandığında vakit geçirmeden en uygun sınıf antiretroviraller ile kombine tedaviye başlanmalıdır. Bu çalışmamızda. tedavi gören HIV-1 Pozitif 0-18 yaş grubundaki 20 hastanın kanları alınarak ekstraksiyon, RT- PCR, Nested PCR, jel elektroforez, pürifikasyon, sekans ve analiz basamakları uygulanmış ve subtiplendirme yapılmıştır. 4 hastada çapraz, 2'sinde çoklu-direnç gözlemlenmiştir. Ülkemizde çocuklarda gelişen HIV ilaç direnci ile ilgili yeterli yayın ve verilerin olmamasından dolayı gerek tedavi sırasında gelişebilecek direnç, gerekse infekte anneden bebeğine bulaşabilecek dirençli suşların oluşturabileceği direnç konusunda bir çalışmanın yapılması çok fayda sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: HIV-1, Antiretroviral Tedavi, İlaç Direnci, Mutasyon, Çocuk Hasta.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 10702

ABSTRACT

Yoldaş, Ö. (2011). Determination of Drug Resistance and Virus Typology in HIV-1 Positive Pediatric Patients. İstanbul University, Institute of Health Science, Microbiology and Clinical Microbiology. Master of Science Thesis. İstanbul.

Considering as a adult-related disease formerly, the most acceptable routes of HIV transmission in children are vertical transmission from an infected mother to her offspring and sexual contact with an HIV-infected individual in adolescents. According to data from Ministry of Health, June 2010 the number of HIV-1 positive children with < 19 years of age is 146. With the use of antiretrovirals, HIV-infected children now face a chronic disease rather than a fatal one; their life-time has increased and quality of their life improved as in adults. However, drug resistance is an important obstacle we have to cope with during treatment of children. Considering that most aspects of the immune system is immature, the infection progresses rapid and may lead deaths caused by AIDS. To overcome it, resistance testing is a remedy which shows how much the treatment is effective or not. If not, appropriate and on time therapy will be provided to patients. Among 20 pediatric patients 4 and 2 had cross and multiple-drug resistance respectively. 20 blood samples collected from HIV-1 positive treatment-experienced pediatric patients were exposed to extraction, PCR, Gel Electrophoresis, purification, sequence and analysis. Determining drug insensitivity developing during treatment or probably, with a resistant virus transmitting from mother contribute insufficient data of our country.

Key Words: HIV-1, Antiretroviral Treatment, Drug Resistance, Mutation, Pediatric Patient.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 10702

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlk başlarda HIV pozitif kişiler az sayıda olmaları ve homoseksüel erkek grubunda görülmeleri nedeni ile fazla ilgi çekmemiştir. Ne zaman ki biseksüel erkekler aracılığı ile kadınlara ve infekte hamile kadınlardan da virüsün bebeklere geçmesi ile olgu sayıları giderek artmaya başlamış, dünyanın ilgisi bu hastalık üzerine yoğunlaşmıştır.

HIV, çoğalabilmek için insan bağışıklık sistemi hücrelerine ihtiyaç duyan hücre içi parazit olarak nitelendirilebileceğimiz, lentivirus ailesinden bir retrovirustur. HIV'in ve virusa karşı koyan insan bağışıklık sisteminin etkisiyle özellikle bağışıklık sistemi hücrelerinde büyük bir harabiyet oluşur. Korunmasız cinsel ilişki (anal veya vajinal), kontamine kan transfüzyonu, kontamine iğne paylaşımı, anne ve çocuk arasında hamilelik süresince, doğumda veya emzirme ile aktarılabilmektedir. Enfeksiyon geliştikçe immün sistem giderek zayıflamakta ve kişi diğer enfeksiyonlara karşı da oldukça duyarlı hale gelmektedir. HIV enfeksiyonu en ilerlemiş safhasında AIDS adı verilen immün yetmezlik sendromuna yol açmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünyada HIV ile infekte yaklaşık olarak 35 milyon kişi yaşamaktadır ve doğurganlık çağındaki kadınlar HIV pozitif olguların yaklaşık olarak yarısını oluşturmaktadır. Enfekte anne sayısı arttıkça bunun doğal bir sonucu olarak infekte çocuk sayısı da artmaktadır. Çocuklarda ilk olarak HIV enfeksiyonu 1982 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde tanımlanmıştır.

Unaid's'in verilerine göre 1982'den bu yana HIV ile infekte 15 yaşın altında 2 milyon çocuk vardır. Yapılan çalışmalardan elde edilen bilgilere göre, çocuklarda virus bulaşması çoğunlukla infekte anneden yeni doğan bebeğine vertikal olarak (%90) veya infekte kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu ile gerçekleşmektedir.

Yapılan klinik çalışmalara göre, çocuklardaki HIV enfeksiyonu iki değişik şekilde seyredebilir. Birinci tipte görülen klinik yetişkinlerdekine çok benzerken diğerinde yüksek viral yük ile çabuk ilerleyen ve çocuk yaşta ölüme sebep olan bir tablo söz konusudur. Yeni doğan ile 3 yaş arası çocuklarda bağışıklık sisteminin alt düzeyde olduğu ve ancak 7 yaşlarında olgunlaşmasının tamamlandığı göz önüne alınırsa erken tanı ve uygun tedaviye geçişin en önemli faktör olduğu açıktır. Dolayısı ile tedavi

öncesi yapılacak bir direnç testi ile tedaviye en iyi cevap verecek antiretrovirallerin saptanması bazı erken çocuk ölümlerinin önlenmesinde önemlidir.

HIV-1 pozitif tedavi gören çocuk hastalarda tedavi süresince gelişen veya zaten büyük bir olasılıkla anneden dirençli bir suş ile infekte çocuk hastalardaki ilaç duyarsızlığı, insan yaşamı için bu denli önemli bir hastalığın tedavisinde ve kontrolünün sağlanmasında karşımıza çıkan en önemli sorundur. Ayrıca bazı subtiplerde, antiretroviral tedavi altında hızlı direnç gelişimi gözlemlenmiştir. Ülkemizde bu alanda yeterli sayıda çalışma ve veri bulunmaması kullanılan ilaçlara karşı gelişen direncin saptanmasında yetersizlik yaratabilmekte ve etkisiz ilaç kullanımına bağlı ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Günümüzde mevcut antiretroviral ilaçlar HIV ile infekte olmuş hastanın kanından ve dokularından HIV'i arındırmasına rağmen HIV bazı hafıza (memory) CD4T hücrelerinde yaşamaya devam ettiğinden HIV'i hasta vücudundan eradike etmek mümkün değildir. Dolayısıyla, çocuk hastalar artık kronik bir hastalık haline gelmiş bu hastalığın, zaten tam gelişmemiş bağışıklık sistemleri üzerindeki olumsuz etkilerini azaltabilmek, yaşam sürelerini uzatmak ve hayat kalitelerini arttırmak için uzun yıllar antiretroviral tedavi görmektedirler.

HIV ile infekte kişide AIDS gelişmesi 10-15 seneyi bulmasına karşın antiretroviral ilaçlar bu prosesi yavaşlatmaktadırlar. Antiretroviral tedaviler hızlı bir şekilde gelişme göstermelerine rağmen özellikle çocuk hastalarda toksik etki göstermeleri, uzun süreli adherans ile ilgili problemler, çocuk bünyesine göre oldukça ağır olan bu ilaçların yan etkileri, evrim ve ilaca dirençli viruslerin aktarımı gibi nedenlerle bazı hasta gruplarında amaçlarına ulaşmakta başarısızdır. Yüksek viral yük ve düşük CD4 hücre sayımı tedavi başarısızlığını göstermekte ve dolayısı ile direnç oluşumunu akla getirmektedir.

İlaç direnci tedavinin başarısızlık ile sonuçlanmasına neden olan ana faktördür ve genel bir ifade ile antiretrovirallerin etkisini azaltmaktadır. ilaç direncinin oluşmasının genetik temeli HIV'in replikasyonunda yer alan revers transkriptaz enzimi özelliği nedeniyle çok sık hata yapmasıdır. Tedavi sırasında dirençli olmayan yabancıl suşlar ortadan kalkarken, geçirdikleri mutasyonlarla antiretroviralle direnç geliştiren mutant suşlar ortama hakim olmaktadır.

Tedavi süresince yetişkinlerde olduğu gibi çocuklarda da antiretrovirallere karşı direnç gelişebilmektedir. Yetişkinler arasında ve anneden bebeğine dirençli suşların bulaştığı yapılan direnç testleri ile gösterilmiştir. Direnç testleri tedaviye başlamadan önce tedaviyi yönlendirmek amacıyla, primer (akut ve erken) enfeksiyonda, tedavi başarısızlığı olanlarda, kronik HIV-1 enfeksiyonunda ve gebelerde önerilmektedir.

Genel olarak bakıldığında ülkemizde özellikle HIV/AIDS prevalansının düşük olduğu bilinmektedir fakat her geçen gün HIV pozitif hasta sayısındaki artış göz ardı edilemez. Bağışıklık sistemi henüz tam gelişmemiş ve uzun yıllar HIV 'e maruz kalacak çocuk hastalar göz önüne alındığında direnç testlerinin yönlendireceği ve zamanında yapılan etkin tedavinin önemi büyüktür.

Çalışmamız süresince İstanbul Tıp Fakültesinde tedavi gören 20 HIV-1 pozitif pediatrik hastadan kan örneği alınarak çalışılmıştır. Uygun şartlarda korunan serum örneklerinden ekstraksiyon ile virusun genetik materyali RNA izole edilmiştir. Bu çalışma ile 20 hastadaki antiretroviral ilaç direnci ve hastaların enfekte oldukları virusun subtipleri belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.HIV'in Kökeni ve Sınıflandırılması

1981 yılında ilk defa Amerika Birleşik Devletleri'nde Kaposi sarkomu ve *Pneumocytis carinii pnömonisi* saptanması ile tanımlanan (69, 84) ve 1983 yılında sitopatik bir retrovirus olduğu gösterilen (10) AIDS hastalığının etkeni olan HIV'in bilinen ilk AIDS olgusunun izleri, 1959 yılına kadar gitmektedir (84, 107). HIV-1 ve HIV-2 olmak üzere 2 ana tipi vardır. HIV-1 virusunun Orta Afrika'da bulunan şempanzelerden muhtemelen 1931 yılında insanlara geçip, günümüzdeki AIDS epidemisine sebep olduğu düşünülmektedir (73, 39). HIV-2 ise 1940 yıllarında Batı Afrika'daki maymunlardan insanlara geçmiştir (78, 50). Kırsal Afrika'da maymun eti yemeklerde kullanıldığından HIV-1 ve HIV-2 Afrika'daki insanlara büyük bir ihtimalle bu viruslarla infekte olmuş maymun ve şempanzelerin kesimi ve etlerinin yemek için hazırlanması süresince infekte primat kanları vasıtasıyla geçtiği düşünülmektedir (127). Dizi evrimi analizleri ile öncelikle HIV-1 M grubunun ortaya çıktığı gösterilmiştir. Yıllarca tekrarlandığı düşünülen bu bulaşmalar özellikle 20. Yüzyılın ortalarında olan ekonomik, sosyal ve davranışsal değişikliklerin etkisiyle insanlarda tamamen oturup, epidemilere sebep olmuştur (65).

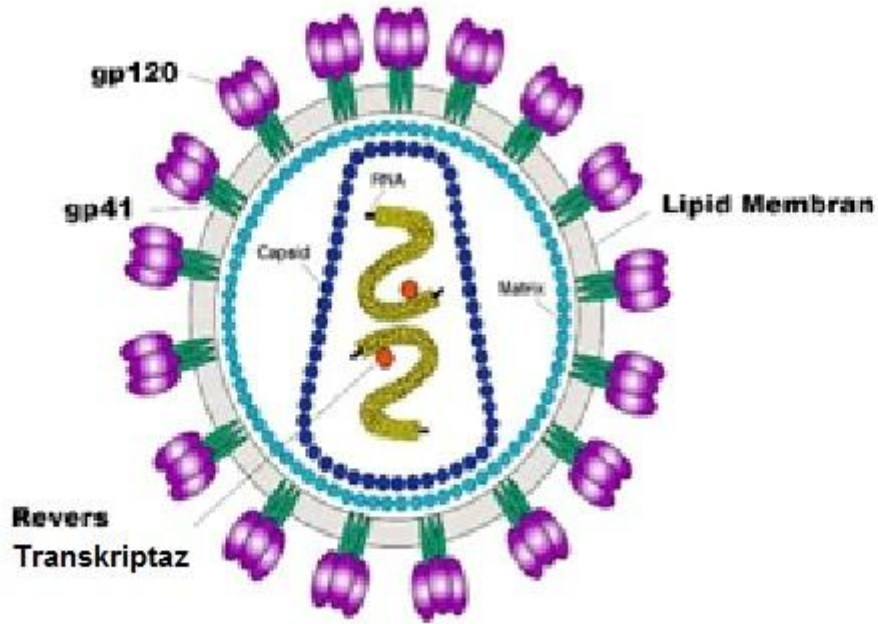
HIV'in replikasyonunda rol alan Revers Transkriptaz enziminin doğası gereği çok sık hata yapması ve üstelik DNA Polimeraz enziminin tamir mekanizmasından yoksun olması, günlük virus üretiminin çok fazla olması (10^{10} - 10^{12} partikül), HIV genomunun büyüklüğü (10.000 nükleotid), serbest virusun yarı ömrünün 30 dakika oluşu ve mutasyonların sık oluşması çok fazla sayıda ve farklı genetik yapıda suşların oluşmasına yol açar (83). HIV ile infekte aynı kişiden alınan izolatlar bile belirgin bir heterojenite gösterir. Bu durum gp160'ı kodlayan env geninde ön plana çıkmaktadır. Bu genetik çeşitliliğe dayanarak HIV-1, 4 farklı genetik gruba ayrılır: M, N, O ve P. M grubu da nükleotid benzerliklerine göre A1, A2, A3, A4, B, C, D, F1, F2, G, H, J ve K olmak üzere farklı genetik subtiplere ayrılır (61). Bazı virus suşları birden fazla subtipten oluşan rekombinantlar şeklindedir (CRF). Dört veya daha fazla farklı baz dizileri içeren suşlara mozaik tipler denilmektedir. Ancak, HIV'in kesin olarak birbirinden ayırt edilmiş serotipleri yoktur (104, 21, 45, 44, 49). HIV-1'e oranla HIV-2 daha az patojendir ve daha yavaş ilerleyen ve ılımlı bir hastalık seyri izler (96, 61, 118,

62)). Dolayısıyla HIV-1 kadar yaygın değildir. Doğu Afrika ve dünyanın diğer bölgelerinde rastlanan az sayıda olgu ile sınırlıdır. HIV-1'in dağılımı ait olduğu subtiple bağlı olarak bazı coğrafik farklılıklar gösterir. Farklı M alt tipleri, dünyanın çeşitli bölgelerinden izole edilmişlerdir. B subtipi özellikle Kuzey Amerika, Avrupa ve Avustralya'da yaygın olarak görülürken yüksek heterojenite gösteren A subtipi ve A/G rekombinantları Batı ve Orta Afrika'da çoğunluktadır (96). Doğu ve Orta Afrika'nın major subtipi D'dir (96, 61, 27, 11, 62). Güney ve Doğu Afrika ve Hint yarımadasında C, Tayland, Filipinler, Çin ve Orta Afrika'da ise A/E mozaik subtipleri çoğunlukla belirlenmiştir, saf E subtipi şimdiye kadar saptanamamıştır (96, 61, 10, 101,18, 92, 68). G ve A/G rekombinant tipleri Batı ve Doğu Afrika ve Doğu Avrupa'da yaygındır (96). J (24, 25) ve H'nin (28, 32) Orta Amerika'da, K'nin ise Kongo Cumhuriyeti ve Kamerun'da saptandığı rapor edilmiştir (33). O grubu viruslar nadiren izole edilmektedir. O grubu daha çok Kamerun, Gabon ve Ekvator Gine'sinde saptanmaktadır. N ve P grubu viruslar Kamerun'dan izole edilmiştir. Yedi HIV-2 (A'dan G'ye kadar) alt tipi tanımlanmıştır (15).

2.2.Virusun Özellikleri

HIV, Retroviridae ailesi içinde yer alan Lentivirus cinsindendir. Şimdiye kadar HIV-1 ve HIV-2 olmak üzere herbiri farklı bir 'simian immunodeficiency virus (SIV)'den evrimleştiği düşünülen 2 tipi tanımlanmıştır. Kendi doğal konakları olan primatlara zarar vermeyen SIV'in tersine, HIV infekte ettiği kişilerin bağışıklık sistemlerinde harabiyet oluşturmakta ve hastaları bakteri, virus, mantar ve protozoa'nın sebep olduğu fırsatçı enfeksiyonlara karşı zayıf düşürmektedir ve ileri safhalarda ölüme sebebiyet verebilmektedir. Bir retrovirus olan HIV'in ayırt ettirici özelliği Revers transkriptaz (RT) enzimleri ile genomlarının bir DNA kopyasını (cDNA) oluşturabilmeleridir. Revers transkripsiyon ile oluşan cDNA konak hücre DNA'sına entegre olur. Lentivirusların diğer retroviruslardan farkı ise klinik belirtilerin ortaya çıkmasına kadar çok uzun bir süre latent halde kalmaları ve daha karmaşık bir genomik yapıya sahip olmalarıdır (104, 21, 45, 44, 49).

2.3. Virion Yapısı



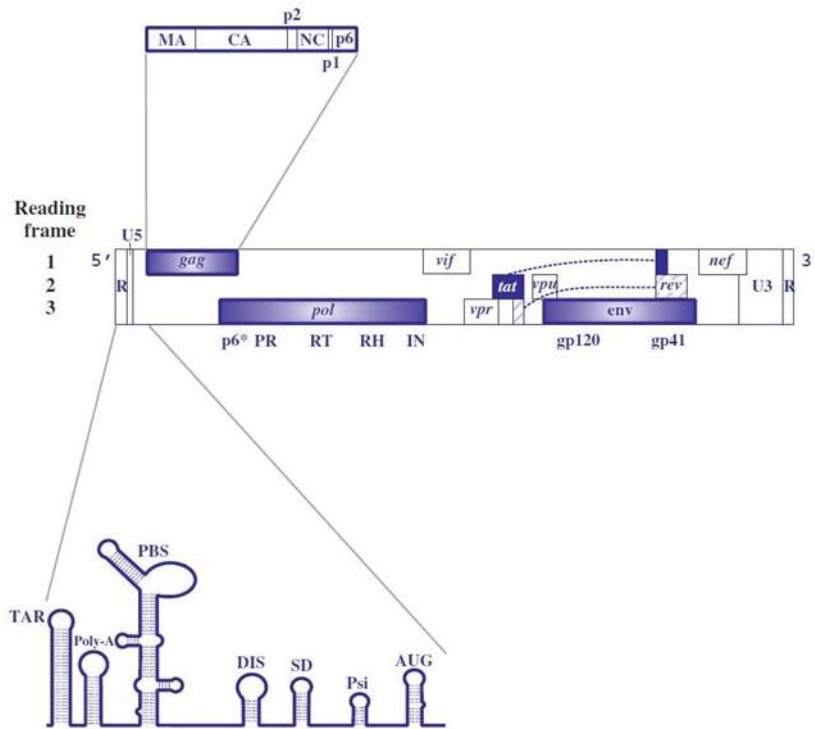
Şekil 2-1: Viral proteinlerin lokalizasyonlarını gösteren olgun HIV virionunun şematik şekli (91).

HIV partikülleri elektron mikroskopu ile incelendiğinde tipik konik görünümüne sahip bir çekirdek (kor yapı) içerir ve bu görünümü ile diğer retroviruslardan ayrılır. Olgun bir virion nükleokapsit yapısı 100-150 nm çapında olup, ikozahedral bir yapı içerir (Şekil 2-1). Genelde virionda bir kapsid bulunmasına karşın iki ve ya daha fazla kapside de rastlanmıştır. HIV-1 ve HIV-2 ileri zarflı pozitif iplikli RNA viruslarıdır. Çekirdek birbirinin aynı iki tek iplikli RNA kopyası içerir. Bu RNA'lar, 10 kb uzunluğunda olup RNA'lar nükleokapsid ve matriks kabuğu oluşturan yapısal proteinler ve pol geni ürünleri ile kaplıdır. Nükleokapsid yapısı tomurcuklanma sırasında büyük ölçüde konak hücresinden alınmış olan lipid zarf ile çevrilidir. Ancak, HIV zarf yapısı, hücre plazma membranında bulunan fosfolipitten farklıdır. Viral zarfda bulunan kolesterol ve lipid içeriği hücre membranından 2-3 misli daha fazladır. HIV partikülünün membranında 72 adet çıkıntı şeklinde zarf peplomerleri yer alır. Virionun en büyük moleküler ağırlığına sahip (gp160) bu çıkıntıların her biri 9-10 nm uzunluğunda olup ovoid distal uçları 14-15 nm'dir. Zarf içinde ve yüzeyinde virusa ait zarf glikoproteini olarak bilinen gp160 iki glikoprotein yapısını oluşturmak üzere

parçalanır. Bunlar yüzeyde serbest olarak bulunan gp 120 (surface = SU), yüzey ve membrana gömülü olarak bulunan gp41 (transmembrane = TM) glikoproteinleridir. Gp120 HIV'in konak T4 hücrelerinde bulunan CD4 reseptörlerine tutunması ve birleşmesinde rol oynar. Bu, virusun konak hücreyi infeksiyonundaki ilk aşamadır. Gp41 virusun hücre içerisine girişinde membranlar arası füzyon yapma özelliğine sahiptir (121, 79, 48, 113).

2.4.Genomik Organizasyon

HIV genomu diğer retroviruslara benzer ama daha karışık bir organizasyon gösterir. Üç major açık okuma çerçevesi (ORF=Open Reading Frame), gag, pol ve env proteinlerini kodlar. Karmaşık m-RNA kırpma mekanizmaları ile yedi protein daha kodlanır. Viral genom 5'LTR+Gag+Pol+Env+3'LTR şeklinde organize olmuştur (Şekil 2-2).



Şekil 2-2: HIV'in Genomik Organizasyonu (94).

HIV'in kodladığı proteinler majör yapısal proteinler (Gag, Pol ve Env), düzenleyici proteinler (Tat ve Rev) ve aksesuar yani virusun çoğalması için gerekli

olmayan proteinler (Vpu, Vpr, Vif ve Nef) şeklinde sınıflandırılabilir (104, 21, 45, 44, 49, 121, 79, 48).

Tablo 2-1: HIV'in Genomik Organizasyonu (65).

VİRAL PROTEİN	GEN	FONKSİYONU
Majör yapısal	gag	Türe özgü antijenler -matriks, kapsid, p2,
	pol	Polimeraz- p6, protease, RT,
	env	Zarf
Düzenleyici Proteinler	nef	Negatif faktör
	rev	Viral ekspresyon regülatör
	tat	Transkripsiyon transaktivatör
	vif	Viral infectivity faktör
	vpr	Viral protein R
	vpu	Viral protein U
Kodlanmayan Diziler	R	Tekrar dizileri
	U3	Genomun 3' uç bölgesi
	U5	Genomun 5' uç bölgesi
Genomun 5'ucundaki	TAR	Transactivation cevap elementi
	Poly-	Polyadenylation sinyal
	PBS	Primer bağlanma bölgesi
	DIS	Dimerizasyon bağlanma bölgesi
	SD	Splice donor bölgesi
	Psi	Psi element
	AUG	gag geninin başlangıç kodonu

2.4.1.Majör Yapısal Proteinler

GAG geni (Gruba Özgü Antijenler) Kapsid proteinlerini kodlar. Bir öncül protein protein olarak sentezlenir ve virus olgunlaşırken viral proteaz tarafından matriks, kapsid, nükleokapsid , p1 ve p6 proteinlerine parçalanır.

POL geni proteaz (PR), revers transkriptaz (RT) ve integras (IN) enzimlerini kodlar. Genomun kırılmamış m-RNA'sından önce pr160 gag-pol oluşur. Translasyon sonunda proteaz (PR), revers transkriptaz, (RT) ve integras (IN) proteinleri üretilir. 66 kd'luk orijinal RT ile C terminal ucundan 14kd polipeptid kırıldığı için N terminal ucundan 55 kd kalan RT ile heterodimer enzim yapısı oluştururlar.

ENV geni zarf glikoproteinlerini kodlar. Kırılan m-RNA 88 kd'luk öncül protein hücrenin ER'da glikozillendikten sonra ağırlığı 160 kd'a çıkar ve daha sonra hücresel enzimler aracılığı ile zarf yüzeyinde bulunan gp 120 ile transmembranik zarf proteini olan gp 41'e parçalanır (104, 21, 45, 44, 49, 121, 79, 48).

2.4.2.Düzenleyici Proteinler

Tat HIV RNA'sının 5'ucunda yer alan TAR bölgesine bağlanarak HIV DNA'sının RNA'ya transkripsiyonunu ve uzamasını uyarır. HIV RNA'sının hücre çekirdeğinden sitoplazmaya geçişini hızlandırır. Erken dönemde ve geç dönemde sentezlenen m-RNA'lar tarafından kodlanan iki ayrı formu vardır. Rev HIV RNA 'sının TAR bölgesine bağlanarak HIV gen ekspresyonunda erken dönemden geç döneme geçişi indükler (104, 21, 45, 44, 49, 121, 79, 48).

2.4.3.Aksesuar Proteinler

Vif HIV'in periferik kan lökositleri, makrofajlar ve belli hücre kültürlerinde üremesi için gereklidir. APOBEC-3G'nin etkisini engeller. Vpr hücre çekirdeğinde yer alan bu viral protein, proviral DNA oluşumu öncesi preintegrasyon kompleksinin hücre çekirdeğine girişini kolaylaştırır. Hücre bölünmesini durdurur, hücre genlerin transaktivasyonunu sağlarken hücrenin farklılaşmasını indükler. HIV-2 ve HIV-2'nin öncülleri olan maymun viruslarındaki karşılığı vpx'dir. Vpu CD4 ekspresyonunu azaltır ve virionların serbest hale gelmesini kolaylaştırır. Eksikliğinde infekte hücre membranından tomurcuklanmış ama ayrılamamış bir virus görüntüsü ortaya çıkar. Viral protein u HIV-2 ve HIV-2 öncüllerinde yoktur. Nef CD4 ve MHC1 sınıfı moleküllerinin ekspresyonunu azaltarak viral yükün yüksek seyretmesinde, ve böylelikle hastalığın son aşaması olan AIDS'e ilerlemesinde etkindir (104, 21, 45, 44, 49, 121, 79, 48).

