

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(DOKTORA TEZİ)

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

MUAMMER OSMAN KÖKSAL

**DANIŞMAN
PROF.DR.ALİ AĞAÇFIDAN**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2014

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

BEYAN

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

Muammer Osman Köksal

İTHAF

Bu günlere gelmem de ve şu an olduğum insan olmamda büyük emeği olan, beni hep daha iyi olmaya zorlayan, maddi ve manevi desteğini kaybına kadar sürdüren Babam'a ithafen...

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Anabilim Dalı Başkanımız değerli danışman hocam Prof.Dr. Ali Ağaçfıdan’a daha iyi bir araştırmacı olmam için değerli rehberliği, öğrettikleri, emeği ve sabrı için minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi birikimi, yardımları ve vizyonu ile bana örnek olan değerli hocam Prof. Dr. Selim Badur’a minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Bilim Dalımızdan değerli hocam Prof.Dr.Osman Şadi Yenen’e değerli rehberliği için teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince bana emeği geçen bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Anabilim Dalı öğretim üyeleri, Prof. Dr. Şengül Derbentli, Prof Dr. Nezahat Gürler, Prof. Dr. Bülent Gürler, Prof. Dr. Yıldız Yeğenoğlu, Prof. Dr. Çiğdem Kayacan, Prof. Dr. Betigül Öngen, Prof. Dr. Derya Aydın, Prof. Dr. Ali Öner, Prof. Dr. Meltem Uzun, Prof. Dr. Zayre Erturan, Prof.Dr. Arif Kaygusuz, Prof. Dr. Özden Boral, Doç. Dr. Zerrin Aktaş, Doç. Dr. Hasan Nazik, Doç. Dr.Yaşar Nakipoğlu, Doç. Dr. Meral Akçay’a teşekkürü borç bilirim.

Tezimizi destekleyen Almanya Köln Viroloji Enstitüsü’nden, Jun. Prof. Baki Akgül, Dr. Rolf Kaiser ve çalışma arkadaşlarına değerli rehberlikleri ve yardımları için sonsuz teşekkürü borç bilirim.

İstanbul Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Haluk Eraksoy’a, Prof. Dr. Atahan Çağatay ve Pozitif Yaşam Derneği’ne hasta örneklerinin toplanmasındaki yardım ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Cinsel Temasla Bulaşan virüsler ve Chlamydia laboratuvarında bulunduğum süre boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Dr. Hayati Beka’ ya manevi desteği ve rehberliği için, sevgili dönem arkadaşlarıma, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm yüksek lisans, doktora ve uzmanlık öğrencilerine yardımları ve dostlukları için teşekkür ederim. Tez çalışmam süresince manevi desteği ve sabrı ile yanımda olan, hiçbir yardımını esirgemeyen sevgili eşim Şirin Ezgi Köksal’a, her zaman yanımda olduklarını hissettiren sevgili annem Ayten Köksal, babam Esat Köksal ve kardeşlerim Esin, Esra ve Onur Köksal’a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:11403

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. TARİHÇE VE KÖKEN.....	4
2.2. HIV BİYOLOJİSİ.....	7
2.3.HIV YAŞAM DÖNGÜSÜ.....	16
2.4. HIV BULAŞMA YOLLARI VE EPİDEMİYOLOJİ.....	23
2.5. LABORATUVAR TESTLERİ VE TANI.....	30
2.6. TEDAVİ VE ANTİRETROVİRAL İLAÇLAR.....	37
2.6.1. Nükleozid Ters Transkriptaz İnhibitörleri (NRTI).....	42
2.6.2. Nükleozid Olmayan Ters Transkriptaz İnhibitörleri (NNRTI).....	48
2.6.3. Giriş İnhibitörleri.....	50
2.6.5. Proteaz İnhibitörleri.....	51
2.7. ANTİRETROVİRAL İLAÇ DİRENCİ.....	55
2.7.1. Ters Transkriptaz Enzimi	55
2.7.2. NRTI Direnç Mekanizmaları	57
2.7.3. NNRTI Direnç Mekanizmaları	59
2.7.4. Proteaz Enzimi	61
2.7.5. PI Direnç Mekanizmaları	62

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	64
3.1. Gereç	64
3.2. Yöntem	65
4. BULGULAR.....	69
5.TARTIŞMA.....	79
KAYNAKLAR	87
HAM VERİLER	104
FORMLAR	105
ETİK KURUL KARARI	106
PATENT HAKKI İZNİ	107
TELİF HAKKI İZNİ.....	108
ÖZGEÇMİŞ	109

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: HIV'e ait genler ve o genlere ait ürünler (18)

Tablo 2: HIV bulaşma yolları, olasılıkları ve Dünyadaki vaka sayısı (64)

Tablo 3: Ekim 1985 - Haziran 2013 T.C. Sağlık Bakanlığı verilerine göre olası bulaşma yoluna göre AIDS vaka ve taşıyıcıların dağılımı (84)

Tablo 4: DSÖ 2012 HIV/AIDS Global Raporu 2012 yılında HIV ile enfekte yetişkin ve çocuk sayısı (83)

Tablo 5: T.C. Sağlık Bakanlığı 2013 Haziran ayı verilerine göre Türkiye'de HIV/AIDS vakalarının yıllara göre dağılımı (84)

Tablo 6: Dünya genelinde kullanılan HIV/AIDS tedavi kılavuzlarının önerileri (101)

Tablo 7: Erişkin ve adolesanlarda Birinci Basamak tedavi önerileri (101)

Tablo 8: Yetişkin ve Gebe bireylerde İkinci basamak tedavi seçenekleri (101)

Tablo 10: Çalışmamıza katılan hastaların alt tiplendirilme sonuçları

Tablo 11-20: Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: HIV-1 alt tiplerinin Dünyada yayılım şeması (25)

Şekil 2: HIV virüsünün şematik görünümü (27)

Şekil 3: HIV-1'in genomik organizasyonu (18)

Şekil 4: Öncül proteinlerin kesimlenmesi (20)

Şekil 5: İnsan bağışık yetmezlik virüsünün yaşam çemberi (28)

Şekil 6-7-8: HIV yüzey proteinleri (gp41, gp120) ile hücre reseptörlerinin (CD4, CCR5) ilişkisi (154)

Şekil 9: HIV tropizmi (155)

Şekil 10: Ters transkripsiyon işlemi (62)

Şekil 11: HIV-RNA ve CD4+Hücre sayıları-Zaman grafiği (39)

Şekil 12: Laboratuvar evrelemesi ve erken ve akut HIV-1 enfeksiyonunun doğal öyküsü (80)

Şekil 13: HIV tedavisinde kullanılan Antiretroviral bilgileri (157)

Şekil 14: Nükleozid Ters Transkriptaz Inhibitorleri (NNRTI)'ne karşı direnç pozisyonları (156)

Şekil 15: Nükleozid Ters Transkriptaz Inhibitorleri (NNRTI)'ne karşı direnç pozisyonları (156)

Şekil 16: Proteaz inhibitörleri (PI)'lara karşı direnç pozisyonları (156)

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

DHHS: Amerika Birleşik Devleti Sağlık ve İnsan Hizmetleri Bölümü

WHO (DSÖ) : Dünya Sağlık Örgütü

IAS: Uluslararası AIDS Derneği

BHIVA: İngiliz HIV Birliği

EACS: Avrupa AIDS Klinik Birliği

FDA: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi

RT: Ters Transkriptaz

NRTI: Nükleozid Ters Transkriptaz İnhibitörü

NNRTI: Nükleozid olmayan Ters Transkriptaz İnhibitörü

PR: Proteaz

PI: Proteaz İnhibitörü

IN: İntegraz

HAART: Yüksek seviyede aktif antiretroviral terapi

ART: Antiretroviral Tedavi

HIV: İnsan İmmünyetmezlik Virüsü

PIC: Preintegrasyon Kompleksi

HLA: İnsan Lökosit Antijeni

MHC: Temel Doku uyuşumu kompleksi

LTR: Uzun Terminal Tekrar

MA: Matriks Antijeni

CA: Kapsid Antijeni

NC: Nükleokapsid

MSM: Erkekler arası cinsel ilişki

HIV: İnsan Bağışıklık Yetmezliği virüsü

AIDS: Kazanılmış Bağışıklık Yetmezliği Sendromu

ABC: Abacavir

AZT: Zidovudin

TK-1: Timidin kinaz-1

ddC: Zalcitabin

d4T: Stavudin

3TC: Lamivudin

FTC: Emtrisitabin

ddI: Didanozin

TDF: Tenofovir

NVP: Nevirapin

EFV: Efavirenz

DLV: Delavirdin

ENF: Enfuvirtid

MVC: Maravirok

RAL: Raltegravir

ÖZET

Köksal OM. (2014) HIV-1 Pozitif Erişkin Hastalarda Virüs Tiplendirmesi ve Direnç Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji A.B.D. Doktora Tezi. İstanbul.

HIV-1 ile enfekte hastalarda gözlemlenen ciddi semptomların ve bireyin yaşam kalitesinin düşüşünün önüne geçilmesi için, viral yük tayini, CD4 hücre sayımı ve ilaç direnç testleri düzenli olarak gerçekleştirilir. Bu testlerin sistematik bir şekilde yapılması hastalığın prognozu açısından çok önemlidir. Tedavisi gerçekleştirilen bir hastada, klinisyenin isteği doğrultusunda düzenli aralıklarla yapılmakta olan viral yük tayini ile HIV ilaç direncinin önüne geçilmesi amaçlanmaktadır. DHHS, HIV-RNA seviyesininin 24 haftalık tedavi sonucunda 400 kopya/ml, 48 haftalık tedavi sonucunda ise 50 kopya/ml altına düşmemesinin tedavi başarısızlığını gösterdiğini belirtmektedir. Bu çalışmada, tedavi alan ve tedaviye başlamamış hastaların Nükleozid Ters Transkriptaz İnhibitörü (NRTI), Nükleozid olmayan Ters Transkriptaz İnhibitörü (NNRTI) ve Proteaz İnhibitörü (PI) direnç profillerini çıkartarak tedavinin başarılı bir şekilde yürütülebilmesini, tedavi gören ancak viral yüklerinde anlamlı düşüşler gözlemlenmemiş bireylerde ise alternatif tedavi seçeneklerinin belirlenmesini ve elde edilen veriler sonucu HIV-1 pozitif erişkin hastalarda yaygın alt tip ve direnç varlığının taranmasını amaçladık.

Çalışmamızda yer alan 50 hastamızdan 48'inin sekans analizi işlemi yapılmış 2 hastanın sekans analizi gerçekleştirilememiştir. Bu hastalardan 9'unda (%18,7) antiretroviral ilaç grubundan birine ya da ikisine birden gelişmiş orta seviyeden yüksek seviyeye kadar değişen şiddette direnç saptanmıştır. Çalışmamızda yapılan virüs alt tiplendirme analizi sonucunda 48 hastanın 21'inin alt tip B (%43,7) olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde primer direnç ve HIV-1 alt tip sürveyansı hakkında daha sağlıklı veriler elde edilebilmesi için, daha fazla sayıda hasta ile daha geniş çaplı araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: HIV, İlaç direnci, Mutasyon, Dizi analizi, AIDS

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 11403

ABSTRACT

Koksal OM (2014). Subtyping of the virus in HIV-1 positive adults and determining antiviral resistance. İstanbul University Health Sciences Institute, Department of Medical Microbiology PhD thesis. İstanbul.

In order to prevent the decrease in the life quality of the patients and the severe symptoms seen in patients infected with HIV-1, viral load detection, CD4 cell count and drug resistance tests are carried out regularly. Carrying out these tests systematically are very important for the disease prognosis. Regular detection of the viral load of a patient who is on therapy carried out in accordance with clinician request prevents HIV drug resistance. DHHS suggests the development of resistance to the drugs used in the therapy in case the HIV-RNA load does not decrease below 400 copy/ml after 24 week therapy or below 50 copy/ml after 48 week therapy. In this study it was aimed to drive the therapy successfully in patients who are on therapy and who are not, by detecting NRTI, NNRTI and PI resistance profiles, to determine the alternative therapy choices in patients having therapy but viral load has not decreased significantly and to screen the predominant virus subtype and resistance profile in HIV-1 positive adults.

In our study, sequencing of the virus was carried out in 48 of 50 patients and resistance for one or both of the antiretroviral drug groups was detected in 9 (18.7%) of these patients; resistance being changed from intermediate to high level. According virus subtyping results, subtype was detected in 21 (43.7%) of 48 patients. It is clear that larger scaled researches comprising more patients are needed for obtaining more reliable results about primary resistance and HIV-1 subtype surveillance in our country.

Keywords: HIV, drug resistance, mutation, sequence analysis, AIDS.

The study was supported by İstanbul university Scientific Research Projects. Project No.11403

1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü tip 1 (HIV-1) ilk olarak Barr'e-Sinoussi ve arkadaşları tarafından 1983 yılında izole edilmiştir (1). HIV-2 ise ilk olarak 1986 yılında Clavel ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir (2).

İnsan immün yetmezlik virüsleri iki tip altında adlandırılmaktadır. Bunlar İnsan immün yetmezlik virüsleri tip 1 (HIV-1) ve tip 2 (HIV-2)'dir. Bu virüslerin ortaya çıkardığı hastalık tablosunun ortak ismi” Kazanılmış Bağışıklık Yetmezliği Sendromu” (AIDS) ‘dur. Bu virüslerden daha patojen olan tip HIV-1 özellikle Kuzey Amerika ve Avrupa’da yaygın olarak bulunurken, HIV-2 daha çok Güney ve Orta Afrika’da yaygın olan tiptir. Oldukça benzer yapıda olmalarına rağmen genetik olarak farklılıklar mevcuttur. Tüm alt tiplerin en yüksek prevalansa sahip olduğu bölge Sahra altı Afrika'dır. Bu gruplardan Alt tip B Kuzey, Güney Amerika ve Batı Avrupa, Alt tip A Doğu Avrupa, Alt tip C Güney Afrika ve Hindistan ve Alt tip A/E (CRF01) Güneydoğu Asyada görülmektedir (11). Ülkemizde ise B alt tipi yaygın olarak gözlemlenmektedir (41).

Günümüzde bilinen bulaşma yolları; cinsel bulaşma (vajina ya da anus mukozası üzerinden), damar içi uyuşturucu kullanan bağımlılarda ortak şırınga kullanımı sonucu gerçekleşen bulaşma, perinatal bulaşma (hamilelikte, doğum sırasında emzirme ile), kontamine kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu ile bulaşma ve sağlık çalışanlarında mesleki kazalar sonucunda yaralanmalarla bulaşmadır. Heteroseksüel bulaşma, dünyada HIV-1 enfeksiyonlarının yaklaşık olarak %70'inden sorumludur. Geriye kalan %30'luk dilimin büyük bir kısmını erkekler arası cinsel ilişki (MSM), maternal infant enfeksiyonları ve damar içi uyuşturucu kullanan bireyler oluşturmaktadır. Cinsel birleşme eylemi başına bulaşma olasılığı heteroseksüel maruziyet için 1/200 - 1/3000 arasındadır (64, 65).

İnsan yaşamı için büyük bir tehdit oluşturan HIV/AIDS'in toplumda kontrolünün sağlanması ve eradike edilmesi, sağlıklı gelecek nesiller açısından önem teşkil etmektedir. 1 - 2 haftalık süreçte virüs replikasyonu hızlı bir şekilde meydana

gelir ve enfeksiyonun başlangıç bölgesinden birçok doku ve organa virüsün yayılımı gerçekleşir. 2 - 4 haftalık periyot ise lenf nodlarında ve kanda, enfekte CD4+ T hücre dizilerinin ve viremi düzeylerinin yüksek oluşu (kanda mililitrede 10^7 ya da daha fazla viral RNA kopyası) ile karakterizedir. Taşıyıcı durumdaki kişi günde 10^1 - 10^9 arasında HIV virüs patikülü üretir ve bunun bir sonucu olarak virüsün hedef hücresi CD4+ T lenfositlerinin sayısında dramatik bir azalma meydana gelir. İmmün sistemin en önemli yapı taşı olan CD4+ T lenfosit sayısındaki bu azalma bireyi pek çok fırsatçı enfeksiyona karşı savunmasız duruma getirmektedir. CD4+ T lenfosit sayısı kritik düzeyin (350 hücre / ml) altına inmiş bir kişi tedavi görmez ise AIDS (Kazanılmış Bağışık yetmezlik Sendromu) tablosu gelişir. Vücut fırsatçı enfeksiyonlardan korunamaz hale gelir, virüs ile enfekte olmuş ve AIDS gelişimi göstermiş birey kaybedilir (82).

Günümüzde HIV tedavisinde kullanılan farklı sınıflardan antiretroviraller bulunmaktadır. (NRTI, NNRTI, PI, II, Giriş inhibitörleri) Virüs ile enfekte ve AIDS gelişmiş olan bireylerde kombinasyon şeklinde kullanılan bu ilaçlar, HIV replikasyonu ya da virüsün hücreye girişini engelleyerek, CD4+ T lenfosit sayısını kritik düzeyin üzerinde tutmak için kullanılırlar (Şekil 13).

Tedaviye başlayan bir birey, kombinasyon antiretroviral ilaçları doz atlamadan almak zorundadır. Mevcut antiretroviraller sadece enfekte olmayan hücreleri HIV enfeksiyonundan korudukları için, kişi bu ilaçları alırken doz atlanması gerçekleşirse ilacın kanda bulunması gereken optimal seviye yakalanamaz ve virüs korunmasız kalan hücreleri enfekte eder. HIV, hasta vücudunda optimal ilaç düzeyinden düşük konsantrasyonda ilaç varlığında çoğalma fırsatı bulduğu için başlangıçta yabani tipte olan virüslerden farklı olarak “türümsüler” (quasispecies) adını verdiğimiz ilaca dirençli mutant virüsler ortaya çıkar. Kullanılan antiretrovirallerin seçici baskısı altında yabani tipteki virüs replike olamazken ilaca dirençli olan türümsüler virüs popülasyonunda baskın hale geçerler. Bunun bir sonucu olarak, kullanılan antiretrovirallere karşı kısa sürede direnç gelişir (98,100).

HIV ilaç direnci, tedavide başarısızlığın en önemli nedenidir. İlaç direncine neden olan mutasyonlar, virüsün yüksek replikasyon kapasitesi ve replikasyonda ters transkriptazın sık hata yapması nedeniyle meydana gelen mutasyonlardır. İlaç direnci, bir bireyin dirençli bir suş ile enfekte olması ile de gerçekleşebilir. Tedavi görmeyen hastalarda saptanan ilaç direnci, herhangi bir ilacın seçici baskısı altında olmadığı

durumlarda da primer ilaç direnci olarak değerlendirilmektedir. Bu tür ilaç direncinin uzun yıllar kalıcı olabileceği bildirilmektedir. Enfekte kişilerde direnç ile ilgili bir diğer önemli nokta ise dirençli suşlar ile meydana gelen süperenfeksiyonlardır. Seropozitif bireyler arasında bulaşmaların önlenmesi de direnç gelişimi açısından önemli bir konudur ve tedavi altındaki kişiler, tedaviye uyum gösterebilir bile tedavi başarısız kalabilir (97, 98, 99, 100, 104).

Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda, tedaviye başlamadan önce yapılan direnç testleri tedavinin doğru bir biçimde düzenlenmesinde önemli bir rol oynayacak ve primer dirençte düşüş olacaktır (98).

HIV tanısı konmuş bir hastada klinik olarak kontrolünün sağlanması ve uygun tedavi belirlenmesi için düzenli olarak yapılması gereken testler vardır. HIV-1 RNA viral yük ya da plazma viremi, plazma içerisindeki sirküle virüs miktarıdır ve 1 mililitredeki HIV-1 RNA kopya sayısını ifade eder. HIV viral yük ve CD4+ T lenfosit sayısı sıklıkla HIV enfeksiyonlarının ilerleyişinin izlenmesinde en sık kullanılan prognostik göstergelerdir (90). Direnç testleri, genotipik ve fenotipik olarak ikiye ayrılmaktadır. Günümüzde direnç belirlemede genellikle hem zaman hem de maliyet açısından daha fazla avantaj sağlayan virüsün hedef enzimlerini kodlayan genlerin sekans analizine dayanan genotipik testler tercih edilmektedir (93, 94, 95).

Çalışmamızda, tedavi gören ve görmeyen 50 erişkin HIV-1 pozitif hastada, direnç profilleri araştırılmış ve virüs alt tiplendirmesi planlanmıştır. Hasta plazmalarından izole edilen virüslerde bulunabilecek, NRTI, NNRTI ve PI direnç varlığı genotipik yöntemler ile araştırılmıştır. Çalıştığımız hasta grubu içerisinde yaygın olan primer direnç ve kazanılmış dirençli suşların belirlenmesi ve bu suşlara sahip bireylerin uygun rejimlere yönlendirilmesi amaçlanmıştır. Bununla birlikte virüs alt tiplendirmesi yapılmış ve alt tip dağılımı hakkında ülkemiz verilerine katkı sağlanmasına çalışılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.TARİHÇE ve KÖKEN

İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü tip 1 (HIV-1) ilk olarak Barré-Sinoussi ve arkadaşları tarafından 1983 yılında izole edilmiştir (1). Amerika Birleşik Devletleri'nde 1984 yılında birçok HIV-1 izolatu rapor edilmiştir. Bununla birlikte prevelans için yapılan serolojik çalışmalar sonucunda HIV'in AIDS nedeni olduğu ile ilgili ikna edici bulgular elde edilmiştir. HIV-2 ise ilk olarak 1986 yılında Clavel ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir (2). Retrospektif serolojik araştırmalar, HIV-1'in AIDS tablosu oluşumundan önce hatırı sayılır bir kuluçka dönemi gösterdiğini ve 1977 yılından itibaren Amerikan eşcinsel erkekler arasında yayılmaya başladığını göstermiştir. Zu ve ark. 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada, 1959 yılında Kongo Leopoldville'de (yeni adıyla Kinşasa'da) alınmış kan örneklerinde, Bantu ırkına ait bir erkek hastanın örneğinde HIV dizilerine rastlamışlardır (3). Bu örneğin analizi ile HIV-1'in, 1915-1941 tarihleri arasında bir zamanda ortaya çıktığını ileri sürülmüştür (5). Yine 1960 yılında Leopoldville'de yaşayan bir kadından alınmış parafine gömülü lenf nodu biyopsisi örneğinde HIV'e ait viral dizi bulduklarını rapor etmişlerdir (4).

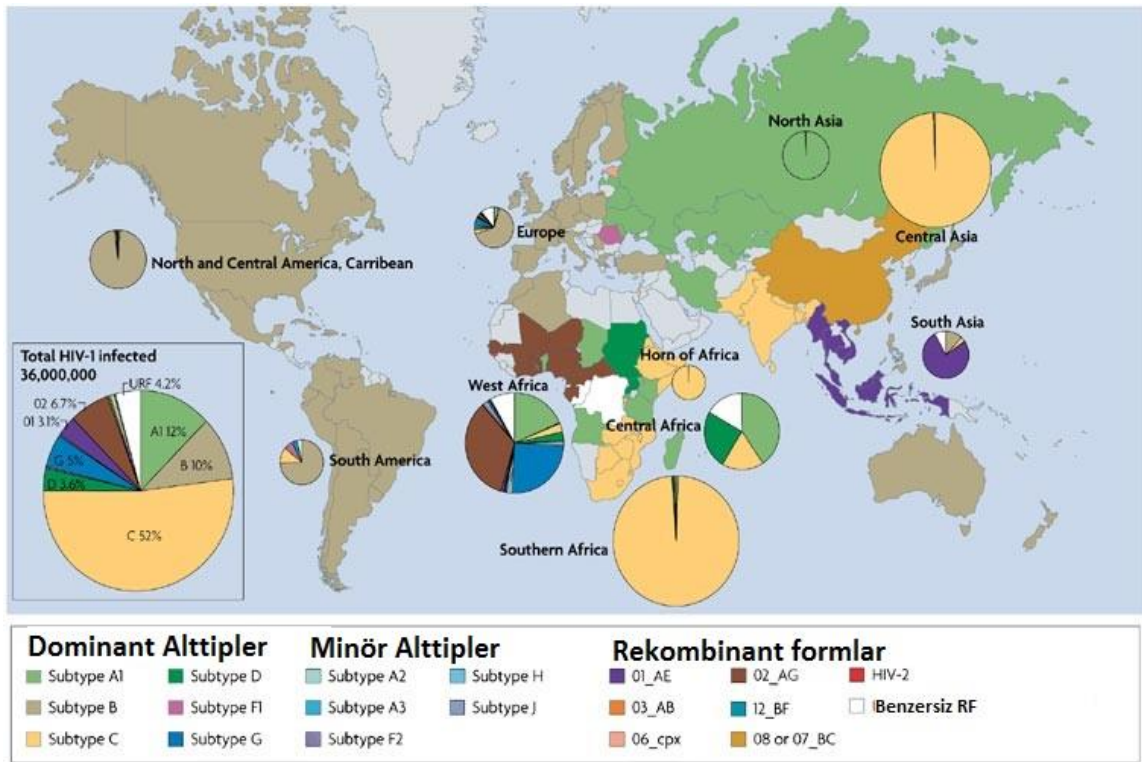
HIV-1'in, insana en az 4 zoonotik kökenli bulaşma ile geçtiği düşünülmektedir. Bu bulaşmanın mevcut moleküler filogenetik biyolojik bilgilere göre 1930'lu yıllarda (± 20 yıl) meydana gelmiş olabileceği tahmin edilmektedir (5). Günümüzde HIV-2, A-H'ye kadar gruplar içerisinde sınıflandırılmış olup, A ve B grubu patojenik olan ve en yaygın görülen gruplardır. Her grupta bulunan bir virüsün farklı ve birbirinden bağımsız zoonotik yollar ile insanlara bulaştığı ve sonrasında insanlar arasında seksüel temas sonucu yayılım gösterdiği düşünülmektedir. Nükleik asit dizisi verilerinin hesaplanması sonucunda HIV-2'nin insanlarla tanışmasının 1940'lı yıllar (± 20 yıl) olduğu tahmin edilmektedir ki bu HIV-1 ile karşılaşılacak tarihlere çok yakın bir tarihtir. HIV-2, HIV-1'den daha az patojeniktir bunun sonucu olarak daha uzun bir prognoz gözlemlenir ve immun yetmezlik işaretlerinin ve AIDS oluşumunun daha geç gerçekleşmesi görülürken, anne-bebek geçiş oranı HIV-1(%10-40) ile karşılaştırıldığında çok daha düşüktür (%2-7) (10).

Şempanze virüsü (SIVcpz), sırasıyla Kırmızı başlı mangabey maymunlarda (*Cercocebus torquatus*) bulunan SIV'lerdeki pol ve gag parçaları ile mona maymunu (*Cercopithecus mona*) ya da büyük nokta burunlu maymunlardaki (*Cercopithecus nicticans*) SIVmon ya da SIVgsn virüslerindeki env parçalarından oluşmuş bir rekombinant virüstür ve birkaç bin yıl geçmişe sahip olduğu düşünülmektedir. Orta Afrika bölgelerinde, SIV enfekte şempanzeler, büyük nehirlerin şempanze popülasyonlarını ayırmasından sonra farklı alt türlere evrimleşmişlerdir (*Pan troglodytes troglodytes* ve *P. troglodytes schweinfurthii*). Bu evrimleşme sonucu bu türlerin virüsleri de birbirinden ayrılmıştır. *P. troglodytes troglodytes* şempanzelerinde bulunan SIV'lerin bazı HIV'lerin ataları gibi göründükleri düşünülmektedir. Bu hayvanların yaklaşık %5'inde bulunan HIV benzeri retrovirüslerin varlığı, konak ve virüsün çok uzun süreler sonucunda birlikte evrildiklerinin göstergesidir (6). Birçok şempanzede gözlemlenen SIVcpz ise patojenik değildir (7). HIV-2'nin kökeni ise SIVsmm olup, Batı Afrika'da görülen isli mangabey maymununda (*Cercocebus atys*) bulunan SIV virüsüdür (6).

İnsandaki yayılım ve evrimi sonucunda HIV-1 grup M, A-K 'ye kadar alt tiplere ayrılmış, alt tip E ve I ortadan kalkmıştır ancak şu an dolaşımdaki virüslerin onların rekombinant formları olduğu düşünülmektedir (CRF) (5, 8). Genetik akrabalıklarına göre HIV'ler M - N ve O - P olmak üzere 2 büyük soya ayrılırlar. N ve P virüslerini taşıyan insanlar oldukça nadirdirler. Grup O enfeksiyonları, Kamerun'daki seksüel açıdan aktif popülasyonun yaklaşık olarak % 0.1 - 1'inde gözlemlenmiştir. Ayrıca Kamerun'un komşu ülkeleri olan Gabon ve Ekvator Ginesi'nde de grup O ile enfekte bireyler bulunmaktadır. HIV-1 grup M, 35 milyondan fazla enfekte kişi ile dünya çapında bir dağılıma sahiptir. Tüm alt tiplerin en yüksek sıklıkta gözlemlendiği bölge Sahra altı Afrika'dır. Bu gruplardan alt tip B; Kuzey Amerika, Güney Amerika ve Batı Avrupa, alt tip A; Doğu Avrupa, alt tip C; Güney Afrika ve Hindistan ve alt tip A/E (CRF01); Güneydoğu Asya'da görülmektedir (11). Grup M, alt tip C ise tüm dünyada en sık gözlemlenen HIV-1 alt tipidir, ancak nadir gözlenen alt tipler tüm ülkelerde görülebilir.

Bazı Afrika toplumlarında HIV-2 yaygınlığı zamanla yaklaşık % 10-16'ya ulaşmıştır ancak HIV-1 enfeksiyonlarının bu oranları geçtiği düşünülmektedir (11).

HIV-2, Batı Afrika'nın dış kısımları, Mozambik, Angola ve güneybatı Hindistan'da nadir olarak gözlemlenir. Her iki virüsle ko-enfekte olmuş bireyler de bulunmaktadır. İkili enfekte hastalarda bağışık yetmezlik oluşumu ve AIDS semptomları daha erken gerçekleşir (12). Günümüzde HIV-1 ve HIV-2'nin bölümlerinden oluşan rekombinant bir virüs insanlarda gözlemlenmemiştir.



Şekil 1: HIV-1 alt tiplerinin dünyadaki yayılım şeması (25).

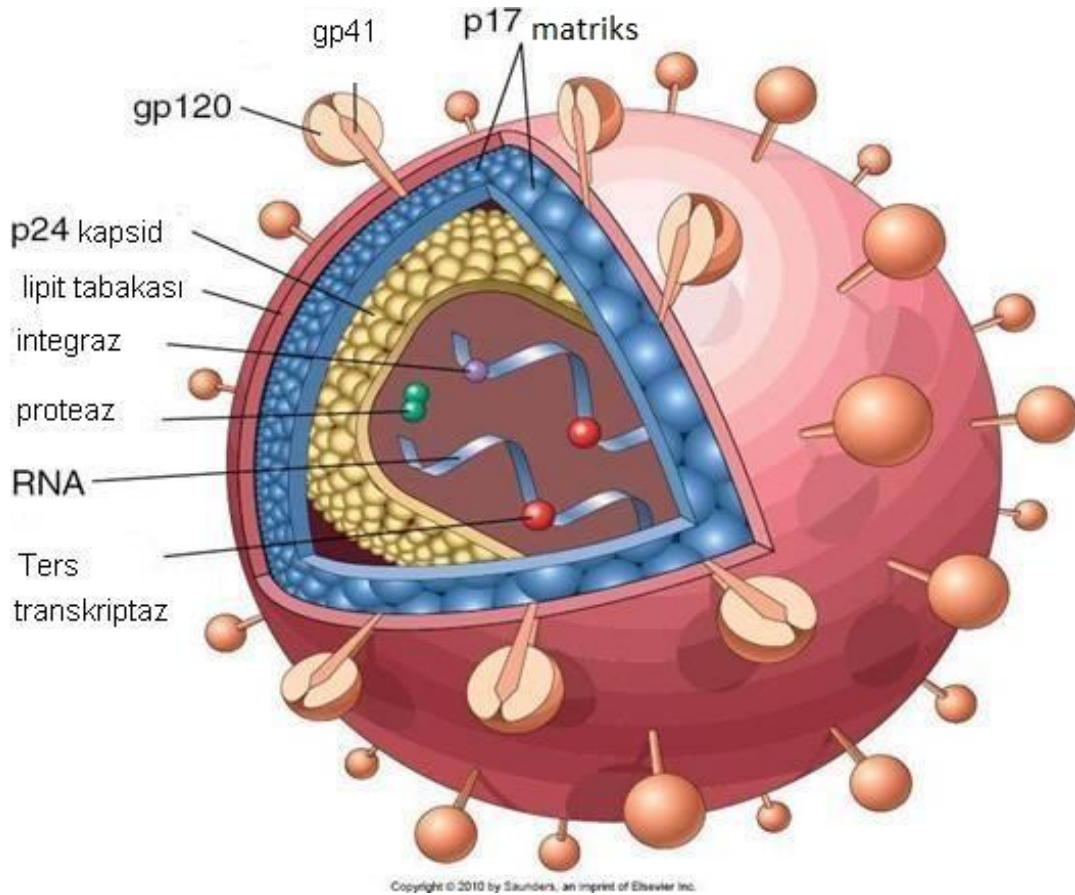
2.2 HIV BİYOLOJİSİ

2.2.1 Yapı ve Organizasyon

HIV, Retroviridae ailesi içerisindeki lentivirüs cinsi ile genetik olarak ilişkili bir RNA virüsüdür. Lentivirüsler tipik olarak, uzun süreli bir latent dönem, inatçı viral replikasyon ve merkezi sinir sistemi tutulumu ile seyreden kronik bir tablo oluştururlar. Retrovirüs genomu birbirine identik iki tek zincirli RNA molekülünden oluşmaktadır ve gag, pol ve env gibi yapısal genleri bulunmaktadır. Temel yapıları (örneğin gag, pol ve env gibi yapısal genlerin varlığı) tüm retrovirüslerle aynı olmasına rağmen bu iki tipin genom organizasyonları birbirinden farklıdır. Ayrıca, bu üç gene sahip olmanın yanı sıra, yaşam döngüsünde düzenleyici rol oynayan regülatör ve aksesuar genlere sahiptirler. Her iki virüsde AIDS (Kazanılmış bağışıklık yetmezlik sendromu) etkenidir. Bununla birlikte HIV-2, HIV-1'e oranla daha az virulan gibi gözükmemektedir ve enfeksiyonun AIDS tablosuna dönüşümü daha uzun bir süre almaktadır (13, 14). HIV partikül yapısı, HIV-1 ve HIV-2'de benzerdir (Şekil 2). Diğer retrovirüslere benzer şekilde gag geni, viral korun yapısal proteinlerini (p6, p7, p24) ve matriksi (p17) kodlarken, env geni hücre yüzeyi reseptörleri kabul edilen viral zarf glikoproteinleri gp41 ve gp120'yi kodlar. Pol geni ise viral replikasyon için hayati öneme sahip ve viral RNA'nın DNA'ya çevirimini sağlayan ters transkriptazı, viral DNA'nın konak hücre kromozomal DNA'sı içerisine integrasyonunu sağlayan integrazı ve büyük gag ve pol protein öncüllerinin kesimlenmesini sağlayan proteazı kodlar. HIV viral partikülleri, lipoproteince zengin bir zar ile çevrili olup yaklaşık 100 nm çapa sahiptir. Viral partiküllerin içerisinde elektron mikroskopunda tipik konik görünüme sahip olan viral kor bulunmaktadır. Viral membranda çıkıntı şeklinde zarf peplomerleri yer alır. Virionun en büyük moleküler ağırlığa sahip olan (gp160) bu çıkıntıların her biri 9-10 nm uzunluğundadır. gp160 iki kısımdan oluşur. Bunlar yüzeyde serbest olarak bulunan gp120 ve membrana gömülü olarak bulunan gp41 glikoproteinleridir. gp120 HIV'in hücre yüzeyindeki reseptörlere tutunması ve birleşmesinde rol oynar. Bu reseptör T lenfositlerinde bulunan CD4 reseptörüdür. Transmembran proteini olan gp41, virüsün hücre ile membranlar arası füzyon yapma özelliğine sahiptir (15). gp 120 ve gp 41

arasındaki bağlantı non-kovalenttir. Enfekte hücrelerden tomurcuklanma işlemi süresince virüs, kor antijeni (p24) polimerlerinden HLA sınıf I ve II proteinleri gibi konak hücre membranı kökenli farklı membran proteinlerini veya ICAM-1 gibi adhezyon moleküllerini bünyesine katabilir bu da virüsün farklı hedef hücrelere adhezyonuna olanak sağlar. Matriks proteini (p17) viral lipoprotein membran içerisine bağlanmıştır. Tomurcuklanan virion paketleri içerisindeki tüm bileşenler enfektivite için gereklidir. Bu virionlar, iki pozitif anlamlı genomik viral RNA'nın kopyası, ilk cDNA sentezi için hücresel tRNA'lar, viral zarf (Env) proteini, Gag poliproteini ve üç viral enzim proteaz (PR), ters transkriptaz (RT) ve integraz (IN) içerir. (16).

