



**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalarında
Serum Proinflatuvar Sitokinler ve
Endoplazmik Retikulum Stresinin İncelenmesi**

**Dr. Hasan BAYKUŞ
UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**SİVAS
2024**



**T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalarında
Serum Proinflamatuvar Sitokinler ve
Endoplazmik Retikulum Stresinin İncelenmesi**

**Dr. Hasan BAYKUŞ
UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**Dr. Öğr. Üyesi Serkan BOLAT
DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ**

**SİVAS
2024**

ONAY SAYFASI

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Üye: Prof. Dr. Yavuz SİLİĞ

Üye: Doç. Dr. Halef Okan DOĞAN

Üye (Danışman): Dr. Öğr. Üyesi Serkan BOLAT

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

Prof. Dr. Hilmi ATASEVEN

Tıp Fakültesi Dekanı



Bu tez Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 10/02/2010 tarih ve 2010/1-2 sayılı kararı ile kabul edilen ve yürürlüğe giren "Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi"ne göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Tezin hazırlanması ve uzmanlık eğitimim dönemlerinde her zaman yanımda olan ve maddi, manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Serkan BOLAT'a,

Asistanlığım boyunca eğitimim için bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Yavuz SİLİĞ'e,

Uzmanlık eğitimimde klinik biyokimya adına bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Sayın Doç. Dr. Halef Okan DOĞAN'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde emekleri olan saygıdeğer hocalarım Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Sayın Prof. Dr. Sevtap BAKIR, Sayın Prof. Dr. Veysel Kenan ÇELİK ve Sayın Prof. Dr. Hüseyin AYDIN'a

Hastaların takibini yürüten ve tezin her aşamasında yardımcı olan Enfeksiyon Hastalıkları A.B.D. öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Seyit Ali BÜYÜKTUNA'ya

Tez projemize maddi destekte bulunan Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (CÜBAP)'ne

Asistanlık süresince hep beraber olduğum üniversite arkadaşım Asist. Dr. Fatih KARAHAN ve asistanlıkta tanıştığım dostum Uzm. Dr. Serkan POLAT'a,

Uzmanlık eğitimi süresince birlikte çalıştığım sevgili asistan hekim arkadaşlarıma,

Beni ve kardeşimi bu günlere getirmek için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan hem anne hem baba görevini korkmadan ve çok güzel bir şekilde üstlenen Sayın Meryem BAYKUŞ'a

Tanıştığımız günden beri en zor zamanlarımda yanımda olan ve uzmanlık sürecinde en büyük destekçim olup yardımlarını esirgemeyen hayat arkadaşım Uzm. Dr. H. Şeyma BAYKUŞ'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç biliyorum.

Dr. Hasan BAYKUŞ

SİVAS 2024

ÖZET

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalarında Serum Proinflamatuvar Sitokinler ve Endoplazmik Retikulum Stresinin İncelenmesi

Dr. Hasan BAYKUŞ,

Tıbbi Biyokimya A.B.D. Sivas 2024

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA), ateş ve kanamayla seyreden ve bölgemizde sık görülen zoonotik, viral bir hastalıktır. Hastaların bir kısmı hastalığı ağır atlatmakta ve ölümlerle sonuçlanmaktadır. Hastalığın patogenezi tam olarak bilinmemekte fakat düzensiz ve aşırı sitokin salınımı, hastalık şiddeti ve patogeneze ilişkilendirilmiştir. Virüslerin konak endoplazmik retikulumunda (ER) aşırı miktarda protein sentezleyerek ER stresine neden olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda KKKA ile proinflamatuvar sitokinler (IL-1 α , IL-7, IL-17A, IL-18) ve endoplazmik retikulum stresi belirteçleri (CHOP, EIF2 α , GRP78) arasındaki ilişkiyi açıklamaya amaçladık.

Çalışmamız 60 KKKA hastası ve 28 sağlıklı kontrolden oluşmaktadır. Hastalar, hastalık şiddeti ve mortalite durumlarına göre gruplandırıldı. Çalışma grubunun IL-1 α , IL-7, IL-17A, IL-18, GRP78, EIF2 α ve CHOP düzeyleri ELISA yöntemiyle, IL-6 düzeyi ECLIA yöntemiyle ile belirlendi.

IL-1 α , IL-6, IL-7, IL-18, GRP78, EIF2 α ve CHOP düzeyleri hastalarda yüksek bulundu. ROC analizi sonucunda hastalık tanısı için en iyi belirteçlerin IL-6, CHOP, EIF2 α ve IL-18 olduğu saptandı. Orta-ağır grupta IL-6, IL-17A, IL-18 ve CHOP düzeyleri, ölen hastalarda ise IL-6, IL-18 ve CHOP düzeyleri yüksek bulundu. Hastalık şiddeti veya mortalitenin belirlenmesinde IL-6, CHOP, IL-18 ve IL-17A testlerinin performansı anlamlıydı.

Artmış IL-1 α , IL-6, IL-7, IL-18, GRP78, EIF2 α ve CHOP seviyeleri, bu sitokinler ve ER belirteçlerinin KKKA patogenezinde önemli olduğunu göstermiştir. AUC değerleri en yüksek olan IL-6, CHOP, EIF2 α ve IL-18 testleri KKKA tanısında,

IL-6, CHOP ve IL-18 testleri ise hastalığın şiddeti ve mortalite tahmininde umut vaat eden biyobelirteçlerdir.

Anahtar kelimeler: KKKA, İnflamatuvar Sitokinler, Endoplazmik Retikulum Stresi



ABSTRACT

Investigation of Serum Proinflammatory Cytokines and Endoplasmic Reticulum Stress in Patients with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever

Dr. Hasan BAYKUŞ,

Department of Medical Biochemistry, Sivas 2024

Crimean Congo Haemorrhagic Fever (CCHF) is a zoonotic, viral disease characterised by fever and haemorrhage and frequently seen in our region. Some of the patients survive the disease severely and result in death. The pathogenesis of the disease is not fully known. Dysregulated and excessive cytokine release has been associated with disease severity and pathogenesis. Viruses are known to cause ER stress by synthesising excessive amounts of protein in the host endoplasmic reticulum (ER). In our study, we aimed to explain the relationship between CCHF and proinflammatory cytokines (IL-1 α , IL-7, IL-17A, IL-18) and endoplasmic reticulum stress markers (CHOP, EIF2 α , GRP78).

Our study consisted of 60 CCHF patients and 28 healthy controls. Patients were grouped according to disease severity and mortality status. IL-1 α , IL-7, IL-17A, IL-18, GRP78, EIF2 α and CHOP levels of the study group were determined by ELISA method and IL-6 level was determined by ECLIA method.

IL-1 α , IL-6, IL-7, IL-18, GRP78, EIF2 α and CHOP levels were found to be high in patients. As a result of ROC analysis, we found that IL-6, CHOP, EIF2 α and IL-18 were the best markers for the diagnosis of the disease. We found elevated levels of IL-6, IL-17A, IL-18 and CHOP in the moderate-severe group and elevated levels of IL-6, IL-18 and CHOP in the deceased patients. The performance of IL-6, CHOP, IL-18 and IL-17A tests was significant in determining disease severity or mortality.

Increased levels of IL-1 α , IL-6, IL-7, IL-18, GRP78, EIF2 α and CHOP showed that these cytokines and ER markers are important in the pathogenesis of CCHF disease. IL-6, CHOP, EIF2 α and IL-18 tests with the highest AUC values are

promising biomarkers in the diagnosis of CCHF, and IL-6, CHOP and IL-18 tests are promising biomarkers in the prediction of disease severity and mortality.

Keywords: CCHF, Inflammatory Cytokines, Endoplasmic Reticulum Stress



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Etken.....	3
2.1.3. Epidemiyoloji.....	4
2.1.4. Risk Faktörleri	6
2.1.5. Bulaş yolları.....	7
2.1.6. Klinik Bulgular	8
2.1.7. Patogenezi.....	10
2.1.8. Tanı	12
2.1.9. Ayırıcı Tanı.....	14
2.1.10. Prognoz.....	14
2.2. Proinflamatuvar Sitokinler	15
2.2.1. IL-1 α	16
2.2.2. IL-7.....	17
2.2.3. IL-17A	18
2.2.4. IL-18.....	18
2.3. Endoplazmik Retikulum	20
2.3.1. Endoplazmik Retikulum Stresi	20
2.3.1.1. PERK Sinyal Yolu.....	21

	x
2.3.1.2.ATF6 Sinyal Yolağı	22
2.2.1.3.IRE-1 Sinyal Yolağı.....	22
3. MATERYAL VE METHOD	25
3.1. Serum Örneklerinin Elde Edilmesi.....	25
3.2. Laboratuvar Ölçümleri.....	26
3.3. İstatistiksel Analiz	31
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
7. KAYNAKLAR.....	61



SİMGELER VE KISALTMALAR

ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
aPTT	: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATF	: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü
BSL-4	: Biyogüvenlik Seviyesi-4
CHOP	: C/EBP (CCAAT/Enhance Binding Protein) Homolog Protein
CK	: Kreatin Kinaz
CRP	: C-Reaktif Protein
CTGF	: Bağ Dokusu Büyüme Faktörü
DAMP	: Hasar İlişkili Moleküler Model
ĐİK	: Dissemine İnvasküler Koagülopati
dk	: Dakika
eIF2α	: Ökaryotik Başlatma Faktörü 2 α
ELISA	: Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analiz
ER	: Endoplazmik Retikulum
ERAD	: ER-İlişkili Bozunma
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
GİS	: Gastrointestinal Sistem
GRP78	: 78 kDa Ağırlığında Glukozla Düzenlenen Protein
HSGM	: Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü
IFA	: İndirekt Floresan Antikor
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmüoglobulin
IL	: İnterlökin
IRE-1	: İnositol Gerektiren Transmembran Kinaz-1(Endoribonükleaz-1)
kDa	: Kilodalton

KKKA	: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi
L	: Büyük
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
M	: Orta
NK	: Doğal Katil Hücreler
NLRP3	: Nod Benzeri Reseptör Pirin Alanı İçeren 3
NO	: Nitrik Oksit
NP	: Nükleokapsid Proteini
PERK	: Protein Kinaz Benzeri ER Kinazı
PT	: Protrombin Zamanı
RT-PCR	: Revers Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
S	: Küçük
SIRS	: Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta
Th17	: Yardımcı T 17 Hücresi
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
TRAIL	: TNF ve FAS İle İlişkili Apoptozisi İndükleyen Ligand
UPR	: Katlanmamış Protein Cevabı

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Şiddet derecelendirme puanı (SGS) sisteminin değişkenleri.....	15
Tablo 3.1. ELISA yönteminde kullanılan kitlerin üretici firma ve katalog bilgileri	26
Tablo 3.2. Kullanılan kitlerin duyarlık, ölçüm aralıkları, CV'si ve Standart konsantrasyonu... ..	26
Tablo 3.3. IL-1 α , IL-7, IL-18, GRP78, CHOP, EIF2 α ELISA testleri kutu içerikleri	27
Tablo 3.4. IL-17A ELISA testi kutu içeriği... ..	29
Tablo 4.1. Hastaların tanımlayıcı özellikleri... ..	32
Tablo 4.2. Kontrol ve hasta grupları arasında demografik veriler, proinflatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçlerinin karşılaştırılması... ..	33
Tablo 4.3. SGS'ye göre Hafif ve Orta-Ağır şiddetli hasta grupları arasında klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması	35
Tablo 4.4. SGS'ye göre Hafif ve Orta-Ağır şiddetli hasta grupları arasında hemogram parametrelerinin karşılaştırılması	36
Tablo 4.5. SGS şiddetine göre hasta grupları arasında klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması	38
Tablo 4.6. SGS şiddetine göre hasta grupları arasında hemogram parametrelerinin karşılaştırılması.....	39
Tablo 4.7. Başvuru anındaki klinik evreye göre hasta grupları arasında klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması	40
Tablo 4.8. Başvuru anındaki klinik evreye göre hasta grupları arasında hemogram parametrelerinin karşılaştırılması	42
Tablo 4.9. KKKA hastalarında sağkalım açısından klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması	43

Tablo 4.10. KKKA hastalarında sağkalım açısından hemogram parametrelerinin karşılaştırılması.....	44
Tablo 4.11. IL-18, IL-17A, IL-7, IL-1 α , EIF2 α , GRP78, CHOP ve IL-6 ile laboratuvar parametreleri arasındaki ilişkinin Spearman korelasyon analizi	46
Tablo 4.12. IL-18, IL-17A, IL-7, IL-1 α , EIF2 α , GRP78, CHOP ve IL-6 ile hemogram parametreleri arasındaki ilişkinin Spearman korelasyon analizi	47
Tablo 4.13. Proinflamatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçlerinin KKKA tanısındaki performansları.....	48
Tablo 4.14. Proinflamatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçlerinin KKKA şiddetinin (hafif ve orta-ağır) belirlenmesindeki performansları... ..	49
Tablo 4.15. Proinflamatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçlerinin sağkalımın belirlenmesindeki performansları... ..	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. KKKA virüsü yapısı	4
Şekil 2.2. T.C. Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre 2017 yılı Türkiye KKKA insidans haritası.....	5
Şekil 2.3. T.C. Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre yıllara göre Türkiye KKKA vaka sayıları.....	6
Şekil 2.4. Kırım Kongo Kanamalı Ateşinin klinik ve laboratuvar seyri.....	10
Şekil 2.5. Viral hemorajik ateş hastalıkları patogenezi.....	12
Şekil 2.6. KKKA hastalığının farklı evrelerinde laboratuvar testlerinin değişimi.	14
Şekil 2.7. Pro IL-18'in intrasellüler ortamda aktif forma dönüştürülmesi ve ekstrasellüler ortama salınması süreci.....	19
Şekil 2.8. ER stresine bağlı hücre ölümü	22
Şekil 2.9. ER stresine bağlı indüklenen apoptotik mekanizmalar	23
Şekil 2.10. Katlanmamış Protein Cevabı (UPR) Sinyal Yolu.....	24
Şekil 3.1. Standartların hazırlanması için örnek dilüsyon şeması... ..	28
Şekil 4.1. Kontrol ve hasta grupları arasında IL-6, IL-18, IL-7, IL-1 α , GRP78, CHOP ve EIF2 α parametrelerinin Box-plot grafikleriyle karşılaştırılması.....	34
Şekil 4.2. KKKA hastalarında IL-6, CHOP, IL-17A ve IL-18 parametrelerinin hastalık şiddetine göre Box-plot grafikleriyle karşılaştırılması.....	37
Şekil 4.3. KKKA hastalarında IL-6 ve CHOP parametrelerinin SGS şiddetine göre Box-plot grafikleriyle karşılaştırılması... ..	40
Şekil 4.4. KKKA hastalarında IL-6, CHOP ve IL-18 parametrelerinin sağkalım açısından Box-plot grafikleriyle karşılaştırılması... ..	45

Şekil 4.5. Proinflamatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçleri ile KKKA tanısında ROC analizleri... ..	48
Şekil 4.6. Proinflamatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçleri ile KKKA hastalık şiddeti belirlenmesinde ROC analizleri... ..	49
Şekil 4.7. Proinflamatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçleri ile KKKA sağkalımının belirlenmesinde ROC analizleri.....	50



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) hastalığı kanama ve ateşle seyreden, ülkemizde de görülen zoonotik bir hastalıktır. Etken Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Virüsü'dür. Bu virüs, Bunyaviridae ailesinin Nairovirüs cinsindendir. İnsanlara genellikle enfekte keneler aracılığıyla bulaşır. Enfekte insanların vücut sıvılarıyla temas sonucu da başka insanlara bulaşabilir. Türkiye'deki olgular genellikle Tokat, Sivas ve çevre illerde görülür. Yılın özellikle ilkbahar ve yaz aylarında görülmektedir [1].

KKKA virüsünün bulaş sonrası birkaç gün süren bir kuluçka dönemi vardır. Hastalık, ani başlayan ateş, bulantı, kusma, kas ağrısı gibi özgül olmayan semptomlarla başlayan prehemorajik dönemin ardından kanamayla giden hemorajik dönemle seyreder. Hastalık, hastaların bir kısmında iyileşmeyle seyrederken diğerlerinde ise ölümle sonuçlanır [2].

KKKA tanısı, akut enfeksiyonla uyumlu serolojik parametrelerin ölçülmesiyle veya virüsün doğrudan varlığının gösterilmesiyle konur [1, 3].

KKKA hastalığının patogenezi net olarak ortaya konulamamıştır. Bu konuyla ilgili farklı teoriler önerilmiştir. Bu hipotezlerin temelinde virüsün indirekt ve direkt yollarla oluşturduğu endotel hasarı yatmaktadır. Endotel hasarı sonucu proinflamatuvar sitokinler aşırı ve düzensiz salınır [4]. Sitokinler inflamasyon ve immün yanıtta rol alan moleküllerdir. İmmün cevabın baskılanması veya alevlenmesi yönünde etkileri vardır [5]. Proinflamatuvar sitokinler vasküler geçirgenlikte artma, vazodilatasyon ve sonrasında hipotansiyona sebep olur. Aşırı sitokin salınımı; dolaşım bozukluğu, organ yetmezliği, septik şok ve ölümle sonuçlanabilir [4].

Endoplazmik retikulum (ER) hücre içi önemli fonksiyonları olan bir organeldir. Bu önemli fonksiyonlar arasında protein sentezi ve taşınması, proteinlerin doğru bir şekilde katlanması ve bunun kontrol edilmesi vardır. ER'de protein akışındaki bir aksaklığa bağlı protein yapıları doğru bir şekilde katlanmazsa bu denge bozulur ve ER stresi denilen durum oluşur [6]. Bilimsel araştırmalar birçok hastalığın fizyopatolojisinde ER stresi mekanizmasının rol aldığını göstermiştir. ER stres

belirteçleri; metabolik, nörodejeneratif, enfeksiyon ve inflamasyonla giden birçok hastalık ve malignitelerde artmıştır [7].

KKKA hastalığı bölgemizde sık görülen zoonotik bir hastalıktır. Bu hastalık Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS) ile sonuçlanacak kadar şiddetli klinik gidişatlı olabilmektedir. Ağır seyirli hastalarda sitokin fırtınasının olduğu görülmektedir. Çalışmalarda bazı proinflamatuvar sitokinlerin arttığı gösterilmiş olsa da insanlardaki değişimi bilinmeyen belirteçler vardır. Ayrıca literatür, viral enfeksiyonlarda ER stres yollarının aktive olduğu bilgisine sahipken KKKA için detaylı araştırmalardan yoksundur. Dolayısıyla bu çalışma KKKA hastalarında proinflamatuvar sitokin (IL-1 α , IL-7, IL-17A, IL-18) ve antiapoptotik özellikteki endoplazmik retikulum stresi belirteç (CHOP, EIF2 α , GRP78) seviyelerinin hastalık sürecindeki değişimini açıklamayı hedeflemektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi

2.1.1. Tanım

Viral kanamalı ateşler, akut başlayan ateş ve kanamayla seyreden, virüslerin etken olduğu, ciddi klinik seyirli bir hastalık tablosudur. Viral kanamalı ateşlerin etkeni olan virüsler, Ebola, Lassa, Marburg, Sabia ve Kırım Kongo Kanamalı Ateşi virüsleridir [8].

KKKA etkeni olan RNA virüsü, Bunyaviridae ailesinin Nairovirus cinsindendir. Asya, Afrika ve Güney Doğu Avrupa başta olmak üzere birçok ülkede izole edilmiştir. Esas bulaş yolu enfekte kenelerin insanları ısırmasıyla olmaktadır. Ayrıca, viremik hayvanlara ait doku, kan ve vücut sıvılarının temasıyla ve nazokomiyal olarak da bulaşabilmektedir [8].

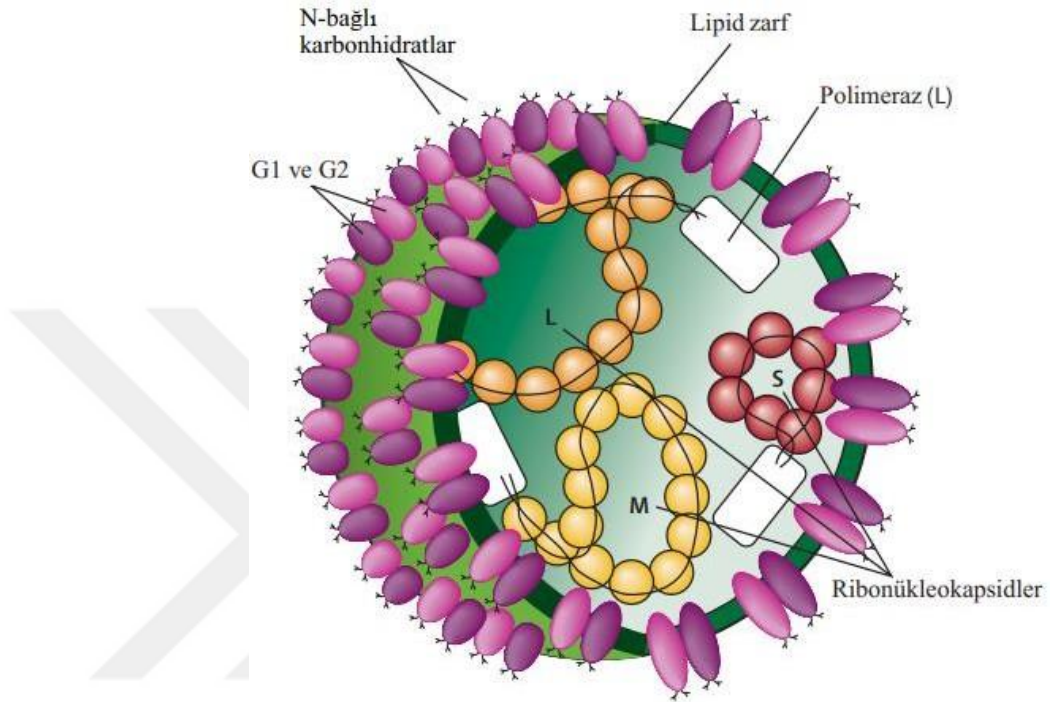
KKKA hastalığı genellikle subklinik gidişatlıdır. Semptomatik olan hastalarda akut ve sistematik bulgular görülür. Belirtileri özgül olmadığından diğer hastalıklardan ayrımı zor olmaktadır [9].

2.1.2. Etken

Hastalık etkeni olan KKKA virüsü, Bunyaviridae ailesindendir. Bu ailede Tospovirus, Orthobunyavirus, Phlebovirus, Hantavirus, Nairovirus ve Sınıflandırılmayan Bunyaviridae olmak üzere toplamda altı grupta 250'den çok virüs vardır. Ailenin önemli bir grubu olan Nairovirus cinsleri, kene kaynaklıdır ve yedi serogruba sınıflandırılmış 34 virüs içerir. KKKA serogrubu, KKKA virüsü ve Hazara virüsünü içerir [10].

Bunyaviruslar zarflı, negatif polariteli, tek iplikçiğe sahip RNA virüsleridir [11]. KKKA virüsünün elektron mikroskopundaki çapı ortalama 100 nm ve çevresindeki zarfın kalınlığı ise 5-7 nm'dir [12]. Virüsün sahip olduğu üç genom, dört yapısal protein sentezlemektedir. Virüsün G1 ve G2 glikoproteinleri, orta (M) segment; RNA-bağımlı RNA polimerazı (L-protein) büyük (L) segment ve

nükleokapsid proteini (NP) ise küçük segment (S) tarafından kodlanmaktadır [10]. G1 ve G2 glikoproteinleri yapısal özellikte olup çıkıntı şeklindedir, konak hücreye girişi ve tutunmayı sağlar. NP proteini ise RNA'yı korumak için RNA segmentiyle kompleks yapar.



Şekil 2.1. KKKA virüsü yapısı [8]

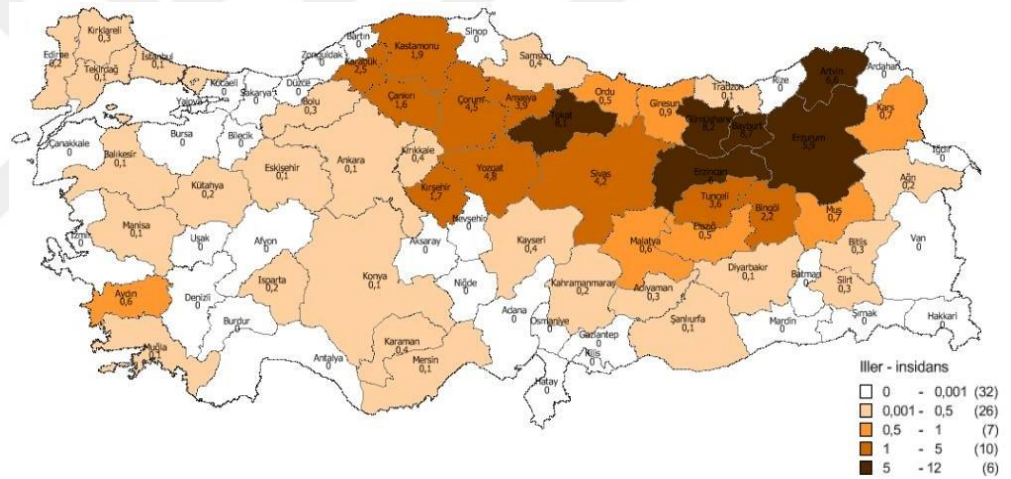
KKKA virüsü 56 °C'de 30 dakika (dk), 75 °C'de 5 dk'da inaktive olup, dış şartlarda yaşamaya dayanıklı değildir. Kanda 40 °C'de canlılığını 10 gün koruyabilmektedir. Diğer taraftan bu virüs düşük pH, ultraviyole, %1 hipoklorid ve %2 glutaraldehite duyarlıdır [13].