2.4.4.HIV Genomunun Yapısal Elemanları

LTRs İnfekte olmuş konak DNA'sına entegre olan provirusun genomunun her iki ucunda transkripsiyonun başlatılması ve poliadenilasyonun düzenlenmesinde önemli bölgelerdir.

TAR Tat proteinin ve belirli bazı hücre proteinlerin bağlanma bölgesidir.

Rre Rev'in fonksiyonu için gerekli olan proteinlerin bağlanması için sekonder yapılar oluşturur.

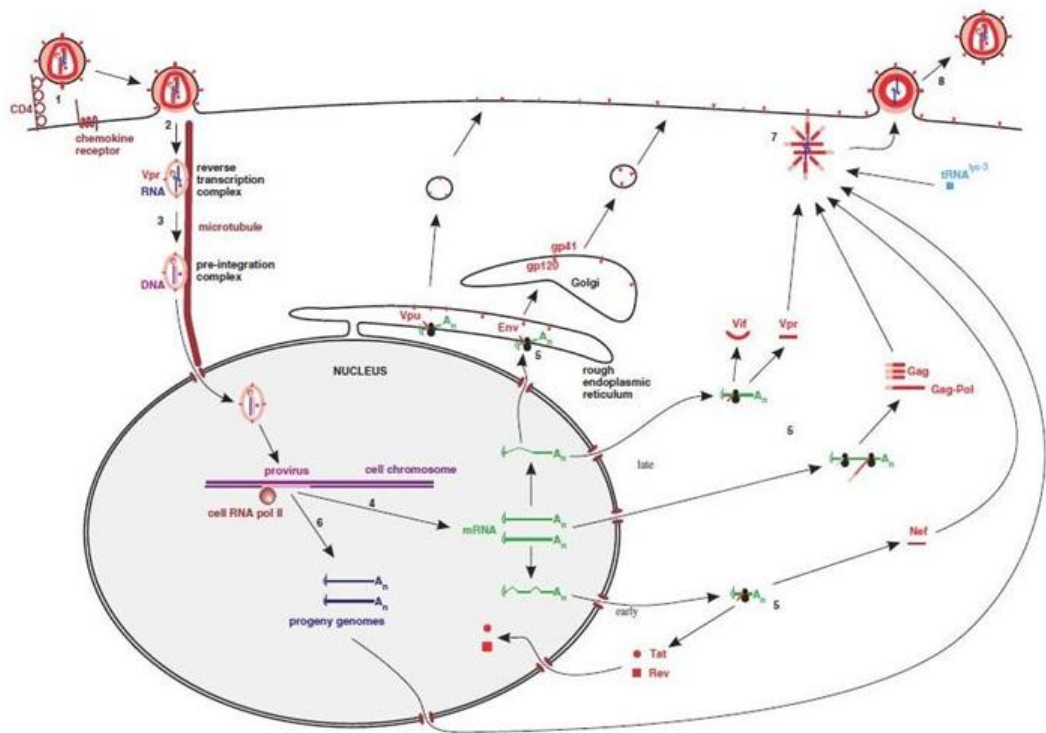
PE Gag start kodonunu taşıyan ilimik yapılardır.

SLIP poli T kayma noktasıdır ve -1 ribozomal çerçeve kaymasından sorumludur.

CRS Pol bölgesi üzerinde yer alan bu eleman Rev'in yokluğunda yapısal proteinlerin ekspresyonunu engeller.

INS HIV-1'in yapısal genleri üzerinde bulunurlar. (104, 79, 48, 109, 54)

2.5.Yaşam Döngüsü



Şekil 2-3: HIV'in Yaşam Döngüsü (95).

2.5.1.Virusun konak hücre sine bağlanması ve girişi

HIV'in hedef hücreyi infekte edebilmesi için o hücrenin içine girmesi yani genetik materyalinin hücre içine sokulması gerekir. Virusun zarfının konak hücre

membranı ile füzyonu gerçekleştiren özgül reseptörler bunu sağlar. Virusun yüzeyinde gp 120 ve virusa ait lipid membran içinde bulunan gp 41 proteinleri bir trimerik işlevsel birim oluştururlar. Trimerik gp 120 hedef hücre çeperinde bulunan CD4 molekülüne bağlanır ve hücre yüzeyindeki reseptörlerde yapısal değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler sayesinde virionun hücre yüzeyinde bulunan kemokin reseptörlerine bağlanması olanaklı hale gelir (104, 21, 121, 79, 48).

Hücre kültürlerinde 12 değişik kemokin reseptörü HIV'in bağlanması açısından koreseptör görevi işlevi görmekle birlikte, işlevsel açıdan in vivo koşullarda sadece ikisi görev üstlenmektedir. Bunlar arasında 7-transmembran (7_{TM}) kemokin reseptörleri olan CCR2B, CCR3, CCR8, GPR1, GPR16, STRL33, US28, CXCR3, APJ sayılabilir. HIV'in bağlandığı iki ana reseptörden biri olan CCR5 (beta kemokin reseptörü), R5 viruslarının bağlanması için uygundur. R5 virusları, mukoza ve damariçi yolla bulaşan sinsisyum oluşturmeyen, makrofajlara tropizm gösteren (M tropik) HIV viruslarıdır. T hücrelerine tropizm gösteren, sinsisyum oluşturan ve HIV enfeksiyonunun daha geç dönemlerinde bulunan R4 virusları ise CXCR4 reseptörlerine (alfa kemokin reseptörü) bağlanır. CCR5 geninde 32 bazlık bir delesyon bakımından beyaz ırkın yaklaşık %1-2'si homozigottur ve bu nedenle HIV'in bulaşmasına karşı neredeyse tamamen dirençlidir (109, 54, 74, 37).

HIV virionları hücre içine endositoz yoluyla da girebilirler, ancak bu durum, virionlar bu endozomlar içinde inaktif hale getirildiklerinden prodüktif bir enfeksiyonla sonuçlanmaz. Bunun da çok önemli bir istisnası vardır: Submukozal dendritik hücreler. Antijen sunma özelliğine sahip bu hücrelerin yüzeyinde bulunan bir C tipi lektin (DC-SIGN), gp120'yi bağlar, fakat füzyon için gerekli yapısal değişiklikleri tetiklemez. Buna karşılık DC-SIGN'a bağlı virion hücre içinde bir asidik kompartman içine alınır ve daha sonra dendritik hücreler olgunlaşıp bölgesel lenf düğümüne göç ettiğinde hücre yüzeyinde ekspresse edilir. Bu nedenle dendritik hücreler, HIV'in mukozalardan lenfatik organlardaki T hücrelerine yayılmasında bir tür aracıcılar (48, 54, 124).

Virion hücre içine girdiğinde, henüz konak hücre membranı ile bağlantılıyken soyunma (uncoating) işlemine tabi tutulur. Bu aşamada mitojen tarafından aktive edilen protein (MAP) kinaz aracılı fosforillenme ile birlikte siklofilin A ve virusa ait Nef ve Nif proteinlerinin işlevleri gerekir. Nef üniversal bir proton pompası olan V-ATPaz'a bağlanarak lokal pH değişiklikleri oluşturur. Virion, zarfindan kurtulduğunda, viral revers transkripsiyon kompleksi plazma membranından serbestlenir. Bu kompleks

diploid viral RNA genomu, revers transkripsiyon aşamasında primer görevi gören lizin-transfer RNA'sı (tRNA^{Lys}), virusa ait revers transkriptaz enzimi, integraz, matriks ve nükleokapsid proteinleri, protein R (Vpr)'nin yanı sıra konağa ait çeşitli proteinlerden oluşur. Revers transkripsiyon kompleksi aktin miyofilamentlerine bağlanır. Etkili bir DNA sentezi için de bu bağlanma şarttır. Vif kompleksi APOBEC3G (CEM15)'in destabilize edici etkilerini giderir (6).

Revers transkripsiyon sonucunda çift sarmallı viral cDNA, integraz, matriks, Vpr, revers transkriptaz ve HMGI (y) (yüksek mobilitateye sahip DNA bağlayıcı hücresel protein grubu)'den oluşan preintegrasyon kompleksi (PIC) ortaya çıkar. PIC, diğer bazı viruslarda olduğu gibi mikrotübüller aracılığı ile nükleusa doğru ilerler.

2.5.2. Konak hücre nükleusuna giriş

HIV diğer hayvan retroviruslarından farklı olarak, dinlenme halindeki hücreleri yani son farklılaşmasını tamamlamış makrofajlar gibi hücreleri de infekte eder. Bundan dolayı PIC'nin sağlam durumdaki nükleus membranını geçmesi gerekir. Oysa PIC nükleus porunun iki katı bir çapa sahiptir. PIC'nin Vpr'nin güdümünde nükleus içine alınmasında PIC'nin içinde bulunan komponentlerden kaynaklanan çeşitli sinyaller işbirliği içerisinde çalışmaktadır (104, 21, 49, 79, 48).

Hücre içine girdikten sonra PIC bir provirus işlevi görür. Nükleusta viral DNA 1 adet LTR ya da 2 adet LTR'li halkasal şekillerde bulunabilir. Çift sarmallı viral DNA integraz aracılığı ile konak kromozomuna bağlanır. Bu aşamada ayrıca konağa ait HMGI (Y) gibi konak proteinleri ve otointegrasyon bariyeri (BAF)'ne gereksinim vardır. İntegraz DNA'nın uçlarından iki baz çıkartır ve uçlar terminal transferaz aktivitesi ile onarılır. Nükleus içine giren PIC'lerin tümü provirus işlevi göremez (48, 54, 124, 74, 37).

2.5.3. Transkripsiyon

Entegrasyon latent enfeksiyon ya da transkripsiyon açısından aktif prodüktif enfeksiyonla sonuçlanabilir. Transkripsiyon aktivitesini, entegrasyonun gerçekleştiği kromozom bölgesi belirler. Örneğin repress durumdaki heterokromatine entegrasyon, latent enfeksiyon ile sonuçlanır. Bu açıdan belirleyici olabilecek diğer faktörler, hücreden hücreye transaktivatör faktörlerin değişmesi ya da Tat eksikliğidir. Ancak

hücreler birden çok kopya ile enfekte olduklarından bunlardan en az bir tanesinin transkripsiyon açısından aktif olma olasılığı yüksektir (45, 48, 54).

Konak genomunda 5'LTR, ökaryotik transkripsiyon aktivatörlerinden biri gibi davranır. 5'LTR, RNA polimeraz II'nin başlangıç noktasına doğru bir şekilde konumlanıp başlangıç öncesi kompleksiyle birleşebilmesi için çeşitli promoter elemanlar içerir. Ancak polimerazın oluşmakta olan RNA'yı verimli bir biçimde uzatabilmesi için Tat'a gereksinim vardır. Tat'tan önceki evrede poliadenillenmemiş kısa transkriptler sentezlenir ve bunlar, transaktivasyon yanıt (TAR) elemanı adı verilen RNA ilmiği sayesinde hücre içinde stabil bir şekilde varlıklarını korurlar. HIV-1 transkripsiyonunun ana düzenleyicisi Tat'tır ve virusun genlerinin ekspresyon hızlarını belirgin bir biçimde artırır. Tat'ın eksik olduğu viruslar çoğalamazlar. Tat, TAR'a bağlanarak, hücresel sikline bağımlı kinaz 9'un (Cdk 9) HIV LTR'sine gelmesini sağlar. Cdk9'un pozitif transkripsiyon elongasyon faktörü b (P-TEFb) içindeki etkileriyle transkripsiyon, başlangıç aşamasından ökaryotik elongasyon aşamasına geçer. P- TEFb hedefleri arasında daha başka faktörler de vardır ve bunların tümü, Tat transaktivasyonu için gereklidir (49, 48, 124).

Dinlenme halindeki hücrelerde P- TEFb düzeylerinin düşüklüğü ya da yokluğu, postintegrasyon latensi izah edebilir. Viral transkripsiyon bir düzine farklı HIV'e spesifik transkriptin oluşması ile sonuçlanır. Bunlardan bazıları transkripsiyonla eşzamanlı olarak işlenir ve inhibitör RNA sekanslarının (IRS) yokluğunda hızla sitoplazmaya aktarılır. Genomik RNA'dan oluşan yaklaşık 9 kb'lık mRNA gag ve gag öncüllerini kodlar. Bir kez kırpılmış yaklaşık 4 kb uzunluğunda olan mRNA, env öncülünü, Vif ve Vpr'yi kodlar. Çok kez kırpılmış transkriptler ise Nef, Tat ve Rev'i kodlar. Bir kez kırpılmış ya da kırpılmamış transkriptler, nükleus içinde görece stabil bir biçimde kalmaya devam ederler. Bunlar yapısal, enzimatik ya da aksesuar viral proteinleri kodlar ki bunlar enfeksiyöz virion oluşumu için gerekli genomik RNA'lardır. Eksik kırpılmış RNA'ların sitoplazmaya taşınmasından Rev sorumludur (49, 48, 124, 37).

Tat ve Rev doğrudan viral RNA'lar üzerine ederken, Nef enfekte hücredeki ortamı virus replikasyonunu optimal hale getirecek şekilde değiştirir. Nitekim, Nef'in eksikliği gerek maymunlar gerekse insanda enfeksiyonun AIDS'e ilerlemesini büyük ölçüde yavaşlatır. Nef CD4 ekspresyonunu azaltır. Nef ayrıca daha enfeksiyöz

virionların oluşum ve serbestlenmesini sağlar. Nef bir yandan eşlikçi hücrelerde apoptozu indüklerken, infekte hücrede inhibe eder. Ayrıca güçlü bir apoptoz indükleyicisi olan p53'e de bağlanır ve böylelikle infekte hücrelerin yaşam süresini uzatır. Rev'e bağımlı Vpr ekspresyonu, proliferde olmakta olan infekte hücreleri G2/m fazında durdurur. LTR'nin G2 fazında daha aktif olması nedeniyle de, bu durumda viral genler daha iyi ekspresse edilir (54, 74, 124, 37).

2.5.4.Toparlanma ve tomurcuklanma

Yeni oluşan virus partikülleri plazma membranında bir araya toplanır. Her bir virion kabaca 1500 Gag ve 100 Gag molekülü, iki kopya RNA ve Vpr'den oluşur. Toplanma asamasında Gag, Gag-Pol proteinlerinin yanı sıra Nef ve Env de rol alır. Env, bilindiği üzere zarf glikoproteinlerini kodlar. CD4 pozitif T hücrelerinde Vif kilit bir rol oynar ve Vif eksikliğinde normal düzeyde virionlar oluşmakla birlikte bu viruslar bir sonraki infekte ettikleri hücrede revers transkripsiyon aşamasının ötesine geçemezler. Bu durumda APOBEC3'ün etkilerine karşı koyacak bir mekanizma kalmamıştır. RNA'nın paketlenmesinde virusun genomunun 5'ucuna yakın LTR ile Gag arasında yer alan paketleme ya da Psi sekansları adı verilen spesifik RNA sekansları ile Gag'ın NC bölgesi arasındaki etkileşimler rol oynar. Gag öncülünün NC bölümü en büyük role sahiptir. Gag poliproteinleri miristilasyona uğrarlar ve bu nedenle membranın kolesterol ve glikolipidçe zengin kısımlarıyla daha çok bağlantı kurarlar. Tomurcuklanma bu özel bölgeler üzerinden gerçekleşir. Bu nedenle de virionların membranları kolesterolce zengindir.

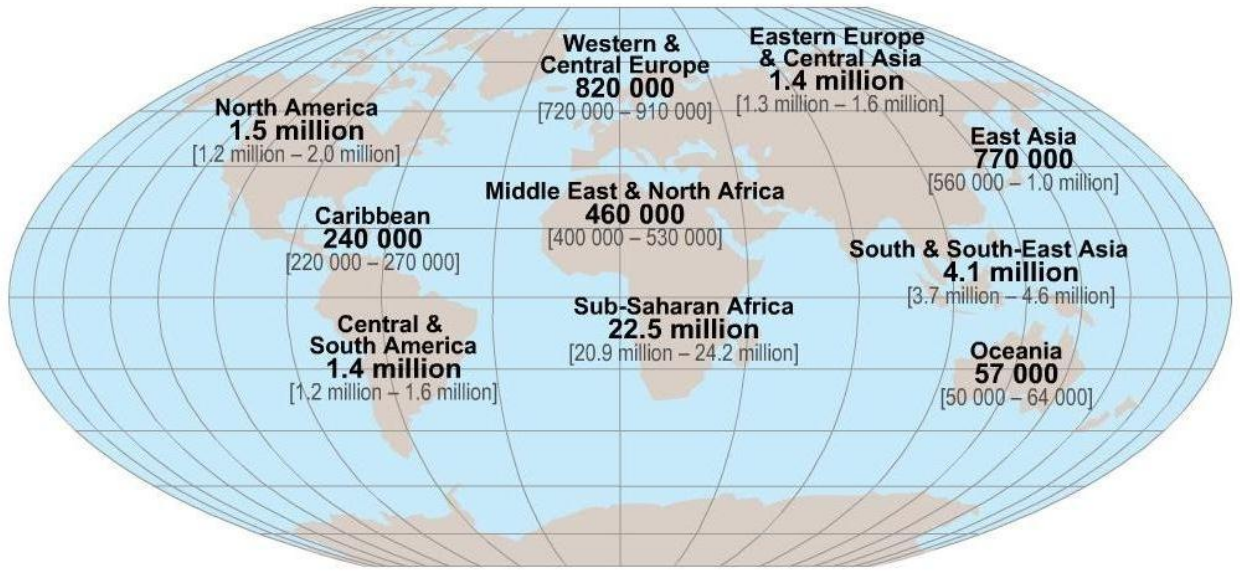
Tomurcuklanma ile serbestlenme aşamasında çeşitli proteinler rol alır. Bunlar arasında Gag'ın p6 kısmında yer alan "late domain" özellikle Vpr'nin sokulmasında olmak üzere belirleyici rol oynar. Vpr'nin bağlanması, başka yabancı proteinlerin yeni oluşan virusa sokulmasında kullanılabilir. (49, 48, 54, 124, 37)

2.6.Epidemiyoloji

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)/UNAIDS Aralık 2010 verilerine göre dünyada 33.3 milyon kişi HIV ile infekte olarak yaşamını sürdürmektedir. 30.8 milyonunu yetişkinler oluştururken, 15.9 milyonu kadın ve 2.5 milyonu 15 yaşından küçük çocuklardır. 2009 yılında infekte olan 2.6 milyon kişinin 2.2 milyonu yetişkin, 370 000'i ise 15 yaşından küçük çocuklardır. Aynı yıl 1.6 milyon yetişkin ve 260 000 15 yaş altı çocuk toplam 1.8 milyon kişi AIDS'ten ölmüştür. 2009 yılında 22.5 milyon HIV ile

infekte kişinin yaşadığı Sub-Sahara Afrika bölgesi birinci sıradadır. 1.8 milyon yeni infekte olgu ve 1.3 milyon AIDS nedeni ile ölüm bildirilmiştir. Sub-Sahara Afrika bölgesini 1.5 milyon infekte kişinin yaşadığı Kuzey Amerika izlemektedir.

HIV İle Enfekte Yetişkin ve Çocukların Sayısının Bölgesel Dağılımı / 2009



Toplam: 33.3 Milyon (31.4 milyon - 35.3 milyon)

Şekil 2-4: 2009 Yılında HIV ile infekte Yetişkin ve Çocuk Sayısının Dağılımı (1).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)/UNAIDS tarafından Aralık 2010 tarihinde açıklanan verilere göre dünyada 2009 yılında hergün 7000'in üzerinde yeni infekte olgu bildirilmiştir. Bu vakaların, %97'si düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşamaktadır ve yaklaşık 1000 'ini 15 yaş altı çocuklar oluştururken, yaklaşık 6000 kişisi 15 yaş ve üstü yetişkinlerdir. 6000 yetişkin içinde yaklaşık %51'i kadındır ve yaklaşık %41'i 15-24 yaş aralığındaki gençlerden oluşmaktadır. Son sekiz yılın verileri incelendiğinde yeni infekte olguların sayısında %17 oranında bir düşüş gözlemlenmiştir. Sub-Sahara Afrika bölgesinde 2001 yılından beri HIV ile infekte kişi sayısında yaklaşık olarak %15

oranında azalma görülürken 2008 yılında da 400.000 daha az yeni infekte olgusu kaydedilmiştir. Aynı zaman diliminde yeni infekte olguların sayısı diğer yıllara oranla Doğu Asya’da %25, Güney ve Güney Doğu Asya’da ise %10 oranında düşüş göstermiştir. Doğu Avrupa ülkelerinde damar içi uyuşturucu madde kullananlar arasındaki hayli yüksek olan yeni olgu bildirimi kayda değer bir azalma göstermiştir. Ancak, bazı ülkelerde ise halen yükselişini korumaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) / UNAIDS 2010 Özet Raporuna göre 2009 yılında %67’lik oran ile Sub-Sahara Afrika dünyada en fazla HIV infekte kişi sayısına sahip bölge olarak bildirilmiştir. 2001 ve 2009 yılları arasında 22 Sub-Sahara Afrika ülkesinde HIV ile infekte kişi oranı %25’ten fazla azalmıştır. Orta ve Güney Amerika bölgesinde HIV ile infekte kişi sayısı en fazla Brezilya’dadır, Orta ve Güney Amerika’da HIV ile infekte çocuk sayısı azalmakta olup, daha da düşme eğilimindedir. Karayipler, Sub-Sahara Afrika gibi bölgelerde HIV ile infekte kişiler arasında kadınların oranının erkeklerden daha fazla olduğu bildirilmiştir. HIV enfeksiyonuna yönelik korunma yöntemleri fayda sağlamakta; HIV epidemisinden en fazla etkilenen birçok ülkede yeni HIV ile infekte kişi sayıları düşmektedir (98).

Davranış değişikliği epideminin seyrinin olumlu yönde değişebileceğini gösterirken, damgalama ve ayrımcılık, hizmetlere erişimi daha kötü hale getirmektedir. Epidemiden en fazla etkilenen 15 ülkedeki gençler arasında HIV bulaşma oranı, gençlerin daha güvenli cinsellik yaşaması ile %25’ten fazla oranda düşme eğiliminde görülmektedir. Düşük ve orta gelirli ülkelerde antiretroviral tedavi ulaşımı 2004 yılında 700.000 kişi iken, 2009 yılında 5.2 milyon kişiye yükselmiştir. Günümüzde 10 milyon insanın halen tedaviye erişimi bulunmamaktadır. Anneden bebeğe HIV bulaşmasını engellemek için tedavi alan HIV ile infekte hamile kadın sayısı 2007 yılında %35 iken 2007 yılında %53’e yükselmiştir. HIV ile infekte kişiler arasında başlıca ölüm sebebi Tüberküloz (TB)’dur (1, 98).

2.6.1.Türkiye’de HIV/AIDS

Türkiye Doğu Avrupa/Orta Asya bölgesi içinde bildirilmektedir. Öncelikle bu bölge ile ilgili istatistiklere bakacak olursak ülkemizin durumunu daha iyi değerlendirebiliriz. 2001 yılından beri HIV ile infekte kişi sayısında üç kat artış gözlemlenmekte olup, 2001 yılında 760 000 olan HIV ile infekte olan kişi sayısı 2009

yılında 1.4 milyona ulaşmıştır. 2001-2009 yılları arasında dünyada HIV infekte olgularının %25 ile en fazla arttığı 7 ülkeden 5'i olan Ermenistan, Gürcistan, Kazakistan, Kırgızistan ve Tacikistan Doğu Avrupa ve Orta Asya Bölgesinde bulunmaktadır. Rusya Federasyonu ve Ukrayna, bildirilen yeni HIV infekte olguların %90'ını oluşturmakta ve Ukrayna, tüm Avrupa ve Orta Asya'da %1.1'lik oran ile en yüksek yetişkin HIV prevalansına sahip bulunmaktadır. HIV bulaşmasında ana yollar; damar içi madde kullanımı, seks işçiliği ve erkekler ile seks yapan erkeklerdir. Bölgede 3.7 milyon damar içi madde kullanıcısının 1/4'ü HIV ile infekte ve epidemi, çoğunlukla cinsel ilişki kurdukları kadın partnerleri ile madde aracılığı ile enjektör paylaşılan erkekler ile yayılmaktadır. Dolayısıyla, HIV ile infekte kadın sayısında artış olmaktadır. HIV/AIDS hastalığına bağlı ölümlerin sayısında bölgesel yüksek artış görülmekte; 2001 yılında 18.000 iken, 2009 yılında 76 000'e ulaşmıştır. Doğal olarak ülkemizin bu bölgeden soyutlanması düşünülemez, Sağlık Bakanlığı verileri incelendiğinde her geçen yıl yeni HIV infekte olguların sayısında artış görülmektedir (98).

Tablo 2-2: Türkiye'de HIV/AIDS Olgularının Yaşa ve Cinsiyete Göre Dağılımı (115).

(Haziran 2010, T.C. Sağlık Bakanlığı)

YAŞ GRUPLARI	ERKEK	KADIN	TOPLAM
0	17	7	24
1-4	10	17	27
5-9	6	10	16
10-12	4	2	6
13-14	2	2	4
15-19	29	40	69
20-24	224	233	457
25-29	392	246	638
30-34	487	198	685
35-39	478	110	588
40-49	603	121	724
50-59	314	106	420
60+	174	43	217
Bilinmeyen	205	97	302
Toplam	2945	1232	4177

Tablo 2-3: Türkiye’de HIV/AIDS Olgularının Yıllara Göre Dağılımı (116).

(Haziran 2010, T.C. Sağlık Bakanlığı)

YILLAR	OLGU	TAŞIYICI	TOPLAM
1985	1	1	2
1986	2	3	5
1987	7	27	34
1988	9	26	35
1989	11	20	31
1990	14	19	33
1991	17	21	38
1992	28	36	64
1993	29	45	74
1994	34	52	86
1995	34	57	91
1996	37	82	119
1997	38	105	143
1998	29	80	109
1999	28	91	119
2000	46	112	158
2001	40	144	184
2002	48	142	190
2003	52	145	197
2004	47	163	210
2005	37	295	332
2006	35	255	290
2007	24	352	376
2008	49	401	450
2009	75	453	528
2010	30	249	279
Toplam	801	3376	4177

Tablo 2-4: Bulaşma Yollarına Göre HIV/AIDS Olgularının Dağılımı (117).