İntegre olmuş HIV-1 formu provirüs olarak adlandırılır ve yaklaşık 9,8 kilobaz uzunluğundadır. Provirüsün her iki ucu uzun terminal tekrarlar (LTR'ler) olarak bilinen tekrar dizileri ile kaplıdır. HIV genleri proviral DNA'nın merkezinde bulunur ve 9 protein kodlar.



Şekil 2: HIV virüsünün şematik görünümü (27).

Gen tipi	Gen adı	Gen Ürünü
Yapısal Proteinler	Gag	p17 (matriks (MA)) p24 (kapsid (CA)) p7(nükleokapsid (NC))
	Env	gp120 ve gp41
	Pol	proteaz (PR) reverz transkriptaz (RT) integraz (IN)
Düzenleyici Proteinler	tat	tat
	rev	rev
Aksesuar Proteinler	vif	vif
	vpr	vpr
	vpu	vpu
	nef	nef

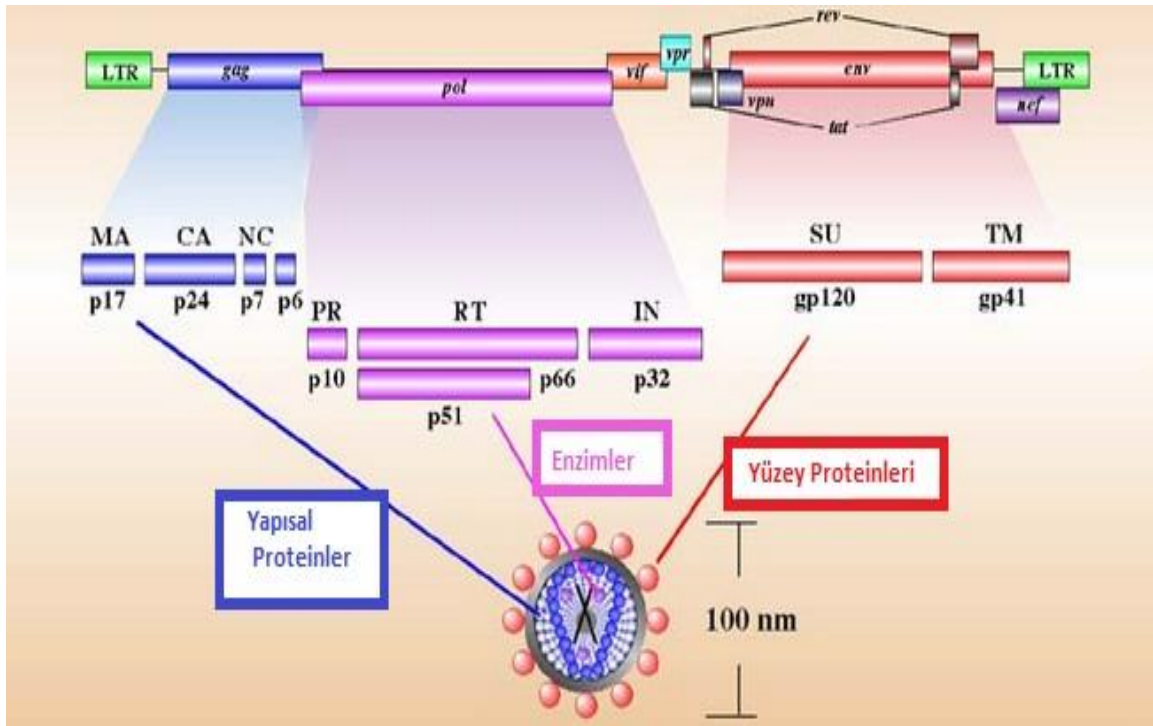
Tablo 1: HIV'e ait genler ve o genlere ait ürünler (18)

2.2.1.1. Yapısal Proteinler

2.2.1.1.1. Gag (Pr55Gag)

HIV,"olgunlaşmamış virion" olarak adlandırılan ve bulaşıcı olmayan bir partikül olarak konak hücre membranından salınır. Tomurcuklanma ve ayrılma sonrasında virion yapısal olarak belirgin bir yeniden düzenlenme geçirir ve bunun sonucunda tamamen bulaşıcı virüs meydana gelir. Bu dönüşüm, viral bir enzim olan proteaz (PR) tarafından Gag (Pr55Gag) ve GagPol (Pr160GagPol) öncül proteinlerin proteolitik kesimlenmesi sonucunda gerçekleşir. Gag proteini, yapısal proteinler olan matriks (MA,

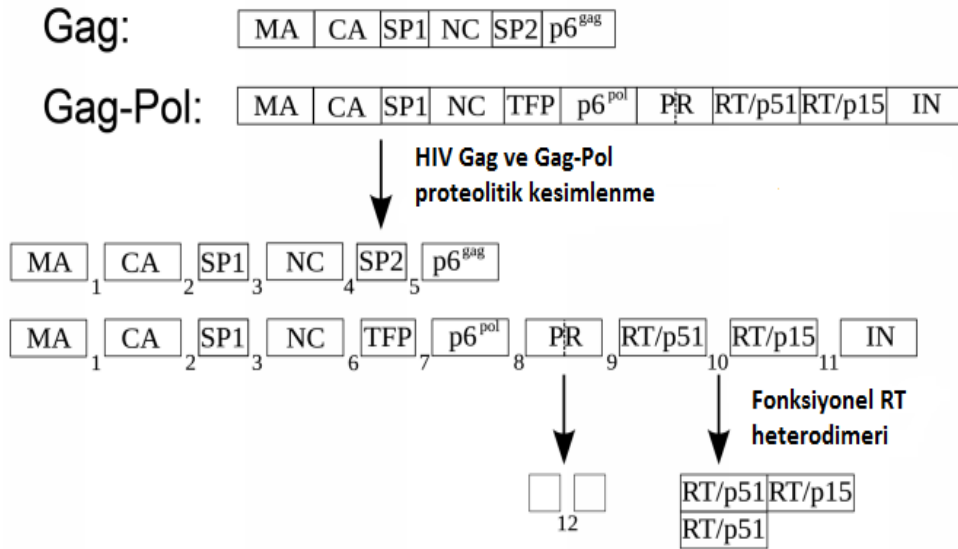
p17), kapsid (CA, p24) ve nükleokapsid (NC, P7), p6 ve iki küçük ara peptit (P1 ve P2) şeklinde bölünmektedir (17) (Şekil 3). MA polipeptidi, Pr55Gag'ın N-terminal ucundan köken alır. MA moleküllerinin büyük bir kısmı, patikülü sabitleştirmek için virionun iki katlı lipit tabakasının iç yüzeyine bağlı kalır. MA moleküllerinin bir kısmı ise virionun daha alt katmanlarına geçerek kompleksin bir parçası olurlar ve nükleusa kadar viral DNA'ya eşlik ederler (19).



Şekil 3: HIV-1'in genomik organizasyonu (18)

2.2.1.1.2. Gag-Pol öncülü (Pr160GagPol)

Gag-Pol öncülü (p160), spesifik bir cis-gibi davranan RNA motifi (Gag RNA'sının distal bölgesindeki kısa kök ilmeğini takip eden bir heptanükleotid dizisi) tarafından tetiklenen ribozomal bir çerçeve kaymasından köken alır (21). Viral olgunlaşma süresince viral kodlu proteaz, Pol polipeptidini Gag'dan kesimleyerek uzaklaştırır sonrasında daha ileri bir kesimleme gerçekleştirerek farklı aktivitelere sahip proteaz (p10), RT (p50), RNaz H (p15) ve integraz (p31)'ı oluşturur (Şekil 4).



Şekil 4: Öncül proteinlerin kesimlenmesi (20)

2.2.1.1.3. Pro

HIV-1 proteaz, dimer gibi hareket eden bir aspartil proteaz (22) 'dir. Proteazın üç boyutlu dimer yapısı belirlenmiştir (23). Bu yapıya ait bilgi HIV proteaz fonksiyonunu inhibe etmeye yönelik ilaç sınıfının oluşumuna yol açmıştır. Bu antiviral bileşikler büyük ölçüde HIV ile enfekte bireyler için tedaviyi geliştirmiştir.

2.2.1.1.4. Rt

Pol geni, ters transkriptazı kodlar. Pol, RNA-bağımlı ve DNA-bağımlı polimeraz aktivitelerine sahiptir. Ters transkripsiyon işlemi sırasında, polimeraz, virion içinde mevcut tek zincirli genomik RNA dimerinin, çift sarmallı bir DNA kopyasını yapmaktadır. RNase H ilk DNA zincirinden orjinal RNA şablonunu çıkarır. Viral DNA virüsün girişini takiben 6 saat içerisinde tamamen sentezlenebilir. Bununla birlikte DNA uzun sürelerde integre olmadan aynen kalabilir. Polimerazın düzeltici aktivitesi olmadığından, hata eğilimlidir ve viral genomun her yeni kopyasında birkaç nokta mutasyon oluşturur (24).

2.2.1.1.5. In

In proteini, HIV proviral DNA'nın enfekte hücredeki DNA'ya integre olmasına aracılık eder. Bu işlemde IN, 3 farklı fonksiyon göstermektedir. Bunlardan birincisi ekzonükleaz aktivitesi ile çift iplikli linear viral DNA'nın 3' ucunda bulunan iki nükleotidi kesimlemesidir. Ardından çift zincirli endonükleaz aktivitesi ile konak DNA'sında integrasyon bölgesini kesimler ve son olarak ligaz aktivitesi ile proviral DNA'nın her bir ucunda tek bir kovalent bağ oluşturur (26).

2.2.1.1.6. Env

Modifikasyonlar sonucu kırılmaya uğramamış mRNA tarafından eksprese edilen Env, 160 kD'luk bir proteindir. İlk olarak, endoplazmik retikulumda sentezlenen Env, daha sonra Golgi kompleksine göç ederek burada glikolizasyon geçirir ve N-bağlı karbonhidrat yan zincirlerine asparagin kalıntıları ilave edilir. Env'nin glikolizasyonu enfektivite için gereklidir. Bir hücresel proteaz, gp160'ı kesimleyerek gp41 ve gp120

oluşumunu sağlar. gp41 parçası Env'nin transmembran ilmeğini içerirken, gp120, gp41 ile non-kovalent olarak etkileşimdedir ve enfekte olmuş hücre ve virion yüzeyinde yer alır. Env, enfekte hücreler ve virionların yüzeyinde trimer olarak bulunur. (29) HIV ve virion reseptörü arasındaki etkileşim CD4 ile gp120'nin belirli alanları aracılığı ile sağlanır. (30)

2.2.1.2. Düzenleyici Proteinler

2.2.1.2.1. Tat

HIV-1 Tat'ı, viral ve hücrel genlerin transaktivasyonuna katkıda bulunan bir transaktivatör proteinidir (31, 32). Tat bir erken düzenleyici (regülatör) protein olup değişken uzunluktadır (86-104 aminoasit) ve iki ekzon tarafından kodlanır.

HIV-1 Tat'ının mutasyonal analizi sonucunda iki önemli fonksiyonel bölge tanımlanmıştır: bunlardan birincisi aktivasyon bölgesidir. Bu bölge hücrel sistem ile etkileşime aracılık eder. Diğer bölge ise transaktivasyon sorumlu element (TAR RNA)'e bağlanmak için gerekli arjinine zengin bölgedir (33). HIV-1 Tat'ının, kromatin yeniden şekillenmesi, RNA polimerazın fosforilasyonu (bu durum tam uzunluktaki mRNA'ların transkripsiyonu için gereklidir) ve viral genlerin transaktivasyonu gibi fonksiyonları bulunmaktadır (34, 35).

2.2.1.2.2. Rev

Rev, 13kD'lik diziye spesifik bir RNA bağlayıcı proteindir ve kırpılmamış mRNA'lardan üretilir. Rev, HIV gen ekspresyonunun erken fazdan, geç faza geçişini teşvik etmektedir (38). İki ekzon tarafından kodlanan Rev, enfekte hücrelerin çekirdekleri ve çekirdekleri içerisinde birikir. Rev, HIV'in ikinci intronu içerisinde uzanan ve Rev yanıt elemanı (Rev response element (RRE) olarak adlandırılan kompleks RNA ikincil yapısının 240 bazlık bölgesine tutunur. Rev'in RRE'ye bağlanması, kırpılmamış ve kısmen kırpılmış viral RNA'ların çekirdekten sitoplazmaya

götürülüşünü kolaylaştırır (Normalde intronları içeren RNA'lar nükleusta bulunurlar). Rev, HIV-1 replikasyonu için gereklidir: Rev fonksiyon eksikliği bulunan virüsler, transkripsiyonel aktiftir ancak viral geç genleri ifade etmezler ve dolayısıyla virion üretemezler.

2.2.1.3. Aksesuar Proteinler

2.2.1.3.1. Nef

Nef (Negatif faktör), 3' LTR içerisinde uzanan tek bir ekzon tarafından kodlanan, 27-kD'luk miristollenmiş bir proteindir. Nef, HIV'e ait bir erken gen ekspresyonu ürünüdür. HIV-1 enfeksiyonunu takiben hücre içerisinde birikerek saptanabilir düzeylerde olan ilk viral proteindir (38). HIV-1 LTR'sinin transkripsiyonel aktivitesini downregüle etmesi nedeniyle bu ismi almıştır. Ayrıca Nef'in hücre yüzeyindeki CD4 reseptörünün ekspresyonunu downregüle ettiği, T hücre aktivasyonunun bozulması ve HIV enfektivitesinin stimülasyonu gibi çoklu aktiviteler gösterdiği gözlemlenmiştir. CD4'ün downregüle olması viral üretim için bir avantaj gibi görünmektedir çünkü hücre yüzeyindeki CD4 miktarındaki fazlalılığın Env birleşmesini ve virion tomurcuklanmasını inhibe ettiği gözlemlenmiştir (43, 44). MHC sınıf I'in down-regülasyonu HIV ile enfekte hücrelerin sitotoksik T lenfositleri tarafından öldürülme etkinliğini azaltır (45). Nef varlığında üretilen HIV-1 patiküllerinin, Nef yokluğunda üretilen virionlardan on kat daha fazla bulaşıcı olabileceği düşünülmektedir.

2.2.1.3.2. Vpr

Vpr "Viral Protein R" anlamına gelmektedir, 96 aminoasitlik 14 kDa'luk bir proteindir ve HIV-1 pre-integrasyon kompleksinin çekirdek içerisine aktarımının regülasyonunda önemli bir role sahiptir ve makrofajlar gibi bölünmeyen hücrelerdeki virüs replikasyonu için gereklidir. Vpr, ayrıca çoğalan hücrelerin hücre döngüsünün G2

fazında durmasını ve apoptozunu indükler bunun sonucunda immün fonksiyon bozukluğu ortaya çıkabilir (47). Vpr'nin bölünmeyen hücrelerin HIV tarafından enfekte edilme kabiliyetlerinde rolü vardır ve bunu pre-integrasyon kompleksinin (PIC), nükleer lokalizasyonunu sağlayarak gerçekleştirir (48).

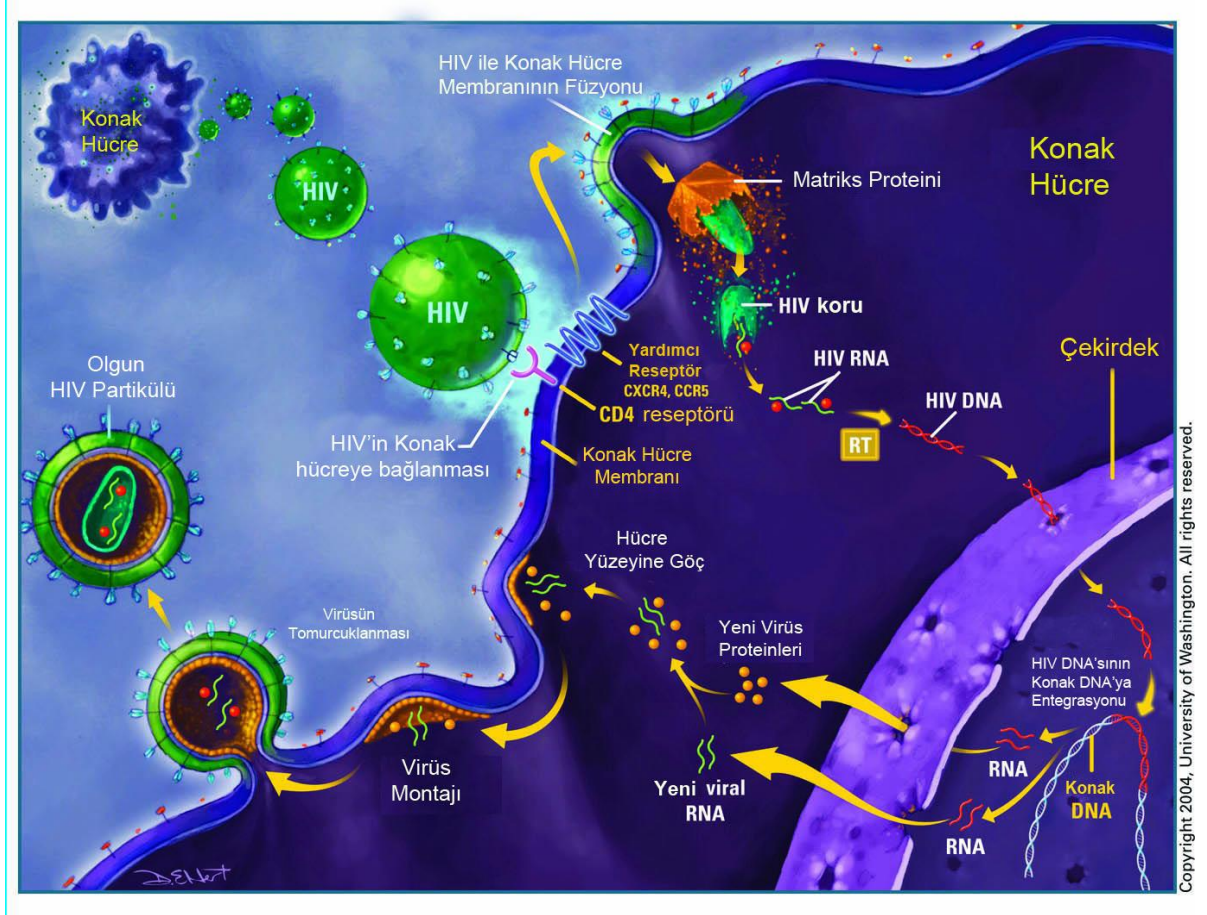
2.2.1.3.3. Vpu

Vpu özellikle hücre içi zar yapılarında lokalize, 16 kDa'luk bir integral membran fosfoproteinidir (50). Vpu'nun iki fonksiyonu bulunmaktadır. Bunlardan birincisi CD4'ün down-regülasyonu diğeri ise virion salınımının kolaylaştırılmasıdır (50). HIV ile enfekte olmuş hücrelerde endoplazmik retikulumdaki, viral reseptör ve CD4 arasındaki kompleks formlar ve viral zarf proteinlerinin her ikisinin de bu kompartman içerisinde hapsine neden olur. Hücre içi Env-CD4 komplekslerinin oluşumu virion montajını engeller. Vpu, Env-CD4 komplekslerindeki CD4 moleküllerini ubiquitin bağımlı yolla parçalayarak viral zarfın salınmasını tetikler (51).

2.2.1.3.4. Vif

Vif, periferik kan lenfosit, makrofaj ve bazı hücre dizilerinde HIV replikasyonu için gerekli olan 23-kD'luk bir polipeptittir. Virion enfektivite faktörü (Vif), ElonginB, ElonginC, Cullin5 ve Rbx2 oluşan hücresel bir E3 ubiquitin ligaz ile insan antiviral proteini olan APOBEC3G 'nin bağlanmasını ve APOBEC 3G'nin proteazom aracılığı ile parçalanmasına yol açar (52, 53).

2.3.HIV YAŞAM DÖNGÜSÜ



Şekil 5: İnsan bağışık yetmezlik virüsünün yaşam çemberi (28)

HIV yaşam döngüsünü başlıca 9 adımda inceleyebiliriz.

Bunlar:

1-Bağlanma

2-Füzyon (kaynaşım)

3-Soyulum

4-Ters transkripsiyon

5-Genom integrasyonu

6-Genom replikasyonu

7-Protein sentezi

8-Proteinlerin kesimlenmesi

9-Virüs salınımı

olarak tanımlanabilir.

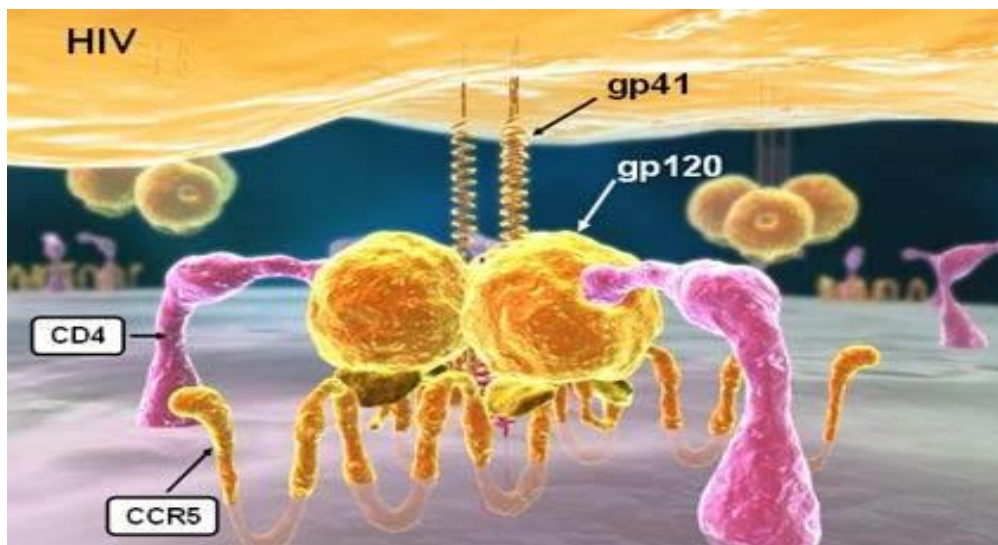
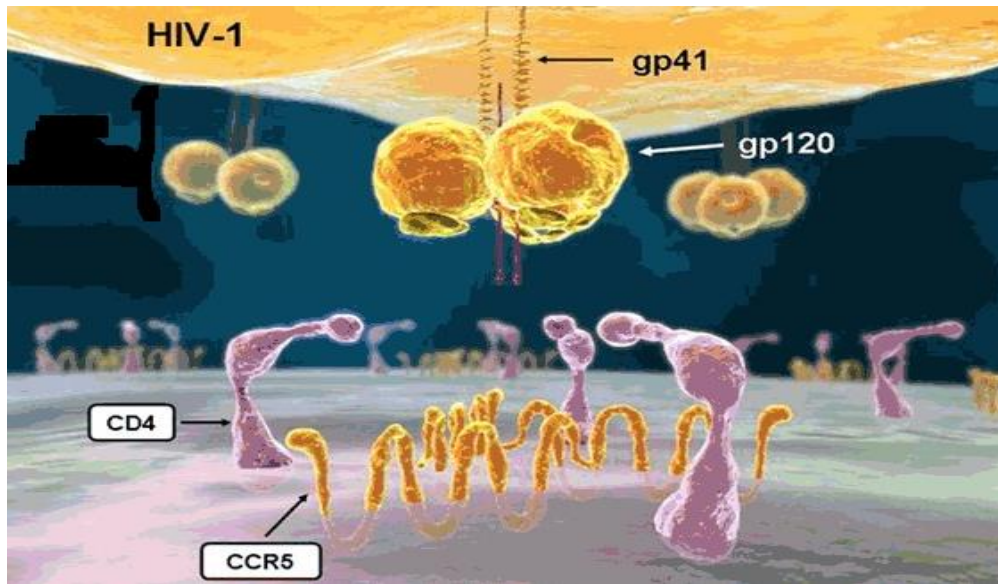
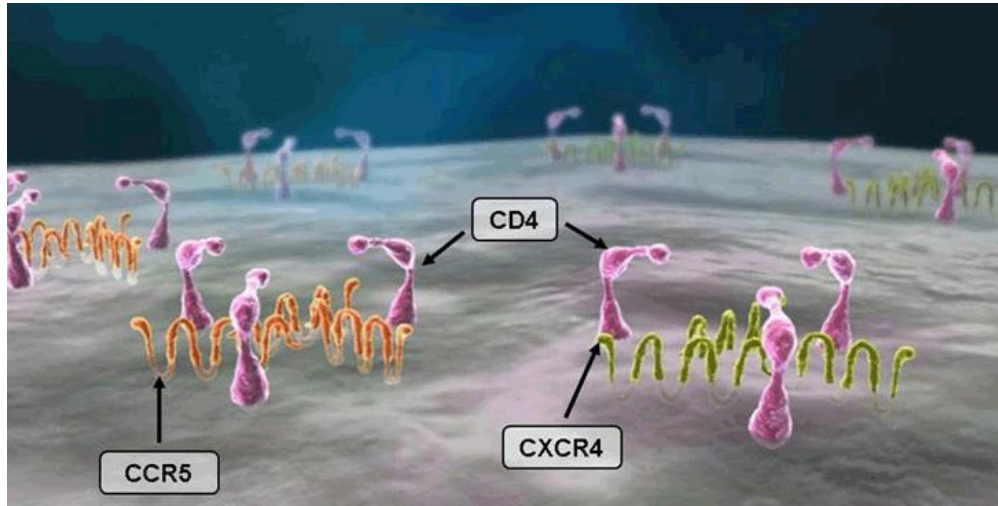
Viral zarf trimerik kompleks, gp120 ve gp41 heterodimer proteinlerinden meydana gelir ve bu glikoproteinler virüsün hedef hücreyi tanınması, konak hücreye girişi için gereklidirler. Bu glikoproteinlerden gp41, amino grup ucunda füzojenik hidrofob bir peptit içerir ve bu peptit, viral ve hücrel membranın füzyonu için gereklidir. HIV zarf molekülü gp120 ise 58 kDa'luk monomerik bir glikoprotein olan CD4'e tutunur. CD4 immünglobulin süper ailesinin bir üyesidir. Bu glikoprotein, merkezi sinir sistemindeki mikrogial hücreler ve dendritik hücrelerde, eozinofillerde, monosit/makrofajlarda, timus ve kemik iliğinde bulunan T-hücre öncüllerinde ve dolaşımdaki T-lenfositlerin yaklaşık olarak %60'ının hücre yüzeyinde sergilenir.

CD4 molekülü, yabancı antijenin T-hücre tarafından tanımlanması sürecinde MHC sınıf II molekülüne yardımcı bir reseptör gibi fonksiyon göstermektedir (54, 55). CD4 reseptörü ile gp120 bağlanması sonrasında virüs zarf kompleksi yapısal bir değişime uğrar ve gp120'nin hücre membranında bulunan kemokin reseptörüne bağlanmasını sağlayan spesifik bir ilmeğin oluşumunu sağlar (Şekil 6-7-8).

Kemokin reseptörleri, immün hücrelerin inflamasyon alanına yönelmesine ve göçüne aracılık eden kemotaktik sitokinler, kemokinler ve küçük proteinler tarafından tanınırlar ve disülfid benzeri sistein kalıntılarının pozisyonlarına ve anjiyogenik etkilerine göre sınıflandırılmışlardır. Şimdiye kadar HIV yardımcı reseptörleri gibi çalışan en az 17 kemokin ligandı tanımlanmıştır.

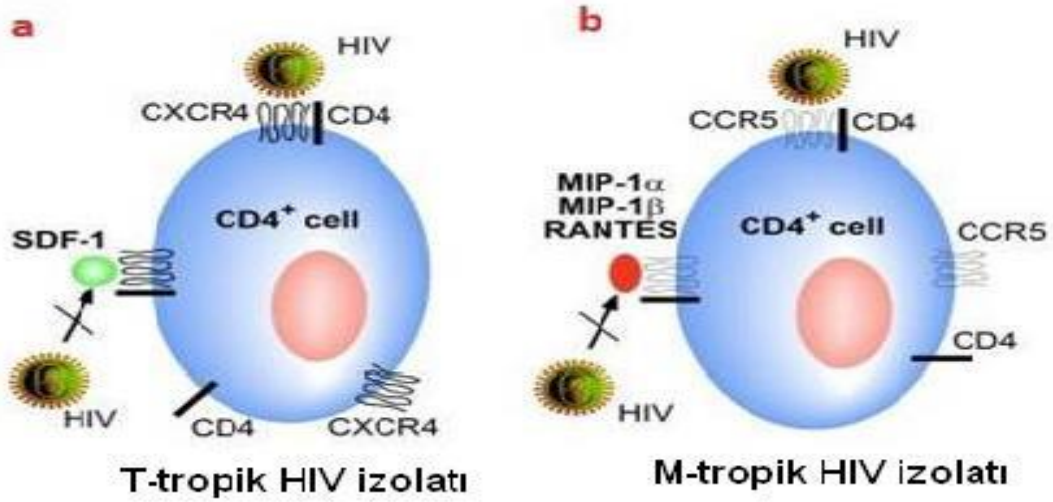
Kemokin reseptörleri ligandlarının yapılarına göre sınıflandırılırlar ve en güncel adlandırma da CXC, CC, CX3C veya C takibinde R (reseptör) ve bu kısaltmaların ardına bir sayı (örn.CXCR1-5, CCR1-10, CX3CR1) eklenerek oluşturulan kombinasyonlar şeklinde gerçekleşmektedir.

HIV tarafından en sık kullanılan yardımcı reseptörler CXCR4 ve CCR5'tir. Ancak potansiyel yardımcı reseptör olarak tanımlanan moleküllerde bulunmaktadır (56).



Şekil 6-7-8: HIV yüzey proteinleri (gp41, gp120) ile hücre reseptörlerinin (CD4, CCR5) ilişkisi (154).

α -kemokin SDF-1 (Stromal cell-derived factor 1), CXCR4'ün doğal ligandıdır hâlbuki CCR5, β -kemokin ailesi (RANTES, macrophage inflammatory proteins (MIP-1- α ve MIP-1- β)) için reseptördür. CXCR4, T-lenfositlerinde dahil olduğu birçok hücre tarafından sergilenmektedir. Bununla birlikte CCR5 monosit/makrofaj, dendritik hücrelerde ve aktive olmuş T- hücrelerde sunulurlar. Hedef hücreler üzerinde bulunan farklı kemokin reseptörlerinin varlığının, HIV-1 tropizminin temel belirteci olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 9). Aslında HIV-1 suşları tercihen başlıca makrofajlarda sunulan β -kemokin reseptör CCR5'lere ve CCR5 ifade eden CD4+ T-hücrelere tutunur (57). Bu suşlar makrofaj tropik (M-tropik) ya da R5 virüsleri olarak da bilinmektedir.

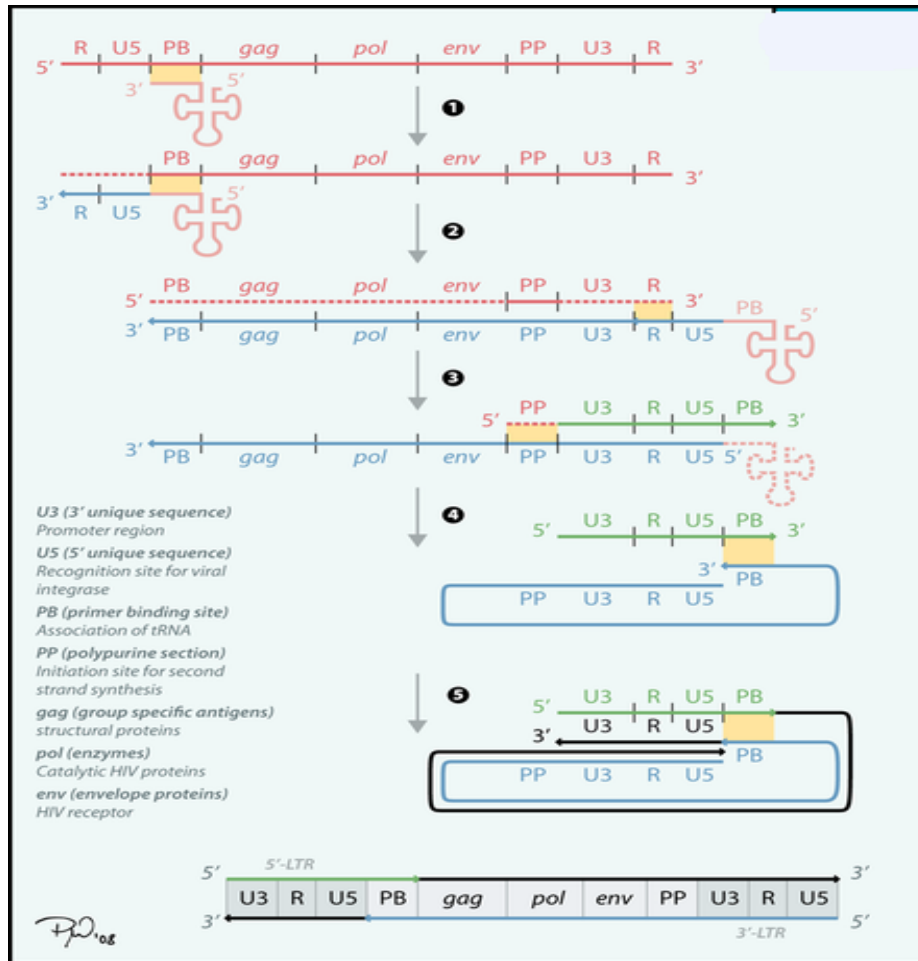


Şekil 9: HIV tropizmi. a- T-tropik HIV izolatu (T-lenfosit-tropik HIV), b- M-tropik HIV: (monosit/makrofaj-tropik HIV) (155).

CCR5 reseptörü ligandları olan RANTES, MIP-1- α ve MIP-1- β kemokinleri varlığında HIV-1 enfeksiyonunun in vitro olarak baskılanabildiği gözlemlenmiştir (36) bunun nedeni ise Bu kemokinlerin ligandları olan CCR5'e bağlanmada virüs ile yarışmalarıdır. CCR5 hemen hemen tüm primer HIV-1 izolatlarında ve viral genetik alt tip ne olursa olsun kullanılır. Diğer izolatlar tercihen giriş için CXCR4'ü kullanır ve primer olarak CXCR4 ifadeli CD4+ T-hücrelerde replike olurlar. Bu suşlar T-lenfosit-tropik (T-tropik) ya da X4 virüsler olarak bilinirler. CXCR4 için bir ligand olan α -kemokin SDF-1, T-tropik HIV-1 virüs replikasyonunu, CXCR4 reseptörüne bağlanmak

için yarışmalı olarak baskılar. Bazı HIV izolatları hem CCR5 hem de CXCR4 reseptörlerinin her ikisine de bağlanabilirler. Bu suşlar ikili-tropik veya X4R5 virüsler olarak bilinirler (58). CD4+T hücrelerine HIV-1 girişi için yardımcı reseptör vazifesi gören CCR5 için homozigotik delesyon (32 baz çifti delesyonu-Δ32) gösterenlerde CXCR4 yardımcı reseptörü sayesinde enfeksiyon gelişebilmektedir ancak bu kişiler HIV-1 enfeksiyonuna önemli düzeyde direnç göstermektedirler. CCR5 için heterozigotik delesyona sahip olanlarda viral yük düşük bir düzeyde kalır ve ilerleme yavaş olur. Bu direncin yanı sıra, 303. gende meydana gelen bir mutasyonla CCR5'in hiç sentezlenmediği ve bu kişilerin HIV dirençli oldukları gösterilmiştir (37). Virionlar hücre içersine endositoz yolu ile girebilirler ancak endozom içersinde inaktif duruma getirildiklerinden enfeksiyona neden olmazlar. Bir antijen sunucu hücre olan dendritik hücrelerin yüzeyinde bulunan bir c tipi lektin, gp120 bağlamasına rağmen füzyon oluşturacak konformasyonel değişimi sergileyemez ancak virionlar bu c tipi lektinlere (DC-SIGN) bağlanarak, bu hücrelerin lenf düğümlerine göçüne yardımcı olurlar ve HIV'in mukozal dokulardan Lenf düğümlerindeki T-lenfositlere yayılmasında aracı olarak kullanılırlar. gp41'in HR1 ve HR2 tekrar dizilerinin birbirleri ile etkileşime girmesi sonucunda, gp41 içersinde bulunan bir saç tokası ilmeğinin hücre dışı parçasının yıkımı gerçekleşir. Bu ilmek yapısı virüs ve hücre membranları birbirlerine yakın olmasını sağlar ve membranların füzyonuna ve sonrasında viral kapsidin girişine izin verir. Membran füzyonunu takiben virüs çekirdeği hedef hücrenin sitoplazması içersinde soyulur ve viral RNA serbest kalır. Ters transkriptaz ve integras ile viral RNA'nın çift zincirli DNA'ya dönüşümü gerçekleşir (şekil 5). Ribonükleaz H aktif bölge boyunca, ters transkriptaz sitoplâzma içersinde viral RNA'nın ters transkripsiyonuna başlar ve bunun sonucunda primer bağlanma bölgesinde başlayan ve RNA/DNA hibrit heliks içersine viral RNA kopyası çıkarılması süresince devam eden bir negatif zincir polimerizasyonu meydana gelir. Ribonükleaz H bölgesi RNA zincirini bozar ve ters transkriptazın polimeraz aktif bölgesi, tamamlayıcı DNA zincirini tamamlayarak bir ikili heliks DNA molekülü formunu oluşturur. Ters transkripsiyon sonucunda oluşan çift iplikli viral cDNA, integras, Matriks, Vpr, RI ve HGMI (yüksek mobilitateye sahip DNA bağlayıcı hücresel proteinler)'undan "Pre-integrasyon kompleksi" (PIC) ortaya çıkar. PIC mikrotübüller boyunca nükleusa taşınır. Çift zincirli HIV genomu, hücre genomuna integras enzimi vasıtasıyla eklenir (integrasyon). Bu protein ikili heliks yapıdaki DNA molekülünün 3' ucundaki nükleotidleri kesimleyerek

iki yapışkan uç oluşturur, modifiye provirüs DNA'yı hücre nükleusu içerisine transfer eder ve konak genomu içerisine integrasyonu kolaylaştırır. Monosit/Makrofajlar, mikrogliyal hücrelerde ve latent enfekte pasif CD4 + T hücreleri integre provirüs içerir ve bu hücreler, HIV'in uzun yaşamı için hücresel rezervuarlardır (58,60). Hücre aktivasyonunda, proviral DNA'nın transkripsiyonu bir haberci RNA içerisinde meydana gelir. Transkripsiyon işlemi ilk olarak tat ve rev gibi HIV-1 düzenleyici proteinlerin erken sentezi ile sonuçlanır. Tat nükleustaki HIV-1 RNA'nın başlangıcındaki TAR Bölgesine bağlanır ve transkripsiyonu ve daha uzun RNA transkript oluşumunu teşvik eder.