2.1.3. Epidemiyoloji

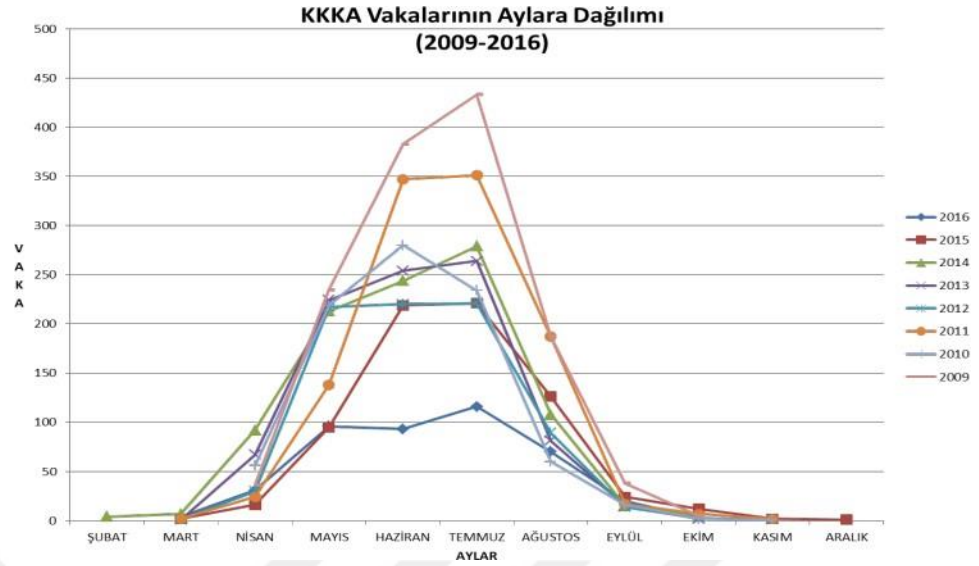
Dünyada viral kanamalı ateşler arasında en sık görüleni KKKA'dır. 1965'te Çin'de bir salgın yaşanmıştır fakat salgınla ilgili yeterince bilgi bulunmamaktadır. 1970'ten önceki KKKA vakalarının büyük bir kısmı Kırım, Tacikistan, Özbekistan, Kazakistan, Bulgaristan, Kongo ve Uganda gibi yerlerde bildirilmiştir. 2000 yılından sonra Kenya, Moritanya, Arnavutluk, Yunanistan, Pakistan, Bulgaristan, Yugoslavya,

İran ve Türkiye’de yeni salgınlar görülmüştür. KKKA Romanya ve Balkanlarda ise endemiktir [14].

Ülkemizdeki ilk vaka 2002 yılında Kelkit vadisindeki Tokat ilinde saptanmıştır. Vakaların ülkemizde sıklıkla görüldüğü iller; Tokat, Sivas, Çorum, Yozgat, Erzurum, Erzincan, Bayburt ve Gümüşhane’dir. Ayrıca bu illere ek olarak Karadeniz’in güney kesimlerinde de görülmektedir. T.C. Sağlık Bakanlığı’nın verilerine göre 2017 yılı Türkiye KKKA insidans haritası Şekil 2.2. de gösterildiği gibidir [15]. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (HSGM) verilerine bakıldığında 2008-2017 yılları arasında saptanan 8742 olgu vardır. Bu olgulardaki ölüm oranı %4,6 olarak bulunmuştur [16]. Vakalar genellikle Mart-Ekim ayları arasında görülmektedir. Haziran ve Temmuz aylarında ise en yüksek vaka sayılarına ulaşmaktadır [15].



Şekil 2.2. T.C. Sağlık Bakanlığı’nın verilerine göre 2017 yılı Türkiye KKKA insidans haritası [17]



Şekil 2.3. T.C. Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre yıllara göre Türkiye KKKA vaka sayıları [17]

Ülkemizde tarım ve hayvancılıkla uğraşan kişilerde hastalık sık görülmektedir. Hastaların çoğunluğunda keneye temas öyküsü bulunmaktadır. Sağlık çalışanları kene öyküsü olmamasına rağmen hastalıktan en sık etkilenen meslek grupları arasında ikinci sıradadır. Hastalık sıklığı cinsiyet açısından farklılık göstermektedir. Bu durumun esas sebebinin tarım ve hayvancılık işine kadın ve erkeğin aktif katılımındaki farklılık olduğu düşünülmektedir. Ülkemizdeki olguların %47'si kadın iken %53'ü erkektir [18].

2.1.4. Risk Faktörleri

Birçok vektör kaynaklı zoonotik hastalıkta olduğu gibi bazı bireyler KKKA virüsü enfeksiyonuna yatkındır. Esas risk grubunu kene temas ihtimali olan bireyler oluşturmaktadır. Endemik olan bölgelerde yaşayan kişiler, veterinerler, hayvancılıkla uğraşanlar, mezbahane işçileri, dış ortamlarda çalışanlar ve endemik bölgedeki hastane çalışanları risk altındadırlar. Hastane çalışanları arasında özellikle burun, ağız, vajina ve dişeti kanamalı hastaların takibini yapan kişiler risk altındadır.

Bulaşta önemli rolü oynayan kene ısırığı olduğundan endemik bölgelerde yaşayanlara KKKA hastalığıyla ilgili bilgilendirilme yapılmalı ve alabilecekleri tedbirler öğretilmelidir. Kenelerin yoğun olarak görüldüğü bölgelerden uzak durmak,

vücudun açık bölgelerini kapamak ve kene ısırıklarını sık sık kontrol etmek gibi önlemlere dikkat edilmelidir [1].

2.1.5. Bulaş yolları

Virüsün doğadaki esas taşıyıcısı ve rezervuarı kenelerdir. İlk olarak erişkin formdaki Hyalomma cinsi kenelerden izole edilmiştir. Bu kenelerden en çok H. Marginatum olmak üzere H. anatolicum anatolicum ve diğer Hyalomma türlerinde (Dermacentor, Ornithodoros, Rhipicephalus spp. gibi) virüs saptanmıştır [1].

Kene enfekte bir konakçıdan beslenirken virüsü kapar. Virüs kene içinde kenenin bağırsak duvarında çoğalır ve çeşitli dokulara yayılır. Bu dokulardan en yüksek virüs titresine ulaşan tükürük bezi ve üreme organlarıdır. Keneler virüsü yaşam evrelerinde larva, nimf ve yetişkin olarak dikey iletir. Dişi kenelerde yavrulara transovaryal yolla bulaşır. Tek dişi kene birkaç bin yumurta üretir. Bu nedenle kenelerdeki transovaryal bulaşma oranı düşük olsa bile muhtemelen büyük bir taşıyıcı kene popülasyonu oluşur. Ortak konakçı hayvan üzerinde birkaç kene aynı zamanda bulunduğu, virüs yatay olarak iletilir. Bunun nedeni enfekte kene konağı ısırıldıktan hemen sonra virüsü konağın kan dolaşımına salar. Konağa yapışan kene beslenmek için konak üzerinde birkaç hafta kalabilir. Aynı hayvandan beslenen diğer keneler için bulaş olasılığı artmış olur [17].

Omurgalı hayvanlar, KKKA virüsü için giderek artan konakçılarıdır. Bulaşı takiben 2 haftadan kısa sürede virüs yüksek titrelelere ulaşır. Ancak virüsün henüz hayvanlarda semptomlara neden olduğuna dair bir rapor yoktur. Kuşlar enfekte kenelerin yüzlerce kilometre uzağa taşınmasına aracılık ederler [17].

İnsanlardan Bulaş:

Hayvancılık

İnsanlara bulaş genellikle kene ısırması ya da çıplak elle enfekte kenenin ezilmesiyle olur. Hasta kişilerde kene ısırığı öyküsü %60-69'dur. Önceki kış aylarının ılıman geçtiği zamanlarda vaka sayısının arttığı görülmüştür. Bunun nedeni kenelerin yaşamını devam ettirmek için gerekli besinleri daha kolay sağlaması olabilir [19].

Enfekte hayvanlardan insanlara bulaş kan ve enfekte dokuların doğrudan temasıyla mümkündür. 2002-2007 yılları arasında Türkiye’de görülen vakaları anlatan bir çalışmada hastaların %62’sinin hayvanlarla yakın temaslı olduğu bildirilmiştir [18]. Türkiye’de bildirilen vakaların yaklaşık %90’ı çiftçiler, kasaplar ve mezbahane çalışanlarıdır [8, 19].

KKKA’nın cinsel yolla bulaşmasıyla ilgili çok az vaka bildirilmiştir. Yine de olası cinsel yolla bulaş riskine dikkat edilmelidir [19, 20].

Sağlık Personeline Bulaş

KKKA enfeksiyonundan en çok etkilenen ikinci grup sağlık personelleri ve laboratuvar çalışanlarıdır. Bu gruptaki çoğu enfeksiyon için bulaş nedeni iğne batmasına bağlı yaralanmadır. İkinci sıradaki bulaş sebebi ise enfekte biyolojik sıvılar ile sağlık personeli mukozasının temasıdır. Bir iğne batması yaralanmasını takiben kişiye KKKA virüsünün bulaşma oranının %25 olduğu tahmin edilmektedir [19, 21]. Ölen hastalar koruyucu önlemler olmaksızın yıkanmamalı ve bakımı yapılmamalıdır. Böyle durumlar enfeksiyöz vücut sıvılarına maruz kalma ve iğne batması yaralanmalarına bağlı kontaminasyon riskinin en yüksek olduğu durumlardır. Bulaşma riski hemorajik fazda, yani hastalığın geç evrelerinde en fazladır [19].

2.1.6. Klinik Bulgular

KKKA virüsünün konakları arasında sadece insanlarda hastalığa neden olduğu kabul edilmektedir. Hastalığın klinik gidişatı dört dönemden oluşur. Bunlar; inkübasyon, prehemorajik, hemorajik ve iyileşme (konvalesan) dönemleridir [2].

İnkübasyon dönemi: KKKA virüsünün vücuda bulaşmasıyla hastalığın oluşması arasındaki süreci tanımlar. Bu dönem süre olarak değişkenlik gösterir. Kene ısırığıyla bulaşlardaki inkübasyon süresi genellikle 1-3 gündür ve 9 güne kadar uzayabilir. Enfekte doku ve kanla temas sonucu gelişen enfeksiyonlarda bu süre bir ile iki hafta arasında değişmektedir. Kene ısırığıyla doktora başvuru arasında geçen süre ülkemizde ortalama 5,5 gündür. İnkübasyon süresinin değişken olmasının nedeni vücuda giren virüs yükü, kişinin immün cevabı ve virüs bulaşı yolunun değişkenlik göstermesidir [2, 22].

Prehemorajik dönem: Prehemorajik dönem 1-7 gün sürer. Bu dönem baş ağrısı, baş dönmesi, miyalji, halsizlik, iştahsızlık ve ani başlangıçlı 39-41 °C'yi bulan yüksek ateşle başlar. Yüksek ateş 4-5 gün devam eder. Bu dönemde ciltte kızarıklık, gözde hiperemi görülür. Hastalarda öksürük görülebilirken bu öksürüğe balgam eşlik etmez. Bu bulgulara ek olarak gastrointestinal sistem (GİS) semptomları (bulantı, kusma, ishal, abdominal hassasiyet) eşlik edebilir. Eşlik eden bu semptomlardan dolayı bazen klinik akut batın durumları ile karışabilmektedir [2, 8].

Hemorajik dönem: Bu dönem genellikle hastalığın üçüncü ve beşinci günlerinde başlar, hızlı gelişir ve kısa sürer. Kanama, genellikle 5-7 günler arasında ve hastaneye yatış sırasında olur. Kanama bulguları değişiklik göstermektedir. Genellikle kanamalar burun kanaması, hemoptizi, hematüri, GİS ve genital sistem kanamaları şeklindedir. Cilt ve mukozada peteşi veya hematomlar görülebilir. Subkonjunktival, dişeti ve kranial kanamalar da görülebilmektedir.

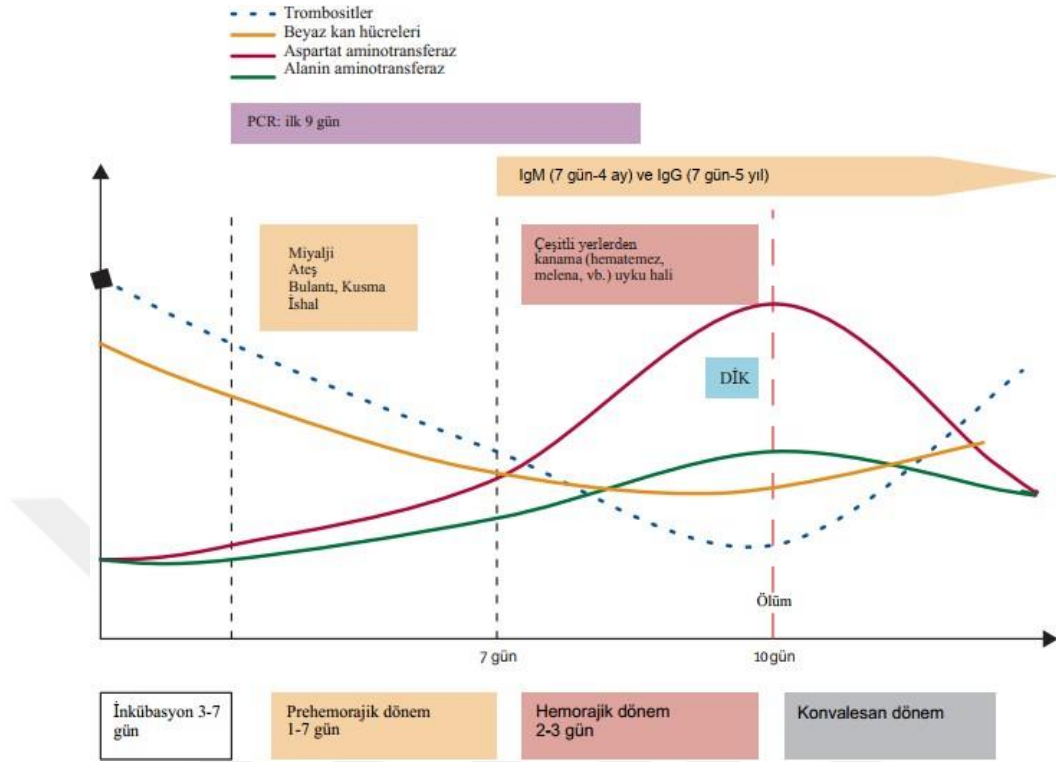
Ağır vakalarda solunum sıkıntısı, hepatorenal yetmezlik, ajitasyon hali, bilinç bulanıklığı görülebilmektedir. Bu vakalarda şok, koma ve dissemine intravasküler koagülopati (DİK) tabloları gelişebilir ve bu süreç ölümle sonuçlanabilir. Dünya genelindeki mortalite oranı yaklaşık %30'dur. Bu oran ülkelerden ülkelere göre farklılık göstermektedir. Türkiye'de mortalite oranı ortalama %4,8 olarak bildirilmiştir. Nazokomial bulaş sonucu oluşan enfeksiyonların mortalite oranı diğer bulaşlara göre daha yüksektir. Ölüm sıklıkla 5-14. günlerde görülmektedir [2, 8, 23-25]

İyileşme (Konvalesan) dönemi: Bu dönem hastalığın başlamasından sonra yaklaşık 10 ile 20. günler arasında görülmektedir. Hastanede yatış süresi genellikle 10 gündür. İyileşen hastalarda nüks görülmemiştir. Konvalesan dönemde taşikardi, dispne, ağız kuruluğu, polinöropati, amnezi, görme ve duymada azalma gibi şikayetler

bildirilmiştir

[8,

24]



Şekil 2.4. Kırım Kongo Kanamalı Ateşinin klinik ve laboratuvar seyri [8]

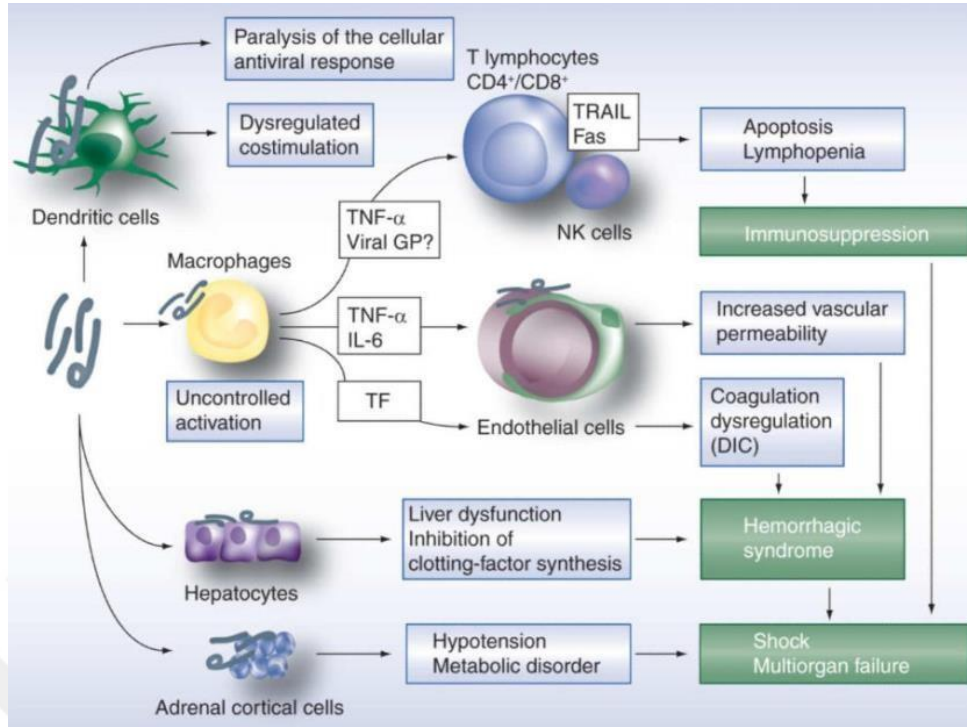
2.1.7. Patogenez

KKKA hastalığıyla ilgili pek çok çalışma yapılmasına rağmen hastalık patogenezinin temelini oluşturan mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır. Hemorajik ateşe neden olan tüm virüslerin ortak özelliği hastanın immün yanıtını devre dışı bırakmasıdır. Bunu antiviral hücrelere saldırarak yaparlar. Virüsün neden olduğu dentritik hücreler ve makrofajlardaki kısmi aktivasyon, interferon (IFN) yanıtında gecikme, hemofagositoz, lenfositlerin apoptozu ve lenfopeni durumları bağışıklık sistemindeki bozulmalara örnek olarak verilebilir [4]. Vasküler sistemin ve lenfatik organların işleyişi değişir. KKKA patogenezini esas olarak epitel enfeksiyonuna bağlıdır. Epitel, viral partiküllerin sürekli replikasyonu ile hasar görür. Endotel hasarı sonucu intrinsek yol aktive olur ve trombositler kümeleşir. Hemostatik yetmezlikle sonuçlanan bu duruma bağlı kanamalar, erken görülen bir semptomdur [26]. Diğer taraftan virüs salgıladığı toksik doku faktörleri ve konakçı kaynaklı çözünür faktörler ile de dolaylı olarak başka hasarlara neden olur.

KKKA patogeneziyle ilgili çeşitli hipotezler sunulmuştur. Bu hipotezler virüsün indirekt ve direkt yolla neden olduğu endotel hasarı ile ilişkilendirilmiştir. Endotel hasarı proinflatuvar sitokinlerin aşırı ve düzensiz salınımına bağlıdır. Bu durum vasküler geçirgenlikte artma, vazodilatasyon ve sonrasında hipotansiyonla sonuçlanır. Aşırı sitokin salınımı; dolaşım bozukluğu, organ hasarı, septik şok ve ölüme neden olabilir [4]. Makrofaj kaynaklı kemokinlerin neden olduğu nitrik oksit (NO) sentezinin artması ve adrenal bez steroid hormon salınımının azalması da hipotansiyon ve dolaşım bozukluğuna katkıda bulunur [5].

KKKA virüsünün bulaş sonrası ilk hedefi bölgesel lenf nodları, karaciğer ve dalaktır. Bu organlardaki dentritik hücreler ve makrofaj hücrelerini enfekte eder. Enfekte olan bu hücreler kemokin salınımını artırır. Gelişen yanıt sonucunda daha çok makrofaj enfekte bölgelere toplanır. Lenfosit ölümündeki mekanizma virüsün lenfosit hücrelerine girmesine bağlı değildir. Lenfositler makrofajlar tarafından salgılanan kemokinler ve virüs kaynaklı proteinlerden dolayı apoptotik yolağa girerler. Ayrıca, bu kemokinler TNF ve FAS ile ilişkili apoptozisi indükleyen ligand (TRAIL) apoptotik yolağını da aktifleştirirler [5].

Endotel hasarı sonrasında doku faktörünün ortaya çıkması ve trombositlerin hasarlı bölgeye göçüyle gevşek yapılı bir pıhtı oluşur. İntrensek yol aktifleşir ve bu bölgelerde fibrin ağı meydana gelir. Bu kaskatın yeterince oluşmasından sonra protein S ve protein C aktifleşir. Bu proteinler negatif geri bildirim ile fibrin kaskatını inhibe eder ve fibrinolitik yolu aktive ederler. Bu olayların devam etmesi fibrinolitik sistemin sürekli aktivasyonuna, trombosit ve fibrinojen tüketiminin artmasına neden olur. DİK olarak adlandırılan bu süreçte hem kanamaya yatkınlık görülür hem de trombotik süreç aktiftir. Karaciğer hücrelerinde direkt sitopatik etki sonucu ödem ve nekroz oluşur. Karaciğer enzimleri yükselir [4, 27, 28].



Şekil 2.5. Viral hemorajik ateş hastalıkları patogenezi [29]

Virüs için birincil hedef makrofajlar ve dendritik hücrelerdir. Dendritik hücrelerde enfeksiyon, hücresel antiviral yanıtın felce uğramasına ve lenfosit uyarısının düzensizleşmesine yol açar. Makrofaj enfeksiyonu TNF- α gibi proinflatuar mediatörlerin üretimine yol açarak lenfositlerin apoptozunu indükleyebilir ve böylece lenfopeni ve immünosupresyona katkıda bulunabilir. TNF- α ile birlikte IL-6 da vasküler geçirgenlikte değişikliklere neden olur. Enfekte makrofajlar tarafından TF üretimi pıhtılaşmanın kontrolden çıkmasına (DIC) yol açar. Ayrıca hepatosit enfeksiyonu, karaciğer kaynaklı pıhtılaşma faktörleri sentezinin azalmasına neden olarak bu duruma katkı sağlar. Adrenal kortikal hücrelerin enfeksiyonu hipotansiyon ve metabolik bozukluklarla sonuçlanarak immünosupresyon ve koagülopatiyile birlikte çoklu organ yetmezliği ve şoka katkıda bulunur. TNF: Tümör Nekroz Faktör, IL: İnterlökin, TF: Doku faktörü, GP: Glikoprotein, NK cell: Doğal öldürücü hücre, DIC: Dissemine intravasküler koagülopati, TRAIL: TNF ve FAS ile ilişkili apoptozisi indükleyen ligand.

Yüksek tip I yardımcı T (Th) hücrelerden salgılanan interlökin (IL)-6, IL-1, Tümör Nekroz Faktör (TNF)- α ve IFN- γ gibi sitokinler, monosit aktivasyonunda artışa yol açar. Bu durumun sonucunda hemafagositik lenfositosis oluşur. Yapılan çalışmalarda KKKA patogenezinde sitokinlerin rolü gösterilmiştir [26]. Bir çalışmada ölümle sonuçlanan KKKA vakalarının hepsinde aşikâr DİK olduğu görülmüştür. Hem IL-6 hem de TNF- α seviyeleri DİK skorları ile pozitif korelasyon gösterirken IL-10 seviyeleri ise negatif korelasyon göstermiştir [26, 27].

2.1.8. Tanı

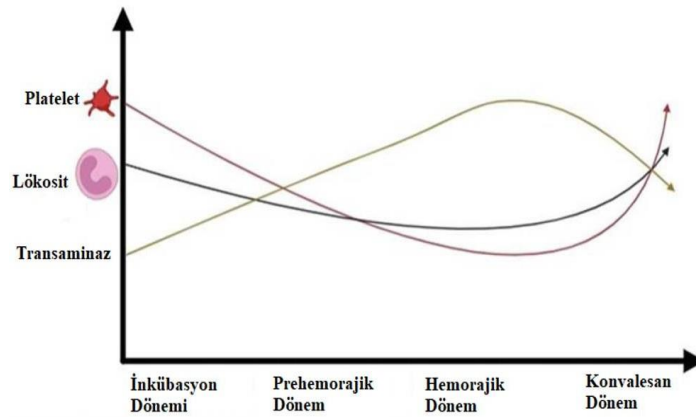
KKKA şüphesinde öncelikle öyküde kene ile temas, enfekte hayvan veya insan kanıyla temas, endemik bölgelerde bulunma ve riskli mesleklerde çalışma sorgulanmalıdır. Klinik bulgular arasında kanama ve ateş öyküsü varsa dikkatli olunmalıdır. Kesin tanı moleküler yöntemler, seroloji ve virüs izolasyonu ile konulur.

Serolojik yöntemlerden enzim bağılı immünosorbent analizi (ELISA) testleri hastaların antikor seviyelerinin tespiti için en çok kullanılan yöntemdir. ELISA testlerinin duyarlılığı %90'dan fazla olmasına rağmen İndirekt Floresan Antikor (IFA) yönteminin duyarlılığı daha yüksektir. KKKK özgü immünoglobulin (Ig) M akut enfeksiyonun ilk haftasında tespit edilir. İkinci, üçüncü haftaya kadar en yüksek düzeye ulaşan spesifik IgM, dördüncü aydan sonra saptanamaz. IgG, enfeksiyonun 7-10. günlerinde tespit edilmeye başlar. Enfeksiyondan beş yıl sonrasında da tespit edilebilir. Ardışık örneklerde dört kat titre artışı ve tek örnekte IgM antikor varlığı yeni enfeksiyonu tanımlar [1, 19].