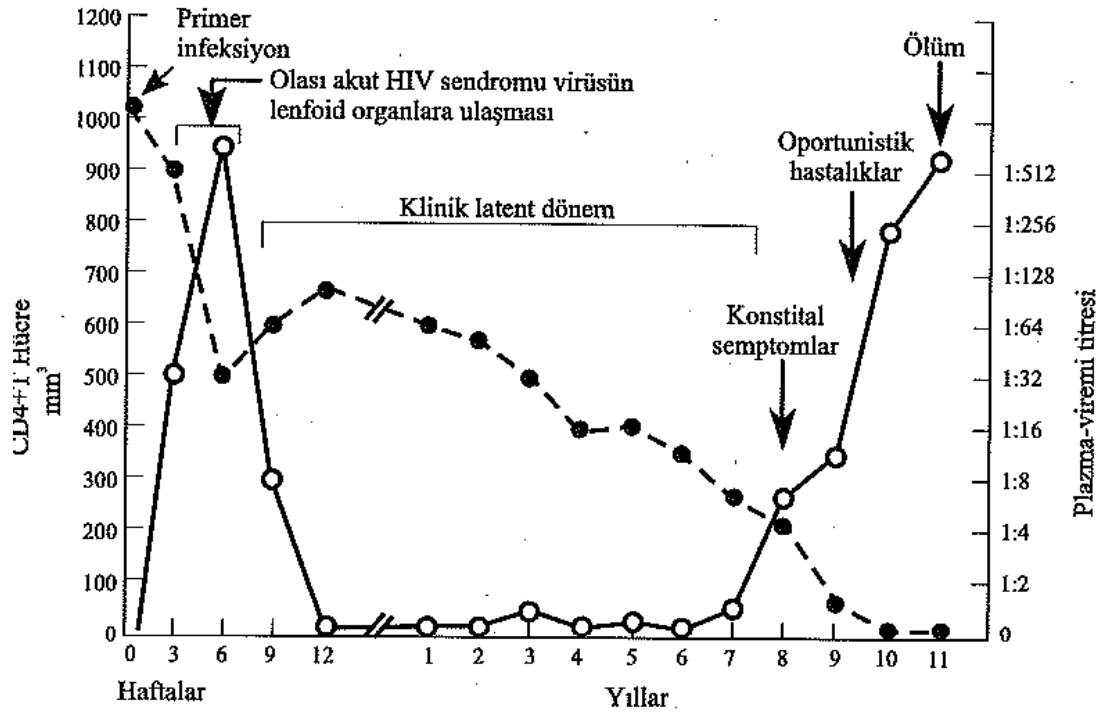
(Haziran 2010, T.C. Sağlık Bakanlığı)

BULAŞMA YOLLARI	TOPLAM
Homo/Biseksüel Cinsel İlişki	363
Damar içi Madde Bağımlılığı	141
Homo/Biseksüel Cinsel i. + Damar içi Madde B.	6
Hemofili Hastalığı	11
Transfüzyon Yapılması	55
Heteroseksüel Cinsel İlişki	2353
Anneden Bebeğe Bulaşma	65
Nozokomial Bulaşma	22
Bilinmeyenler	1161
Toplam	4177

2.7.HIV-1 İnfeksiyonu

HIV enfeksiyonu, insan bağışıklık yetmezliği virusunun (HIV) bulaşmasıyla başlar ve 3 dönem halinde seyreder (23, 5):

- 1) Akut HIV enfeksiyonu
- 2) Klinik Latent Dönem
- 3) AIDS Dönemi ve Ölüm



Şekil 2-5: Tedavi edilmemiş HIV enfeksiyonunun doğal seyri (94).

2.7.1. Virusun Bulaşması ve Risk Grupları

Virus temel olarak 3 yolla bulaşır: Bulaşma olasılığını etkileyen pek çok faktör vardır. Bunların arasında genetik açıdan birbirine yakın varyantların oluşturduğu virus popülasyonu, bulaşma yolu, dozu, kişinin immunogenetik özellikleridir. Virusun bulaşma şekliyle risk grupları arasında yakın bir ilişki vardır. Aşağıda bulaşma şekilleri anlatılırken risk gruplarından da bahsedilmiştir.

1. Cinsel ilişki yoluyla bulaşma

a) Homoseksüel ilişki

b) Heteroseksüel ilişki

Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde başlıca bulaşma şekli (%70-80) vaginal ilişkidir, intravenöz ilaç kullanımı ve perinatal geçiş olguların %5-10'undan sorumludur (3). Gelişmiş ülkelerde HIV/AIDS'in artmasında en önemli etken korunmasız erkek erkeğe cinsel ilişki ile heteroseksüel ilişkidir. Kadınlarda başlıca bulaşma şekli vaginal ilişkidir. Özellikle kişilerin kendilerinde HIV enfeksiyonu olup olmadığını bilmemeleri enfeksiyon sıklığının artışında önemli bir nedendir (99).

Cinsel yolla bulaşmada başlıca risk faktörleri: viral yük, sünnetsiz olma, cinsel ilişki sıklığı, eşlik eden ülseratif cinsel yolla bulaşan hastalık olmasıdır (30, 47, 100). Primer HIV Enfeksiyonu sırasında HIV RNA düzeyi yüksektir ve bu dönemde bulaşma riski fazladır (25). Erkekten kadına ve kadından erkeğe bulaşma olasılığı benzerlik göstermektedir. Uganda’da yapılan bir prospektif çalışmada HIV RNA düzeyi 1500 kopya/ml olan olgularda eşler arasında bulaşma gösterilememiştir (99).

HIV enfeksiyonu ve cinsel yolla bulaşan hastalıklar (sifiliz, genital herpes, klamidy enfeksiyonu, gonore, bakteriyel vaginozis) birbirlerinin bulaşma riskini artırmaktadır, eğer genital bölgede ülser var ise HIV’in bulaşma olasılığı dört kat artmaktadır (125).

Çok sayıda kişi ile korunmasız cinsel ilişki ve erkek erkeğe cinsel ilişki HIV bulaşması için önemli risk faktörleridir. Gerek heteroseksüel eşler ve gerekse homoseksüel eşlerde yapılan çalışmalarda sünnetin HIV geçiş riskini azalttığı gösterilmiştir (100, 8, 16).

Cinsel ilişki ile bulaşma riski hastalığın evresi ile ilişkilidir. Özellikle hastalığın başlangıç ve geç dönemlerinde bulaştırıcılık daha fazladır. Serokonversiyondan sonraki 5 aylık dönemde tek ilişkide geçiş riski %0.082, 6-15 ay arası %0.015, daha sonra %0.007 ve terminal dönemde ise %0.028’dir (127). Enfekte kişilerin ağız salgılarında virüs çok düşük oranda bulunur ve HIV üzerine tükürüğün inhibe edici etkisi vardır (131).

Çocukluk çağında cinsel istismar ile çocuklarda HIV olgularının artışı arasında yakın bir ilişki vardır. Bebekler ve 13 yaşından küçük çocuklarda cinsel yolla bulaşma çok nadir görülen bir yol iken Amerika Birleşik Devletleri’nde tüm AIDS olgularının %1’ini oluşturan adolesanlarda cinsel yolla bulaşma sıktır (38).

2. Kan yoluyla bulaşma

a) Kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu

HIV yönünden test edilmeden kullanılan kan ve kan ürünleri ile virus bulaşabilir. HIV ile enfekte kan transfüzyonu sonucu enfeksiyon gelişme riski %88.3-100’dür (9). ABD’de kanların HIV açısından test edilmeye başlandığı dönemde %0.035 oranında HIV pozitifliği saptanırken, şimdi bu oran %0.005’dir (72). 1985 yılında kanlarda anti-HIV antikorlarının taranmaya başlaması, 1986 yılında HIV-2 ve p24

antijenine karşı antikorlarının da taramaya eklenmesi ile kan transfüzyonu ile HIV bulaşma riski 1/450.000-1/650.000 ünite kana düşmüştür (75,106). Tüm bu yaklaşımlara karşın HIV hala kan transfüzyonu ile geçebilmektedir. Kanın donörden pencere döneminde (HIV ile infekte olguda, serumda HIV antikor çıkana kadar geçen süre, ortalama 22 gün) kan alınması, HIV antikor oluşmayan veya kaybolan kronik taşıyıcılar, serolojik testlerle saptanamayan varyant HIV suşları ile enfeksiyon ve laboratuvar hataları bulaşmada etkili olan faktörlerdir (72).

b) Mukoza, açık yara ve iğne batması yoluyla HIV ile temas

Sağlık çalışanlarında perkütan yaralanmalar veya infekte sıvıların mukozalara teması ile HIV bulaşabilir. Sağlık çalışanlarında iğne ile yaralanma sonucu %0-2.38 oranında HIV serokonversiyonu görülebilir (9). Yaralanmaya neden olan alette görünür kan olması bulaşma riskini artırmaktadır. Sağlık personelinde hastalara HIV geçişi nadirdir, bir diş hekiminden ve bir ortopedistten hastalarına HIV bulaşması bildirilmiştir (19, 80).

c) İntravenöz ilaç kullanıcıları arasında iğne paylaşımı

Damar içi ilaç kullanan olgularda enjektörlerin ortak kullanımı ile HIV bulaşabilir. Her enjeksiyonda risk %0.63 ile %2.4 arasında değişmektedir (9). Damar içi ilaç kullananlarda sosyoekonomik düzeyin düşük olması, evsizlik, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların sıklığı da AIDS'in sık görülmesine yol açmaktadır.

3) Perinatal Bulaşma

Anneden bebeğe HIV geçişi hamilelik sırasında, doğumda ve doğumdan sonra emzirme ile olabilir. Antiretroviral tedavi öncesi anneden bebeğe HIV geçiş riski %13-40 arasında değişmekteydi. Doğum sırasında bebeğin infekte anne kanı ve servikovaginal sekresyonlarla teması HIV enfeksiyonunun gelişmesinde önemlidir. Annede viral yük ne kadar yüksek ise bulaşma riski de o kadar fazladır (40). Randomize kontrollü çalışmaların sonuçlarına göre sezaryen ile doğum yapılması HIV geçişini azaltmaktadır (118, 34, 82). HIV anne sütünde bulunur ve HIV pozitif annelerden emzirme ile çocuklarına %14-29 oranında HIV geçebilir. HIV pozitif anneye antiretroviral (virüsü baskılayan) ilaç başlanması, doğumdan sonra ise bebeğe aynı

ilacın verilmesi ve elektif sezaryen uygulanması ile % 8-10'lara düşürülebilmektedir (32).

2.7.2. Akut HIV İnfeksiyonu (Primer İnfeksiyon)

HIV bulaşması ile virusa özgü antikor cevabının tamamlandığı dönemdir. HIV replikasyonu sonucu yüksek viral yük ve virusa özgü genel bağışıklık cevabıyla ilişkili, geçici bir klinik dönemdir. Olguların %40-90'ında görülür (23, 5, 70). Bulaşmadan hemen sonra virusun aşırı çoğalması sonucu viral yükte artış saptanır. Hastanın bulaştırma riski çok fazladır. Nötralizan antikorlar nadiren saptanır. Akut HIV-1 infeksiyon tanısı erken dönem antikor yokluğunda plazmada HIV-1 RNA saptanmasıdır. Ortalama 3 ay içinde antikorlar kanda belirgin hale gelirken yaklaşık 2. haftadan itibaren belirlenen p 24 ve p 41 antijeni azalarak kaybolmaya başlar. Virus birçok doku rezervuarına yayılır ve barsak lenfoid dokusu başta olmak üzere CD4+'ler yıkılır. Bu durum 6-12. ayda oluşan erken dönem infeksiyon ile takip edilir (87). Virus yükü ayar (setpoint) noktasına gelmeden viremi yavaş yavaş azalmaya başlar. Virus çoğalmasını ve viral ayar noktasının seviyesini viral yük, konağın genetik özellikleri ve bağışıklık cevabı gibi değişik faktörler etkiler. CD4+T hücre sayısı hızla azalır, fonksiyon olarak (antijenlere cevap) bozukluk gösterir ve hatta fırsatçı infeksiyonlar ortaya çıkabilir. Ancak antiretroviral tedavi olmadan nadiren normal sayıya da ulaşabilir. CD4T 'ün tersine CD8T sayısında önce yükselme gözlenmektedir. Değişik HLA sınıf alellerinin, koreseptör mutasyonlarının viral ayar noktası ve hastalığın seyri üzerinde etkisi vardır, daha düşük seviyeye ayarlanır ve hastalık yavaş ilerler.

HIV bulaşmasından sonra birkaç gün ile birkaç hafta sürebilen kuluçka döneminden sonra grip benzeri bir klinik oluşur. Akut infeksiyon 2-8 hafta içinde görülür (51). Belirtiler birkaç gün ile 10 hafta arasında devam eder ve sonra yok olur. Akut dönem klinik bulguları daha uzun sürenlerde serokonversiyon sonrası viral yük daha yüksek seyreder ve hastalık AIDS'e doğru ilerler. En sık görülen belirtiler, ateş, döküntü (makülopapüler-ürtiker-roseola), miyalji, halsizlik, terleme, iştahsızlık, bulantı, kusma, yaygın lenfadenopati, periferik nöropati ve ishaldir. Baş ağrısı, fotofobi ve menenjizm görülebilir. Pneumocystis Jiroveci pnömonisi, kriptokok menenjit ve kandidia özofajiti gibi fırsatçı infeksiyonlar gelişebilir (51, 57, 66, 25).

2.7.3. Klinik Latent Dönem (Aseptomatik Dönem)

Latent dönem 1-15 yıl arasında değişen bir süre devam eder. Kanda viral replikasyon düşük seviyelerde devam ederken virus kontrol altında tutulabilmektedir.

Bu dönemde dolaşımda CD4 T hücreleri virus ile az sayıda infekte iken lenf bezlerinde belirgin virus çoğalması gözlenir. Lenf yumrularında ve diğer lenfoid dokularda dendritik hücreler virionları yakalayıp buradan geçen lenfositlere sunmaktadırlar. CD4+ sayısı ne kadar düşük ise hayatı tehdit eden fırsatçı enfeksiyonlar o kadar sık oluşmaktadır. Ateş, gece terlemeleri, kilo kaybı ve kronik ishal de AIDS'e ilerleyişin göstergesi olabilir. Pneumocystis carinii pnömonisi (PCP) CD4 sayısı 100-200'ün altına indiğinde ya da total lenfosit sayısı %10'un altına düştüğünde oluşmaktadır. Oral kandidiyaz gibi yaşamı tehdit etmeyen enfeksiyonlar yada tüberküloz gibi ölümcül olabilen tablolar, PCP oluşması için geçerli CD4 sayısından daha yüksek değerlerde ortaya çıkabilir (64) .

2.7.4. AIDS Dönemi

AIDS tablosu gelişmeden önce AIDS ile ilişkili kompleks (ARC) gelişir. Bu dönemde belirgin inguinal bölge dışı en az iki bölgede izlenen ve 6 aydan uzun süren lenfadenopatiler, ishal ve bazı enfeksiyonlar (zona, Kandidiyaz, listeria enfeksiyonu, EBV enfeksiyonu) izlenebilir. Sonra AIDS tablosu gelişir. Bu dönemde CD4+ T lenfosit sayısı genelde 400/mikroL altındadır ve ağır immun yetmezliği tablosu vardır. Bu dönem geliştiğinde p 24 antikorunda bir azalma görülür ve p 24 antijeni yeniden ortaya çıkar. Son dönemin ortaya çıkışında bazı enfeksiyonların etkenlerinin ve bazı mitojenlerin bu durumu yaratabilecekleri düşünülmektedir (64).

2.7.5. İkincil Komplikasyonlar (88)

1) Akciğer komplikasyonları

a) Bakteriyel pnömoni

b) Viral enfeksiyonlar

c) Fungal enfeksiyonlar

d) Tüberküloz

e) Tüberküloz dışı mikobakteri enfeksiyonları

2) Gastrointestinal Sistem Komplikasyonları

a) Oral lezyonlar (kandidiyaz, tüylü hücreli lökoplaki, kaposi sarkomu, non-Hodgkin lenfoma, HSV, CMV, dental enfeksiyonlar)

- b)** Homoseksüel kolon sendromu (HSV, gonore, T. Pallidum, C. trochomatis, şigelloz)
- c)** Özafagial sendromlar (CMV, kandidiyaz, aftöz ülserler)
- d)** Enterik infeksiyon (akut diyareler, kriptosporidyo, mikrosporidya, CMV, M. avium)
- e)** Beslenme sorunları (vücut ağırlığının %10 ve daha fazlasının yitilmesi durumunda ‘tükeniş’ , anoreksi, oral ve özefagial sendromlar, metabolizma değişiklikleri, enteropatiye bağlı malabsorbsiyon, laktik asidoz).

Tablo 2-5: Yetişkin ve Pediatrik HIV/AIDS İnfeksiyonunda Benzerlikler ve Farklılıklar

PEDİATRİK HIV/AIDS	YETİŞKİN HIV/AIDS
Benzerlikler	Farklılıklar
Retrovirus	Bulaşma Yolu
Virusun Yaşam Döngüsü	Tanı
Hedef Hücreler	Hastalık Seyir Hızı
Tedavide Kullanılan İlaçlar	Klinik Bulgular
Zorluklar	Tedavi
	İzlem
	Bakıcı Sorunu

2.8. Tanı

a) Yetişkinlerde Laboratuvar Tanısı

HIV infeksiyonunun laboratuvar tanısında kullanılan testleri 4 grupta toplayabiliriz:

1) HIV’e karşı özgül antikorların gösterilmesi (indirekt tanı)

HIV infeksiyonunun rutin tanısında kullanılmaktadır.

a) Tarama (ilk aşama) Testleri

b) Destekleyici (doğrulama) Testleri

Doğrulama testlerinin arasında Western Blot (WB), Immunofloresan assay (IFA) ve Radioimmünopresipitasyon (RIPA) yer alır. En sık kullanılanı WB’dir. Gerek ELISA gerekse PCR ile negatif kişilerin %20-%30’unda kuşkulu Western Blot sonucu elde edilmiştir (95, 105, 97, 71).

2) HIV antijeninin tayini

Kişinin HIV açısından riskli davranışı varsa, serumda antikor saptanamadı ise, asemptomatik kişilerde, kuşkulu WB sonucu alınanlarda ve santral sinir sistemi tutulumu, BOS'ta antijen tayini ile saptanabilir (129, 103, 17, 1).

3) Hücre kültüründe virus izolasyonu

Zor, zaman alıcı ve donanımlı laboratuvarlarda uygulanabilen bir yöntemdir. Semptomlu kişilerde duyarlılığı %100 iken semptomsuzlarda %97'e düşmektedir (95, 105).

4) HIV'in nükleik asidinin gösterilmesi

Primer HIV enfeksiyonu şüphesinde kalitatif olarak yada HIV viral yük tayininde HIV RNA'sının plazmadaki yoğunluğunun belirlenmesinde kantitatif olarak yararlanılır. Bu testler antiretroviral tedaviyi yönlendirmektedir (55).

b) Yenidoğan, Çocuk ve Adolesanlarda Laboratuvar Tanısı

HIV ile infekte çocuklarda 1 aylıktan itibaren başlayarak virolojik çalışmalarla tanı konabilmektedir. Anneden transplasental yolla antikor geçişi nedeniyle, antikor testleri HIV enfeksiyonu tanısında kullanılamamaktadır. Bu nedenle 15 aydan küçük çocuklarda HIV tanısı için mutlaka virolojik tanı gerekmektedir (56).

2.8.1. HIV DNA PCR

Hastanın periferik kanında mononükleer hücrelerine integre olmuş proviral HIV DNA'sındaki spesifik viral HIV sekansını gösteren duyarlı bir yöntemdir. İki günden küçük HIV ile infekte çocuklarda tek bir pozitif HIV DNA PCR testinin duyarlılığı %38 iken, ilk bir hafta içinde duyarlılıkta herhangi bir artış olmadığı, 14. günde %93 duyarlı olduğu, 28. günde HIV DNA PCR'ın periferik mononükleer hücrelerde HIV proviral DNA'sını belirlemede %96 duyarlı ve %99 özgül olduğu gösterilmiştir (31).

2.8.2. HIV RNA PCR

HIV RNA PCR çalışmaları plazmada ekstrasellüler viral RNA'yı belirler ve HIV'e maruz kalmış çocuklarda erken tanı için HIV DNA PCR kadar duyarlı bir yöntemdir. Hayatın ilk haftası içinde duyarlılığın %25-40, 2-3. Aylarda %90-100'e kadar yükseldiği rapor edilmektedir (24, 76). Başlangıç HIV DNA PCR sonucu pozitif

olan çocuklarda bu sonucu konfirme etmek için de HIV RNA kullanılabilir. Bu şekilde HIV İnfeksiyonunu onaylaması yanısıra, tedavi kararını belirlemede de HIV RNA sonucu önem taşımaktadır. HIV RNA PCR, subtip B olmayan HIV’i tespit etmede daha duyarlı bir yöntemdir. Bununla birlikte HIV DNA PCR testi yüksek etkinlikte antiretroviral tedavi (HAART, highly active antiretroviral treatment) tedavisi alanlarda pozitif kalmaya devam ederken, antenatal dönemde annenin kullandığı kombinasyon antiviral tedavi veya bebeğin kullandığı antiretroviral profilaksi ile HIV RNA PCR’nin duyarlılığının etkilenip etkilenmediği bilinmemektedir.

2.8.3. HIV Viral Kültürü

HIV enfeksiyonunun tanısında HIV kültürünün duyarlılığı yüksektir ve altın standard olarak kabul edilir. Buna karşılık 7 günden daha küçük infekte bebeklerin %50’sinde virus yükü çok düşük olduğundan negatif olabilir (13). Daha pahalı olması ve 2-4 haftadan daha önce sonuç vermemesi kullanımını kısıtlamaktadır.

2.8.4. Antikor Testleri

Bu testler kişinin HIV’e karşı oluşturduğu özgül anti-HIV antikorunu ölçmesi esasına dayanır. Bu nedenle 15 aydan küçük bebeklerde yapıldığı zaman anneden transplasental geçen anti-HIV antikorlar ile bebeğin kendi oluşturduğu antikorları ayırt edemez. En sık kullanılan antikor belirleme yöntemi Enzyme Immünoassay’dır (EIA). EIA yöntemiyle pozitif saptanan hastalarda tanıyı doğrulamak için sıklıkla Western Blot yöntemi kullanılmaktadır. Western Blot yönteminde HIV proteinleri poliakrilamid jel elektroforez yöntemi ile moleküler ağırlıklarına ayrıldıktan sonra nitrosetüloz şeritlere aktarılır ve hastanın serumu ile muamele edilir. Eğer hastanın serumunda anti-HIV antikorları mevcut ise özgül bölgelerde bant şeklinde bağlanmalar gerçekleşir. Western Blot testi genel olarak EIA’ya göre daha özgül olmakla birlikte duyarlılığı daha düşüktür ve teknik olarak daha zordur. Buna karşılık EIA’nın Western Blot tekniği ile birlikte kullanılması yüksek oranda duyarlılık ve özgüllük sağlamaktadır. Hızlı antikor tayini esasına dayanan testler ancak hastanın HIV durumunun hızlı öğrenilmesi gerektiği durumlarda kullanılmalıdır (örn: prenatal tanı ve takibi olmayan gebe bir kadında vertikal bulaşmayı önlemek için prenatal profilaksi verebilmek için) (89).

2.8.5. Antijen Tayini

HIV antijen tayini ucuz ve hızlı olmakla birlikte duyarlılığı düşüktür. En sık kullanılan antijen, viral kapsidde yer alan yapısal bir protein komponent olan p24'tür. HIV replike olurken hücrelerden ekstrasellüler ortama p24 salgılanır. Standart tanı yöntemi anti-p24 antikorunu kullanıldığı EIA yöntemidir. Eğer serumda serbest p24 antijeni mevcut ise antikora bağlanma gerçekleşir. Buna karşılık özellikle transplasental yolla HIV'e maruz kalmış pek çok çocukta p24'e karşı yeterli antikor varlığında antijen-antikor kompleksi gelişmiş olabileceğinden, EIA yöntemiyle tespit edilebilecek serbest p24 sınırlı olacaktır ve testin kullanımını kısıtlayacaktır. Serumda var olabilecek p24 içeren immün kompleksleri parçalayan bir teknik olan immün kompleks-ayrıştırılmış p24 (immune complex-dissociated p24-ICD-p24) yöntemiyle 6 hafta-13 yaş arası çocuklarda duyarlılık %81'dir (89).

2.9. Tedavi

Günümüzde AIDS tedavisinin amaçları:

- 1)**Klinik Başarı:**Yaşam süresinin uzatılması ve yaşam kalitesinin artırılması,
- 2)**Virolojik Başarı:**Viral yükün kanda saptanamayacak seviyeye düşürülmesi (20-50 kopya/ml),
- 3)**İmmünolojik Başarı:** CD4 T hücre sayısının normale gelmesi,
- 4)**Terapötik Başarı:**Yan etki ve ilaç toksisitesinin minumuma indirilmesi, hasta uyumunun sağlanması,
- 5)**Epidemiyolojik Hedef:**HIV bulaşma hızının azaltılmasıdır.

Avrupa ve ABD'de HIV enfeksiyonunun tedavisinde 2011 yılı itibariyle 6 ayrı antiretroviral sınıf adı altında sayıları 26'yı bulan FDA'ın onayını almış antiretroviraller kullanılmaktadır (Tablo 2-6) - (Tablo 2-12) (37).

Tablo 2-6: Multi-class Kombine Antiretroviraller

Marka Adı	Jenerik Adı	Üretici Firma	Onay Tarihi	Onay Süresi
Atripla	Efavirenz, Emtricitabine and Tenofovir Disoproxil Fumarate	Bristol-Myers Squibb and Gilead Sciences	12-07-06	2.5 ay

Tablo 2-7: Nükleosid Reverz Transkriptaz İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller (NRTIs).