Şekil 10: Ters transkripsiyon işlemi (62).

1-Nükleusa taşınma süresince; viral ters transkriptaz, viral tek iplikli RNA'nın(kırmızı), çift zincirli DNA'ya dönüştürür.Ters transkripsiyon her zaman 3'→5' doğrultusundadır.

$tRNA^{Lys}$ (Gül rengi), PB bölgesine hibridize olur, bu bölge ters transkripsiyonun başlaması için gerekli olan hidroksil grubunu içerir. Tek zincirli DNA (mavi) dizisi sentezlenirken; komplementer tek zincirli RNA, ters transkriptazın RNaz H aktivitesi ile degrade olur. 2-DNA- $tRNA$ hibrid molekülü şablonun 3' ucuna aktarılır ve ilk zincir sentezi gerçekleştirilir. Daha sonra tüm tek zincirli RNA, PP bölgesi dışında degrade edilir. PP bölgesi daha sonra primer olarak görev alacaktır. 3-Tek zincirli DNA'nın(yeşil) ikinci zincirinin sentezi PP bölgesinin 3' ucundan başlar daha sonra bu bölge de degrade olur. $tRNA$ PB bölgesinin komplementerinin sentez edilmesini mümkün kılar. 4- $tRNA^{Lys}$ 'nin degrade olmasından sonra birinci ve ikinci DNA zincirlerinin PB bölgeleri hibridize olurlar. 5-Her iki zincir de, ters transkriptazın DNAP fonksiyonu ile tamamlanırlar. Tek zincirli RNA ile karşılaştırıldığında her iki DNA zinciri ucu da uzun terminal tekrar (LTR) olarak bilinen bir U3-R-U5 dizisi içerir (62).

Rev uzun RNA transkriptlerinin transkripsiyonunu ve yapısal ve enzimatik genlerin ekspresyonunu kolaylaştırır ve düzenleyici protein üretimini inhibe eder. Bu nedenle olgun viral parçacıkların oluşumunu teşvik ederler. Viral mesajcı RNA uzun parçaları kodlamak ve yeni virionun yapısal proteinlerini sentezlemek için sitoplazma içerisine göç eder. Proteinler olgunlaşmış HIV partikülünde bulunan gag ve pol genleri tarafından kodlanır. Viral zarfta bulunan glikoprotein çıkıntılar env geni tarafından kodlanan gen ürünleridir. Büyük gp160 öncül molekülü HIV-1 proteazı tarafından kesimlenerek gp120 ve gp41 moleküllerini oluşturur. Ayrıca Gag ve Pol proteinleri 160 kD ağırlığındaki büyük bir öncül molekülden kökenlenirler. Bu molekülün HIV proteazı tarafından kesimlenmesi sonucunda p24, p17, p9 ve p7 Gag final ürünleri ve Pol proteinleri oluşur. Öncül moleküllerin HIV-1 proteazı tarafından kesimlenmesi enfeksiyöz viral partikülün oluşumu için gereklidir. Yeni viral partiküllerin oluşumu aşamalı bir süreçten meydana gelmektedir. Bu oluşum, İki viral RNA zincirinin replikasyon enzimleri ile ilişkide olması, kor proteinlerinin biraraya gelerek virüs kapsidini oluşturması, Bu olgunlaşmamış partiküllerin hücre yüzeyine göç etmesi, büyük öncül moleküllerin HIV-1 proteazı tarafından kesimlenmesi sonucunda yeni enfeksiyöz viral partiküllerin konak hücre membranı boyunca tomurcuklanması sonucunda yeni zarfın kazanılması şeklinde cereyan etmektedir. Tomurcuklanma işlemi süresince virüs lipid membranları, çeşitli konak hücre proteinlerini içerebilir ve fosfolipid ve kolesterolce zenginleşebilirler. Hücre yüzeyindeki tomurcuklanma işlemi ve virionların salınım hücre dışı alanda gerçekleşen T-lenfositlerden farklı olarak, monosit ve makrofajlarda salınım virionların hücre içi vakuollerde birikimi sonucunda meydana gelmektedir (58, 60, 61).

2.4. HIV BULAŞMA YOLLARI VE EPİDEMİYOLOJİ

2009 yılında, yaklaşık 2,6 milyon kişi HIV-1 tarafından enfekte olmuştur. Bu durum, HIV-1 enfeksiyonlarının doruğa çıktığı 1997 yılı ile karşılaştırıldığında, yeni enfeksiyonlarda bir azalma olduğunu göstermektedir. Ancak HIV-1 bulaşmasına neden olan riskli davranışlar ve farklı bulaşma yollarının önemi vurgulanması sonucunda azalan HIV-1 insidansı oranları, tüm bölgelerde ve risk gruplarında eşit olmamıştır. En önemli örnek Doğu Avrupa ve Orta Asya'da HIV-1 prevalansıdır. Seks işçiliği, uyuşturucu kullanımı ve homoseksüel cinsel birleşme ile ilişkili epideminin bir sonucu olarak 2001-2009 yılları arasında prevalans üçe katlamıştır (63). Bu verilerden heteroseksüel bulaşmanın dünyada HIV-1 enfeksiyonlarının yaklaşık olarak %70'inden sorumlu olduğu açıkça anlaşılmaktadır. Geriye kalan %30'luk dilimin büyük bir kısmını MSM'ler, maternal infant enfeksiyonları ve damar içi uyuşturucu kullanan bireyler oluşturmaktadır. Cinsel birleşme eylemi başına bulaşma olasılığı heteroseksüel maruziyet için 1/200 - 1/3000 arasındadır (Tablo 2) (64, 65). Bununla birlikte son yıllarda HIV-1 insidansı ile ilgili yapılan iki meta-analiz çalışmasında, heteroseksüeller için HIV-1 bulaşma riskinin, genital ülser hastalığı, sünnet, HIV hastalığının evresi ve maruziyet yolu gibi etki değişikliğine neden olan risk faktörlerine bağlı olarak daha yüksek olabildiği ileri sürülmüştür (66,67). Örneğin risk kofaktörlerinin varlığına bağlı olarak HIV-1'in penil-vajinal bulaşma sıklığı 1/10 oranında olduğu, penil-anal bulaşmanın ise 1/3 oranında olduğu rapor edilmiştir (66). Bir bireyden, bir başka bireye HIV-1 bulaşma riskinde bulaştırıcı partnerdeki viral yük major rol oynamaktadır. Viral yükün, bulaşmanın tüm şekillerini etkiliyor olması olasıdır. Bu durum, HIV-1 pozitif/negatif uyumsuz çiftlerde ayrıntılı bir şekilde çalışılmıştır. Bu bireylerde viral yükün her 10 kat (log artışı) artışında bulaşma riskinin 2,5 kat arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca genital salgılardaki viral yük, kanda bulunan viral yük ile paralellik göstermeyebilir ve partnerlerindeki plazma viral yükü 1000 HIV-1 RNA kopya/ml'nin altında olan bireylerde bulaşmanın nadiren gerçekleştiği gözlemlenmiştir (68,69). Son çalışmalarda HIV-1 pozitif/negatif uyumsuz çiftlerde, antiretroviral tedavi altındaki pozitif bireyden bulaşmanın %96 azalabileceği gösterilmiştir (70). Ayrıca bulaştırıcı partnerdeki enfeksiyonun klinik evresi (akut, orta, geç) bulaşmanın etkinliğini

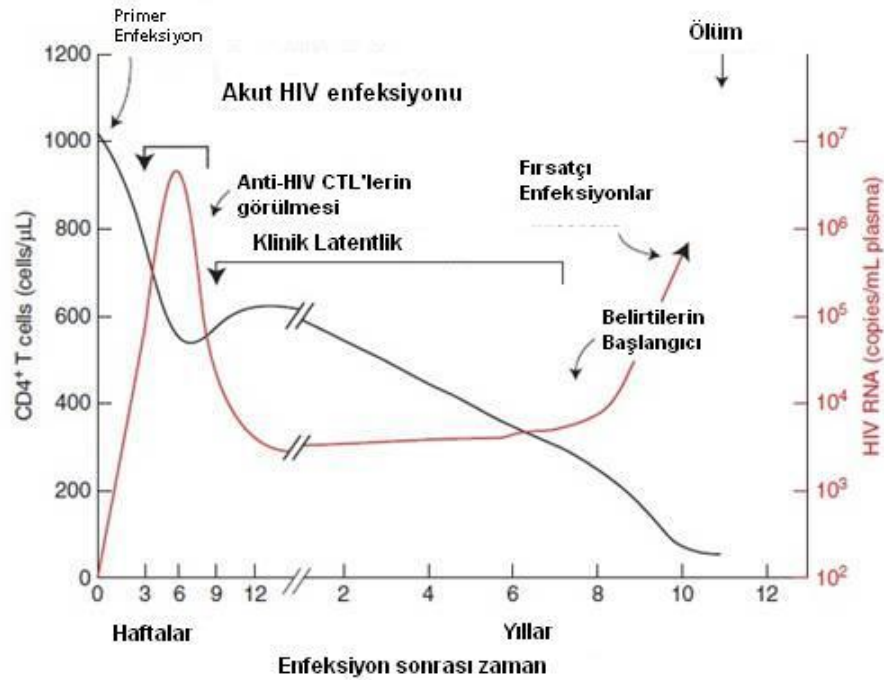
tanımlamada anahtar role sahip olabilir. (66, 71, 72, 73). Bazı faktörler, HIV-1 bulaşmasını modüle edebilir bunlardan en önemlisi cinsel yolla bulaşan hastalıklardır. Bu hastalıklar sonucunda genital inflamasyon ve ülserler oluşabilir. Bu tip durumlar HIV virüsünün genital yol içerisine dökülümünü arttırarak, enfeksiyona duyarlılığı 2-11 kat arttırır (74). Ayrıca gebelikte HIV bulaşma riskinin 2 kat arttırdığı gözlemlenmiştir (75), yapılan birkaç araştırma ile de erkek bireylerde sünnetin bulaşma riskini %60 azalttığı gösterilmiştir (76, 77, 78, 79).

Enfeksiyonun ilerleyiş süreci şekil 11’de gösterilmektedir. Bu süreç kişiden kişiye değişebilmekle beraber viremi düzeyleri, etkin bir antiviral tedavi almamış hemen her bireyde aşağı yukarı aynıdır.

- 1- (**~1-2 hafta**) **Tutulum fazı:** bu süreçte virüs özgürce replike olur ve enfeksiyonun başlangıç bölgesinden doku ve organlara yayılım gerçekleşir. Viremi saptanamaz, ne enfeksiyona karşı bağışık yanıt, ne de semptomlar gözlenemez.
- 2- (**~2-4 hafta**) **Akut (ya da primer) enfeksiyon fazı:** lenf nodlarında ve kanda, enfekte ve büyük CD4+T hücre fraksiyonları ve viremi düzeylerinin yüksek oluşu (kanda mililitrede 10^7 ya da daha fazla viral RNA kopyası) ile karakterizedir. Bu fazda, her zaman olmamakla birlikte sıklıkla grip benzeri semptomlar, ateş ve büyümüş lenf nodları gözlenir. Vireminin tepe noktasında, immün yanıt ortaya çıkmaya başlar, viral proteinlere karşı antikor formları ve enfekte hücre üzerinde eksprese edilen HIV-1 antijenlerine karşı CD8+T hücre yanıtı oluşur. Akut fazın sonunda, viremi seviyesi 100 kat ya da daha fazla olmak üzere keskin bir şekilde azalır. Bu aktivite, hedef hücrelerin tüketilmesi ve bağışıklık sisteminin kısmi olarak kontrolünün sonucunda gerçekleşir. Ayrıca bu faz kandaki CD4+T hücrelerinin sayısının geçici bir şekilde azalması ile karakterizedir.
- 3- (**~1-20 yıl**) **Kronik enfeksiyon (ya da klinik latent faz):** viremi düzeyinin değişmemesi ya da yavaşça yükselmesi (Genellikle yaklaşık 1-100.000 kopya/mL) ve CD4 + T hücre düzeylerinin normale yakın (1000 hücre/mL) ya da yavaş yavaş azalması ile karakterizedir. Bu aşamada hasta asemptomatik ve enfekte olduğunu genellikle farkında değildir. Terim olarak latent olarak

kullanılmasına rağmen her gün yüksek sayılarda CD4 + T hücrelerinin enfekte olması ve ölümü ile viral enfeksiyon latent olmaktan uzaktır.

- 4- Son olarak CD4 + T hücrelerinin sayısı azalır (< 200 hücre/mL) immün sistem dışarıdan gelen enfeksiyöz ajanları kontrol edemez hale gelir ve fırsatçı enfeksiyonlar görülmeye başlanır. HIV-1 enfeksiyonunun kontrolü immün sistem tarafından yitilir ve viremi düzeyi enfekte hastanın ölümü ile sonuçlanan AIDS evresine yükselir. Nitekim tedavi edilmemiş HIV-1 enfeksiyonu mortalite oranı %95'in çok üzerinde ve bilinen en ölümcül enfeksiyon hastalıklarından biridir (82).



Şekil 11: HIV-RNA ve CD4+Hücre sayıları-Zaman grafiği (39).

Bulaşma Bölgesi	Anatomik lokasyon	Epitelium tipi	Bulaşma sıvısı	Maruz kalma başı bulaşma olasılığı	Dünyadaki HIV vaka sayısı
Kadın genital Sistemi	Vajina	Keratinize olmayan sküamöz			
	Endoserviks	Keratinize olmayan sküamöz	Semen, Kan	200-1'den 2000-1'e kadar	12.6 milyon
	Endoserviks	Tek katlı kolumnar			
	Diğer	Çeşitli			
Erkek genital Sistemi	Sünnet derisi	Keratinize fakir sküamöz	Serviko-vajinal ve rektal sekresyon; kan	700-1'den 3000-1'e kadar	10.2 milyon ^a
	Penil Üretra	Çok katlı kolumnar			
	Diğer	Çeşitli			
İntestinal Sistem	Rektum	Tek katlı kolumnar	Semen; Kan	20-1'den 300-1'e kadar	3.9 milyon ^b
	Üst GI sistem	Çeşitli	Semen; Kan	2500-1	1.5 milyon
			Anne kanı, genital sekresyonlar (Doğum esnasında)	5-1'den 10-1'e kadar	960.000 ^c
			Anne sütü	5-1'den 10-1'e kadar	960.000 ^c
Plasenta	Koryonik villus	İki katlı epitelyum (sito ve sinsitotrofoblat)	Anne kanı (Rahim içi)	10-1'den 20-1'e kadar	480.000 ^c
Kan akışı			Kan ürünleri; Kesikler	100-95'ten 150-1'e kadar	2.6 milyon ^d

Tablo 2: HIV bulaşma yolları, olasılıkları ve Dünyadaki olgu sayısı (64).

a- MSM (Erkekler arası cinsel ilişki),biseksüel ve heteroseksüel erkekler dahildir.

b- MSM, biseksüel erkekler ve anal sex yoluyla enfekte olmuş kadınlar dahildir.

c- Anne- çocuk bulaşı

d- Çoğunlukla damar içi uyuşturucu kullanımı, transfüzyon yoluyla enfeksiyon ve medikal kazalar da dahildir. GI, gastrointestinal

Türkiye’de bulaşma yollarına göre HIV/AIDS vakaları incelendiğinde; % 46.1 heteroseksüel cinsel temas, %9.9 homoseksüel cinsel temas, %1.9 damar içi madde bağımlıları, % 1.6 kan nakli yapılanlar, % 1.1 anneden bebeğe geçiş, %39.4’ünün ise bulaşma yolu bilinmeyen bireylerden oluştuğu görülmektedir (95)

OLASI BULAŞMA YOLU	
Heteroseksüel cinsel ilişki	3137
Damar içi madde bağımlılığı	129
Homoseksüel/biseksüel cinsel ilişki	670
Anneden bebeğe geçiş	66
Nozokomiyal bulaşma	77
Bilinmeyen	2680
TOPLAM	6802

Tablo 3: Ekim 1985 - Haziran 2013 T.C. Sağlık Bakanlığı verilerine göre olası bulaşma yoluna göre AIDS vaka ve taşıyıcıların dağılımı (84)

2012 Dünya Sağlık Örgütü HIV raporuna göre dünyada ortalama 34 milyon kişi HIV ile enfekte bir şekilde yaşamaktadır. 2011 yılında ortalama 1.7 milyon kişi bu hastalık yüzünden hayatını kaybetmiştir. 2011 yılında 2.5 milyon kişi yeni enfekte olmuştur. 14.8 milyon insan HIV tedavisine uygun parametrelere sahiptir ancak bu hastaların 8 milyonu uygun tedavi alabilmektedir. Dünya genelinde en fazla enfekte hasta 2011 yılı sonu itibariyle 23.5 milyon birey ile Sahra altı Afrikadır. Güney Afrika 5.6 milyon enfekte birey ile Afrika’da en fazla HIV ile enfekte insan bulunan bölgedir. Nijerya 3 milyon enfekte bireye sahiptir. Kuzey Amerika’da Amerika Birleşik Devletlerinde ise 1,3 milyon enfekte birey bulunmaktadır. Asya kıtasında 780.000 enfekte birey ile Çin HIV ile enfekte bireyler açısından ilk sıradadır (83)

Sahra Altı Afrika	23.5 milyon
Asya	4.8 milyon
Kuzey Amerika	1.8 milyon
Güney Amerika	1.4 milyon
Avrupa	1.4 milyon
Orta Doğu & Kuzey Afrika	300.000
Karayip	230.000
Okyanusya	53.000

Tablo 4: DSÖ 2012 HIV/AIDS Global Raporu 2012 yılında HIV ile enfekte yetişkin ve çocuk sayısı (83).

Sağlık bakanlığı verilerine göre 2013 yılı 6.ayına kadar toplam bildirilen olgu sayısı 6802'dir. Bu olguların 4931'i erkek, 1869'u ise kadındır. En fazla olgu 40-49 yaş grubunda yer alırken, 15 yaşın altındaki çocuk olgu sayısı ise 105'dir. Geçmiş seneler ile karşılaştırıldığında tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde yeni olgu sayısında hızla artış gözlemlenmektedir (84).

YILLAR	VAKA	TAŞIYICI	TOPLAM
1985	1	1	2
1986	2	3	5
1987	7	27	34
1988	9	26	35
1989	11	20	31
1990	14	19	33
1991	17	21	38
1992	28	36	64
1993	29	45	74
1994	34	52	86
1995	34	57	91
1996	37	82	119
1997	38	105	143
1998	29	80	109
1999	28	91	119
2000	46	112	158
2001	40	144	184
2002	48	142	190
2003	52	145	197
2004	47	163	210
2005	37	295	332
2006	35	255	290
2007	24	352	376
2008	49	401	450
2009	75	453	528
2010	70	557	627
2011	84	642	726
2012	95	973	1068
2013 _(ilk 6 ay)	42	545	587
TOPLAM	1096	5706	6802

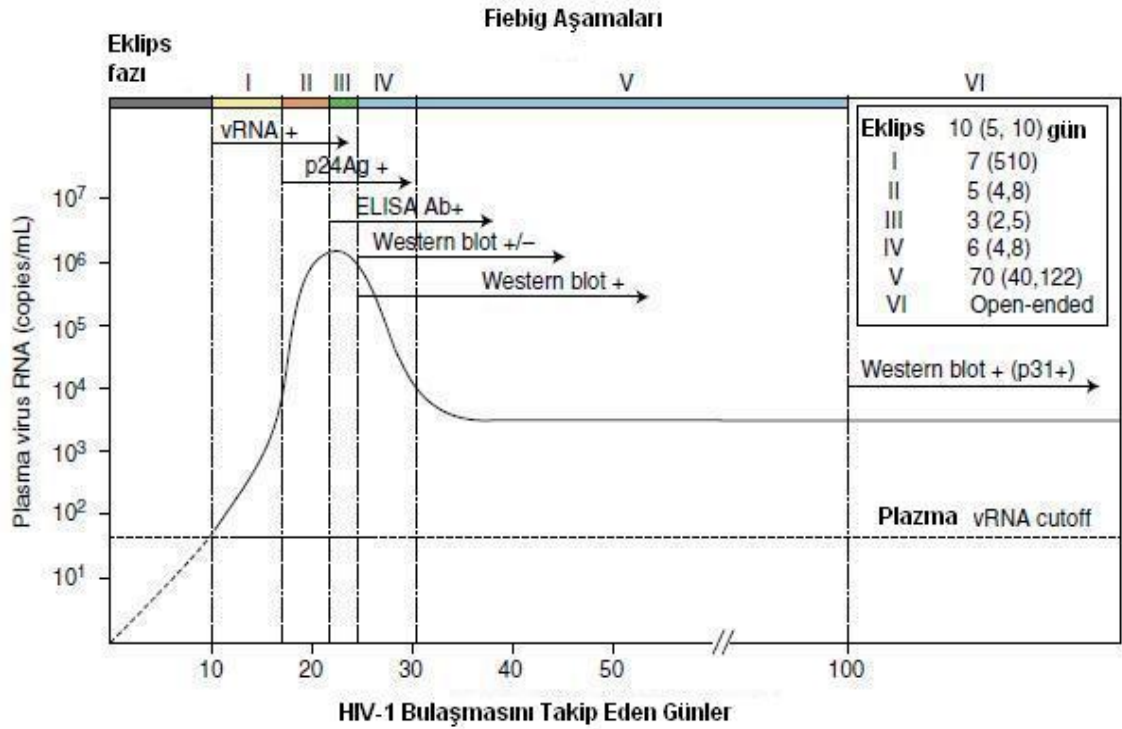
Tablo 5. T.C. Sağlık Bakanlığı 2013 Haziran ayı verilerine göre Türkiye’de HIV/AIDS olgu sayılarının yıllara göre dağılımı (84).

2.5. LABORATUVAR TESTLERİ VE TANI

HIV enfeksiyonu sırasında, hasta plazmasında saptanabilen çeşitli viral göstergeler, enfeksiyonun tanımlanmasında ve tedavinin izlenmesinde kullanılabilir. Her biri farklı kinetiklere sahip olan bu göstergeler farklı zaman aralıklarında gözlemlenebilirler ve bu nedenle göstergenin seçimi tanının hedefine bağlı olarak saptanır (85). Enfeksiyon sonrası ortaya çıkan ilk belirteç HIV RNA'dır. HIV RNA amplifikasyon teknikleri ile (genellikle 10-12 güne kadar) 2 haftaya kadar saptanabilir. Bununla birlikte HIV RNA saptanması ile aynı süre zarfında hücre genomuna integre olmuş HIV DNA'sı da saptanabilir (proviral DNA). p24 antijeni, 11-13. günlerde serumda gözlemlenebilmektedir ve maksimum duyarlılığa sahip tekniklerle yaklaşık olarak bir buçuk ay sonunda saptanabilmektedir (86). Antikorlar enfeksiyondan 3-4 hafta sonrasında serumda saptanabilmektedir (ortalama 22 gün); pik konsantrasyona 10-12 hafta sonunda erişilir (87). Antikorlar gözlemlendiğinde viremi düzeyi azalır ve immunokompleks oluşumlarının bir sonucu olarak p24 antijenleri kaybolur (85). Serokonversiyon ya da antikor görülmesi ile enfeksiyon arasındaki aralık pencere dönemi olarak bilinir. Bu dönem HIV RNA, proviral DNA ve p24'ün varlığı ve spesifik antikorların bulunmaması ile karakterizedir. HIV enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı, anti-HIV antikorlarının varlığının gösterilmesi yoluyla yapılır (85). Proviral DNA'nın tanımlanması özellikle vertikal bulaşmanın tanımlanması için zaman zaman kullanılır. HIV enfeksiyonu doğrulandıktan sonra, HIV-1 RNA viral yük (HIV RNA plazma kopya / ml olarak ifade edilir) ve direnç testleri, antiretroviral tedavinin etkinliğini değerlendirmek ve tedavi başarısızlığı olan hastalarda yeni tedavi rejimlerinin tasarlamak için kullanılır. Yeni tedavi rejiminin tasarımına yardımcı olmak için viral tropizmin belirlenmesi yeni bir araç olarak kullanılabilir.

Klinik bir bulaşma olayı sonrasında genellikle kanda düzenli olarak gözlemlenebilen ve tekrarlanabilir testlerle saptanabilen viral ve konak belirteçleri bulunur. Yeni HIV-1 enfeksiyonunun laboratuvar tanı belirteçlerinin sıralı olarak gözlenmesi Fiebig ve arkadaşları tarafından sistematik olarak değerlendirilmiş, akut ve erken enfeksiyonlar için laboratuvar evreleme sistemini geliştirilmişlerdir (80). Başlangıç periyodu, ilk hücrenin enfekte olduğu an ile virüsün kanda ilk kez saptanabilir düzeyde olduğu an arasında olan ve tutulum fazı (eclipse phase) olarak

isimlendirilen süreçtir. Bu periyodun süresinin, HIV açısından yüksek risk bulunduran cinsel ilişkilerin ve erken HIV-1 replikasyonunun, matematiksel modelleme ile hesaplanması sonucunda yaklaşık olarak 7-21 gün olduğu tahmin edilmektedir (81).



Şekil 12: Laboratuvar evrelemesi ve erken ve akut HIV-1 enfeksiyonunun doğal öyküsü (80).

Tutulum fazı süresince klinik olarak sessiz olan virüs, mukoza, submukoza, lenf drenajında, sistemik lenfatik dokularda ve muhtemelen mutevazi bir ölçüde de gut ile ilişkili lenfoid doku'da (GALT) bulunan CD4+T hücrelerine yayılır. Virüs bir kere kan plazmasında saptanabilir düzeyde olmaya başladığında, periferik lenfoid doku bölümlerinde ve GALT'da replikasyon patlaması meydana gelir ve bunun sonucunda virüs sayısı katlanarak artış gösterir.

Fiebig aşamaları I-VI' e kadar numaralarla ifade edilmektedir. HIV-1 viral RNA'nın düzenli olarak plazmadaki görünüşü (Fiebig I), viral p24 antijeni (Fiebig II) ve virüse spesifik ilk antikorların saptanabildiği rekombinant protein temelli ELISA

(Fiebig III), Western immün-blotlama (Belirsiz sonuç veren bantlı  rnek Fiebig IV, p31 reaktifli i gözlemlenmeyen saptanabilir bantlar gösteren  rnek Fiebig V, p31 reaktifli i gösteren ile saptanabilir bantlı  rnek Fiebig VI)  eklinde evrelendirilmektedir ( ekil 7) (80).

Enfeksiyonlar, spesifik antikorların varlığının saptanması esasına dayanır ve bu antikorlar enfekte bireylerin serumlarında hemen hemen %100 oranında bulunur. Yanlış-negatif sonuç riskini en aza indirmek amacıyla tüm teknikler oldukça duyarlı olmak zorundadır ve %99'a yakın doğrulukta sonuç vermelidirler. Enfeksiyon sonrasındaki 3-4 hafta %100 duyarlılık elde etmek zordur. Ayrıca immun defekti olan enfekte hastalarda seronegatif görülebilirler. Duyarlılı ın artışı özgüllükte bir azalmaya sebep olur ki bu mevcut tekniklerde %99 civarındadır. Çalışılan populyasyonda HIV prevalansının düşük olması pozitif prediktif değeri düşürür. Bu da HIV enfeksiyon oranı düşük olduğunda yalancı pozitif sonuç görülme olasılığının yüksek olması anlamına gelir. Tüm reaktif sonuçların doğrulama testi ile onaylanması gerekmektedir (85).

İlk teknikler 1985 yılında kullanılmaya ba lanmıştı ve bu tarihten günümüze kadar sürekli olarak gelişme kaydedilmiştir. Günümüzde IgG ve IgM antikorlarını ve M subtipi, N ve O grupları ve HIV-2'ye karşı oluşan tüm antikorların saptanmasında sandwich olarak adlandırılan üçüncü nesil ELISA testi kullanılmaktadır. Ayrıca son yıllarda p24 antijenini ve antikorları aynı anda yakalayabilen pencere dönemini 13-15 güne çeken dördüncü nesil teknikler kullanılmaktadır. Bu tekniklerle duyarlılık %99,9'a yükselmiştir. Bu teknikler ile yalancı negatif sonuç olasılığı azalır ve enfekte olma riski yüksek olan hasta grupları haricindeki bireylerde negatif sonuçlar doğrulama ya da serolojik izleme gerektirmez (88). Özgüllük % 99.5 ve % 99.9 oranları arasında olması ile birlikte yalancı pozitif sonuçlar, tabandaki virüs antijenlerinin serum içerisindeki maddeleri non-spesifik olarak ba lanması sonucunda gerçekleşir. ELFA (enzyme linked immunofluorescent assay), ELISA tekniklerinin modifiye versiyonlarıdır. Katı faz kullanarak daha geniş bir temas yüzey alanı ile inkübasyon sürelerini azaltır. Etiket olarak bir enzim ve floresan substrat kullanırlar bunların enzim etkisiyle bir floresan ürüne dönüşmesi esasına dayanır. Yayılan floresans miktarı, floresans dedektörü ile ölçülür. Bu teknikler otomatik hale getirilerek, çok sayıda numuneye aynı anda işlem yapabilme, numunelerin daha az elle işleme tabi tutulması (hata sayısını azaltır),

maliyetlerde azalma ve 60 dakikadan daha az bir sürede sonuç alınması gibi avantajlar elde edilebilir (89).

En sık kullanılan doğrulama teknikleri, Western Blot (WB) ve rekombinant immunoblot veya line immunoassay (LIA)'dır. Bu testlerin ELISA ile hassasiyetleri hemen hemen aynı olmakla birlikte özgüllükleri ELISA'dan üstündür. WB yönteminde, elektroforez ile moleküler ağırlıklarına göre ayrılan HIV'e ait çeşitli viral proteinler nitroselüloz bir membran üzerine transfer edilir. Striplere bölünen bu membran, örnek sulandırma solüsyonu ve hasta serumu ile bir süre inkübe edilir. Hasta serumunda strip üzerinde yer alan viral proteinlere karşı oluşmuş antikor var ise bağlanması gerçekleşen antijen-antikor kompleksine önce konjuge daha sonra uygun bir substrat eklendiğinde strip üzerinde koyu renkli bantlar gözlemlenir. WB ile enfeksiyonun evresini ve HIV-1 ya da HIV-2 tarafından oluşturulduğunu göstermek mümkün olabilmektedir (85). Pozitif bir Western blot, CDC tarafından p24, gp41, gp120, p31 bantlarından herhangi ikisinin bulunması olarak tanımlanmıştır. Her iki teknik de, HIV-2 zarf antijenleri içerebilir bu sayede HIV-2 saptanması gerçekleştirilir. Her iki tekniğin de metodolojileri yarı-otomatiktir. Okuma farklı viral proteinlere uygun renkli bantların varlığının gözlemine dayanmaktadır Ancak sonuçlar öznel olabilmektedir (89). Bu nedenle her laboratuvarın reaktifliğin okunması için kesin bir sistem kurması gereklidir.

Viral yük ya da plazma viremi, plazma içerisindeki sirküle virüs miktarıdır ve 1 mililitredeki HIV RNA kopya sayısını ifade eder. HIV viral yük ve CD4 lenfosit sayısı sıklıkla HIV enfeksiyonlarının takibinde kullanılan iki prognostik göstergedir (90). İlki virüs replikasyonunun bir göstergesidir ikinci parametre ise konağın bağışıklık sisteminin nasıl çalıştığını yansıtır. Her iki parametre de her 3-6 ayda bir gözlemlenir bununla birlikte bazı makalelerde en azından CD4 sayısının yıllık izlemine savunulmaktadır (91). Yüksek başlangıç viral yükü, hızlı bir klinik ilerleyiş işaretidir. HIV enfeksiyonu olan hastanın doğru yönetimi açısından hassas, hızlı ve güvenilir olduğu için plazma HIV-1 RNA düzeylerindeki değişiklikler, antiretroviral tedaviye yanıt için en iyi belirteçlerdir. En önemli AIDS kılavuzlarında antiretroviral terapinin başarısı, ardışık yapılmış iki viral yük testinin 50 kopya/ml'nin altında çıkması şeklinde tanımlanmıştır (92). Viral yük, neonatal enfeksiyonların konfirmasyonu gibi özel durumlar dışında enfeksiyonun tanısında rutin olarak kullanılmamalıdır. Bu parametreyi ölçmenin ne kadar önemli olduğu göz önüne alındığında doğru, tekrarlanabilir, maliyet-

etkin tekniklere gereksinim vardır. HIV viral yükü hesaplamak için çok sayıda kullanılabilir farklı platform bulunmaktadır.

- Abbott RealTime HIV-1 m2000rt (Abbott Molecular Diagnostics): Ekstraksiyon için otomatik m2000sp sistemi ve qrtPCR amplifikasyon ve saptama için otomatik m2000rt ekipmanları kombine edilerek gerçekleştirilir.

- COBAS AmpliPrep TaqMan HIV-1 48 (Roche Molecular Diagnostics): örneklerden nükleik asit ekstraksiyonu için COBAS AmpliPrep ve qrtPCR amplifikasyon ve tespiti için v2.0 COBAS TaqMan 48 kullanılır.

- NucliSens EasyQ HIV-1 v1.2 (bioMérieux): Ekstraksiyon için EasyMAG ve qrtPCR amplifikasyon ve saptama için EasyQ kullanılır.

- Artus HIVirüs-1 QIA Symphony SP/AS and Rotor-Gene Q (Qiagen): Ekstraksiyon için QIA Symphony SP/AS ekipmanları ve amplifikasyon ve saptama için Rotor-Gene Q cihazı kullanılır.

- VERSANT HIV-1 RNA 1.0 (kPCR) (Siemens): Bu sistem örnek ekstraksiyon modülü ile (SP modülü) amplifikasyon ve saptama modülü (AD modülü)'nden oluşur.

HIV RNA'nın plazmada saptanmasında kullanılan tüm testler gerçek zamanlı PCR temelli testlerdir. Geleneksel PCR teknikleri, NASBA, LCR veya sinyal amplifikasyonu daha önce kullanılan tekniklerdir. Yüksek analitik duyarlılık, tekrarlanabilirlik, doğrusalılık, dinamik aralık ve farklı HIV alt tiplerini sayısal olarak gösterebilmesini gerçek zamanlı PCR'ın avantajları olarak sıralayabiliriz. Bu araçlara otomatik RNA izolasyon yöntemleri dahil edilerek, sonuçların elde edilmesi için gereken süreyi ve kontaminasyon riskini önemli ölçüde azaltmak ve çok sayıda örneğin işlenebilir olması amaçlanmıştır. Tüm platformlar, HIV-1 RNA'nın ters transkripsiyon ile cDNA dönüştürülmesi ile başlar. Hedef gerçek zamanlı PCR ile amplifiye edilir, floresan moleküller amplifiye ürüne spesifik olarak bağlanan oligonükleotid proplara bağlanır. Floresan minimum sinyal üzerine çıktığı zaman, gerçekleşen PCR döngü sayısı (Ct), miktar ölçümü için kullanılır. Bu teknolojinin avantajlarından biri de, reaksiyon tüpleri işlemek zorunda kalmadan hedef tespiti ve ölçümü sağlamasıdır. Farklı testler arasında bazı değişiklikler bulunmaktadır. Bu yüzden bir hastanın viral yükünün kontrolünün her zaman aynı sistem ile yapılması tavsiye edilir. Eğer teknik

değiştirilmesinden kaçınılamazsa bundan sonra kullanılacak yöntemle elde edilen HIV-1 RNA'nın yeni temelde ölçüldüğünden emin olunmalıdır. HIV'e ait farklı alt tiplerin ölçülmesi için, günümüzde bütün bu teknikler non-B alt tiplerin tespit edilmesine adapte edilmiştir (85).