Moleküler yöntemler içinde tanıda duyarlılığı ve özgüllüğü en yüksek olan revers transkriptaz-PCR (RT-PCR) yöntemidir. RT-PCR yöntemiyle viral RNA tespiti 16. güne kadar yapılabilmektedir. Kısa zaman içinde tanı konur. [1, 30].

Virüs bulaşma riski yüksek olduğu için izolasyon veya hücre kültürü çalışmalarında biyogüvenlik seviyesi-4 (BSL-4) laboratuvarlar kullanılmalıdır. Virüsün kültür ortamında üretilmesi için kobay farelerin intrakranial ya da intraperitoneal alanlarına virüs ekilir. Virüs izolasyonu bu yöntemle kolay ve hızlı bir şekilde yapılmakla beraber yöntemin duyarlılığı düşüktür [1, 31].

Rutin laboratuvar testlerindeki değişiklikler, hastaların klinik bulgularına ek olarak hastalık tanısını güçlendirir. En sık karşılaşılan laboratuvar bulgusu trombositopenidir. Ek olarak hematolojik parametrelerde sıklıkla lökopeni ve nötropeni de görülürken kanayan hastalarda anemi vardır. Karaciğer enzimlerinden alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), gama glutamil transferaz (GGT), alkalen fosfataz (ALP) seviyelerinde yükselme görülmektedir. Vakaların çoğunda laktat dehidrogenaz (LDH) ve kreatin kinaz (CK) yüksekliği görülür. Koagülasyon parametrelerinden aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), protrombin zamanı (PT) ve kanama zamanında uzama, INR değerinde yükselme görülebilir [1, 26]. Fibrinojen konsantrasyonu ise azalır ve fibrin yıkım ürünlerinde (D-dimer) artış gözlemlenebilir. Trombosit sayısı ne kadar azsa, PT ve aPTT'nin daha uzun ve prognoz da o kadar kötü olduğu gösterilmiştir [19]. Hemogram ve biyokimya değerlerinde normale dönüş 5-9 günde olur [1].



Şekil 2.6. KKKK hastalığının farklı evrelerinde laboratuvar testlerinin değişimi [32]

2.1.9. Ayırıcı Tanı

Hastalığın ayırıcı tanısı çok geniştir. Bu tanımlar arasında diğer hemorajik ateşler, riketsia, leptospiroz, Q ateşi, meningokoksemi, sıtma, sepsis, viral hepatit ve endokardit bulunmaktadır. Hematolojik hastalıklardan idiopatik trombositopenik purpura, akut lösemi ve vasküler nedenler düşünülebilir [33].

2.1.10. Prognoz

KKKK hastalarında prognostik faktörlerle ilgili farklı araştırmalar bulunmaktadır. Güncel araştırmalardan Dokuzoguz ve ark'nın yaptığı bir çalışma, ilaç değerlendirme ve vaka yönetimi için skarlama sistemi sunmuştur. Bu skarlama sisteminde trombosit sayısı, aPTT süresi, fibrinojen düzeyi, kanama ve bilinç durumu vardır [34]. Bakır ve ark'ın oluşturduğu skarlama sistemi ise hastanın üçüncü basamağa sevkine karar verme ve mortaliteyi öngörmektedir. Bu skarlama sisteminde yaş, kanama, serum transaminaz düzeyleri, organ yetmezliği ve DİK parametreleri bulunmaktadır. Bu skarlama sistemine göre risk taşımayan ya da düşük riskli (0-4 puan) hastaların tamamı hayatta kalmaktadır. Orta derece riskli (5-8 puan) hastaların ölüm oranı %10 iken yüksek riskli (9-14 puan) hastaların ölüm oranı %67 olarak tespit edilmiştir. Bu SGS sisteminde kullanılan değişkenler ve her bir değişkene ilişkin

puanlar Tablo 2.1.'de listelenmiştir. Bu skorumaya sistemine göre elde edilen maksimum SGS 14 puandır [35].

Tablo 2.1. Şiddet derecelendirme puanı (SGS) sisteminin değişkenleri

Değişkenler	SGS Puanları		
	0 puan	1 puan	2 puan
Platelet ($10^9/L$)	≥ 100	50 - 100	< 50
PT (sn) uzaması	< 3	3 - 6	≥ 6
aPTT (sn)	< 70	≥ 70	
INR	$< 1,6$	$\geq 1,6$	
Hepatomegali	Yok	Var	
Organ yetmezliği	Yok	Var	
Kanama	Yok	Var	
Yaş (yıl)	< 60	≥ 60	
WBC ($10^9/L$)	< 10	≥ 10	
LDH (U/L)	$< 3 \times R\ddot{U}S$	$\geq 3 \times R\ddot{U}S$	
AST (U/L)	$< 5 \times R\ddot{U}S$	$\geq 5 \times R\ddot{U}S$	
ALT (U/L)	$< R\ddot{U}S$	$\geq R\ddot{U}S$	

Şiddet evrelemesi: düşük; 0-4 puan, orta; 5-8 puan, yüksek; 9-14 puan. RÜS; referans üst sınır, PT; protrombin zamanı, aPTT; aktive parsiyel tromboplastin zamanı, INR; uluslararası normalleştirilmiş oran.

2.2. Proinflatuvar Sitokinler

Sitokinler hormona benzer peptit yapılı maddeler olup öncelikle aktive lenfosit ve makrofajlar olmak üzere pek çok hücreden sentezlenir. Başka hücrelerin fonksiyonlarının düzenlenmesine aracılık ederler. Sitokinler, hücreden hücreye sinyal taşıyan habercilerdir. Herhangi bir uyarı sonrasında salgılanırlar fakat depo edilemezler. Genellikle sentezi ve salınması kısa süreli ve geçicidir. İmmün yanıtta görev alırlar. Travma, iltihaplanma ve enfeksiyon bölgelerine hücrelerin göç etmesini sağlarlar. Pro-inflatuvar, kemotaktik ve anti-inflatuvar görevleri vardır. Sitokinler; enfeksiyonlar, organ nakilleri ve otoimmün hastalıklara karşı bağışıklık yanıtında efektör fonksiyonların oluşturulması ve düzenlenmesi için çok önemlidir.

Sitokinler, genellikle glikozillenmiş monomerik veya polimerik polipeptitler ve proteinler olarak ortaya çıkan bir ile birkaç genin ürünüdür. En yaygın formları

dimerler (homodimerler veya heterodimerler) ve trimerlerdir (homotrimerler ve heterotrimerler). Örneğin IL-1 grubu monomerik, TNF ise trimerik polipeptit yapısındadır [36].

Proinflamatuvar sitokinler, makrofajlar, T hücreleri ve B hücreleri gibi bağışıklık hücrelerinin yanı sıra endotel hücreleri ve fibroblastlar gibi bağışıklık dışı çeşitli hücreler tarafından da salgılanır. Bu sitokinlerin birincil işlevi, inflamatuvar yanıtı aracılık etmek ve düzenlemektir. Proinflamatuvar sitokinler karmaşık bir ağ içerisinde hareket ederek birbirlerinin üretimini ve eylemlerini etkiler. Vücudun enfeksiyonlara ve yaralanmalara karşı savunması için gerekli olsa da proinflamatuvar sitokinlerin düzensizliği çeşitli inflamatuvar bozukluklara ve otoimmün hastalıklara katkıda bulunabilir.

Proinflamatuvar sitokinler inflamasyonu başlatır ve sonrasında endotel hücrelerini aktive ederek damar geçirgenliğini artırır. Bağışıklık hücrelerinin enfeksiyon veya yaralanma bölgesine göç etmesinde ve aktivasyonunda rol alır. B lenfositlerinin plazma hücrelerine aktivasyonunu sağlarlar. Th1 hücrelerinin hücre içi patojenleri ortadan kaldırma yeteneğini artırır. Ateş indüksiyonunda görev alarak patojenlerin büyümesi için daha az elverişli bir ortam yaratılmasına yardımcı olur. Akut faz proteinlerin artmasına katkı sağlayarak inflamasyonu ve doku onarımını modüle eder. İnflamasyon sürecini güçlendirebilir veya azaltabilirler. Aynı zamanda proinflamatuvar sitokinler inflamasyon sonrasında doku onarımı ve fibroziste de görev alır [37].

2.2.1. IL-1 α

IL-1 ailesinin bir üyesidir. IL-1 inflamatuvar yanıtın başlaması ve sürdürülmesinde geniş bir biyolojik işlev yelpazesine sahiptir. IL-1 öncelikle doğuştan gelen bağışıklığı düzenler. Doğuştan gelen bağışıklık ve kazanılmış bağışıklık yanıtları arasında köprü kuran anahtar moleküllerdir [38]. Ana üretim kaynağı makrofajlar olsa da başka hücrelerden de salınır. Salınımını bakteriyel ürünler, immün kompleksler, kompleman (C)-5a, IFN- γ , prostaglandinler ve IL-1'in kendisi tarafından uyarılır. Aksine kortikosteroidler (örneğin deksametazon), transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) ve retinoik asit, IL-1 üretimini azaltır. Bazı hücreler için

kemotaktik görevi vardır. Bunlar epitel hücreler, monositler, lenfositler ve nötrofillerdir. Vücut sıcaklığında artışa, kas proteolizine, kaşeksiye, C-reaktif protein (CRP) gibi akut faz proteinleri miktarında artışa ve demir ve çinko plazma konsantrasyonlarının azalmasına neden olmaktadır. IL-1 bağ dokusunda anjiyojenik etkiye bağlı olarak yara iyileşmesi yapar [36]. Bu ailenin iyi bilinen üyeleri IL-1 α ve IL-1 β 'dir.

IL-1 α prekürsör olarak üretilir ve prekürsörü tamamen aktiftir [38]. Hücre bütünlüğü bozulduğunda pro-IL-1 α salınır ve sonrasında proteazlar tarafından bölünür [36, 39]. Pro-IL-1 α epitelyal hücrelerde çok miktarda üretilir. IL-1 α , TGF- β 'nın uyardığı bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) sentezini inhibe eder [36].

IL-1 α işlevlerine baktığımızda lokal inflamatuvar tepkilere katkıda bulunur. Bir alarmin veya hasar ilişkili moleküler model (DAMP) olarak işlev görerek bir dizi inflamatuvar yanıt başlatır. Th17 yanıtlarının indüklenmesini gerçekleştirir. Aynı zamanda sitozolden hücre çekirdeğine göç edebilir ve transkripsiyon faktörlerine benzer şekilde hücre içi işlevler görebilir [40].

2.2.2. IL-7

IL-7, 25 kilodalton (kDa) ağırlığında dört α heliks yapı içeren tek zincirli glikoprotein yapıda bir sitokindir. İmmün düzenleyici etkiye sahip bir protein olup doğal öldürücü (NK) hücreler, T hücreleri, monositler, non-hematopoetik ve stromal hücreler gibi immün sistem hücreleri tarafından üretilir. İlk yapılan çalışmalarda lenfoid hücreler üzerine proliferatif etkili olduğu gösterildi. Sonraki çalışmalarla lenfoproliferatif hastalıklar, cilt ve periferik lenfomalar ve tümör gelişiminde de etkili olduğu anlaşıldı [41].

IL-7, B ve T lenfositler üzerinde antiapoptotik etkisi olan büyüme faktörüdür. B ve T lenfositlerin aktivasyonunu, büyümesini ve çoğalmasını sağlar. NK hücrelerin büyümesi üzerine de etki eder. IL-7, hücre farklılaşması ve olgunlaşmasını uyarır. Antiapoptotik etkileri, MCL-1, Bcl-2 ve Bcl-xL'yi regüle ederek yapar. Aynı zamanda pro-apoptotik genlerden Puma, Bim ve Bmf gen ekspresyonunu da önlemektedir [41].

IL-7'ye karşı monoklonal antikorların kullanımıyla pro-B aşamasından B-lenfosit gelişiminin engellendiği ve timüs hücrelerinin azaldığı görülmüştür [36].

2.2.3. IL-17A

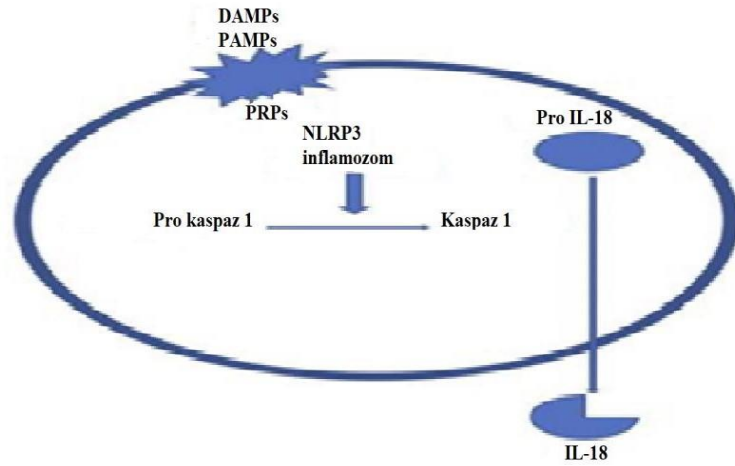
IL-17, T hücre alt tipi olan Th17 hücrelerinden salınır. Diğer salgılandığı hücreler makrofajlar, NK hücreler ve dentritik hücrelerdir [42]. IL-17 mantar ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmada görev yapar. IL-17 sitokin ailesi bazı otoimmün ve inflamatuvar hastalık patolojilerinde görev almaktadır [42, 43].

Bu ailenin üyelerinden olan IL-17A ve IL-17F, proinflamatuvar özelliğe sahiptir. Ayrıca IL-17A ve IL-17F nötrofillerin toplanması, aktivasyonu ve göçü için önemli sitokinlerdir [43]. IL-17E; IL-17A ve IL-17F'nin tersine inflamasyonun baskılanmasını sağlar. İnflamasyonun başlarında IL-17A inflamasyonu artırırken uzun bir süre sonra IL-17E üretimi başlar ve inflamasyon kontrol altına alınmış olur [44].

IL-17A ve IL-17F eksikliklerine bağlı olarak Kronik Mukokütanöz Kandidiyazis ortaya çıkabilmektedir. Yapılan fare deneylerinde IL-17A'nın genetik ablasyonu sonucunda *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Citrobacter rodentium*, *Helicobacter pylori*, Herpes simplex virüs, *Candida albicans* ve *Trypanosoma cruzi* enfeksiyonlarının sıklığı artmıştır [45].

2.2.4. IL-18

IL-1 ailesinin üyesi olup IL-1 β 'ya benzerlik gösterir. Pro-IL-18 şeklinde hücre içinde depolanır. Bu pro-IL-18 aktif değildir. Kaspaz-1, pro-IL-18'i aktif form olan IL-18'e dönüştürür. Sonrasında hücre dışına salınır [36].



Şekil 2.7. Pro IL-18'in intrasellüler ortamda aktif forma dönüştürülmesi ve ekstrasellüler ortama salınması süreci [46]

DAMP sinyalleri NLRP3 aracılığıyla Pro-kaspaz 1'i aktif formu olan kaspaz 1'e dönüştürür ve kaspaz 1 de pro-sitokinleri olgun formları IL-1 ve IL-18'e dönüştürür.

IL-18, aktive olmuş monositler, makrofajlar ve dentritik hücreler tarafından salgılanır. İmmünomodülatör işlevleri olan proinflamatuvar bir sitokindir. IL-18, T hücreleri ve NK hücrelerinden IFN- γ salınımını artırdığı için IFN- γ indükleyici faktör olarak bilinir. Th1 gelişimini uyarır ve Th2 gelişimini inhibe eder. IL-18'in özellikleri IL-12'ye benzerdir. IL-1 ailesine ait olmasına rağmen ateşe neden olmaz. UV radyasyonun neden olduğu hasar durumlarında DNA onarımını uyarır [36].

IL-18 üretimi plevral ve pulmoner tüberkülozda artmıştır. Dolaşımdaki IL-18 seviyesi tüberküloz tedavi sırasında tüberküloz aktivitesiyle ilişkili bulunmuştur [36].

IL-18, viral hastalıkların erken evrelerinde makrofajlardan üretilir. Konak savunması için kritik öneme sahip olan IL-6 ve IFN- γ yapımını indükler. Viral enfeksiyonlarda artan hücre içi stres sonucu Nod-like receptor pyrin domain-containing 3 (NLRP3) inflamazomu aktifleşir. Bunun sonucunda prokaspaz-1, aktif olan kaspaz-1'e dönüşür. Kaspaz-1 ise pro-IL-18'i aktif formuna dönüştürür. IL-18 haricinde diğer inflamasyon araçları da tetiklenir ve süreç piropitoza doğru kayar [47].

2.3. Endoplazmik Retikulum

ER hücre içeresinde membranöz ağ şeklinde bir organeldir. Hücre dışına salgılanacak proteinlerin ve membran yapısında kullanılacak proteinlerin sentez yeridir. ER, hücre zarıyla çekirdek arasında taşınmayı sağlar ve sitoplazma içinde çekirdek zarının devamı olan çok kıvrımlı bir yapıdır. Bu yapının ribozom içerip içermemesine göre görünümü granüllü ve granülsüz olarak değişir.

Hücrelerin lipid ve protein sentezleme durumuna göre granüllü ve düz ER oranı değişir. Zarların yapısındaki lipidlerin büyük bir çoğunluğu düz ER’de yapılır. Aynı zamanda hücre dışına salgılanacak lipidlerde düz ER’de yapılır. Düz ER’nin başka bir görevi ise hücre içinde Ca^{+2} ’un depolandığı yerdur [48].

Hücre canlılığı ve faaliyetlerinin sürdürebilmesi için proteinlerin işlevlerini yerine getirmesi önemlidir. Proteinlerin doğru bir şekilde işlev görmesi üç boyutlu yapısı sayesinde olur. Bu üç boyutlu yapı şaperon denen yardımcı proteinler aracılığıyla sağlanır.

Proteinlerin üç boyutlu yapısı için gereken katlanma olayı çok karmaşıktır ayrıca hatalı olma olasılığı da çok yüksektir. Hidrojen konsantrasyonu, ortam sıcaklığı, oksidatif stres ve enfeksiyon gibi çok sayıda etken, proteinin doğru katlanmasını etkileyebilmektedir. Bu gibi durumlar ER’deki protein katlanma kapasitesini azaltarak ve katlanmamış protein birikmesine yol açarak ER stres oluşumuna neden olmaktadır.

Proteinlerin son hallerini kontrol eden bir sistem vardır. Bu kalite kontrol sistemi, yanlış katlanan ve katlanmayan proteinlerin tespitini ve aynı zamanda yanlış katlanmış proteinlerin ortamdand uzaklaştırılmasını sağlar. Bu kontrol sisteminde proteinle ilgili bir hatayla karşılaşılsa protein sitozole gönderilir. Daha sonra ER-ilişkili bozunma (ERAD) adı verilen bir süreç olan proteazom tarafından parçalanır ve protein homeostazı sağlanır [49].

2.3.1. Endoplazmik Retikulum Stresi

Hücre içi membranöz bir organel olan ER’nin proteinin sentezi, taşınması ve doğru şekilde katlanması gibi önemli görevleri vardır. Diğer taraftan enfeksiyon, kimyasal toksinler, hipoksi, besin yetersizliği, lipid birikiminde artış ve genetik

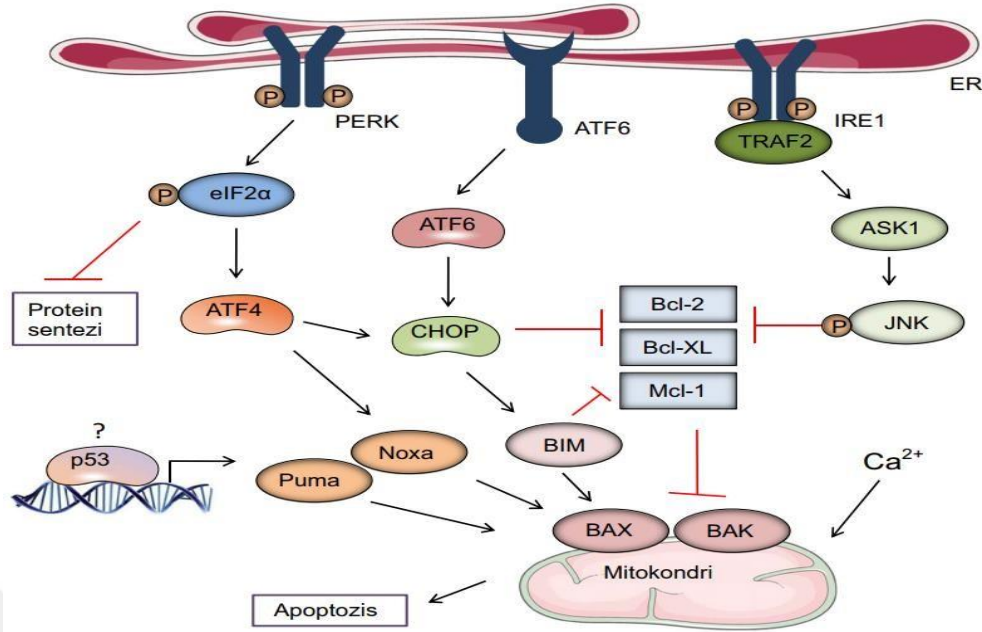
bozukluklar gibi durumlar ER üzerindeki metabolik işlevi artırır. Bu gibi durumlar ER homeostazisini bozabilir ve organel işlevi yerine getiremez hale gelebilir. Bozulmuş homeostaz, yanlış katlanmış veya katlanmamış proteinlerin lümen içinde birikmesine neden olur ve ER stresi oluşumuyla sonuçlanır. Oluşan ER stresinin azaltılması için protein yıkımını hızlandıran ve protein sentezini azaltan bir sinyal olan katlanmamış protein cevabı (UPR) yolağı aktive edilir.

UPR aktivasyonu; Potein kinaz benzeri ER kinaz (PERK), inositol gerektiren transmembran kinaz-1 (IRE-1) ve aktive edici transkripsiyon faktörü (ATF) 6 olmak üzere üç farklı sinyal yolağı üzerinden sağlanır. UPR aktivasyonu; translokasyonun yavaşlaması, protein sentezinin azalması, katlanmamış protein birikiminin önlenmesi, ER'deki şaperon ve katlamada görevli enzimleri kodlayan genlerin translokasyonunun artırılması gibi yanıtları başlatır. UPR ile hücredeki bu stres azaltılamazsa hücre apoptoza yönlendirilir ve ölür [50].

2.3.1.1. PERK Sinyal Yolağı

UPR sinyal yolağı; PERK, IRE-1 ve ATF6'yı içerir. Normal fizyolojik durumda bu üç UPR işaretçisi, 78 kDa ağırlığında glukozla düzenlenen protein (GRP78) tarafından bağlandıkları için inaktiftir. GRP78, ER'ye özgü bir şaperondur. ER stresi sırasında GRP78, katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinleri geçici olarak stabilize etmek için bu UPR belirteçlerinden ayrılır. Bağlanmamış IRE-1 ve PERK daha sonra homodimerize veya oligomerize edilerek otofosforilasyonla aktive olur.

Aktive edilmiş PERK, genel protein sentezini baskılamak için ökaryotik başlatma faktörü 2 α (eIF2 α)'yı fosforile eder. Fosforillenerek inaktive olan eIF2 α , translasyonu genel olarak hücre içinde durdurur. Aynı zamanda, fosforile edilmiş eIF2 α ; aktive edici transkripsiyon faktörü (ATF) 4 seviyesini artırır, bu da daha sonra C/EBP Homolog Protein (CHOP) ve Noxa'yı indükler. Uyarılmış CHOP, Bcl-2'yi inhibe ederken diğer taraftan Bim'i ise aktive eder. CHOP bir diğer transkripsiyon faktörüdür. Hem ATF4 hem de CHOP spesifik olarak antiapoptotik protein ekspresyonlarını azaltır ve proapoptotik proteinlerin ekspresyonunu artırır. Böylece süreç hücre ölümüyle sonuçlanır [50, 51].



Şekil 2.8. ER stresine bağlı hücre ölümü [52]

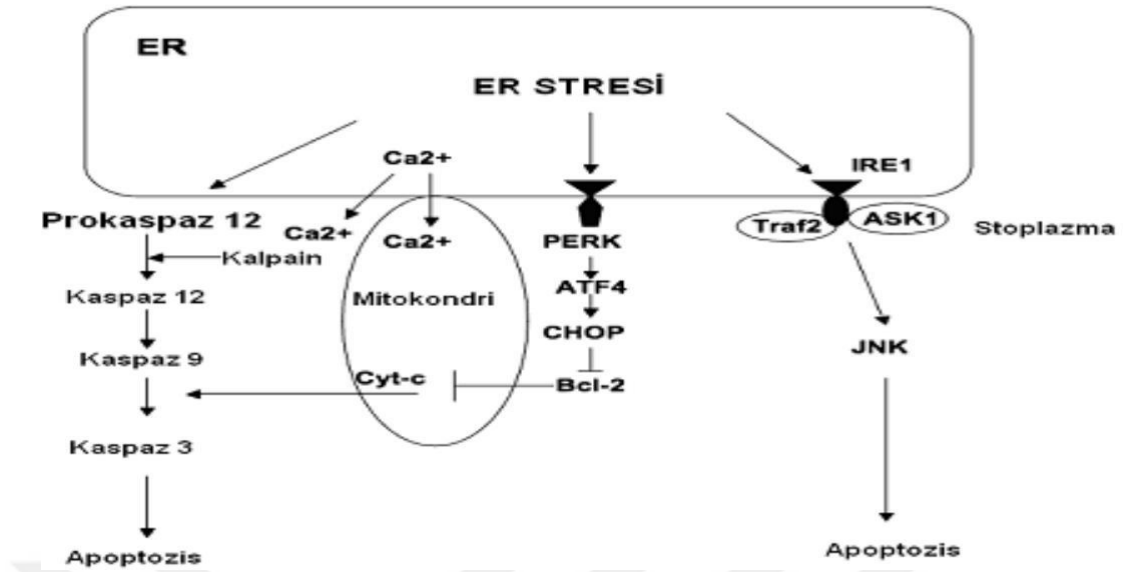
2.3.1.2. ATF6 Sinyal Yolağı

ER membranında ATF6 GRP78'le beraber bulunur ve inaktiftir. Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinler arttığında GRP78 katlanmaya yardımcı olur ve ATF6'dan ayrılır. ATF6 golgiye taşınır ve burada bazı proteazlar tarafından kesilerek aktif forma dönüşür. Sonrasında nükleusa geçerek ve burada hedef genlerin aktivasyonunu sağlar. Bu hedef genler arasında GRP94, GRP78, protein disülfid izomeraz, XBP1, CHOP, Herp ve kalretikulin bulunmaktadır [51, 53].