Marka Adı	Jenerik Adı	Üretici Firma	Onay Tarihi	Onay Süresi
Combivir	Lamivudine and Zidovudine	GlaxoSmithKline	27-09-97	3.9 Ay
Emtriva	Emtricitabine, FTC	Gilead Sciences	02-07-03	10 Ay
Epivir	Lamivudine, 3TC	GlaxoSmithKline	17-11-95	4.4 Ay
Epzicom	Abacavir and Lamivudine	GlaxoSmithKline	02-08-04	10 Ay
Hivid	Zalcitabine, Dideoxycytidine, DDC (satışı yok)	Hoffmann-La Roche	19-06-92	7.6 Ay
Retrovir	Zidovudine, Azidothymidine, AZT, ZDV	GlaxoSmithKline	19-03-87	3.5 Ay
Trizivir	Abacavir, Zidovudine, and Lamivudine	GlaxoSmithKline	14-11-00	10.9 Ay
Truvada	Tenofovir Disoproxil Fumarate and Emtricitabine	Gilead Sciences, Inc.	02-08-04	5 Ay
Videx EC	Enteric Coated Didanosine, DDI EC	Bristol Myers-Squibb	31-10-00	9 Ay
Videx	Didanosine, Dideoxyinosine, DDI	Bristol Myers-Squibb	9-10-91	6 Ay
Viread	Tenofovir Disoproxil Fumarate, TDF	Gilead	26-10-01	5.9 Ay
Zerit	stavudine, d4T	Bristol Myers-Squibb	24-06-94	5.9 Ay
Ziagen	abacavir sulfate, ABC	GlaxoSmithKline	17-12-98	5.8 Ay

Tablo 2-8: Non-Nükleosid Reverz Transkriptaz İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller (NNRTIs)

Marka Adı	Jenerik Adı	Üretici Firma	Onay Tarihi	Onay Süresi
Edurant	Rilpivirine	Tibotec Therapeutics	20-05-11	10 Ay
Intelence	Etravirine	Tibotec Therapeutics	18-01-08	6 Ay
Rescriptor	Delavirdine, DLV	Pfizer	4-04-97	8.7 Ay
Sustiva	Efavirenz, EFV	Bristol Myers-Squibb	17-09-98	3.2 Ay
Viramune (Immediate Release)	Nevirapine, NVP	Boehringer Ingelheim	21-06-96	3.9 Ay
Viramune XR (Extended Release)	Nevirapine, NVP	Boehringer Ingelheim	25-03-11	9.9 Ay

Tablo 2-9: Proteaz İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller (PIs)

Marka Adı	Jenerik Adı	Üretici Firma	Onay Tarihi	Onay Süresi
Agenerase	Amprenavir, APV	GlaxoSmithKline	15-04-99	6 Ay
Aptivus	Tipranavir, TPV	Boehringer Ingelheim	22-06-05	6 Ay
Crixivan	Indinavir, IDV,	Merck	13-03-96	1.4 Ay
Fortovase	Saquinavir (no longer marketed)	Hoffmann-La Roche	7-11-97	5.9 Ay
Invirase	Saquinavir mesylate, SQV	Hoffmann-La Roche	6-12-95	3.2 Ay
Kaletra	Lopinavir and Ritonavir, LPV/RTV	Abbott Laboratories	15-09-00	3.5 Ay
Lexiva	Fosamprenavir Calcium, FOS-APV	GlaxoSmithKline	20-10-03	10 Ay
Norvir	Ritonavir, RTV	Abbott Laboratories	1-03-96	2.3 Ay
Prezista	Darunavir	Tibotec, Inc.	23-06-06	6 Ay
Reyataz	Atazanavir Sulfate, ATV	Bristol-Myers Squibb	20-06-03	6 Ay
Viracept	Nelfinavir Mesylate, NFV	Agouron Pharmaceuticals	14-03-97	2.6 Ay

Tablo 2-10: Füzyon İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller

Marka Adı	Jenerik Adı	Üretici Firma	Onay Tarihi	Onay Süresi
Fuzeon	Enfuvirtide, T-20	Hoffmann-La Roche & Trimeris	13-03-03	6 Ay

Tablo 2-11: Giriş İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller (CCR5 ko-reseptör antagonisti)

Marka Adı	Jenerik Adı	Üretici Firma	Onay Tarihi	Onay Süresi
Selzentry	Maraviroc	Pfizer	06-08-07	8 Ay

Tablo 2-12: İntegraz Strand Transfer İnhibitörleri Sınıfı Antiretroviraller

Marka Adı	Jenerik Adı	Üretici Firma	Onay Tarihi	Onay Süresi
Isentress	Raltegravir	Merck & Co., Inc.	12--10-07	6 Ay

Antiretroviral ilaçlara dirençli HIV ile infekte olmayan HIV/AIDS hastası 2 NRTI ve 1 NNRTI yada düşük doz Ritonavir ile güçlendirilmiş PI içeren kombinasyonlar ile tedavi edilmelidir. Bu ilaç kombinasyonları günümüzde ilaçlara dirençli olmayan HIV/AIDS hastasında kullanıldığında ve hasta bu ilaçları doz atlamaksızın her gün almak koşulu ile HIV replikasyonunu 7 seneden fazla bir süre kontrol etmek mümkündür.

Standart HAART Rejimi: NRTI + NRTI + NNRTI, NtRTI + NRTI, NtRTI + NNRTI, NRTI + NRTI + PI veya NRTI + NRTI + PI + PI (71).

NRTI ve NNRTI'lerden farklı olarak PI'lar ile yüksek dozlarda daha etkili sonuçlar alınmaktadır (71).

2.10. Pediatrik HIV-1 İnfeksiyonu ve AIDS

İlk olarak 1982 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde tanımlanan pediatrik HIV infeksiyonu HIV pozitif doğurganlık yaşındaki kadınların sayısının artmasıyla

özellikle Afrika, Sub-Sahara bölgesi başta olmak üzere tüm dünyada alarm verici boyutlara ulaşmıştır (28).

Virus bulaşması çocuklarda çoğunlukla infekte anneden yenidoğan bebeğine vertikal olarak veya infekte kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu ile, adolesanlarda cinsel temas yoluyla gerçekleşir. Perinatal bulaşma küçük çocuklarda en sık görülen bulaşma şeklidir (28).

Vertikal yolla HIV ile infekte çocuklarda diğer yollarla infekte olanlara göre klinikte daha kısa bir latent dönem ve hastalıkta daha hızlı ilerleme görüldüğünden özellikle vertikal bulaşmanın azaltılabilmesi için alınacak önlemler önem taşımaktadır. Perinatal HIV enfeksiyonunu önlemede, fetus veya bebeğe bulaşmanın gerçekleşebileceği üç aşamada da (inutero, intrapartum ve postnatal anne sütü ile) önlemler alınmalıdır. Bunlar annenin virus yükünün kombine antiretroviral tedavilerle gebelik sırasında maksimum oranda baskılanması, sezaryen doğum ve anne sütü verilmemesidir.

Cinsel olarak aktif veya intravenöz madde kullanımı olan adolesanlar HIV açısından risk taşımaktadır ve bu açıdan tüm adolesanlar ve ailelerine HIV enfeksiyonu, bulaşmayı önleme ve korunma yöntemleri ve AIDS konusunda bilgi verilmelidir. Çocuklara uygun antiretroviral tedavi kullanımından önce sadece profilaktif yaklaşımlar, HIV'den korunma ve HIV'e bağlı komplikasyonların tedavisi ile uğraşılmaktayken, 1990'lı yılların başında monoterapinin uygulanması ile belirgin klinik ve immünolojik iyileşmeler gözlenmiştir. HIV ile infekte çocuklarda antiretroviral tedavinin amaçları HIV ile ilişkili mortalite ve morbiditeyi azaltmak, viral replikasyonu maksimum oranda azaltarak çocuğun bağışıklık sistemi işlevlerini korumak, normal fiziksel büyüme ve nörokognitif gelişimi sağlayarak hayat kalitesini artırmaktır (28).

Anneye veya bebeğe verilen pasif özgün HIV antikor preparatları ve HIV aşı uygulamaları konusunda araştırmalar mevcuttur. HIV aşıları özellikle yenidoğanlar, anne sütü almaya devam eden bebekler ve cinsel olarak henüz aktif hale gelmemiş ergenlik öncesi çocuklarda önem taşımaktadır (28).

2.10.1. HIV Enfeksiyonu Patogenezi

Çocuklarda HIV-1 enfeksiyon patogenezinde viral replikasyonun rolünün ortaya çıkmasıyla birlikte güçlü antiretroviral tedaviler konusunda yeni stratejiler de geliştirilmeye başlanmıştır. HIV enfeksiyonunda immün defektlerin temelinde yer alan pek çok mekanizma tam olarak anlaşılmamış olsa da pek çoğunun HIV-1 enfeksiyonu sırasında makrofajların, T ve B lenfositlerinin yaygın aktivasyonu sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (28).

HIV'in genetik çeşitliliği viral patogenezinde de farklı biyolojik özellikleri ortaya koymaktadır. Bu durumda HIV'i 3 grupta ele alabiliriz: Düşük replikasyon kapasitesi olan nonsinsiyum-oluşturan (NSI) varyantları, yüksek replikasyon kapasiteli nonsinsiyum-oluşturan (NSI) varyantları ve enfeksiyon esnasında gp120 yüzey proteinlerinde değişiklik olan NSI'lerden evrimleşerek oluşan sinsiyum oluşturan (SI) varyantları. SI varyantları enfekte ettikleri hücreye girerken CCR5 kemokin reseptörlerini kullanırken NSI türleri CXCR4 reseptörlerini kullanır. Hastaların yarısı SI varyantları ile %30 - 60% 'i ise NSI varyantları ile enfektir. SI ile enfekte hastalarda daha düşük CD4+ hücreleri, daha yüksek HIV-1 RNA plazma seviyesi ve semptomatik HIV enfeksiyonu ile karakterize daha hızlı ilerleyen bir hastalık seyri vardır (71).

HIV'in zarf proteinlerinde yer alan V3 loop'unda yer alan amino acid dizilerindeki değişiklikler farklı subtipleri ortaya çıkarırken virusun biyolojik özelliklerini de değiştirmekte, dolayısıyla hastalık ve antiretrovirallere karşı cevap gelişimi farklı olmaktadır (71).

Tablo 2-13: HIV enfeksiyonunun immünopatolojik sonuçları (28).

	Laboratuvar bulgular	Klinik bulgular
T-lenfositler	Lenfopeni	Gecikmiş tip aşırıduyarlık reaksiyonunda bozulma
	CD4+ T lenfositlerinin selektif eksikliği	Fırsatçı enfeksiyonlar
	Mitojen-antijen cevabında bozulma	Kronik aktif viral enfeksiyonlar (varisella-zoster, CMV,EBV)
	Alloantijen reaktivitesinde bozulma	
	Sitokin (IL-2, IFN-γ,vb.) üretiminde bozulma	
	T lenfosit sitotoksitesinde bozulma	
B-lenfositler	Dolaşan immün kompleks varlığı	Antikor cevabında bozulma
	Spontan immünoglobulin salgılayan dolaşımdaki	Hipergamaglobulinemi
	B lenfositlerinde artış	
Mononükleer	Dalak fonksiyonlarında bozulma	Gecikmiş tip aşırı duyarlık reaksiyonunda bozulma
fagositler	Tümör nekroz faktör düzeylerinde artış	Fırsatçı enfeksiyonlar (<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ve <i>avium complex</i> enfeksiyonları)
		Granülom olusumunda bozulma
NK hücreler	Büyük granüler lenfositlerin sitotoksitesinde bozulma	Kronik herpesvirüs enfeksiyonları, Neoplaziler
Nötrofiller	Nötropeni	Kandidiyazis
	Kemotaksiste bozulma	

HIV-1 enfeksiyonu sırasında CD4T lenfositlerinin direkt enfeksiyonu, CD4T lenfositlerinin azalmasının en önemli sebebidir (Tablo 2-13). Bununla birlikte kemik iliği öncü hücrelerinin azalmış üretimi, timik disfonksiyon ve immün mekanizmalarla CD4T lenfositlerinin immün yolla yıkımı da hücrelerin azalmasına katkıda bulunmaktadır. CD4T lenfositlerinin sayısı yanında fonksiyonlarında da bozulmaların olması antikor oluşumu ve antiviral CD8T lenfosit cevabı dahil olmak üzere pek çok immün efektör mekanizmanın da bozulmasına sebep olabilmektedir.

2.10.2. Sınıflandırma

CDC, 1994 yılında HIV ile karşılaşmış ancak enfeksiyon durumu henüz belirlenmemiş ve HIV ile enfekte çocukların hem klinik hem de immunolojik durumlarını içine alan bir sınıflandırma önermiştir (Tablo 2-14 ve Tablo 2-15). Bu sınıflandırmaya göre hastanın durumu belirlendikten sonra tedaviye ve diğer sebeplere bağlı olarak klinik ve immunolojik durumu düzelse bile daha az ciddi bir klinik

kategoriye dahil edilemez. HIV'e vertikal olarak maruz kalmış ve infeksiyon durumu belirsiz olan hastaların kategorilerine 'E' harfi ilave edilir. (17)

Tablo 2-14: Yaşa göre CD4+ lenfosit sayı ve oranlarına göre immün sınıflama (17)

	< 12 ay		1-5 yaş		6-12 yaş	
İmmün durum	No/ mm ³	%	No/ mm ³	%	No/ mm ³	%
Kategori 1: Supresyon yok	≥ 1500	≥ 25	≥ 1000	≥ 25	≥ 500	
Kategori 2:Orta derecede supp.	750-1499	15-24	500-999	15-24	200-499	15-24
Kategori 3:Ciddi supresyon	< 750	< 15	< 500	< 15	< 200	< 15

Tablo 2-15: İmmünolojik kategoriye göre sınıflama (17)

Kategoriler				
İmmünolojik kategori	N Belirti ve bulgu yok	A Hafif belirti ve bulgu	B Orta belirti ve bulgu	C Ciddi belirti ve bulgu
Kategori 1: Supresyon yok	N1	A1	B1	C1
Kategori 2:Orta derecede supp.	N2	A2	B2	C2
Kategori 3:Ciddi supresyon	N3	A3	B3	C3

'Centers for Disease Control and Prevention' kuruluşu tarafından ilk olarak 1981 yılında oluşturulan 13 yaşından küçük HIV pozitif pediatrik hastaların sınıflandırmasına ilişkin bilgilerin 1994 yılında gözden geçirilmiş şekli şu şekildedir (17):

Kategori N: semptomatik değil

HIV infeksiyonunun sonucu olabilecek herhangi bir semptomu olmayan veya kategori A'daki bulgulardan sadece bir tanesi olan çocuklar.

Kategori A: hafif semptomatik

Aşağıdaki durumlardan 2 veya daha fazla bulgusu olan ancak kategori B veya C'den herhangi bir bulgusu olmayan çocuklar:

-Lenfadenopati (2 veya daha fazla bölgede en az 0.5 cm; bilateral: 1 bölge)

-Hepatomegali

- Splenomegali

- Dermatit

- Parotit

- Tekrarlayan veya sebat eden üst solunum yolu infeksiyonu, sinüzit veya otitis media

Kategori B: orta derecede semptomatik

HIV infeksiyonuna bağlı kategori A ve C dışında semptomatik bulguları olan çocukları içerir. Kategori B'ye dahil olan fakat bu bulgularla sınırlı olmayan durumlar:

- 30 günden uzun süren anemi ($< 8 \text{ gm/dL}$), nötropeni ($< 1000 \text{ hücre/mm}^3$) veya trombositopeni

($<100.000/\text{mm}^3$)

- Bakteriyel menenjit, pnömoni veya sepsis (tek atak)

- 6 aydan daha büyük çocuklarda 2 aydan daha uzun süren orofarenks kandidiyazisi,

- Kardiyomyopati

- 1 aylıktan önce ortaya çıkan CMV infeksiyonu

- İshal (tekrarlayan veya kronik)

- Hepatit

- Herpes simplex virus (HSV) stomatiti (1 yılda 2'den fazla tekrar etmesi)

- 2 defadan fazla tekrarlayan veya birden fazla dermatomu tutan Herpes zoster infeksiyonu

- Leiyomiyosarkom

- Lenfositik interstisyel pnömoni veya pulmoner lenfoid hiperplazi

- Nefropati

- Nokardiyozis

- 1 aydan uzun süren ateş

- 1 aylıktan önce ortaya çıkan toksoplazmozis

- Yaygın varisella

Kategori C: ciddi derecede semptomatik

2 yıllık süre içinde en az 2 kez kültürle ispatlanmış ciddi bakteriyel enfeksiyon (septisemi, pnömoni, menenjit, kemik-eklem enfeksiyonu, iç organlarda veya vücut boşluğunda apse varlığı) olması. Otitis media, yüzeysel cilt ve mukozal apseler ve kateter kaynaklı enfeksiyonlar hariç tutulur.

- Özofageal veya pulmoner (bronş, trakea veya akciğer) kandidiyazisi

- Yaygın koksidioidomikozis

- Akciğer dışı kriptokokozis

- 1 aydan uzun süren ishalle birlikte cryptosporidiosis, isosporiasis

-1. aydan sonra başlayan (karaciğer, dalak, lenf nodu hariç) sitomegalovirüs hastalığı

-Ensefalopati (2 aydan uzun süren ve HIV enfeksiyonu dışında açıklayabilecek bir neden olmaması):

-Gelişimsel basamakların ve entellektüel yeteneğin kaybı

-Beyin gelişiminde bozulma veya baş çevresi ölçümlerinde mikrosefali saptanması, veya bilgisayarlı tomografi/Manyetik rezonans görüntülemeye beyin atrofisi saptanması (2 yaş altında olan çocuklarda seri görüntüleme önerilir).

-İki veya daha fazla bulgu ile saptanan edinsel simetrik motor kayıp: parezi, patolojik refleks, ataksi veya denge bozukluğu

- 1 aydan uzun süren HSV ile oluşan mukokütanöz ülser; veya 1 aydan büyük çocuklarda ortaya çıkan süresiz bronşit, pnömoni veya özofajit öyküsü

- Yaygın histoplazmozis (akciğer, servikal veya hiler lenf nodu haricinde veya bu bölgelerin tutulumuna ilave olarak)

- Kaposi sarkomu

- Primer lenfoma (beyinde)

- Küçük hücreli lenfoma (Burkitt) veya immünoblastik veya büyük hücreli lenfoma
 - Yaygın veya akciğer dışı tuberküloz
 - Yaygın Mycobacterium avium kompleksi veya
 - Mycobacterium kansasii infeksiyonu
 - Pneumocystis carinii pnömonisi
 - İlerleyici multifokal lökoensefalopati
 - Tekrarlayan tifo-dışı salmonella septisemisi
 - 1 aydan büyük çocuklarda ortaya çıkan beyinde toksoplazma infeksiyonu
 - HIV infeksiyonu dışında şu bulguları açıklayabilecek tüketim sendromu bulguları yapan başka bir hastalık saptanamaması:
- 1) Bazale göre %10'dan fazla tartı kaybı veya
 - 2) Bir yaşından büyük çocuklarda yaşa göre tartı eğrilerinde 2 persantil eğrisinden fazla düşme saptanması veya
 - 3) 30 günden daha fazla olan aralıklarla yapılan ölçümlerde boya göre tartı eğrisinde hastanın 5. persantil altında olması ve
- a) kronik ishal (en az 30 gün boyunca günde 2 defa gevsek dışkılama) veya
 - b) en az 30 gün boyunca sürekli veya aralıklı ateş

2.10.4. HIV İnfeksiyonu Açısından Riskli Çocuğa Yaklaşım

Tanı aşamasındaki en önemli basamak bebeğin HIV İnfeksiyonu açısından riskini belirlemek için annenin gebelik sırasında yaptıracığı serolojik testlerdir. Risk altındaki bebeklere doğum sonrası mümkün olduğu kadar erken dönemde HIV DNA PCR veya kültür yapılmalıdır. Daha hızlı sonuç vermesi açısından DNA PCR tercih edilmelidir. Bu dönemde tanı için kord kanı kullanılmamalıdır. Hayatın ilk 7 gününde tespit edilen pozitif PCR sonucu bebeğin inutero infekte olduğunu ve viral yükün yoğun olduğunu gösterdiğinden kötü prognozu gösterir ve daha agresif antiretroviral

tedavi gerektirir. 4-6 aylık takip süresince, birisi 4. aydan sonra olmak üzere, 3 adet negatif PCR veya kültür sonucu çocuğun infekte olmadığını gösterir (124).

15 aydan daha büyük çocuklarda ilk aşamada gerekli olan tek test antikor testidir (EIA/Western Blot). Eğer hastanın HIV ile uyumlu klinik bulguları var ve EIA sonucu negatifse, hipogammaglobulinemiye ekarte etmek için serum immünoglobulin düzeylerinin tayini şarttır. HIV nedeniyle ciddi oranda etkilenmiş bazı hastalarda EIA pozitif ve Western Blot negatif saptanabilir. Bu durumda PCR veya kültür yapılmalıdır (124).

2.10.5. Tedavi

Çocuk HIV enfeksiyonunda tedavi son 20 yıl içerisinde gelişme göstermiştir. Çocuklara uygun antiretroviral tedavi kullanımından önce sadece profilaktik yaklaşımlar, HIV'den korunma ve HIV'e bağlı komplikasyonların tedavisi ile uğraşılmaktayken, 1990'lı yılların başında monoterapinin uygulanması ile belirgin klinik ve immünolojik iyileşmeler gözlenmiştir. Amerika Birleşik Devletleri ve İngiltere'de en az 3 antiretroviral ilacın birarada kullanılmasıyla, (HAART) 1994 ve 2001-2002 yılları arasında HIV'e bağlı mortalitenin %81 oranda düştüğü gösterilmiştir (42, 85). Antiretroviral tedavi başlanmasında veya tedavi değişikliği öncesi dikkate alınması gereken birtakım faktörler bulunmaktadır:

- Yaş, HIV'e bağlı veya AIDS tanımlayıcı durumların varlığı, CD4 hücre düzeyleri ve viral yük ile belirlenen hastalık riski,
- Çocuğun kendi yaş grubuna uygun ilaçları temin edebilme durumu.
- Antiretroviral tedavinin kısa ve uzun dönem yan etkileri,
- İlaç seçimini etkileyebilecek diğer bir hastalık varlığı,
- Antiretroviral ilaçlarla etkileşebilecek diğer ilaçların kullanılması,
- Çocukla ilgilenen kişinin ilaç tedavisine göstereceği uyum.

HIV tedaviye başlandığı zaman ömür boyu tedavi gerektiren kronik bir enfeksiyondur. HIV ile infekte çocuklarda antiretroviral tedavinin amaçları HIV ile ilişkili mortalite ve morbiditeyi azaltmak, viral replikasyonu maksimum oranda

azaltarak çocuğun bağışıklık sistemi işlevlerini korumak, normal fiziksel büyüme ve nörokognitif gelişimi sağlayarak hayat kalitesini artırmaktır.

Çocuklarda antiretroviral tedavi başlama kriterleri erişkinlere göre çok daha kesin kurallara bağlanmıştır, çünkü HIV'in çocukta ilerlemesi çok daha hızlıdır ve özellikle küçük bebeklerde laboratuvar bulguları erişkinlere göre çok daha az yol göstericidir. Tedavi başlama önerileri 4 ayrı yaş grubuna göre düzenlenmiştir (Tablo 2-5). Hastalığın ilerleme riski hastanın yaşı ile ters orantılı olarak değişiklik göstermektedir.

Önceleri HIV ile infekte çocuklarda ilk bir yıl içinde AIDS gelişme veya ölüm riski %20-25 iken, 1995-1999 yılları arasında izlenen çalışmada AIDS gelişme veya ölüm riski 1 yaşına kadar %15 saptanmıştır. AIDS ile ilgili tedavide yenilikler ve erken tedavi başlanması ile birlikte ise bu riskin %5 olduğu görülmüştür (46).

Tablo 2-16: HIV ile infekte çocuklarda antiretroviral tedavi başlama endikasyonları (123)

YAŞ	KRİTER	ÖNERİ
<12 ay	-HIV ile ilişkili semptomlar (1) varsa -Asemptomatik (2) ve CD4<%25 -Asemptomatik (2) ve CD4 ≥%25	Tedavi et (5) Tedavi et (5) Tedaviyi düşün
1-3 yaş	-AIDS veya HIV ile ilişkili belirgin semptomlar (3) varsa -Asemptomatik veya hafif semptomlar (4) ve CD4< %20 -Asemptomatik veya hafif semptomlar (4) ve *CD4= %20-24 veya *HIV RNA ≥100.000 kopya/mL -Asemptomatik (2) ve *CD4 ≥ %25 ve *HIV RNA <100.000 kopya/mL	Tedavi et (5) Tedavi et (5) Tedaviyi düşün Bekle (6)
4-12 yaş	-AIDS veya HIV ile ilişkili belirgin semptomlar (3) varsa -Asemptomatik veya hafif semptomlar (4) ve CD4< %15 -Asemptomatik veya hafif semptomlar (4) ve *CD4= %15-24 veya *HIV RNA ≥100.000 kopya/mL -Asemptomatik (2) ve *CD4 ≥ %25 ve *HIV RNA <100.000 kopya/mL	Tedavi et (5) Tedavi et Tedaviyi düşün Bekle (6)
≥13 yaş	-AIDS veya HIV ile ilişkili belirgin semptomlar (3) varsa -Asemptomatik veya hafif semptomlar (4) ve CD4< 200 hücre /mm ³ -Asemptomatik veya hafif semptomlar (4) ve *CD4= 201-350 hücre/mm ³ veya *HIV RNA ≥100.000 kopya/mL -Asemptomatik (2) ve *CD4 ≥ 350 hücre/mm ³ ve *HIV RNA <100.000 kopya/mL	Tedavi et (5) Tedavi et (5) Tedaviyi düşün Bekle (6)

1 Klinik kategori A, B, C;

2 Klinik kategori N;

3Klinik kategori C ve B (su durumlar hariç: tek bir ciddi bakteriyel enfeksiyon veya lenfoid interstisyel pnömoni atağı)

4Klinik kategori A veya N veya kategori B için su durumlar: tek bir ciddi bakteriyel enfeksiyon veya lenfoid interstisyel pnömoni atağı

5Bebeklerde HIV büyük çocuklar ve erişkinlere göre daha hızlı seyrettiğinden, bazı uzmanlar 6 aylıktan küçük veya 12 aylıktan büyük tüm çocuklara klinik, immünolojik veya virolojik parametrelere bakılmaksızın tedavi vermeyi önermektedir.

6Klinik ve laboratuvar bulguları her 3-4 ayda bir tekrar değerlendirilmelidir.