İlaç direnci testleri, HIV enfeksiyonlarının klinik olarak izleminin önemli bir parçası haline gelmiştir ve şu anda tüm HIV tedavi kılavuzları tarafından tavsiye edilmektedir (100, 101, 102, 108). Birinci basamak rejimler için en etkin antiretroviral tedavinin seçiminde standart gibidir. Tanıda, ilaç dirençli suşların bulaşmasının araştırılmasında (birincil direnç) ve aktif ilaç seçilimi ile birinci ya da daha sonraki tedavi rejimi başarısızlıklarında (kazanılmış direnç) kullanılır. Direnç testleri, fenotipik veya genotipik olarak ayrı ayrı kategorize edilebilir. Rutin tanı laboratuvarlarında genotipik direnç testleri yaygın olarak benimsenmiştir. Fenotipik direnç testleri bir antiretroviral ilacın in vitro koşullarda virüs replikasyonunu ne ölçüde inhibe ettiğinin ölçümünü gerçekleştirir ve genellikle inhibitör konsantrasyonda (IC) bir değişimin gösterilmesine dayanır. İn vitro koşullarda İlaç yokluğu ile ilaç varlığındaki test düzeneği karşılaştırıldığında virüs replikasyonunun %50 oranında (IC₅₀) azalması gereklidir. Sonuçlar yabancı bir referans suşa göre, hasta numunesinde ilaca duyarlılığın kaç kat değişim gösterdiği şeklinde rapor edilir. Bu testler, Rekombinant virüs tanı testi teknolojisi kullanılarak gerçekleştirilir. Genellikle ticari laboratuvarlarda mevcuttur ve nadiren rutin teşhis laboratuvarlarında kullanılır (93).

Genotipik direnç testleri, spesifik ilaç direnci mutasyonlarının varlığını tespit eder. Mutasyonlar daha sonra direnç çeviri sistemleri kullanarak ilaç direnci raporu olarak yorumlanır. Rapor, her antiretroviral ajan için "muhtemelen dirençli" , "dirençli" veya "duyarlı" bir sınıflandırma verisi verir. Yorumlama kuralları ve algoritmaları bir testten diğerine büyük ölçüde değişebilir (94). Proteaz (Pro), revers transkriptaz (RT), integraz (INT) ve V3 ilmeği HIV-1 DNA dizi için araştırılan gen bölgelerdir. V3 sekanslaması CCR5 antagonistlerinin kullanımı öncesinde, koreceptor kullanımının tahmini (tropizm testi) için kullanılırken, Pro, RT ve INT, proteaz, ters transkriptaz (nükleozid / otid ve non-nükleozid analogları) ve integraz inhibitörlerine karşı direnç incelemek için kullanılır. Rutin klinik laboratuvarlarda en sık kullanılan testler RT ve Pro mutasyonlarını araştıran testlerdir. İki ticari FDA onaylı ve CE işaretli kit mevcuttur bunlar, TRUGENE HIV-1 Genotiplendirme Assay (Siemens NAD) ve ViroSeq ® HIV-

1 Genotiplendirme Sistemi (Celera-Abbott tanılama)'dir. Performans olarak bazı farklılıklar olmasına rağmen, her iki testte yoğun olarak dizilerin üretimi ve mutasyonların saptaması aşamalarını içerir. Her iki yöntem de genellikle mutasyonların tespitinde uyumlu sonuçlar sağlar ancak verilen direnç raporları farklıdır (95). Genotipik test sonuçlarının güvenilirliği açısından viral yükün 1000 kopya/ml'nin üzerinde olması gerekir. Genotipik testler, fenotipik testlerle karşılaştırıldığında avantajları; daha az karmaşıklık, daha kısa sürede geri dönüş ve daha düşük maliyet iken temel kısıtlamaları ise direncin indirekt olarak ölçümünün yapılması, yalnızca bilinen mutasyonları sorgulanması, mevcut olan mutasyonların karmaşık patternlerinde yorumlanmanın güç oluşu, düşük sıklıktaki direnç mutasyonlarını saptayamaması (minör varyantlar) olarak sıralanabilir.

Konvansiyonel direnç testleri direnci, total viral yükün % 20'sinden fazlası ilaç dirençli izolatlardan meydana geliyorsa tespit edebilir. %1 ve %20 arasındaki mutasyonların saptanması, bu hastalarda başarısız tedavi riskinin büyük olması nedeniyle önem kazanmaktadır (96).

Günümüzde kullanılan, allel-spesifik gerçek zamanlı PCR (AS-PCR), Populasyonun % 0.01'e kadar düşük oranda mevcut mutasyonları tespit edebilir (97). Bu olağanüstü duyarlılık oranına rağmen, bu yöntemin en büyük dezavantajı, her bir mutasyonun her bir alleli için bir testin yapılmasının gerekli olmasıdır. Bu sadece nükleozid olmayan analoglara direnç (K103N, Y181C, G190A) ile ilişkili mutasyonlar ve M184V gibi tek başına nükleozid analoglarına karşı direnç ile ilişkili temel mutasyonların saptanmasında sonuç alınabileceği anlamına gelmektedir (97). Bu dezavantaj, son yıllarda geliştirilen ve %0.5 'den itibaren mutasyonları tespit edebilen kitlesel ultra derin paralel sıralama teknikleri (UDPS) tarafından yenilmektedir.

2.6. TEDAVİ VE ANTİRETROVİRAL İLAÇLAR

Son on yıllık periyotta yüksek derecede aktif antiretroviral tedavi (HAART), insan bağışık yetmezlik virüsü ile enfekte hastaların tedavisinde devrim yaratmıştır. HIV patogenezinin daha iyi anlaşılması, viral yük ve direnç testlerinin rutin olarak yapılması ve 23’den fazla FDA onaylı antiretroviral ajanın kullanılabilir olması, HIV ile enfekte hastaların hem yaşam sürelerine hemde yaşam kalitelerine pozitif anlamda etkide bulunmuştur. Son yıllarda HIV ile enfekte bireylere virüsün etkileri çok sınırlı olabilmektedir. İnatçı yüksek düzey viral replikasyon, HIV patogenezinin itici gücüdür ve enfekte bir bireyde her gün yaklaşık olarak 10 milyar virion oluşmaktadır. Viral yük ölçümleri, klinisyene hangi ARV rejiminin başarılı olduğunu göstermesinin yanı sıra hangisinin başarısız olduğunu da gösterebilmektedir. Bu durumda ARV başarısızlığı görüldüğü anda tedavi rejimi değiştirilerek olası bir klinik başarısızlığın önüne geçilmiş olur. Modern ARV tedavilerinin kullanımı HIV ile ilişkili mortaliteyi çarpıcı bir şekilde azaltmıştır. Bu gelişmelere rağmen, ARV tedavilerinin yeni tanınan toksik etkileri nedeniyle uzun süreli tedavinin faydaları sınırlanmaya başlamıştır. Bununla birlikte ARV’lerin etkisi oldukça değişkendir. Rejimin farmakokinetik özellikleri, doku penetrasyonu, hücrel penetrasyon, hücre içi işlemenin uygunluğu, ARV ilaç hikayesi, rejimin tolerasyonu, adherens, rejimin etki kapasitesi ve dirençli virüsün oluşumu ya da önceden varlığı gibi birçok faktör viral replikasyonun baskılanma kabiliyetine etki edebilmektedir (98).

Antiretroviral tedavinin amacı, virüs replikasyonunun uzun süreler boyunca baskılanması, immün aktivitenin bozulmasının engellenmesi ve düzenlenmesi, hasta bireyin yaşam kalitesinin artması ve HIV’e bağlı mortalite ve morbiditeyi azaltmaktır. Kombinasyon tedavisi ile HIV replikasyonunun ölçülemeyecek düzeye indirilmesi (< 20 kopya/ml) tedavinin ana hedefi haline gelmiştir. En uygun şartlarda uygulanan tedavi yöntemleri ile bile bugün için HIV/AIDS’de tam bir tedavi sağlamak, virüsü vücuttan tamamen uzaklaştırmak mümkün değildir (104). Antiretroviral ilaçların tek başına kullanımı sıklıkla kullanılan ilaca dirençli HIV mutantlarının ortaya çıkarmaktadır. Bu yüzden günümüzde kabul gören tedavi şekli genellikle üç ilacının birlikte kullanıldığı kombine tedaviler yani HAART (Yüksek düzeyde aktif antiretroviral tedavi)’dir. Günümüzde HAART tedavisi içerisinde kullanılabilen 6 farklı ilaç grubunda yer alan 26

bileşim bulunmaktadır. Bu gruplardan NRTI (Nükleozid reverz transkriptaz inhibitörü), NNRTI (Non-nükleozid reverz transkriptaz inhibitörü) ve PI (Proteaz inhibitörü)'lar ülkemizde bulunmakta ve hasta bireylerin tedavisinde kullanılmaktadır (99,100). Dünya genelinde klinisyenler, CD4 hücre sayısı $<350/\text{mm}^3$ olan bir hastaya tedavi başlanması konusunda hemfikirdir (100, 101, 102, 108). Son yapılan kohort çalışmalarında CD4 hücre sayısı $350-500/\text{mm}^3$ arasındayken tedavi alan kişilerin ölüm oranının %69, CD4 hücre sayısı >500 iken tedaviye başlayan kişilerin ise ölüm oranının %94 azaldığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, Avrupa tedavi kılavuzları CD4 hücre sayısı $\geq 350/\text{mm}^3$ olan fakat 50 yaş üstü kişilerde, CD4 hücre sayısı bir sene içerisinde $50-100/\text{mm}^3$ düşüş gösteren, HIV-RNA seviyesi >100.000 olan, kişilere ART önermektedir (100). Dünya genelinde mevcut tedavi önerileri, yetişkinlerde CD4 T-hücre sayısına dayanmaktadır.

Kılavuz	AIDS/ Semptomatik HIV	CD4 + hücre $<200/\text{mm}^3$	CD4 + hücre $200-350/\text{mm}^3$	CD4 + hücre $350-500/\text{mm}^3$	CD4 + hücre $>500/\text{mm}^3$
DHHS-USA, 2013	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir¹	Tedavi önerilir²
International AIDS Society (IAS) – USA, 2012	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir¹	Tedavi önerilir²
British HIV Association (BHIVA), 2012	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir	Belirli hastalara Tedavi önerilir ³	Tedavi ertelenir ³
European AIDS Clinical Society (EACS), 2012	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir	Belirli hastalara Tedavi önerilir ³	Tedavi ertelenir ³
World Health Organization (WHO), 2013	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir	Tedavi önerilir⁴	Tedavi ertelenir ⁵

Tablo 6: Dünya genelinde kullanılan HIV/AIDS tedavi kılavuzlarının önerileri (101)

¹ Gözlemsel veriler temelinde şiddetle önerilmiş

² Uzman görüşü temelinde orta derecede tavsiye edilmiş

³ HIV + hamile kadınlar, HBV ko-enfeksiyonu, HCV ko-enfeksiyonu, HIV ile ilişkili nefropati, HIV ile ilişkili bilişsel bozukluklar, idiyopatik trombositopenik purpura, sero-uyuşmaz çiftler (serodiscordant couples) ve non-AIDS kanserlerin tümü tedavi edilir.

⁴Öncelikli olarak CD4+ < 350 olan bireyler

⁵HIV + hamile kadınlar, HBV ko-enfeksiyonu ile ciddi karaciğer hastalığı, Tüberküloz ko-enfeksiyonu ile aktif hastalık ve sero-uyuşmaz çiftler (serodiscordant couples) tümü tedavi edilir.

Genel Ad	İlaç Adı	Formulasyon	Standart Erişkin Dozu	Adet/Gün	Major Yan etkiler	İlaç Alımı	
Nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs)							
3TC, lamivudine	Epivir		150 ve 300mg tabletler	150mg günde iki kere veya 300mg günde bir kere	2 1	Yaygın: Bulantı, kusma, ishal, baş ve karn ağrısı, saç dökülmesi, ateş, uykusuzluk, döküntü, halsizlik, burun akıntısı, eklem ağrısı Nadir: Laktik asidozis, karaciğer hasarı	Aç veya tok
Abacavir	Ziagen		300mg tablet	300mg günde iki kere veya 600mg günde bir kere	2	Yaygın: Bulantı, kusma, ishal, baş ağrısı, ateş, döküntü, halsizlik, burun akıntısı, iştah kaybı Nadir: Laktik asidozis, Hipersensitivite reaksiyonu	Aç veya tok
AZT, zidovudine	Retrovir		100 ve 250mg tabletler	250mg günde iki kere	2	Yaygın: Bulantı, kusma, fatigue, yorgunluk, baş dönmesi, zayıflık, kas ağrısı, iştah kaybı, ateş Nadir: Kan bozukluğu, lipotrofi, laktik asidozis	Aç veya tok
d4T, stavudine	Zerit		20, 30 ve 40mg tabletler	60kg in üstü hastalarda: günde 2 kere 40mg 60kg in altı hastalarda: günde 2 kere 30mg	2	Yaygın: Lipoatrofi, periferel nöropati, bulantı, diare Nadir: Karn ağrısı, refü, baş dönmesi, yorgunluk, döküntü, kaşıntı, Pankreatit, laktik asidozis	Aç veya tok
ddI, didanosine	VidexEC		125, 200, 250 ve 400mg tabletler	60kg in üstü hastalarda: günde 1 kere 400mg veya 200mg 2 kere 60kg in altı hastalarda: günde 1 kere 250mg veya 125mg 2 kere	1 or 2	Yaygın: Periferel nöropati, bulantı, kusma, diare Nadir: Karn ağrısı, refü, baş dönmesi, yorgunluk, döküntü, kaşıntı, Pankreatit, laktik asidozis	Sudında birşeyler yemeden veya içmeden 2saat önce ya da sonrasında
FTC, emtricitabine	Emtriva		200mg tablet	günde 1 kere 200mg	1	Yaygın: Bulantı, diare, baş ağrısı, kinas seviyelerinde yükselme, çocuklarda derinin karaması Nadir: Laktik asidozis, karaciğer hasarı	Aç veya tok
Nucleotide reverse transcriptase inhibitor (NRTI)							
Tenofovir	Viread		300mg tablet	Günde 1 kere 300mg	1	Yaygın: Bulantı, kusma, diare, baş dönmesi, kandaki fosfat seviyesinin düşmesi, zayıflama, döküntü, baş ağrısı, mide ağrısı, bitkinlik, şişkinlik Nadir: Böbrek problemleri, kemiklerde incelleme	Tok
NRTI / NtRTI fixed-dose combinations							
3TC / AZT	Combivir		Tablet 150mg 3TC ve 300mg AZT içerir	Günde 2 kere 1 tablet	2	3TC ve AZT ye bakınız	Aç veya tok
3TC / abacavir / AZT	Trizivir		Tablet 150mg 3TC, 300mg abacavir ve 300mg AZT içerir	Günde 2 kere 1 tablet	2	3TC, abacavir ve AZT ye bakınız	Aç veya tok
3TC / abacavir	Kivexa (EU)		Tablet 300mg 3TC ve 600mg abacavir içerir	günde 2 kere 1 tablet	1	3TC ve abacavire bakınız	Aç veya tok
FTC / tenofovir	Truvada		Tablet 200mg FTC ve 300mg tenofovir içerir	günde 2 kere 1 tablet	1	FTC ve tenofovire bakınız	Tok
NRTI / NtRTI / NNRTI fixed-dose combinations							
FTC / tenofovir / efavirenz	Atripla		Tablet 600mg efavirenz, 200mg FTC ve 300mg tenofovir içerir	günde 2 kere 1 tablet	1	FTC, tenofovir ve efavirenze bakınız	Aç karnna terchen yatmadan önce
FTC / rilpivirine / tenofovir	Eviplera		Tablet 200mg FTC, 25mg rilpivirine ve 300mg tenofovir içerir	günde 2 kere 1 tablet	1	FTC, rilpivirine ve tenofovire bakınız	Öğüne beraber
Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs)							
Efavirenz	Sustiva Stocrin		600mg tablet ve 200mg kapsül	günde 1 kere 600mg tablet	1 or 3	Yaygın: Döküntü, baş dönmesi, uyku bozukluğu, konsantrasyon bozukluğu Nadir: Bulantı, kusma, baş ağrısı, yorgunluk, diare, anksiyete, depresyon Paskoz, yaygın döküntü, karaciğer problemleri	Aç karnna terchen yatmadan önce
Etravirine	Intelence		100 ve 200mg tablet	günde 2 kere 200mg tablet	2 or 4	Yaygın: Döküntü, periferel nöropati Nadir: Yaygın döküntü (Stevens Johnson sendromu)	Yemekle beraber
Nevirapine	Viramune		200mg tablet	2 hafta günde 1 kere 200mg sonra günde 2 kere 200mg	2	Yaygın: Karaciğer toksisitesi, alerjik reaksiyon, döküntü, bulantı, baş ağrısı Nadir: Mide ağrısı, diare, bitkinlik Yaygın Döküntü (Stevens Johnson sendromu)	Aç veya tok
Nevirapine	Viramune prolonged-release		400mg tablet	400mg once a day after introductory period on non-extended-release nevirapine	1	Yaygın: Karaciğer toksisitesi, alerjik reaksiyon, döküntü, bulantı, baş ağrısı Nadir: Mide ağrısı, diare, bitkinlik Yaygın Döküntü (Stevens Johnson sendromu)	Aç veya tok
Rilpivirine	Edurant		25mg tablet	günde 1 kere 25mg tablet	1	Yaygın: Uyku bozukluğu, döküntü, baş ağrısı, değişken ruh hali Nadir: Depresyon 25 mg in üzerindeki dozlar kalpte ritim bozukluğuna sebep olabilir	Öğüne beraber
Protease inhibitors							
Atazanavir	Reyataz		150, 200 ve 300mg kapsüller	100mg ritonavir ile 300mg günde 1 kere ya da 100mg ritonavir ile 400 mg günde 1 kere efavirenz veya nevirapine ile birlikte	2 veya 3 5	Yaygın: Bulantı, diare, döküntü, mide ağrısı, baş ağrısı, uyku bozukluğu Nadir: Kusma, hiper bilirubinemi, lipodistrofi, karaciğer toksisitesi, diabet, refü, sanlik Böbrek taşıları, anormal karaciğer fonksiyonları, kalpte ritim değişikliği	Yemekle beraber
Darunavir	Prezista		400 ve 600mg tablet	100 mg ritonavir ile 600mg günde 2 kere veya 100 mg ritonavir ile 800 mg günde 1 kere	3 or 4 5	Yaygın: Diare, bulantı, döküntü, mide ağrısı, kusma, baş ağrısı, lipodistrofi, karaciğer toksisitesi, diabet, ateş Nadir: Anormal karaciğer fonksiyonları, kalpte ritim değişikliği	Yemekle beraber
Fosamprenavir	Telzir		700mg tablet	100mg ritonavir ile 700mg günde 2 kere	4 5	Yaygın: Kandaki lipid seviyelerinde artış, bulantı, kusma, diare, döküntü, baş ağrısı, bitkinlik, yorgunluk, ağız etrafında sızlama, karn ağrısı, karaciğer ve pankreas fonksiyonlarında değişim, lipodistrofi, karaciğer toksisitesi, diabet Nadir: Yaygın döküntü, kalpte ritim değişikliği	Aç veya tok
Indinavir	Crixivan		100, 200 ve 400mg kapsüller	günde 3 kere 800mg	6	Yaygın: Böbrek taşıları, karn ağrısı, lipodistrofi, bulantı, kusma, refü, diare, döküntü, baş ağrısı, bitkinlik, ağız ve deride kuruma, uyku bozukluğu, diabet, karaciğer toksisitesi Nadir: Karaciğer anormallileri, kalpte ritim değişikliği	Yemekten 1 saat önce veya 2 saat sonra ya da hafif bir atıştırma ile beraber alınır
Lopinavir / ritonavir	Kaletra		Tablet 200mg lopinavir ve 50mg ritonavir içerir	günde 2 kere 2 tablet veya günde 1 kere 4 tablet	4	Yaygın: Lipodistrofi, karaciğer enzimlerinde artış, bulantı, kusma, diare, karn ağrısı, zayıflama, refü, baş ağrısı, raised lipids, karaciğer toksisitesi, diabet Nadir: Kalpte ritim değişikliği	Aç veya tok
Ritonavir	Norvir		100mg kapsül ve 100mg tablet	Tam doz: günde 2 kere 600mg Diğer Pl lar destekleyici doz olarak: Günde 1 veya 2 kere 100 - 200mg	12 1 den 4 e kadar	Yaygın (Tam Doz): Karaciğer lipidlerinde ve enzimlerinde artış, bulantı, kusma, diare, karn ağrısı, baş ağrısı, zayıflama, ağız çevresinde uyuşma Yaygın (Düşük Doz): Lipid seviyelerinde artış Nadir: Ağızda kötü tad, lipodistrofi, karaciğer toksisitesi, diabet Kalpte ritim değişikliği	Bulantrıyı önlemek için yemek ile alın
Saquinavir	Invirase		200mg kapsül ve 500mg tablet	Günde 2 kere 100mg ritonavir ile 1000mg	6 5	Yaygın: Lipodistrofi, bulantı, kusma, diare, döküntü, yorgunluk, diabet, karaciğer enzimlerinde ve lipidlerde artış, karaciğer toksisitesi Nadir: Kalpte ritim değişikliği	Yemekten 2 saat sonra
Tipranavir	Aptivus		250mg kapsül	Günde 2 kere 200mg ritonavir ile 500mg	8 5	Yaygın: Bulantı, diare, kusma, karn ağrısı, yorgunluk, baş ağrısı, diyabet Nadir: Ateş, karaciğer anormallitesi, döküntü, lipodistrofi, karaciğer toksisitesi, lipidlerde artış, şişkinlik Beyin kanaması, kalpte ritim değişikliği	Yemekle beraber
Fusion inhibitor							
T-20, enfuvirtide	Fuzeon		Suda çözünöbilen toz	Günde 2 kere deri altına 90mg enjeksiyon	-	Yaygın: Enjeksiyon bölgesinde reaksiyon, solunum yolu enfeksiyonu, periferel nöropati, kilo kaybı	Yemek kısıtlaması yok
CCR5 inhibitor							
Maraviroc	Celsentri		150, 300mg tabletler	Günde 2 kere 300mg veya ritonavir ile desteklenmiş tipranavir haricindeki tüm Pl larla günde 2 kere 150mg veya günde 2 kere efavirenz ya da etravirine ile 600mg	2 to 4	Yaygın: Bulantı, diare, bitkinlik, başağrısı	Aç veya tok
Integrase inhibitor							
Raltegravir	Isentress		400mg tablet	400mg günde 2 kere	2	Yaygın: Uykusuzluk Nadir: Yaygın döküntü, hipersensitivite reaksiyonları	Aç veya tok
5 ritonavir kapsülleri dahil							

§ ritonavir kapsülleri dahil

Şekil 13: HIV tedavisinde kullanılan antiretroviral bilgileri (157)

DHHS kılavuzlarının uygulanacak ilk antiretroviral tedavi için önerileri; Tenofovir/Emtricitabin (TDF/FTC) NRTI kombinasyonunun bir NNRTI olan Efavirenz (TDF/FTC ile yeniden formüle edilmiş günde tek doz uygulanabilen 3'lü ilaç rejimi şeklinde) veya bir PI; (Atazanavir veya Darunavir) veya integras inhibitörü Raltegravir (RAL) kombinasyonu şeklindedir (100). Dünya Sağlık Örgütü ise uygulanacak ilk tedavi için ikili NRTI bileşimleri (TDF/FTC – TDF/3TC) ile birlikte bir NNRTI (Efavirenz veya Nevirapin)'dan oluşan kombinasyonları önermektedir (Tablo 7) (100,101).

Dünya Sağlık Örgütü, HIV-RNA seviyesinin uzun süre 5000 kopya/ml'nin altına inmemesini tedavi başarısızlığı olarak tanımlamaktayken, DHHS ise, HIV-RNA seviyesinin 24 haftalık tedavi sonucunda 400 kopya/ml'nin altına düşmemesi, 48 haftalık tedavi sonucunda ise 50 kopya/ml altına düşmemesinin tedavi başarısızlığını gösterdiğini belirtmektedir (102,103).

Tedavi başarısızlığının tespiti için her 6 ayda bir HIV-RNA ölçümü önerilmektedir. HIV-RNA testinin yapılamadığı durumlarda ise tedavi başarısızlığının tespitinde immünolojik parametrelerin kullanılması tavsiye edilmektedir (100). Bu öneriler sadece etkinliğin değerlendirilmesi, uygunluk, toksisite ve ilaç direnci temel alınarak değil aynı zamanda erişim kolaylığı, kullanılabilirlik ve maliyet de göz önünde bulundurularak hazırlanmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü, tedavi başarısızlığından sonra ikinci seçenek Antiretroviral tedavi için, Ritonavir ile güçlendirilmiş PI (Atazanavir veya Lopinavir) ile 2 nükleozid analogu önermektedir. NRTI seçiminde, ilk basamak tedavisinde Stavudin (d4T) veya Zidovudin (AZT) kullanılmış ise ikinci seçenekte TDF (3TC veya FTC ile birlikte) önerilmektedir. Eğer TDF birinci seçenek olarak kullanılmış ise, AZT ve 3TC ikinci seçenekte tavsiye edilmektedir (Tablo 8) (101).

Birinci Basamak Tedavi	Erişkin ve Adolesan (HIV+hamile kadınlar, TB koenfeksiyonu ve HBV koenfeksiyonu dahil)
Tercih edilen rejim (SDK*)	TDF + 3TC (veya FTC) + EFV
Alternatif Rejimler	AZT + 3TC + EFV (veya NVP) TDF + 3TC (veya FTC) + NVP
Özel Durumlar	ABC + 3TC + EFV (veya NVP) AZT (veya ABC) + 3TC + LPV/r veya ATV/r

Tablo 7: Erişkin ve adolesanlarda Birinci Basamak tedavi önerileri (101).

Hedef Populasyon	Tercih Edilen İkinci Basamak Tedavi	
Yetişkin Bireyler	d4T veya AZT ilk basamak tedavide kullanılmış ise, TDF + 3TC (veya FTC) + ATV/r veya LPV/r	
	TDF ilk basamak tedavide kullanılmış ise,	AZT + 3TC + ATV/r veya LPV/r
Hamile Kadınlar	Yetişkin ve Adolesan bireylere önerilen tedavi rejimleri	
HIV -TB koenfeksiyonu	Rifambutin mevcut ise,	Yetişkin ve Adolesan bireyler için önerilen standart PI içeren rejimler
	Rifambutin mevcut değil ise	Yetişkin ve Adolesan bireyler için önerilen aynı NRTI omurga + çift doz LPV/r ya da standart doz LPV/r ile ayarlanmış bir doz RTV
	AZT + TDF + 3TC (veya FTC) + (ATV/r veya LPV/r)	

Tablo 8: Yetişkin ve Gebe bireylerde İkinci basamak tedavi seçenekleri (101).

2.6.1. Nükleozid analogu Ters Transkriptaz İnhibitörleri (NRTI)

NRTI'lar, Nükleozid ters-transkriptaz inhibitörleri (NARTI veya NRTI) ve Nükleotid ters-transkriptaz inhibitörleri (NtARTI veya NtRTI) olarak adlandırılırlar. HIV-1 tedavisi için onaylanan ilk antiviral ilaçlar bu grupta yer almaktadır. 3'-azido-2',3'-dideoksitimidin (zidovudin; AZT), 2,3'-dideoksinosin (Didanozin; ddI), 2,3'-dideoksisitidin (Zalcitabin; ddC), 2',3'-didehydro-2',3'-dideoksitimidin (Stavudin; d4T), (-)2'-deoxy-3'-thiacytidine (Lamivudin; 3TC), Abakavir (ABC), Emtrisitabin (FTC) ve Tenofovir disoproksil (TVD)' inde bulunduğu sekiz ilaç bu grupta yer almaktadır. NRTI'lar etkilerini DNA zincirini sonlandırarak gösterirler. NRTI'lar ve NtRTI'lar etki şekilleri temelde aynıdır, bu moleküller viral DNA'nın sentezlenmesi için gerekli olan ve doğal olarak meydana gelen deoksिनükleotidlerin analoglarıdır. Nükleozid analogları ön-ilaç olarak uygulanır (öncül ilaç) ve konak hücre kinazları tarafından üç kere forforillenerek aktif forma getirilirler.

Oluşmakta olan viral DNA zinciri içerisine dahil olmak için doğal eşlenik deoksिनükleotidler ile yarışır. Ancak, doğal substratlar olan deoksिनükleotidlerden farklı olarak NRTI ve NtRTI'lar, deoksiriboz parçası üzerinde bulunan 3'-hidroksil grubuna sahip değildir. Sonuç olarak, bir NRTI ya da bir NtRTI oluşmakta olan zincire dahil olmasının ardından zincire katılacak olan deoksिनükleotid, DNA zinciri uzatmak için gerekli olan 5'-3 'fosfodiester bağıını oluşturamaz. Böylece, bir NRTI veya NtRTI dahil edildiğinde, viral DNA sentezi durdurulur ve bu durum zincir sonlandırma olarak adlandırılır. Tüm NRTI'lar ve NtRTI'lar yarışmalı substrat inhibitörleri olarak sınıflandırılır (98, 99, 104).

Abakavir (ABC)

Abakavir'in aktif formu 1144U88 trifosfat, HIV-1 ters transkriptazı'nın kuvvetli bir inhibitörüdür. Abakavir'in virüse karşı aktivitesi MT-4 hücreler, periferel blood mononükleer hücrelerinde (PBMC) ve makrofaj kültürlerinde analiz edilmiş ve bu hücre dizilerindeki %50 inhibitör konsantrasyon değerleri sırasıyla (IC₅₀) 4.0, 3.7 ve 0.65µM olarak ölçülmüştür. Viral yükü 4 hafta içerisinde yaklaşık 1.4 log düşürebilir,

hücre içerisinde fosforillenerek Karbovir trifosfat'a dönüşür. Abakavir'in, Zidovudin, Lamivudin ve Didanozin gibi NRTI'lar, Nevirapin gibi bir NNRTI ve Amprenavir gibi proteaz inhibitörleri ile kombine tedavilerinde sinerjistik etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Abakavir çok güçlü bir nükleozid analogu olup en çok korkulan yan etkisi ateş, çok az belirgin deri döküntüsü, boğaz ağrısı, bulantı, kusma, baş ağrısı, diyare, kas ve eklem ağrıları ile seyreden hipersensitivite sendromudur (98, 99, 105).

Zidovudin (AZT)

Zidovudin (3'-Azido-3'-deoxythymidine, AZT) bir timidin analogudur. Timidin'den farkı 3' hidroksil grubunun olmayışdır. 1964 yılında sentez edilmiş ve HIV enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan ilk nükleozid analogudur. 1987 yılında FDA (United States Food and Drug Administration) tarafından onaylanmıştır. HIV-1 ters transkripsiyonunu inhibe edebilmesi için ZDV'ye üç fosfat grubunun hücresel kinazlar tarafından bağlanması ve aktif ajan ZDV-tri fosfat molekülünün oluşması gereklidir. ZDV-tri fosfat oluşmakta olan DNA zincirine HIV-1 RT'si tarafından bağlanır ve 3' hidroksil grup eksikliğinden dolayı uzamakta olan DNA zincirinin sonlanmasına neden olur. ZDV'nin başlangıç fosforilasyonu hücresel timidin kinaz-1 (TK-1) tarafından gerçekleştirilir ve bu işlem sonucunda ZDV-monofosfat oluşur. TK-1 sitozolik bir enzimdir ve çoğalmakta olan hücrelerde aktivite gösterir. HIV-1 ile enfekte bireylerin hücrelerinde TK-1 aktivitesinin sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu gösterilmiştir. Başlangıç fosforilasyonunu takiben ZDV-monofosfat hücre içerisinde ZDV-DP ve ZDV-TP'a dönüşüm için birikir. HIV-1'e karşı abakavir, didanozin, lamivudin veya zalcitabin ile kombine edildiklerinde sinerjist aktivite gösterdikleri gösterilmiştir. Ayrıca stavudin ile benzer fosforilasyon yolları kullandıklarından in vivo olarak antagonistik etki gösterebilecekleri bazı çalışmalarda gösterilmiş olmakla birlikte, başka çalışmalarda in vitro ortamda sinerjist etki gösterdiklerini ifade edilmiştir. Anemi ve lökopeni yapma özelliği vardır. Ayrıca baş ağrısı ve miyopatiye neden olur. Seyrek görülen bir yan etkisi ise tırnaklarda siyah renk pigmentleşmesidir (98, 99, 105)

Zalsitabin (ddC)

Zalsitabin (2',3'-dideoxycytidine, ddC) 1966 yılında sentezlenmiş bir primidin analogudur. İlk kez 1986 yılında antiretroviral etkisi kabul edilmiş ve 1992 yılında sadece zidovudin ile birlikte kombine olarak kullanılması için FDA'dan onay almıştır. Zalsitabin, sitidinden kökenlenmiştir ve riboz şekerindeki 3'-OH grubu eksiktir (lamivudinle benzerdir). Zalsitabin, HIV ters transkripsiyonunda inhibitör olarak görev yapan bir zincir sonlandırıcıdır. HIV-1 replikasyonunu inhibe edici ve sitopatojeniteden koruyucu doz konsantrasyonu 0.5 μM 'dır. Zalsitabin, periferel kan lenfositleri ve bunlardan kökenlenen lenfositlerden ya da monosit/makrofajlar gibi çeşitli hücre dizilerindeki HIV-1 virüslerine karşı aktiftir. Bununla birlikte inhibitör aktiviteleri ve metabolizmaları hücre dizisinden hücre dizisine fark etmektedir. Zalsitabin, özellikle monosit/makrofaj hücre dizilerindeki makrofaj-tropik suşlara etkilidir ve median inhibitör konsantrasyonu (IC_{50}) didanozin (0.01 μM), zidovudin (0.2 μM) ile karşılaştırıldığında çok daha düşüktür (0.002 μM). Zalsitabin özellikle zidovudin'e dirençli HIV-1, HIV-2 ve HBV suşlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Zidovudin, delavirdin, sakinavir ve interferon- α ile sinerjistik olarak kullanılabilirken muhtemelen zalsitabin'in fosforilasyonunu inhibe ettiğinden ribavirine ile antagonistik etkili olduğu gösterilmiştir. Yan etkileri ve zayıf farmakokinetik etkileri nedeniyle 2006 yılında satışı durdurulmuştur (98, 105).