2.2.1.3. IRE-1 Sinyal Yolağı

IRE-1, ER stresinde GRP78'den ayrılarak dimerize ve otoposforilasyonla aktive olur. Aktive olan endoribonükleaz ile XBP-1'in mesajcı RNA'sından (mRNA) 26 nükleotiti uzaklaştırır. Bu kırpılmış XBP-1 mRNA proteini, ER'deki şaperonların sentezini artırır.

ER stresindeki ATF6, IRE-1 ve PERK sinyal yolları, proapoptotik sinyaller ile apoptoz sürecini başlatır. ER stresine tetiklenen apoptotik transkripsiyon faktörleri (CHOP), Bcl-2 ailesi üyeleri, kaspazlar ve kinazlar (c-Jun N-terminal kinase (JNK)) hücre ölüm yollarındaki araçlardır [51].

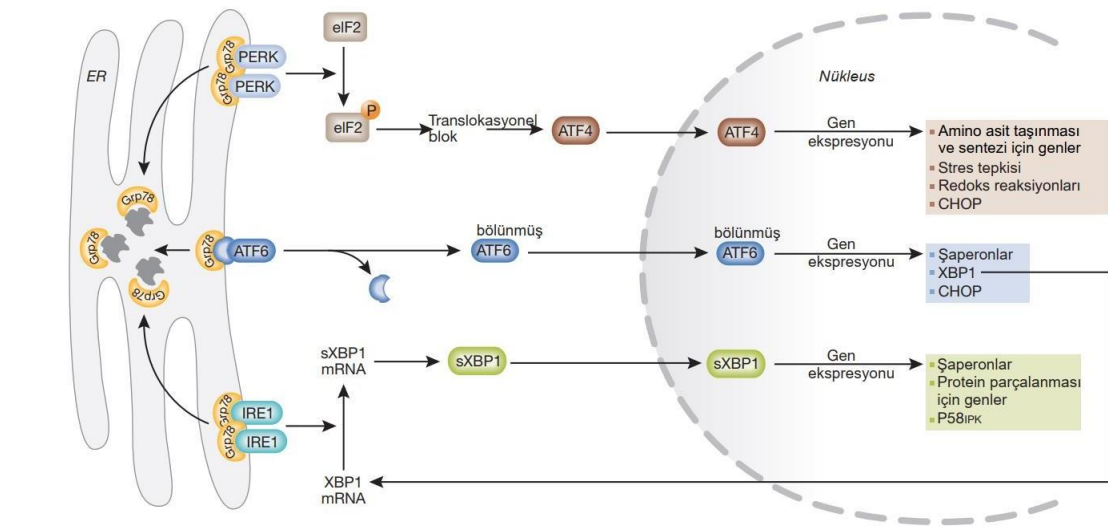


Şekil 2.9. ER stresıyla indüklenen apoptotik mekanizmalar [53]

Ca^{+2} bağımlı kalpainler tarafından kaspaz-12'nin aktivasyonu kaspaz-9/kaspaz-3 kaskadını aktive eder. ER'den mitokondriye aşırı Ca^{+2} yüklenmesi, mitokondriden sitokrom c gibi proapoptotik faktörlerin salınmasına yol açar. CHOP'un PERK/eIF2 α /ATF4 tarafından aktivasyonu pro-apoptotik Bcl-2 ailesi üyelerinin yukarı yönlü regülasyonuna ve anti-apoptotik Bcl-2 ailesi üyelerinin aşağı yönlü regülasyonuna yol açar. IRE1/Traf2/ASK2 apoptotik yolları tetiklemek için JNK sinyalini aktive eder.

CHOP

CHOP, C/ERB protein ailesinin bir üyesidir. ER stresi durumunda çok hassas olmasına rağmen genellikle DNA hasarı durumuna cevap olarak tanımlanmıştır. CHOP'un proapoptotik olduğu gösterilmiştir ve CHOP seviyesinin artışı apoptoza neden olur. Dinlenim durumunda CHOP ekspresyon seviyesi çok düşüktür ve ER stresinde ekspresyonu artar [51].



Şekil 2.10. Katlanmamış Protein Cevabı (UPR) Sinyal Yoluğu [51]

Katlanmamış proteinlerin artması üzerine GRP78; PERK, ATF6, IRE1'den ayrılarak bunların aktivasyonuna izin verir. Reseptörlerin aktivasyonu şu sırayla gerçekleşir: PERK ilk sırada yer alır, onu hızla ATF6 takip eder, IRE1 ise en son aktive olur. Aktive olan PERK, eIF2α'yı fosforile ederek genel protein sentezini engeller. Bir transkripsiyon faktörü olan ATF4, çekirdeğe geçer ve ER homeostazını yeniden sağlamak için gerekli genlerin transkripsiyonunu uyarır. ATF6, proteoliz ile aktive edilir. Aktif ATF6 aynı zamanda bir transkripsiyon faktörüdür ve ER şaperonları ve başka bir transkripsiyon faktörü olan X box-binding protein 1'in (XBP1) ekspresyonunu düzenler. Aktif formuna ulaşmak için XBP1, IRE1 tarafından gerçekleştirilen mRNA splicing işleminden geçmelidir. İşlenmiş XBP1 proteini (sXBP1) çekirdeğe taşınır ve burada şaperonların ve PERK inhibitörü P58IPK'nin yanı sıra protein yıkımı için gerekli olan genlerin transkripsiyonunu kontrol eder. Böylece proteinlerin daha fazla birikmesi engellenir ve katlanma kapasitesi artırılarak ER işlevlerinin geri kazanılması amaçlanır.

3. MATERİYAL VE METHOD

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı'yla birlikte yürütüldü. Çalışma için Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alındı (Karar numarası: 2023-01/05). Çalışma Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi kurallarına uyularak tamamlandı. Çalışmanın mali giderleri Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (CÜBAP) tarafından T-2023-999 nolu proje olarak karşılandı.

Çalışmamıza Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Kliniğine 01.02.2023 – 01.10.2023 tarihleri arasında KKKA hastalığı ön tanısı ile yatırılan ve sonrasında PCR ve ELISA yöntemleriyle KKKA virüsü veya spesifik antikor pozitifliği saptanan 18 yaş üzeri 60 hasta dahil edildi. Kontrol grubu olarak ise herhangi bir akut veya kronik hastalığı olmayan 28 sağlıklı kişi alındı. On sekiz yaş altı kişiler, gebeler ve laktasyon dönemindeki kişiler çalışmadan dışlandı. Hasta grubu için yatış sonrası ilk günde alınan numuneler kabul edilirken lipemik veya hemolizli numuneler, yetersiz veya santrifüj öncesi bekletilmiş numuneler ise reddedildi. Gerekli bilgiler epikrizlerden retrospektif olarak tarandı. Aynı zamanda kontrol grubunun yakın zamanlı laboratuvar verileri de dahil edildi.

3.1. Serum Örneklerinin Elde Edilmesi

KKKA hastalığı şüphesiyle hastanemize yatışı yapılan hastalar ve kontrol grubundan 4-5 mL kadar toplanan kan örnekleri jelli serum ayırma biyokimya tüplerine (Greiner Bio-One, VACUTTE CAT Serum Sep Clot Activator) alındı. Tüplere alınan kanlar normal oda ısısında dik bir konumda en az yarım saat pıhtılaşmaya izin verilecek şekilde bekletildi. Pıhtı oluştuktan sonra tüpler santrifüj cihazlarında (Nüve NF 1200R) 4000 rpm (1840g)'de 10 dk santrifüj edildi. Sonrasında ependorflara aktarıldı ve çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı.

3.2. Laboratuvar Ölçümleri

IL-1 α , IL-7, IL-18, GRP78, CHOP, EIF2 α ve IL-17A Protein Düzeylerinin ELISA Yöntemi ile Tayini

Hasta ve kontrol grupları için belirtilen testlerin serum düzeyleri, ticari ELISA kitleri kullanılarak belirlendi.

Tablo 3.1. ELISA yönteminde kullanılan kitlerin üretici firma ve katalog bilgileri

Test	Üretici Firma	Katalog Numarası
Human IL-1 α	ELK Biotechnology	ELK2273
Human IL-7	ELK Biotechnology	ELK4959
Human IL-18	ELK Biotechnology	ELK1245
Human EIF2 α	ELK Biotechnology	ELK0541
Human CHOP	ELK Biotechnology	ELK4043
Human GRP78	ELK Biotechnology	ELK2939
Human IL-17A	BT LAB	E0047Hu

Tablo 3.2. Kullanılan kitlerin duyarlık, ölçüm aralıkları, CV'si ve Standart konsantrasyonu

Test	Duyarlık	Ölçüm aralığı	CV	Standart
Human IL-1 α (pg/mL)	2,7	7,82-500	<%8	500
Human IL-7 (pg/mL)	5,8	15,63-1000	<%8	1000
Human IL-18 (pg/mL)	5,9	15,63-1000	<%8	1000
Human EIF2 α (pg/mL)	31,5	78,13-5000	<%8	5000
Human CHOP (ng/mL)	0,058	0,16-10	<%8	10
Human GRP78 (ng/mL)	0,129	0,32-20	<%8	20
Human IL-17A (ng/L)	2,38	5-1000	<%10	1280

Tablo 3.3. IL-1 α , IL-7, IL-18, GRP78, CHOP, EIF2 α ELISA testleri kutu içerikleri

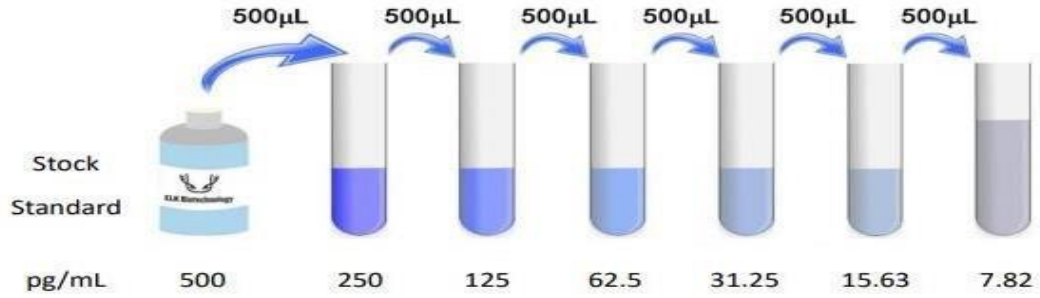
Kutu İçeriği	Miktar	Saklama Koşulları
Antikor kaplı 96'lık ELISA plaka	1 adet	-20 °C
Standart (Liyofilize)	2 vial	-20 °C
Biyotinli Antikor	1 vial 120 µL	-20 °C
Streptavidin-HRP	1 vial 120 µL	-20 °C
Standart Dilüenti	1 vial 20 mL	4 °C
Biyotinli Antikor Dilüent	1 vial 12 mL	4 °C
HRP Dilüent	1 vial 12 mL	4 °C
Yıkama Tamponu	1 vial 20 mL	4 °C
TMB Substrat Solüsyonu	1 vial 9 mL	4 °C
Stop Solüsyonu	1 vial 6 mL	4 °C
Plaka koruyucu	2 adet	4 °C

Kit'in Hazırlanması

1. Tüm kit bileşenleri ve çalışma örnekleri kullanılmadan önce oda sıcaklığına (18-25 °C) getirildi.
2. Yıkama tamponu, deiyonize su ile 25 kat dilüe edilerek hazırlandı.
3. IL-1 α , IL-7, IL-18, GRP78, CHOP, EIF2 α için standart solüsyonları aşağıda anlatıldığı gibi hazırlandı.

Liyofilize standartlar 1000g'de 1 dk santrifüj edildi. Standartlar 1,0 mL standart dilüenti ile çözüldü, köpürmeyecek şekilde hafifçe karıştırıldı ve oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. Standart dilüentinden 0,5 mL içeren 7 tüp hazırlandı. Hazırlanan tüplerden ilkinde 0,5 mL standart konuldu. Yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyon oluşturmak üzere bire bir seri dilüsyonlar yapılarak standartlar hazırlandı. Standart dilüsyonları hazırlanışı aşağıdaki şemada gösterilmiştir. Kör olarak standart dilüenti kullanıldı. Standartlar hazırlanırken her dilüsyon öncesinde pipet ucu değıştirildi.

4. Biotinli antikor ve Streptavidin-HRP kullanım öncesinde santrifüj edildi ve kendi dilüentleri ile 100 kat seyreltildi.



Şekil 3.1. Standartların hazırlanması için örnek dilüsyon şeması

Kit'in Çalışma Prosedürü

1. Standartlar için 7 kuyu, kör için 1 kuyu belirlendi. Uygun kuyucuklara 100 µL standart veya 100 µL numune eklendi. Plaka koruyucu ile örtülerek 37 °C'de 80 dk inkübe edildi.
2. Her kuyucuğa 200 µL yıkama solüsyonu eklenerek 1-2 dk bekletildi. Kuyucuklardaki sıvı dökülüp yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Plaka emici kâğıt ile kurulandı.
3. Her kuyucuğa 100 µL biyotinli antikor eklendi, plaka koruyucu ile kapatıldı ve 37 °C'de 50 dk inkübe edildi.
4. Yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı.
5. Her kuyucuğa 100 µL streptavidin-HRP eklendi, kuyucuklar plaka koruyucu ile kapatıldı ve 37 °C'de 50 dk inkübe edildi.
6. Son yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı.
7. Her kuyucuğa 90 µL TMB substratı eklendi. TMB substrat eklendiğinde kuyucuklar maviye döndü. Plaka koruyucu ile kapatılarak 37 °C'de 20 dk inkübe edildi.
8. Her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu eklendi. Stop solüsyonu eklendiğinde kuyucuklar sarı renge döndü.
9. Plaka altında herhangi bir su damlası, parmak izi ve sıvı yüzeyinde kabarcık olmadığından emin olundu. Ardından plaka okuyucuda (Multiskan FC, Thermo Scientific) 450 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.

10. Ölçülen absorbanslar X-ekseninde ve standart konsantrasyonları Y-ekseninde olacak şekilde noktalardan geçen uygun kalibrasyon eğrisi denklemi oluşturuldu ve örnek konsantrasyonları belirlendi.

Tablo 3.4. IL-17A ELISA testi kutu içeriği

Reaktifler	Miktar	Saklama Koşulları
Sıvı standart solüsyonu (1280 ng/L)	0,5 mL ×1	4 °C
Antikor kaplı 96'lık ELISA plaka	1 adet	4 °C
Standart dilüent	3 mL ×1	4 °C
Streptavidin-HRP	6 mL ×1	4 °C
Stop solüsyonu	6 mL ×1	4 °C
Substrat solüsyon A	6 mL ×1	4 °C
Substrat solüsyon B	6 mL ×1	4 °C
Yıkama tamponu	20 mL ×1	4 °C
Biyotinli antikor	1 mL ×1	4 °C
Kullanıcı talimatı	1 adet	4 °C
Plaka koruyucu	2 adet	4 °C

Kit'in Hazırlanması

Tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Dilüsyon öncesinde, standart 15 dakika hafifçe karıştırılarak bekletildi. Standart dilüentinden 120 µL içeren 5 tüp hazırlandı. Hazırlanan tüplerden ilkinde 120 µL standart konuldu. Yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyon oluşturmak üzere bire bir seri dilüsyonlar yapılarak standartlar hazırlandı. Standartlar hazırlanırken her dilüsyon öncesinde pipet ucu değiştirildi. Yıkama tamponu, deiyonize su ile 25 kat dilüe edilerek hazırlandı.

IL17A Çalışma Prosedürü

1. Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara uygun şekilde hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi.
2. Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi. Standart solüsyonu biyotinli antikor içerdiğinden standart kuyucuklarına IL-17A antikoruna eklenmedi.
3. Örnek kuyucuklarına 40 µL serum ve ardından 10 µL IL-17A antikoruna eklendi.
4. Ardından örnek kuyucukları ve standart kuyucuklara 50 µL streptavidin-HRP eklendi. Kör kuyucuğuna biyotinli antikor veya streptavidin-HRP eklenmedi. Plaka, koruyucu ile kapatılarak 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Her kuyucuğa 300 µL yıkama solüsyonu eklenerek 1-2 dk bekletildi. Kuyucuklardaki sıvı dökülüp yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı. Plaka, emici kâğıt ile kurulandı.
6. Her kuyucuğa 50 µL substrat A ve ardından 50 µL substrat B eklendi. Kuyucukların rengi maviye dönmeye başladı. Plaka, koruyucu ile kapatılarak 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi.
7. Her kuyucuğa 50 µL Stop solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya dönüştü.
8. Ardından plaka okuyucuyu (Multiskan FC, Thermo Scientific) ile 450 nanometrede ölçüm yapıldı.
9. Ölçülen absorpsanlar X-ekseninde ve standart konsantrasyonları Y-ekseninde olacak şekilde noktalardan geçen uygun kalibrasyon eğrisi denklemi oluşturuldu ve IL-17A konsantrasyonları belirlendi.

Serum IL-18, IL-17A, IL-7, IL-1 α , EIF2 α , GRP78 ve CHOP değerlerine ek olarak hastaların ilk başvuruındaki laboratuvar verileri de (IL-6, ferritin, CRP, sedim, BUN, kreatinin, total protein, albümin, ALP, ALT, AST, LDH, CK, GGT, total bilirubin, direkt bilirubin, PT, APTT, fibrinojen, D-dimer, lökosit (WBC), nötrofil%, lenfosit%, monosit%, eozinofil%, bazofil%, nötrofil#, lenfosit#, monosit#, eozinofil#, bazofil#, NRBC%, NRBC#, immatür granülosit (IG)#, immatür granülosit%, hemogloblin (HGB), platelet (PLT), MPV, P-LCR) kaydedilmiştir.

3.3. İstatistiksel Analiz

Tanımlayıcı istatistiksel analizler, sürekli veriler için ortalama, standart sapma, ortanca ve çeyreklikler; kategorik veriler için frekans ve yüzdeler, yapıldı. Grupların normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Kategorik verilerin karşılaştırılması kare testi ile yapıldı. Sürekli veriler için normal dağılım gösteren parametrelerde iki grup karşılaştırmaları bağımsız gruplarda t testi ile, çoklu karşılaştırmalar varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı. Sürekli verilerde normal dağılım gösteremeyen parametrelerin karşılaştırmaları ikili gruplar için Mann-Whitney U testi ile, çoklu gruplar için Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. Değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. KKA hastalık tanısı, prognoz ve sağkalım tahmininde değişkenlerin performanslarını değerlendirmek için ROC analizleri yapıldı. İstatistiksel analizler "IBM SPSS for Windows versiyon 22.00" istatistik paket programı ile yapılırken verilerin görselleştirilmesi için GraphPad Prism versiyon 8.3.0. kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0,05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza hasta grubu olarak 60 KKKA tanıli hasta ve kontrol grubu olarak 28 sağlıklı kişi dahil edilmiştir. Hastalara ait tanımlayıcı özellikler Tablo 4.1.'de verilmiştir. Şikayetler sonrası hastaneye ortalanca başvuru 4 (2-4) gün olarak saptanmıştır. Hastaların 27 (%45)'sinde kene temas öyküsü bulunmuştur. Hasta grubundaki en sık kronik hastalık hipertansiyon olmuştur. Malignite öyküsü bulunan iki hasta olup hastaların biri lenfoma için kemoterapi almışken diğer hastada ise mide kanseri tanısı bulunmaktadır. Hastaların tedavisinde 8'inde (%13,3) ribavirin, 16'sında (%26,6) ise steroid kullanılmıştır. Hastaneye başvuruındaki ortalanca SGS değerleri 5 (1-7)'tir. Hastaların 15 (%25)'i hayatını kaybetmiştir.

Tablo 4.1. Hastaların tanımlayıcı özellikleri

Değişkenler	Tanımlayıcı istatistikler
Başvuru bilgileri ve hastalık seyri	Şikâyet sonrası başvuru günü
	4 (2-4)
	Kene temas öyküsü
	27 (%45)
Ek hastalık öyküsü	Başvuru günü SGS değeri
	5 (1-7)
	Mortal seyir (exitus)
	15 (%25)
Tedavi	Diabetes Mellitus
	1 (%1,6)
	Hipertansiyon
	10 (%16,6)
Ek hastalık öyküsü	Hiperlipidemi
	3 (%5)
	Nörolojik hastalık
	1 (%1,6)
Tedavi	Koroner arter hastalığı
	3 (%5)
	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
	4 (%6,6)
Tedavi	Malignite
	2 (%3,3)
	Ribavirin tedavisi
	8 (%13,3)
Tedavi	Steroid tedavisi
	16 (%26,6)

Şikâyet sonrası başvuru günü ortalanca (1. çeyrek-3. çeyrek) olarak diğer veriler ise n (%) olarak ifade edilmiştir.

Atmış kişilik hasta grubunun 16 (%27)'si, 28 kişilik kontrol grubunun ise 10 (%36)'u kadın bireylerden oluşmaktadır. KKKA hastaları ve kontrol grubunda cinsiyet açısından istatistiksel fark saptanmadı ($p=0,386$). Hasta grubunun yaş ortalaması 54 ± 16 yıl, kontrol grubunun ise 37 ± 12 yıl olarak bulundu. Gruplar arasında yaş açısından istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p\leq0.001$) (Tablo 4.2.).

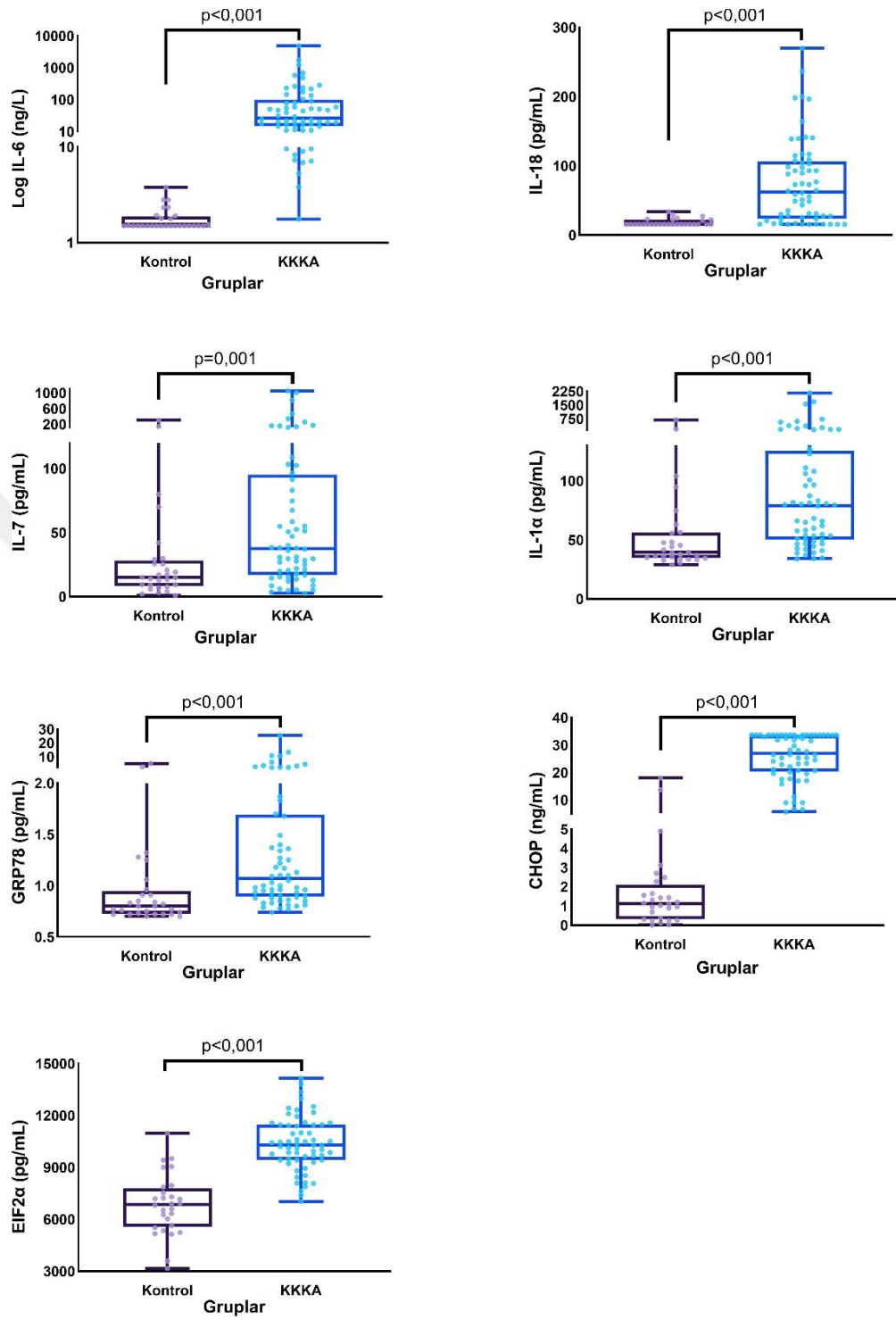
Tablo 4.2. Kontrol ve hasta grupları arasında demografik veriler, proinflatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçlerinin karşılaştırılması

Parametreler	Gruplar		p değeri
	Kontrol (n=28)	Hasta (n=60)	
Cinsiyet, kadın (%)	10 (%36)	16 (%27)	0,386
Yaş (yıl)	37±12	54±16	<0,001
IL-18 (pg/mL)	15,6 (15,6-22,2)	62,4 (24,2-107)	<0,001
IL-17A (ng/L)	216 (121-429)	205 (159-286)	0,830
IL-7 (pg/mL)	15 (8,5-27,5)	37,5 (17,3-94)	0,001
IL-1 α (pg/mL)	39,5 (34,7-56,1)	79,1 (50,2-125)	<0,001
EIF2 α (pg/mL)	6841±1754	10356±1565	<0,001
GRP78 (pg/mL)	0,8 (0,73-0,94)	1,07 (0,9-1,69)	<0,001
CHOP (ng/mL)	1,13 (0,34-1,96)	27,1 (20,4-33,7)	<0,001
IL-6 (ng/L)	1,50 (1,50-1,88)	27 (14,7-101)	<0,001

Cinsiyet değişkeni; kadın sayısı ve yüzdesi olarak verilmiş ve karşılaştırma Ki-kare analizi ile yapılmıştır. Yaş ve EIF2 α değişkenleri ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiş ve karşılaştırmalar bağımsız gruplarda t testi ile yapılmıştır. Diğer değişkenler ortanca (1. çeyrek-3. çeyrek) olarak verilmiş ve karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Anlamlı sonuçlar ($p<0,05$) kalın karakterler ile gösterilmiştir.