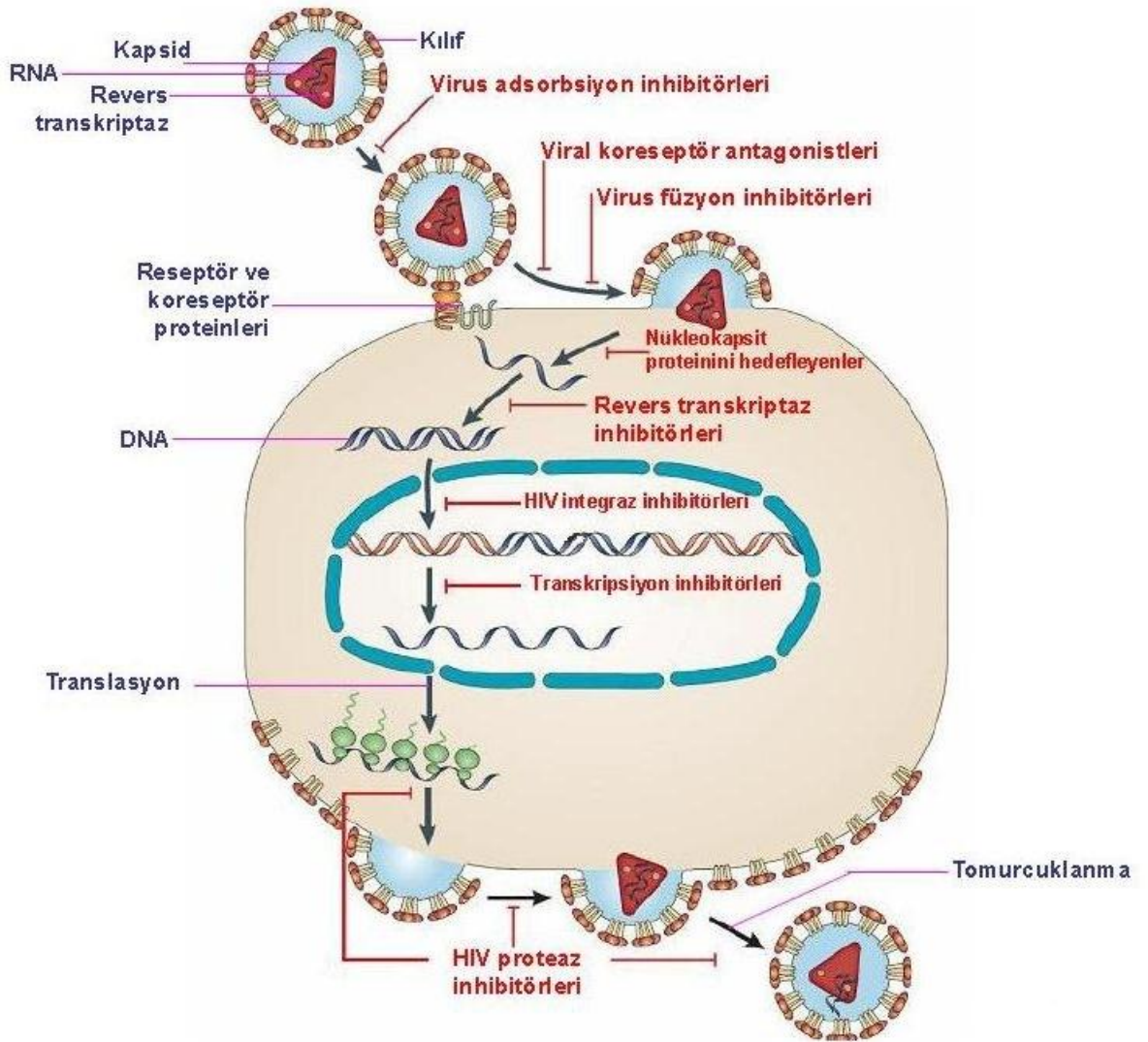
Bununla birlikte asemptomatik infekte çocukların tedavisi ile ilgili potansiyel sorunlar da vardır. Tedaviye erken başlananlarda geç başlananlara göre virolojik olarak daha az düzelme saptanmış ve bu durum sonrasında ilaç direnci ile birlikte ileri dönemlerde tedavi seçeneklerini kısıtlayabilmektedir. Bebeklerdeki bu kötü cevabın nedenleri arasında yüksek viral yük, antiretroviral ilaç düzeylerinin yetersiz olması, ilaç kullanımında uyumsuzluk olabilir. Yenidoğanda böbrek ve karaciğer fonksiyonları gelişmemiş iken, sonraki birkaç ay içinde bu fonksiyonların olgunlaşması ile birlikte serum ilaç düzeylerinde de hızlı değişiklikler olabilmektedir. Lipodistrofi, dislipidemi,

glukoz intoleransı, osteopeni ve mitokondriyal disfonksiyon gibi yan etkiler de ömür boyu kullanılması gereken bu ilaçların kullanımını kısıtlayabilmektedir. Bir yaşından büyük çocuklarda hastalığın ilerlemesi yavaşladığından, bu grup hastalarda semptom yoksa tedavinin ertelenmesi söz konusu olabilir. AIDS veya HIV ile ilişkili belirgin bulgular (klinik kategori C veya B) varsa hastanın CD4 veya HIV RNA bulgularına bakılmaksızın antiretroviral tedavi başlanması gerekmektedir. Asemptomatik veya hafif klinik bulgularla birlikte CD4 sayıları yaş grubuna göre sınırın altına düşmüş ise tedavi başlanmalıdır. Buna karşılık asemptomatik veya hafif klinik bulgularla birlikte yaşa göre CD4 sayıları belirtilen düzeylerde (1-3 yaş için %20-24, 4-12 yaş için %15-24 ve ≥ 13 yaş için 201-350 hücre/mm³) veya HIV RNA ≥ 100.000 kopya/mL ise tedavi başlanması tartışılabilir. Tedavi ertelendiği zaman hastanın virolojik, immünolojik ve klinik bulguları yakından takip edilmeli ve ek olarak şu durumlar geliştiğinde hasta tedavi açısından tekrar değerlendirilmelidir:

- HIV RNA düzeylerinin artması (≥ 100.000 kopya/mL),
- CD4 sayılarının hastanın yaş kriterlerinin altına düşmesi,
- Klinik bulguların gelişmesi.

2.10.5.1. Antiretroviral Tedavi

Onaylanmış antiretroviral ilaçlar HIV-1'in yaşam döngüsündeki hedef olarak seçtiği bazı basamaklar üzerinden etki etmektedir. Antiretroviral ilaçlar viral yükü belirgin olarak azaltmakla birlikte ciddi sistemik yan etkileri vardır ve tedaviye yüksek oranda uyum gerektirmektedir.



Şekil 2-6: Antiretrovirallerin Hedefleri (65).

Antiretroviral ilaçların ((Tablo 2-6) - (Tablo 2-12)'de özetlenen) bazıları çocuklar için FDA onayını almıştır, Ocak 2010, AIDSMap verilerine göre bu ilaçlar ilgili antiretroviral sınıf başlığında altında aşağıda kısaca anlatılacaktır.

1)Nükleozid Revers Transkriptaz inhibitörleri (NRTIs)

Viral RNA'nın DNA provirus molekülüne dönüşümünü sağlayan RT enzimine etki ederek DNA zincirinin uzamasını engeller. İkili olarak kullanılan NRTI kombinasyonları HAART tedavisinde temel tedavinin ana bölümünü oluşturmaktadır. Çocuklarda başlangıç tedavisinde en çok kullanılan NRTI kombinasyonu Zidovudine + lamivudine, Zidovudine + Didanosine ve Didanosine + Lamivudine'dir (57).

Atripla: İçeriğinde 200mg FTC (Emtricitabine), 300mg Tenofovir ve 600mg non-nükleozit revers transkriptaz inhibitörü Efavirenz bulunur. Efavirenz'e karşı gelişen direnç genellikle diğer bir NNRTI olan nevirapine karşı da dirence sebep olur.

Combivir: AZT (Azidothymidine) ve 3TC (lamivudin) (150mg 3TC ve 300mg AZT) ilaçlarının birleştirilmiş halidir.

Kivexa: 3TC ve abakavirin bileşiminden oluşur. Abakavir aşırı duyarlılık reaksiyonuna sebebiyet verebilir.

Truvada: Bu ilaçta, FTC (Emtricitabine) ve Tenofovir bir arada bulunmaktadır. Çocuklarda kullanımı onaylanmıştır. Sıvı süspansiyon olarak temin edilebilir.

Abacavir: Çocuklar için sıvı şekli bulunmaktadır. Abakavir'e bağlı alerjik bir reaksiyon geçirenler abakavir'i yada Abakavir içeren Trizivir veya Kivexa seçeneklerini kullanmamalıdır.

AZT(Azidothymidine) : Çocuklar için sıvı formu mevcuttur. d4T (stavudin) ile birlikte kullanılmamalıdır.

Stavudine: Çocuklarda kullanımı onaylanmıştır. d4T (Stavudine), toz formunda bulunmaktadır; kullanımdan önce sulandırılır. AZT veya ddl ile birlikte kullanılmamalıdır.

Ddl (Didanosine): Tablet ve kapsül olmak üzere, iki ayrı şekilde bulunmaktadır. ddl'nin kullanma şekli, ilacın hangi şeklini kullandığınıza göre değişir. Çocuklarda kullanımı onaylanmıştır. Sıvı şekli bulunmaktadır.

ddI EC (Enteric Coated Didanosine): Çocuklarda kullanımı onaylanmıştır. Tenofovir Ddl seviyelerini yükselttiğinden, yalnızca başka bir tedavi seçeneği yoksa bu iki ilaç birlikte kullanılmalıdır.

FTC (Emtricitabine): 200 mg FTC ve 300 mg Tenofovir vardır. Dört aylık ve daha büyük çocuklarda kullanımı onaylanmıştır. Tenofovir Ddl seviyesini yükseltir. Atazanavir ile birlikte kullanımında, ancak Atazanavir'in Ritonavir ile desteklenmesi halinde birlikte kullanım uygundur.

2) Non-nükleozid Revers Transkriptaz inhibitörleri (NNRTIs)

NNRTI'lerden farklı olarak RT enziminin substrat bağlanma bölgesi yerine allosterik bağlanma bölgesine yarışmasız olarak bağlanmak suretiyle enzimin konformasyonunu bozarak reverz transkripsiyon işleminin başlamasını engeller. Eğer hastada NNRTI'lerden birine karşı direnç geliştirse diğerini kullanmanın bir yararı yoktur (57).

Efavirenz: 600 mg efavirenz, 200 mg FTC ve 300 mg tenofovir içerir. Üç yaş ve üzerindeki, 13 kg'den daha ağır çocuklarda kullanımı onaylanmıştır. Ağızdan kullanılan solüsyonu da mevcuttur. Genellikle delavirdin ve nevirapine de direnç gelişmesine neden olur.

Etravirin: Tipranavir/Ritonavir, Fosamprenavir/Ritonavir, Atazanavir/Ritonavir (Reyataz), tam doz Ritonavir (Norvir) veya diğer NNRTI'lerle birlikte kullanılmamalıdır. Kaletra, Sakinavir/Ritonavir ya da Maravirok ile birlikte kullanılması durumunda dikkatli olmak gerekir. Etravirin, diğer NNRTI'lara direnç geliştiren kişilerde etkili olmaktadır.

Nevirapin: CD4 sayısı 400'ün üzerinde olan erkeklerde ve CD4 sayısı 250'nin üzerinde olan kadınlarda, tehlikeli yan etkilere sebebiyet verebileceğinden, nevirapin kullanılması önerilmez. Çocuklar için şurup şekli bulunmaktadır. Delavirdin ve Efavirenze direnç sebepleri olabilir.

3) Proteaz inhibitörleri (PIs)

Selektif olarak virus proteazının işlevini engelleyerek viral maturasyona engel olur. HIV ile infekte olmuş hücreler defektiftir, yeni hücreleri infekte edemez. RNA viral yükünü etkili bir şekilde azaltmakla birlikte su bazlı solüsyonlar şeklinde olmayıp, tatları kötü ve sitokrom P450 ile etkileştikleri için çocuklarda kullanımı güçtür (57).

Atazanavir: Efavirenz veya tenofovir ile alındığında atazanavir seviyeleri düşer. Ancak 100 mg ritonavir eklenirse bu etki telafi edilmiş olur.

Darunavir: Diğer proteaz inhibitörlerine direnci olan kişilerde kullanılabilir. Ancak, Amprenavir/Fosamprenavire direnç, Darunavir'in etkisini azaltabilir.

Fosamprenavir: Ritonavire ve muhtemelen aynı zamanda Sakinavir, Indinavir ve Nelfinavire de dirence sebep olabilir.

Indinavir: Indinavir'e direnç Ritonavire direnç gelişmesine neden olur; Ayrıca Sakinavir, Nelfinavir ve Fosamprenavire de direnç gelişmesine yol açabilir.

Lopinavir/ritonavir (Kaletra): 100 mg Lopinavir ve 25 mg Ritonavir içeren bir tablet, çocuklarda kullanılmak için onay almıştır. Sıvı şekli de bulunmaktadır.

Nelfinavir: Çocuklarda kullanım için onaylanmıştır. Toz şeklinde bulunur. Nelfinavir'e direnç Sakinavir'e dirence sebep olabilir, bu arada Ritonavir ve Indinavire de dirence sebebiyet verebilir.

Ritonavir: Diğer proteaz inhibitörlerini desteklemek amacıyla genelde küçük miktarlarda kullanılır (genellikle 100 mg veya 200 mg günde bir ya da iki kez). Ritonavir'e direnç Indinavire ve bazen de Nelfinavir, Sakinavir ve Fosamprenavir'e dirence yol açabilir.

Sakinavir: Çocuklarda kullanımı onaylanmamıştır. Sakinavir'e direnç Nelfinavir, Indinavir ve Ritonavir'e direnç anlamına gelebilir.

Tipranavir: Tipranavire direnç gelişme süreci çok yavaştır ve şu anda kullanılan hiçbir proteaz inhibitörü ile çarpaz direnç geliştirdiğine rastlanmamıştır.

4)Füzyon ve Giriş inhibitörleri

Konak hücreye giriş HIV'in yaşam döngüsünün ilk basamağıdır. Füzyon ve Giriş inhibitörleri CD4 hücre reseptörlerine, kemokin reseptörlerine (CCR5 veya CXCR4) bağlanma ve membran füzyonu basamaklarının hepsini hedefler. Antiviral viral zarf üzerindeki glikoprotein gp41'e bağlanarak iki altılı tekrarlayan bölgedeki HR1 ve 2 etkileşimini engelleyerek HIV ile konak hücre füzyonunu engellemektedir. (57).

Enfuvirtide (T-20): Altı yaşından küçük çocuklar için kullanımı uygun değildir. Pediatrik dozuna (6-16 yaş) uygun olarak günde iki defa deri altı enjeksiyonla uygulanmalıdır.Viral yükün saptanamaz düzeye inmemesi durumunda T20'ye hızla direnç gelişir. Ancak T-20 ye dirençli olan kişiler, kullanıma devam ettikçe buna rağmen tedavinin faydasını görebilirler (57).

Maraviroc: Yalnızca HIV in CCR5-tropik türünü taşıyan kişilerde kullanılmalıdır. Maraviroc direnci halen araştırılmaktadır. HIV'e etkili diğer ilaçlarda olduğundan daha değişik bir seyir izlemektedir.

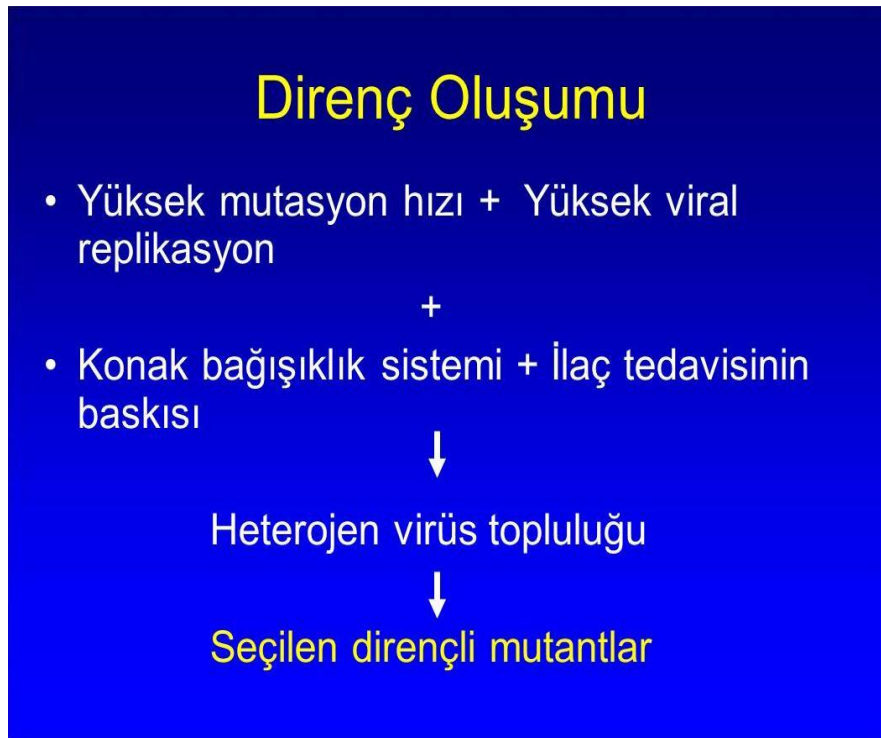
5)Integraz inhibitörleri:

Proviral DNA'nın konak hücre genomuna entegre olma basamağını hedefleyerek engeller (57).

Raltegravir: Tipranavir/Ritonavir ve Atazanavir/Ritonavirin kandaki seviyelerini etkileyebilirse de, bu nedenle doz ayarlaması yapılması gerekmez.

2.10.6. Antiretroviral İlaç Direncinin Genel Prensipleri

Antiretroviral ilaç direnci virusunengin genetik çeşitliliğini sağlayan yaşam stratejisinden kaynaklanmaktadır. Tedavi sırasında dirençli olmayan yabanıl tipteki suşlar ortadan kalkmakta ve ilacın seçtirici baskısı altında mutant suşlar ortama hakim olmaktadır. Tedavi yokluğunda yabanıl tipler çok daha yüksek replikasyon kapasitesine (viral fitness) sahiptirler ve yeniden ortama hakim olurlar. İnfekte olmuş her bireyde genetik olarak birbiriyle ilişkili fakat birbirinden farklı genetik varyantlar şeklinde ‘quasispecies’ adı verilen türümsüler bulunmakta bazıları rezervuarlarda tutulmaktadır. Hatta bazı çalışmalara göre yüzdesi az olan bu türümsülerin zaman içerisinde evrimleşerek dirence sebep olan mutasyonları oluşturdukları, bu yüzden yapılan testlerle oluşabilecek mutasyonları önceden saptama imkanı olduğu iddia edilmektedir (98).



Şekil 2-7: Direnç oluşumunu etkileyen faktörler.

Antiretroviral direnç geliştirme olasılığı antiretroviral rejimin gücüne ve tedavi altında virusun replikasyon derecesine bağlıdır. Virusun replikasyon seviyesi ve ortamdaki replikasyon kapasitesi ne kadar yüksekse mutantların seçilimi de o kadar hızlı olur. Virus replikasyonunu tam olarak baskılayamayan güçlü bir tedavide çabuk bir direnç

gelişimine sebep olan güçlü bir seçtirici baskı söz konusu iken, virus replikasyonunu alt seviyelere indiren güçlü bir rejimde ise güçlü bir seçtirici baskı uygulanmasına karşın yavaş gelişen bir direnç söz konusudur (98). Öte yandan, gerek RT gerekse proteaz bölgesinden çeşitli ilaç direnç mutasyonları (M184V, K65R) virusun replikasyon kapasitesini belirgin bir şekilde azaltabilmektedir (92).

Direnç primer olabilir, ilk alınan virus dirençlidir. ARV tedavinin uygulandığı ülkelerde dirençli suşların bulaşabildiği gösterilmiştir. New York'ta primer direnç 1995-1998 yılları arasında %13.2 iken 2003-2004 yıllarında %24.1'e yükselmiştir. Antiretroviral tedavi sırasında gelişen direnç daha çok görülmektedir. Direnç direnci tersine döndüren mutasyonların ortaya çıkışıyla kaybolabilir yada primer NNRTI'da olduğu gibi yıllarca sürebilir (92).

RT ve proteaz gen bölgelerinin aktif bölgelerinde oluşan mutasyonlar erken dönemde oluşan ilaç direncine ilişkin primer mutasyonlardır, daha geç dönemde oluşan sekonder mutasyonlar direnç gelişimini arttırmaktan çok virusun replikasyon kapasitesini arttıran değişikliklere sebep olur (112).

NRTI'lara karşı gelişen direnç mekanizmasında M184V, Q151M, L74V ve K65R gibi mutasyonlar gelişerek RT enziminin NRTI'ları fark etmesi ve uzamakta olan zincire sokulmasını engellemesi sağlanır. M41L, D67N, K70R, T215Y ve K219Q gibi mutasyonlar ise hidrolitik yolla zincire eklenmiş olan NRTI'ları çıkarır (92).

NNRTI'ların bağlı bulundukları RT cebindeki bir mutasyon bile tüm NNRTI'lara karşı dirençle sonuçlanabilir (92).

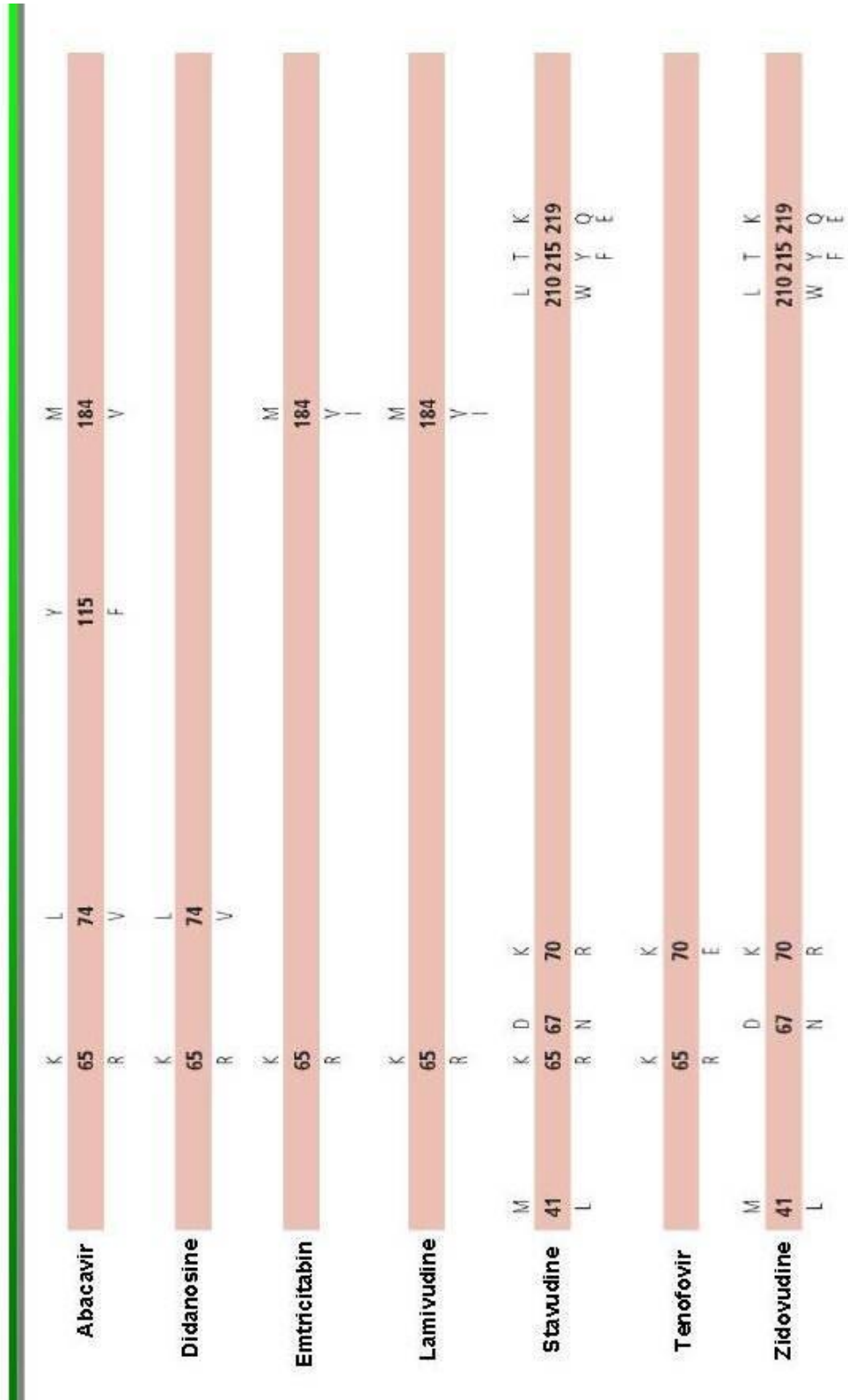
Proteaz inhibitörlerine direnç yavaş yavaş gelişir, bu yüzden belli mutasyonların birikmesi gerekir. Minör mutasyonlarla virusun ilaca duyarlılığını 5 kat kadar azaltmakta, sekonder mutasyonlarla ise yüksek derecede direnç gelişimi gözlenmektedir. Primer mutasyonların aksine sekonder mutasyonlar çapraz direnç gelişimine yol açmaktadır. Bu yüzden bir PI'ya direnç geliştiren hastada diğer PI'lar da etkisiz kalmaktadır (92).

NRTI, NNRTI ve PI'leri ile ilgili en sık rastlanılan mutasyonlar (Şekil 2-8), (Şekil 2-9) ve (Şekil 2-10)'da gösterilmiştir.

APOBEC3 proteinlerinin etkisi ve hücrel aktif pompalar P-gp ve MRP-4 proteinlerinin aşırı ekspresyonunda dirençle ilişkili mutasyonların ortaya çıktığına dair çalışmalar yapılmaktadır (92, 98).