Stavudin (d4T)

Stavudin (2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine, d4T), zidovudin gibi bir timidin analogudur. Timidinden farklılığı hidroksil grubunun, 3' pozisyonundaki hidrojenle yer değiştirmesidir. Diğer nükleozid analogları gibi stavudinin de aktif hücre içi formu olan stavudine-tri-fosfat'a dönüşebilmesi için fosforillenmesi gerekmektedir. Ana madde pasif difüzyon ile hücre içerisine alındıktan sonra timidin kinaz, timidilat kinaz ve pirimidin difosfat kinazlar ile ilk fosforilasyon gerçekleştirilir. Zidovudin'in tersine monofosfat formunun hücre içi birikimi gerçekleşmemektedir. d4T'nin hücre içerisindeki mono-, -di-, -tri fosfat formların oranları 1:1:1'dir. Stavudin'in hücreler arası konsantrasyonunun artması ile orantılı olarak, ilacın aktif formunun hücre içi konsantrasyonu da bu artıma orantılı olarak artar. Stavudin'in trifosfat formu, ters transkriptaz işleminde doğal substrat olan 2'-deoxy-thymidine-5'-triphosphate ile

yarıřmalđ inhibit6r olarak g6rev alır. Laboratuvar ve klinik izolatlarda stavudin için IC₅₀ değeri 0.009-4.1 µM arasında değişmektedir. Çoklu zidovudin direnç mutasyonlarında (M41L, D67N, T215Y) duyarlılık azaltmaktadır. Stavudin'in in vitro olarak didanozin, lamivudin, nevirapin, sakinavir, indinavir ve nelfinavir ile kombine edildiğinde additif ve sinerjistik aktivite g6sterdiği g6r6lm6řt6r. Son yıllarda Stavudin'in yağ dokusunda mitokondriyel toksisite yan etkisinden dolayı lipodistrofi denen metabolik duruma sebep olduğuna inanılmaktadır. Lipodistrofi genellikle stavudin içeren antiretroviral ilaç kombinasyonu alan hastada bir iki sene içinde belirginleşir. Batılı 6lkelerde son yıllarda stavudin kullanımı bu yan etki nedeni ile çok azalmıştır ve tedavi kılavuzlarında 6nerilmemektedir (98, 99, 105)

Lamivudin (3TC)

Lamivudin (3TC), insan bağışık yetmezlik vir6s6 tip 1 ve tip 2 (HIV-1, HIV-2) ve Hepatit B vir6slerine karşı antiviral aktivite g6steren 2'-deoxy-3'-thiacytidine'nin cis enantiomeri ya da negatifidir. Bu bileşik bir primidin n6kleozid analogudur ve riboz halkasındaki 3' karbon yerinde bir s6lf6r atomu içerir. T6m n6kleozid analogları gibi 3TC'de aktif antiviral bileşik olabilmek için tri-fosforillenmesi ve 3TC-trifosfat bileşiğine d6n6şmesi zorunludur. 3TC-trifosfat bir ters transkriptaz inhibit6r6d6r ve HIV-1 RT bağlanma b6lgesine bağlanmak için endojen bir n6kleotid olan deoksisitidintrifosfat ile yarışır. Oluşmakta olan DNA molek6l6ne 3TC-trifosfat molek6l6n6n katılması sonucunda (DNA sentezindeki 5'-3' bağlanma için gerekli 3'-hidroksil grubunun bulunmaması nedeniyle) zincir d6n6ř6ms6z olarak sonlanır. Lamivudin'in çeşitli antiretrovirallerle kombine kullanımlarında in vitro olarak HIV-1'i inhibe edici etkisi g6sterilmiştir. Lamivudin'in, n6kleozid analogları (zidovudin, stavudin, didanozin), n6kleozid olmayan RT inhibit6rleri ve proteaz inhibit6rleri ile sinerjist ya da additif etki g6sterdiği g6r6lm6řt6r. 6l6 ilaç kombinasyonlarında 3TC/ZDV/Sakinavir, 3TC/ZDV/d4T, 3TC/ZDV/Nevirapin, 3TC/ZDV/Delavirdin ve 3TC/ZDV/İndinavir ile in vitro olarak sinerjistik ya da additif etki g6zlemlenmiştir. İyi derecede tolere edilen bir sitidin analogu Lamivudin'in 6nemli dezavantajlarından birisi ise hızlı direnç gelişimidir. Bir nokta mutasyonu olan M184V etkililik kaybında rol oynamaktadır. Monoterapide bu mutasyon sadece bir kaç hafta sonra muhtemelen

direnç gelişimine neden olur. 3TC'nin tam etkisi ancak diğer NRTI'lar ile kombine şekilde kullanıldığında ortaya çıkar (98, 105)

Emtrisitabin (FTC)

Emtrisitabin, HIV ve Hepatit B'ye karşı antiviral aktivite gösteren bir primidin analogudur. 1992'de tanımlanmış olup 2003 yılında FDA'den onay almıştır. Emtrisitabin, HIV-1, HIV-2 ve Hepatit B 'ye karşı antiviral aktivite gösteren 2'-3'-dideoxy-5-flouro-3'-thiacytidine molekülünün cis enantiomeri ya da negatifidir. Diğer nükleozid analogları gibi emtrisitabin'in ilaç öncülü formunun hücre içerisinde metabolize olması gereklidir. Emtrisitabin, hücre içi kinazlarla fosforilasyon adımı gerçekleştirilerek aktif 5' trifosfat formu olan emtrisitabin 5' trifosfat'a (E-TP) dönüştürülür. E-TP yarışmalı olarak bir endojen deoksinükleotid trifosfat olan deoksisitidin trifosfatın, ters transkriptaz bağlanma bölgesine tutunmasını inhibe eder. E-TP, RT tarafından oluşmakta olan proviral DNA zincirine eklenir. Bu eklenme DNA sentezinin sonlanmasına neden olur çünkü E-TP, şeker parçasının 3'pozisyonunda bulunan hidroksil grubundan yoksundur ve bu nedenle DNA sentezi için gerekli olan 5'- 3' bağlanmasına izin vermez böylece E-TP'nin eklenmesi ile replikasyon inhibe olur. Biyokimyasal olarak 3TC ile çok benzerlik gösteren bir sitidin analogudur fakat daha uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir. Günde tek doz alımı mümkündür Emtrisitabin'in antiviral aktivitesi, periferik kan mononükleer hücrelerde (PBMC), monosit/makrofaj hücre dizilerinde ve lenfositlerde değerlendirilmiştir. Hücre tipine ve kullanılan viral izolata bağlı olarak üretimin %50'sini inhibe edici doz (IC₅₀ değeri) 0.0014-1.500 µM arasında değişmektedir. Emtrisitabin, in vitro olarak nükleozid analogları zidovudin ve stavudin ile sinerjistik etki gösterir (98, 105).

Didanozin (ddI)

Didanozin (2',3'-dideoxyinosine, ddI, DDI, Videx), İnsan bağışık yetmezlik virüsü tip 1 ve tip 2 (HIV-1, HIV-2), SIV ve Human T-cell lymphotropic virüs 1 (HTLV-1)'e karşı kullanılan bir nükleozid analogudur. Antiviral etki gösterebilmesi için üç fosfatlı 2',3'-dideoksiadenozine 5'-trifosfat (ddATP)'a dönüşmesi gerekmektedir. Bu molekül HIV-1 ters transkriptazına bağlanmak için 2'-deoksiadenozine 5'-trifosfat

(dATP) ile yarışır. Buna ilaveten ddATP oluşmakta olan DNA zincirine bağlanarak bir zincir sonlandırıcı gibi görev yapar. Didanozin 1991 yılında FDA'dan onay alan 2. antiretroviral ilaçtır. T-hücre kültürlerinde viral üretimin %50'sini inhibe edici doz (IC₅₀ değeri) 0.24-0.6 mg/L arasında değişmektedir. Monosit/Makrofaj kültürlerinde ise bu değer 0.002-0.020 mg/L arasındadır. HIV-1'e karşı kullanılan Didanozin'in zidovudin ve stavudin gibi nükleozid analogları, delavirdin gibi NNRTI'lar ile ve sakinavir, indinavir gibi PI'lar ile sinerjist ya da additif etki göstermektedir. Pankreatit, periferik nöropatiye sebep olabilir. Pankreatit aniden gelişip, hastayı öldürebilir. Bu yüzden ddI kullanımı son yıllarda batılı ülkelerde azalmıştır (98, 99, 105).

2.6.1.1 Nükleotid Analogu Ters Transkriptaz İnhibitörü

Tenofovir (TDF)

Tenofovir disoproxil fumarate (TDF), retrovirüsler ve hepadnavirüslere karşı antiviral aktivite gösteren bir nükleozid analogu olan tenofovirin (9-[(R)-(2-fosfonometoksi) propil]adenin) (PMPA) oral öncül ilaç formudur. TDF, tenofovir'in oral biyo-yararlanımını arttırmak için dizayn edilmiş lipofilik bir ester türevidir. TDF'nin oral alımı ve absorpsiyonu sonrasında, nonspesifik hücrelerarası karboksiesterazlar tarafından hızlı bir şekilde tenofovire kesimlenir. Hücre içerisindeki tenofovir, adenilat siklaz ve nükleozid difosfat kinaz tarafından metabolize edilerek aktif parça olan tenofovir difosfat'a dönüşür (PMPApp). Tenofovir'in antiviral etkisi viral DNA polimeraz veya ters transkriptaz ile PMPApp'nin seçici etkileşimi sonucunda gerçekleşir. Doğal deoksiadenin trifosfat'a olan yapısal benzerlik temelinde PMPApp DNA polimeraz zincir reaksiyonu süresince hem yarışmalı inhibitör hem de alternatif bir substrat gibi bir rol oynaması sonucunda DNA zinciri sonlanması gerçekleşir. Tenofovir, hepatit B ve retrovirüslere karşı in vitro aktivite gösterir. HIV-1 alt tip B için IC₅₀ değeri 0.55-0.22 µM arasında değişmektedir. Tenofovir'in, zidovudin, amprenavir ve tüm nükleozid olmayan ters transkriptaz inhibitörleri (NNRTI'lar) ile kombinasyonlarının güçlü Anti-HIV viral sinerjistik aktivite gösterdiği gösterilmesinin yanı sıra didanozin, adefovir ve nelfinavir ile kombinasyonları sonucunda in vitro HIV replikasyonunun inhibisyonunda minör sinerjistik etki gösterilmiştir. Ayrıca abakavir, stavudine, lamivudin, zalsitabin, ritonavir, sakinavir ve indinavir ile additif etki

gözlemlenmiştir. Herhangi bir ilaç ile antagonistik etki gözlemlenmemiştir. K65R mutasyonu sık karşılaşılan ve problem yaratan bir nükleozid analogu direncidir. Tenofovir, ddI'nin emilimini artırır. Bu yüzden ddI dozu, tenofovir ile kullanıldığında azaltılmalıdır. Tenofovir ayrıca atazanavir'in (PI) emilimini azaltır. Atazanavir, tenofovir ile birlikte kullanılacaksa hastaya düşük doz ritonavir verilerek atazanavir seviyesi artırılmalıdır. Potansiyel nefrotoksisite riski, tenofovir için ciddi bir problemdir. Böbrek rahatsızlığı olan kişiler tenofovir ile tedavi edilmemeli veya düşük dozlar kullanılmalıdır. Tedavide düzenli olarak böbrek fonksiyonları incelenmelidir (98, 99, 105).

2.6.2. Non-Nükleozid Ters Transkriptaz Inhibitörleri (NNRTI)

NNRTI sınıfında yüksek kimyasal çeşitlilik ile karakterize 50'den fazla molekül bulunmaktadır. NNRTI'ler, enzimin katalitik bölgesinin 10 Å yakınında bir mesafede yer alan, hidrofobik bir cebe bağlanması ile ters transkriptazı inhibe ederler. RT ile bileşiklerin etkileşimi, enzimin katalitik aktivitesini etkileyen yapısal değişimlere neden olur. N(t)RTI'ların aksine, NNRTI'ler aktiftirler ve herhangi bir hücre içi metabolizasyonuna gereksinim duymazlar. NNRTI'ler HIV-1'e karşı son derece spesifik inhibitörlerdir ve diğer retrovirüslere karşı aktif değildirler (106). Bu sınıf ilaçlar karaciğerde sitokrom P450 sistemini indükleyerek, bu enzimler ile metabolize olan ilaçların metabolizmalarını hızlandırırlar (99). Nevirapin, Delavirdin ve Efavirenz 1996 ve 1998 yılları arasında piyasaya sürülmüştür. Ayrıca çoklu ilaç direnci olan hastaların kullanımı için daha az çapraz dirence neden olan 2. Jenerasyon NNRTI; etravirine 2008 yılında onay almıştır (105). NNRTI ve NRTI'nin kombinasyon şeklinde kullanıldığı klinik çalışmalar göstermiştir ki; iki ilaç sınıfının beraber kullanımı, üçlü nükleozid analog rejimlerinden daha fazla etkilidir (104). Direnç gelişimi sadece oldukça yüksek değil aynı zamanda hızlı bir gelişim göstermekte, bir kere ortaya çıktığında ise tüm ilaç sınıfına karşı direnç gelişimi olmaktadır. Hidrofobik bağlama bölgesinin 103. pozisyonundaki bir nokta mutasyonu (K103N) tüm ilaç sınıfını etkisizleştirmek için yeterlidir (105).

Nevirapin (NVP)

Nevirapin, HIV-1 tedavisinde kullanılan ilk nükleozid olmayan ters transkriptaz inhibitörüdür. HIV-1 replikasyonunun inhibisyonunu direkt olarak ters transkriptazın katalitik bölgesine komşu bir cebe bağlanarak gerçekleştirir. Nevirapin, ters transkriptaz'a bağlandığında konformasyonel bir değişime neden olur ve bu durum enzimin inaktive olmasını sağlar ve bunun sonucunda Viral RNA, DNA'ya dönüşemez. NVP, HIV-1 RT'sine oldukça spesifik bir moleküldür ve insan DNA polimerazına herhangi bir etkide bulunmaz. NRTI'ların aksine hücre içerisinde fosforillenmeye ihtiyaç duymaz. NVP, HIV-1'e karşı çok etkili bir inhibitördür ve viral üretimin %90'ını inhibe edici dozu (IC₉₀ değeri) 60Nm'dır. HIV-2'ye karşı etkili değildir. Nevirapin tedavisinde en çok korkulan yan etki, ilaca bağlı hepatittir. Bazen bunun öldürücü sonuçları olabilmektedir. Nevirapin'e bağlı hepatit ile hastanın tedaviden önceki CD4 T-hücre sayısı arasında ilişki vardır. Bu sebeple nevirapin, CD4 T-hücre sayısı kadınlarda 250, erkeklerde 400'ün üzerinde ise kullanılmamalıdır (98, 99, 105).

Efavirenz (EFV)

Efavirenz, insan bağışık yetmezlik virüsü tip 1'e spesifik bir NNRTI'dır. HIV-1 RT'sinin yarışmalı olmayan inhibitörüdür ve HIV-2 RT'sine etkisi yoktur. EFV direkt olarak RT'ye bağlanarak onun viral RNA ve DNA bağımlı polimeraz aktivitesini inhibe eder. Yetişkinlerde ve 3 yaşın üzerindeki çocuklarda antiretroviral ilaç olarak kullanılması 1998 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. HIV-2'ye etkisinin olmaması bağlayıcı cep konformasyonunun HIV-1'den tamamen farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Vahşi tip laboratuvar suşlarında ve klinik örneklerde viral üretimin %90-95'ini inhibe edici dozu (IC₉₀₋₉₅ değeri) 1.7-25nM arasında değişmektedir. En sık görülen yan etkileri baş dönmesi, dalgınlık, kötü rüya görme gibi merkezi sinir sistemi tutulumlarıdır. Efavirenz'in diğer önemli yan etkisi teratojenitedir. Genellikle ilk üç aylık dönemde nöral tüp bozukluğuna yol açmaktadır bu nedenle hamile kalması muhtemel ve hamile bayanlarda kesinlikle kullanılmamalıdır (98, 99)

Delavirdin (DLV)

Delavirdin, nükleozid olmayan ters transkriptaz inhibitörleri sınıfına giren ve yüksek düzeyde aktif antiretroviral tedavi (HAART)'nin bir parçası olabilen bir antiretroviraldir. Delavirdin diğer tüm NNRTI'lar gibi ters transkriptazı, enzimin katalitik bölgesine çok yakın bir bölgede bulunan p66 alt ünitesindeki hidrofobik cebe tutunarak inhibe eder. Delavirdin molekülü, nevirapin, efavirenz gibi diğer NNRTI moleküllerinden daha büyüktür. Delavirdin, HIV-2'ye karşı etkisizdir (98).

2.6.3. Giriş İnhibitörleri

Enfuvirtid (ENF)

Enfuvirtid (ENF), 2003 yılında FDA tarafından onaylanmış membran füzyon inhibitörüdür. HIV-1 enfeksiyonunun tedavisinde kombinasyon tedavisi içinde kullanılan yeni bir antiretroviral sınıfının ilk ilacıdır. Fuzeon (Roche) ticari adı altında pazarlanmaktadır. Enfuvirtid, sentetik bir 36-amino asit peptid analogudur. gp41'in ilk heptat tekrar bölgesine bağlanır ve ikinci heptat tekrar bölgesi ile etkileşimini aksatır. Böylece füzyon reaksiyonu sekteye uğrar ve konak hücre virüs enfeksiyonundan korunur. Çok iyi tolere edilir ancak asıl dezavantajı enjeksiyon bölgesinde görülen reaksiyonlardır. Uzun süre kullanımda deri sklerozu ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir (98).

Maravirok (MVC)

Maravirok (ABD dışında Selzentry veya Celsentri marka adı), HIV enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan CCR5 reseptör antagonisti olan antiretroviral bir ilaçtır. Maravirok belirli insan hücrelerinin yüzeyinde bulunan CCR5 reseptörünün negatif bir allosterik modülatörüdür. CCR5 Kemokin reseptörü, HIV suşlarının çoğu için, virüsün konak hücreye giriş işlemi için gerekli olan bir yardımcı reseptördür. İlaç CCR5'e bağlanarak HIV yüzey proteini olan gp120'nin reseptörü ile ilişkisini bloke eder. Bu nedenle virüs insan makrofaj ve T-hücrelerine giremez. Yalnızca hücreye giriş

için CCR5 reseptörünü kullanan virüsler ile enfekte hastalarda etkilidir. CXCR4'ü kullanan veya her iki reseptörü birden kullanan virüsler üzerinde etkisi yoktur (98).

2.6.4.İntegraz İnhibitörleri

Reltegravir (RAL)

2007 yılında FDA tarafından kullanımı onaylanmış olup hedef yapısı HIV integrazıdır. Etkisini, viral genetik materyalin hücre DNA'sına integrasyonundan sorumlu bu enzimi inhibe ederek gösterir. Bu enzim HIV patogenezinde kritik bir öneme sahiptir.

2.6.5. Proteaz İnhibitörleri

HIV proteazı; viral yaşam döngüsünde önemli bir rol oynar. Viral Gag ve GagPol öncül proteinin kesimlenmesi ve olgun enfeksiyöz virüs partiküllerinin oluşumunu sağlar. Gag öncül proteini, matriks (p17, MA), kapsid (p24, CA), nükleokapsid (p7, NC), p6 protein ve iki kesici protein p2 (SP1) ve p1 (SP2) 'i kodlamaktadır. HIV-1 proteazı, belirli bir amino asit dizisi yerine peptit substratlarının asimetrik şeklini tanır. HIV proteaz aspartik proteazlar ailesinin bir parçasıdır ve 99 amino asitlik 2 eşlenik alt uniteden oluşan, simetrik olarak biraraya gelmiş bir homodimerdir. Enzimin merkezinde yer alan substrat bağlayıcı yarı, Gag ve GagPol proteinlerindeki farklı substrat kesim bölge dizileri ile etkileşime girer. Viral proteazın nasıl aktive olduğuna dair kesin mekanizma, GagPol proteini içine gömülü olması nedeniyle anlaşılabilmiş değildir. Bununla birlikte GagPol öncül proteinlerinin dimerizasyonu için gerekli olduğu kabul edilmektedir. Viral olgunlaşma ve enfektivitedeki kritik fonksiyonuna rağmen HIV proteazının yüksek derecede esneklik ve polimorfizm göstermesi gözlemlenmiştir (99 amino asidinin 1/3'ünde görülmüştür). HIV proteazı ve substrat yapısı hakkındaki ayrıntılı bilgiler spesifik proteaz inhibitörlerinin (PI) geliştirilmesine yol açmıştır. Bu ilaçlar viral proteaz'ına yüksek eğilim ile bağlanacak ancak doğal substratlardan daha fazla yer işgal edecek şekilde tasarlanmışlardır. Şu anda, klinik kullanım için onaylanmış dokuz PI vardır bunlar sakinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, lopinavir, atazanavir, tipranavir

ve darunavir'dir. Tipranavir dışındaki tüm PI'lar, viral proteazın doğal substratını taklit eden, yarışmalı peptidomimetik inhibitörleridir. Peptidomimetik inhibitörler bir hidroksi etilen çekirdek içerir bu çekirdek HIV-1 proteazı tarafından proteaz inhibitörünün kesimlenmesini engeller. Tipranavir merkezi iskelede peptidomimetik bir hidroksietilen çekirdek yerine dihidropiron halkası içermektedir (109).

Sakinavir

Sakinavir antiretroviral kombinasyon tedavisinde kullanımı için 1995 yılında FDA'dan onay almış ilk proteaz inhibitörüdür. Sakinavir, in vitro şartlarda periferel kan mononükleer hücreler, insan lenfoblastoid ve monositik hücre dizilerinde bulunan HIV virüslerine karşı aktivite göstermektedir. Kronik ya da akut olarak HIV ile enfekte hücreler kullanılarak yapılan çalışmalarda, replikasyonun %50'sini (IC_{50} değeri) inhibe etmek için gerekli sakinavir konsantrasyonunun 20-500 nM arasında değiştiği gösterilmiştir (98, 99, 105).

Ritonavir

Sakinavir'in onay almasından kısa bir süre sonra iki farklı proteaz inhibitörü daha monoterapi ve kombinasyon rejimlerinin parçası olarak ABD'de lisanslandırıldı. Bunlardan biri olan Ritonavir, AB ülkelerinde HIV enfeksiyonu tedavisinde kullanım için onay almış ilk proteaz inhibitörüdür. Ritonavirin aktivitesi akut enfekte lenfoblastoid hücre dizilerinde ve periferel kan lenfositlerinde in vitro şartlarda değerlendirilmiştir. Viral replikasyonun % 50 sini inhibe eden ilaç konsantrasyonu kullanılan hücreler ve HIV suşlarına bağlı olarak 3.8 ile 153nM arasında değişmektedir (98, 99, 105).

İndinavir

1996 yılında lisans alan bir başka proteaz inhibitörü indinavir'dir. İn vitro çalışmalar, viral replikasyonun %95 (IC_{95})'ini azaltmak için gereken indinavir konsantrasyonunun 25-100 nM arasında değişmekte olduğunu göstermiştir. İndinavir monoterapi olarak kullanıldığında HIV-RNA plazma düzeylerinde kapsamlı düşüşler ve

CD4 hücre sayılarında artma gözlemlenmiştir. Ancak 24 haftalık bir zaman içinde antiviral etkinlik azalarak neredeyse başlangıç değerlerine geri dönmüştür. Proteaz kodlama bölgesinde birden fazla ilaca karşı direnç gelişimi ile ilgili yaygın mutasyonlar genellikle yetersiz ya da standartlara uymayan monoterapi sırasında saptanmıştır. 46, 82 ve 84.pozisyonlardaki mutasyonlar indinavir'e karşı oluşan azalmış duyarlılıkla en fazla ilişkili mutasyonlardır (98, 99, 105).

Nelfinavir

Nelfinavir, FDA tarafından dördüncü proteaz inhibitörü olarak tescil edilmiştir. Antiviral etkinliği makrofajlar ve PBMC'ler gibi hücre dizilerinde, klinik suşlarda incelenmiş ardından FDA tarafından resmen onaylanmıştır. 1999 yılında günde iki doz kullanım, standart bakım haline gelmiştir. Nelfinavir'in spesifik direnç mutasyonu 30N'dir ancak bu mutasyon çapraz dirence yol açmaz. Ayrıca sıklıkla 88.pozisyonda değişiklikler görülmektedir bu da gelecek için PI'ların duyarlılıklarını etkileyebilir. Nelfinavir direnci başka mutasyonal yolların seçilimi sonucu meydana gelebilir Bunun sonucunda daha geniş bir PI sınıfı direnci oluşabilir. Birinci kuşak proteaz inhibitörlerinin en önemli sınırlamalardan biri yüksek ilaç yükü nedeniyle düşük biyoyararlanım göstermesidir (98, 99, 105).

2.6.6.1.İkinci Kuşak Proteaz İnhibitörleri

Amprenavir/Fosamprenavir

Amprenavir 1999 yılında onay alan ve günde iki kere kullanılan ilk proteaz inhibitörüdür. Amprenavir'in antiviral etkinliği klinik örnekler ve laboratuvar suşlarında in vitro olarak değerlendirilmiş ve IC₅₀ değeri 10-80nM arasında olduğu gözlemlenmiştir. Amprenavir ile iki NRTI olan lamivudin ve zidovudin kombinasyonu, daha önce PI veya lamivudin kullanmamış plasebo grubuna iki NRTI verilerek karşılaştırmalı bir çalışma oluşturulmuştur. 48 Hafta içinde amprenavir kolundaki hastaların %89'unda plasma HIV RNA <400 kopya / mL seviyesinde iken bu oran karşılaştırılan grupta %60 (12.hafta sonrasında amprenavir ilave edilmiştir.) olarak gözlemlenmiştir. Bununla birlikte tedavi analizinin dikkat çekmek istediği konu,

amrenavir rejimi alan bireylerin %30'dan azında HIV RNA baskılanmasıdır. Bu hastaların büyük bir yüzdesinde amrenavir tedavisi günde iki kez 8 çok büyük kapsülün yutulma zorunluluğundan dolayı kesilmiştir (98, 99, 105).

Lopinavir

Lopinavir, düşük doz ritonavir ile birlikte ilk ve şimdiye kadar tek PI ko-formülasyonunu oluşturmuştur (Kaletra). İlaç günde iki kez üç kapsüllük rejim olarak 2000 yılında onay aldı. Daha sonra bu kapsüller daha iyi tolere edilebilen ve diyet kısıtlamaları veya soğutma ihtiyacı olmayan haplarla değiştirilmiştir. Lopinavir'in in vitro aktivitesi bir T hücre serisinde (MT4 hücreleri) kontrol edilmiş ve IC₅₀ değeri çeşitli klinik ve laboratuvar serilerinde 6-17 nM olarak gösterilmiştir. 2005 yılında FDA, günde iki kez Lopinavir tabanlı HAART ile kıyaslanabilir etkinlik raporlarından sonra günde bir kez Lopinavir kullanımını onayladı (98, 99, 105).

Atazanavir

2003 yılında atazanavir günde tek doz alınan ilk PI olarak onay aldı. Atazanavirin antiviral aktivitesi HIV-1 çeşitli suşlarında (klinik izolat ve laboratuvar suşları) ve birkaç konak hücre tipi (T hücreleri dizileri ve PBL) kullanılarak değerlendirilmiştir. Atazanavir 2-5 nM arasındaki IC₅₀ değerleri ile güçlü antiviral aktivite göstermiştir.

Atazanavir, UDP glukuronil transferaz inhibisyonu yoluyla hemen hemen tüm tedavi edilen bireylerde plazma bilirubin seviyelerini yükseltmiştir. İndinavir ile kullanımında bilirubin yükselmesi haricinde diğer PI'lar ile kullanımı sırasında genellikle klinik bir belirtiye yol açmaz. İlaç, kuvvetlendirici doz olarak kullanılmadığında sadece kolesterol ve trigliserid düzeylerinde sınırlı etkiye sahip toksik olmayan bir profile sahiptir (98, 99, 105).

Tipranavir

Tipranavir, uzun süredir ilaç tedavisi altında bulunan ve çoklu PI direnci olan hastaların tedavisinde kullanılmak üzere 2005 yılında FDA tarafından onaylanmıştır.

Tipranavir, bir peptidomimetik olmayan proteaz inhibitörüdür ve yukarıda örnek olarak gösterilen peptidomimetik PI'lardan daha az etkilidir. Tipranavir, merkezi yapı iskelesinde peptidomimetik hidroksietilen bir çekirdek yerine dihidropiron bir halka içermektedir. Tipranavir, klinik örneklerde ve T hücre dizileri ve PBL gibi laboratuvar dizilerinde in vitro olarak replikasyonu baskılar ve ortalama IC_{90} değeri 160 nM'dir. Tipranavir, sitokrom P450 ekspresyonunun indüksiyonu yoluyla kendi metabolizmasının güçlü bir indükleyicisidir (98, 99, 105).

Darunavir

Darunavir, 2006 yılında 9.proteaz inhibitörü olarak onay aldı. Yabancıl tip HIV-1 ile enfekte MT-2 ve MT-4 hücreleri, periferik kan mononükleer hücreleri ve monosit veya makrofajlar ile yapılan in vitro çalışmalarda, darunavir 1-5 nM arasında değişen bir IC_{50} değeri ile çok güçlü bir PI olduğunu göstermiştir. Özellikle ilaca dirençli suşların inhibisyonu için tasarlanmıştır. Güçlü antiviral etki ve sınırlı yan etki profili terapinin erken safhalarına kullanımını genişletebilir. Darunavir dirençli HIV-1'lerin in vitro seçilimi diğer PI'lara oranla daha az sıklıkta ve daha yavaş gibi gözükmemektedir (98, 99, 105).

2.7. ANTİRETROVİRAL İLAÇ DİRENCİ

2.7.1. Ters transkriptaz enzimi

Tüm retrovirüsler iki genomik RNA kopyası içerirler. Ters transkripsiyon, tek iplikli RNA genomunun çift zincirli proviral DNA'ya dönüştürülmesini içeren bir süreçtir. Ters transkriptazlar, RNaz H, zincir transferi ve zincir çıkarma aktivitelerine sahip, RNA- ve DNA- bağımlı DNA polimeraz aktivitesi gösteren çok fonksiyonlu enzimlerdir. HIV tip 1 (HIV-1) ve HIV tip 2 (HIV-2) ters transkriptazları, Gag-Pol olarak adlandırılan büyük bir poliprotein öncülünden, proteolitik işlemler sonucunda türetilen ve iki alt ünitelerden oluşan heterodimerik enzimlerdir. HIV-1 ters transkriptazı, tek iplikli viral RNA'yı çift zincirli DNA molekülüne dönüştüren temel viral enzimdir. HIV pol geni, proteaz, RNaz H aktivitesine sahip ters transkriptaz ve integrası kodlar. HIV-1 RT, yapısında p66 (560 amino asit) ve P51 alt birimini (440

amino asit) ihtiva eden, asimetrik bir heterodimerdir. Her iki alt birimde viral genomun aynı sekansından kodlanır. RNaseH, p66 alt biriminin son 120 amino asitinden (karboksi terminal uç) oluşmaktadır. p66 alt biriminin üç boyutlu yapısı, parmaklar (amino asit 1-85 ve 118-155), avuç (amino asit 86-117 ve 156-237) ve baş parmak (amino asit 238-318) ilmeklerinden oluşan bir sağ ele benzetilmektedir (107). Bunlara ilaveten bağlanma ve RNaz H alt ilmekleri polimerizasyon aşamasında katılırlar. Hem p66 hem de p51 alt üniteleri RT aktivitesi gösterebilirler ve optimal polimeraz aktivitesi için gereklidirler (109). p51 alt ünitesi, viral proteazın p66 alt ünitesini proteolitik olarak kesimlemesi sonucunda meydana gelmiştir. RT'nin aktif bölgesi yüksek derece de korunmuş YXDD motifli üç aspartat içermektedir (D185, D186 ve D110), bu üç aspartat kalıntısındaki herhangi bir mutagenез sonucunda inaktif enzim meydana gelir (110). Kalıp primere eşlenik dNTP'lerin bağlanmasını sağlayan üçüncül (tersiyer) bir kompleks oluşur, bağlanan dNTP'ler RT de konformasyonel değişikliklere yol açar (111). Nükleozid analog inhibitörleri ve nükleotid ters transkriptaz inhibitörleri, viral ters transkriptaz'ı inhibe ederek aktivite gösterirler. HIV-1 tedavisi için onaylanan ilk antiviral ilaçlar bu grupta yer almaktadır. 3'-azido-2',3'-dideoksitimidin(zidovudin; AZT), 2,3'-dideoksinosin(didanosine;ddI),2,3'-dideoksisitidin(zalcitabine; ddC),2'3'-didehydro-2',3'-dideoksitimidin(stavudine;d4T),(-)2'-deoxy-3'-thiacytidine (lamivudin; 3TC), abacavir(ABC), emtricitabine (FTC) ve tenofovir disoproxil (TVD)'inde bulunduğu sekiz ilaç bu grupta yer almaktadır (98).

Nükleozid ve nükleotid ters transkriptaz inhibitörleri hücre içinde fosforile olan doğal deoksinükleozidlere yapısal olarak benzerdirler fakat bunlar DNA'nın uzaması için gerekli olan 3'-hidroksil grubundan yoksundurlar. NRTI'lar, endojen deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP) ile DNA zincirinde bulunan dNTP bağlanma bölgesine bağlanmak için yarışarak, yeni oluşmakta olan DNA zincirini sonlandırırlar Tüm NRTI ve NtRTI'lar (Nükleotid ters transkriptaz inhibitörü) aynı mekanizmayı kullandıkları için NRTI kısaltması her iki sınıf için kullanılmaktadır. NRTI'lar ilaç öncülleridir ve mutlaka konak hücresel enzimleri tarafından üç fosfatlı formlarına dönüştürülmeleri gerekir (112).

2.7.2. NRTI Direnç Mekanizmaları

İlaç baskısı altında, RT enzimin hata yapmaya yatkın bir enzim olması ve HIV'in yüksek viral replikasyon oranı nedeniyle NRTI direnç mutasyonları ortaya çıkar. İki biyokimyasal NRTI ilaç direnci mutasyonu mekanizması bulunmaktadır. Birinci mekanizma RT enzimindeki baz değişiklikleri sonucunda, enzimin sentez süresince NRTI'ları ayırt etmesi ve NRTI'ların DNA zincirine eklenmelerini engellemesidir (113). Diğer mekanizma ise oluşmakta olan viral DNA'nın 3' ucundan mutasyonlara bağlı olarak fosfopirolitik yolla, eklenmiş NRTI'ların zincirden uzaklaştırılmasıdır (114). Sıklıkla zidovudin ya da stavudin tedavilerinin seçtirici baskısı altında geliştiklerinden timidin analog mutasyonlar (TAM) olarak adlandırılan 41, 67, 70, 210, 215 ve 219. pozisyonadaki bu mutasyonlar, stavudin ve zidovudin haricindeki NRTI'lara karşı da fenotipik ve genotipik direnç kazandırmaktadır. AZT'ye karşı oluşmuş fenotipik dirence RT'de görülen M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F ve K219E gibi mutasyonlarında dahil olduğu bir sıra mutasyonun neden olabileceği gösterilmiştir (115). Timidin analog mutasyonları, zidovudin ve stavudin'e duyarlılığı azaltmasının yanı sıra ABC, ddI ve TDF'ye de, ZDV ve d4T'ye oranla daha az duyarlılık azalımı gelişmesini sağlamaktadır (116). Timidin analog mutasyonları iki farklı yolak altında incelenir. Tip I yolağı M41L, L210W ve T215Y mutasyonlarını içerirken, tip II yolağı D67N, K70R, T215F ve K219Q/E mutasyonlarını içerir. Ayrıca D67N mutasyonu sıklıkla bir tip I TAM ile birlikte meydana gelir (117).

Tip I TAM, timidin analoglarına ve ABC, ddI, TDF'ye (çapraz direnç) karşı, tip II TAM yolağı ile kıyaslandığında daha fazla yüksek düzeyde fenotipik ve klinik dirence neden olur. Gerçekten de tip I patern olarak nitelendirilen bu üç mutasyonun varlığı ABC, ddI, ve TDF'ye karşı klinik yanıtın azalmasına neden olur (118,119). Tip II TAM'ın klinik önemi henüz çok iyi tanımlanamamıştır. TAM pozisyonlarında başka mutasyonlar görülmesi oldukça sık gözlemlenen bir durumdur. En önemli AZT direnç mutasyonu olan T215Y/F iki bazlık bir mutasyon sonucu meydana gelmektedir (ACC→TAC). Bu direnç mutasyonu AZT monoterapilerinde görüldüğü gibi ikili NRTI tedavilerinde de görülebilmektedir (115). HIV+ bireylerde karşılaşılan T215 kısmi ters mutantlar T215C/D/E/I/S/V'dir (40). Bu mutasyonlar seçici ilaç baskısı yokluğunda HIV-1 fitnessını artıran T215Y/F ilaç direnç mutasyonlarından kaynaklanmaktadır.

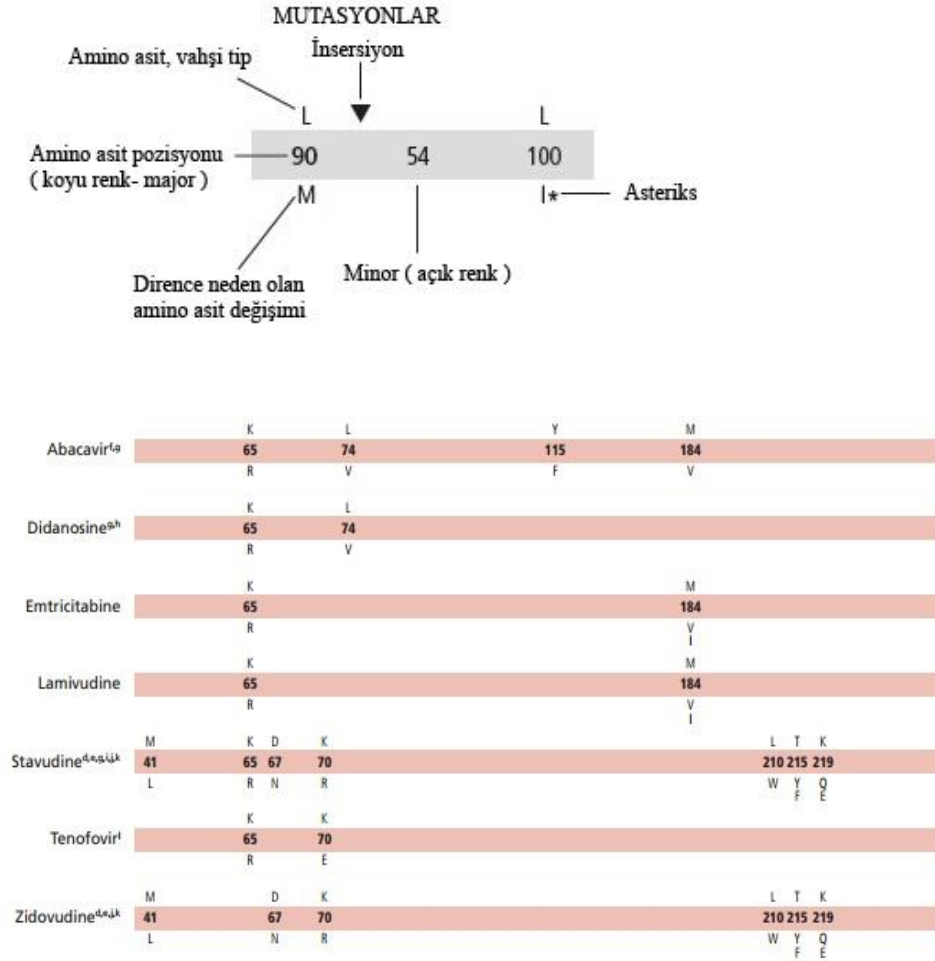
Bunlar sıklıkla yabani tip T'ye dönüşüme neden olurlar çünkü çoğu kısmi T215 ters mutantları sadece bir nükleotid mutasyonu gerektirirken Y veya F'nin T haline dönebilmesi için ikili nükleotid mutasyonuna ihtiyacı bulunmaktadır. Kısmi T215 ters mutantları, kendi başlarına herhangi bir ilaca duyarlılığı azaltmazlar ancak daha önce tedavi edilmemiş hastalardaki varlıkları, bu hastaların başlangıçta T215Y veya F içeren bir virüsle enfekte olmuş olabileceklerini düşündürmektedir (120). K219N/R varyantları K219Q/E varyantlarının aksine genellikle tip II TAM'dan ziyade tip I TAM ile birlikte meydana gelir (117).