Hasta ve kontrol grubu arasında serum IL-1 α , IL-7, IL-18, IL-6, EIF2 α , GRP78 ve CHOP düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Hasta grubunda kontrollere kıyasla bu parametrelerde artış tespit edilmiştir (Tablo 4.2.).

Hastalar başvuru anındaki SGS verilerine göre hastalık şiddeti açısından iki gruba ayrılmıştır. $SGS \leq 4$ olan 30 hasta hafif grup ve $SGS \geq 5$ olan 30 hasta orta ve ağır grup olarak belirlendi. Gruplar arasında IL-18, IL-17A, CHOP düzeylerinde istatistiksel olarak fark vardır. Bu değişkenler orta-ağır grupta yüksek olarak bulunmuştur. Diğer laboratuvar parametrelerden IL-6, ferritin, CRP, ALP, ALT, AST, LDH, CK, GGT, total bilirubin, direkt bilirubin, APTT, D-dimer, lenfosit#, NRBC%, NRBC#, IG# ve IG% değerleri orta-ağır grupta yüksek iken total protein, albümin, fibrinojen ve platelet değerleri ise düşük bulunmuştur. Orta-ağır gruptaki mortalite oranı ise daha yüksektir. Bu gruplandırmaya göre veriler Tablo 4.3. ve Tablo 4.4.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Kontrol ve hasta grupları arasında IL-6, IL-18, IL-7, IL-1 α , GRP78, CHOP ve EIF2 α parametrelerinin Box-plot grafikleriyle karşılaştırılması

Tablo 4.3. SGS'ye göre Hafif ve Orta-Ağır şiddetli hasta grupları arasında klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

Parametre	KKKA Hastalık Şiddetine Göre Gruplar		p değeri
	Hafif (n=30)	Orta-Ağır (n=30)	
Şiddet skoru	2 (1-2)	7 (6-10)	<0,001
Mortalite	2 (%6,7)	13 (%43,3)	0,001
Cinsiyet, kadın (%)	7 (%23)	9 (%30)	0,559
Yaş (yıl)	50±16	58±15	0,067
IL-18 (pg/mL)	50,2 (15,6-93,0)	82,7 (27,5-123)	0,049
IL-17A (ng/L)	173 (147-218)	246 (182-299)	0,014
IL-7 (pg/mL)	30,2 (14,6-108,8)	43,5 (21,2-74,9)	0,615
IL-1α (pg/mL)	66,5 (44,8-157,6)	79,7 (54,9-111)	0,451
EIF2α (pg/mL)	10247±1793	10465±1319	0,594
GRP78 (pg/mL)	1,0 (0,88-1,87)	1,14 (0,9-1,4)	0,871
CHOP (ng/mL)	25 (17,5-31,5)	33,3 (21,1-33,7)	0,005
IL-6 (ng/L)	18,55 (9,59-50)	52,9 (20,5-218)	0,003
Ferritin (µg/L)	1081 (306-2936)	20035 (9640-43838)	<0,001
CRP (mg/L)	14,63 (6,06-29,5)	34 (7,55-91)	0,025
Sedim (mm/saat)	6 (4-14)	10 (2-18)	0,674
BUN (mg/dL)	16,6 (14,1-18,4)	16,4 (14,1-25,5)	0,442
KRE (mg/dL)	0,96 (0,85-1,1)	0,95 (0,81-1,67)	0,412
T,PRO (g/L)	63,6 (60,9-67,9)	61,8 (58,4-63,2)	0,019
ALB (g/L)	39,6±2,5	35,6±4,4	<0,001
ALP (U/L)	67 (53-78)	122 (64-193)	<0,001
ALT (U/L)	33 (17-50)	163 (69-291)	<0,001
AST (U/L)	48 (29-94)	355 (216-766)	<0,001
LDH (U/L)	308 (231-390)	1053 (693-1804)	<0,001
CK (U/L)	260 (182-517)	748 (449-2802)	<0,001
GGT (U/L)	22 (14-50)	116 (57-197)	<0,001
T,BİL (mg/dL)	0,31 (0,24-0,48)	0,61 (0,44-0,82)	<0,001
D,BİL (mg/dL)	0,12 (0,1-0,2)	0,22 (0,18-0,48)	0,001
PT (saniye)	9,5 (8,7-10,7)	10,5 (9-14,4)	0,062

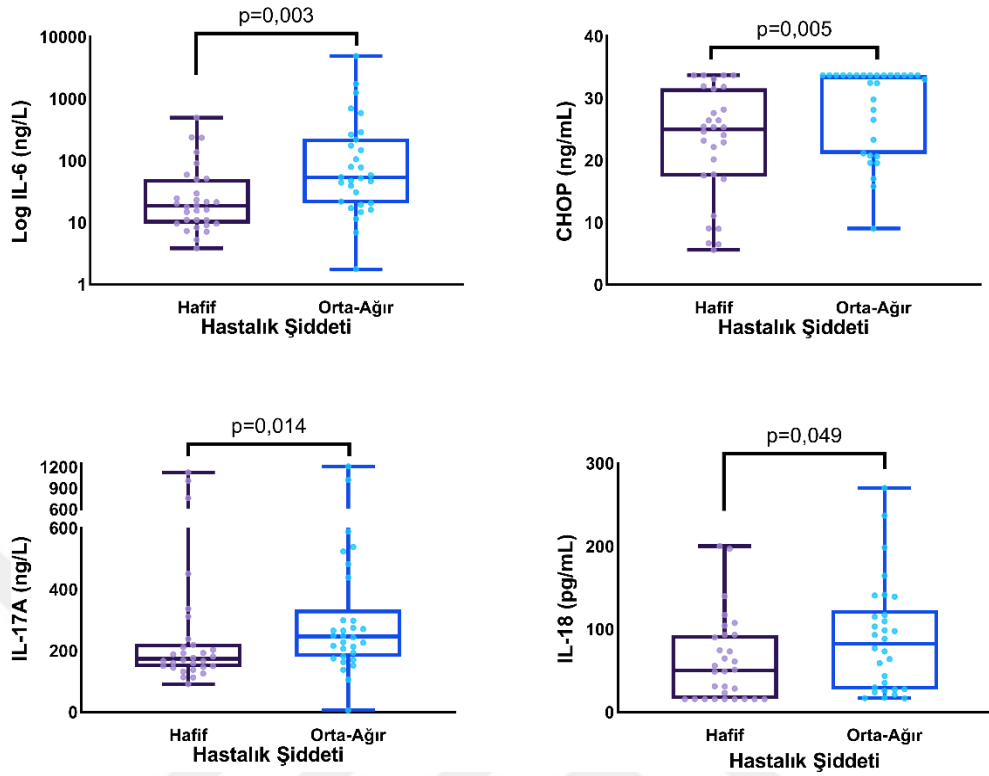
APTT (saniye)	30 (28,4-32,6)	43,8 (35,4-52,6)	<0,001
Fibrinojen (mg/dL)	288±52	251±55	0,012
D-Dimer (mg/L FEU)	1,18 (0,82-7,32)	11,4 (1,04-45)	0,018

Cinsiyet değişkeni, kadın sayısı ve yüzdesi olarak verilmiş ve karşılaştırma Ki-kare analizi ile yapılmıştır. Yaş, EIF2α, albümin ve fibrinojen değişkenleri ortalama ± standart sapma olarak verilmiş ve karşılaştırmalar bağımsız gruplarda t testi ile yapılmıştır. Diğer değişkenler ortanca (1. çeyrek-3. çeyrek) olarak verilmiş ve karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Anlamlı sonuçlar (p<0,05) kalın karakterler ile gösterilmiştir.

Tablo 4.4. SGS'ye göre Hafif ve Orta-Ağır şiddetli hasta grupları arasında hemogram parametrelerinin karşılaştırılması

Parametre	KKKA Hastalık Şiddetine Göre Gruplar		p değeri
	Hafif (n=30)	Orta-Ağır (n=30)	
WBC (10⁹/L)	2,81 (2,03-4,01)	3,32 (2,08-6,87)	0,143
Nötrofil%	75 (62,2-86,8)	73,2 (54,9-85)	0,359
Lenfosit%	17,5 (8,7-27,7)	21,2 (10,3-37)	0,121
Monosit%	5,7 (3,3-8,4)	2,5 (1,6-9,1)	0,06
Eozinofil%	0 (0-0,4)	0,6 (0-0,9)	0,007
Bazofil%	0,3 (0-0,5)	0,6 (0,3-1)	0,009
Nötrofil# (10⁹/L)	1,82 (1,43-3,26)	2,55 (1,1-5,63)	0,408
Lenfosit# (10⁹/L)	0,44 (0,32-0,8)	0,8 (0,5-1,06)	0,002
Monosit# (10⁹/L)	0,13 (0,1-0,22)	0,11 (0,06-0,31)	0,203
Eozinofil# (10⁹/L)	0 (0-0,01)	0,01 (0-0,06)	0,003
Bazofil# (10⁹/L)	0,01 (0-0,02)	0,02 (0,01-0,05)	0,008
NRBC%	0 (0-0,2)	0,6 (0,2-1,1)	<0,001
NRBC# (10⁹/L)	0 (0-0,01)	0,01 (0,01-0,07)	<0,001
IG# (10⁹/L)	0,02 (0,01-0,03)	0,14 (0,04-0,46)	<0,001
IG%	0,7 (0,4-1)	4,7 (1,6-10,3)	<0,001
HGB (g/dL)	13,7 (12,8-14,7)	13,9 (12,3-15,5)	0,877
PLT (10⁹/L)	106 (85-131)	27 (18-47)	<0,001
MPV (fL)	10,7 (10,2-11,2)	11,3 (10,5-11,8)	0,048
P-LCR	31,2 (26-34,6)	34,8 (29,6-37,8)	0,031

Değişkenler ortanca (1. çeyrek-3. çeyrek) olarak verilmiş ve karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Anlamlı sonuçlar (p<0,05) kalın karakterler ile gösterilmiştir.



Şekil 4.2. KKKA hastalarında IL-6, CHOP, IL-17A ve IL-18 parametrelerinin hastalık şiddetine göre Box-plot grafikleriyle karşılaştırılması

Ayrıca hastalar başvuru anındaki SGS verilerine göre hafif (≤ 4), orta (5-8) ve ağır (≥ 9) olmak üzere üç gruba ayrıldı. CHOP düzeyi ağır hasta grubunda hafif hastalara kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu ancak orta şiddetteki hasta grubunun CHOP değerleri ile diğer iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu. Ferritin, CRP, IL-6 değerleri ağır hasta grubunda hafif hastalara kıyasla daha yüksekti. Lenfosit# değerleri orta şiddetli hasta grubunda hafiflere kıyasla yüksek bulundu. NRBC%, NRBC#, IG% ve IG# değerleri orta ve şiddetli hasta grubunda hafif hastalara kıyasla yüksek, platelet değeri düşük bulundu. Mortalite oranı ise hastalık şiddetiyle birlikte artmaktaydı (Tablo 4.5. ve Tablo 4.6.).

Tablo 4.5. SGS şiddetine göre hasta grupları arasında klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

Parametre	KKKA Hastalık Şiddetine Göre Gruplar			p değeri
	Hafif (n=30)	Orta (n=21)	Ağır (n=9)	
Şiddet skoru	1,5 (0,75-2) ^a	6 (5-7) ^b	11 (10-11) ^b	<0,001
Mortalite	2 (%13,3)	5 (%33,3)	8 (53,3)	<0,001
Cinsiyet, kadın (%)	7 (%44)	6 (%38)	3 (%19)	0,813
Yaş (yıl)	50±16	57±15	58±16	0,188
IL-18 (pg/mL)	50,2 (15,6-93,1)	58,9 (24,6-140)	98,5 (68,5-112)	0,068
IL-17A (ng/L)	173 (146-223)	248 (172-4600)	228 (199-270)	0,050
IL-7 (pg/mL)	30,2 (14,2-121)	36 (16,1-63)	52,7 (34,1-99,5)	0,321
IL-1α (pg/mL)	66,6 (44,1-181)	65,9 (52,2-110)	96,5 (80,1-169)	0,249
EIF2α (pg/mL)	10247±1793	10134±1122	11236±1483	0,182
GRP78 (pg/mL)	1 (0,88-1,97)	1,1 (0,84-1,32)	1,36 (0,96-1,92)	0,366
CHOP (ng/mL)	24,96 (17,4-31,6) ^a	32,4 (20,1-33,7) ^{a,b}	33,7 (31,4-33,7) ^b	0,005
IL-6 (ng/L)	18,6 (9,59-50,3) ^a	39,2 (16,5-56,1) ^a	288 (113-1491) ^b	<0,001
Ferritin (µg/L)	1081 (282-3161) ^a	17655 (9043-41148) ^b	25508 (8093-99975) ^b	<0,001
CRP (mg/L)	14,6 (5,9-30,9) ^a	13,7 (5,83-78,6) ^a	89,3 (39,3-141) ^b	0,001
Sedim (mm/saat)	6 (2,75-14)	9,5 (2-14)	12,5 (2-23,5)	0,798
BUN (mg/dL)	16,6 (13,9-18,9)	14,8 (13,4-24,1)	33,2 (19,2-56,9)	0,046
KRE (mg/dL)	0,96 (0,85-1,11) ^a	0,9 (0,79-1,02) ^a	3,17 (1,39-3,88) ^b	<0,001
T,PRO (g/L)	63,6 (60,8-68,1) ^a	62,7 (59,6-65,6) ^{a,b}	58,8 (55,2-61,8) ^b	0,012
ALB (g/L)	39,6±2,5 ^a	37,1±3,3 ^b	32,3±4,9 ^b	<0,001
ALP (U/L)	66,5 (52,5-78) ^a	84 (61-154) ^b	256 (104-293) ^b	<0,001
ALT (U/L)	32,5 (17-50,5) ^a	164 (60,5-279) ^b	152 (77,5-518) ^b	<0,001
AST (U/L)	48 (28-98) ^a	342 (200-741) ^b	440 (253-1411) ^b	<0,001
LDH (U/L)	308 (230,3-393) ^a	982 (690-1652) ^b	1674 (675-2754) ^b	<0,001
CK (U/L)	260 (171-525) ^a	672 (326-2123) ^b	1604 (528-3346) ^b	0,001
GGT (U/L)	22 (14-50,3) ^a	117 (31,5-176) ^b	114 (83-254) ^b	<0,001
T,BİL (mg/dL)	0,31 (0,24-0,53) ^a	0,53 (0,43-0,73) ^{a,b}	0,96 (0,62-1,71) ^b	<0,001
D,BİL (mg/dL)	0,12 (0,1-0,2) ^a	0,2 (0,18-0,3) ^{a,b}	0,5 (0,17-0,94) ^b	0,001

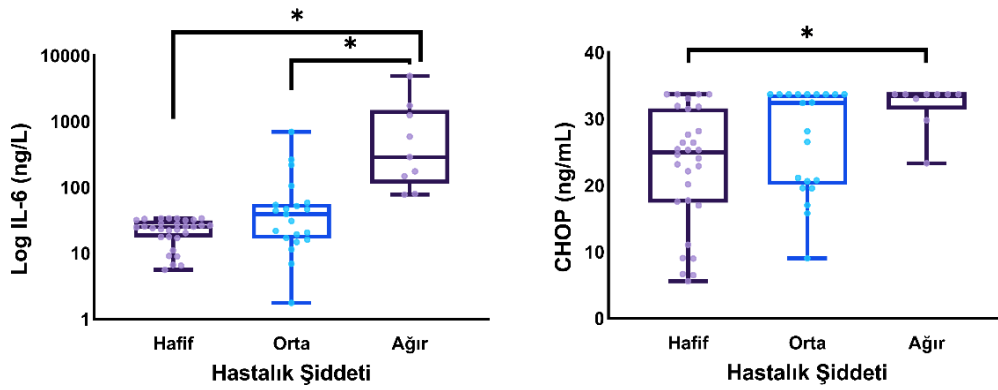
PT (sec)	9,53 (8,71-10,9) ^a	9,74 (8,87-11,3) ^a	20,5 (13,7-23,9) ^b	0,001
APTT (sec)	30 (28,4-32,7) ^a	39,7 (34,1-45,4) ^b	75,8 (48-152) ^b	<0,001
Fibrinojen (mg/dL)	288±52	256±53	233±65	0,028
D-dimer (mg/L FEU)	1,18 (0,81-7,42) ^a	5,12 (0,78-35,5) ^{a,b}	45 (9,98-51,5) ^b	0,005

Cinsiyet değişkeni, kadın sayısı ve yüzdesi olarak verilmiş ve karşılaştırma Ki-kare analizi ile yapılmıştır. Yaş, EIF2α, albümin ve fibrinojen değişkenleri ortalama ± standart sapma olarak verilmiş ve karşılaştırmalar ANOVA testi ile yapılmıştır. Diğer değişkenler ortanca (1. çeyrek-3. çeyrek) olarak verilmiş ve karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi ile yapılmıştır. Satırlarda yer alan aynı harfler gruplar arası fark olmadığını, farklı harfler ise gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir. Anlamlı sonuçlar (p<0,05) kalın karakterler ile gösterilmiştir.

Tablo 4.6. SGS şiddetine göre hasta grupları arasında hemogram parametrelerinin karşılaştırılması

Parametre	KKKA Hastalık Şiddetine Göre Gruplar			p değeri
	Hafif (n=30)	Orta (n=21)	Ağır (n=9)	
WBC (10⁹/L)	2,81 (2,03-4,08)	3 (1,99-5,32)	7,15 (3,28-14,2)	0,058
Nötrofil%	75 (62,1-87)	69,8 (53,2-84)	83,5 (59,3-89,2)	0,249
Lenfosit%	17,5 (8,38-28,1)	24,3 (12-40,6)	12,7 (9,2-33)	0,105
Monosit%	5,65 (3,28-8,48)	2,5 (1,85-9,5)	2,5 (0,95-6,85)	0,116
Eozinofil%	0 (0-0,43) ^a	0,3 (0-0,7) ^{a,b}	0,6 (0,05-2,3) ^b	0,014
Bazofil%	0,3 (0-0,5) ^a	0,5 (0,3-0,75) ^{a,b}	0,7 (0,15-1,6) ^b	0,030
Nötrofil# (10⁹/L)	1,82 (1,37-3,35)	1,9 (1,08-4,17)	4,98 (2,6-11,3)	0,072
Lenfosit# (10⁹/L)	0,44 (0,32-0,8) ^a	0,82 (0,54-1,05) ^b	0,67 (0,39-2,07) ^{a,b}	0,010
Monosit# (10⁹/L)	0,13 (0,1-0,22)	0,11 (0,06-0,28)	0,09 (0,06-0,54)	0,440
Eozinofil# (10⁹/L)	0 (0-0,01) ^a	0,01 (0-0,04) ^{a,b}	0,03 (0,01-0,45) ^b	0,005
Bazofil# (10⁹/L)	0,01 (0-0,02) ^a	0,01 (0,01-0,04) ^{a,b}	0,02 (0,01-0,28) ^b	0,021
NRBC%	0 (0-0,2) ^a	0,3 (0-0,85) ^b	1,1 (0,5-1,95) ^b	<0,001
NRBC# (10⁹/L)	0 (0-0,01) ^a	0,01 (0-0,04) ^b	0,07 (0,02-0,34) ^b	<0,001
IG# (10⁹/L)	0,02 (0,01-0,03) ^a	0,05 (0,03-0,41) ^b	0,44 (0,15-2,12) ^b	<0,001
IG%	0,7 (0,38-1) ^a	2,3 (1-8,85) ^b	6,9 (4,65-15) ^b	<0,001
HGB (g/dL)	13,7 (12,8-14,8)	14,3 (12,3-15,8)	13,7 (9,7-14,7)	0,560
PLT (10⁹/L)	106 (85-132) ^a	30 (21-53,5) ^b	19 (13,5-37) ^b	<0,001
MPV (fL)	10,7 (10,1-11,3)	11,3 (10,5-11,7)	10,9 (10,5-11,9)	0,140
P-LCR	31,2 (25,7-35,3)	34,8 (29,2-37,8)	34,9 (29,5-38,2)	0,096

Değişkenler ortanca (1. çeyrek-3. çeyrek) olarak verilmiş ve karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi ile yapılmıştır. Satırlarda yer alan aynı harfler gruplar arası fark olmadığını, farklı harfler ise gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir. Anlamlı sonuçlar (p<0,05) kalın karakterler ile gösterilmiştir.



Şekil 4.3. KKKA hastalarında IL-6 ve CHOP parametrelerinin SGS şiddetine göre Box-plot grafikleriyle karşılaştırılması

Hastalar şikayetlerin başlama sürelerine ve ilk başvuruındaki klinik bulgularına göre prehemorajik ve hemorajik döneme ayrılmıştır. Konvalesan dönemde başvuru hiç olmamıştır. Şiddet skoru, ferritin, ALP, ALT, AST, LDH, CK, GGT, direkt bilirubin, APTT, lenfosit%, lenfosit# ve NRBC% değerleri hemorajik gruptakilerde artış gösterirken albümin, fibrinojen, nötrofil% ve platelet değerleri ise düşük bulmuştur. Prehemorajik, hemorajik evrelemeye göre gruplar arasında IL-18, IL-17A, IL-7, IL-1 α , EIF2 α , GRP78, CHOP değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Bu gruplandırmaya göre laboratuvar parametrelerinin karşılaştırması Tablo 4.7. ve Tablo 4.8.'de mevcuttur.

Tablo 4.7. Başvuru anındaki klinik evreleye göre hasta grupları arasında klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

Parametre	KKKA Başvuru Evresine Göre Gruplar		p değeri
	Prehemorajik (n=42)	Hemorajik (n=18)	
Şiddet skoru (SGS)	2 (1-6)	7 (5-8)	0,002
Cinsiyet, kadın (%)	13 (%31)	3 (%16,7)	0,346
Yaş (yıl)	54 (39-63)	59 (46-68)	0,317
IL-18 (pg/mL)	50,2 (17,1-104,1)	91,5 (48,6-109,3)	0,069
IL-17A (ng/L)	192 (149-311)	222 (170-266)	0,540
IL-7 (pg/mL)	30,9 (15,4-83,1)	43,5 (25-109)	0,354
IL-1 α (pg/mL)	66,5 (46,5-122,8)	81 (62-126)	0,183
EIF2 α (pg/mL)	10310 $\pm$ 1671	10462 $\pm$ 1322	0,735
GRP78 (pg/mL)	1,02 (0,88-1,68)	1,24 (0,9-2,05)	0,420
CHOP (ng/mL)	27,9 (17,5-33,7)	26,5 (20,7-33,7)	0,787
IL-6 (ng/L)	27 (14,7-136)	31,2 (11,4-58,4)	0,723
Ferritin (μ g/L)	2000 (528-17076)	17178 (5005-66847)	0,001
CRP (mg/L)	22 (7,4-55,6)	12,6 (6,3-31)	0,407
Sedim (mm/saat)	6 (2-14)	6 (2-19)	0,578
BUN (mg/dL)	17,1 (13,1-20,5)	16,3 (14,3-25)	0,632
KRE (mg/dL)	0,95 (0,81-1,13)	0,96 (0,9-1,21)	0,503
T,PRO (g/L)	62,7 (60,3-67,1)	62,4 (60,2-63,2)	0,287
ALB (g/L)	39,2 (37,3-40,9)	36,1 (33,2-38)	<0,001
ALP (U/L)	71 (58-85)	117 (68-160)	0,022
ALT (U/L)	41 (20-80)	191 (65-305)	<0,001
AST (U/L)	91 (42-186)	331 (224-862)	<0,001
LDH (U/L)	388 (242-726)	986 (612-1674)	0,001
CK (U/L)	407 (197-748)	1536 (324-3456)	0,015
GGT (U/L)	28 (17-86)	119 (89-197)	0,002
T,BİL (mg/dL)	0,44 (0,26-0,76)	0,49 (0,34-0,82)	0,245
D,BİL (mg/dL)	0,16 (0,1-0,29)	0,24 (0,17-0,47)	0,037
PT (saniye)	10,2 (8,99-12,2)	9,52 (8,78-14,8)	0,606
APTT (saniye)	32,5 (29,4-39,7)	43,9 (33,1-57,1)	0,006

Fibrinojen (mg/dL)	281±53	245±56	0,028
D-dimer (mg/L FEU)	3,96 (0,89-14,1)	3,19 (0,82-45)	0,686

Cinsiyet değişkeni, kadın sayısı ve yüzdesi olarak verilmiş ve karşılaştırma Ki-kare analizi ile yapılmıştır. EIF2α ve fibrinojen değişkenleri ortalama ± standart sapma olarak verilmiş ve karşılaştırmalar bağımsız gruplarda t testi ile yapılmıştır. Diğer değişkenler ortanca (1. çeyrek-3. çeyrek) olarak verilmiş ve karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Anlamlı sonuçlar (p<0,05) kalın karakterler ile gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Başvuru anındaki klinik evreye göre hasta grupları arasında hemogram parametrelerinin karşılaştırılması

Parametre	KKKA Başvuru Evresine Göre Gruplar		p değeri
	Prehemorajik (n=42)	Hemorajik (n=18)	
WBC (10⁹/L)	3,05 (2,01-4,96)	3 (2,18-5,61)	0,878
Nötrofil%	76,7 (67,7-87,7)	56,7 (43-79,7)	0,003
Lenfosit%	16,6 (9-26)	35,7 (12,7-45,7)	0,002
Monosit%	3,9 (2,3-7,4)	5,4 (2-10,5)	0,197
Eozinofil%	0 (0-0,6)	0,4 (0-1,4)	0,142
Bazofil%	0,3 (0-0,6)	0,6 (0,3-1,1)	0,015
Nötrofil# (10⁹/L)	2,11 (1,55-4,4)	1,64 (1,08-4,1)	0,294
Lenfosit# (10⁹/L)	0,47 (0,34-0,77)	0,99 (0,57-1,17)	0,001
Monosit# (10⁹/L)	0,11 (0,07-0,18)	0,18 (0,09-0,32)	0,160
EozinFofil# (10⁹/L)	0 (0-0,02)	0,01 (0-0,08)	0,204
Bazofil# (10⁹/L)	0,01 (0-0,02)	0,01 (0,01-0,03)	0,175
NRBC%	0 (0-0,5)	0,5 (0-1,1)	0,037
NRBC# (10⁹/L)	0 (0-0,02)	0,01 (0-0,07)	0,118
IG# (10⁹/L)	0,03 (0,01-0,19)	0,05 (0,02-0,22)	0,226
IG%	1 (0,5-6,3)	1,7 (0,8-5,5)	0,219
HGB (g/dL)	13,8 (12,5-14,7)	13,9 (12,3-15,5)	0,651
PLT (10⁹/L)	86 (47-114)	25 (18-45)	<0,001
MPV (fL)	10,6 (10,2-11,2)	11,7 (11,3-11,9)	<0,001
P-LCR	30,7 (27-34,6)	37,8 (36,3-39,9)	<0,001

Değişkenler ortanca (1. çeyrek-3. çeyrek) olarak verilmiş ve karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Anlamlı sonuçlar (p<0,05) kalın karakterler ile gösterilmiştir.