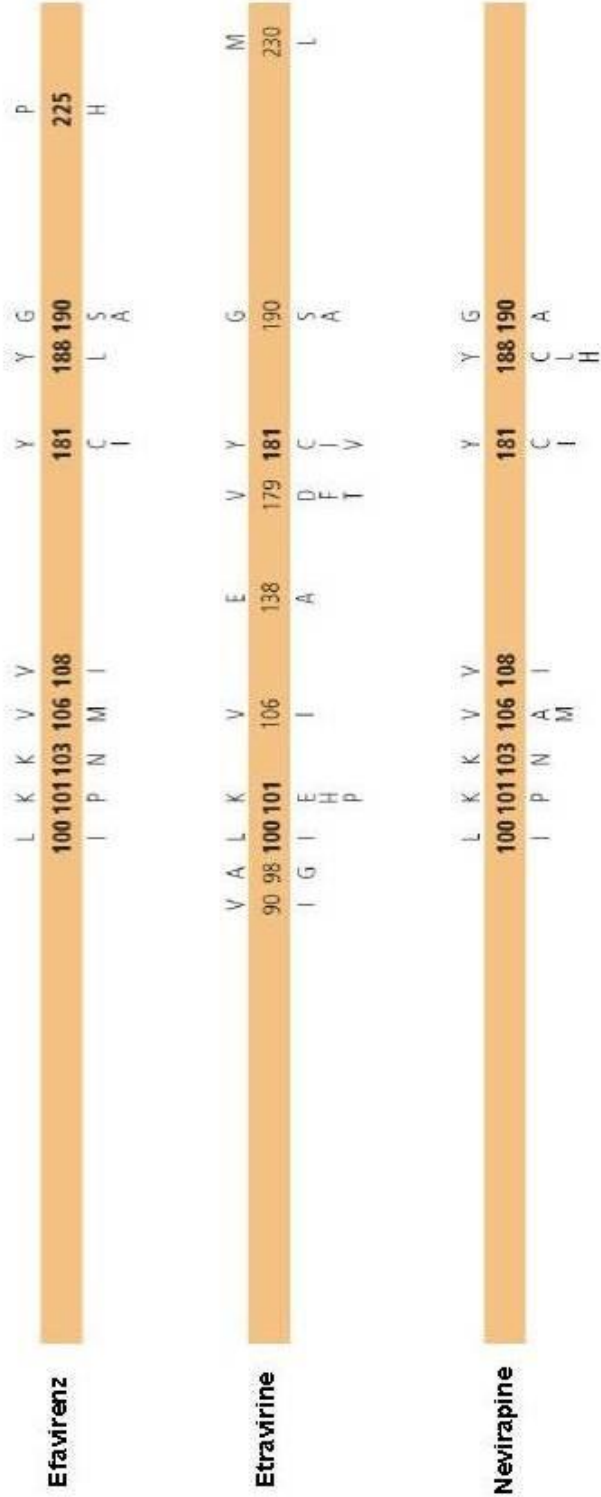
Diğer bir problem HIV ile zaten infekte olan kişilerin dirençli suşların sebep olduğu süperinfeksiyon sonucunda yeni mutasyonlar geliştirmeleri viral yükte ani artış ve CD4 sayısında ani düşüş görülmesidir. Yetersiz virolojik yanıt, immunolojik başarısızlık, virolojik rebound ve klinik kötüleşme kendilerini farklı şekillerde belli eden diğer tedavi başarısızlıklarıdır (92).

NRTI ile seçilen mutasyonlar



Şekil 2-8: NRTI ile Seçilen Mutasyonlar (56).

NNRTI'ler ile seçilen mutasyonlar



Şekil 2-9: NNRTI ile Seçilen Mutasyonlar (56).

Proteaz gende oluŖan Proteaz İnhibitör ile ilgili Mutasyonlar

Multi-PI resistance (accumulation of mutations)	L	10	M	I	V	I	L
	F	46	46	84	82	84	90
	↓				↓		
	↓				↓		
Indinavir	L	10	32	33	71	73	77
	K	24	46	64	71	73	77
	L	20	33	64	71	73	77
	↓				↓		
	↓				↓		
Ritonavir	L	10	32	33	71	73	77
	K	24	46	64	71	73	77
	L	20	33	64	71	73	77
	↓				↓		
	↓				↓		
Saquinavir	L	10	32	33	71	73	77
	K	24	46	64	71	73	77
	L	20	33	64	71	73	77
	↓				↓		
	↓				↓		
Nelfinavir	L	10	32	33	71	73	77
	K	24	46	64	71	73	77
	L	20	33	64	71	73	77
	↓				↓		
	↓				↓		
Amprenavir	L	10	32	33	71	73	77
	K	24	46	64	71	73	77
	L	20	33	64	71	73	77
	↓				↓		
	↓				↓		
Lopinavir/ Ritonavir	L	10	32	33	71	73	77
	K	24	46	64	71	73	77
	L	20	33	64	71	73	77
	↓				↓		
	↓				↓		

Reprinted with permission from the International AIDS Society-USA. D'Aquila RT, Schapiro JM, Brun-Vézinet F, et al. Drug resistance mutations in HIV-1. *Top HIV Med*. 2002;10:11-15. Updates available at: www.iasusa.org.

Şekil 2-10: PI ile Seçilen Mutasyonlar (56).

2.10.7. Direnç Testleri

Direnç testlerinin, tedaviye yeni başlamış hastalarda tedavi şeklini belirlemeye yardımcı olarak, tedavide başarısız olma durumunda tedavi seçeneklerini belirlemede (ilaç toksisitesi, uyum güçlüğü, viral başarısızlığın erken döneminde hiç mutasyon saptanmamış ve viral yük 1000 kopya/ml'nin üzerindeyse, HIV ile infekte gebelerde (tedavi öncesi ve viral yük seviyesi saptanabilir durumda ise), akut HIV enfeksiyonunda ve kronik enfeksiyonda (tedavi altında veya kesildikten 4 hafta içinde) uygulanması tavsiye edilmektedir (84).

İlaç direnci genotipik yada fenotipik testlerle incelenebilir. Genotipik testlerde, ilaç direnci ile ilişkili mutasyonlar araştırılırken, fenotipik testler özünde ilaç duyarlılık testleridir. Fenotipik testlerde, hücre kültüründe test edilecek ilacın varlığında yabancı tipteki virusun üremesini inhibe eden ilaç konsantrasyonu belirlenir. Sonuç genellikle virusun %50 (IC 50) yada %90 (IC 90)'ını inhibe eden konsantrasyon olarak ifade edilir. Bu değer bir sınır değer (cut-off) ile karşılaştırılarak sonuç standart yabancı tipteki kökenin değerinin katları şeklinde belirtilir. Antivirogram (Tibotec-Virco), Pheno Sense (Monogram Biosciences) ve Phenoscript (Viralliance) piyasada bulunan ticari fenotipik test sistemlerindendir (84, 112).

Genotipik testlerde ilaç direnci ile bağlantılı mutasyonlar belirlenir. Genellikle proteaz bölgesinin tamamı ile RT bölgesinin ilk 236 amino asitlik kısmı çoğaltılır. Genotipik testlerin güvenilirliği açısından viral yükün 1000 kopya/ml'nin üzerinde olması gereklidir. Mutasyonlar iki farklı yöntemle saptanabilir; DNA dizi analizi ve hibridizasyona dayalı yöntemler. DNA dizi analizi en yaygın kullanılan yöntemdir. Ticari genotipik testler Viroseq (Cela Diagnostics/Abbott Laboratories), HIV-1 Trugene (Bayer Healthcare/Siemens Diagnostics), Virco Type HIV-1 (Virco), Genosure (plus) (LabCorp) ve GeneSeq (Monogram Biosciences)'dir (84, 112).

Bu testler subtip B HIV dizileri gözönüne alınarak hazırlanmaktadır. Ancak, farklı subtiplerin pol geninde polimorfik diziler içermesi, non-subtip B viruslarda direncin belirlenmesinde sorunlara neden olmaktadır.

Genotipik testlerin yorumlama algoritmaları ve genotipik / fenotipik direnç testlerinin sonuçları arasında çok büyük boyutlara varabilen tutarsızlıklar

olabilmektedir. Genotipik karışıklıklarda, ara aşama mutasyonlarının varlığında, Timidin Analog Mutasyonlarında (TAM), antagonist etkili mutasyonlarda, atipik mutasyonlarda ve karmaşık mutasyon paternlerinde bir testte dirençli olarak yorumlanan bir diğerinde duyarlı bulunabilir (84, 112).

Fenotipik Testler (84, 112):

Avantajları: Hassasiyeti direkt olarak ölçmesi, kompleks mutasyonların birbirleriyle ilişkilerini saptayabilmesi (çapraz direnç), HIV-1 subtip B dışı genotipler için uygun olması ve daha az yoruma dayalı olması.

Dezavantajları:Daha az duyarlı olması, daha uzun sürede sonuç elde edilmesi, teknik olarak uygulamasının daha zor oluşu, daha pahalı olması, özel laboratuvar koşulları gerektirmesi ve klinik olarak belirlenen cut-off değerlerinin birçok ilaç için tanımlanmamış olması.

Genotipik Testler (84, 112):

Avantajları:Tekrarlanabilir olması, daha kısa sürede sonuç alınması, teknik olarak uygulamasının daha kolay olması, daha çok örnek çalışma imkanı, heterojen virus topluluğunda direnci saptayabilmesi, daha ekonomik olması ve kontaminasyonu saptayabilen data analizlerinin olması.

Dezavantajları:Hassasiyeti dolaylı yoldan ölçmesi, Total virus topluluğunun %10-%30'undan düşük düzeydeki minör dirençli suşları saptayamayabilir olması ve mutasyonların birbiri üzerindeki etkileri saptayamaması.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ:

Çalışmamızda hastanemizin İ.Ü. İ.T.F Çocuk Enfeksiyon Kliniği'nde tedavi gören ve belirli aralıklarla rutin viral yük ölçümü için laboratuvarımıza gelen 0-18 yaş aralığındaki 20 HIV-1 pozitif çocuk hastanın antiretroviral ilaçlara karşı direnç oluşturma durumunu belirlemek amacıyla hastaların serumundan izole edilen virusun pol gen bölgesine genotipik direnç testi uygulandı. Virusun subtipi ile oluşabilecek antiretroviral ilaç direnci arasındaki ilişkiyi gözlemlemek için virusun tiplendirmesi yapıldı. Bu işlemler için hastaların - 80°C'de saklanmış olan serumları kullanıldı. Hastalara ait yaş, cinsiyet, tedavi süresi, CD-4 hücre sayısı ve viral yük gibi parametreler kaydedildi. İlaç tedavisi gören 20 çocuk hastanın ortak özelliği virusu annelerinin hamileliği döneminde vertikal yolla edinmiş olmalarıdır. Hasta serumlarından viral RNA'yı izole ederken Qiaamp Viral RNA Mini kiti (Qiagen, Hilden, Germany), Revers Transkriptaz ve Proteaz gen bölgelerinin RT-PCR (Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile çoğaltılması işleminde OneStep RT-PCR (Tek basamaklı Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) kiti (Qiagen, Hilden, Germany), Nested PCR aşamasında ise HotStarTaq (Qiagen, Hilden, Germany) kullanıldı. Yaklaşık 1.5 kbp'lik PCR ürünü QIAquick spin PCR purifikasyon kiti (Qiagen, Hilden, Germany) ile saflaştırıldı. HIV-1 pol gen bölgesinin sekansı Viroseq HIV-1 Genotypic Sistem Sekans Modülü (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) ile yapıldı. Ürünler MultiScreen purifikasyon kiti (Millipore, Bedford, MA, USA) ve Sephadex 50 superfine (Amersham Biosciences, Upsala, Sweden) ile yabancı maddelerden arındırıldıktan sonra ABI Prism 310 kapiler sekans cihazında yürütüldü. Sekans analizi bilgisayar ortamında Viro Seq HIV-1 genotype software 2.6 programı ile yapıldı. 20 HIV-1 pozitif çocuk hastada ilaç kullanımına yada infekte anneden geçen dirençli suşlara bağlı olarak NRTI, NNRTI ve PI sınıfı antiretrovirallere karşı oluşabilecek direnç, sekans analizi yöntemi kullanılarak elde edilen hastalara ait DNA baz dizileri (fastalar) bilgisayar ortamında referans olarak kabul gören ve oluşması mümkün yeni mutasyonlar açısından sık sık güncellenen (HIV Grade, Stanford University Database, Geno2Pheno)'ın veri tabanındaki bilgiler ile karşılaştırılarak araştırılmış ve her bir hastanın infekte oldukları virusun subtiplendirmesi yapılmıştır.

3.2. YÖNTEM:

3.2.1. Hasta Kanından Serum Eldesi:

Hastalardan 90 ml'lik EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri 4000 rpm de 10 dakika santrifuj edildi. Plazma ve “buffy coat” örnekleri ayrılarak -80°C de saklandı, (Buffy coat , hastanın plazma örneğinde viral yük çok düşük olduğunda proviral DNA izolasyonu için kullanıldı). Saklanan hasta örnekleri yeterli sayıya ulaştığında her seferde 10 örnekten RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapılacak şekilde çalışıldı.

3.2.2. Plazmadan RNA izolasyonu:

Plazmadan RNA izolasyonu için Qiagen Qiam Viral RNA Mini kiti kullanıldı. Kit içerisinde yer alan carrier-RNA, 310 µl AVL (Viral Lysis Buffer) içerisinde çözülerek -20°C de saklandı. 1120 µl AVL içerisinde 10µl carrier RNA çözülerek üzerine 280 µl plazma örneği eklendi ve 15 saniye vortekslendi. Bunu takiben, 1120 µl %100 etanol eklendi ve tekrar 15 saniye vortekslendi. Hazırlanan solusyondan 630 µl dikkatli bir şekilde Pasteur pipeti ile alınarak 2ml' lik ependorf tüpü içine yerleştirilmiş “Qiam spin column”a eklendikten sonra 8000 rpm de 1 dakika santrifuj edildi. Bu basamak bütün lizat kolomlara yüklenene kadar tekrarlandı. 500 µl AW1(Washing Buffer 1) solusyonu eklenerek 8000 rpm de 1 dakika çevirildi. Aynı işlem 500 µl AW2 (Washing Buffer 2) solusyonu eklendikten sonra da gerçekleştirildi. kolom yeni bir 2ml' lik koleksiyon tüpüne koyularak 14.000 rpm de 3 dakika çevirildi. kolom 1.5 ml lik ependorf tüpüne alınarak üzerine 40µl AVE (Viral Elution Buffer) eklendi. 1dakika oda ısısında inkübasyondan sonra 1 dakika 8000 rpm de çevirildi. Elde edilen viral RNA -80°C' de saklandı.

3.2.3. RT-PCR aşaması:

Örnekler prosedüre uygun olarak çalışıldıktan sonra elde edilen viral RNA 'lar RT-PCR aşamasına kadar - 80°C'de saklandı. RT-PCR aşaması master-mix hazırlanması ve PCR siklusunun kurulmasından ibarettir. Kullanım kolaylığı açısından dNTP'lerin her 100 µl'si 600 µl “RNase free water” ile (RNA ihtiva etmeyen su) sulandırılıp daha sonra kullanılmak üzere -20°C 'de muhafaza edildi. Her bir hasta örneği için, OneStep RT-PCR kit içinde yer alan RNase free water 'dan 15.4 µl su, 10 µl Q-solusyonu, 10 µl 5X buffer, 2 µl dNTP, 0.3 µl primer 1, 0.3 µl primer 2 ve 2 µl enzim toplamda 40 µl olacak şekilde küçük bir tüp içine ardarda eklenerek master-mix hazırlandı. 10 µl RNA 0.2 ml' lik PCR tüpü içerisine ilave edilerek 10 dakika 65 °C 'de

inkübe edildi. Daha sonra, tüp bir buz kabı içerisine konarak üzerine 40 µl master-mix eklendi. PCR siklusunda kullanılan çoğaltıcı primer dizileri:

İleri:fw (100µM) (1RES: 5'- GAAGAAATGATGACAGCATGTCAGGG-3')

Geri:bw(100µM)(2RES: 5'-TAATTTATCTACTTGTTTCATTTCTCCAAT-3')

PCR siklusunun aşamaları aşağıda verilen programa uygun olarak gerçekleştirildi.

1. 50°C	30 dakika	
2. 95°C	15 dakika	
3. 95°C	30 saniye	
4. 65°C	45 saniye	
5. 72°C	3 dakika	-5°C' de pozisyon 3' den 5'e
iki tekrar		
6. 95°C	30 saniye	
7. 55°C	45 saniye	
8. 72°C	3 dakika	pozisyon 6'dan 8'e 42
Siklus		
9. 72°C	10 dakika	
10. 4°C	sabitleme (∞)	

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) sonucunda 2383 baz çifti uzunluğunda bir PCR ürünü elde edildi.

3.2.4. Nested PCR aşaması:

Nested PCR aşamasında ilk önce master-mix hazırlandı. Herbir hasta için 0.2 ml'lik PCR tüpü içerisine 71,9 µl AMPUWA steril su, 10 µl Q-Solusyonu, 10 µl 10x buffer, 2 µl dNTP, 0,3 µl Primer 3, 0,3 µl Primer 4 ve 0,5 µl HotStar Taq DNA polimeraz kit ardarda eklenerek hazırlanan toplam 95 µl'lik master-mix karışımına 5 µl RT-PCR hasta reaksiyon ürününden eklendi.

İleri ve geri çoğaltıcı primer dizileri olarak aşağıdaki primerler kullanıldı:

İleri: fw (100µM) (3RES: 5'- TCTTGATAAATTTGATATGTCC-3')

Geri: bw(100µM) (p6-2: 5'- GGCTGTTGGAAATGTGGAAAGGA-3')

PCR siklusunun aşamaları aşağıda verilen programa uygun olarak gerçekleştirildi:

1. 95°C	15 dakika	
2. 95°C	30 saniye	
3. 65°C	45 saniye	
4. <u>72°C</u>	<u>3 dakika</u>	-5°C de pozisyon 2'den 4'e 2
tekrar		
5. 95°C	30 saniye	
6. 55°C	45 saniye	
7. <u>72°C</u>	<u>3 dakika</u>	pozisyon 5'den 7'ye 42 siklus
8. 72°C	10 dakika	
9. 4°C	sabitleme (∞)	

Yaklaşık olarak 1595bp uzunluğunda PCR ürünü elde edildi.

3.2.5. Jel Elektroforez İşlemi:

20 hastaya ait PCR ürünlerinin az bir miktarı %1' lik agaroz jeldeki kendilerine ait kuyucuklara tek tek yüklenerek yürütüldü ve oluşan bantlar kalınlıklarına, sayısına ve parlaklığına göre ladder baz alınarak değerlendirildi. Jelde yürüme mesafesi göz önüne alınarak oluşması beklenen uzunluktaki PCR ürünü ladder üzerindeki işaretli baz çifti uzunlukları esas alınarak hesaplandı. Bu şekilde PCR reaksiyonlarının başarılı olup olmadığı gözlemlendi.

Ekstraksiyon, amplifikasyon (PCR) ve jelde yürütme işlemlerini takiben saflaştırma, sekans ve analiz safhaları Almanya Köln Üniversitesi, Viroloji Enstitüsü'nde gerçekleştirildi.

3.2.6. Saflaştırma:

QIAquick PCR purifikasyon kiti kullanılarak ve kit içerisinde yer alan prosedüre uyularak saflaştırma işlemi yapıldı. Herbir hasta için 5 volum buffer PB (Phosphate Buffer), 1 volum PCR ürünü ile karıştırıldı. Kit içinde yer alan spin kolomlar hasta sayısı kadar alınıp 2ml'lik koleksiyon tüplerin içine yerleştirildi. DNA'yı bağlamak için herbir hastaya ait PCR ürünleri spin kolom'a aktarılıp ve 30-60 sn santrifuj edildi. Koleksiyon tüpleri atılarak spin kolomlar yeni koleksiyon tüplerine aktarıldı. Yıkama

işlemi için, herbirine 750 µl buffer PB eklendi ve 30-60 sn santrifuj edildi. Tüplerin içerisindeki sıvı atılarak spin kolomlar tekrar koleksiyon tüplerine yerleştirildi ve ek olarak 1 dk daha maksimum hızda santrifuj edildi. Spin kolomlar 1.5 ml’lik temiz mikrosantrifuj tüplerine aktarıldı. DNA’ yı ayırtmak için QIAquick membranın ortasına 50 µl buffer EB (Elution Buffer) veya su eklenip, spin kolomlar 1 dk santrifuj edildi (Alternatif olarak DNA konsantrasyonunu arttırmak için membran ortasına 30 µl EB eklendi ve 1 dk bekletilip daha sonra santrifuj edildi).

3.2.7. Sekans:

Saflaştırma sonucu elde edilen cDNA Viro Seq HIV-1 sekans kiti ile her bir hasta için Revers Transkriptaz ve Proteaz İnhibitör direncini belirlemek amacıyla Revers Trankriptaz gen bölgesinin yaklaşık olarak (1-315 bp) ve Proteaz gen bölgesinin tamamı (1-99 bp) sekans reaksiyonları ile çoğaltıldı.

Her primer (F veya R) için 3 µl sekans karışım solüsyonu ve 1-2 µl saflaştırılmış DNA kullanıldı.

Sekans reaksiyonu aşağıdaki gibi gerçekleştirildi:

96°C 10 saniye

50°C 10 saniye

60°C 4 dakika

Toplamda 36 siklus uygulandı.

3.2.8. Sekans Sonrası Saflaştırma:

Ürünler MultiScreen Purifikasyon Kiti ve Sephadex 50 Superfine ile yabancı maddelerden arındırıldı.

3.2.9. Kurutma ve Liyofilizasyon (ABI Prism 3100 kapiler Sekans Cihazına Hazırlık):

Temizlenmiş sekans ürünü spin vac’da kurutulup 10 ul HIDİ formamid ile sulandırıldıktan sonra sekans cihazına konuldu.

3.2.10. Analiz:

Sekans analizi bilgisayar ortamında Viro Seq HIV-1 genotype software 2.6 programı ile yapıldı. 20 çocuk hastaya ait fastalar (DNA baz dizileri) referans olarak

kabul gören HIV–Grade (<http://www.hiv-grade.de/cms/grade/>), Stanford University (<http://hivdb.stanford.edu/>) ve Geno2Pheno (<http://www.geno2pheno.org/>) genetik veri bankalarındaki verilerle karşılaştırılarak nükleosidlere, non-nükleosidlere ve proteaz inhibitörlerine karşı oluşan major ve minör mutasyonlar ve bunların birbirleriyle olan etkileşimleri göz önüne alınarak gelişen direnç seviyeleri belirlenmiştir.

Rekombinant formu (CRF) olan virusların genom şemaları lanL Database (<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html#CRF02>) programından yararlanılarak çizilmiştir.

4. BULGULAR

Yaşları 0-18 arasında değişen ve tedavi görmekte olan 20 HIV-1 pozitif çocuk hastanın serumlarından izole edilen virus genetik materyalinin Pol gen segmenti içerisinde yer alan (1-315 bp) Revers Transkriptaz ve (1-99 bp) Proteaz gen bölgelerinin dizi analizi sonuçları HIV direnci ile ilişkili mutasyonlar açısından 3 değişik algoritmaya göre değerlendirilmiştir ve bulgular Tablo 4-3, Tablo 4-4, Tablo 4-5 ve Tablo 4-6’da gösterilmiştir.

Çalışmamızda yer alan hastalara ait özellikler Tablo 4-1’de özet olarak verilmiştir. Viral yükü <40 kopya/ml ve <20 kopya/ml olan 4 çocuk hastanın serumlarından elde edilen az miktarda virus genetik materyali PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile çoğaltılamamış ve jel elektroforez işleminde yeterli kalınlıkta bant görülmemiştir. 6 çocuk hastada antiretroviral ilaç grubundan birine ya da her ikisine birden gelişmiş orta seviyeden yüksek seviyeye kadar değişen şiddette direnç saptanmıştır (% 33). 4 hastada çapraz-ilâç direnci saptanırken (% 12), 2’sinde çoklu-ilâç direnci belirlenmiştir (% 6.2) ((Tablo 4-3) – (Tablo 4-6)). Ayrıca bu hastalar için direnç oluşumuna sebep olan mutasyonlar ve subtip ilişkisi Tablo 4-2’de gösterilmiştir. Bir çocuk hastada Proteaz İnhibitörlerinden NFV’e (Nelfinavir) karşı düşük direnç gelişimi bulunmuştur. Diğer 9 çocuk hastada herhangi bir antiretrovirale karşı direnç tespit edilememiştir.

Hastalarda virus subtiplendirmesi yapıldığında 6 ‘sının B, 2’sinin A₁, 2’sinin CRF 03_AB, 2’sinin CRF 02_AG, bir hastanın CRF 01_AE, 2’sinin C ve bir diğerinin F₁ altgrubuna ait olduğu görülmüştür. HIV-1’in M grubundan farklı 2 subtipin birleşmesiyle oluşmuş rekombinant formu (CRF) olan virusların analizi lanL Database (www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html#CRF02) referans suş dizilerinden yararlanılarak yapılmış ve farklı subtiplerin RT ve PR genleri üzerindeki genomik organizasyonu birleşim noktaları (breakpoint) verilerek Şekil 4-1, Şekil 4-2 ve Şekil 4-3’de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Hastaların özellikleri

No	DoğumTarihi	Viral Yük(kopya/ml)	CD4 (hücre/ul)	CD8 (hücre/ul)	Antiretroviral	PCR sonucu	Uyruk
1	2005	9600	FITC-31	FITC-33	Epivir, Kaletra	Tekrar	T.C.
2	2004	280300	-	-	-	+	T.C.
3	2006	42500	936	1079	Epivir,Retrovir,Kaletra	+	T.C.
4	2003	40	512.1	678.4	Epivir,Retrovir,Kaletra	Başarısız	T.C.
5	2008	40	1312.1	1052.5	Epivir,Retrovir,Kaletra	Başarısız	T.C.
6	1999	2200	789.1	1074.3	Epivir,Retrovir,Kaletra	+	T.C.
7	2008	124159	-	-	Epivir,Retrovir,Kaletra	+	T.C.
8	2000	523000	1265	3819	Stavudine, Lamivudine	+	T.C.
9	1994	399750	FITC-3	FITC-38	-	+	?
10	2000	5238	FITC-25	FITC-26	Stavudine, Lamivudine	+	T.C.
11	2002	4300	FITC-41	FITC-35	-	+	T.C.
12	2008	150	FITC-39	FITC-25	Epivir,Retrovir,Kaletra	Tekrar	T.C.
13	2002	20	181	451	Epivir,Retrovir,Kaletra	Başarısız	T.C.
14	2005	40	970	1042	Epivir,Retrovir,Kaletra	Başarısız	T.C.
15	1994	33140	FITC-76	FITC-51	-	+	T.C.
16	1994	7500	FITC-25	FITC-51	-	+	T.C.
17	1994	5450	674	1237	-	+	T.C.
18	1994	54890	487	673	-	+	T.C.
19	1995	25200	138.5	553.1	-	+	T.C.
20	1994	245570	81	580	-	+	T.C.