70. pozisyonundaki iki varyant olan K70E/G ise timidin analogları tarafından seçilmez bununla birlikte ABC, ddl, TDF, 3TC ve FTC'ye duyarlılık azalması ve ZDV'ye duyarlılık artımı oluşturarak K70R varyantlarına göre tamamen zıt fenotipik etkileri bulunur (121). Bu mutasyonlar dNTP bağlanma bölgesine çok yakın bir bölgede gerçekleşebildiği gibi (Örn; D67N ve K70R gibi) RT'nin p66 alt ünitesinin primer bağlanma bölgesine çok yakın bir bölgede de gerçekleşebilir (Örn; T215Y/F ve K219R) (122).

M184V en sık görülen NRTI direnç mutasyonudur. In vitro olarak, lamivudin (3TC) ve emtrisitabin (FTC) yüksek düzey direnç, didanozin (ddl) ve abakavir'e (ABC) düşük düzeyde direnç neden olurken, zidovudin (ZDV), stavudin (d4T) ve tenofovir (TDF) için duyarlılık artımına neden olur (116).

K65R en önemli ikinci ayırt edici mutasyondur. Primer olarak tenofovir tarafından seçilen K65R, daha az bir ölçüde stavudin, abakavir ve didanozinin tarafından seçilir. K65R, tenofovir, abakavir, didanozin, lamivudin ve emtrisitabin'e orta düzeyde direnç, stavudin'e düşük seviyeli direnç oluşturur ve zidovudin duyarlılık artımı oluşturur. 69. Kodonda aminoasit insersiyonu genel olarak çoklu TAM varlığında meydana gelir ve bu ortam 3TC ve FTC'ye orta düzeyde direnç ve bu ikisi haricindeki tüm NRTI'lara yüksek düzeyde direnç ile ilişkilidir (123).

Q151M 2 bp'lik bir mutasyondur (CAG→ATG) ve genellikle beraberinde iki veya daha fazla sayıda mutasyon oluşur (A62V, V75I, F77L ve F116Y). Q151M kompleksi, ZDV, d4T, ddl, ve ABC'e yüksek düzey direnç ve TDF, 3TC ve FTC için orta düzeyde direnç neden olur. Bu kompleks, ZDV veya d4T ile kombine ddl alan hastaların % 5'inde gelişmektedir ancak nadiren de olsa 3TC veya FTC içeren rejimler tarafından seçilir (124).



Şekil 14: Nükleozid Ters Transkriptaz İnhibitörleri (NNRTI)'ne karşı direnç pozisyonları (156).

2.7.3. NNRTI Direnç Mekanizmaları

Klinik olarak kullanımı onaylanmış üç tane NNRTI bulunmaktadır. Bunlar nevirapin, delavirdin ve efavirenz'dir. NNRTI'lar, HIV-1 RT'sindeki hidrofobik bir cebe tutunarak işlev gösteren yarışmalı olmayan inhibitörlerdir. Bu cep RT'nin p66 alt ünitesinin avuç olarak isimlendirilen bölgesinde, polimeraz aktif bölgenin çok yakınında bulunmaktadır. Hemen hemen tüm NNRTI direnç mutasyonları ya NNRTI bağlayıcı cebin içerisinde ya da çok yakınındadır. NNRTI'ların dirence karşı düşük bir genetik bariyeri bulunur. Nevirapin'e karşı yüksek düzey direnç için bir mutasyon, efavirenz'e yüksek düzeyde direnç için genellikle bir ya da iki mutasyon ve etravirin'e karşı yüksek düzey direnç için iki mutasyon gereklidir. Bir NNRTI, RT'ye

bağlandığında, p66 alt ünitesi içerisindeki dNTP bağlayıcı cepte konformasyonel değişikliklere neden olur. NNRTI'ların HIV-1 RT'sine bağlanması p66 başparmak ilmeğini aşırı uzatır ki bunun nedeni Tyr-181 ve Tyr-188 aminoasitlerinin yerlerinin değiştirilmesinin konformasyonel bir sonucudur. Bu durum enzimin katalitik aktivitesini değiştirir ve p66 alt ilmeğinin polimeraz aktif bölgesinin inhibisyonu sonucunda HIV-1 replikasyonunun blokasyonuna neden olur. Nükleosid ve nükleotid analoglarının aksine NNRTI'lar hücre içi fosforilasyon ile aktivasyona gereksinim duymazlar (125,126,127,128).

NNRTI'larla tedavide yaşanan en büyük kısıtlama, ilaç dirençli mutantların çok hızlı bir şekilde oluşmasıdır. Bir tek mutasyon dahi NNRTI'lara karşı yüksek derece ilaç direncine sebep olabilmektedir. Özellikle 98, 103, 106, 108, 181, 188, 190 ve 236.pozisyonlarda oluşan mutasyonlar NNRTI'lara karşı direnç oluşturmaktadır (46). NNRTI direncinden sorumlu mutasyonlar, hidrofobik cebe çok yakın bir bölgede gerçekleşmektedir.

K103N, NNRTI içeren ilaç rejimlerinin başarısızlığında en sık görülen direnç mutasyonudur. Bu mutasyon kullanılan tüm NNRTI'lara karşı yüksek dereceli çapraz ilaç direncine yol açmaktadır. V106A, Y181C ve G190A mutasyonları da erken virolojik başarısızlıktan sorumlu diğer mutasyonlar olarak gözlemlenmiştir. Enfeksiyonun tedavisinin geç aşamasında, kombine çoklu mutasyonlarda artış görülmüştür (özellikle Y181C ve G190A kombinasyonu gözlemlenen hastalarda). Y181C mutasyonu nevirapin ve delavirdin'e karşı yüksek düzey direnç oluştururken, efavirenze karşı oluşturmaz ayrıca V179D mutasyonu her bir NNRTI için düşük düzey direnç oluşturur (129). L100I, K101P, P225H, F227L, M230L ve K238T genellikle primer NNRTI direnç mutasyonlarından biri ile birlikte meydana gelen ikincil mutasyonlardır. L100I ve K101P genellikle K103N ile kombine olarak meydana gelirler. Nevirapin ve efavirenz'e duyarlılığı tek başına 20 kat azaltan K103N mutasyonu ile birlikte oluştuklarında bu duyarlılık azalımı 100 kata çıkar (130). K103N bulunan virüsler etravirin'e tamamen duyarlı olmasına rağmen L100I+K103N mutasyon kombinasyonu sergilendiğinde duyarlılık 10 kat azalır (131). P225H ve K238T / N genellikle K103N ile kombinasyon halindedir ve nevirapin ve efavirenz'e karşı sinerjistik etki göstererek duyarlılığı azaltırlar (132,134).

F227L hemen hemen her zaman V106A ile kombinasyon halinde ortaya çıkar ve sinerjistik etki ile nevirapin'e duyarlılıkta azalmaya yol çıkar (135). M230L, tek başına ortaya çıkabilir ve etravirin de dahil olmak üzere tüm bir NNRTI'lara duyarlılığı 20 kat ya da daha fazla azaltır (131,136). V179F, F227C, L234I ve L318F nadir oluşan mutasyonlardır ancak etravirin'in 2008'de lisans almasından sonra önemleri artmıştır. V179F sadece Y181C/I/V mutasyonu ile kombinasyon halinde meydana gelir ve etravirine'ye tek başına 5-10 kat duyarlılık azalmasına yol açan Y181C/I/V mutasyonu ile birlikte bulunduklarında bu duyarlılık azalması 100 kat'dan fazlaya yükselir (131).

		L	K	K	V	V		Y	Y	G		P
Efavirenz		100	101	103	106	108		181	188	190		225
		I	P	N	M	I		C	L	S		H
		V	A	L	K	V		E	V	Y		G
Etravirine ^a		90	98	100	101	106		138	179	181		190
		I	G	I*	E	I		A	D	C*		S
					H			G	F	I*		A
					P*			K	T	V*		L
		L	K	K	V	V		Y	Y	G		
Nevirapine		100	101	103	106	108		181	188	190		
		I	P	N	A	I		C	C	A		
								I	L	H		

Şekil 15: Non-nükleozid Ters Transkriptaz Inhibitorleri (NNRTI)'ne karşı direnç pozisyonları (156).

2.7.4. Proteaz enzimi

HIV-1 proteazı dimerik bir aspartaz enzimidir ve birbirine identik iki formu vardır. Kovalent olmayan bağlarla polipeptitlerle ilişkilidirler. Her monomer 99 amino asitten meydana gelmekte ve 25-29 pozisyonlarında korunmuş Asp-Thr-Gly dizileri içermektedir. Aspartil grubu katalitik aktivitenin sağlanması için gerekmektedir. Enzimin merkezinde yer alan substrat bağlayıcı yarı, Gag ve GagPol proteinlerindeki farklı substrat kesim bölge dizileri ile etkileşime girer. Viral proteaz'ın nasıl aktive olduğuna dair kesin mekanizma, GagPol proteini içine gömülü olması nedeniyle anlaşılmış değildir. Bununla birlikte GagPol öncü proteinlerinin dimerizasyonu için gerekli olduğu kabul edilmektedir. Viral olgunlaşma ve enfektivitedeki kritik fonksiyonuna rağmen HIV proteazının yüksek derecede esneklik ve polimorfizm göstermesi gözlemlenmiştir (99 amino asidinin 1/3'ünde görülmüştür). Proteaz bir hidrofobik substrat bağlayıcı cebe sahiptir. Bu bölge viral prokürsör (öncül) poliproteinlerin dokuz farklı sekansını tanıyabilir ve bunları kesimleyerek olgun yapıları ve

enzimatik proteinleri oluşturur. Çalışmalar aktif bölgede ki aminoasit değişikliği sonucunda olgunlaşmamış enfeksiyöz virüs oluştuğunu ortaya çıkarmıştır. HIV-1 Proteaz Inhibitörleri, viral proteaz enzimine olan çok güçlü afinitesi ile enzimin aktif bölgesine bağlanır. Bu bileşikler son derece seçici bir şekilde enzimin katalitik aktivitesini inhibe ederler ve öncül poliproteinlerin kesimlenmesinin inhibisyonu sonucunda, enfeksiyöz olmayan viral partiküllerin oluşumunu sağlayarak, enfeksiyöz virüs oluşumunu durdururlar. Yedi FDA onaylı Proteaz Inhibitörü bulunmaktadır. Bunlar amprenavir, indinavir lopinavir, nelfinavir, ritonavir, sakinavir ve atazanavir'dir (98).

2.7.5. PI Direnç Mekanizmaları

Proteaz genindeki mutasyonlarla ilişkili ilaç direnci, aminoasit değişikliklerine bağlıdır ki bu da inhibitörün proteaza bağlanma eğiliminin azalması sonucunda gerçekleşir. Başlıca direnç mutasyonları substrat bağlayıcı ceplerdeki rezidülerde bulunmuştur. Yüksek düzey direnç genellikle çoklu birincil ve ikincil mutasyonların birikimini gerektirir ve kademe kademe gelişir. D30N, V82A ve L90M gibi ana mutasyonlar ya aktif bölgede ya da aktif bölgeye çok yakın bir bölgede meydana gelir (64).

Proteaz geninde en sık görülen mutasyonlar bir veya iki PI'ya karşı duyarlılığın 2 ila 5 kat arasında azalmasına yol açar. Genellikle 82. kodonda görülen V82A/T/F/S mutasyonları indinavir ve ritonavir ile tedavi gören hastalarda meydana gelmektedir. Bu mutasyon, alt tip B virüsü ile enfekte ve tedavi görmeyen hastalarda %1, B alt tipi olmayan virüsler ile enfekte ve tedavi görmeyen hastalarda yaklaşık olarak %5-10 arasında bulunmuştur. İndinavir, ritonavir ve sakinavir'e çapraz direnç gösteren, N88D ve L90M kombine mutasyonlarına sahip izolatlar gözlenmiştir.

İn vitro olarak yapılan çalışmalarda L90M mutasyonunun 7 Proteaz inhibitörüne karşı geniş spekturumlu çapraz ilaç direnci ile ilişkili olduğu bulunmuştur. İkincil mutasyonlar genellikle aktif bölgeden bazı bölümlerin çıkması ile gerçekleşir. Bunlar telafi edici mutasyonlar gibi görünmektedir. Tek başlarına, enzim fonksiyonunun kaybını telafi eder ve birincil direnç mutasyonu ile virüs canlılığını indüklerler. Ayrıca

katalitik etkinliğin azalmasını ve birincil mutasyonların zararlı etkilerini kompanse ederler. 10, 20, 36, 63, 71, 77, 93.kodonlardaki polimorfizmler ikincil mutasyonlar olarak tanımlanmıştır. Her biri spesifik primer mutasyonlar ile bağlantılıdır. Bununla birlikte bu mutasyonlar izolatlarda ilaç direncine neden olmaz ancak diğer birincil PI mutasyonlar ile varlığında viral fitness'ı artırarak ilaç direncine katkıda bulunur. Birincil ve ikincil mutasyonların birikmesi sonucu oluşan yüksek dereceli direnç, ilaç duyarlılıklarında, klinik olarak anlamlı azalmalara yol açabilir. Kodon 63'deki bir mutasyonun proteaz genindeki en polimorfik mutasyonu olduğu gözlemlenmiştir. L63P tedavi edilmeyen bireylerin % 45'inde bulunmuştur ve taşıyıcıların yaklaşık olarak %10'unda yine bu kodonda L63S/T/S/Q/N gibi farklı polimorfizmler gözlemlenmiştir (133,138,139,140,141).

Atazanavir +/- ritonavir	L 10 I F V C	G 16 E R M I T V	K 20 R M I T V	L 24 I	V 32 I I F V	L 33 Q I F V	E 34 I L V	M 36 I L V	M 46 I L	G 48 V	I 50 L	F 53 L Y	I 54 L V M T A	D 60 E	I 62 V	I 64 L M V	A 71 V I T L	G 73 C S T A	V 82 A T F I	I 84 V V	I 85 V S	N 88 S	L 90 M	I 93 L M
Darunavir/ ritonavir ^a	V 11 I				V 32 I	L 33 F			I 47 V		I 50 V	I 54 M L					T 74 P	L 76 V		I 84 V			L 89 V	
Fosamprenavir/ ritonavir	L 10 F I R V				V 32 I				M 46 I L	I 47 V		I 50 V	I 54 L V M				G 73 S	L 76 V	V 82 A F S T	I 84 V			L 90 M	
Indinavir/ ritonavir ^a	L 10 I R V	K 20 M R	L 24 I		V 32 I		M 36 I		M 46 I L			I 54 V					A 71 V T	G 73 S A	L 76 V I	V 77 A F T	I 82 V		L 90 M	
Lopinavir/ ritonavir ^a	L 10 F I R V	K 20 M R	L 24 I		V 32 I	L 33 F			M 46 I L	I 47 V A		I 50 V	F 53 L V L A M T S			L 63 P	A 71 V T	G 73 S V	L 76 V	V 82 A F T S	I 84 V		L 90 M	
Nelfinavir ^a	L 10 F I				D 30 N		M 36 I		M 46 I L								A 71 V T		V 77 I A F T S	V 82 V	I 84 V	N 88 D S	L 90 M	
Saquinavir/ ritonavir ^a	L 10 I R V		L 24 I						G 48 V		I 54 V L		I 62 V				A 71 V T	G 73 S	V 77 I A F T S	V 82 V	I 84 V		L 90 M	

Şekil 16: Proteaz İnhibitorleri (PI)'ne karşı direnç pozisyonları (156).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

Çalışmamızda, İstanbul Tıp Fakültesi Enfeksiyon hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D tarafından takip edilen, HIV(+) oldukları Western blot testi ile daha önce doğrulanmış, tedavi başlangıç zamanının belirlenmesi ve tedavi takipleri için HIV-1 RNA viral yük testi yaptırma talebinde bulunan ve HIV-1 RNA düzeyleri 1250 HIV-1 RNA kopya/ml ile 2.295.000 HIV-1 RNA kopya/ml arasında saptanmış olan 50 erişkin hastanın plazma örnekleri kullanılmıştır.

Hasta plazmalarından viral RNA'nın izolasyonu için, Qiagen Viral RNA mini kit (Qiagen, Hilden, Germany) kullanılmış olup, uygulama kit içinde yer alan protokol göz önünde bulundurularak gerçekleştirilmiştir. Ters transkripsiyon ve Polimeraz zincir reaksiyonları (PCR) ise OneStep RT-PCR kiti (Qiagen, Hilden, Germany) ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz primerler tez ortağımız Köln Viroloji enstitüsü tarafından temin edilmiş olup, 1RES, 5'- GAAGAAATGATGACAGCATGTCAGGG-3 ve 2RES, 5'-TAATTTATCTACTTGTTCATTTCTCAAT-3' primerleridir. Nested PCR, HotStar Tag (Qiagen, Hilden, Germany) ile gerçekleştirildi. Yine destekçimiz Köln Viroloji Enstitüsü tarafından temin edilen fw (100µM) (3RES: 5'-TCTTGATAAATTTGATATGTCC-3') ve bw (100µM) (2RES: 5'-TAATTTATCTACTTGTTCAT TTCCTCCAAT-3') ileri ve geri çoğaltıcı primerler kullanıldı (9). 1.5 kbp uzunluğundaki PCR ürünü QIAquick spin PCR pürifikasyon kiti (Qiagen, Hilden, Germany) ile saflaştırıldı (159). HIV-1 pol bölgesinin populasyon temelli sekansı, ViroSeq HIV-1 genotiplleme sistemi sekans modülü (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) ile gerçekleştirildi. Ürünler MultiScreen pürifikasyon plakaları (Millipore, Bedford, MA, USA) ve Sephadex G-50 superfine (Amersham Bioscience, Upsala, Sweden) kullanılarak ABI Prism 3100 kapiller sekans cihazında yürütüldü. Sekans verileri, ham veri dosyalarından Sequencing Analysis v3.4 (Biosystems, Foster City, CA, USA) kullanılarak oluşturuldu. Elde edilen sekanslar ViroSeq HIV-1 genotype software 2.6 (Biosystems, Foster City, CA, USA) kullanılarak bir araya getirildi ve yeniden düzenlendi. Mutasyon belirlenmesi ve subtiplendirme için, Fasta verileri (baz dizileri) HIV-GRADE ve (<http://www.hiv-grade.de/cms/grade/>),

Stanford Üniversitesi HIV-1 ilaç Direnci Veri Bankası'na (<http://hivdb.stanford.edu/>) girilerek değerlendirilmesi yapıldı.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Kan Hazırlanması; Hastalardan EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi ve plazma ayrılarak -80°C'de saklandı.

3.2.2. RNA İzolasyonu, Viral RNA izolasyon kiti, kit içinde yer alan protolole göre çalışıldı. Qiagen Qiamp Viral RNA kiti içinde yer alan “carrier-RNA” 310 µl AVL içerisinde çözülerek -20°C'de saklandı. Her bir hasta için, 1120 µl AVL içerisinde 10 µl carrier RNA çözülerek üzerine 280 µl plazma örneği eklendi ve 15 saniye vortekslendi. Vorteksten sonra 1120 µl %100 etanol eklendi ve bir 15 saniye daha vortekslendi. Hazırlanan solusyondan 630 µl dikkatli bir şekilde 2 ml'lik ependorf içine yerleştirilmiş “Qiamp spin column”a aktarıldı. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Yeni bir koleksiyon tüpüne alınan spin column üzerine 500 µl AW1 solusyonu eklenerek 8000 rpm'de 1 dk çevirildi. Aynı işlem 500 µl AW2 solusyonu ile tekrarlandı. Spin column yeni bir 2ml'lik koleksiyon tüpüne aktarıldı ve 14.000 rpm'de 3 dakika çevirildi. Column, 1.5 ml'lik ependorf tüpüne alınarak 40 µl AVE eklendi. 1 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 8000 rpm'de 1 dakika çevirildi. Elde edilen viral RNA -80°C'de saklandı.

3.2.3. RT-PCR, PCR döngüsünden önce her bir hasta için; 15.4 µl su (kit içinde yer alan RNase free water) 10 µl Q solusyonu, 10 µl 5X buffer, 2 µl dNTP, 0.3 µl primer 1, 0.3 µl primer 2, 2 µl enzim'den 40 µl mastermix hazırlandı.

Her hasta için hazırlanan 0.2 ml'lik PCR tüpleri içerisine 10 µl RNA eklendi. 10 dakika 65°C'de inkübe edildi. Her PCR tüpü buz üzerine koyularak 40 µl mastermix eklendi.

Uygulanan PCR döngüsü aşağıdaki şekildedir.

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

Kullanılan primer dizileri ileri ve geri çoğaltıcı;

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

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

3.2.4. Nested PCR; Nested-PCR döngüsünden önce her bir hasta için, 71.9 µl su (AMPUWA steril su) 10 µl Q solusyonu, 10 µl 10X buffer, 2 µl dNTP, 0.3 µl primer 3, 0.3 µl primer 4, 0.5 µl Hotstart Tag'den 95 µl mastermix hazırlandı. Her hasta için hazırlanan 0.2 ml'lik PCR tüpleri içerisine 5 µl RT-PCR reaksiyonundan eklenerek 95 µl mastermix ilave edildi. Uygulanan Nested-PCR döngüsü aşağıdaki şekildedir.

1. 95°C	15min	
2. 95°C	30sec	
3. 65°C	45sec	
4. 72°C	3min	-5°C de pozisyon 2'den 4'e iki tekrar
5. 95°C	30sec	
6. 55°C	45sec	
7. 72°C	3min	pozisyon 5-7 42 döngü
8. 72°C	10min	
9. 4°C	sabitleme	

Kullanılan primer dizileri ileri ve geri çoğaltıcı;

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

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

3.2.5. Jelde Yürütme; Ürünlerin az bir miktarı %1'lik agaroz jele yüklendi. Oluşan bantlar kalınlıklarına göre ladder baz alınarak değerlendirildi. Bütün PCR reaksiyonları başarıyla gerçekleştirildi.

Jelde yürütmeden sonraki tüm aşamalar Almanya Köln Viroloji Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. Pürifikasyon / Saflaştırma;

Saflaştırma işlemi, QIAquick PCR pürifikasyon kiti içerisinde yer alan prosedüre uygun olarak gerçekleştirildi. 5 volum buffer PB, 1 volum PCR ürünü ile karıştırıldı.(100 µl PCR örneği için, 500 µl buffer PB) Kit içinde yer alan spin column 2 ml'lik koleksiyon tüpüne yerleştirildikten sonra, DNA'yı bağlamak için örnek spin column'a aktarıldı ve 30-60 saniye santrifuj edildi. Koleksiyon tüpü atılarak spin column yeni bir koleksiyon tüpüne aktarıldı. Yıkama işlemi için, 750 µl buffer PE eklendi ve 30-60 saniye santrifuj edildi. Buffer PE'nin içine etiketi üzerinde yer alan volume göre kullanımdan önce % 96-100 etanol eklendi. Tüp içerisindeki sıvı atılarak spin column tekrar koleksiyon tüpüne yerleştirildi ve ek olarak 1 dakika daha maksimum hızda santrifuj edildi. Spin column, 1.5 ml'lik temiz bir mikrosantrifuj tüpüne aktarıldı. DNA'yı ayırtırmak için QIAquick membranın tam ortasına 50 µl buffer EB (veya su) eklendi.Spin column 1 dakika santrifuj edildi. Saflaştırma aşamasında tüm santrifuj işlemleri ~ 13.000 rpm'de masaüstü mikrosantrifuj cihazında gerçekleştirildi.

3.2.7. Sekans ve Analiz;

Saflaştırma sonucu elde edilen cDNA, ViroSeq HIV-1 sekans kiti ile her bir hasta için Reverz transkriptaz ve Proteaz inhibitör direncini belirlemek amacı ile sekans reaksiyonları gerçekleştirildi ve bilgisayar ortamında analizi yapıldı. Kit içinde yer alan primerler kullanıldı. Her primer için 3 µl sekans karışımı ve 1-2 µl saflaştırılmış DNA kullanıldı.

Gerçekleştirilen sekans reaksiyonu aşağıdaki gibidir.

96°C 10 sn

50°C 10 sn

60°C 4 dk

Toplamda 36 döngü.

Sekans analizi, “ViroSeq HIV-1 genotype software 2.6” ile yapıldı.

Her hasta için elde edilen fasta verileri (baz dizileri); HIV-GRADE, Stanford Üniversitesi HIV-1 İlaç Direnci Veribankası’na girilerek major ve minor NRTI, NNRTI ve PI mutasyonları saptandı.

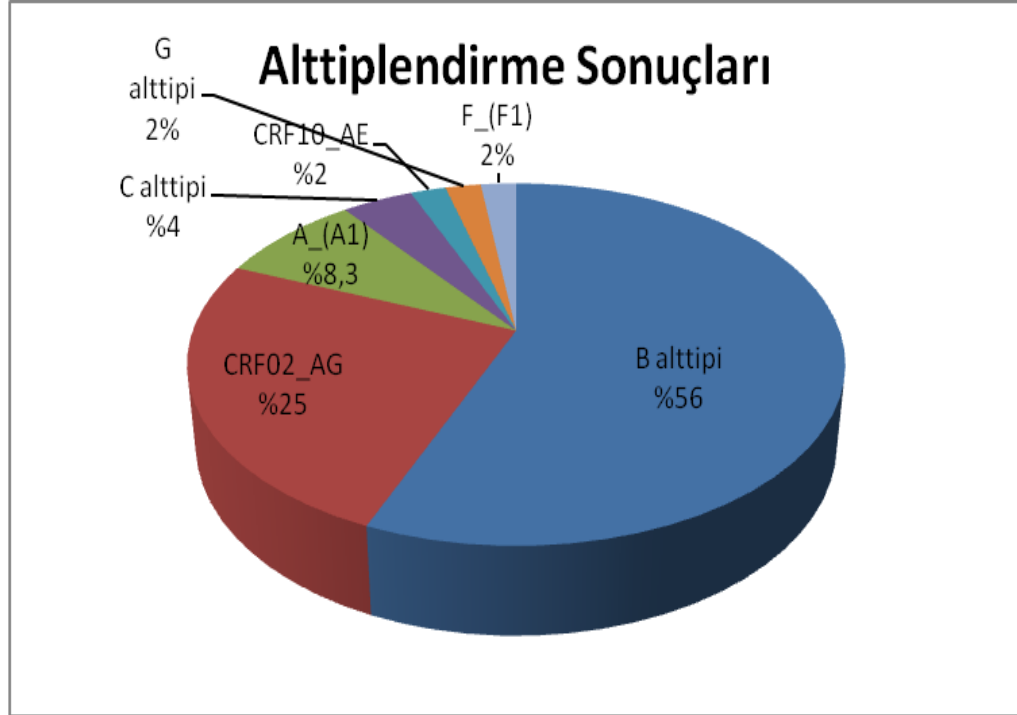
4.BULGULAR

Çalışmamızda Eylül 2010 – Mayıs 2011 tarihleri arasında hastanemize gelen yaşları 23-73 arasında viral yükleri 1250 ile 2295000 arasında değişen, tedavi görmemiş 50 HIV-1 pozitif heteroseksüel hasta dahil edilmiştir. Hastalarımızın yaş ortalaması 43, 2, ortalama viral yük $2,16.10^5$ HIV-1 RNA kopya/ml, ortalama CD4 yüzdesi ise % 20,81'dir. Bu hastalardan alınan plazma örneklerinden izole edilmiş olan viral genetik materyalin *pol* gen segmenti içerisinde yer alan ters transkriptaz (1-315 bp) ve proteaz (1-99 bp) gen bölgelerinin dizi analiz sonuçları üç değişik algoritmaya göre değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda yer alan 2 hastamızın plazma örneklerinden, genetik materyal izolasyonu yapılamadığından polimeraz zincir reaksiyonları gerçekleştirilememiştir. Değerlendirilen 48 hastanın 11'i (%22,9) tedavi görmekte olan hastalarımızdan oluşurken, 37'si (%67,1) daha önce tedavi görmemiş hastalardan oluşmaktadır.

48 hastanın 9'unda (%18,7) antiretroviral ilaç grubundan birine ya da her ikisine birden gelişmiş orta seviyeden yüksek seviyeye kadar değişen şiddette direnç saptanmıştır. Bu sonuçlar Tablo 11-20'de gösterilmiştir. İlaç direnci gösteren hastalarımızdan 6'sı tedavi deneyimi olan hastalarken, 3'ü daha önce tedavi almamış hastalardır. Direnç gelişimi saptanan 9 hastanın 3'ünde yalnızca bir ilaç sınıfına karşı direnç gelişimi, 6'sında ise iki ilaç sınıfına birden direnç gelişimi gözlenmiştir. 9 hastanın 8'inde (%16,6) NRTI, 7'sinde (%14,6) NNRTI'a karşı orta seviyeden yüksek seviyeye kadar değişen şiddette direnç gözlemlenmiştir. Ayrıca 2 hasta da düşük düzeyde NNRTI direnç mutasyonu (%4,1) ve 3 hasta da (%6,2) düşük düzeyde PI direnç mutasyonu saptanmıştır. Daha önce tedavi görmemiş 37 hastadan 3'ünde (%6,2) düşük seviyeden orta seviyeye NRTI direnci belirlenmiştir. 4 hasta da Lamivudin ve Emtricitabin'e karşı yüksek düzey ve abakavir'e karşı düşük düzeyde direnç oluşumuna neden olan M184V direnci, 4 hastamızda, efavirenz ve nevirapin yüksek düzey ilaç direnci oluşumuna neden olan K103N direnci hastalarımızda rastladığımız majör direnç mutasyonları olarak dikkat çekmektedir.

Çalışmamızda yapılan virüs alt tiplendirilmesi sonucunda 48 hastanın 27'si alt tip B (%56,2), 12'i CRF 02_AG (%25), 4'ü A_(A₁) (%8,3), 2'si C alt tipi (%4,1), 1'i F_(F₁) (%2), 1'i CRF10_AE (%2) ve 1 G alt tipi (%2) şeklinde gözlemlenmiştir. CRF rekombinant formlar HIV-1 M grubundan farklı iki alt tipin birleşmesi ile oluşurlar, alt tiplerin dağılımı Tablo 4-3'te gösterilmiştir.



Tablo 10: Çalışmamıza katılan hastaların alt tiplendirilme sonuçları.

1 ve 2 numara ile isimlendirilmiş ve daha önce tedavi geçmişleri bulunan hastalarımızın her ikisinde de NRTI'lerden lamivudin (3TC) ve emtrisitabin'e (FTC) yüksek düzeyde direnç profili sergilenmesine neden olan M184V mutasyonu saptanmıştır. M184V mutasyonunun ayrıca abakavir'e (ABC) karşı düşük düzeyde direnç oluşturduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte M184IV mutasyonu nedeniyle zidovudin (AZT), tenofovir (TDF) ve stavudin'e (d4T) duyarlılık artışı oluşturmaktadır. Ayrıca bu hastalarımızda NNRTI'lerden, efavirenz (EFV) ve nevirapin'e (NVP) karşı yüksek düzeyde direnç profili sergilenmesine neden olan K103N mutasyonu saptanmıştır. K103N mutasyonunun tek başına etravirin (ETR) duyarlılığına herhangi bir etkisi bulunmamaktadır ancak olası L100I ve K101P mutasyonları ile ETR

duyarlılığına karşı sinerjist etki gösterebilirler. 8 numara ile isimlendirilmiş tedavi geçmişini bulunmayan hastamızda FTC ve 3TC haricindeki NRTI'lerden AZT ve d4T'ye orta düzeyde direnç, ABC, ddI, TDF'ye düşük düzeyde direnç profili oluşmasını sağlayan M41L ve T215D, NNRTI'lerden rilpivirin'e (RPV) orta düzeyde direnç, diğerlerine potansiyel düşük düzey direnç profili sağlayan K101Q ve E138EK aminoasit değişiklikleri gözlemlenmiştir. Bu aminoasit değişimlerinden M41L, genellikle T215 ile birlikte meydana gelmektedir. T215S/C/D/E/I/V değişimleri ise vahşi tip ile Y ya da F dönüşümü arasındaki geçiş formlarıdır. K101Q, NNRTI tedavisi ile zayıf ilişkilidir ve NNRTI duyarlılığına minimal etkisi bulunmaktadır. E138K ise ETR tarafından seçilen bir mutasyondur ve ETR'ye duyarlılığı 5 kata kadar azaltmaktadır. 11 numara ile isimlendirilmiş hastamızda yine NRTI'lerden 3TC ve FTC'ye yüksek seviye direnç profili oluşumunu sağlayan M184V ve NNRTI'lerden EFV, NVP ve RPV'ye yüksek düzeyde direnç, DLV'ye orta düzeyde direnç oluşumunu sağlayan Y188L Aminoasit değişimi gözlemlenmiştir. Ayrıca Y188L ETR'ye karşı düşük düzeyde direnç oluşturmaktadır. 13 numaralı hastamızda ise NNRTI'lerden EFV ve NVP' ye yüksek düzeyde direnç, DLV ve RPV'ye orta düzeyde direnç oluşumunu sağlayan G190EG aminoasit değişimi gözlemlenmiştir. Bununla birlikte G190E + Y181C kombinasyonu, ETR'ye olan duyarlılığı 100 kattan daha fazla bir oranda azaltmaktadır. 27 numaralı hastamız NRTI'lerden 3TC ve FTC'ye direnç profili oluşturan M184V ve bunun yanında L74I varlığı nedeniyle bu antiretrovirallere ek olarak NRTI'lerden ddI ve ABC'ye karşı yüksek düzeyde direnç profili sergilemektedir. L74V yüksek düzeyde ddI ve ABC direncine neden olur. L74I onunla benzer ancak daha zayıf fenotipik karakterli bir aminoasit değişimidir. Ayrıca şu belirtilmelidir ki M184V/I 3TC ve FTC'ye yüksek düzeyde direnç profili ve ddI'ye olası düşük düzeyde, ABC'ye karşı düşük düzeyde direnç gelişimi sağlar. Bununla birlikte bu mutasyon AZT, TDF ve d4T'ye olan duyarlılığı artırır ve bu ilaçlara karşı olabilecek direnç olasılığını azaltır. Ayrıca klinik olarak anlamlı HIV-1 replikasyonunun azalması ile ilişkilidir (145,146,147). Ayrıca NNRTI'lerden EFV ve NVP'ye karşı yüksek düzeyde direnç profili sergilenmesine neden olan K103N, V108I, P225H mutasyonları saptanmıştır. Bu mutasyonlardan K103N, NVP ve EFV'ye karşı yüksek düzeyde direnç oluşumu sağlarken, ETR ve RVP duyarlılığına herhangi bir etkisi yoktur, V108I, NVP ve EFV'ye 2 kata kadar duyarlılık azalımı gerçekleştirmektedir. P225H ise K103N ile kombinasyon oluşturduğunda EFV'ye karşı oluşan direnci arttırmaktadır. 39 numaralı

hastamızda FTC ve 3TC haricindeki NRTI'lerden AZT ve d4T'ye orta düzeyde direnç, ABC, ddI, TDF'ye düşük düzeyde direnç profili oluşmasını sağlayan M41L ve T215D gözlemlenmiştir. 40 numaralı hastamızda ise NRTI'lerden ABC'ye orta düzeyde direnç profili oluşmasını sağlayan D67N, T215S, K219E aminoasit değişiklikleri yine TDF'ye orta düzeyde direnç profili oluşumunu sağlayan D67N, K70R, T215S, K219E, ddI'ya karşı orta düzeyde direnç oluşumu sağlayan D67N, T69NT, T215S, K219E, AZT ve d4T'ye yüksek düzeyde direnç profili oluşmasını sağlayan D67N, T69NT, K70R, T215S, K219E amino asit değişimleri gözlemlenmiş ayrıca NNRTI'lerden RPV ve ETR'ye karşı orta düzeyde direnç sağlayan Y181C ve EFV ve NVP'ye karşı yüksek düzeyde direnç oluşumunu sağlayan K103N, Y181C aminoasit değişimleri gözlemlenmiştir. D67N mutasyonu, AZT ve d4T'ye karşı direnç oluşumuna katkıda bulunmaktadır. T69D mutasyonu, ddI ve d4T'ye karşı azalmış duyarlılık ile ilişkilidir. T69N/S/A/I NRTI tarafından seçilen mutasyonlardır ancak NRTI duyarlılığına olan etkileri tam olarak belirlenememiştir. K70, AZT'ye orta düzeyde direnç meydana getirirken d4T'ye düşük düzeyde direnç oluşumuna neden olmaktadır. K219Q/E, K70R veya T215Y/F varlığında AZT'ye ve muhtemelen d4T'ye duyarlılığı azaltır ancak geri kalan NRTI'lara etkisi varsa da bu etki çok azdır. Y181C, NVP'ye karşı yüksek düzeyde direnç neden olur. EFV'ye duyarlılığı yaklaşık 2 kat azaltırken, ETR ve RPV'ye duyarlılığı yaklaşık 5 kat azaltır. 45 numaralı hastamızda NRTI'lerden d4T'ye düşük düzeyde, ddI'ya orta düzeyde direnç profili oluşmasını sağlayan T69ADNT, V118I aminoasit değişimleri gözlemlenmiştir. V118I tedavi edilmemiş bireylerin yaklaşık %2'sinde oluşur. Ancak çoklu NRTI alan kişilerde görülme sıklığı artmaktadır. Ayrıca 10, 30 ve 48 numaralı hastalarımızda NFV'ye karşı düşük düzeyde direnç profili oluşmasını sağlayan L10I/LV/IL ve K20I kombinasyon mutasyonları saptanmıştır. L10I/V/F/R/Y mutasyonları genellikle mevcut olan diğer mutasyonlar ile birlikte olduğunda, PI'ların çoğuna karşı dirençle ilişkilidir. L10I / V tedavi edilmemiş bireylerde % 5-10 oranında meydana gelmektedir. L10F ATV / r, SQV / r, ve TPV / r dışındaki tüm PI'lara duyarlılık azalımı ile ilişkili non-polimorfik bir mutasyondur. 6 ve 7 numaralı hastalarımızda düşük düzeyde Rilpivirin (RPV) direnç profili oluşumunu sağlayan E138A mutasyonu saptanmıştır(158).