Hastalar sağkalım durumlarına göre ölen ve sağ olarak iki gruba ayrıldığında IL-18 ve CHOP değerleri ölen hastalarda yüksek bulundu. Şiddet skoru, IL-6, ferritin, CRP, BUN, kreatinin, ALP, ALT, AST, LDH, GGT, total bilirubin, direkt bilirubin, PT, APTT, D-dimer, WBC, nötrofil%, monosit%, NRBC#, NRBC%, IG# ve IG%

değerleri ölen hastalarda yüksek iken lenfosit% ve platelet değerleri düşük bulundu. Ölen ve yaşayan hastalara ait bu karşılaştırmalar Tablo 4.9. ve Tablo 4.10.'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. KKKA hastalarında sağkalım açısından klinik ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması

Parametre	KKKA Hastalarında Sağkalıma Göre Gruplar		p değeri
	Sağ (n=45)	Ex (n=15)	
Şiddet Skoru	2 (1-6)	10 (5-11)	<0,001
Cinsiyet, kadın (%)	12 (%27)	4 (%27)	0,640
Yaş (yıl)	53±15	57±20	0,423
IL-18 (pg/mL)	48,59 (23,18-93)	103,09 (73,02-117,01)	0,012
IL-17A (ng/L)	191,5 (151,99-297,72)	225,97 (169,68-274,53)	0,263
IL-7 (pg/mL)	36 (15,41-83,07)	38,49 (19,78-96,47)	0,585
IL-1α (pg/mL)	65,87 (46,73-108,06)	100,82 (57,55-138,81)	0,122
EIF2α (pg/mL)	10180±1526	10882±1614	0,134
GRP78 (pg/mL)	1,03 (0,89-1,7)	1,18 (0,9-1,68)	0,695
CHOP (ng/mL)	24,61 (19,55-32,38)	33,67 (29,77-33,67)	0,001
IL-6 (ng/L)	19,3 (11-44)	262 (147-697)	<0,001
Ferritin (µg/L)	2106 (640-16700)	21198 (8446-74330)	0,001
CRP (mg/L)	12,535 (5,745-29,44)	90,67 (78,93-116)	<0,001
Sedim (mm/saat)	6 (2-14)	8,5 (2-18)	0,868
BUN (mg/dL)	16 (13,7-18,4)	23,6 (17,3-41,4)	0,004
KRE (mg/dL)	0,91 (0,8-0,99)	1,67 (1,04-3,17)	<0,001
T,PRO (g/L)	63,62±4,56	61,42±5,75	0,135
ALB (g/L)	38,35±3,31	35,51±5,29	0,066
ALP (U/L)	70 (54-84)	124 (77-284)	0,004
ALT (U/L)	47 (27-108)	97 (45-478)	0,033
AST (U/L)	102 (45-293)	407 (164-1273)	0,009
LDH (U/L)	400 (266-847)	793 (499-2377)	0,004
CK (U/L)	407 (210-815)	1266 (284-3046)	0,129
GGT (U/L)	31 (18-97)	122 (31-258)	0,015
T,BİL (mg/dL)	0,37 (0,27-0,53)	0,95 (0,62-1,31)	<0,001

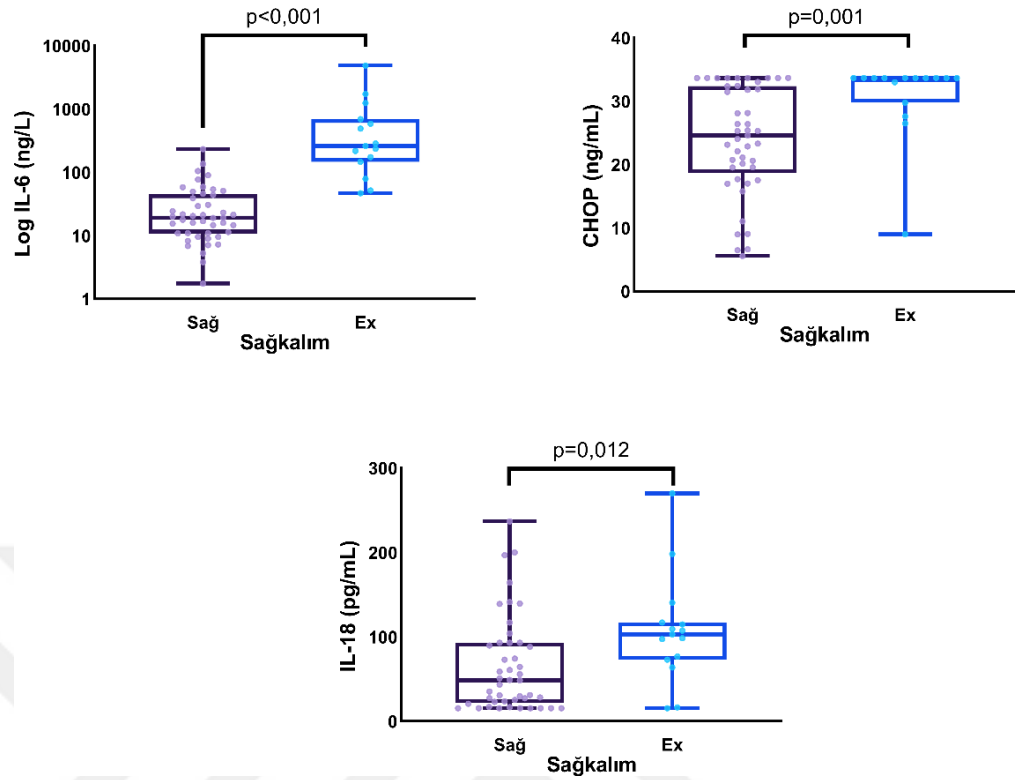
D,BİL (mg/dL)	0,14 (0,1-0,21)	0,48 (0,2-0,59)	<0,001
PT (saniye)	9,41 (8,73-10,2)	14,1 (12,3-21,4)	<0,001
APTT (saniye)	32,3 (29,4-39)	50,9 (39,7-111)	<0,001
Fibrinojen (mg/dL)	275,87±52,37	248,25±66,75	0,132
D-dimer (mg/L FEU)	1,17 (0,815-7,32)	45 (14,1-45)	<0,001

Cinsiyet değişkeni, kadın sayısı ve yüzdesi olarak verilmiş ve karşılaştırma Ki-kare analizi ile yapılmıştır. Yaş, EIF2α, total protein, albümin ve fibrinojen değişkenleri ortalama ± standart sapma olarak verilmiş ve karşılaştırmalar bağımsız gruplarda t testi ile yapılmıştır. Diğer değişkenler ortanca (1. çeyrek-3. çeyrek) olarak verilmiş ve karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Anlamlı sonuçlar (p<0,05) kalın karakterler ile gösterilmiştir.

Tablo 4.10. KKKA hastalarında sağkalım açısından hemogram parametrelerinin karşılaştırılması

Parametre	KKKA Hastalarında Sağkalıma Göre Gruplar		p değeri
	Sağ (n=45)	Ex (n=15)	
WBC (10⁹/L)	2,71 (1,98-3,44)	6,87 (4,55-12,07)	<0,001
Nötrofil%	69,1 (55,7-81,3)	85 (79,7-89,5)	0,002
Lenfosit%	23,4 (11,8-37)	10,3 (9-13,8)	0,016
Monosit%	5,9 (3,1-9,1)	1,5 (0,9-3,1)	<0,001
Eozinofil%	0 (0-0,6)	0,5 (0,1-1,1)	0,024
Bazofil%	0,4 (0-0,6)	0,4 (0,2-0,7)	0,247
Nötrofil# (10⁹/L)	1,67 (1,09-2,8)	5,63 (3,85-8,91)	<0,001
Lenfosit# (10⁹/L)	0,5 (0,34-0,98)	0,67 (0,42-1,66)	0,183
Monosit# (10⁹/L)	0,13 (0,09-0,24)	0,09 (0,05-0,15)	0,087
Eozinofil# (10⁹/L)	0 (0-0,02)	0,01 (0,01-0,13)	0,005
Bazofil# (10⁹/L)	0,01 (0-0,02)	0,02 (0,01-0,08)	0,005
NRBC%	0 (0-0,4)	0,8 (0,4-1,7)	<0,001
NRBC# (10⁹/L)	0 (0-0,01)	0,05 (0,01-0,1)	<0,001
IG# (10⁹/L)	0,02 (0,01-0,04)	0,41 (0,11-1,09)	<0,001
IG%	0,8 (0,5-1,9)	6,4 (2,3-12,6)	<0,001
HGB (g/dL)	13,8 (12,6-15)	13,7 (11,3-15,6)	0,608
PLT (10⁹/L)	85 (42-107)	27 (19-74)	0,021
MPV (fL)	11 (10,4-11,6)	10,9 (10,3-11,4)	0,662
P-LCR	33,04±7,59	31,82±5,37	0,591

Değişkenler ortanca (1. çeyrek-3. çeyrek) olarak verilmiş ve karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Anlamlı sonuçlar (p<0,05) kalın karakterler ile gösterilmiştir.



Şekil 4.4. KKKA hastalarında IL-6, CHOP ve IL-18 parametrelerinin sağkalım açısından Box-plot grafikleriyle karşılaştırılması

Proinflatuvar parametreler ve endoplazmik retikulum stres belirteçleri ile laboratuvar parametreleri arasında korelasyon analizi yapıldı. IL-18 ile şiddet skoru ($r=0,285$), kreatinin ($r=0,259$) yaş ($r=0,286$), ALT ($r=0,374$), total bilirubin ($r=0,429$) ve GGT ($r=0,398$) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. IL-17A ile şiddet skoru ($r=0,259$) ve total bilirubin ($r=0,273$) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. IL-7 ile yaş ($r=0,235$) arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. IL-1 α ile albümin ($r=-0,324$) ve yaş ($r=0,379$) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. EIF2 α ile GGT ($r=0,299$) ve yaş ($r=0,423$) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. GRP78 ile yaş ($r=0,224$) değeri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. CHOP ile şiddet skoru ($r=0,418$), yaş ($r=0,422$), ferritin ($r=0,451$), CRP ($r=0,577$), kreatinin ($r=0,456$), total bilirubin ($r=0,389$), PT ($r=0,410$), APTT ($r=0,397$), D-dimer ($r=0,532$) WBC($r=0,276$) ve platelet ($r=0,277$) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. IL-6 ile şiddet skoru ($r=0,485$), ferritin ($r=0,407$), CRP ($r=0,617$), kreatinin ($r=0,458$), total bilirubin ($r=0,512$), PT ($r=0,521$),

APTT (r=0,455), D-dimer (r=0,393), WBC (r=0,479) ve platelet (r=0,301) değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır (Tablo 4.11. ve Tablo 4.12.).

Tablo 4.11. IL-18, IL-17A, IL-7, IL-1 α , EIF2 α , GRP78, CHOP ve IL-6 ile laboratuvar parametreleri arasındaki ilişkinin Spearman korelasyon analizi

Parametreler	IL-18	IL-17A	IL-7	IL-1 α	EIF2 α	GRP78	CHOP	IL-6
Şiddet Skoru	0,285*	0,259*	0,091	0,2	0,241	0,067	0,418**	0,485**
Yaş	0,286**	-0,065	,235*	,379**	0,423**	0,224*	0,422**	-0,04
Ferritin	0,116	0,251	0,049	0,122	0,159	0,004	0,451**	0,407**
CRP	0,041	-0,013	-0,06	0,064	0,029	-0,065	0,577**	0,617**
Sedim	-0,019	-0,092	0,254	,279*	-0,016	0,218	-0,154	-0,047
BUN	0,191	-0,225	0,218	,439**	0,322*	0,194	0,217	0,072
KRE	0,259*	-0,022	-0,012	0,21	0,182	-0,015	0,456**	0,458**
T,PRO	0,044	-0,174	-0,081	-0,068	-0,071	-0,061	0,115	-0,065
ALB	-0,193	0,005	-0,168	-0,324*	-0,11	-0,125	-0,113	-0,107
ALP	0,349**	-0,202	0,097	0,347**	0,268*	0,032	0,312*	0,244
ALT	0,374**	0,25	0,097	0,132	0,201	0,091	0,205	0,163
AST	0,392**	0,215	0,121	0,225	0,223	0,118	0,322*	0,254*
LDH	0,415**	0,109	0,102	0,226	0,21	0,091	0,403**	0,303*
CK	0,243	0,101	0,037	0,144	0,163	0,008	0,255	0,209
GGT	0,398**	-0,044	0,06	0,253	,299*	-0,02	0,186	0,213
T,BİL	0,429**	,273*	0,016	0,105	0,125	-0,093	0,389**	0,512**
D,BİL	0,298*	0,215	0,086	0,18	0,048	0,003	0,270*	0,456**
PT	0,137	0,02	0,048	0,143	0,187	0,103	0,410**	0,521**
APTT	0,231	0,131	0,13	0,169	0,197	0,182	0,397**	0,455**
Fibrinojen	0,036	-0,017	-0,025	-0,07	0,029	-0,079	-0,252	-0,228
D-dimer	0,196	-0,096	0,149	0,234	0,246	0,17	0,532**	0,393**

*p<0.05, **p<0.01

Tablo 4.12. IL-18, IL-17A, IL-7, IL-1 α , EIF2 α , GRP78, CHOP ve IL-6 ile hemogram parametreleri arasındaki ilişkinin Spearman korelasyon analizi

Parametreler	IL-18	IL-17A	IL-7	IL-1 α	EIF2 α	GRP78	CHOP	IL-6
WBC	0,193	0,177	0,173	0,129	0,155	0,121	0,276*	0,479**
Nötrofil%	-0,075	0,119	-0,042	-0,166	-0,066	-0,012	0,171	0,516**
Lenfosit%	0,102	-0,161	0,085	0,217	0,095	0,059	-0,11	-0,465**
Monosit%	-0,086	0,046	-0,114	-0,048	-0,153	-0,143	-0,337**	-0,541**
Eozinofil%	0,209	0,097	0,037	0,191	0,142	-0,064	0,225	0,378**
Bazofil%	0,148	0,173	0,078	0,105	0,169	-0,092	0,139	0,306*
Nötrofil#	0,1	0,147	0,141	0,082	0,149	0,105	0,309*	0,564**
Lenfosit#	0,325*	0,015	0,227	0,361**	0,301*	0,159	0,172	0,016
Monosit#	0,017	0,145	-0,024	0,05	-0,028	-0,11	-0,171	-0,233
Eozinofil#	0,218	0,113	0,056	0,204	0,165	-0,041	0,281*	0,442**
Bazofil#	0,209	,254*	0,148	0,134	0,215	0,008	0,266*	0,468**
NRBC%	0,313*	0,013	0,097	0,293*	0,256*	0,036	0,468**	0,587**
NRBC#	0,347**	0,062	0,12	0,288*	0,276*	0,056	0,465**	0,617**
IG#	0,186	0,195	0,164	0,232	0,243	0,119	0,391**	0,620**
IG%	0,178	0,161	0,065	0,184	0,218	0,029	0,370**	0,549**
HGB	0,221	-0,065	-0,002	-0,013	0,296*	-0,044	0,247	-0,045
PLT	-0,242	-0,134	-0,03	-0,156	-0,157	-0,048	-0,277*	-0,301*
MPV	0,127	0,092	0,012	0,024	0,145	-0,048	0,014	-0,047
P-LCR	0,15	0,113	0,022	0,039	0,171	-0,056	-0,048	-0,062

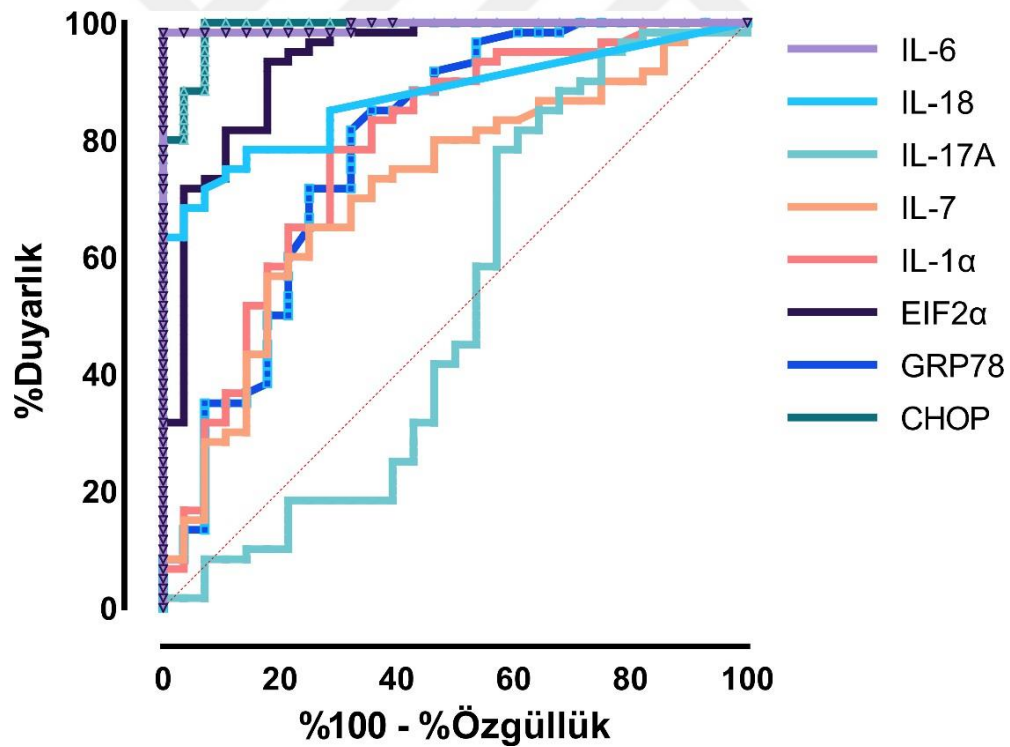
*p<0.05, **p<0.01

IL-18, IL-17A, IL-7, IL-1 α , EIF2 α , GRP78 ve CHOP değerlerinin hastalık tanısında kullanılıp kullanılmayacağını saptamak için ROC analizi yapılmıştır. Hastalık tanısında IL-6 (AUC=0,995), CHOP (AUC=0,989), EIF2 α (AUC=0,935), IL-18 (AUC=0,872), GRP78 (AUC=0,787), IL-1 α (AUC=0,781) ve IL-7 (AUC=0,715) testlerinin performansı anlamlı bulundu. En yüksek duyarlılığa sahip iki test CHOP (%100) ve IL-6 (%98,3) iken en yüksek özgüllüğe sahip iki test IL-6 (%100) ve IL-18 (%96,4) bulundu (Tablo4.13.).

Tablo 4.13. Proinflatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçlerinin KKKA tanısındaki performansları

Parametreler	AUC	p değeri	Kesim Değeri	Duyarlık (%95 GA)	Özgüllük (%95 GA)	+LR (%95 GA)	-LR (%95 GA)
IL-18 (pg/mL)	0,872	<0,001	>29,6	68,3 (55,0 - 79,7)	96,4 (81,7 - 99,9)	19,1 (2,8 - 132)	0,33 (0,2 - 0,5)
IL-17A (ng/mL)	0,514	0,853	>151	78,3 (65,8 - 87,9)	42,9 (24,5 - 62,8)	1,37 (1,0 - 1,9)	0,51 (0,3 - 1,0)
IL-7 (pg/mL)	0,715	<0,001	>25,8	65 (51,6 - 76,9)	75 (55,1 - 89,3)	2,6 (1,3 - 5,1)	0,47 (0,3 - 0,7)
IL-1 α (pg/mL)	0,781	<0,001	>48,3	78,3 (65,8 - 87,9)	71,4 (51,3 - 86,8)	2,74 (1,5 - 5,0)	0,3 (0,2 - 0,5)
EIF2 α (pg/mL)	0,935	<0,001	>7966	93,3 (83,8 - 98,2)	82,1 (63,1 - 93,9)	5,23 (2,4 - 11,6)	0,08 (0,03 - 0,2)
GRP78 (pg/mL)	0,787	<0,001	>0,85	81,7 (69,6 - 90,5)	67,9 (47,6 - 84,1)	2,54 (1,5 - 4,4)	0,27 (0,1 - 0,5)
CHOP (ng/mL)	0,989	<0,001	>4,9	100 (94 - 100)	92,9 (76,5 - 99,1)	14 (3,7 - 53,2)	0 (0,03 - 0,2)
IL-6 (ng/L)	0,995	<0,001	>3,78	98,33 (91,1-100)	100 (87,8-100)		0,017

AUC: Eğri Altında Kalan Alan, LR: olabilirlik oranı, GA: Güven aralığı. Anlamli sonuçlar ($p<0,05$) kalın karakterler ile gösterilmiştir.



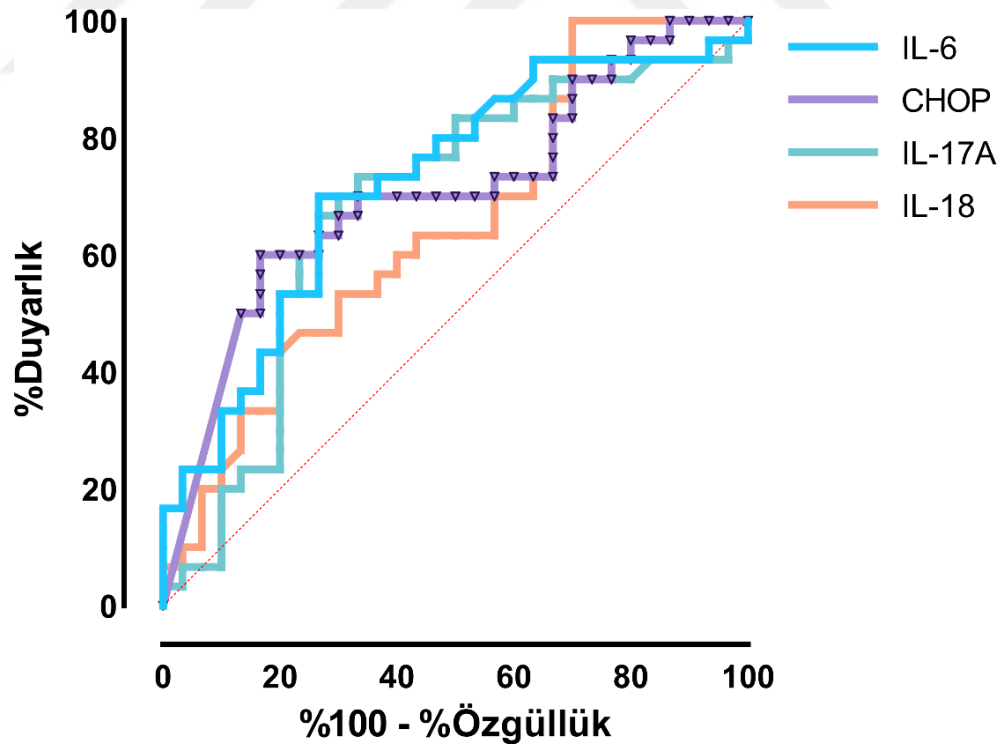
Şekil 4.5. Proinflatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçleri ile KKKA tanısında ROC analizleri

IL-18, IL-17A, IL-7, IL-1 α , EIF2 α , GRP78, CHOP ve IL-6 değerlerinin hastalık şiddetini belirlemede kullanılıp kullanılmayacağını saptamak için ROC analizi yapılmıştır. Hastalık şiddetinin belirlenmesinde IL-6 (AUC=0,723), CHOP (AUC=0,707), IL-17A (AUC=0,684) ve IL-18 (AUC=0,648) testlerinin performansı anlamlı bulundu. En yüksek duyarlılığa sahip test IL-18 (%100) iken en yüksek özgüllüğe sahip test CHOP (%83,3) bulundu (Tablo 4.14.).

Tablo 4.14. Proinflatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçlerinin KKKA şiddetinin (hafif ve orta-ağır) belirlenmesindeki performansları

Parametreler	AUC	p değeri	Kesim Değeri	Duyarlık (%95 GA)	Özgüllük (%95 GA)	+LR (%95 GA)	-LR (%95 GA)
IL-18 (pg/mL)	0,648	0,039	>15,6	100 (88,4 - 100)	30 (14,7 - 49,4)	1,43 (1,1 - 1,8)	0
IL-17A (ng/mL)	0,684	0,011	>192	73,3 (54,1 - 87,7)	66,67 (47,2 - 82,7)	2,2 (1,3 - 3,8)	0,4 (0,2 - 0,8)
CHOP (ng/mL)	0,707	0,002	>31,9	60 (40,6 - 77,3)	83,3 (65,3 - 94,4)	3,6 (1,5 - 8,4)	0,48 (0,3 - 0,8)
IL-6 (ng/L)	0,723	<0,001	>29,5	70 (50,6 - 85,3)	73,3 (54,1 - 87,7)	2,62 (1,4 - 5,0)	0,41 (0,2 - 0,7)

AUC: Eğri Altında Kalan Alan, LR: olabilirlik oranı, GA: Güven aralığı. Anlamlı sonuçlar ($p<0,05$) kalın karakterler ile gösterilmiştir.



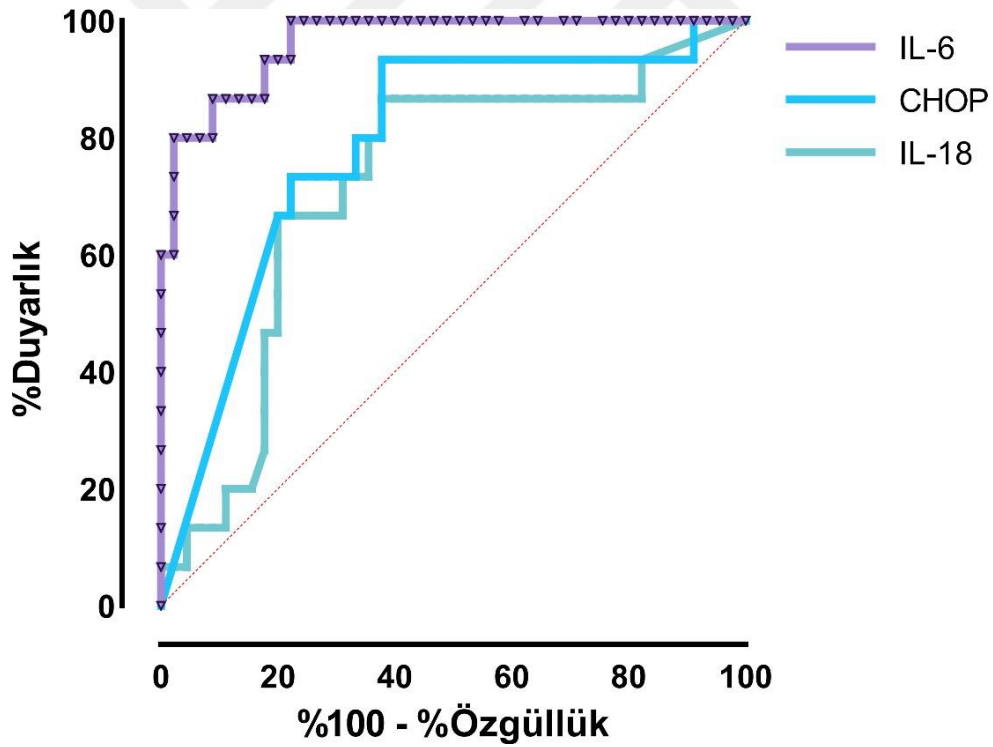
Şekil 4.6. Proinflatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçleri ile KKKA hastalık şiddetinin belirlenmesinde ROC analizleri

IL-18, IL-17A, IL-7, IL-1 α , EIF2 α , GRP78, CHOP ve IL-6 değerlerinin sağkalımın belirlenmesinde kullanılıp kullanılmayacağını saptamak için ROC analizi yapılmıştır. Sağkalımın belirlenmesinde IL-6 (AUC=0,963), CHOP (AUC=0,785) ve IL-18 (AUC=0,718) testlerinin performansı anlamlı bulundu. En yüksek duyarlılığa (%100) ve özgüllüğe (%77,8) sahip test IL-6 bulundu (Tablo 4.15.).

Tablo 4.15. Proinflatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçlerinin sağkalımın belirlenmesindeki performansları

Parametreler	AUC	P değeri	Kesim Değeri	Duyarlık (%95 GA)	Özgüllük (%95 GA)	+LR (%95 GA)	-LR (%95 GA)
IL-18 (pg/mL)	0,718	0,006	>61	86,7 (59,5 - 98,3)	62,2 (46,5 - 76,2)	2,29 (1,5 - 3,5)	0,21 (0,06 - 0,8)
CHOP (ng/mL)	0,785	<0,001	>26,4	93,3 (68,1 - 99,8)	62,2 (46,5 - 76,2)	2,47 (1,7 - 3,7)	0,11 (0,02 - 0,7)
IL-6 (ng/L)	0,963	<0,001	>46,3	100 (78,2 - 100)	77,8 (62,9 - 88,8)	4,5 (2,6 - 7,8)	0

AUC: Eğri Altında Kalan Alan, LR: olabilirlik oranı, GA: Güven aralığı. Anlamlı sonuçlar ($p<0,05$) kalın karakterler ile gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Proinflatuvar sitokinler ve endoplazmik retikulum stres belirteçleri ile KKA sağkalımının belirlenmesinde ROC analizleri

5. TARTIŞMA

Mevcut literatürde proinflatuvar sitokinler ve ER stres belirteçleri ile KKKA ilişkisine dair bilgiler sınırlıdır. Bu sınırlamaları aşmak amacıyla KKKA hastalarında serum IL-18, IL-17A, IL-7, IL-1 α , EIF2 α , GRP78 ve CHOP düzeylerini belirleyerek hastalık tanısı ve prognozundaki önemini araştırdık. Aynı zamanda bu belirteçlerin düzeylerinin belirlenmesi hastalık patogenezinin aydınlatılmasına önemli katkılar sağlayacaktır.

KKKA bölgemizde sık görülen kanama, ateş ve transaminaz yüksekliğiyle karakterize viral zoonotik bir hastalıktır. Hastalığın kliniği spesifik olmayan hafif semptomlarla seyrederken diğer taraftan mortal olabilecek kadar da ağır olabilir [32].

KKKA patogeneziyle ilgili sunulan çeşitli hipotezlerin ortak noktası endotel hasarı ve sonrasında oluşan düzensiz ve aşırı proinflatuvar sitokin salınımıdır [4]. Oluşan endotel hasarı kanama, trombositopeni ve DİK patogenezinin temelini oluşturur [26]. Sitokin salınımı ise hastaların klinik bulgularındaki hipotansiyon, septik şok ve organ hasarı gibi durumlara neden olur [4]. Diğer taraftan makrofajlar ve dentritik hücreler tarafından salınan kemokinlerin, TRAIL apoptotik yolağını aktifleştirerek lenfopeniye katkıda bulunduğu düşünülmektedir [5].

Viral enfeksiyonun ilk aşamalarında, bağışıklık sistemi virüsün varlığını tanıır ve çeşitli sitokinler salgılayarak bir bağışıklık tepkisi başlatır. Bu sitokinler, immün yanıt ve bağışıklık hücrelerinin enfeksiyon bölgesine toplanması için önemlidir [5, 62]. Bununla birlikte bazı durumlar, bağışıklık tepkisi regülasyonunu bozarak proinflatuvar sitokinlerin aşırı salınmasına yol açar. Bu kontrolsüz bağışıklık tepkisine sitokin fırtınası denir [63].

Çalışmamızda, KKKA hasta grubunda ortalama yaş 54 ± 16 yıl olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde literatürde yapılan diğer KKKA çalışmalarında, hastaların yaşları farklılık göstermektedir. Örneğin, Karaşahin ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada hastaların ortalama yaşı $47,83 \pm 17,46$ yıl olarak bulunmuştur [70]. Benzer şekilde, Alkan ve ark. ile Bakır ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda ise hastaların ortalama yaşı sırasıyla 51 ± 24 ve 51 ± 16 yıl olarak rapor

edilmiştir [71, 72]. Bu sonuçlar, KKKA hastalığının daha çok çalışan ve üretken yaş grubundaki bireylerin bir sorunu olduğunu göstermektedir.

Ülkemizdeki KKKA olguların %47'sinin kadınlardan oluştuğu bildirilmiştir [18]. Çalışmamızda hastaların %27'sini kadınlar oluşturmaktadır. Bu durumu ise bölgedeki erkeklerin tarım ve hayvancılık işlerine daha aktif olarak katılmalarıyla açıklayabiliriz.

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı'nın süveyans verilerine göre, 2002-2007 yılları arasında KKKA tanısı konulan vakaların %68,9'unda kene temas öyküsü tespit edilmiştir [18]. Ancak, yaptığımız çalışmada hastaların yalnızca %45'inde kene teması belirlenmiştir. Bu düşük oranın birkaç sebebi olabilir. Öncelikle, hastanemizin üçüncü basamak hastane olması nedeniyle, birinci ve ikinci basamak hastanelerde takip edilen kliniği şiddetli olan hastalar hastanemize sevk edilmektedir. Sevk edilen hasta grubu içinde kene teması olmaksızın virüsle enfekte kişilerin oranının daha fazla olması muhtemeldir. Bu kişilerde hastalığın daha şiddetli seyretmesi bu hipotezi destekler.

Hastalığın tedavi yönetimiyle ilgili farklılıklar mevcuttur. Bazı hastalara destekleyici tedaviye ek olarak ribavirin veya steroid verilmiştir. Ribavirin veya steroidlerin KKKA tedavisindeki etkinliği belirsizdir. Çoğu çalışma ribavirinin KKKA'da etkisiz olduğunu bulsa da [54-58], bazı çalışmalar hastalığın sonucu üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu bildirmiştir [59-61]. Çalışmamızdaki 8 (%13,3) hastaya ribavirin ve 16 (%26,6) hastaya ise steroid tedavisi verilmiştir.

IL-17A, çalışmamızdaki diğer sitokinler (IL-1 α , IL-7 ve IL-18) gibi proinflamatuvar özellikte olsa da sağlıklı ve hasta grupları arasında bir fark bulunmadı. Fakat orta-ağır hasta grubunda hafif gruba göre daha yüksekti. IL-17A seviyelerindeki bu artış iki şekilde açıklanabilir. Bunlardan ilki KKKA enfeksiyonu sırasında IL-17A'nın salınım zamanındaki değişkenliği olabilir. Spesifik bir biyobelirtecini en yüksek ifadesi veya salınımı hastalığın farklı aşamalarında görülebilir. Çalışmamızda hastaların ilk başvuru anındaki kanlarını kullandığımızdan ileri aşamalarındaki hastalarda IL-17A yüksekliğini gösterebilmişken erken evredeki hastalarda IL-17A henüz salgılanmadığından düşük ölçülmüş olabilir. Fakat başvuru semptomlarının başlama süresine ve klinik bulgulara göre yapılan gruplandırmada prehemorajik ve

hemorajik gruplar arasında da IL-17A düzeyi açısından da bir fark yoktu. Konvalesan dönemde başvuran hastamız ise bulunmamaktaydı. İkincisi neden ise hastalığın ciddiyeti IL-17A'nın ekspresyonunu etkilemiş olabilir. Hastalığın seyri boyunca IL-18, IL-17A, IL-7 ve IL-1 α seviyelerindeki değişimleri doğru bir şekilde değerlendirmek ve bu sitokinlerin ekspresyon dinamiklerini açıklamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Önceki çalışmalar, proinflatuar sitokinlerden IL-6, TNF- α ve IL-1 ailesinden IL-36'nın KKKA hastalarında arttığını göstermiştir [64-66]. IL-1 α ve IL-18, IL-1 süper ailesine aittir ve inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde çok önemlidir. Bu sitokinler çoğunlukla immün hücreler tarafından eksprese edilirler ve proinflatuar araçlar olarak görev yaparlar [67].

Doğan ve ark. KKKA hastalarında IL-1 ailesinden olan IL-36 α , IL-36 β ve IL-36 γ seviyelerini değerlendirmişlerdir ve IL-36 α ve IL-36 β düzeylerinin hasta grupta kontrollere kıyasla arttığını göstermişlerdir [64]. Mortal seyirli hastalarda ise IL-36 α ve IL-36 γ düzeyleri yüksek bulunmuştur. Ayrıca, IL-36 γ düzeylerinin hastalık şiddetiyle ilişkili olduğunu saptamışlar. Çalışmamızda KKKA hastalarında IL-1 ailesinden IL-1 α ve IL-18 düzeylerini yüksek bulduk. Ölen veya orta-ağır hastalarda IL-18 düzeylerindeki artış anlamlıydı.

Çelik ve ark. KKKA hastalarında ve ciddi hastalık durumunda (şiddetli veya ölen hastalarda) daha yüksek IL-1 seviyeleri olduğunu göstermiştir. Ayrıca, şiddetli grup veya ölen hastalarda yaşayanlara kıyasla LDH, AST, ALT, CK, PT, aPTT değerleri yüksekken trombosit sayısı ve fibrinojen seviyesi düşüktü [68].

Sancakdar ve ark. çocuk KKKA hastalarında yaptığı çalışmada hasta grubunda yüksek serum IL-10, TNF α , IL-6 ve Endotelin-1 düzeyleri saptarken IL-12 düzeyleri açısından fark bulamadılar [65]. Hastalık şiddetine göre ayrılan gruplar arasında serum TNF- α ve IL-6 düzeyleri açısından anlamlı bir fark yoktu. Güler ve ark. KKKA hastalarında sağlıklı gruba göre artmış IL-6 ve TNF- α düzeylerine ek olarak, ölen hastalarda yüksek TNF- α düzeyleri saptadılar, ancak IL-6 düzeylerindeki değişimler ise anlamlı değildi. Çalışmada hafif-orta ve ağır hasta grupları arasında IL-6 ve TNF- α açısından anlamlı fark bulunamadı [66]. Ergönül ve ark. ölümcül seyreden KKKA hastalarında IL-6 seviyesinin DİK skoruyla korelasyon gösterdiğini saptamış ve

kontROLSÜZ sitokin fırtınasının DİK gelişimine neden olduğunu öne sürmüşlerdir [27]. Çalışmamızda ise IL-6 değerleri hem kontrol grubuna göre hastalarda hem de şiddetli veya mortal seyirli hastalarda yüksek saptadık.

KKKA enfeksiyonunda değişen derecelerde sitopeni bulunur. KKKA hastalarında görülen sitopeni nedeninin hemofagositoz olabileceği düşünülmektedir. IL-1, IFN- γ , TNF- α ve IL-6 gibi Th1 sitokinlerin yüksek düzeyde salgılanması ve monositlerin aşırı aktivasyonu, hemofagositik lenfohistiyositoz fizyopatogenezinde önemli rol alır [69]. Çalışmamızdaki bütün hasta gruplarında lenfopeni mevcuttu. Yaptığımız korelasyon analizinde lenfosit düzeyleriyle IL-1 α (r=0,361), IL-18 (r=0,325) ve EIF2 α (r=0,301) düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır.

KKKA virüsünün önemli hedef organlarından biri karaciğerdir. Hepatosit enfeksiyonu, karaciğer fonksiyon testleri seviyelerinin yükselmesine yol açar [73]. Doğan ve ark. IL-1 ailesinden olan IL-36 α ve IL-36 γ düzeyleri ile ALP, AST, LDH ve GGT'nin pozitif korelasyon gösterdiğini saptamıştır [64]. Çalışmamızda ise ALP, ALT, AST, LDH, GGT, total bilirubin ve direkt bilirubin düzeyleriyle IL-1 ailesinden olan IL-18 düzeyleri ile pozitif korelasyon göstermektedir. Bu durum Doğan ve ark. bulgularını destekler.

IL-1 yüksekliği sepsiste erken tanı koydurucu bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Septik hastalarda yüksek IL-1 ve IL-18 seviyeleri kötü prognostik belirteç olarak kullanılabilir [74].

Literatürde ölümle ilişkili bağımsız prediktörleri belirlemek için yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Bakır ve ark. ölen hastalarda CK, LDH, ALT, AST, INR düzeylerini daha yüksek saptamışlardır [75]. Swanepoel ve ark. mortalite tahmininde lökositozun belirleyici olduğunu öngörmüştür [76]. Çevik ve ark. aPTT ≥ 60 saniye, trombosit $\leq 20 \times 10^9/L$, somnolans ve melena varlığını ölümle ilişkili bağımsız belirteçler olarak saptamışlardır [77]. Çalışmamızda ise IL-6, ferritin, CRP, BUN, kreatinin, ALP, ALT, AST, LDH, GGT, total bilirubin, direkt bilirubin, PT, APTT, D-dimer, WBC, nötrofil%, monosit%, NRBC#, NRBC%, IG# ve IG% değerlerini ölen hastalarda yüksek; lenfosit% ve platelet değerlerini ise düşük bulduk. Ayrıca, sağkalımın belirlenmesinde IL-6 (AUC=0,963), CHOP (AUC=0,785) ve IL-18 (AUC=0,718) testlerinin performansı anlamlı bulundu.

Mevcut kanıtlar, DİK ve trombozda inflamatuvar sitokinlerin önemli rolleri olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak bunlar, ikincil uyarıcılar olmadan trombotik yanıtı tetiklemek için tek başlarına yetersiz görünmektedir. Sitokinler, özellikle interlökin 6 (IL-6), yeni trombosit oluşumunu teşvik edebilir. IL-6'ya yanıt olarak oluşan yeni trombositler, trombin aktivasyonuna daha duyarlı hale gelir ve prokoagülan aktiviteyi artırır [78]. Çalışmamızda ise PT, aPTT, D-dimer ile IL-6 ve CHOP arasındaki pozitif yönlü anlamlı korelasyonlar sitokinler ve DİK arasındaki ilişkiyi destekler.

Çalışmamızda IL-7 düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksekti ve bütün hasta gruplarında lenfopeni mevcuttu. Fakat lenfosit sayısı ve IL-7 düzeyi arasında korelasyon saptanmadı. Çalışmalar COVID-19 hastalarının plazma/serumunda IL-7 seviyelerinin yüksek olduğunu ve IL-7 ile hastalığın ciddiyeti arasında doğrudan ilişkili olduğunu buldu [79, 80]. COVID-19 hastalığındaki lenfopeninin, kronik HIV-1 ile enfekte bireylerdekine benzer bir mekanizma ile oluştuğu tahmin edilmektedir; burada dolaşımdaki yüksek IL-7 seviyeleri, IL-7 reseptörünü aşağı yönde regüle eder ve yüksek sitokin seviyeleri T hücre havuzunun tükenmesine neden olabilir [80, 81]. Diğer taraftan HIV, septik şok ve şiddetli lenfopenisi olan hastalar üzerinde yapılan çalışmalar, T hücre havuzunun geri kazanılmasında rekombinant insan IL-7 (rhIL-7) ile tedavinin faydalı olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, IL-7 ile tedavi edilen kritik durumdaki COVID-19 hastalarında lenfosit sayısında artış gözlenmiştir [80]. Diğer viral enfeksiyonlardakine benzer, artmış IL-7 seviyeleri KKKA'daki lenfopeni patogenezinde yukardaki durumlara benzer mekanizmaların olduğunu önerir.

Th17 hücreleri tarafından eksprese edilen IL-17A; IL-1, IL-6 ve TNF-a gibi proinflamatuvar sitokinlerin sentezini uyarır. COVID-19 hastalarında yapılan bir meta-analiz, hastalık şiddetinden bağımsız olarak IL-17A düzeylerinin kontrollere göre daha yüksek olduğunu gösterdi [82]. Başka bir meta-analizde ise hafif ve şiddetli hasta grupları arasında hiçbir fark gözlenmedi [83]. Bu nedenle mevcut veriler göz önüne alındığında IL-17A, COVID-19 hastalık şiddetinde yeterince güçlü bir gösterge değildir [84].

Papa ve ark. KKKA hastalarında yaptığı çalışmada hastalık şiddetine göre ayrılan gruplar arasında IL-7 ve IL-17A düzeylerinde istatistiksel olarak bir fark bulamadılar [85]. Ancak çalışmamızda hasta grupta kontrollere kıyasla IL-7; orta-ağır grupta hafif gruba kıyasla IL-17A yüksekti.

IL-18, keratinositler ve makrofajlar gibi hücrelerden salgılanır ve diğer makrofajlardan proinflamatuvar sitokin salınımını artırır. Ayrıca Th1 ve Th2 yanıtı regülasyonunu sağlayarak NK ve T hücrelerinden IFN- γ sentezini uyarır [86]. Literatürde IL-18'in enfeksiyonlardaki, inflamatuvar (erişkin başlangıçlı Still hastalığı, sistemik juvenil idiyopatik artrit) ve metabolik hastalıklardaki rolü analiz edilmiştir [87]. Oygur ve ark. KKKA'lı çocuklarda yaptığı çalışmada IL-18 düzeyini hasta grupta yüksek bulmuşlardır [88]. Viral enfeksiyonlar sırasında serum ferritin seviyesinin artmasıyla beraber IL-18'inde yükseldiği saptanmıştır. Epstein-Barr virüsü, kronik hepatit B ve C virüsü, HIV ve akut Dang enfeksiyonlarında IL-18 ile ferritin artışı birliktelik göstermektedir [89]. Hem IL-18 hem de ferritin düzeyleri akut Dang Humması hastalığı ciddiyetiyle güçlü korelasyon göstermekte ve hastalığın ilerlemesini tahmin etmede bunların kullanılabileceği düşünülmektedir [89-91].

Bakteriyel enfeksiyonlarda IL-6 ile CRP seviyeleri arasında yüksek korelasyon saptanmıştır [92]. Viral enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında toplum kökenli bakteriyel enfeksiyonlarda IL-6 ve CRP'nin belirgin şekilde daha yüksek olduğu gösterilmiştir [93]. Benzer şekilde bakteriyel enterokolitte plazma IL-6 ve CRP konsantrasyonları viral enterokolite kıyasla önemli ölçüde yüksekti [94]. Çalışmamızda ise ferritin ve CRP değeri hasta, şiddetli veya ölen hasta gruplarında yüksekken hemorajik grupta sadece ferritin yüksekti. IL-6 ferritin ($r=0,407$) ve CRP ($r=0,617$) ile korelasyon gösterirken IL-18'de anlamlı ilişki saptanmadı.

ER'de denatüre ve hatalı katlanmış proteinlerin artması, katlanmamış protein cevabını (UPR) uyarır. UPR, PERK, IRE1 ve ATF6 yollarını aktifleştirerek ER stresine başa çıkmaya çalışır. DNA ve RNA virüsleri de dahil olmak üzere birçok virüsün enfeksiyon sırasında ER stresi ve UPR yollarını indüklediği bildirilmiştir. Ayrıca viral enfeksiyonlar, UPR sinyalini indüklerken, uzun süreli ER stresi, PERK, EIF2 α , ATF ve CHOP aracılı yollarda apoptozu tetikleyebilir [95]. KKKA virüsü, aşırı miktarlarda viral glikoprotein üretmek için konak ER'sini kullanır [96], bu nedenle

muhtemelen ER lümeninde yanlış katlanmış ve katlanmamış protein birikimine yol açar. Oluşan bu ER stresini hafifletmek için KKKA enfeksiyonu sırasında UPR yolağı aktifleşir. Aşırı UPR yanıtına bağlı CHOP-ATF3, CHOP-ATF4 gibi intrinsik apoptotik kaskadla ilişkili proteinlerin yukarı regülasyonu apoptoz sürecini düzenleyebilir [95].

GRP78, ER stresinde önemli bir belirteç moleküldür. ER stresi yokluğunda, inaktif GRP78, ER stresindeki üç sinyal yolunun ana transmembran proteinleri olan PERK, ATF6 ve IRE1 reseptör proteinlerine bağlıdır. ER stresi oluştuğunda, GRP78 katiflenerek reseptör proteinlerden ayrılır. Bu nedenle GRP78'in ifadesi, hücrelerdeki ER stresinin derecesini dolaylı olarak yansıtır [97].

Bulaşıcı Gastroenterit Virüs (TGEV) enfeksiyonun, ER stresini indüklediği ve katlanmamış protein yanıtını (UPR) tetiklediği bulunmuştur. Bununla birlikte ER stresinin, in vitro TGEV replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir [98]. Lenfositik Koryomenenjit Virüsü (LCMV) ve Bunyavirüs ailesinden Şiddetli Ateşle Seyreden Trombositopeni Sendromu Virüsü'nün (SFTSV) UPR yanıtını aktive ettiği gösterilmiştir [99, 100]. Fraiser ve ark. KKKA ile enfekte Huh7 hücrelerinde yaptığı bir çalışmada CHOP düzeyinde artış saptamıştır. Aynı zamanda hücre apoptozunda mitokondriyal yolla beraber ER stresinin de etkili olduğu ortaya konmuştur [101].

ER homeostaz bozukluğu sonucu aktifleşen UPR, ER stresini gösterir. Mo ve ark. yaptığı bir çalışmada KKKA enfeksiyonunu takiben UPR indüksiyonu üzerine IRE1 yolağındaki X box bağlayıcı protein seviyesinin 4,3 kat, ATF6 yolağındaki ısı şok protein ailesi üye 5 (HSPA5) düzeyinin 8,4 kat arttığını raporlamıştır. PERK yolağındaki ATF4 kolunda bulunan DNA hasarıyla indüklenen transkript 3 ve katyon taşıma düzenleyici benzeri protein 1 genleri sırasıyla 10,2 ve 11,9 kat artmıştır [95]. Çalışmamızda ER stresinde görev alan GRP78'i hasta grubunda yüksek bulduk. PERK yolundaki EIF2 α 'nın da hasta grubunda arttığını saptadık. ER stresi sırasında PERK ve ATF6 yolakları aktivasyonu CHOP düzeylerini artırır. Çalışmamızda hasta grubu için artmış CHOP düzeyleri gösterilmiştir.

GRP78'in meme kanserinde kullanılan ilaçlardan doksorubisine ve gemsitabine karşı ilaç direncini arttırdığı gösterilmiştir [102, 103]. Duyarlılıktaki bu azalma ile apoptoz arasında ilişki olduğu düşünülmektedir.

Köseler ve ark. COVID-19'lu hastalarda GRP78 düzeyini diğer pnömoni ve sağlıklı kontrol grubundan yüksek bulmuşlardır. Ancak serum CHOP konsantrasyonları için anlamlı bir fark saptanmamıştır. COVID-19 pozitif ve negatif pnömoni vakalarındaki benzer düzeyleri CHOP'un akut inflamatuvar süreçlerden ziyade apoptoz mekanizmasında rol oynayan bir protein olduğunu düşündürmüştür. Kronik bir inflamatuvar süreç ve uzun süreli ER stresi olması durumunda CHOP düzeyinde artış beklenebilir [104].

Li ve ark. farklılaşmış THP-1 (dTHP-1) hücrelerinde Hantaan virüsü enfeksiyonundan sonra GRP78, PERK ve ATF6 düzeylerinin enfekte olmamış gruba göre arttığını saptanmıştır. Fakat CHOP düzeyi artmamıştır. Bu sonuçlar Hantaan virüsü enfeksiyonunun erken evresinde hücrelerin apoptoza dirençli olduğunu gösterir. Erken Hantaan virüsü enfeksiyonu, dTHP-1 hücrelerinde ER stresini başlatmak için UPR'yi aktive eder. Fakat aktive olan UPR'nin apoptozu indükleyemediği kanısına varılmıştır. Hücre içindeki virüs proteinlerinin ER stresine bağlı bozulduğu, böylece endoplazmik retikulumun normal fonksiyonuna geri döndüğü ve önemli bir apoptozun görülmediği saptanmıştır. Bu hücrenin kendini koruma süreci olarak açıklanır [97]. Bu bilgilere dayanarak COVID-19 veya Hantaan virüsü enfeksiyonundaki düşük CHOP düzeyleri, kronik olmayan inflamasyonda apoptotik sürecin aktive edilmemesi şeklinde yorumlanmıştır. Fraiser ve ark.'nın bulgularına benzer şekilde çalışmamızda da gösterilen yüksek CHOP değerleri hastalığın akut evresindeki değişimlerden kaynaklanabilir ve apoptozisle ilişkilidir [101]. CHOP düzeylerinin apoptotik süreçle olan ilişkisi göz önüne alındığında KKKA hastalarında apoptotik yolların aydınlatılması için daha çok araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda proinflamatuvar ve ER stres belirteç testlerinin hastalık tanısında kullanılabilirliğini saptamak için ROC analizi yapıldı. Tanı için IL-6 (AUC=0,995), CHOP (AUC=0,989), EIF2 α (AUC=0,935), IL-18 (AUC=0,872), GRP78 (AUC=0,787), IL-1 α (AUC=0,781) ve IL-7 (AUC=0,715) testlerinin performansı anlamlı bulundu. En yüksek duyarlılığa sahip iki test CHOP (%100) ve IL-6 (%98,3) iken en yüksek özgüllüğe sahip iki test IL-6 (%100) ve IL-18 (%96,4) bulundu.

Hastalık şiddeti veya mortalitenin belirlenmesinde IL-6 (AUC=0,963), CHOP (AUC=0,785), IL-18 (AUC=0,718) ve IL-17A (AUC=0,684) testlerinin performansı anlamlıydı. En yüksek duyarlılığa sahip testler IL-6 ve IL-18 (%100) iken en yüksek özgüllüğe sahip test CHOP (%83,3) bulundu. Bu sonuçlar hastalık tanısı, şiddeti ve sağkalımın belirlenmesinde IL-6 ve CHOP belirteçlerinin potansiyel faydasını ortaya koymaktadır. Proinflamatuvar sitokinler ve ER stres belirteçleri, KKKA için umut verici erken göstergeler olarak hizmet edebilir. Bu belirteçlerdeki artışların tanımlanması, enfeksiyonun erken tespitini kolaylaştırabilir, hızlı müdahaleye olanak sağlayabilir ve potansiyel olarak hastalığın ciddiyetini azaltabilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Proinflamatuvar sitokinler ve ER stres belirteçlerinin hastalıkların patogenezi üzerindeki etkileri detaylıca araştırılmıştır. Literatürde proinflamatuvar sitokinlerdeki düzensiz artışların, KKKA kliniğinin şiddetlenmesine ve DİK tablosuna neden olduğundan bahsedilmektedir. Ayrıca birçok viral hastalığın patogenezinde UPR yolağının aktive olduğu çalışmalarla kanıtlanmıştır. Çalışmamızda KKKA ile proinflamatuvar sitokinler ve ER stres belirteçleri arasındaki ilişkiyi açıklamaya çalıştık.

Çalışmamızda KKKA hastalarında IL-18, IL-7, IL-6, IL-1 α , EIF2 α , GRP78 ve CHOP düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu. IL-18, IL-17A, IL-6 ve CHOP düzeyleri orta-şiddetli grupta daha yüksekti. Ayrıca IL-18, IL-6 ve CHOP düzeyleri ölen hastalarda sağkalanlara göre yüksekti. Prehemorajik ve hemorajik gruplar arasında ise sitokinler ve ER stres belirteç düzeyleri arasında fark yoktu. Bu belirteçler ile laboratuvar parametreleri arasında korelasyon analizi yapıldı. IL-18 ile karaciğer fonksiyon testleri (ALP, ALT, LDH, GGT, total bilirubin ve direkt bilirubin) arasında pozitif korelasyon saptandı. CHOP ve IL-6 ile koagülasyon testleri (PT, aPTT ve D-dimer) arasında ve IL-6 ile inflamatuvar belirteçler (ferritin ve CRP) arasında pozitif korelasyon saptandı. Lenfosit sayılarıyla IL-18, IL-1 α ve EIF2 α arasındaki pozitif korelasyon anlamlıydı.

Artmış IL-1 α , IL-6, IL-7 ve IL-18 seviyeleri, virüse karşı proinflamatuvar reaksiyonlarda bu sitokinlerin rol aldıklarını gösterir. GRP78, EIF2 α ve CHOP seviyelerindeki artış ise bu belirteçlerin ER stresi ve apoptotik yolaktaki önemini vurgular.

ROC analizindeki yüksek AUC değerleri IL-6, CHOP, EIF2 α ve IL-18 testlerinin KKKA tanısında, IL-6, CHOP ve IL-18 testlerinin ise hastalığın şiddeti ve mortalitesinde biyobelirteç olarak kullanımı için umut vaat etmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Ergönül, Ö., *Kırım Kongo Kanamalı Ateşi*. Ankem Derg, 2009. 23: p. 234-240.
2. Seçmeer, G. and I.H. Çelik, *Kırım Kongo Kanamalı Ateşi/Crimean-Congo Hemorrhagic Fever*. Çocuk Enfeksiyon Dergisi, 2010. 4(4): p. 152.
3. Raabe, V.N., *Diagnostic testing for Crimean-Congo hemorrhagic fever*. Journal of clinical microbiology, 2020. 58(4): p. 10.1128/jcm. 01580-19.
4. Akıncı, E., H. Bodur, and H. Leblebicioğlu, *Pathogenesis of Crimean-Congo hemorrhagic fever*. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2013. 13(7): p. 429-437.
5. Geisbert, T.W. and P.B. Jahrling, *Exotic emerging viral diseases: progress and challenges*. Nature medicine, 2004. 10(Suppl 12): p. S110-S121.
6. Ren, J., et al., *Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in cardiovascular diseases*. Nature Reviews Cardiology, 2021. 18(7): p. 499-521.
7. Reyes-Fermín, L.M., et al., *Natural antioxidants' effects on endoplasmic reticulum stress-related diseases*. Food and Chemical Toxicology, 2020. 138: p. 111229.
8. Ergönül, Ö., *Crimean-Congo haemorrhagic fever*. The Lancet infectious diseases, 2006. 6(4): p. 203-214.
9. Özkurt, Z., *Kırım Kongo Kanamalı Ateşi*. Yoğun Bakım Dergisi, 2007. 7(1): p. 85-90.
10. Morikawa, S., M. Saijo, and I. Kurane, *Recent progress in molecular biology of Crimean-Congo hemorrhagic fever*. Comparative immunology, microbiology and infectious diseases, 2007. 30(5-6): p. 375-389.
11. Elliott, R., C. Schmaljohn, and M. Collett, *Bunyaviridae genome structure and gene expression*. Bunyaviridae, 1991: p. 91-141.
12. Ergonul, O., *Chapter 10—Crimean-Congo Hemorrhagic Fever*. Emerging Infectious Diseases, 2014: p. 135-148.
13. Vektörlüğü, G.A.K., *Türkiye'de Durum*. Ankem Derg, 2009. 23(2): p. 249-52.
14. Ergönül, Ö., *Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Tedavisi ve Ribavirin Kullanımı*. Klimik Journal/Klimik Dergisi, 2016. 29(1).
15. Bodur, H., *Kırım-Kongo kanamalı ateşi ve DAS yönetimi*. 5. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 2007: p. 509-520.
16. Türkoğlu, E. and S.Z. Öner, *Evaluation of The Cases Applied to Turhal State Hospital with Tick-bite*. Turk Hij Den Biyol Derg, 2021. 78(4): p. 477-486.
17. Bülbül Çolak, N., *Erzurumun endemik ilçelerinde kırım kongo kanamalı ateşi seroprevalansı ve risk faktörleri ile ilişkisi*.
18. Yilmaz, G.R., et al., *The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey, 2002–2007*. International Journal of Infectious Diseases, 2009. 13(3): p. 380-386.
19. Fillâtre, P., M. Revest, and P. Tattevin, *Crimean-Congo hemorrhagic fever: An update*. Medecine et maladies infectieuses, 2019. 49(8): p. 574-585.
20. Pshenichnaya, N.Y., et al., *Possible sexual transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever*. International Journal of Infectious Diseases, 2016. 45: p. 109-111.
21. Ergonul, O., *Evidence supports ribavirin use in Crimean-Congo hemorrhagic fever*. International Journal of Infectious Diseases, 2014. 29: p. 296.

22. Birliği, T.T., *Kırım Kongo Kanamalı Ateşı Bilimsel Değerlendirme Raporu*. Türk Tabipleri Birliği Yayınları, Ankara, 2010.
23. Ergonul, O., et al., *The lack of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus antibodies in healthcare workers in an endemic region*. International Journal of Infectious Diseases, 2007. 11(1): p. 48-51.
24. Ser, Ö. and H. Çetin, *Kırım Kongo kanamalı ateşı'nin güncel durumu*. TAF Prev Med Bull, 2016. 15(1): p. 58-68.
25. Leblebicioglu, H., et al., *Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey: Current status and future challenges*. Antiviral research, 2016. 126: p. 21-34.
26. Aslam, M., R.Z. Abbas, and A. Alsayeqh, *Distribution pattern of Crimean–Congo Hemorrhagic Fever in Asia and the Middle East*. Frontiers in Public Health, 2023. 11.
27. Ergonul, O., et al., *Evaluation of serum levels of interleukin (IL)–6, IL-10, and tumor necrosis factor– α in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever*. The Journal of infectious diseases, 2006. 193(7): p. 941-944.
28. Liu, D., *Manual of security sensitive microbes and toxins*. 2014: CRC press.
29. Kassa, S.T., *Review on the Epidemiology and Public Health Importance of Marburg Hemorrhagic Fever in Africa*. Journal of Agricultural Research Advances, 2019. 1(4): p. 27-47.
30. Bente, D.A., et al., *Pathogenesis and immune response of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in a STAT-1 knockout mouse model*. Journal of virology, 2010. 84(21): p. 11089-11100.
31. Burt, F., et al., *Serodiagnosis of Crimean-Congo haemorrhagic fever*. Epidemiology & Infection, 1994. 113(3): p. 551-562.
32. Aslam, M., R.Z. Abbas, and A. Alsayeqh, *Distribution pattern of Crimean–Congo Hemorrhagic Fever in Asia and the Middle East*. Frontiers in Public Health, 2023. 11: p. 1093817.
33. Beeching, N.J., et al., *Travellers and viral haemorrhagic fevers: what are the risks?* International journal of antimicrobial agents, 2010. 36: p. S26-S35.
34. Dokuzoguz, B., et al., *Severity scoring index for Crimean-Congo hemorrhagic fever and the impact of ribavirin and corticosteroids on fatality*. Clinical infectious diseases, 2013. 57(9): p. 1270-1274.
35. Bakır, M., et al., *Validation of a severity grading score (SGS) system for predicting the course of disease and mortality in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF)*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2015. 34: p. 325-330.
36. Dembic, Z., *The cytokines of the immune system: the role of cytokines in disease related to immune response*. 2015: Academic Press.
37. Abbas, A.K., A. Lichtman, and S. Pillai, *Cellular and Molecular Immunology*, 9e. 2018, Elsevier.
38. Calabrese, L., et al., *Therapeutic potential of targeting interleukin-1 family cytokines in chronic inflammatory skin diseases*. British Journal of Dermatology, 2022. 186(6): p. 925-941.
39. Dinarello, C.A., *Interleukin-1*. Cytokine & growth factor reviews, 1997. 8(4): p. 253-265.
40. de Mooij, C.E., et al., *Targeting the interleukin-1 pathway in patients with hematological disorders*. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 2017. 129(24): p. 3155-3164.

41. Al-Rawi, M.A., R. Mansel, and W.G. Jiang, *Interleukin-7 (IL-7) and IL-7 receptor (IL-7R) signalling complex in human solid tumours*. Histology and histopathology, 2003.
42. Chen, Z., et al., *Distinct regulation of interleukin-17 in human T helper lymphocytes*. Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology, 2007. 56(9): p. 2936-2946.
43. Korn, T., et al., *IL-17 and Th17 Cells*. Annual review of immunology, 2009. 27: p. 485-517.
44. Miossec, P., *Update on interleukin-17: a role in the pathogenesis of inflammatory arthritis and implication for clinical practice*. RMD open, 2017. 3(1): p. e000284.
45. Gu, C., L. Wu, and X. Li, *IL-17 family: cytokines, receptors and signaling*. Cytokine, 2013. 64(2): p. 477-485.
46. Hutton, H.L., et al., *The NLRP3 inflammasome in kidney disease and autoimmunity*. Nephrology, 2016. 21(9): p. 736-744.
47. Mangan, M.S., et al., *Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases*. Nature reviews Drug discovery, 2018. 17(8): p. 588-606.
48. Hoseki, J., R. Ushioda, and K. Nagata, *Mechanism and components of endoplasmic reticulum-associated degradation*. The Journal of Biochemistry, 2009. 147(1): p. 19-25.
49. Hoseki, J., R. Ushioda, and K. Nagata, *Mechanism and components of endoplasmic reticulum-associated degradation*. Journal of biochemistry, 2010. 147(1): p. 19-25.
50. Pang, K.-L., C.-W. Mai, and K.-Y. Chin, *Molecular Mechanism of Tocotrienol-Mediated Anticancer Properties: A Systematic Review of the Involvement of Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response*. Nutrients, 2023. 15(8): p. 1854.
51. Szegezdi, E., et al., *Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis*. EMBO reports, 2006. 7(9): p. 880-885.
52. Iurlaro, R. and C. Muñoz-Pinedo, *Cell death induced by endoplasmic reticulum stress*. The FEBS journal, 2016. 283(14): p. 2640-2652.
53. Rasheva, V.I. and P.M. Domingos, *Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis*. Apoptosis, 2009. 14: p. 996-1007.
54. Ascioğlu, S., et al., *Ribavirin for patients with Crimean–Congo haemorrhagic fever: a systematic review and meta-analysis*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2011. 66(6): p. 1215-1222.
55. Bodur, H., et al., *Effect of oral ribavirin treatment on the viral load and disease progression in Crimean-Congo hemorrhagic fever*. International journal of infectious diseases, 2011. 15(1): p. e44-e47.
56. Ceylan, B., et al., *Ribavirin is not effective against Crimean–Congo hemorrhagic fever: observations from the Turkish experience*. International Journal of Infectious Diseases, 2013. 17(10): p. e799-e801.
57. Elaldi, N., et al., *Efficacy of oral ribavirin treatment in Crimean-Congo haemorrhagic fever: a quasi-experimental study from Turkey*. Journal of infection, 2009. 58(3): p. 238-244.
58. Koksall, I., et al., *The efficacy of ribavirin in the treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eastern Black Sea region in Turkey*. Journal of Clinical Virology, 2010. 47(1): p. 65-68.

59. Ergönül, Ö., et al., *Characteristics of patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever in a recent outbreak in Turkey and impact of oral ribavirin therapy*. Clinical infectious diseases, 2004. 39(2): p. 284-287.
60. Mardani, M., et al., *The efficacy of oral ribavirin in the treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran*. Clinical infectious diseases, 2003. 36(12): p. 1613-1618.
61. Soares-Weiser, K., S. Thomas, and P. Garner, *Ribavirin for Crimean-Congo hemorrhagic fever: systematic review and meta-analysis*. BMC infectious diseases, 2010. 10: p. 1-9.
62. Mateer, E.J., et al., *Lassa virus, but not highly pathogenic New World arenaviruses, restricts immunostimulatory double-stranded RNA accumulation during infection*. Journal of virology, 2020. 94(9): p. 10.1128/jvi.02006-19.
63. Guo, X.-z.J. and P.G. Thomas. *New fronts emerge in the influenza cytokine storm*. in *Seminars in immunopathology*. 2017. Springer.
64. Doğan, K. and S.A. Büyüktuna, *IL-36 signaling pathway dysregulation in Crimean–Congo hemorrhagic fever virus patients: A potential therapeutic avenue*. Journal of Medical Virology, 2024. 96(1): p. e29347.
65. Sancakdar, E., et al., *Evaluation of cytokines as Th1/Th2 markers in pathogenesis of children with Crimean-Congo hemorrhagic fever*. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2014. 7(3): p. 751.
66. Güler, A.K. And K. Özden, *Kırım-kongo kanamali ateş hastalarında serum tnf-alfa ve Il-6 seviyelerinin klinik seyirle ilişkisi ve prognozdeki rolü, Uzmanlık tezi, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Erzurum, 63s, 2012*.
67. Murrieta-Coxca, J.M., et al., *IL-36 cytokines: regulators of inflammatory responses and their emerging role in immunology of reproduction*. International journal of molecular sciences, 2019. 20(7): p. 1649.
68. Çelik, N. and E. Laloğlu, *Cytokine release syndrome in Crimean-Congo hemorrhagic fever: can IL-1 receptor antagonist levels be a guide in its treatment?* European Review for Medical & Pharmacological Sciences, 2023. 27(18).
69. Karti, S.S., et al., *Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey*. Emerging infectious diseases, 2004. 10(8): p. 1379.
70. Karaşahin, Ö. and E.F. Karaşahin, *Bleeding Risk Score in Patients with Crimean-Congo Hemorrhagic Fever*. Mikrobiyoloji Bulteni, 2021. 55(3): p. 327-341.
71. Bakir-Özbey, S., *Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Hastalarında Erken Ribavirin Kullanımının Fataliteye Etkisi*. Klimik Journal/Klimik Dergisi, 2010. 23(1).
72. Alkan-Ceviker, S., O. Gunal, and S.S. Kilic, *Retrospective Analysis of Crimean-Congo Haemorrhagic Fever Cases/Kırım-Kongo Kanamali Atesi Olgularinin Retrospektif Analizi*. Klimik Journal, 2019. 32(3): p. 275-281.
73. Rathore, S.S., et al., *Crimean-Congo haemorrhagic fever-induced liver injury: A systematic review and meta-analysis*. International Journal of Clinical Practice, 2021. 75(11): p. e14775.
74. Ge, Y., M. Huang, and Y.-m. Yao, *Recent advances in the biology of IL-1 family cytokines and their potential roles in development of sepsis*. Cytokine & Growth Factor Reviews, 2019. 45: p. 24-34.

75. Bakir, M., et al., *Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: a multicentre study of clinical features and outcome measures*. Journal of medical microbiology, 2005. 54(4): p. 385-389.
76. Swanepoel, R., et al., *The clinical pathology of Crimean-Congo hemorrhagic fever*. Reviews of infectious diseases, 1989. 11(Supplement_4): p. S794-S800.
77. Çevik, M.A., et al., *Clinical and laboratory features of Crimean-Congo hemorrhagic fever: predictors of fatality*. International journal of infectious diseases, 2008. 12(4): p. 374-379.
78. Esmon, C.T., *Possible involvement of cytokines in diffuse intravascular coagulation and thrombosis*. Best Practice & Research Clinical Haematology, 1999. 12(3): p. 343-359.
79. Adamo, S., et al., *Profound dysregulation of T cell homeostasis and function in patients with severe COVID-19*. Allergy, 2021. 76(9): p. 2866-2881.
80. Fernandes, M.B. and J.T. Barata, *IL-7 and IL-7R in health and disease: An update through COVID times*. Advances in Biological Regulation, 2023. 87: p. 100940.
81. Levy, Y., et al., *Enhanced T cell recovery in HIV-1-infected adults through IL-7 treatment*. The Journal of clinical investigation, 2009. 119(4): p. 997-1007.
82. Fadlallah, S., M.S.S. Eddin, and E.A. Rahal, *IL-17A in COVID-19 Cases: a meta-analysis*. The Journal of Infection in Developing Countries, 2021. 15(11): p. 1630-1639.
83. Akbari, H., et al., *The role of cytokine profile and lymphocyte subsets in the severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review and meta-analysis*. Life sciences, 2020. 258: p. 118167.
84. Karasahin, E.F., et al., *The Value of Interleukin-17A as a Prognostic Indicator in COVID-19 Patients*. Jundishapur Journal of Microbiology, 2022. 15(11).
85. Papa, A., et al., *Cytokines as biomarkers of Crimean-Congo hemorrhagic fever*. Journal of medical virology, 2016. 88(1): p. 21-27.
86. Vecchie, A., et al., *IL-18 and infections: Is there a role for targeted therapies?* Journal of Cellular Physiology, 2021. 236(3): p. 1638-1657.
87. Perricone, C., et al., *COVID-19 as part of the hyperferritinemic syndromes: the role of iron depletion therapy*. Immunologic research, 2020. 68: p. 213-224.
88. Oygur, P.D., et al., *Changing disease course of Crimean-Congo hemorrhagic fever in children, Turkey*. Emerging infectious diseases, 2023. 29(2): p. 268.
89. Slaats, J., et al., *IL-1 β /IL-6/CRP and IL-18/ferritin: distinct inflammatory programs in infections*. PLoS pathogens, 2016. 12(12): p. e1005973.
90. Soundravally, R., et al., *Ferritin levels predict severe dengue*. Infection, 2015. 43: p. 13-19.
91. Mustafa, A., et al., *Elevated levels of interleukin-13 and IL-18 in patients with dengue hemorrhagic fever*. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2001. 30(3): p. 229-233.
92. Oberhoffer, M., et al., *Sensitivity and specificity of various markers of inflammation for the prediction of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in patients with sepsis*. Critical care medicine, 1999. 27(9): p. 1814-1818.
93. Holub, M., et al., *Cytokines and chemokines as biomarkers of community-acquired bacterial infection*. Mediators of inflammation, 2013. 2013.
94. Yeung, C.-Y., et al., *Serum cytokines in differentiating between viral and bacterial enterocolitis*. Annals of tropical paediatrics, 2004. 24(4): p. 337-343.

95. Mo, Q., et al., *Transcriptome profiling highlights regulated biological processes and type III interferon antiviral responses upon Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection*. Virologica Sinica, 2023. 38(1): p. 34-46.
96. Serretiello, E., et al., *The emerging tick-borne Crimean-Congo haemorrhagic fever virus: A narrative review*. Travel Medicine and Infectious Disease, 2020. 37: p. 101871.
97. Li, Z., et al., *ER stress-related molecules induced by Hantaan virus infection in differentiated THP-1 cells*. Cell Stress and Chaperones, 2021. 26: p. 41-50.
98. Xue, M., et al., *The PERK arm of the unfolded protein response negatively regulates transmissible gastroenteritis virus replication by suppressing protein translation and promoting type I interferon production*. Journal of virology, 2018. 92(15): p. e00431-18.
99. Zhang, L.-K., et al., *Quantitative proteomic analysis reveals unfolded-protein response involved in severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection*. Journal of Virology, 2019. 93(10): p. 10.1128/jvi. 00308-19.
100. Pasqual, G., et al., *Role of the host cell's unfolded protein response in arenavirus infection*. Journal of virology, 2011. 85(4): p. 1662-1670.
101. Fraiser, C., et al., *Hepatocyte pathway alterations in response to in vitro Crimean Congo hemorrhagic fever virus infection*. Virus research, 2014. 179: p. 187-203.
102. Xie, J., et al., *Glucose regulated protein 78 (GRP78) inhibits apoptosis and attenuates chemosensitivity of gemcitabine in breast cancer cell via AKT/mitochondrial apoptotic pathway*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2016. 474(3): p. 612-619.
103. Ibrahim, I.M., D.H. Abdelmalek, and A.A. Elfiky, *GRP78: A cell's response to stress*. Life sciences, 2019. 226: p. 156-163.
104. Kösel, A., et al., *Endoplasmic reticulum stress markers in SARS-COV-2 infection and pneumonia: case-control study*. in vivo, 2020. 34(3 suppl): p. 1645-1650.