Tablo 4-2: Direnç geliştiren mutasyonların subtip ve antiretroviral sınıflarına göre dağılımı

Hasta No	Subtip	Reverz Transkriptaz Gen Bölgesi		Proteaz Gen Bölgesi	
		Nükleosid RTI	Non-Nükleosid RTI	Major M. (PI)	Minör M.(PI)
1	F ₁	M184V	-	-	-
3	B	M184V	-	-	L10I, A71T
9	A ₁	D67N, K70R, K219Q	A98G, Y181C	I54V,V82A, L90M	L33F
10	A ₁	D67N, T69NT, K70R, K219Q	A98G, Y181C	I54V,V82A, L90M	L33F
12	B	M41L, T215D	-	-	-
20	B	M41L, T215S	-	-	-

Tablo 4-3: Direnç geliştiren mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı

			HASTA NO				
			1	2	3	4	5
REVERZ TRANSKRİPTAZ İNHİBİTÖRLERİ	NRTI	3TC	M184V		M184V		
		ABC	M184V		M184V		
		AZT					
		D4T					
		DDI					
		FTC	M184V		M184V		
		TDF					
	NNRTI	DLV					
		EFV					
		ETR					
		NVP					
PROTEAZ İNHİBİTÖRLERİ	PI	ATV/r					
		DRV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV					
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 4-4: Direnç geliştiren mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı

			HASTA NO				
			6	7	8	9	10
REVERZ TRANSKRİPTAZ İNHİBİTÖRLERİ	NRTI	3TC					
		ABC					D67N, K70R, K219Q
		AZT				D67N, K70R, K219Q	D67N, K70R, K219Q
		D4T				D67N, K70R, K219Q	D67N, K70R, K219Q
		DDI					D67N, K70R, K219Q
		FTC					
		TDF					D67N, K70R, K219Q
	NNRTI	DLV				A98G, Y181C	A98G, Y181C
		EFV				A98G, Y181C	A98G, Y181C
		ETR				A98G, Y181C	A98G, Y181C
		NVP				A98G, Y181C	A98G, Y181C
PROTEAZ İNHİBİTÖRLERİ	PI	ATV/r				I54V, V82A, L90M	I54V, V82A, L90M
		DRV/r					
		FPV/r				I54V, V82A, L90M	I54V, V82A, L90M
		IDV/r				I54V, V82A, L90M	I54V, V82A, L90M
		LPV/r				I54V, V82A, L90M	I54V, V82A, L90M
		NFV	I54V, V82A, L90M			I54V, V82A, L90M	I54V, V82A, L90M
		SQV/r				I54V, V82A, L90M	I54V, V82A, L90M
		TPV/r				I54V, V82A, L90M	I54V, V82A, L90M

Başarısız PZR	Yüksek Direnç	Orta Direnç	Düşük Direnç	Duyarlı	Düşük Direnç Potansiyelli
---------------	---------------	-------------	--------------	---------	---------------------------

Tablo 4-5: Direnç geliştiren mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı

			HASTA NO				
			11	12	13	14	15
REVERZ TRANSKRİPTAZ İNHİBİTÖRLERİ	NRTI	3TC					
		ABC		M41L, T215D			
		AZT		M41L, T215D			
		D4T		M41L, T215D			
		DDI		M41L, T215D			
		FTC					
		TDF		M41L, T215D			
	NNRTI	DLV					
		EFV					
		ETR					
		NVP					
PROTEAZ İNHİBİTÖRLERİ	PI	ATV/r					
		DRV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV					
		SQV/r					
		TPV/r					

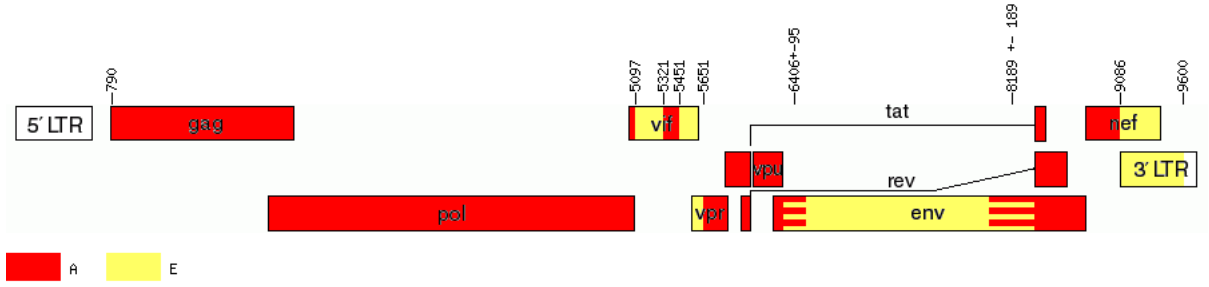
Tablo 4-6: Direnç geliştiren mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı

			HASTA NO				
			16	17	18	19	20
REVERZ TRANSKRİPTAZ İNHİBİTÖRLERİ	NRTI	3TC					
		ABC					M41L, T215S
		AZT					M41L, T215S
		D4T					M41L, T215S
		DDI					M41L, T215S
		FTC					
		TDF					M41L, T215S
	NNRTI	DLV					
		EFV					
		ETR					
		NVP					
PROTEAZ İNHİBİTÖRLERİ	PI	ATV/r					
		DRV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV					
		SQV/r					
		TPV/r					

Başarısız PZR	Yüksek Direnç	Orta Direnç	Düşük Direnç	Duyarlı	Düşük Direnç Potansiyelli
------------------	------------------	----------------	-----------------	---------	---------------------------------

Referans Suş: CM240

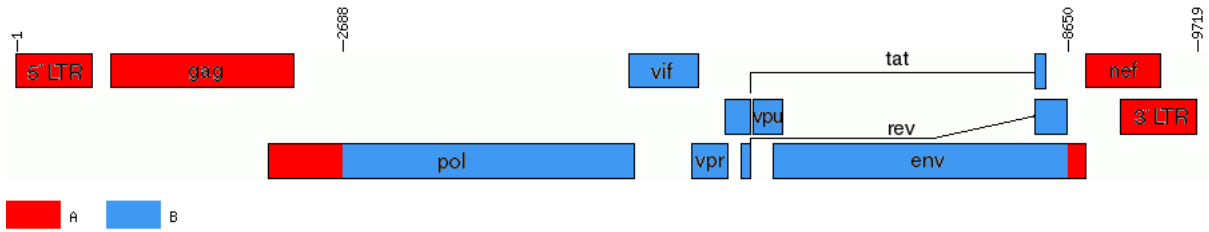
Subtipler: A, E



Şekil 4-1: CRF01_AE Subtipinin Genomik Organizasyonu

Referans Suş: Kal153

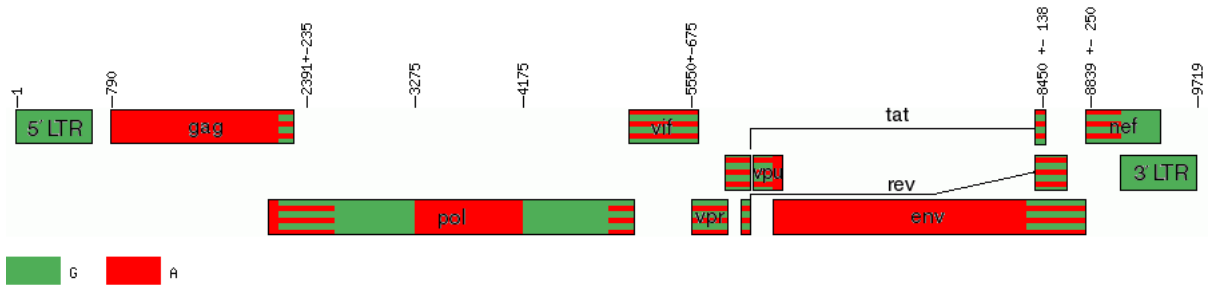
Subtipler: A, B



Şekil 4-2: CRF03_AB Subtipinin Genomik Organizasyonu

Referans Suş: IbNG

Subtipler: A, G



Şekil 4-3: CRF02_AG Subtipinin Genomik Organizasyonu

5. TARTIŞMA

Kombine antiretroviral tedavi ile virusun tam olarak vücuttan atılması mümkün olmasa da, virus baskı altında tutularak HIV enfeksiyonunu bağlı mortalite ve morbiditeyi büyük ölçüde azaltmıştır. Ancak, HIV-1'in tedavisinde kullanılan antiretroviral ilaçlara karşı gelişen direnç, HIV-1'in başarılı tedavisinde karşılaşılan en önemli sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (121).

Çocukların tedavileri süresince karşılaşılan zorluklar ve direnç gelişimi viral başarısızlığa sebep olma riski açısından yetişkinlerinkine oranla çok daha vahimdir (104).

HAART uygulaması altındaki HIV pozitif Afrikalı çocuklarda direnç gelişimi üzerine yapılan çalışmalara göre (100, 101, 102, 103) her çocuk için tedavide kullanılan ilaçlardaki farklılıktan ötürü (2 NRTI ve 1 PI veya 1 NNRTI) farklı çalışmalardaki saptanan direnç gelişimlerini yada olasılıklarını birbirleriyle karşılaştırmak ve bir sonuç çıkarmak oldukça güçtür. Genellikle çocuklarda viral yük baskılanmasına karşın NRTI and NNRTI direnci sıklıkla tespit edilmektedir (99).

Brezilya'da yapılan bir çalışmaya göre tedavi görmemiş yada annesinin hamileliği döneminde profilaksi almış 24 çocuk hasta ile tedavi görmüş ve saptanabilir viral yükü olan 23 çocuk hastaya 2000-2004 yılları arasında bir hastanede tedavi uygulanmıştır (105).

Çalışmanın sonunda hiç bir hastada başarılı bir sonuç elde edilememiş, viral yük baskılanamamıştır. Bu durumun nedenleri araştırılırken 24 naif-çocuk hastada antiretroviral ilaçlara karşı hassasiyeti azaltacak genotipik bir veri bulunamamış, yalnız birinde NRTI tedavisinin geliştirdiği tipik K219N RT mutasyonu gözlemlenmiştir. Tedaviyi olumsuz yönde etkilemeyen bu mutasyonun ARV tedavisinin seçici etkisi altında mı yoksa çocukta 'genetik drift' (genetik sürüklenme) sonucu mu oluştuğu bilinmemektedir. Aslında çocuklardaki mutasyonların, yetersiz ARV tedavisi gören ve hamileliklerinde başarısız profilaksi alan annelerindeki dirençli virus suşların sebebiyle oluştuğu düşünülmektedir (105, 106, 107).

24 naif-çocuk hastanın HIV pozitif tanısı ortalama olarak 21.5 ayda konulmuştur. Tanının zamanında konulup etkin tedavinin başlanmaması sonucunda

yenidoğanın HIV ile infekte olması önlenebileceksen (110, 111) önlenememiş ve aynı zamanda yaşamının ilk yılında mortalite ve morbidite yüksek riskine maruz bırakılmıştır, gelişmemiş bağışıklık sisteminden dolayı hızlı HIV-1 gelişimi görülme riski yüksektir (109).

Gerçekte, 1999-2003 yılları arasında anneden bebeğine HIV enfeksiyonu geçişi yaklaşık olarak her yıl 2000 olguda görülürken bu sayı 2004-2005 yılları arasında 1100'e düşmüştür. 2004-2006 yılları itibarıyla yaklaşık olarak hamilelerin %63'ünde uygulanan HIV-1 direnç testleri ile anneden bebeğe geçiş %7'ye düşürülmüştür (112).

HAART rejimi ile antiretroviral tedavi görmüş 23 çocuk hastada ise %96 oranında NRTIs'ine, %61 NNRTI'ine ve %17 oranında PIs'ine direnç gelişimi gözlemlenmiştir. En sık rastlanan NRTIs mutasyonları RT'nin 41, 67, 184, 215 ve 219 pozisyonlarında, NNRTIs mutasyonları ise 103 ve 181 pozisyonlarındadır. PI mutasyonlarına sebep olan Proteaz pozisyonları ise 46, 54, 82 ve 90'dır (105, 106, 107).

41, 67, 215 ve 219'uncu pozisyonlardaki RT mutasyonları (TAMs) (Thymidine Analog Mutations) özellikle AZT (Azidothymidine) ve Stavudine varlığında ortaya çıkar ve M41L ve T215Y diğer bir TAM olan L210W ile kombine olarak Abacavir, Didanosin ve Tenofovir'e karşı direnç oluşumuna sebep olur (108).

Aynı çalışmada 46 çocuk hastanın infekte eden virus tiplendirmesi de yapılmıştır; %78.3 subtip B, %13 subtip F, %4.4 subtip B/F mozaik ve %4.3 ile Brezilya'da en yaygın fakat ülkenin güneyinde seyrek rastlanan subtip olan C belirlenmiştir (108).

Brezilya'da yapılan başka bir çalışmada NNRTI'lerine %60.8 (K103N %39.1), (Y181C %17.4) oranında direnç tespit edilen 12 çocuk hastanın NNRTIs tedavisi başarısızlıkla sonuçlanmıştır. NRTIs ve NNRTIs'in etkilerini arttırmak için tüm dünyada yaygın olarak kullanılan PI'lerinden Ritonavir ve Nelfinavir'e karşı gelişen %47.8 oranındaki başlıca direnç mutasyonları V82A, M46I ve L90M'dir. Bu sonuçlar Brezilya'da yapılan pediatrik kohort çalışmalarındakilerle uyumludur (108).

2001-2003 yılları arasında Paris'te Delaugerre ve ark. 119 çocuk hastanın RT ve proteaz gen bölgelerinin analizini yaptıkları çalışmaya göre en azından %82 oranında bir antiretroviral ilaç sınıfına , %32 ve %27 oranlarında ise sırasıyla iki ve üç sınıfa

direnç saptanmıştır, üç sınıfa birden gelişen direnç geliştiren erkek çocukların sayısı kızlara oranla çok daha fazladır (113).

Birinci basamak HAART alan çocuklarda direnç gelişimi ve viral başarısızlık ihtimali yetişkinlerinkinden düşük olmasına karşın her ikisi de sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Bağışıklık savunma mekanizması çocuklarda ilk yılın sonlarına doğru gelişmeye başlamasına rağmen, çoğu yetişkinler için hazırlanmış dozların ayarlanamaması, daha az seçenek olması, uygun olmayan formülasyonlar, önceden tahmin edilemeyen farmokinetik olaylar ve genetik barrierlerinin yüksek olması sonucu uyum eksikliği vb. nedenlerden dolayı ARV tedavi ve viral başarısızlık çocuklarda daha yüksektir (114).

Abidjan, Cote d'Ivoire'de 1998-2003 yılları arasında 2NRTIs ve 1NNRTIs veya Nelfinavir tedavisi uygulanan 134 çocukta %44 viral başarısızlık görülmüştür. Farklı bir çalışmada benzer sonuçlar alınmıştır. Uganda'da bir klinikte 2004-2005 yılları arasında 250 çocuğun %26'ında viral başarısızlık görülürken, 6 ay süresince d4T, 3TC ve nevirapine veya AZT, 3TC ve Efavirenz tedavisi gören 526 yetişkinin %14'ünde viral başarısızlık saptanmıştır. Yine başka bir çalışmada 2003 ve 2004 yıllarında 12 ay boyunca 2NRTIs ve 1NNRTIs kombine tedavi uygulanan Cambodian'lı çocuklarda %19 viral başarısızlık saptanmıştır. d4T, 3TC ve Nevirapine kombine tedavide CD4% <5 değerlerine sahip hastalardan erkek çocuklarda viral başarısızlık daha fazladır. Viral başarısızlığın önde gelen nedenlerinden biri antiretroviral ilaç direncidir (115).

Arjantin'de M Vignoles ve ark. 67 çocukta direnç analizi yaparken çocukları CDC immune kriterlerine göre üç yaş grubu olarak ele almışlardır: 20 çocuk 12 ayın altında, 22'si 1-5 yaşları arasında ve 25'i 6-14 yaş grubundadır. 67 çocuğun 14'ü B subtipi (%20.9) geri kalanı ise B/F subtipi (%79.1) ile infektidir. 67 çocuğun 6'sında en az bir ilaca karşı direnç gözlemlenmiştir (%8.95). 12 ayın altındaki çocuklarda %22.7 gibi yüksek bir direnç saptanmıştır. Çocukların yaşı arttıkça dirence oluşturan mutasyonlarda azalma görülmektedir. Bu da aslında dirençli virusların anneden bebeğine geçtiğini ortaya koymaktadır (107).

Virus'un yapısındaki genetik çeşitlilik hastaların tedaviye cevap vermelerinde etkili olabilir. Örneğin, HIV-1 grubundan O ve HIV-2 genetik olarak NNRTIs'ine dirençlidir (117, 118).

Tayland'da yapılan bir çalışmada E subtipi ile infekte olanların B subtipi ile infekte olanlara oranla daha yüksek viral yüke sahip oldukları rapor edilmiştir (119).

Uganda'da yapılan bir araştırmada HIV-1 A subtipi ile infekte kişilerde hastalık gelişimi D subtipine oranla daha yavaş ve ılımlı olduğu ileri sürülmüştür (120).

Farklı bir çalışmada hızlı kinetiğinden dolayı D subtipinde azalmış ilaç hassasiyeti olduğu, A, B, C ve E subtiplerinde ise ilaçlara karşı hassasiyetin korunduğu ileri sürülmüştür (122).

PENTA Trial 5 Grubunun Avrupa'da gerçekleştirdiği 113 çocuk hastanın katıldığı bir çalışmada virus subtipi ile tedaviye cevap verme ve mutasyon oluşturma arasındaki ilişki incelenmiştir ve B subtipinde olmayanların olanlara oranla daha fazla direnç geliştirdiği bildirilmiştir (117, 118).

Çalışmamızda İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Enfeksiyon Kliniği'nde HAART tedavisi gören, yaş ortalaması 7 olan 11 çocuk hasta ile civar hastanelerden elde ettiğimiz tedavi gördüklerini bildiren yaş ortalaması 14.8 olan adolesanlarda direnç gelişimi incelenmiştir.

20 çocuk hastanın da vertikal yolla infekte olduğu bilinmektedir ve sadece birine annesinin hamileliğinin üçüncü ayından sonra Zidavudine ile profilaksi uygulanmıştır, şimdi 3 yaşında olan bu hastanın ve profilaksi görmeyen 8 yaşındaki kardeşinin viral yükleri <50 kopya/ml olarak saptanmıştır. Dolayısıyla, Epivir, Retrovir ve Kaletra tedavisi gören bu hastalarda viral yük seviyeleri antiretroviral tedavisi ile elimizdeki Viroseq Sistemi ile saptanamayacak düzeye düşürüldüğünden direnç analizi ve subtiplendirme yapılamamıştır. Viral yük seviyesi <50 kopya/ml olan çocuk ve yetişkinlerde direnç belirlenmesinde daha hassas yöntemlerin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (94).

Çalışmamızda 2 NRTIs ve PIs tedavisi gören çocuk hastaların (ortalama yaş 10.9) %33'ünde en az bir antiretrovirale karşı oldukça yüksek direnç saptanmıştır. PENTA Trial 5 Grubunun çalışmasında olduğu gibi B subtipinden olmayanlar olanlara oranla daha çok direnç mutasyonu geliştirmişlerdir. M.Vignoles ve ark.'nın çalışmalarındaki gibi yaşı küçük hastalarda direnç gelişimi daha fazla olarak belirlenmiştir (107).

1 ve 3 nolu hastalarda M184V 3TC ve FTC’de in vitro dirence, DDI ve ABC’de in vitro düşük dirence sebep olur. AZT, TDF ve D4T’de hassasiyeti arttırır. 9 ve 10 nolu hastalarda D67N 3TC ve FTC dışındaki tüm NRTIs’larda değişen oranlarda dirence neden olur. Genelde 70 ve 215 pozisyonundaki mutasyonlarla ortaya çıkar. K70R AZT, D4T ve belki TDF direnci oluşturabilir. K219Q eğer K70R ile birlikteyse AZT ve D4T hassasiyetini azaltabilir. Y181C NVP ve DLV’de yüksek, EFV’de düşük dirence sebep olur. 12 ve 20 nolu hastalarda ortaya çıkan M41L mutasyonu aslında T215Y mutasyonu ile birlikte ortaya çıkar ve hastamızda olduğu gibi AZT ve D4T’de yüksek dirence sebep olurken ABC ve TDF’de düşük direnç izlenir. T215S/C/D/I/V yabanıl tipten Y/F mutasyonlu tipe doğru geçiş dönemi mutasyonlarıdır. 6 nolu hastada NFV’e karşı minör mutasyon sebebiyle gelişen düşük direnç tespit edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü’nün verilerine göre hastanın o ilaca karşı dirençli sayılabilmesi için en az bir majör mutasyon geliştirmesi dirençli sayılabilmesi için gerekli olduğundan bu hasta dirençli kategorisine alınmamıştır.

Beklentimize uygun olarak, hastaların %33.3’ünün B subtipi, %11.1’inin A₁, %11.1’inin CRF03_AB, %11.1’inin CRF 02_AG, %11.1’inin C, %5.5’inin CRF 01_AE ve %5.5’inin F₁ subtipi ile infekte oldukları belirlenmiştir.

A₁ subtipi ile infekte olan 2 hastada çoklu-ilaç direnci görülmüştür ve hastaların her üç sınıf antiretrovirale karşı geliştirdikleri mutasyonlar aynıdır. NRTIs’ine karşı D67N, K219Q mutasyonları, NNRTIs’ine A98G ve Y181C, PI karşı ise I154V, V82A major, L90M ve L33F minör mutasyonlarını geliştirmişlerdir. M41L, M184V ve D67N NRTIs’ine karşı oluşan en tipik mutasyonlardır ve M41L özellikle çalışmamızdaki hastalarımızda olduğu gibi stavudine tedavisinde (ve AZT) ortaya çıkar.

Aynı durum B subtipi ile infekte 2 hasta için de geçerli sayılabilir (Tablo 4-5 ve Tablo 4-6). İkisinde de NRTIs’ine M41L mutasyonunu varken, pozisyonu aynı olan direnç mutasyonlarından biri T215D iken diğeri T215S’dir. Bu hastalarda NRTIs’lara karşı çapraz-ilaç direnç gözlemlenmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçlar direnç mutasyonları ile virusun subtipi arasında yüksek derecede anlamlı bir ilişki olduğunu göstermesine rağmen bu kadar az hasta sayısı ile subtipin bunu etkileyebilecek bir faktör olduğunu söylemek mümkün gözükmemektedir.

Subtipleri farklı olan 2 hastada NRTIs’ine karşı gelişen tek mutasyon M184V’dir.

Rekombinant subtipler ile direnç gelişimi konusunda çalışmalar sürmektedir. Fakat bu konuda henüz kesin verilere ulaşamamıştır. Rekombinant suşların filogenetik çalışmalar vasıtasıyla epidemiyolojik verilere katkıları büyüktür.

Sonuçlarımıza göre direnç oluşturma oranı ve viral başarısızlık oranı açısından erkek ve kız hastalar açısından bir fark gözlenmemiştir. Tayland ve Uganda’da yapılan çalışmalardaki verilerin aksine çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre viral başarısızlık gösteren 2 hastadan biri B subtipi diğeri ile A₁ ile infektidir.

Bu çalışmayı yapmaktaki amacımız tedavi gören çocuk hastalarda belli antiretroviral sınıflara karşı gelişen mutasyonların oranını belirlemek ve direnç mutasyonlarının etkileşimleri sonucu tedaviyi olumlu ve olumsuz etkileyen yönlerini gözlemlerken, HIV-1 subtipleri ile oluşan direnç mutasyonları ve HIV-1 enfeksiyonunun gelişimi arasında bir korelasyon olup olmadığını saptamaktır.

Ülkemizde HIV prevalansının düşük olduğu ve HIV-1 ile infekte çocuk sayısının diğer ülkelere göre oldukça az olduğu ve bu çalışmayı yaparken imkanlarımız nispetinde pek azına ulaşabildiğimiz ve verilen bilgileri doğru kabul ettiğimiz göz önünde bulundurulmalıdır.

Gerçekten anlamlı değerlere ulaşmak için aynı çalışmanın çocuk hasta sayısının artırılarak tekrar edilmesi uygun görülmektedir. Dolayısıyla, 20 çocuk hastada sonuçların yüzde verilerek değerlendirilmesi anlamlı görünmemektedir. Çalışmaya çocukların annelerinin de dahil edilerek her ikisindeki dirençli suşların karşılaştırılması, anneden bebeğe dirençli suş aktarımı olduğunun gösterilmesi ve gerekli önlemlerin alınması açısından önemli bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Aralık 2010 , (DSÖ)/UNAIDS, Adult and Children estimated to be living with HIV 2009. <http://www.unaids.org/en/dataanalysis/epidemiology/epidemiologyslides/>.
2. Adje-Toure C, Hanson DL, Talla-Nzussouo N, et al.: Virologic and immunologic response to antiretroviral therapy and predictors of HIV type 1 drug resistance in children
3. Adler MW. ABC of Aids: Development of the epidemic. *BMJ* 2001;**322**:1226-9.
4. Almedia FJ, Berezin EN, Rodrigues R, Safadi MA, Arnoni MV, Oliveira C, et al. Diversity and prevalence of antiretroviral genotypic resistance mutations among HIV-1 infected children. *J Pediatr (Rio J)*. 2009; **85**(2):104-9.
5. Altfeld M, Walker BD. Acute HIV-1 Infection In: Hoffmann C, Rockstroh JK, Kamps BS, eds. *HIV Medicine 2006*, Flying Publisher, 33-9. www.HIVMedicine.com
6. Arriga ME, Carr J, Li P, Wang B, Saksena NK. Interaction Between HIV-1 and APOBEC3 Subfamily of Proteins. *Curr HIV Res* 2006;**4**:401-9.
7. Artenstein, A. W., Coppola, J., Brown, A. E., Carr, J. K., Sanders-Buell, E., Galbarini, E. et al. (1995). Multiple introductions of HIV-1 subtype E into the western hemisphere. *Lancet* **346**, 1197–8.
8. Auvert B, Taljaard D, Lagarde E, et al. Randomized, controlled intervention trial of male circumcision for reduction of HIV infection risk: The ANRS 1265 Trial. *PLoS Med* 2005;**2**:e298
9. Baggaley RF, Boily MC, White RG, Alary M. Risk of HIV-1 transmission for parenteral exposure and blood transfusion: A systematic review and meta-analysis. *AIDS* 2006;**20**:805-12.
10. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a Tlymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;**220**:868-71.
11. Bikandou, B., Takehisa, J., Mboudjeka, I., Ido, E., Kuwata, T., Miyazaki, Y. et al. (2000). Genetic subtypes of HIV type 1 in Republic of Congo. *AIDS Research and Human Retroviruses* **16**, 613–9.
12. Bolton-Moore C, Mubiana-Mbewe M, Cantrell RA et al. Clinical outcomes and CD4 cell response in children receiving antiretroviral therapy at primary health care facilities in Zambia. *JAMA*. 2007;**298**:1888-99.

13. Borkowsky W, Krasinski K, Pollack H, et al. Early diagnosis of human immunodeficiency virus infection in children < 6 months of age: Comparison of polymerase chain reaction, culture and plasma antigen capture techniques. *J Infect Dis* 1992;**166**:616.
14. Brazillian Ministry of Health, Health surveillance Secretariat National prog on AIDS
http://data.unaids.org/pub/report/2008brazil_2008_country_progress_report_en.pdf.
 Access:05/03/2008.
15. Brigitte, P., Griffith, Sheldon C., Mayo, R. D. RNA viruses, *HIV* **9**, 1308.
16. Buchbinder SP, Vittinghoff E, Heagerty PJ, et al. Sexual risk, nitrite inhalant use, and lack of circumcision associated with HIV seroconversion in men who have sex with men in the United States. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;**39**:82-9.
17. Centers for Disease Control and Prevention. 1994 Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR* 1994;**43**(No.RR-12):1-10.
18. Chaix ML, Rouet F, Kouakoussui KA, et al.: *Genotypic human immunodeficiency virus type 1 drug resistance in highly active antiretroviral therapy-treated children*.
19. Ciesielski C, Marianos D, Ou CY, et al. Transmission of human immunodeficiency virus in a dental practice. *Ann Intern Med* 1992;**116**:798-805.
20. Claudia Palladino, Jose M. Bello'n, Inmaculada Jarri'n, Maria Dolores Gurbindo, M. Isabel De Jose'. *Impact of Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) on AIDS and Death in a Cohort of Vertically HIV Type 1-Infected Children: 1980–2006*.
21. Cleghorn FR, Reitz Jr MS, Popovic M and Gallo RC. Human immunodeficiency viruses. In: Mandell GL, Bennett JE and Dolin R eds. *Principles and Practica of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier, Churchill, Livingstone; 2005. p.2119-33.
22. Clinical and Diagnostic Virology G. Kudesia, Wreghitt T., Cambridge University Press, 2009, p57-p58.
23. Colson AE, Sax PE. Primary HIV-1 infection: Pathogenesis; epidemiology and clinical manifestations. 2007 Up To Date (http://www.utdol.com/utd/content/topic.do?topicKey=hiv_infe/8031&type=A&selectedTitle=8~602; erisim tarihi: 29.09. .2007)
24. Cunningham CK, Charbonneau TT, Song K, et al. Comparison of human immunodeficiency virus 1 DNA polymerase chain reaction and qualitative and

- quantitative RNA polymerase chain reaction in human immunodeficiency virus 1-exposed infants. *Ped Infect Dis J* 1999;**18**:30-5.
25. Daar ES, Little S, Pitt J, et al. Diagnosis of primary HIV-1 infection. Los Angeles County Primary HIV Infection Recruitment Network. *Ann Intern Med* 2001;**134**:25-9.
 26. Deenan Pillay, A. Sarah Walker, Diana M. Gibb, Anita de Rossi, Steve Kaye, Mounir Ait-Khaled, Maria Mun˜ oz-Fernandez, and Abdel Babiker, for the Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA).
 27. Delaporte, E., Janssens, W., Peeters, M., Buve, A., Dibanga, G., Perret, J. L. et al. (1996). Epidemiological and molecular characteristics of HIV infection in Gabon, 1986–1994. *AIDS* **10**, 903–10.
 28. Dr. Toprak D., Dr. Bakır M., Pediatrik HIV enfeksiyonu ve AIDS. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2007, 3(**28**):100-120.
 29. Descamps D, Collin G, Letourneur F, et al. Susceptibility of HIV-1 group O isolates to antiretroviral agents: in vitro phenotypic and genotypic analyses. *J Virol* 1997; **71**:8893–8.
 30. Dorak MT, Tang J, Penman-Aguilar A, et al. Transmission of HIV-1 and HLA-B allele-sharing within serodiscordant heterosexual Zambian couples. *Lancet* 2004;**363**:2137-9.
 31. Dunn DT, Brandt CD, Kirvine A, et al. The sensitivity of HIV-1 DNA polymerase chain reaction in the neonatal period and the relative contributions of intra-uterine and intra-partum transmission. *AIDS* 1995;**9**:F7-11.
 32. Dunn DT, Newell ML, Ades AE, Peckham CS. Risk of human immunodeficiency virus type 1 transmission through breastfeeding. *Lancet* 1992;**340**:585-8.
 33. Easterbrook P, HIV drug resistance in HIV-infected children, *Jornal de Pediatria*-Vol.**85**, No.2, 2009.
 34. Elective caesarean-section versus vaginal delivery in prevention of vertical HIV-1 transmission: A randomised clinical trial. The European Mode of Delivery Collaboration. *Lancet* 1999;**353**:1035-9.
 35. Eshleman SH, Hoover DR, Chen S, Hudelson SE, Guan LA, Mwatha A, et al. Resistance after single-dose nevirapin prophylaxis emerges in a high proportion of Malawian newborns, *Aids*.2005;**19**:2167-9.
 36. Essex, M., Mboup, S., Kanki, P. J., Marlink, P. J. & Tlou, S. D., Eds, pp. 200–17. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY, USA.
 37. Freed EO. HIV-1 replication. *Somatik Cell and Molecular Genetics* 2001;**26**:13-33.

38. Futterman DC. HIV and AIDS in adolescents. *Adolescent Medicine Clinics* 2004;15.
39. Gao F, Bailes E, Robertson DL et al. Original HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes*. *Nature* 1999;397: 436-41.
40. Garcia PM, Kalish LA, Pitt J, et al. Maternal levels of plasma human immunodeficiency virus type 1 RNA and the risk of perinatal transmission. Women and Infants Transmission Study Group. *N Engl J Med* 1999;341:394-402.
41. George JR, Schochetman: *Detection of HIV infection using serologic techniques.*”Schochetman G, George JR, eds. AIDS testing, New York: Springer Verlag; 1994. p. 62.
42. Gibb DM, Duong T, Tookey PA, et al. National study of HIV in pregnancy and childhood collaborative HIV Pediatric Study. Decline in mortality, AIDS and hospital admissions in perinatally HIV infected children in the United Kingdom and Ireland. *BMJ* 2003;327:1019.
43. Gody JC, Charpentier C, Mbitikon O, et al.: High prevalence of antiretroviral drug resistance mutations in HIV-1 non-B subtype strains from African children receiving antiretroviral therapy regimen according to the 2006 revised WHO recommendations (Letter). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;49:566–570.
44. Goff SP. *Introduction to Retroviruses.* In: Wormser GP, ed. AIDS and Other Manifestations of HIV Infection. Elsevier (USA); 2004. p.57-93.
45. Goff SP. Retroviridae: *The retroviruses and their replication.* In: Knipe DM, Griffin DE, Lamb RA, Straus SE, Howley PM, Martin MA, Roizman B, eds. Field’s Virology Wolter Kluwer, Lipponcott Williams and Wilkins, USA; 2007. p.1999-2070.
46. Gray L, Newell ML, Thorne C, et al. Fluctuations in symptoms in human immunodeficiency virus-infected children: the first 10 years of life. *Pediatrics* 2001;108:116-22.
47. Gray RH, Wawer MJ, Brookmeyer R, et al. Probability of HIV-1 transmission per coital act in monogamous, heterosexual, HIV-1-discordant couples in Rakai, Uganda. *Lancet* 2001;357: 1149-53.
48. Greene WC, Peterlin BM. Molecular Insights Into HIV Biology. Last revised October 2005. Available online at: <http://hivinsite.ucsf.edu/InSite?page=02-01-01>.
49. Guatelli JC, Siliciano RF, Kuritzkes DR, Richman DD. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, eds. *Clinical Virology*. 1nd ed. Washington: ASM Press; 2002. p.685-93.

50. Hahn BM, Shaw GM, De Cock KM, Sharp PM. AIDS as a zoonosis. Scientific and Public Health implications. *Science* 2000;**287**:607-14.
51. Hecht FM, Busch MP, Rawel B, et al. Use of laboratory tests and clinical symptoms for identification of primary HIV infection. *AIDS* 2002;**16**:1119-29.
52. HIV Paediatric Prognostic Markers Collaborative Study Group. Short-term risk of disease progression in HIV-1-infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy: a meta-analysis. *Lancet* 2003;**362**:1605-11.
53. HIV prevalence, unrecognized infection, and HIV testing among men who have sex with men--five U.S. cities, June 2004-April 2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005;**54**:597-601.
54. HIV-1: Molecular Biology. Last accessed November 2007. Available online at: <http://www.binf.bio.uu.nl/BPA/HIVexplanation.pdf>.
55. <http://hivmedicine.com/textbook/testing.htm>:Preiser W:HIV testing, HIV medicine 2006. p.19.
56. <http://www.aidsinfo.nih.gov>.
57. <http://www.aids.map.gov>.
58. Hu DJ, Vanichseni S, Mastro TD, et al. Viral load differences in early infection with two HIV-1 subtypes. *AIDS* 2001; **15**:683–91.
59. Hymes KB, Cheung T, Greene JB, et al. Kaposi's sarcoma in homosexual men-a report of eight cases. *Lancet* 1981;**2**:598-600.
60. Janssens, W., Buve, A. & Nkengasong, J. N. (1997). The puzzle of HIV-1 subtypes in Africa. *AIDS* **11**, 705–12.
61. Janssens, W., Heyndrickx, L., Van de Peer, Y., Bouckaert, A., Fransen, K., Motte, J. et al. (1994). Molecular phylogeny of part of the env gene of HIV-1 strains isolated in Cote d'Ivoire. *AIDS* **8**, 21–6.
62. John B. Carter, Venetia A. Saunders, *Virology Principles and Applications*, John Wiley & Sons Ltd., (2007) Southern Gate, Chichester, P208.
63. John B. Carter, Venetia A. Saunders, *Virology Principles and Applications*, John Wiley & Sons Ltd., (2007) Southern Gate, Chichester, P209-P210.
64. John B. Carter, Venetia A. Saunders, *Virology Principles and Applications*, John Wiley & Sons Ltd., (2007) Southern Gate, Chichester, P201.
65. Kahn JO, Walker BD. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *New England Journal of Medicine* 1998;**339**: 33-9.

66. Kaleebu P, Ross A, Morgan D, et al. Relationship between HIV-1 Env subtypes A and D and disease progression in a rural Ugandan cohort. *AIDS* 2001; **15**:293–9.
67. Kalish, M. L., Baldwin, A., Raktham, S., Wasi, C., Luo, C. C., Schochetman, G. et al. (1995). The evolving molecular epidemiology of HIV-1 envelope subtypes in injecting drug users in Bangkok, Thailand: implications for HIV vaccine trials. *AIDS* **9**, 851–7.
68. Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men--New York City and California. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1981;**30**:305-8.
69. Kassutto S, Rosenberg ES. Primary HIV type 1 infection. *Clinical Infectious Diseases* 2004;**38**:1447-53.
70. Kleinman S. The significance of HIV-1 indeterminate Western blot results in blood donor populations. *Arch Pathol Lab Med* 1990;**114**:298-303.
71. Kleinman S. Transfusion transmitted HIV infection and AIDS. In: Rose BD, ed. UpToDate. Waltham MA: UpToDate 2007.
72. Korber B, Muldoon M, Theiler J, et al. Timing the ancestor of the HIV pandemic strains. *Science* 2000;**288**:1789-96.
73. Korber B, Muldoon M, Theiler J, et al. Timing the ancestor of the HIV pandemic strains. *Science* 2000;**288**:1789-96.
74. Krogstad P. Molecular Biology of the Human Immunodeficiency Virus: Current and Future Targets for Intervention. *Seminars in Ped Infect Dis* 2003;**4**:258-68.
75. Lackritz EM, Satten GA, Berle-Grasse J, et al. Estimated risk of transmission of the human immunodeficiency virus by screened blood in the United States. *N Engl J Med* 1995;**333**:1721-5.
76. Lambert JS, Harris DR, Stiehler ER, et al. Performance characteristics of HIV-1 culture and HIV-1 DNA and RNA amplification assays for early diagnosis of perinatal HIV-1 infection. *J Acquir Immune defec Syndr* 2003;**34**:512-9.
77. Leal E, Janini M, Diaz RS. Selective Pressures of HIV-1 during Pediatric Infection. *Infect Genet Evol.*2007;**7**:694-707.
78. Lemey P, Pybus OG, Wong B, Saksena NK, Salemi M, Vandamme AM. Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 2003;**100**:6588-92.
79. Lever AM. HIV: The virus. *Medicine* 2005;**6**:1-7.
80. Lot F, Segulier JC, Fegueux S, et al. Probable transmission of HIV from an orthopedic surgeon to a patient in France. *Ann Intern Med* 1999;**130**:1-6.

81. Lwembe R, Ochieng W, Panikulam A, et al.: Anti-retroviral drug resistance-associated mutations among non-subtype B HIV-1-infected Kenyan children with treatment failure. *J Med Virol* 2007;**79**:865–872.
82. Mandelbrot L, Le CJ, Berrebi A, et al. Perinatal HIV-1 transmission: Interaction between zidovudine prophylaxis and mode of delivery in the French Perinatal Cohort. *JAMA* 1998;**280**:55-60.
83. Markowitz M, Louie M, Hurley A, et al. A novel antiviral intervention results in more accurate assessment of HIV type 1 replication dynamics and T-cell decay in vivo. *J Virol* 2003;**77**:5037-8.
84. Masur, H., M. A. Michelis, J. B. Grene, I. Onorato, R. A. Stouwe, R. S. Hoizman, G. Wormser, L. Breilman, M. Inage, H. W. Murray, S. Cunningham-Rundles. 1981. An outbreak of community-acquired *Pneumocystis carinii* pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction. *N. Engl. J. Med.* **305**:1431-1438.
85. McConnell MS, Byers RH, Frederick T et al. Trends in antiretroviral therapy use and survival rates for a large cohort of HIV-infected children and adolescents in the United States, 1989-2001. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;**38**:488-94.
86. McIntosh K, Pitt J, Brambilla D, et al. Blood culture in the first 6 months of life for the diagnosis of vertically transmitted human immunodeficiency virus infection. The Women and Infants Transmission Study Group. *J Infect Dis* 1994;**170**:996-1000.
87. Mellors JW, Kingsley LA, Rinaldo CR, Jr., et al. Quantitation of HIV-1 RNA in plasma predicts outcome after seroconversion. *Ann Intern Med* 1995;**122**:573-9.
88. Mete B, Tabak F, Opportunistic infections in HIV-infected patients. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2007, **3**(28):54-61.
89. Miles SA, Balden E, Magpantay L, et al. Rapid serologic testing with immune complex-dissociated HIV p24 antigen for early detection of HIV infection in neonates. *N Engl J Med* 1993;**328**:297
90. Monika Hermankova, Stuart C. Ray, Christian Ruff. HIV-1 Drug Resistance Profiles in Children and Adults with Viral Load of <50 copies/ml Receiving Combination Therapy. *JAMA*, July 11, 2001—Vol **286**, No. 2 (Reprinted).jama.ama-assn.org
91. Nature Review/Drug Discovery
92. Paladin, F. J., Monzon, O. T., Tsuchie, H., Aplasca, M. R., Learn, G. H., Jr & Kurimura, T. (1998). Genetic subtypes of HIV-1 in the Philippines. *AIDS* **12**, 291–300.

93. Palmer, S., Alaeus, A., Albert, J. & Cox, S. (1998). Drug susceptibility of subtypes A, B, C, D, and E human immunodeficiency virus type 1 primary isolates. *AIDS Research and Human Retroviruses* **14**, 157–62.
94. Panteleo G, Graziosi C, Fauci AS: New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl. J. Med.*1993;**328**:327.
95. Phair JP, Wolinsky S. Diagnosis of infection with the human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1992;**15**:13-6.
96. Piot, P. & Bartos, M. (2002). *The epidemiology of HIV and AIDS*. In AIDS in Africa, 2nd edn.
97. Povolotsky J, Gold JW, Chein N, Baron P, Armstrong D. Differences in HIV-1 anti-p24 reactivities in serum of HIV-1infected and uninfected subjects: Analysis of indeterminate Western blot reactions. *J Infect Dis* 1991;**163**:247-51.
98. Prof. Dr. Aygen Tümer HIV/AIDS Epidemiyolojisi ve Korunma Hacettepe Üniversitesi AIDS Tedavi ve Araştırma Merkezi (HATAM).
99. Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, et al. Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group. *N Engl J Med* 2000;**342**:921-9.
- 100.Quinn TC. Viral load, circumcision and heterosexual transmission. *Hopkins HIV Rep* 2000;**12**:1,5,11.
- 101.Quinones-Mateu, M. E. & Arts, E. J. (1999). Recombination in HIV-1: update and implications. *AIDS Reviews* **1**, 89–100.receiving treatment in Abidjan, Cote d’Ivoire. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008;**24**:911–917.
- 102.Robert W. Shafer, The challenge of antiretroviral drug resistance in HIV-1 infected children, *Jornal de Pediatria*, 2009 by Sociedade Brasileira de Pediatria.
- 103.Rogers MF, Schochetman G. *HIV infection in children*. In:Schochetman G, George JR, eds. AIDS testing. New York:Springer Verlag; 1994. p. 266
- 104.Rubbert A and Behrens G. Pathophysiology der HIV-Enfekstion. In: Hoffmann, Rockstroh and Stainhauser, eds. HIV-Net 2007. Available online at: <http://www.hiv.net/hivnet2007.pdf>.
- 105.Schleupner CJ: *Detection of HIV-1 infection*. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed. New York: Churchill Livingstone; 1995. p.1253.
- 106.Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. *N Engl J Med* 1996;**334**:1685-90.

107. Shafer RW. Genotypic Testing for HIV-1 Drug Resistance. In: Peiper L, Coffey S, Volberding PA, eds. HIV InSite Knowledge Base (textbook online); San Francisco: UCSF Center for HIV information; April 2004. Accessed April 2006. Available online at hivinsite.ucsf.edu/InsSite?page=KB.
108. Sharp, P. M., D. L. Robertson, D. L. Gao, B. H. Hahn. 1994. Origins and diversity of human immunodeficiency viruses. *AIDS* **8**:S27-S42.
109. Shearer WT, Quinn TC, LaRussa P, et al. Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1. Women and infants Transmission Study Group. *N Engl J Med* 1997;**336**:1337-42.
110. Sierra S, Kupfer B and Kaiser R. Basics of Virology of HIV-1 and its Replication. *J Clin Virol* 2005;**34**:233-44.
111. Simon, F., Mauclore, P., Roques, P., Loussert-Ajaka, I., Muller-Trutwin, M. C., Saragosti, S. et al. (1998). Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nature Medicine* **4**, 1032–7.
112. Stringer EM, Chi BH, Chintu N, Creek TL. Monitoring effectiveness of programmes to prevent mother-to-child HIV transmission in lower income countries. 2008;**86**:57-62.
113. Succi RC, Figueiredo EN, Zanatta Lde C. Evaluation of prenatal care at basic health units in the city of Sao Paulo. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2008;**16**:986-92.
114. Şemsettin Ustaçelebi *İnsan İmmün Yetmezlik Virusları (HIV) Yapı ve Özellikleri ve Tanıda Kullanılan Laboratuvar Testleri*, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.
115. T.C. Sağlık Bakanlığı (2010, Haziran) yaşa ve cinsiyete göre HIV/AIDS olgularının dağılımı.
116. T.C. Sağlık Bakanlığı (2010, Haziran) Türkiye’de HIV/AIDS olgularının yıllara göre dağılımı.
117. T.C. Sağlık Bakanlığı (2010, Haziran) Türkiye’de HIV/AIDS olgularının bulaşma yollarına göre dağılımı.
118. Tantillo C, Ding JP, Jacobomolina A, et al. Location of anti-AIDS drug binding sites and resistance mutations in the 3-dimensional structure of HIV-1 reverse transcriptase: implications for drug inhibition and resistance. *J Mol Biol* 1994;**243**:369–87.
119. The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1--a meta-analysis of 15 prospective cohort studies. The International Perinatal HIV Group. *N Engl J Med* 1999;**340**:977-87.

120. Toure-Kane, C., Montavon, C., Awa Faye, M., Gueye, P. M., Sow, P. S., Ndoeye, I. et al. (2000). Identification of all HIV type 1 group M subtypes in Senegal, a country with low and stable seroprevalence. *AIDS. Research and Human Retroviruses* **16**, 603-9.
121. Triques, K., Bourgeois, A., Saragosti, S., Vidal, N., Mpoudi-Ngole, E., Nzilambi, N. et al. (1999). High diversity of HIV-1 subtype F strains in Central Africa. *Virology* **259**, 99–109.
122. Triques, K., Bourgeois, A., Vidal, N., Mpoudi-Ngole, E., Mulanga-Kabeya, C., Nzilambi, N. et al. (2000). Near-full-length genome sequencing of divergent African HIV type 1 subtype F viruses leads to the identification of a new HIV type 1 subtype designated K. *AIDS Research and Human Retroviruses* **16**, 139–51.
123. Turner BG and Summers MF. Structural Biology of HIV. *J Mol Biol* 1999, 285:1-32.
124. Vignoles M, Barboni G, Agosti MR, Quarleri J, Garcia MK, Giraudi V, et al. High frequency of primary mutations associated with antiretroviral drug resistance in recently diagnosed HIV-infected infants born in the United States. *J Infect Dis.* 2007;**195**:1402-10.
125. Walter EB, McKinney RE, Lane BE, et al. Interpretation of Western blots in HIV-1 infected children: Implications for prognosis and diagnosis. *J Pediatr* 1990;**117**:255.
126. Wang WK, Chen MY, Chuang CY, Jeang KT, Huang LM. Molecular Biology of Human Immunodeficiency Virus Type 1. *J Microbiol Immunol Infect* 2000;**33**:131-40.
127. Wasserheit JN. Epidemiological synergy. Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases. *Sex Transm Dis* 1992;**19**:61-77.
128. Wawer MJ, Gray RH, Sewankambo NK, et al. Rates of HIV-1 transmission per coital act, by stage of HIV-1 infection, in Rakai, Uganda. *J Infect Dis* 2005;**191**:1403-9.
129. Weiss RA. Wrangham RW. From Pan to Pandemic. *Nature* 1999;**397**:385-6.
130. Wilber JC. *HIV antigen testing*. In: Cohen PT, Sante MA, Volberding PA, eds. The AIDS Knowledge Base”. Little Brown and Company; 1994. p.2.3-1.
131. William I. Towler, Linda Barlow-Mosha, Jessica D. Church. *Analysis of Drug Resistance in Children Receiving Antiretroviral Therapy for Treatment of HIV-1 Infection in Uganda*.

132. Yeh CK, Handelsman B, Fox PC, Baum BJ. Further studies of salivary inhibition of HIV-1 infectivity. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1992;5:898-903.

FORMLAR

Etik Kurul Kararı

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ETİK DEĞERLENDİRME KOMİSYONU



Toplantı Tarihi : 07/09/2010

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Değerlendirme Komisyonu Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 05

Sorumlu araştırmacılığını Fakültemiz Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ali AĞAÇFIDAN'ın üstlendiği ve Yüksek Lisans Öğrencisi Özlem YOLDAŞ'ın yürüteceği 2010/580-132 dosya numaralı "HIV-1 Pozitif Pediatrik Hastalarda Virus Tiplendirmesi ve Direnç Belirlenmesi" başlıklı tez çalışması komisyonumuzca incelendi.

Etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İ.Ü. Farmakoloji ve Klinik Far. A.D.
Etik Değerlendirme Komisyonu Başkanı

Prof.Dr. Berrin UMMAN
İ.Ü. Kardiyoloji A.D. (Bşk. Yardımcısı)

Prof.Dr. Ahmet GÜL
İ.Ü. İç Hastalıkları A. D.

Prof.Dr. Oğuzhan ÇOBAN
İ.Ü. Nöroloji A. D.

Prof.Dr. Pınar SAİP
İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Prof.Dr. Rukiye Eker ÖMEROĞLU
İ.Ü. Çocuk Sağ. ve Hast. A. D.

Uzm.Dr. Ahmet Rıza URAS (T.Katılmadı)
Vakıf Gureba E. ve Araş. Hst. Biyokimya

Doç.Dr. H. Hanzade DOĞAN
İ.Ü. Cerrahpaşa T.F. Deontoloji

Prof.Dr. Ayşen BULUT (T.Katılmadı)
Halk Sağlığı (Emekli)

Doç.Dr. Tufan TÜKEK
Vakıf Gureba E. ve Araş. Hst. İç Hast.

Prof.Dr. Ünal KUZGUN
Şişli Etfal Eğitim ve Araş. Hst. Ortopedi

Prof.Dr. Ahmet O. ARAMAN (T.Katılmadı.)
İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Dekanı

Prof.Dr. Demir TIRYAKI
Biyofizik (Emekli)

Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK
İstanbul Üniversitesi

M. Kerim AKMAN
İİBF İktisat Bölümü (Özel)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	ÖZLEM	Soyadı	YOLDAŞ
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	16.07.1967
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	33133791460
Email	yoldasozlem@gmail.com	Tel	535 478 14 74

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ	2011
Lisans	BOĞAZİÇİ ÜNİVERSİTESİ	2007
Lise	ŞEHREMİNİ ANADOLU LİSESİ	1984

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	92.5	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	87	85	85
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office 2010	iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri:

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kitap Okumak, Çeviri Yapmak, Tiyatro ve Sinema.