Çalışmamızda yer alan hastalarımızdan 16'sında (%33) NFV'ye karşı olası düşük düzeyde mutasyon oluşumunu tetikleyen K20I, L10IV, A71AT, D30DG aminoasit değişimleri gözlemlenmiştir. K20R/M/I/T/V, PI seçici mutasyonlardır. K20I/M/T/V, birçok alt tipte gözlemlenebilen polimorfik olmayan değişimlerdir. Genellikle NFV tarafından seçimleri yapılıyor gibi gözükmemektedir ve NFV duyarlılığını azaltmaktadırlar. L10I/V/F/R/Y mutasyonları genellikle mevcut olan diğer mutasyonlar ile birlikte olduğunda, PI'ların çoğuna karşı dirençle ilişkilidir. L10I / V tedavi edilmemiş bireylerde % 5-10 oranında meydana gelmektedir. L10F ATV / r, SQV / r, ve TPV / r dışındaki tüm PI'lara duyarlılık azalımı ile ilişkili non-polimorfik bir mutasyondur. A71T/V tedavi edilmemiş hastaların %2-3'ünde gözlemlenebilen bir polimorfizmdir. Ancak PI kullanan kişilerde de görülme sıklığı her geçen gün artmaktadır. A71I/L çoklu PI direnç mutasyonu bulunan virüslerde meydana gelen non-polimorfik mutasyonlardır (158).

Ayrıca bazı hastalarımızda bazı NRTI'lar ve NNRTI'lara karşı olası düşük düzeyde direnç oluşumunu sağlayan çeşitli aminoasit değişimleri gözlemlenmiştir. Çalışmamızda dirençli bulunan 9 hastamızın alt tiplerine bakıldığında bu hastaların tamamının B alt tipinde (%100) bulundukları gözlemlenmiştir.

			HASTA NO				
			1	2	3	4	5
TERS TRANSKRİPTAZ İNİHİTÖRLERİ	NRTI	3TC	M184MV	M184V			
		ABC	M184MV	M184V			
		AZT					
		d4T					
		ddI	M184MV	M184V			
		FTC	M184MV	M184V			
		TDF					
	NNRTI	RPV					
		EFV	K103KN	K103N			
		ETR					
		NVP	K103KN	K103N			
PROTEAZ İNİHİTÖRLERİ	PI	ATV/r					
		RDV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV	L10IL, A71AT			K20I	
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 11: Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı

			HASTA NO				
			6	7	8	9	10
TERS TRANSKRİPTAZ İNİHİTÖRLERİ	NRTI	3TC					
		ABC			M41L,T215D		
		AZT			M41L,T215D		
		d4T			M41L,T215D		
		ddI			M41L,T215D		
		FTC					
		TDF			M41L,T215D		
	NNRTI	RPV	E138A	E138A	K101Q,E138EK		
		EFV			K101Q,E138EK		
		ETR			K101Q,E138EK		
		NVP			K101Q,E138EK		
PROTEAZ İNİHİTÖRLERİ	PI	ATV/r					
		RDV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV				L10I, A71T	L10I,K20I
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 12: Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.

Yüksek Direnç	Orta Direnç	Düşük Direnç	Potansiyel Direnç	Duyarlı	Başarısız PCR
---------------	-------------	--------------	-------------------	---------	---------------

			HASTA NO				
			11	12	13	14	15
TERS TRANSKRİPTAZ İNHİBİTÖRLERİ	NRTI	3TC	M184V				
		ABC	M184V				
		AZT					
		d4T					
		ddI	M184V				
		FTC	M184V				
		TDF					
	NNRTI	RPV	Y188L		G190EG		
		EFV	Y188L		G190EG		
		ETR	Y188L		G190EG		
		NVP	Y188L		G190EG		
PROTEAZ İNHİBİTÖRLERİ	PI	ATV/r					
		RDV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV					D30DG
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 13: Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.

			HASTA NO				
			16	17	18	19	20
TERS TRANSKRİPTAZ İNHİBİTÖRLERİ	NRTI	3TC					
		ABC					
		AZT					
		d4T					
		ddI					
		FTC					
		TDF					
	NNRTI	RPV					
		EFV					
		ETR					
PROTEAZ İNHİBİTÖRLERİ	PI	NVP					
		ATV/r					
		RDV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV					
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 14: Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı

Yüksek Direnç	Orta Direnç	Düşük Direnç	Potansiyel Direnç	Duyarlı	Başarısız PCR
---------------	-------------	--------------	-------------------	---------	---------------

			HASTA NO				
			21	22	23	24	25
TERS TRANSKRİPTAZ İNHİBİTÖRLERİ	NRTI	3TC					
		ABC					
		AZT					
		d4T					
		ddI					
		FTC					
		TDF					
	NNRTI	RPV					
		EFV					
		ETR					
		NVP					
PROTEAZ İNHİBİTÖRLERİ	PI	ATV/r					
		RDV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV	K20I			K20I	
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 15:Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.

			HASTA NO				
			26	27	28	29	30
TERS TRANSKRİPTAZ İNHİBİTÖRLERİ	NRTI	3TC		M184V			
		ABC		L74I,M184V			
		AZT					
		d4T					
		ddI		L74I,M184V			
		FTC		M184V			
		TDF					
	NNRTI	RPV					
		EFV		K103N,V108I,P225H			
		ETR					
		NVP		K103N,V108I,P225H			
PROTEAZ İNHİBİTÖRLERİ	PI	ATV/r					
		RDV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV			K20I		L10LV,K20I
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 16:Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.

Yüksek Direnç	Orta Direnç	Düşük Direnç	Potansiyel Direnç	Duyarlı	Başarısız PCR
---------------	-------------	--------------	-------------------	---------	---------------

			HASTA NO				
			31	32	33	34	35
TERS TRANSKRIPTAZ İNİHİTÖRLERİ	NRTI	3TC					
		ABC					
		AZT					
		d4T					
		ddI					
		FTC					
		TDF					
	NNRTI	RPV					
		EFV					
		ETR					
PROTEAZ İNİHİTÖRLERİ	PI	NVP					
		ATV/r					
		RDV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV	K20I		L10IV,A71AT	K20I	K20I
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 17: Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.

			HASTA NO				
			36	37	38	39	40
TERS TRANSKRIPTAZ İNİHİTÖRLERİ	NRTI	3TC					
		ABC				M41L,T215D	D67N,T215S,K219E
		AZT				M41L,T215D	D67N,T69NT,K70R,T215S,K219E
		d4T				M41L,T215D	D67N,T69NT,K70R,T215S,K219E
		ddI				M41L,T215D	D67N,T69NT,T215S,K219E
		FTC					
		TDF				M41L,T215D	D67N,T69NT,T215S,K219E
	NNRTI	RPV					Y181C
		EFV	V179D				K103N, Y181C
		ETR					Y181C
PROTEAZ İNİHİTÖRLERİ	PI	NVP	V179D				K103N, Y181C
		ATV/r					
		RDV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV	K20I		L10IV,A71AT		K20I
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 18: Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.

Yüksek Direnç	Orta Direnç	Düşük Direnç	Potansiyel Direnç	Duyarlı	Başarısız PCR
---------------	-------------	--------------	-------------------	---------	---------------

			HASTA NO				
			41	42	43	44	45
TERS TRANSKRIPTAZ İNİHİTÖRLERİ	NRTI	3TC					
		ABC					
		AZT					T69ADNT,V118I
		d4T					T69ADNT,V118I
		ddI					T69ADNT,V118I
		FTC					
		TDF					
	NNRTI	RPV					
		EFV					
		ETR					
		NVP					
PROTEAZ İNİHİTÖRLERİ	PI	ATV/r					
		RDV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV					
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 19: Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı.

			HASTA NO				
			46	47	48	49	50
TERS TRANSKRIPTAZ İNİHİTÖRLERİ	NRTI	3TC					
		ABC					
		AZT					
		d4T					
		ddI					
		FTC					
		TDF					
	NNRTI	DLV					
		EFV					
		ETR					
		NVP					
PROTEAZ İNİHİTÖRLERİ	PI	ATV/r					
		RDV/r					
		FPV/r					
		IDV/r					
		LPV/r					
		NFV	K20I	L10V	L10IL, K20I		
		SQV/r					
		TPV/r					

Tablo 20: Direnç gelişimine yol açan mutasyonların antiretroviral sınıflarına göre dağılımı

Yüksek Direnç	Orta Direnç	Düşük Direnç	Potansiyel Direnç	Duyarlı	Başarısız PCR
---------------	-------------	--------------	-------------------	---------	---------------

5.TARTIŞMA

HIV enfeksiyonunun kontrolünde son yıllarda önemli ilerlemeler gerçekleştirilmiştir. Bu gelişmelerin merkezinde HIV-1 tedavisi için kullanılabilen ilaçların geliştirilmesi ve klinik olarak kullanımı yer almaktadır. Son derece aktif antiretroviral tedavi (HAART), HIV replikasyonunu sürekli olarak baskılamış ve HIV enfeksiyonu gelişmiş bireylerde morbidite ve mortalite oranlarını azaltmıştır. Ancak tedavinin başarısı, tedavi edilen bireye aderansın düşük olması, düşük ilaç etkisi ve ilaç direnci oluşumu nedeniyle sınırlıdır. HIV ile enfekte bireylerde tedavi'nin etkin bir şekilde sürdürülebilmesi için bu bireylerde ilaca karşı direnç oluşumunun belirlenmesi hayati önem taşımaktadır. Bu özel hasta grubunda ilaca direncin belirlenmesinde, HIV-1 RNA viral yük tayini ve onun paralelinde yapılmakta olan CD4 hücre sayımı verileri ya da antiretroviral direnç testleri önem taşımaktadır. Bu testlerin doğru yorumlanması, enfekte bireyin yaşam standartının artırılmasında ve yaşam süresinin uzatılmasına direkt etki göstermektedir. Tedavi görmekte olan bireylerde, HIV-1 RNA seviyesinin 5000 kopyanın üzerinde seyretmesi ya da 24 ve 48. haftalarda HIV-1 RNA seviyelerinin sırasıyla >400 kopya/ml ve >50 kopya/ml olarak belirlenmesi klinisyen tarafından dikkatli bir biçimde gözlemlenmeli, yeni ve uygun tedavinin bireye sağlanması için direnç testleri yapılmalıdır. Bununla birlikte antiretroviral tedavinin dünya genelinde yaygınlaşması ve ilaç dirençli suşların sayıca artması sonucunda, ilaç direncinin yeni enfekte olan bireylerde görülme sıklığı artmaktadır. Bu nedenle yeni enfekte bireylere de ilaç direnç testlerinin yapılması birçok sağlık kuruluşu tarafından önerilmektedir.

1991 yılında soğuk savaşın bitmesi ile Balkan ülkeleri ve Rusya, önemli sosyal ve politik değişimler geçirmiştir. Aynı yıllarda ülkemizin, sınır kapılarının açılması ve bavul ticaretinin serbest bırakılması ile bu ülkelerin sosyal ve kültürel normlarından etkilenilmiştir. Sosyal ve kültürel normlardaki bu etkileşim ve değişim, cinsel yolla bulaşan enfeksiyon (CYBE) / HIV / AIDS 'li bireylerin sayısının artmasına ve bu enfeksiyonların yayılmasını sağlayan faktörlerde artışa neden olmuş olabilir. Bununla birlikte ülkemizin merkezi coğrafi konumu (Asya-Avrupa arasında köprü oluşu), HIV-1 moleküler evriminin ve direnç sıklığının tanımlanmasını önemli hale getirmektedir.

Bugüne kadar, ülkemizde HIV-1 ile enfekte kişiler arasında antiretroviral ilaçlara direnç prevalansı ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Bu konu ile yapılmış

çalışma sayısı kısıtlıdır. Antiretroviral ilaçlar çok yakın gelecekte daha yaygın olarak kullanılabilir hale gelecektir ve ilaç direnci verileri büyük önem arz edecektir. Bu nedenle, bu çalışmanın amacını ülkemizde yaşayan HIV-1 ile enfekte hastalarda antiretroviral ilaçlara direnç ile ilişkili, proteaz (PR) ve ters transkriptaz (RT) mutasyonlarının sıklığının araştırılması, yaşam standartlarının yükseltilmesi ve bu bireylerin doğru tedavileri almasını sağlamak olarak belirledik. Ülkemizde ilk HIV/AIDS olgusu 1985 yılında bildirilmiş, olgu sayısı günümüzde, Sağlık Bakanlığının Ekim 1985-Haziran 2013 HIV/AIDS süveyans verilerine göre 6802'ye ulaşmıştır. Ancak dolaşımdaki HIV-1 alt tipleri konusunda yeterli veri bulunmamaktadır. Heteroseksüel bireyler arasında korunmasız ilişkinin yaygın olması, cinsel temasla bulaşan diğer hastalıkların bulaşma riskini de arttırmaktadır. Riskli davranışların HIV'in yayılmasındaki etkisinin yanında, ilaca dirençli virüs varyantlarının aktarılmasında da önemli rolü vardır. Özellikle tedavi gören bireyler ve partnerleri için ikinci bir enfeksiyon ile ilaca dirençli virüs geçişi, tedavide yaşanacak başarısızlığı da beraberinde getirmektedir. Tedavi görmeyen bireylerde saptanan ilaç direnci, tedavi gören bireyler ile korunmasız birlikteliğin göstergesidir. Çalışmamız 11'i tedavi deneyimi olan, 37'si tedavi almamış 48 hasta ile gerçekleştirilmiş olup tedavi alan hastalarımızdan 6'sında (%54,5), tedavi almamış 37 hastamızdan 3'ünde (%8,1) primer ilaç direnç mutasyonlarına rastlanmıştır. Ayrıca alt tiplendirme analizimizde hastalarımızın 27'si alt tip B (%56,2), 12'si CRF 02_AG (%25), 4'ü A₁ (%8,3), 2'si C alt tipi (%4,1), 1'i F₁ (%2), 1'i CRF10_AE (%2) ve 1 G alt tipi (%2) şeklinde gözlemlenmiştir. Tedavi almamış hastalarımızdan üçünde aktarılabilen ilaç direnci ile ilişkilendirilebilecek mutasyonlar saptanmıştır. Bu hastalarımızdan birinde NRTI orta ve düşük düzey ilaç direnç mutasyonları olan M41L, T215D ve NNRTI orta ve düşük düzey ilaç direnç mutasyonları olan K101Q, E138EK mutasyonları saptanmıştır. Birinde yine NRTI orta ve düşük düzey ilaç direnç mutasyonları olan M41L, T215D ve son hasta da AZT'ye potansiyel düşük düzeyli direnç, d4T'ye düşük düzeyde direnç ve ddI'ya orta düzeyde direnç oluşumunu sağlayan T69ADNT, V118I mutasyonları saptanmıştır. Ayrıca 13 tedavi almamış hastamızda potansiyel düşük düzeyde PI ilaç direnci oluşturabilecek mutasyonlar saptanmıştır. Bu mutasyonlardan 10'unda K20I mutasyonu, 3'ünde ise L10IV/L, A71AT kombinasyonları gözlemlenmektedir.

Sayan ve arkadaşlarının 2012 yılında Kocaeli'nde 117 HIV-1 ile yeni enfekte bireyle yaptıkları çalışmada ilaç direnci araştırılmış ve taşıyıcı bireylerdeki alt

tiplendirme çalışması gerçekleştirilmiş ve ülkemizdeki naif hastalardaki direnç ve alt tip profili belirlenmiştir (41). Bu çalışmaya göre 55/117 hastada (%47) CRF polimorfik tipler (CRF 02_AG, CRF 01_AE, CRF 12_BF and CRF 03_AB) saptanmış ayrıca 39/117 hasta (%33,3) B alt tipinde olduğu saptanmıştır bununla birlikte 9/117 hastada (%7,6) primer ilaç direnç mutasyonları gözlemlenmiş olup, ülkemizdeki ilaç direnç oranları NRTI, NNRTI ve PI için sırasıyla (5/117) %4,2, (2/117) %1,7 ve (2/117) %1,7 olarak verilmiştir. Bu çalışmada tedavi almamış (naif) hastalarda ilaç direncine ait veriler çalışmamızla paralellik göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda tedavi almamış hastalarımızda rastladığımız mutasyonlar, Sayan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bulunan mutasyonlarla örtüşmektedir. Bu verilere bakarak ülkemizde, M41L ve T215D mutasyonlarının aktarılabilen ilaç direnci için gözlemlenen primer mutasyonlar olabileceği sonucuna varabiliriz. Bununla birlikte alt tip analizlerine bakıldığında, ülkemizde CRF polimorfik tiplerine rastlanma sıklığının arttığı, CRF 02_AG polimorfik tipinin, B alt tipinden sonra en sık rastlanan alt tip olduğu gözlemlenmiştir. Midilli ve arkadaşlarının 2004-2011 yılları arasında bölümlerine başvurmuş 166 naif hasta ile gerçekleştirdikleri çalışmada ise 103 (%62) örnekte herhangi bir direnç polimorfizmi saptanmamış olup 39 (%23,5) örnekte minor değişiklikler ve 24 (%14,45) hastada ise antiretrovirallere karşı direnç ile ilişkilendirilen mutasyonlar saptamışlardır (42). Direnç mutasyonu saptanan bireylerin alt tiplendirilmesine bakıldığında 24 bireyin 22'sinin alt tip B bir tanesinin genotip AE ve 1 tanesinin genotip AG oldukları gözlemlenmiştir. Bu örneklerden, 7 örnekte düşük düzeyde NNRTI direnç mutasyonları, 2 örnekte proteaz inhibitörlerine düşük düzeyde direnç ile ilişkilendirilen mutasyonlar ve 16'sında ise düşük düzey dirençten orta düzey dirence kadar NRTI direnci saptamışlardır. M41L+T215.kodon değişimi 8 örnekte gözlemlenmiş olup en sık rastlanan polimorfizm olarak dikkat çekmektedir. Midilli ve arkadaşlarının tedavi almamış bireylerde yaptıkları bu çalışmada 8 örnekte rastladıkları M41L+T215 revertant mutasyon değişimleri Sayan ve arkadaşlarının ve bizim yaptığımız çalışma ile örtüşmektedir. Alparsar ve arkadaşlarının 2012 yılında İstanbul'da HIV-1 ile enfekte MSM bireylerde yaptıkları çalışmada 18'i tedavi görmemiş olmak üzere, 20 birey çalışmaya katılmış ve bu hastalarda ilaç direnç profilleri araştırılıp, alt tiplendirme çalışması yapılmıştır (46). Alparsar ve arkadaşlarının elde ettikleri sonuçlara göre 5 hastada direnç tespit edilmiştir. Tedavi gören 2 hastada orta ve yüksek derece direnç gözlemlenmiş, tedavi görmemiş 18 hastadan 3'ünde potansiyel düşük dereceli direnç

tespit edilmiştir. Bununla birlikte ilaç direnci gözlemlenen hastaların tümü çalışmamızda olduğu gibi B alt tipinde olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmalarında, 20 HIV-1 pozitif eşcinsel erkekte çoğunlukta olan alt tipi; 10 hasta (%50) ile Kuzey Amerika ve Batı Avrupa’da yaygın olan alt tip B, İkinci sırada ise 8 hasta (%40) ile merkez ve Batı Afrika’da yaygın rekombinant form CRF02_AG saptamışlardır. Bunların dışında 1 hastada alt tip A (%5), 1 hastada da alt tip C (%5) tespit edilmiştir. Çalışmamızın alt tip analizi ile bu çalışmadaki alt tipler paralellik göstermektedir. 2006 yılında Yılmaz ve arkadaşlarının tedavi durumları bilinmeyen 27 hasta ile yaptıkları ilk alt tiplendirme çalışmasında env bölgesinden yola çıkarak Türkiye de en sık bulunan alt tipin, B alt tipi olduğunu gözlemlemişlerdir (103). Bu çalışmada yer alan 27 hastanın 19’u alt tip B, 4’ü alt tip A, 1’i alt tip C, 1’i alt tip D ve 2’si alt tip F1 olarak saptanmıştır. 2012 yılında Schuster ve arkadaşları tarafından, Almanya’daki 127 Göçmen Türk HIV-1 taşıyıcısı ile yapılan bir çalışmada, çalışmaya dahil edilen hastaların %82,9’u B alt tipi olduğu belirlenmiş bununla birlikte A, CRF 02_AG, C ve G gibi alt tipler de gözlemlenmiştir (49).

Ülkemize komşu olan ülkelerde de benzer çalışmalar yapılmıştır. Santoro ve arkadaşlarının 2008 yılında Bulgaristan’da 22 tedavi görmemiş ve 58 tedavi almakta olan toplam 80 hasta içerisinde yaptıkları çalışmada, 41 hastada alt tip B (%51,2), 18 hastada alt tip A (%22,5) tiplerine rastlanmıştır (59). Tedavi görmemiş 22 hastanın 2’sinde en az bir direnç mutasyonu gözlemişlerdir. Bir hastada 2 NRTI mutasyonu (M41L ve V75A) ve 1 NNRTI mutasyonu (Y188H) ve diğer hastada sadece bir NNRTI mutasyonu (V179D) gözlemlemişlerdir. 2012 yılında İran’da Jahanbakhsh ve arkadaşlarının 47 tedavi almamış hasta ile yaptıkları bir çalışmada hastaların 45’i (%95,7) CRF 35_AD, bir hasta alt tip B (%2,1), bir hasta da CRF 01_AE (%2,1) alt tipi gözlemlenmiştir (137). 2 hastada NRTI direnç mutasyonu gözlemlenmiş, bu hastalardan birinde T215D revertant mutasyonu ve diğer hastada zidovudin ve stavudine düşük düzey direnç oluşturan K219Q mutasyonu gözlemlenmiştir. Ayrıca 13 minör PI mutasyonu da gözlemlenmiştir. 20 Avrupa ülkesi ve İsrail’den, HIV-1 ile yeni enfekte olmuş 2793 hastanın katılımı ile yapılan SPREAD çalışmasında, aktarılabilen ilaç direnci prevelansı %8,4 olarak saptanmıştır. Çalışmamızdaki tedavi görmemiş Türk hastalarda, primer ilaç direnci prevelansının (%8,1), SPREAD programında rapor edilen sonuçlara çok yakın olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, standart ilk basamak antiretroviral tedavi rejiminin bir parçası olarak bu ilaç sınıfının yaygın kullanımı ile

tutarlı bir şekilde, NRTI'lar ile ilişkili primer ilaç direnç mutasyonları daha sık gözlemlenmiştir (142).

Çalışmamızda, major ilaç direnç mutasyonuna sahip tedavi almış ya da almamış tüm hastalarımızdaki ilaç dirençli suşların alt tiplerine baktığımızda, bu hastalarımızın tümünün alt tip B olduğunu gözlemledik. Bununla birlikte NVF'ye düşük düzeyde direnç gözlemlenen bir hastamızın CRF 02_AG olduğunu gözlemledik. K20I, potansiyel düşük düzey PI direnci oluşturabilen mutasyonunu hastalarımızın 10'unda gözlemledik ayrıca bu hastalarımızın alt tiplerine baktığımızda bu hastaların 7'sinin CRF 02_AG, 3'ünün ise B alt tipine ait olduğunu gözlemledik. Heidelberg'de, 2009 yılında yapılan çalışmada, Burkino Fasolu 104 tedavi almamış hasta örneği ile çalışılmış ve bu hastaların alt tiplerine bakıldığında 46 hastada özellikle Afrika ülkelerinde bulunan bir alt tip olan CRF06_cpx (%44,2)'e rastlanmıştır. Ayrıca 39 hastada CRF02_AG (%37,5); 4 hastada alt tip A (%3,8); 2 hastada da CRF09_cpx, (%1,9) gözlemlenmiştir. Bu hastaların 13'ünde (%12,5) en az 1 ilaç direnç mutasyonu gözlemlenmiştir (143). M41L (n=2), D67N (n=2) mutasyonları gözlemlenmiştir. Bu hastaların tümünde ve diğer B dışı alt tiplerde K20I ve M36I mutasyonlarının varlığı tıpkı bizim çalışmamızda olduğu gibi dikkat çekicidir (22). Ancak bu mutasyonlar tek başlarına dirence yol açamaz. K20I ve M36I'nın başka mutasyonların varlığında PI direncine zayıf katkısı olduğu bilinmektedir. K20R oldukça polimorfiktir ve muhtemelen azalmış PI duyarlılığına çok az katkıda bulunmaktadır M36I ise alt tip B virüslerinde mevcut başka mutasyonlar ile birlikte PI direnci ile zayıf ilişkilidir. Bununla birlikte çoğu non-B alt tiplerinde konsensüs aminoasittir. Dünyada da çalışmamıza benzer birçok ilaç direnç çalışması yapılmıştır. Monge ve ark. Tarafından İspanya da yapılan bir çalışma da 2007-2010 tarihleri arasında toplanan 1864 hastada yapılan bir çalışmada bu hastaların %8,58'inde TDR saptanmış olup bu hastalardan %3,92'sinde NRTI direnç mutasyonu, %3,86'sında NNRTI direnç mutasyonu ve %2,31'inde PI direnç mutasyonu gözlemlenmiştir (144). Başlıca 25 hastada T215REV (%1.34), 21 hastada M41L (%21,13), 69 hastada TAM mutasyonları (%3,70), 9 hastada M184IV (%0.48) NRTI mutasyonu, başlıca 59 hastada K103N/S (%3,17) NNRTI mutasyonu, başlıca 12 M46IL PI mutasyonu gözlemlenmiştir. DiazGranados ve arkadaşlarının Kolombiya'da 180 hasta örneği ile yaptıkları çalışmada, hastaların 103'ü tedavi almamış hastalardan, 77'si ise ilk grup tedavisinde başarısızlık yaşamış hastalardan oluşmaktaydı. Tedavi almamış gruptaki hastalarda ilaç direnci %5,8

görülmüş, bu hastaların 5'inde K103N (%4,9) ve 3'ünde M184V (%2,9) ilaç direnç mutasyonları saptanmış olup birer hastada ise T215Y, P225H ve M46L mutasyonları gözlemlenmiştir (151). Pakistan'da 2008 yılında yapılan ve 11 tedavi gören, 31 tedavi görmemiş toplam 42 hasta ile gerçekleştirilmiş bir çalışma da ilaç direnci tedavi almamış 2 hastada gözlemlenmiş ayrıca ART geçmişi olan 11 hastanın 4'ünde ilaç direnç mutasyonları gözlemlenmiştir. Tedavi almamış gruptaki iki hastanın birinde L90M PI direnç mutasyonu gözlemlenirken diğerinde K101E NNRTI ilaç direnç mutasyonu gözlemlenmiştir. Tedavi deneyimi olan grupta yer alan ilaç direnç mutasyonlu 4 hastada ise 2 NRTI mutasyonu ve 2 NNRTI mutasyonu gözlemlenmiştir (152). 2011'de Pérez ve ark. tarafından Küba'da 401 tedavi görmemiş hasta ile yapılan bir çalışmada hastaların %39,3'ünün B alt tipinde oldukları gözlemlenmiş, direnç profillerine bakıldığında 29 hastada (%7,2) direnç olduğu belirtilmiş ve bu hastaların 22'sinde yalnızca bir ilaç sınıfına direnç geliştiği (%75,8), 16 hastada (%55,2) sadece NRTI sınıfına karşı direnç, 3 hastada (%10,3) sadece NNRTI sınıfına karşı direnç yine 3 hastada (%10,3) sadece PI grubuna karşı direnç olduğu gözlenmiştir. T215S/D/E/Y/A (%44,8), M41L (%31,0), D67N (%13,8), L210W (%13,8), K219Q/N (%13,8) ve K70R (%6,9) gibi timidin analog mutasyonları, buna ilaveten 5 hastada (%17,2) M184V mutasyonu gözlemlenmiştir (153). Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda alt tipler arasında genel direncin farklılık gösterebileceği üzerinde durulmuştur. Örneğin anneden çocuğa bulaşın engellenmesi için tek doz nevirapin çalışmaları, alt tipler arasında genel direncin farklılık gösterdiğini göstermiştir. NVP'ye karşı kadında genel direnç sıklıkları alt tip C, D, A, ve CRF02_AG enfeksiyonlarında sırasıyla % 69, 36, 19, ve 21 olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak, daha önce ilaç kullandığını belirten diğer 11 hastanın, 6'sında (%54,6) yüksek seviye direnç belirlenmesi, düzenli ilaç kullanımı hakkında hastaların bilinç düzeylerinin ve tedavi öncesi yapılması gereken direnç testlerinin önemini işaret etmektedir. Ancak bütün bu değerlendirmeler yapılırken tedavi öncesinde zaten varolan ancak genotipik direnç testleri ile saptanamayan dirençli virüs varyantlarının, ilacın seçici baskısı altında popülasyonda baskın hale gelmesi de göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışmamızda ilaç dirençli suşların tümünün HIV-1 alt tip B olması, bize bu alt tip içerisinde yer alan hastalar ve B alt tipi olmayan hastalar arasında

farklılık olup olmadığının daha iyi anlaşılabilmesi için yeni çalışmalar yapılması gerekliliğini düşündürdü. Bununla birlikte B alt tipi olan virüslerin ilaç direnci oluşumuna daha yatkın olduğu şeklinde bir hipotez üretmek de mümkündür. Bu konuda daha büyük ölçekli ve daha ayrıntılı çalışmaların bilimsel anlamda hem daha etkin olacağına hem de ülkemiz verilerine katkıda bulunacağını düşünmekteyiz. Ayrıca alt tiplendirme çalışmalarının gelecekte direnç açısından çok önemli bir yere gelebileceği de söylenebilir. Dünyada giderek yaygınlaşan antiretroviral ilaç kullanımının, ilaca dirençli varyantların aktarılmasında önemi olduğu bilinmektedir. Bu durum, HIV-1 pozitif hasta sayısının her geçen yıl arttığı ülkemiz için yakından takip edilmesi gereken bir konudur. Bu nedenle, ülkemizde primer direnç ve HIV-1 subtip sürveyansı hakkında daha sağlıklı veriler elde edilebilmesi için, daha fazla sayıda hasta ile daha geniş çaplı araştırmaların yapılması gerektiği aşıkardır. Bununla birlikte ülkemizde ilaç tedavisi almamış (naif) hasta popülasyonlarında kazanılmış ilaç direnci sıklığının araştırılmasının önemi vurgulanmalıdır. Zira son derece yüksek maliyetli antiretroviral preparatların kullanımının regülasyonu, hastaların yaşam kalitelerindeki düşüşün engellenmesi ve mortalitenin önüne geçebilmek için tedavi almamış hastaların genotipik direnç analizleri yapılmasının gerekliliği halen tartışılmaktadır. Uluslararası AIDS Birliği-ABD kılavuzlarında direncin bölgesel yüzdesi %5'in üzerinde olduğunda maliyet verimli olduğunu belirtirken (148), bunun karşısı olarak Amerika Birleşik Devletleri'nde 2005 yılında yapılan bir maliyet etkinlik çalışmasında, Amerika ve Avrupa'daki tedavi naif bireylerde bulunan virüslerin yaklaşık olarak %8-10 'unun ilaç dirençli oldukları vurgulanmış ve çalışmada, HIV popülasyonundaki ilaç dirençli birey sayısı ortalama olarak % 8.3 olarak kabul edilip ve bu orana göre maliyet analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalışmada HIV ile enfekte olan ve tedavi naif bireylerin ilaç direnç testi yapılması maliyet etkinlik analizlerine göre uygun olarak değerlendirilmiştir (149).

Bu çalışma daha sonra diğer araştırmacılar tarafından desteklenmiştir (150). Sayan ve ark. yaptıkları çalışmada ülkemizdeki tedavi naif bireylerdeki primer ilaç direnci'nin yüzdesi %7,6 saptanmış olup, bizim çalışmamızda bu oran %8,1 olarak gözlemlenmiştir. Ülkemizde bu konuyla ilgili daha büyük ölçekli çalışmaların yapılması gerekliliğini vurgulamamız haricinde araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda (149, 150) ulaşılan oranlara bakılarak ülkemizde tedavi almamış bireylerde ilaç direnci çalışılmasının maliyet verimliliği açısından uygun olduğu sonucuna varabiliriz.

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı verilerine göre HIV tanısı konmuş birey sayısı 6802 olmasına rağmen gerçek sayının kayıtlı birey sayısının 10 katı olduğu düşünülmektedir. Bu rakamlara bakılarak HIV/AIDS'in dolayısıyla antiretroviral ilaç direnç testlerinin önümüzdeki yıllarda halk sağlığı açısından daha önemli bir yere geleceğini düşünmekteyiz. Çalışmamız sonrasında özellikle ilaç kullanan bireylerin yarısından çoğunda ilaç direncinin varlığını saptadık ayrıca tedavi görmeyen bireylerin bir kısmında da “aktarılabilen ilaç direnci” olarak adlandırılan dirençleri gözlemledik. Tüm bu bilgiler ışığında HIV + bireylere, HIV-1 RNA ve lenfosit paneli testlerinin takibinin önemini ve bunlara bağlı olarak bu bireylere ilaç direnç testlerinin yapılması gerekliliğini vurgulamak zorundayız. Zira hasta yaşam kalitesinin ciddi anlamda artırılması ve bireylerin hayatını kaybetmesinin önüne geçilmesi açısından ilaç direnç testleri hayati önem taşımaktadır. Çalışmamıza başlarken, HIV ilaç direnç testlerini, bölümümüzde de rutin çalışılan testler arasına sokmak temel düşüncemizdi. Elde ettiğimiz bilgiler ışığında özellikle büyük şehirlerimizde bu testleri yapan merkezler olması gerekliliğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1-Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C, Axler-Blin C, Vezinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L. Isolation of a T-lymphotrophic Retrovirüs from a patient at risk for Acquired Immun Deficiency Syndrom (AIDS). Science 1983 May 20;220(4599):868-71

2-Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinet F, Chamaret S, Rey MA, Santos-Ferreira MO, Laurent AG, Dauguet C, Katlama C, Rouzioux C, Isolation of a new human retrovirüs from West African patients with AIDS. Science. 1986 Jul 18;233(4761):343-6.

3-Zhu T, Korber BT, Nahmias AJ, Hooper E, Sharp PM, Ho DD. An African HIV-1 sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic. Nature. 1998 Feb 5;391(6667):594-7.

4- Worobey M, Gemmel M, Teuwen DE, Haselkorn T, Kunstman K, Bunce M, Muyembe JJ, Kabongo JM, Kalengayi RM, Van Marck E, Gilbert MT, Wolinsky SM. Direct evidence of extensive diversity of HIV-1 in Kinshasa by 1960. Nature. 2008 Oct 2;455(7213):661-4

5-Korber B, Muldoon M, Theiler J, Gao F, Gupta R, Lapedes A, Hahn BH, Wolinsky S, Bhattacharya T: Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. Science 2000; 288: 1789–1796.

6-Neel C, Etienne L, Li Y, Takehisa J, Rudicell RS, Bass IN, Moudindo J, Mebenga A, Esteban A, van Heuerswyn F, Liegeois F, Kranzusch PJ, Walsh PD, Sanz CM, Morgan DB, Ndjango JBN, Plantier JC, Locatelli S, Gonder MK, Leendertz FH, Boesch C, Todd A, Delaporte E, Mpoudi-Ngole E, Hahn BH, Peeters M: Molecular epidemiology of simian immunodeficiency virüs infection in wild-living gorillas. J Virol 2010; 84: 1464–1476.

7-Etienne L, Nerrienet E, LeBreton M, Bibila GT, Foupouapouognigni Y, Rousset D, Nana A, Djoko CF, Tamoufe U, Aghokeng AF, Mpoudi-Ngole E, Delaporte E, Peeters M, Wolfe ND, Ayouba A: Characterization of a new simian immunodeficiency virüs strain in a naturally infected *Pan troglodytes troglodytes* chimpanzee with AIDS related symptoms. Retrovirology 2011; 8: 4.

8-Brennan CA, Bodelle P, Coffey R, Devare SG, Golden A, Hackett J, Harris B, Holzmayer V, Luk KC, Schochetman G, Swanson P, Yamaguchi J, Vallari A, Ndembu N, Ngansop C, Makamche F, Mbanya D, Gürtler LG, Zekeng L, Kaptue L: The prevalence of diverse HIV-1 strains was stable in Cameroonian blood donors from 1996 to 2004. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008; 49: 432–439.

9-Oette M, Kaiser R, Däumer M, Akbari D, Fätkenheuer G, Rockstroh JK, Stechel J, Rieke A, Mauss S, Schmalöer D, Göbels K, Vogt C, Wettstein M, Häussinger D. Primary drug-resistance in HIV-positive patients on initiation of first-line antiretroviral therapy in Germany. *Eur J Med Res*. 2004 May 28;9(5):273-8.

10-Burgard M, Jasseron C, Matheron S, Damond F, Hamrene K, Blanche S, Faye A, Rouzioux C, Warszawski J, Madelbrot L: Mother-to-child transmission of HIV-2 infection from 1986 to 2007 in the ARNS French Perinatal Cohort EPF-CO1. *Clin Infect Dis* 2010; 51: 833–843.

11-Tienen C, van der Loeff MS, Zaman SM, Vincent T, Sarge-Njie R, Peterson I, Leliqdwicz A, Jave A, Rowland-Jones S, Aaby P, Whittle H: Two distinct epidemics: the rise of HIV-1 and decline of HIV-2 infection between 1990 and 2007 in rural Guinea-Bissau. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; 53: 640– 647.

12- Gunthard HF, Huber M, Kuster H, Shah C, Schüppach J, Trkola A, Böni J: HIV-1 superinfection in an HIV-2-infected woman with subsequent control of HIV-1 plasma viremia. *Clin Infect Dis* 2009; 48:e117–e120.

13- Pillay D, Geretti AM, Weiss RA, Human Immunodeficiency Virüs. In Zuckerman AJ, Banatvala EJ, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P. *Principles and Practice of Clinical Virology*. 6th edition John Wiley & Sons Ltd, p: 896-937

14- Whittle H, Morris J, Todd J, Corrah T, Sabally S, Bangali J, Ngom PT, Rolfe M, Wilkins A. HIV-2-infected patients survive longer than HIV-1-infected patients. *AIDS* 1994; 8:1617-20.

15- Turner BG and Summers MF. Structural Biology of HIV. *J Mol Biol* 1999, 285:1-32.

16- HIV-1 Assembly, Budding, and Maturation. Sundquist IW, Krausslich HG. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:a006924

- 17- Human Immunodeficiency Virüs gag and protease: partners in resistance. Fun A, Wensing AMJ, Verheyen J, Nijhuis M. *Retrovirology* 2012, 9:63.
- 18- <http://www.stanford.edu/group/virüs/retro/2005gongishmail/HIV.html>
- 19-Gallay P, Swingler S, Song J, et al. HIV nuclear import is governed by the phosphotyrosine-mediated binding of matrix to the core domain of integrase. *Cell* 1995;83:569-576.
- 20- Könnnyü B, Sadiq SK, Turanyi T, Hirmondo R, Müller B, et al. (2013) Gag-Pol Processing during HIV-1 Virion Maturation: A Systems Biology Approach. *PLoS Comput Biol* 9(6): e1003103. doi:10.1371/journal.pcbi.1003103
- 21-Parkin NT, Chamorro M, Varmus HE. Human immunodeficiency virüs type 1 gag-pol frameshifting is dependent on mRNA secondary structure: Demonstration by expression in vivo. *J Virol* 1992; 66:5147-5151.
- 22-Ashorn P, McQuade TJ, Thaisrivongs S, et al. An inhibitor of the protease blocks maturation of human and simian immunodeficiency virüses and spread of infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:7472-7476.
- 23-Miller M, Jaskolski M, Rao JK, et al. Crystal structure of a retroviral protease proves relationship to aspartic protease family. *Nature* 1989;337:576-579.
- 24-Zack JA, Arrigo SJ, Weitsman SR, et al. HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes: Molecular analysis reveals a labile, latent viral structure. *Cell* 1990;61:213-222.
- 25- Ariën KK, Vanham G, Arts EJ. Is HIV-1 evolving to a less virulent form in humans? *Nature Reviews Microbiology* 5, (2007) 141-151.
- 26- Pryciak PM, Varmus HE. Nucleosomes, DNA-binding proteins, and DNA sequence modulate retroviral integration target site selection. *Cell* 1992;69:769-780
- 27- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Mitchell, R. N. (2007). Chapter 5 - Diseases of the Immune System. In *Robbins Basic Pathology, 8th Edition* (pp. 107 - 172). Philadelphia: Saunders, an imprint of Elsevier Inc. also available http://php.med.unsw.edu.au/medwiki/index.php?title=Immunopathogenesis_of_HIV/AIDS
- 28- <http://depts.washington.edu/hivaids/arvrx/case2/discussion.html>

29- Bernstein HB, Tucker SP, Kar SR, et. al. Oligomerization of the hydrophobic heptad repeat of gp41. *J Virol* 1995;69:2745-2750.

30- Landau NR, Warton M, Littman DR. The envelope glycoprotein of the human immunodeficiency virus binds to the immunoglobulin-like domain of CD4. *Nature* 1988;334:159-162.

31- Ju, S. M., Song, H. Y., Lee, J. A., Lee, S. J., Choi, S. Y. & Park, J. (2009). Extracellular HIV-1 Tat up-regulates expression of matrix metalloproteinase- 9 via a MAPK-NF-kB dependent pathway in human astrocytes. *Exp Mol Med* 41, 86–93.

32- Mahlknecht, U., Dichamp, I., Varin, A., Lint, C. V. & Herbein, G. (2008). NF-kB-dependent control of HIV-1 transcription by the second coding exon of Tat in T cells. *J Leukoc Biol* 83, 718–727.

33- Hwang, S., Tamilarasu, N., Kibler, K., Cao, H., Ali, A., Ping, Y. H., Jeang, K. T. & Rana, T. M. (2003). Discovery of a small molecule Tattrans- activation-responsive RNA antagonist that potently inhibits human immunodeficiency virus-1 replication. *J Biol Chem* 278, 39092–39103.

34- Ammosova, T., Berro, R., Jerebtsova, M., Jackson, A., Charles, S., Klase, Z., Southerland, W., Gordeuk, V. R., Kashanchi, F. & Nekhai, S. (2006). Phosphorylation of HIV-1 Tat by CDK2 in HIV-1 transcription. *Retrovirology* 3, 78.

35- Wong, K., Sharma, A., Awasthi, S., Matlock, E. F., Rogers, L., Lint, C. V., Skiest, D. J., Burns, D. K. & Harrod, R. (2005). HIV-1 Tat interactions with p300 and PCAF transcriptional coactivators inhibit histone acetylation and neurotrophin signaling through CREB. *J Biol Chem* 280, 9390–9399.

36- Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science*. 1995 Dec 15;270(5243):1811-5.

37- Ballana E, Riveira-Munoz E, Pou C, Bach V, Parera M, Noguera M, Santos JR, Badia R, Casadellà M, Clotet B, Paredes R, Martínez MA, Brander C, Esté JA. HLA class I protective alleles in an HIV-1infected subject homozygous for CCR5-Δ32/Δ32. *Immunobiology*. 2013 Apr;218(4):543-7

38-Kim SY, Byrn R, Groopman J, et al. Temporal aspects of DNA and RNA synthesis during human immunodeficiency virüs infection: Evidence for differential gene expression. *J Virol* 1989;63:3708-3713.

39- Fauci AS, Desrosiers RC. 1997. Pathogenesis of HIV and SIV. In *Retroviruses* (ed. Coffin JM, et al.), pp. 587–635. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

40-Shafer RW, Rhee SY, Pillay D, Miller V, Sandstrom P, Schapiro JM, Kuritzkes DR, Bennett D. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutations for drug resistance surveillance. *AIDS*. 2007 Jan 11;21(2):215-23

41- Sayan M, Willke A, Ozgunes N, Sargin F. HIV-1 Subtypes and Primary Antiretroviral Resistance Mutations in Antiretroviral Therapy Naive HIV-1 Infected Individuals in Turkey. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 66, 306-311, 2013

42- Midilli K, Ergin S, Kuşkucu MA, Mete B, Çelik G, Kaygusuz A. HIV ile enfekte naif hastalarda anti-retroviral direnci. IV. Ulusal Viroloji Kongresi Özet Kitabı.23-26 Haziran 2011 s.145

43-Lama J, Mangasarian A, Trono D. Cell-surface expression of CD4 reduces HIV-1 infectivity by blocking Env incorporation in a Nef- and Vpu-inhibitable manner. *Curr Biol*. 1999;9:622-31.

44-Ross TM, Oran AE, Cullen BR. Inhibition of HIV-1 progeny virion release by cell-surface CD4 is relieved by expression of the viral Nef protein. *Curr Biol*. 1999;9:613-21.

45-Miller MD, Warmerdam MT, Gaston I, et al. The human immunodeficiency virüs-1 nef gene product: A positive factor for viral infection and replication in primary lymphocytes and macrophages. *J Exp Med* 1994;179:101-113.

46- Alpsar D, Agacfidan A, Lübke N, Verheyen J, Eraksoy H, Cağatay A, Bozkaya E, Kaiser R, Akgül B. Molecular epidemiology of HIV in a cohort of men having sex with men from Istanbul. *Med Microbiol Immunol*. 2013 Jun;202(3):251-5.

47- Bukrinsky M, Adzhubei A (1999). "Viral protein R of HIV-1". *Rev. Med. Virol.* 9 (1): 39–49. , Muthumani K, Choo AY, Zong WX, *et al.* (February 2006). "The HIV-1 Vpr and glucocorticoid receptor complex is a gain-of-function interaction that prevents the nuclear localization of PARP-1". *Nat. Cell Biol.* 8 (2): 170–9

48-Heinzinger NK, Bukinsky MI, Haggerty SA, et al. The Vpr protein of human immunodeficiency virüs type 1 influences nuclear localization of viral nucleic acids in nondividing host cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:7311-7315.

49- Schülter E, Oette M, Balduin M, Reuter S, Rockstroh J, Fätkenheuer G, Esser S, Lengauer T, Agacfidan A, Pfister H, Kaiser R, Akgül B. HIV prevalence and route of transmission in Turkish immigrants living in North-Rhine Westphalia, Germany. *Med Microbiol Immunol*. 2011 Nov;200(4):219-23.

50- Ruiz A, Guatelli JC, Stephens EB. The Vpu protein: new concepts in virüs release and CD4 down-modulation. *Curr HIV Res*. 2010 Apr;8(3):240-52.

51-Klimkait T, Strebel K, Hoggan MA, et al. The human immunodeficiency virüs type 1-specific protein vpu is required for efficient virüs maturation and release. *J Virol* 1990;64:621-629.

52- Reingewertz TH, Shalev DE, Friedler A. Structural disorder in the HIV-1 Vif protein and interaction-dependent gain of structure. *Protein Pept Lett*. 2010 Aug;17(8):988-98.

53- Stanley BJ, Ehrlich ES, Short L, Yu Y, Xiao Z, Yu XF, Xiong Y. Structural insight into the human immunodeficiency virüs Vif SOCS box and its role in human E3 ubiquitin ligase assembly. *J Virol*. 2008 Sep;82(17):8656-63.

54- Aygün G (2007) HIV enfeksiyonu Patogenezi. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2007, 3(28)

55- Sakihama T, Smolyar A, Reinherz EL. Molecular recognition of antigen involves lattice formation between CD4,MHC class II and TCR molecules. *Immunol Today*. 1995 Dec;16(12):581-7.

56- Alkhatib G, Berger EA. HIV coreceptors: from discovery and designation to new paradigms and promise. *Eur J Med Res* 2007;12:375-84.

57- Coakley E, Petropoulos CJ, Whitcomb JM. Assessing chemokine co-receptor usage in HIV. *Cur Opin Infect Dis* 2005; 18:9-15.

58- Arie J. Zuckerman, Jangu E. Banatvala, Barry D. Schoub, Paul D. Griffiths, Philip Mortimer (2009) *Principles & Practice of Clinical Virology (6th Ed)*. John Wiley & Sons Ltd.

59- Santoro MM, Ciccozzi M, Alteri C, Montieri S, Alexiev I, Dimova I, Ceccherini-Silberstein F, Beshkov D, Rezza G, Perno CF. Characterization of drug-resistance mutations in HIV type 1 isolates from drug-naïve and ARV-treated patients in Bulgaria. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008 Sep;24(9):1133-8.

60- Sierra S, Kupfer B and Kaiser R. (2005). Basics of Virology of HIV-1 and its Replication. *J Clin Virol*, 34:233-44.

61- Krogstad P. Molecular biology of the human immunodeficiency virus: current and future targets for intervention. *Semin Pediatr Infect Dis*. 2003 Oct;14(4):258-68.

62- Modrow S, Falke D, Truyen U (2003). *Molekulare Virologie*, 2. Aufl. (engl.: *Molecular Virology*, 2nd ed.), Spektr Akad Verl. Heidelberg, Berlin

63-UNAIDS. 2010. Global Report 2010, Geneva.
http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/unaidspublication/2010/20101123_globalreport_en.pdf

64- Hladik F, McElrath MJ. 2008. Setting the stage: Host invasion by HIV. *Nat Rev Immunol* 8: 447–457.

65-McElrath MJ, De Rosa SC, Moodie Z, Dubey S, Kierstead L, Janes H, Defawe OD, Carter DK, Hural J, Akondy R, et al. 2008. HIV-1 vaccine-induced immunity in the test-of-concept step study: A case-cohort analysis. *Lancet* 372: 1894–1905.

66-Powers KA, Poole C, Pettifor AE, Cohen MS. 2008. Rethinking the heterosexual infectivity of HIV-1: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 8: 553–563.

67-Boily MC, Baggaley RF, Wang L, Masse B, White RG, Hayes RJ, Alary M. 2009. Heterosexual risk of HIV-1 infection per sexual act: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *Lancet Infect Dis* 9: 118–129.

68-Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, Serwadda D, Li C, Wabwire-Mangen F, Meehan MO, Lutalo T, Gray RH. 2000. Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group. *N Engl J Med* 342: 921–929.

69-Fideli US, Allen SA, Musonda R, Trask S, Hahn BH, Weiss H, Mulenga J, Kasolo F, Vermund SH, Aldrovandi GM. 2001. Virologic and immunologic determinants of heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1 in Africa. *AIDS Res Hum Retroviruses* 17: 901–910.

70-Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, Gamble T, Hosseinipour MC, Kumarasamy N, Hakim JG, Kumwenda J, Grinsztejn B, Pilotto JHS. 2011b. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med* 365: 493–505.

71-Wawer MJ, Gray RH, Sewankambo NK, Serwadda D, Li X, Laeyendecker O, Kiwanuka N, Kigozi G, Kiddugavu M, Lutalo T, et al. 2005. Rates of HIV-1 transmission per coital act, by stage of HIV-1 infection, in Rakai, Uganda. *J Infect Dis* 191: 1403–1409.

72-Brenner BG, Roger M, Routy JP, Moisi D, Ntemgwa M, Matte C, Baril JG, Thomas R, Rouleau D, Bruneau J, et al. 2007. High rates of forward transmission events after acute/early HIV-1 infection. *J Infect Dis* 195: 951–959.

73-Miller WC, Rosenberg NE, Rutstein SE, Powers KA. 2010. Role of acute and early HIV infection in the sexual transmission of HIV. *Curr Opin HIVAIDS* 5: 277–282.

74-Galvin SR, Cohen MS. 2004. The role of sexually transmitted diseases in HIV transmission. *Nat Rev Microbiol* 2: 33–42.

75-Gray RH, Li X, Kigozi G, Serwadda D, Brahmbhatt H, Wabwire-Mangen F, Nalugoda F, Kiddugavu M, Sewankambo N, Quinn TC, et al. 2005. Increased risk of incident HIV during pregnancy in Rakai, Uganda: A prospective study. *Lancet* 366: 1182–1188.

76-Gray RH, Kigozi G, Serwadda D, Makumbi F, Watya S, Nalugoda F, Kiwanuka N, Moulton LH, Chaudhary MA, Chen MZ, et al. 2007. Male circumcision for HIV prevention in men in Rakai, Uganda: A randomised trial. *Lancet* 369: 657–666.

77-Auvert B, Taljaard D, Lagarde E, Sobngwi-Tambekou J, Sitta R, Puren A. 2005. Randomized, controlled intervention trial of male circumcision for reduction of HIV infection risk: The ANRS 1265 trial. *PLoS Med* 2: e298.

78-Bailey RC, Moses S, Parker CB, Agot K, Maclean I, Krieger JN, Williams CF, Campbell RT, Ndinya-Achola JO. 2007. Male circumcision for HIV prevention in young men in Kisumu, Kenya: A randomised controlled trial. *Lancet* 369: 643–656.

79-Quinn TC. 2007. Circumcision and HIV transmission. *Curr Opin Infect Dis* 20: 33–38.

80-Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, Garrett PE, Schumacher RT, Peddada L, Heldebrant C, Smith R, Conrad A, Kleinman SH, et al. 2003. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: Implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS* 17: 1871–1879.

81-LeeHY, Giorgi EE, Keele BF, Gaschen B, Athreya GS, Salazar- Gonzalez JF, Pham KT, Goepfert PA, Kilby JM, Saag MS, et al. 2009. Modeling sequence evolution in acute HIV-1 infection. *J Theor Biol* 261: 341–360.

82-Coffin J, Swanstrom R. HIV Pathogenesis: Dynamics and Genetics of Viral Populations and Infected Cells. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013;3:a012526

83-UNAIDS World AIDS Day Report | 2012.

http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/jc2434_worldaidsday_results_en.pdf

84-http://pozitifyasam.org/assets/files/Turkiyeverileri_Haziran_2013.pdf

85-Buttó S, Suligoi B, Fanales-Belasio E, Raimondo M. Laboratory diagnostics for HIV infection. *Ann Ist Super Sanità* 2010; 46(1): 24-33.

86-Tebourski F, Slim A, Elgaaied A. The significance of combining World Health Organization and Center for Disease Control criteria to resolve indeterminate human immunodeficiency virüs tipe-1 Western blot results. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 48: 59-61.

87-Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B, Butto S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanità* 2010; 46(1): 5-14.

88-Buttó S, Raimondo M, Fanales-Belasio E, Suligoi B. Suggest strategies for the laboratory Diagnosis of HIV infection in Italy. *Ann. IST Super Sanita* 2010; 46(1): 34-41.

89-Nazida F. Laboratory test for detection of human Immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2: 637-45.

90-Korenromp EL, Williams BG, Schmid GP, Dye C. Clinical prognostic value of RNA viral load and CD4 cell counts during untreated HIV-1 infection--a quantitative review. *PLoS One* 2009; 17; 4(6): e5950.

91- Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. March 2012. Available at <http://www.aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>

92-Hirsch MS, Günthard HF, Schapiro JM, *et al.* International AIDS Society-USA. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: 2008 recommendations of an International AIDS Society- USA panel. *Top HIV Med* 2008; 16(3): 266-85.

93- Sourav S, Tripathy SP, Paranjape RS. Antiretroviral drug resistance testing. *J Postgrad Med* [serial online] 2006 [cited 2007 Apr 10];52:187-93.

94- Gallant JE. Antiretroviral drug resistance and resistance testing. *Top HIV Med.* 2005 Dec-2006 Jan;13(5):138-42

95- Kozal M. Overview of HIV drug resistance testing assays. Available from: <http://www.uptodate.com/>

96- Li JZ, Paredes R, Ribaud HJ, *et al.* Low-Frequency HIV-1 Drug Resistance Mutations and Risk of NNRTI-Based Antiretroviral Treatment Failure: A Systematic Review and Pooled Analysis. *JAMA* 2011; 305(13): 1327-35.

97- Johnson JA, Li JF, Wei X, *et al.* Minority HIV-1 drug resistance mutations are present in antiretroviral treatment-naïve populations and associate with reduced treatment efficacy. *PLoS Med* 2008; 5(7): e158.

98- Dolin R, Masur H, Saag M. (2008) *AIDS Therapy*. Third edition. Churchill Livingstone Elsevier.

99-Afacan Y, Menteş UT. (2007) AIDS Tedavisi. *J Int Med Sci* 2007, 3(28)

100- Roy M. Gulick, MD, MPH (2010). Antiretroviral Treatment 2010: Progress and Controversies. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 55:S43-S48

101- World Health Organization. Antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents: recommendations for a public health approach. 2010 revision. Available at: <http://www.who.int/hiv/pub/arv/adult2010/en/index.html>

102- Gazzard BG, Anderson J, Babiker A, et al. (2008). British HIV Association guidelines for the treatment of HIV-1-infected adults with antiretroviral therapy. *HIV Med.*, 9:563–608.

103- Güliden Yılmaz , Kenan Midilli, Salih Türkoğlu, Zübeyir Bayraktaroğlu, A. Mert Kuşkucu, Emine Özkan, Leman Atasever, Semra Calangu, Kemal Altas. (2006) Genetic subtypes of human immunodeficiency virüs type 1 (HIV-1) in Istanbul, Turkey. *International Journal of Infectious Diseases*,10: 286—290

104- Douglas L. Mayers, Stephan A. Lerner, Marc Ouellette, Jack D. Sobel (2009) *Antimicrobial Drug Resistance Volume 1, Mechanism of Drug Resistance* . Humana Press.

105- Christian Hoffman, Jürgen K. Rockstroh, Bernd Sebastian Kamps (2007) *HIV Medicine 2007*. Flying Publisher.

106- Béthune MP. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), their discovery, development, and use in the treatment of HIV-1 infection: A review of the last 20 years (1989–2009) *Antiviral Research* 85 (2010) 75–90

107- Kohlstaedt, L.A., Wang, J., Friedman, J.M., Rice, P.A., Steitz, T.A., 1992. Crystal structure at 3.5Å resolution of HIV-1 reverse transcriptase complexed with an inhibitor. *Science* 256, 1783–1790.

108- European AIDS Clinical Society Guidelines Clinical Management and Treatment of HIV Infected Adults in Europe. Available http://www.europeanaidsclinicalsociety.org/guidelinespdf/1_Treatment_of_HIV_Infected_Adults.pdf

109- Wapling J., Moore K.L., Sonza S., Mak J., Tachedjian G. Mutations that abrogate human immunodeficiency virüs type 1 reverse transcriptase dimerization affect maturation of the reverse transcriptase heterodimer. *J. Virol.* (2005) 79 10247–10257.

110 -Kandathil A.J., Joseph A.P., Kannangai R. et al. HIV reverse transcriptase: structural interpretation of drug resistant genetic variants from India. *Bioinformation* (2009) 4 36–45.

111- Huang H., Harrison S.C., Verdine G.L. Trapping of a catalytic HIV reverse transcriptase*template: primer complex through a disulfide bond. *Chem. Biol.* (2000) 7 355–364.

112-Singh K, Marchand B, Kirby KA, et al. Structural aspects of drug resistance and inhibition of HIV-1 reverse transcriptase. *Viruses* 2010; 2 (2): 606-38

113-Sarafianos S.G., Das K., Ding J., Boyer P.L., Hughes S.H., Arnold E. Touching the heart of HIV-1 drug resistance: the fingers close down on the dNTP at the polymerase active site. *Chem. Biol.* (1999) 6 R137–R146.

114-El Safadi Y, Vivet-Boudou-V, Marquet R. HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Appl Microbiol and Biotechnol* 2007. do: 10.1007/s00253-007-0919-7.

115-Douglas L. Mayers, Stephan A. Lerner, Marc Ouellette, Jack D. Sobel (2009) *Antimicrobial Drug Resistance Volume 1, Mechanism of Drug Resistance* . Humana Press

116-Whitcomb J, Parkin N, Chappey C, Hellmann N, Petropoulos CJ. Broad NRTI cross-resistance in HIV-1 clinical isolates. *J Infect Dis* 2003;188:992–1000. [PubMed: 14513419]

117-Rhee S, Liu T, Holmes S, Shafer R. HIV-1 subtype B protease and reverse transcriptase amino acid covariation. *PLoS Comput Biol* 2007;3:e87. [PubMed: 17500586]

118-Miller M, Margot N, Lu B, et al. Genotypic and phenotypic predictors of the magnitude of response to tenofovir disoproxil fumarate treatment in antiretroviral-experienced patients. *J Infect Dis* 2004;189:837–46. [PubMed: 14976601]

119-De Luca A, Giambenedetto S, Trotta M, et al. Improved interpretation of genotypic changes in the HIV-1 reverse transcriptase coding region that determine the virologic response to didanosine. *J Infect Dis* 2007;196:1645–53. [PubMed: 18008248]).

120-de Ronde A., van Dooren M., van Der Hoek L. et al. Establishment of new transmissible and drug-sensitive human immunodeficiency virüs type 1 wild types due to transmission of nucleoside analogue-resistant virüs. *J. Virol.* (2001) 75 595–602.

121-Delaugerre C, Roudiere L, Peytavin G, Rouzioux C, Viard J, Chaix M. Selection of a rare resistance profile in an HIV-1-infected patient exhibiting a failure to an antiretroviral regimen including tenofovir DF. *J Clin Virol* 2005;32:241–4. [PubMed: 15722030]

122-Arion D., Parniak M.A. HIV resistance to zidovudine: the role of pyrophosphorolysis. *Drug Resist. Updat.* (1999) 291–95

123-Winters MA, Coolley KL, Girard YA, et al. A 6-basepair insert in the reverse transcriptase gene of human immunodeficiency virüs type 1 confers resistance to multiple nucleoside inhibitors. *J Clin Invest* 1998; 102 (10): 1769-75

124-Iversen A, Shafer R, Wehrly K, et al. Multidrug-resistant HIV-1 strains resulting from combination

antiretroviral therapy. *J Virol* 1996;70:1086–90. [PubMed: 8551567]

125-Ren J, Stammers DK. Structural basis for drug resistance mechanisms for non-nucleoside inhibitors of HIV reverse transcriptase. *Virüs Res* 2008; 134 (1-2): 157-7

126-Sluis-Cremer N, Tachedjian G. Mechanisms of inhibition of HIV replication by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Virüs Res* 2008; 134 (1-2): 147-56

127-Vingerhoets J, Tambuyzer L, Azijn H, et al. Resistance profile of etravirine: combined analysis of baseline genotypic and phenotypic data from the randomized, controlled Phase III clinical studies. *Aids* 2010; 24 (4): 503-14

128-Sluis-Cremer, N.; Tachedjian, G. (2008), "Mechanisms of inhibition of HIV replication by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors", *Virüs research* **134**(1–2): 147 156, doi:10.1016/j.virüsres.2008.01.002, PMC 2745993, PMID 18372072

129-Johnson VA, Brun-Vézinet F, Clotet B, Günthard HF, Kuritzkes DR, Pillay D, Schapiro JM, Richman DD. Update of the drug resistance mutations in HIV-1. *Top HIV Med.* 2007 Aug-Sep;15(4):119-25.

130-Rhee S, Taylor J, Wadhera G, Ben-Hur A, Brutlag D, Shafer R. Genotypic predictors of HIV-1 drug

resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:17355–60. [PubMed: 17065321]

131-Vingerhoets J, Azijn H, Fransen E, et al. TMC125 displays a high genetic barrier to the development of resistance: evidence from in vitro selection experiments. *J Virol* 2005;79:12773–82. [PubMed:16188980]

132-Bachelor L, Jeffrey S, Hanna G, et al. Genotypic correlates of phenotypic resistance to efavirenz in virüs isolates from patients failing NNRTI therapy. *J Virol* 2001;75:4999–5008. [PubMed:11333879]

133-Martinez-Cajas J.L., Wainberg M.A. Protease inhibitor resistance in HIV-infected patients: molecular and clinical perspectives. *Antiviral Res.* (2007) 76 203–221.

134-Parkin N, Gupta S, Chappey C, Petropoulos C. The K101P and K103R/V179D mutations in HIV-1 reverse transcriptase confer resistance to NNRTI. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:351–4.[PubMed: 16377709]

135-Balzarini J, Pelemans H, Esnouf R, De Clercq E. A novel mutation (F227L) arises in the reverse transcriptase of HIV-1 on dose-escalating treatment of HIV type 1-infected cell cultures with the NNRTI thiocarboxanilide UC-781. *AIDS Res Hum Retrovirüs* 1998;14:255–60. [PubMed: 9491916]

136-Huang W, Parkin N, Lie Y, et al. A novel HIV-1 RT mutation (M230L) confers NNRTI resistance and dose-dependent stimulation of replication. *Antivir Ther* 2000;5(Suppl 3):2425.

137-Jahanbakhsh F, Hattori J, Matsuda M, Ibe S, Monavari SH, Memarnejadian A, Aghasadeghi MR, Mostafavi E, Mohraz M, Jabbari H, Kamali K, Keyvani H, Azadmanesh K, Sugiura W. Prevalence of transmitted HIV drug resistance in Iran between 2010 and 2011. *PLoS One*. 2013 Apr 23;8(4):e61864.

138-Gonzales M.J., Machekano R.N., Shafer R.W. Human immunodeficiencyvirüs type 1 reverse-transcriptase and protease subtypes: classification, amino acid mutation patterns, and prevalence in a northern California clinic-based population. *J. Infect. Dis.* (2001) 184 998–1006.

139-Kantor R., Fessel W.J., Zolopa A.R. et al. Evolution of primary protease inhibitor resistance mutations during protease inhibitor salvage therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* (2002) 46 1086–1092.

140-Kantor R. (2006). Impact of HIV-1 pol diversity on drug resistance and its clinical implications. *Curr Opin Infect Dis*, 19:594-606.

141-Kantor R., Machekano R., Gonzales M.J., Dupnik K., Schapiro J.M., Shafer R.W. Human Immunodeficiency Virus Reverse Transcriptase and Protease Sequence Database: an expanded data model integrating natural language text and sequence analysis programs. *Nucleic Acids Res.* (2001) 29 296–299.

142-Vercauteren J, Wensing AM, van de Vijver DA, Albert J, Balotta C, Hamouda O, Kücherer C, Struck D, Schmit JC, Asjö B, Bruckova M, Camacho RJ, Clotet B, Coughlan S, Grossman Z, Horban A, Korn K, Kostrikis L, Nielsen C, Paraskevis D, Poljak M, Puchhammer-Stöckl E, Riva C, Ruiz L, Salminen M, Schuurman R, Sonnerborg A, Stanekova D, Stanojevic M, Vandamme AM, Boucher CA. Transmission of drug-resistant HIV-1 is stabilizing in Europe. *J Infect Dis.* 2009 Nov 15;200 (10):1503-8

143-Tebit DM, Sangaré L, Tiba F, Saydou Y, Makamtse A, Somlare H, Bado G, Kouldiaty BG, Zabsonre I, Yameogo SL, Sathiandee K, Drabo JY, Kräusslich HG. Analysis of the diversity of the HIV-1 pol gene and drug resistance associated changes among drug-naïve patients in Burkina Faso. *J Med Virol.* 2009 Oct;81(10):1691-701.

144-Monge S, Guillot V, Alvarez M, Peña A, Viciano P, García-Bujalance S, Pérez Elias MJ, Iribarren JA, Gutiérrez F, Itziar Casado M, Garcia F; CoRIS. Analysis of transmitted drug resistance in Spain in the years 2007–2010 documents a decline in mutations to the non-nucleoside drug class. *Clin Microbiol Infect.* 2012 Nov; 18(11):E485-90.

145-Wolf, K., Walter, H., Beerenwinkel, N., Keulen, W., Kaiser, R., Hoffmann, D., Lengauer, T., Selbig, J., Vandamme, A.M., Korn, K., Schmidt, B. Tenofovir resistance and resensitization. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2003 47;3478-3484.

146-Kuritzkes, D.R., Shugarts, D., Bakhtiari, M., Poticha, D., Johnson, J., Rubin, M., Gingeras, T.R., Kennedy, M., Eron, J.J. Emergence of dual resistance to

zidovudine and lamivudine in HIV-1-infected patients treated with zidovudine plus lamivudine as initial therapy. J Acquir Immune Defic Syndr 2000 23;26-34.

147-Picard, V., Angelini, E., Maillard, A., Race, E., Clavel, F., Chene, G., Ferchal, F., Molina, J.M. Comparison of genotypic and phenotypic resistance patterns of human immunodeficiency virus type 1 isolates from patients treated with stavudine and didanosine or zidovudine and lamivudine. The Journal of infectious diseases 2001 184;781-784.

148-Hirsch MS, Brun-Vezinet F, Clotet B, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adults infected with human immunodeficiency virus type 1: 2003 recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. *Clin Infect Dis* 2003; 37:113–28.

149-Sax PE, Islam R, Walensky RP, et al. Should resistance testing be performed for treatment-naïve HIV-infected patients? A cost-effectiveness analysis. *Clin Infect Dis* 2005; 41:1316–23

150-Hecht FM, Grant RM. Resistance Testing in Drug-Naïve HIV-Infected Patients: Is it Time? *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41:1324–5

151-DiazGranados CA, Mantilla M, Lenis W. Antiretroviral drug resistance in HIV-infected patients in Colombia. *Int J Infect Dis.* 2010 Apr;14(4):e298-303.

152-Shah S, Xing H, Altaf A, Chen B, Liao L, Jia Y, Vermund SH, Shao Y. Antiretroviral Drug Resistance Mutations Among Treated and Treatment-Naïve Patients in Pakistan: Diversity of the HIV Type 1 pol Gene in Pakistan. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2011 Dec;27(12):1277-82.

153-Pérez L, Kourí V, Alemán Y, Abrahantes Y, Correa C, Aragonés C, Martínez O, Pérez J, Fonseca C, Campos J, Álvarez D, Schrooten Y, Dekeersmaeker N, Imbrechts S, Beheydt G, Vinken L, Soto Y, Álvarez A, Vandamme AM, Van Laethem K. Antiretroviral drug resistance in HIV-1 therapy-naïve patients in Cuba. *Infect Genet Evol.* 2013 Jun;16:144-50.

154-<http://www.thebodypro.com/content/art48966.html>

155-<http://hivbook.com/category/part-1-the-basics/3-pathogenesis-of-hiv-1-infection/>

156-Victoria A. Johnson, MD, Françoise Brun-Vézinet, MD, PhD, Bonaventura Clotet, MD, PhD, Huldrych F. Günthard, MD, Daniel R. Kuritzkes, MD, Deenan Pillay,

MD, PhD, Jonathan M. Schapiro, MD, and Douglas D. Richman, MD (2010) Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1: December 2010. *Top HIV Med.*, 18(5):156-163

157-<http://www.docstoc.com/docs/9860243/antiretroviral-drug-chart---PDF>

158-Stanford University HIV Drug Resistance Database. Mutation list available at: <http://sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra>

159-Sierra S, Kaiser R, Lübke N, Thielen A, Schüller E, Heger E, Daumer M, Reuter S, Esser S, Fatkenheuer G, Pfister H, Oette M, Lengauer T (2011). Prediction of HIV-1 coreceptor usage (tropism) by sequence analysis using a genotypic approach. *J Vis Exp.* 2011 Dec 1;(58).

HAM VERİLER

FORMLAR

-Etik Kurul Kararı

ETİK KURUL KARARI



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



Toplantı Tarihi : 07/09/2010

Toplantı Yeri : Behçet Kütüphanesi Etik Değerlendirme Komisyonu Toplantı Salonu

Toplantı Sayısı : 05

Sorumlu araştırmacılığını Fakültemiz Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Ali AĞAÇFIDAN'ın üstlendiği ve doktora öğrencisi M.Osman KÖKSAL'ın yürüteceği 2010/583-135 dosya numaralı "HIV-1 Pozitif Erişkin Hastalarda Virus Tiplendirmesi ve Direnç Belirlenmesi" başlıklı tez çalışması komisyonumuzca incelendi.

Etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklendiği takdirde uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Prof.Dr. Demir TİRYAKİ
Biyofizik (Emekli)

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

Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK
İstanbul Üniversitesi

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

M. Kerim AKMAN
İİBF İktisat Bölümü (Özel)

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

[Signature]

PATENT HAKKI İZİNİ

TELİF HAKKI İZNİ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Muammer Osman	Soyadı	Köksal
Doğ.Yeri	Üsküdar	Doğ.Tar.	15.04.1982
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	33613794332
Email	virology@hotmail.com	Tel	05543904957

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi	2014
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi	2007
Lisans	İ.Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2003
Lise	Trabzon Lisesi	1998

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

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

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

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin