

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ VE ENFEKSİYON
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŞİNDE SERUM
ALFA DEFENSİN-1 DÜZEYLERİNİN KLİNİK SEYİR VE
PROGNOZ İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Meral BAYAR

**Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet PARLAK**

**Uzmanlık Tezi
ERZURUM-2015**

İÇİNDEKİLER

ONAY.....	III
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	V
KISALTMALAR	VII
TABLOLAR DİZİNİ.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
GRAFİKLER DİZİNİ.....	XI
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi.....	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Tarihçe	3
2.1.3. Epidemiyoloji.....	4
2.1.4. Bulaş Yolları	6
2.1.5. Virüsün Yapısı ve Replikasyonu	7
2.1.6. Vektör Olarak Keneler	9
2.1.7. Patogenez	10
2.1.8. Klinik	12
2.1.9. Tanı	13
2.1.10. Ayırıcı Tanı.....	15
2.1.11. Tedavi	15
2.1.12. Mortalite Belirleyicileri	17
2.1.13. Aşı Çalışmaları	17
2.2. Defensinler.....	17
2.2.1. Genel Özellikleri.....	17
2.2.2. Antimikrobiyal Peptidlerin Yapısı.....	18
2.2.3. Antimikrobiyal Peptidlerin Sentezlenmesi	19
2.2.4. Antimikrobiyal Peptidlerin Etki Spektrumları.....	20
2.2.5. Antimikrobiyal Peptidlerin Etki Mekanizmaları	20
2.2.6. Antimikrobiyal Peptidlere Karşı Direnç Mekanizmaları.....	22

2.2.7. β -defensinler	23
2.2.8. θ -defensinler	24
2.2.9. α -defensinler	24
2.2.10. Alfa Defensinlerin Antimikrobiyal Etkileri	26
2.2.11. Defensinlerin Antiviral Mekanizmaları	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Hasta Seçimi	33
3.2. Çalışmanın Yöntemi	33
3.3. Serum AD-1 Düzeyinin Ölçümü	34
3.4. İstatistiksel Analiz.....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. Demografik ve Epidemiyolojik Bulgular	36
4.2. Semptomlar	37
4.3. Fizik Muayene Bulguları	38
4.4. Laboratuvar Bulguları.....	38
4.5. Serum AD-1 Seviyeleri.....	39
4.5.1. Yaş, Cinsiyet, Sonuç ve Semptomların Başlamasından Çalışma Kanı Alınmasına Kadar Geçen Süreye Göre Serum AD-1 Düzeylerinin Hastalar Arasındaki Karşılaştırılması	39
4.5.2. Hastaların Bazı Klinik Özelliklerine Göre Serum AD-1 Seviyelerinin Karşılaştırılması	40
4.5.3. Hastalar ve Sağlıklı Kontrol Grubu Arasında Serum AD-1 Seviyelerinin Karşılaştırılması	41
4.5.4. Hastaların Eş Zamanlı Çalışılan Laboratuvar Bulgularının Serum AD-1 Düzeyleri ile Karşılaştırılması	42
5. TARTIŞMA.....	44
KAYNAKLAR	55
EKLER	62
EK 1. KKKA HASTA TAKİP FORMU	62
EK 2. GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU.....	63

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığının 07.05.2012 tarih ve 116 sayılı yazısı ile araştırma görevlisi Dr. Meral Bayar'a ait "Kırım-Kongo Kanamalı Ateşinde Serum Alfa Defensin - 1 Düzeylerinin Klinik Seyir ve Prognoz ile İlişkisi" konulu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 24.05.2012 tarihli 21 sayılı oturumunun 5 sayılı kararı ile Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Kurulu'nun 16.05.2012 tarihli 2 sayılı oturumunun 23 sayılı kararı ile tez konu çalışmasının kabulüne ve tez yöneticiliğini Prof. Dr. Mehmet Parlak'ın yürütmesine oy birliği ile karar verilmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince hoşgörü ve emeklerini esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanı ve tez hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet PARLAK'a, kliniğimizin değerli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Zülal ÖZKURT'a, Sayın Doç. Dr. Kemalettin ÖZDEN'e, Sayın Doç. Dr. Ayşe ALBAYRAK'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Emine PARLAK'a

Laboratuvar çalışmalarında önerilerini ve yardımlarını sakınmayan AÜTF Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Hülya AKSOY'a, Arş. Gör. Dr. Esra LALOĞLU'na, istatistik çalışmalarında bilgi ve emeğinden faydalandığım Halk Sağlığı Anabilim Dalı Arş. Gör. Dr. Sinan YILMAZ'a

Kliniğimizde birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, tüm hemşire ve personel arkadaşlarıma,

Her zaman desteğiyle yanımda olan eşim Celal BAYAR'a ve çok sevgili çocuklarım Zeyneb Sude ve Agah Furkan'a teşekkür ederim.

Dr. Meral BAYAR

ÖZET

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) ateş ve kanama ile seyreden, bazen mortaliteye de neden olabilen zoonotik viral bir enfeksiyondur. Alfa defensin-1(AD-1) geniş antimikrobiyal aktivitesi olan, nötrofil azurofilik granüllerden salgılanan doğuştan bağışıklık sisteminin önemli bir parçası olan antimikrobiyal peptidlerdir.

Bu çalışmanın amacı KKKA'da AD-1 düzeylerinin klinik seyir ve prognoz ile ilişkisini araştırmak, ayrıca patogenezdaki rolünü incelemektir.

Çalışmaya Mart 2012-Ağustos 2012 döneminde tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümünde yatarak takip edilen ve RT-PCR ve /veya ELİSA yöntemiyle KKKA tanısı almış 50 hasta alındı.

Hastalar daha önceden tanımlanmış ağırlık kriterlerine göre 18'i (%36) ağır, 16'sı (%32) orta, 16'sı (%32) hafif olarak gruplandırıldı. Hastalarla (50), kontrol grubunun (38) serum AD-1 düzeylerinin karşılaştırılmasında ortalama AD-1 düzeyleri hasta grubunda $126,00 \pm 30,54$ ng/ml, kontrol grubunda ise $112,24 \pm 24,48$ ng/ml olup hastalarda kontrol grubundan daha yüksekti ($p=0.017$). Ölen (4) ve sağ kalan (46) hastalara göre serum AD-1 düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldığında; ortalama AD-1 değeri ölen hasta grubunda 179.95 ± 54.31 ng/ml, sağ kalan hasta grubunda 121.32 ± 23.20 ng/ml idi ($p=0,014$). Hastalığın seyrine göre, hafif seyirli hastalarla kontrol grubunun AD-1 değerleri arasında anlamlı fark yoktu ($p=0,118$). Orta klinik seyirli hastalar ile kontrol grubu AD-1 ortalamaları açısından anlamlı ilişki yoktu ($p=0.116$). Ağır seyirli hastalar ($131,38 \pm 36,95$) ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardı ($p=0,034$).

Sonuç olarak KKKA'da serum AD-1 salınımının arttığı, ağır seyirli hastalarda ve ölen hastalarda seviyelerinin daha yüksek seyrettiği tespit edilmiştir. Bundan yola çıkarak AD-1'in KKKA'nde klinik seyir ve mortalite hakkında yol gösterici olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda genelleme yapmak için daha geniş çaplı araştırmalar yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi, Antimikrobiyal peptidler, α -defensin-1.

ABSTRACT

Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) is a viral zoonotic infections characterized by fever, bleeding and sometimes it may also cause mortality. Alpha-defensin-1 (AD-1), secreted from azurophilic neutrophil granules as a member of antimicrobial peptides, is an important part of the innate immune system with a broad antimicrobial activity.

The aim of this study was to investigate the relationship between the clinical course and prognosis of CCHF in the AD-1 serum levels also examine the role in CCHF pathogenesis.

Fifty CCHF diagnosed patients hospitalized at Atatürk University Faculty of Medicine Infectious Diseases and Clinical Microbiology from March 2012 to August 2012 were included in the study. We used RT-PCR and / or ELISA method for diagnosing. When we compared the AD-1 serum levels of patients ($126,00 \pm 30,54$ ng/ml) with control group AD-1 serum levels ($112,24 \pm 24,48$ ng/ml) it was found that, AD-1 serum levels of patients were significantly higher than control group ($p=0.017$). Looking at the average value of the serum AD-1 levels in patients who died (4) and survived (46), the results were 179.95 ± 54.31 ng/ml in died patients and 121.32 ± 23.20 ng/ml in survived patients ($p=0,014$).

Comparing serum AD-1 levels according to the clinical course of the disease, there was no significant difference between control group and the mild patients ($p=0,118$) And also there was no statistically significant data between control group and mild /severe patients ($p=0.116$). But there was significant difference between severe patients ($131,38 \pm 36,95$) and control group ($p=0,034$).

As a result of increased serum AD-1 secretion in CCHF, it was found that the serum AD-1 levels remained higher in severe patients and died patients. According to these results the AD-1 is thought to be an alarming clinical course and guidance about mortality. More extensive research should be done to make generalizations on this subject.

Key words: Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Antimicrobial peptides, α defensin-1

KISALTMALAR

ALT	: Alanin aminotransferaz
ARB	: Aside dirençli basil
aPTT	: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
AST	: Aspartat aminotransferaz
BD	: β -defensin
BAL	: Bronkoalveolar lavaj
C	: Kompleman
CDC	: ABD hastalık kontrol ve önleme merkezi
CMV	: Cytomegalovirüs
CPK	: Kreatin fosfokinaz
ÇİD	: Çoklu ilaç direnci
DEFA	: Defensin alfa
DIC	: Yaygın damar içi pıhtılaşma
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FDA	: Food and Drug Administration
GIS	: Gastrointestinal sistem
HAdV	: Human adenovirüs
HELLP	: Hemolysis liver elevated enzymes low platelets
HIV	: Human immunodeficiency virus
HNP	: İnsan nötrofil peptid
HPV	: Human papilloma virüs
HÜS	: Hemolitik üremik sendrom
HSV	: Herpes simplex virüs
IAV	: Influenza A virüs
IFA	: Immunofluorescence assay
IFN	: İnterferon
IMDDCs	: İmmatür monosit türevli dentritik hücre
IL	: İnterlökin
INR	: International normalization ratio

VIII

ITP	: Immun trombositopenik purpura
TTP	: Trombotik trombositopenik purpura
TNF	: Tümör nekroz faktör
KKKA	: Kırım-Kongo kanamalı ateşi
KKKAV	: Kırım-Kongo kanamalı ateşi virüsü
L	: Large
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LPS	: Lipopolisakkarit
LTA	: Lipoteikoikasit
M	: Medium
m	: Mesajcı
MODS	: Çoklu organ yetmezlik sendromu
MIC	: Minimum inhibitör konsantrasyon
N	: Nükleokapsit protein
NK	: Doğal öldürücü hücreler, Natural killer
PAI	: Plazminojen aktivatör-inhibitör
PLT	: Trombosit
PMN	: Polimorfonükleer lökosit
PKC	: Protein kinaz C
PT	: Protrombin zamanı
RNA	: Ribonükleik asit
RT-PCR	: Real Time Reverse Transcription Polimerase Chain Reaction
S	: Small
SIRS	: Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
TDP	: Taze donmuş plazma
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TTP	: Trombotik trombositopenik purpura
VKA	: Viral kanamalı ateş
WBC	: Beyaz küre

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Hasta-Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Dağılımı	36
Tablo 3. KKKA Tanısı ile Takip Edilen Hastaların Semptomları	37
Tablo 4. KKKA Olgularının Fizik Muayene Bulguları	38
Tablo 5. Hastalara Ait Çeşitli Laboratuvar Bulguları	39
Tablo 6. Hastaların Cinsiyet, Sonuç, Klinik Seyir ve Çalışma Gününe Göre AD-1 Değerlerinin Karşılaştırılması.....	40
Tablo 7. Hasta Grubu ile Kontrol Grubu Arasındaki AD-1 Değerlerinin Karşılaştırılması.....	41
Tablo 8. Ölen ve Sağ Kalan Hastaların Serum AD-1 Seviyeleri ile Kontrol Grubu AD-1 Değerlerinin Karşılaştırılması.....	41
Tablo 9. Klinik Şiddete Göre Hasta Gruplarının ve Kontrol Grubunun AD-1 Değerlerinin Karşılaştırılması.....	42
Tablo 10. Hastaların Eş Zamanlı Çalışılan Laboratuvar Test Sonuçlarının Serum AD-1 Düzeyleri ile Korelasyonu.....	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. KKKA viriyonunun şematik gösterilmesi	7
Şekil 2. KKKAV Replikasyonu.....	8
Şekil 3. <i>Hyalomma</i> kenelerinin iki konutlu yaşam döngüsü.	10
Şekil 4. KKKA'nın Klinik ve Laboratuvar Seyri	12
Şekil 5. HNP-1'in yapısı.....	18
Şekil 6. Defensin peptidler ve genleri.	20
Şekil 7. Defensin aktivitesi.	22
Şekil 8. Defensinlerin major antiviral mekanizmaları.	30

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 2002-2013 KKKAH mortalite hızları	5
Grafik 2. Semptomlar	38

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA), Kırım-Kongo kanamalı ateşi virüsü (KKKAV) ile oluşan, ani gelişen ateş ve kanama ile seyreden şok ve ölüme de neden olabilen ciddi seyirli bir hastalıktır. Etken, *Bunyaviridae* ailesinin *Nairovirus* türündendir. Vektörü *Hyalomma* türünden keneler, özellikle de *H.marginatum marginatum* cinsi kenelerdir.

Hastalığın seyri esnasında gelişen koagülasyon ve fibrinoliz klinikte peteşi, ekimoz, mukozal kanama ve venöz ponsiyon bölgelerinde kontrol edilemeyen kanamalar şeklinde kendini gösterir. KKKA'da esas hedef hücreler monositler, endotel hücreleri ve hepatositlerdir. Makrofaj aktivasyonu ve hemofagositoz olası patolojik süreçlerdir. Sonuçta vasküler hasar nedeniyle başlayan kapiller permeabilite artışı ve pıhtılaşma fonksiyon bozuklukları kanamaya eğilim oluşturmaktadır. Ölümcül olgularda inflamatuvar mediatörler önemli rol oynamaktadır. Kanama ölümlerin en sık sebebidir. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşinde son yıllarda yapılan araştırmalara rağmen patogenezin altında yatan mekanizmalar yeterince aydınlatılamamıştır. KKKA'nde bağışıklık sistemi hastalıktan iyileşmede önemlidir. KKKA nedeniyle ölen hastalarda antikor yanıtının yetersiz olduğu bildirilmektedir.

Antimikrobiyal peptidler doğuştan bağışıklık sisteminin bir parçası olup genlerle kodlanan doğal antibiyotiklerdir. Bu peptidler küçük katyonik, 12-50 aminoasit içeren geniş spektrumlu mikrobisidal aktiviteye sahip moleküllerdir. Memelilerde en önemli antimikrobiyal peptid grubu defensinlerdir. Alfa defensinler kemik iliğindeki nötrofil öncül hücrelerinde sentezlenir, daha sonra dolaşımdaki nötrofillerde biyoaktif molekül olarak saklanır. Defensinler Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere, mikobakterilere, mantarlara karşı erken konak savunmasında önemli bir rol oynar. Bununla beraber defensinlerin antiviral özellikleri hem zarflı hem de zarfsız virüslere karşı aktiviteleri bir çok çalışmada dökümanite edilmiştir.

Viral Kanamalı Ateşlerde defensin düzeyleri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızın amacı, KKKA'nde serum AD-1 düzeylerini sağlıklı kişilerle karşılaştırmak, klinik seyir ve prognozundaki rolünü ortaya koymak, hastalık

sürecinin anlaşılmasına katkı sağlamaktır. Buradan yola çıkarak henüz etkili bir tedavisi olmayan hastalığın tanı ve tedavisin gelişimine katkı sağlanması düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi

2.1.1. Tanım

Kırım-Kongo kanamalı ateşinin (KKKA) etkeni, *Bunyaviridae* ailesinin *Nairovirus* cinsine mensup bir RNA virüsüdür. Afrika, Asya, Güney Doğu Avrupa ve Orta Doğu başta olmak üzere 30'dan fazla ülkede hastalık etkenidir. Virus insanlara ya infekte kenelerin tutunması ile ya da viremik hayvanlara ait kan, doku ve vücut sıvıları ile temasla bulaşmaktadır. Başka bir bulaşma yolu nasokomiyal bulaştır (1). Ülkemizde görülen vakalarda mortalite hızı %5,2'dir (2). Başlangıçta görülen belirtiler ateş, başağrısı, halsizlik ve myaljidir. Kanama karakteristik olmasına rağmen ağır vakalarda gelişmektedir (3). Enfeksiyonun oluşması için 1-10 virüs alınması yeterlidir (4).

Viral kanamalı ateş, virüslerin neden olduğu, ani gelişen ateş ve kanama ile seyreden, ciddi seyirli hastalık tablosudur. Günümüzde kanamalı ateş oluşturan virüsler, *Filovirida* (Marburg, Ebola virüs), *Arenaviridae* (Lassa virüs, Junin, Machupo, Sabia, Guanarito virüsleri), *Bunyaviridae* (Kırım-Kongo kanamalı ateşi virüsü, Rift Vadisi ateşi ve Hanta virüs), *Flaviviridae* (Sarı humma virüsü, Deng virüsü, Kyasanur orman hastalığı, Akhumra KA, Omsk KA)'dır (1).

2.1.2. Tarihçe

Kırım-Kongo kanamalı ateşi tarihte ilk kez II. Dünya savaşı yıllarının yaz aylarında Batı Kırım'da tarımsal çalışmalara yardım eden Sovyet askerleri arasında görülmüş ve 200'den fazla asker etkilenmiştir. Hastalığın keneler ile bulaştığı tespit edilmiş, Kırım Kanamalı Ateşi adı verilmiştir. Daha sonraki yıllarda hastalığın Rusya, Orta Asya Cumhuriyetlerinde ve Balkan ülkelerinde de bilindiği anlaşılmıştır. Yapılan araştırmalarda virüs, *Hyalomma marginatum* kenesinde ve hastalığın akut döneminde kanda tespit edilmiştir. 1956 yılında Zaire'de ateşli bir hastadan Kongo virüsü izole edilmiştir. 1967 yılında iki virüsün aynı olduğu anlaşılmıştır (3).

1969 yılında ise Kongo virüsü ile Kırım Hemorajik Ateşi virüslerinin biyolojik olarak benzer yapıda olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucu olarak hastalık Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi adını almıştır. İleri araştırmalar hastalığın Doğu ve Batı Afrika’da da olduğunu göstermiştir. Aynı gruptan olan Hazara virüsü ilk kez Pakistan’da izole edilmiştir. KKKAV’ın Hazara virüsü ve Nairobi koyun virüsü ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Günümüzde bu virüsler Nariovirüs cinsini oluşturmaktadır (5).

İlerleyen yıllarda hastalığın Bulgaristan, Pakistan, Irak, Büyük Sahra’nın güneyindeki Afrika ülkeleri, eski Sovyetler Birliği, Yugoslavya, Yunanistan, Arabistan Yarımadası, Dubai, Kuveyt ve Kuzeybatı Çin’de epidemiler yaptığı bildirilmiştir (5).

Aslında hastalık 12. yüzyılda Tacikistanlı bir hekim tarafından kanamalarla ve ateşle seyreden tipik klinik tablosu ile tanımlanmıştır. Özbekistan’da yöresel adı ile hastalık yıllarca “Khungripta(kan alımı)”, “Khunymuny(burun kanaması)”, “Karahalak (kara ölüm)” gibi isimlerle anılmıştır (6).

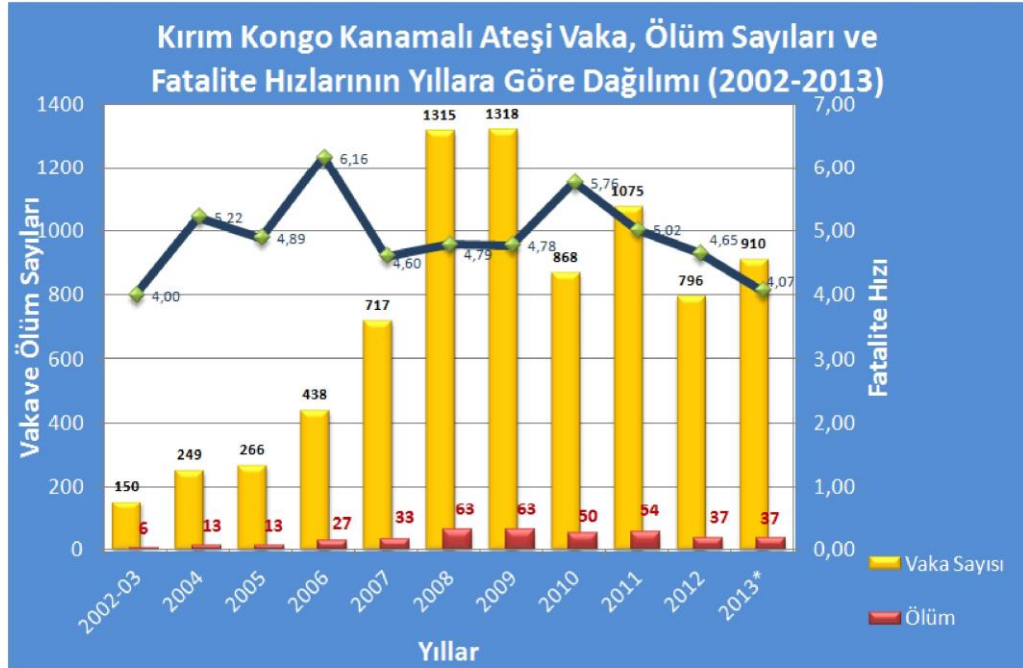
2.1.3. Epidemiyoloji

KKKA, dünya coğrafyasında görülen en sık viral kanamalı ateştir. 1970’lerden önce olguların çoğu Kırım, Astrahan, Rostov, Özbekistan, Kazakistan, Tacikistan, Bulgaristan, Zaire (Congo) ve Uganda’dan bildirilmiştir. 1975- 2000 yılları arasında Güney Afrika Cumhuriyeti, Kongo, Moritanya, Burkina Faso, Tanzanya, Senegal’ den birçok çalışma sunulmuş, Ortadoğu ülkelerinden Irak, Pakistan, Birleşik Arab Emirlikleri, Suudi Arabistan, Umman Sultanlığı ve Çin’den önemli sayıda olgu raporlanmıştır. 2000 yılı itibarıyla Pakistan, İran, Senegal, Arnavutluk, Yugoslavya, Bulgaristan, Türkiye, Kenya ve Moritanya’da ve Yunanistan’da yeni salgınlar tespit edilmiştir. KKKA, Balkan yarımadasında ve Romanya’da endemiktir (7).

Ülkemizde ilk olarak 2002 yılının ilkbahar ve yaz aylarında başta Tokat, Sivas, Çorum, Amasya, Yozgat, Gümüşhane, Bayburt, Erzurum, Erzincan ve çevresi olmak üzere İç ve Doğu Anadolu Bölgelerinin kuzeyi ile Karadeniz Bölgesi’nin güney kesimlerini kapsayan geniş bir coğrafi alanda kene teması öyküsü olan, ateş ve kanama ile seyreden salgın dikkat çekmiştir. 2003 yılında da hastalığın KKKA olduğu

anlaşılmıştır. Hastalık her yıl Mayıs-Eylül aylarında görülmekte olup Temmuz ayında pik yapmaktadır (6). Türkiye’deki KKKA virüs suşlarının, Rusya ve Kosova suşları ile %95-98 homoloji gösterdiği tespit edilmiştir (8).

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Zoonotik Hastalıklar Daire başkanlığının verilerine göre 2013 yılında 910 vaka tespit edilmiş, bu vakaların, 37’si ölüm ile sonuçlanmış. İnsidans hızı 100.000’de 1.20, vaka fatalite hızı %4.07 olarak hesaplanmıştır. Türkiye’de 2002-2013 yılları arasında KKKA vaka sayıları ve mortalite hızları aşağıdaki grafiktedir (9).



Grafik 1. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 2002-2013 KKKAH mortalite hızları(9)

Hastalar, aktif çalışma yaşında olan, bu nedenle keneye daha çok maruz kalan, tarım ve hayvancılıkla uğraşanlar arasında yoğunlaşmaktadır. Ülkemizde hastaların %90’ı çiftçidir ve hasta olarak başvuranların %60’ında kene öyküsü saptanmıştır. Sağlık çalışanları en çok etkilenen ikinci grubu oluşturmaktadır. Mezbaha ve çiftlik çalışanları da enfeksiyondan etkilenmektedirler. Ülkeler arasında, kadınların tarımsal çalışmalara katılma oranına bağlı olarak kadın ve erkek oranı farklılık gösterebilir. Türkiye’de bu oran hemen hemen eşittir (1).

2.1.4. Bulaş Yolları

Hastalık, insanlara kenelerin tutunması ile, enfekte olan insanların ve hayvanların kan, vücut sıvıları veya dokuları ile temasla bulaşmaktadır. Epidemiyolojik olarak en önemli bulaş yolu enfekte kenelerin kan emmesidir. Keneler hastalığın doğadaki esas taşıyıcısı ve rezervuarı olarak kabul edilmektedir. Virüs kenelerde ömür boyu (1-1,5 yıl), bazen nesiller boyu kalabilmekte ve çoğalabilmektedir. Evcil ve yabani hayvanlar ise virüsü ancak 7-10 gün barındırabilmektedir (10).

Hastanelerde nosokomiyal bulaşma önemlidir. Sağlık çalışanlarına KKKA'nın bulaşı ve ölümler, toplumlardaki salgınlar ile paralel olarak bildirilmektedir. Özellikle ağız, burun, dişeti, vajina, enjeksiyon yerinden kanaması olan hastaların takibi sırasında enfekte kan ile karşılaşma sonucu enfeksiyon riski %8.7, iğne batması durumunda risk %33 oranındadır. Perkütan yaralanma en yüksek bulaştırıcılığa neden olmaktadır. Anneden çocuğa geçiş de bildirilmiştir (1). Laboratuvar çalışanlarının enjektör, tıbbi malzeme gibi medikal aletlerin yetersiz sterilizasyonu veya hasta kanı ile korunmasız temas sonucu virüsü alabildikleri bildirilmiştir (11). Kişiden kişiye bulaş hastalığın ilk 7-10 günü boyunca olur (12). Hasta bakımında kullanılan standart bariyer yöntemleri KKKA bulaşmasını önlemede yeterlidir (12).

KKKA, mezbaha çalışanlarında enfekte hayvanların kesilmesi ve akabinde etin işlenmesi sırasında da hastalık bulaşabilir. Kesim sonrası kas dokusunun hızlı asidifikasyonu ile virüs inaktive olduğundan etin kendisi risk değildir ve et satın alan kişilerde enfeksiyon riski olmadığı düşünülmektedir (12). Enfeksiyonun aerosol ve /veya damlacık - hava yolu ile bulaşı Rusya'da bazı olgularda kuşullanılmış olsa da dökümanite edilmemiştir. Bu nedenlerden dolayı Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC), biyogüvenlik seviyesini dörde yükseltmiştir (11).

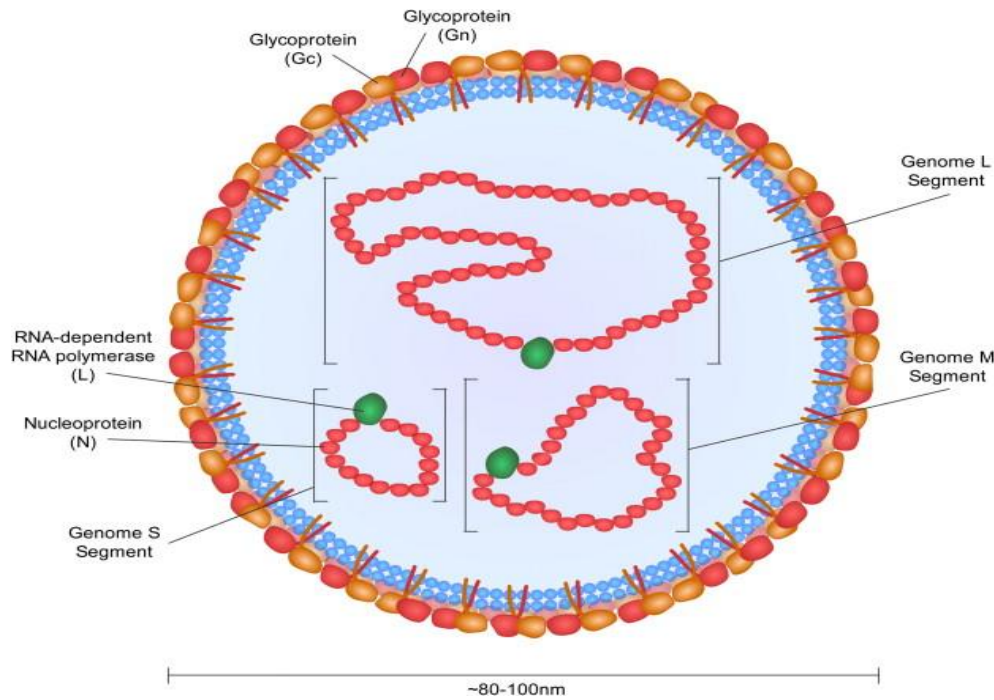
Nozokomiyal KKKA epidemilerinde mortalite oranları kene ısırığından sonra gelişmiş olgulara göre daha yüksektir. Sağlık çalışanlarında asemptomatik enfeksiyon görünüşte beklenmez (12). KKKAV vertebralılar arasında sadece insanlarda şiddetli ve fatal enfeksiyon oluşturmaktadır (13).

2.1.5. Virüsün Yapısı ve Replikasyonu

Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi virüsünü taşıyan *Hyalomma marginatum* adı verilen kene türünden 1960 yılında izole edilmiştir. Hastalığın etkeni *Arbovirüs*'lerin *Bunyavirüs* ailesinden, *Nairovirüs* soyundan tek sarmallı, zarflı RNA virüsüdür. Nairovirüs'ün 34 suşu olup 7 serogruba ayrılmaktadır (14).

Virüsün 4 yapısal protein sentezleyen 3 genomik yapısı mevcuttur. Bu proteinler hassas hücre reseptörleri aracılığı ile virüsü tanımlamaktadırlar:

1. Large segment (L): RNA-depended RNA polimeraz (L proteini kodlanır)
2. Medium segment (M): GN ve GC (önceleri G1 ve G2) glikoproteinleri kodlanır
3. Small segment (S): Nükleokapsit proteini (N) kodlanır (14).

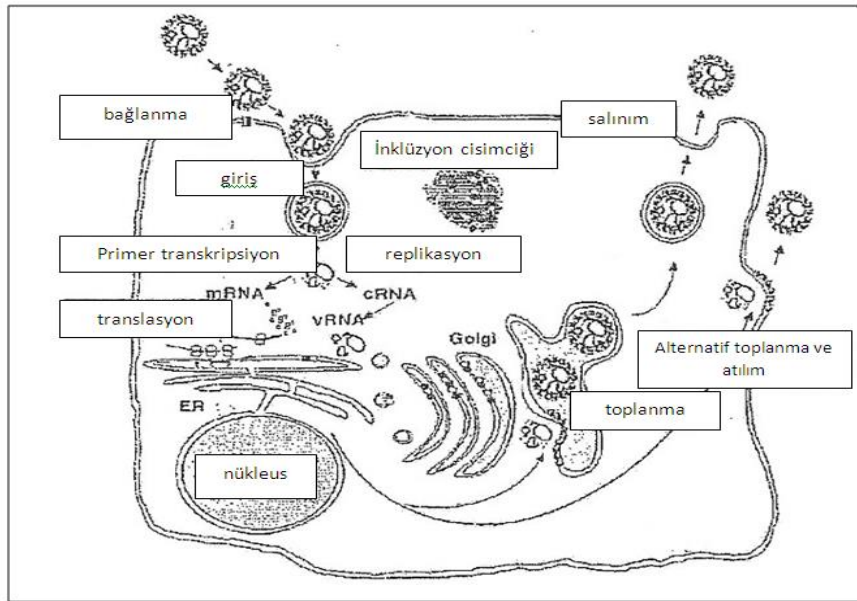


Şekil 1. KKKA viriyonunun şematik gösterilmesi (9)

Viral glikoproteinler GN ve GC'lerin işlevi, duyarlı hücrelerdeki reseptör bölgelerinin tanınmasıdır. Virüs, duyarlı olduğu hücreye yapıştıktan sonra endositozla

vezikül içerisinde hücre içine alınır. Replikasyon sitoplazmada gerçekleşir. Vezikül içindeki ortamın asitleşmesi ile glikoproteinlerin üç boyutlu yapısında değişiklikler ortaya çıkar ve virüsle vezikül membranının füzyonu gerçekleşir. GN golgi aygıtında, GC ise endoplazmik retikulumda bulunur. Daha sonra nükleokapsid sitoplazmaya serbestlenir (11).

Viral RNA polimeraz çıplak haldeki RNA'yı kalıp olarak kullanamaz. Konak hücre mRNA'larını kullanarak viral genlerin mRNA'sını oluşturur. Bu mRNA'lardan ilgili proteinler oluşur. Transkripsiyonun ardından replikasyon için tam uzunlukta cRNA'lar sentezlenir. cRNA'lar kalıp olarak kullanılıp komplementer genomik RNA'lar oluşturulur. İkincil mRNA'lar proteinlere dönüştürülür. M segmenti tarafından kodlanan glikoproteinlerin translasyonu sonucunda GC ve GN'nin öncülleri oluşturulur. Virüsler golgi aygıtı içinde toplanır ve tomurcuklanma yoluyla hücre içine geçerek oluşan virionlar veziküller içinde hücre yüzeyine taşınıp serbest hale gelirler (15).



Şekil 2. KKKAV Replikasyonu (8)

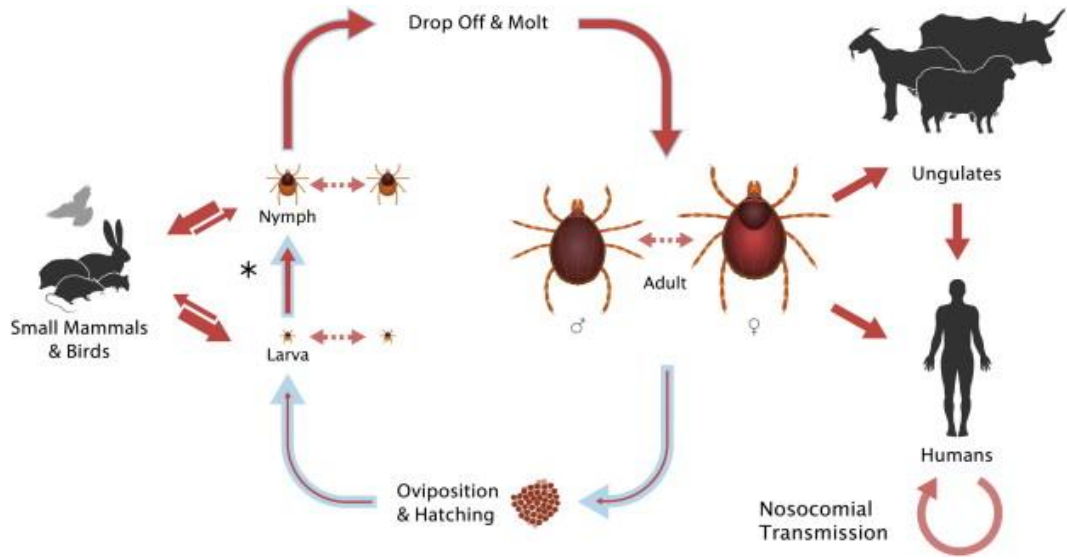
Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi virüsü, çevre koşullarına dayanıklı değildir. Kanda 40°C'de 10 gün yaşayabilirken, dondurulmuş tuzlu suda yıllarca hayatta kalabilir. Düşük pH ve ultraviyole ile hızla inaktif olur. Virüs 75°C'de 5 dakikada,

56°C'de 30 dakikada inaktive olur. Dezenfektanlardan %1 hipoklorid ve %2 glutaraldehide duyarlıdır (14).

2.1.6. Vektör Olarak Keneler

Virüs *Hyalomma* cinsi kenelerle, özellikle *Hyalomma marginatum marginatum* cinsi kenelerle bulaşmaktadır. Virüs ayrıca, *Hyalomma anatolicum anatolicum* ve *Rhipicephalus* cinsi kenelerden de izole edilmiştir. Virüsün farklı kene türlerinden izole edilmesi epidemiyolojik açıdan oldukça önemlidir. *Hyalomma* cinsi keneler belli bir enlemin üzerinde iklim koşullarının uygun olmaması nedeniyle yaşayamamaktadır (6).

Hyalomma marginatum marginatum 'un konak seçimi ve etkili vektörlük özelliği hastalığın yayılışını belirleyen önemli faktörlerdendir. *Hyalomma* türleri iki konutlu bir yaşam döngüsüne sahiptir. Larva ve nimf evreleri beslenmek için özellikle tavşan ve kirpi gibi küçük yabani hayvanlarla yerden beslenen karga, keklik, sığırcık gibi kuşları tercih etmektedirler. Nimf döneminde 2-3 hafta süreyle kan emip beslenirler ve doymuş nimf olarak toprağa düşerler. Bunlar çevre koşullarına bağlı olarak 4 ile 20 gün gibi bir sürede gömlek değiştirip aç erişkin haline gelirler. Bu erişkin keneler toprakta ya da bodur bitkiler altında gizlenerek, hayvanların yaydığı titreşim, ısı ve amonyak, butirik asit, laktik asit gibi kokularla yabani, evcil hayvanlar ve insan gibi konaklarına yönelerek kendilerine uygun konağa tutunurlar. Bu konaklarda 9-14 gün boyunca kan emer ve burada çiftleşir. Doyan dişi keneler toprağa düşer ve 7000 kadar yumurta bırakıp ölürler. Kışın doymuş nimf ya da aç erişkin olarak inaktif halde bulunan keneler havaların ısınmasıyla tekrar aktif hale gelirler (10,16).



Şekil 3. *Hyalomma* kenelerinin iki konutlu yaşam döngüsü (9)

Erişkin keneler Mart-Ağustos arası, larva ve nimfler ise Haziran-Kasım arasında aktif olarak kan emerler. Kışı, meralardaki kemirici yuvaları, ahırlardaki duvar çatlaklarında, toprakta veya ağaç kovuklarında geçirirler (16).

2.1.7. Patogenez

Viral kanamalı ateş (VKA) sendromu hakkında son yıllarda artan sayıdaki araştırmalara rağmen, patogenezinin altında yatan özgül mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. KKKA'nın patogenezi de tam olarak anlaşılamamıştır. VKA sendromunda, bağışıklık sistemi hastalıktan iyileşmede önemlidir (17). Bulaş yolları ile vücuda giren virüs, subkutanöz dokular, kutanöz dokular ve bölgesel lenf bezlerinde replike olur. İnkübasyon periyodunu takiben akut hastalık tablosuna benzeyen kısa bir viremi ve ateş meydana gelir. Kan yoluyla başta lenf bezleri, karaciğer, dalak, olmak üzere pek çok doku ve organa yerleşen virüs, sekonder viremiyi oluşturur. Bu doku ve organlarda başta mononükleer hücrelerin ve nötrofillerin ağırlıklı olduğu inflamasyona yol açar. Makrofaj ve endotel hücrelerinin aktive olmasıyla sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS) gelişir (17).

KKKA nedeni ile de ölen hastalarda antikor yanıtının yetersiz olduğu bildirilmektedir. Ölümcül olgularda, inflamatuvar mediatörler önemli rol oynamaktadır

IL-6, IL-10, IL-12 ve TNF- α gibi sitokinlerin KKKA nedeniyle ölen hastalarda yaşayan hastalara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. KKKA'da esas hedef hücreler endotel hücreler ve hepatositlerdir. İmmünohistokimyasal ve ultrastrüktürel çalışmalarda KKKA olgularında endotel hücrelerinde virüs gösterilmiştir. Endotel hücrelerde virüs ve virüs ile ilişkili tübüloretiküler cisimciklerin saptanması kapiller damarlarda fonksiyon bozukluklarının gelişmesine, bunun da hastalık esnasındaki klinik ve patolojik değişikliklere neden olduğu düşünülmektedir. Kapiller permeabilite artışı ve pıhtılaşma fonksiyon bozuklukları kanamaya eğilim oluşturmaktadır (18).

Trombositopeni Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi'inde önemli bir bulgudur. Özellikle ölümcül seyreden olgularda erken dönemde şiddetli trombositopeni gözlenmektedir. Trombositopeni, trombosit üretiminde azalma ya da trombosit yıkımı ve endotel hasarı sonucu oluşmaktadır. Plazma pıhtılaşma faktörlerinin düşüklüğü ya artmış tüketim ya da bozulmuş senteze bağlı olarak şekillenmektedir. KKKA'nın erken ve belirgin özelliği olan yaygın damar içi pıhtılaşmaya bağlı olarak trombositlerin tüketimi meydana gelmektedir. KKKA'da kemik iliği incelemelerinde hemofagositoz ve kemik iliği hipoplazisi gözlenmiştir. Kanda kompleman sisteminin aktivasyonu ile birlikte immüno kompleksler meydana gelmektedir. Bu immün kompleksler kapiller yatakta hasar oluşturarak böbrek ve akciğer yetmezliklerine neden olmaktadır. C5a aynı zamanda monositlerden IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF salgılanmasını aktive eder. IL-1 ve TNF ile de endotel hücrelerinden fibrinolizin baskılanması için plazminojen aktivatör - inhibitör (PAI) ve ekstrinsik pıhtılaşma yolunun başlaması için de doku faktörü serbestleşir. Sonuçta vasküler hasar ve permeabilite artışı ile damar içi pıhtılaşma şiddeti artar. Endotel hasarı, trombosit birikimi ve degranülasyonu ile intrinsik pıhtılaşma mekanizmalarını aktive edebilir (19).

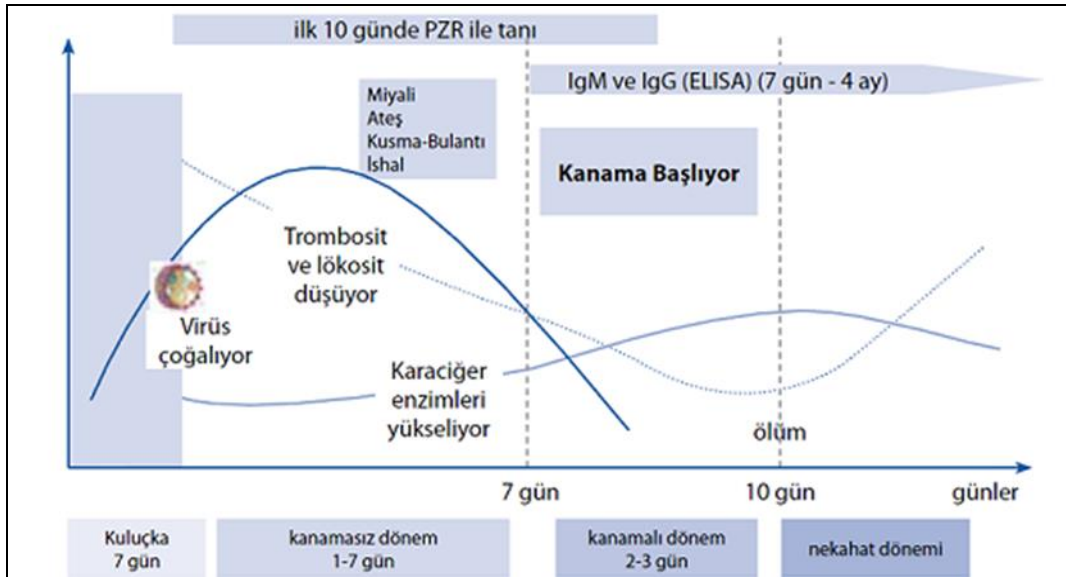
KKKA'da meydana gelen karaciğer hasarının direkt viral sitopatik etkiye bağlı olduğu belirtilmektedir. Karaciğer hasarı yaygın nekrotik odaklardan masif nekroza kadar değişiklik gösterir. Nekrotik hepatositler amorf kitle olarak görülür; inflamatuvar yanıt az veya hiç yoktur. Hastalıktan ölenlerde beyin kanaması, şiddetli anemi, şok, miyokard infarktüsü, akciğer ödemi ve plevral effüzyon görülmektedir (11).

Çok az sayıda yapılan histopatolojik incelemelerde karaciğerde hafif nekroz, kupfer hücre hiperplazisi, nekrotik eozinofilik hepatositler, hepatik lobüllerin yaygın hasarına kadar değişen bulgular rapor edilmiştir. İntertisyel pnömoni, dalakta belirgin lenfoid apoptoz, lenfoid agregatlar gözlenmiştir (12).

2.1.8. Klinik

İnsanlar, hastalığın klinik semptomlarının belirlendiği tek konakçıdır. KKKAV enfeksiyonunun tipik seyri inkübasyon, prehemorajik, hemorajik ve konvalesan dönem olarak dört farklı dönemde tanımlanmaktadır (1)

Kuluçka dönemi, kenenin tutunması ile hastalık gelişmesi arasındaki süredir ve kesin bir rakam vermek güç olsa da 3-7 gündür. Bu süre, viral yük ve enfeksiyon yoluna bağlı olarak değişebilir, örneğin kan yoluyla geçişlerde daha kısadır. Kuluçka dönemi Güney Afrika'da kene ısırığına maruz kaldıktan sonra ortalama 3.2 gün, hasta insan kanına maruz kaldıktan sonra 5,6 gündür. Hastaneye başvurmadan önce ortalama gün sayısı Türkiye'de 5.5 gün, Birleşik Arap Emirlikleri'nde 3.5 gündür (1).



Şekil 4. KKKAV'nın klinik ve laboratuvar seyri (1)

Prehemorajik dönem, ani ateş yükselmesi (39-41 °C), başağrısı, kas ağrıları ve baş dönmesi ile karakterizedir. Ateş ortalama 4-5 gün devam eder. İshal, bulantı ve kusma eşlik edebilir. Yüz, boyun ve göğüste kızarıklık, skleral ve konjunktival hiperemi bu dönemde görülür. Bu dönem 1-7 gün sürer. Grip benzeri bulgular pek çok başka hastalıkta da görülür ve karıştırılır.

Hemorajik dönemde hastalığın 3-6. günlerinde, hem ağız, burun ve mide mukozasında ve hem de ciltte peteşiyal döküntüler meydana gelebilir. Özellikle vücudun alt-üst ekstremitelerinde geniş alanlarda ekimoz şeklinde hemorajiler oluşabilir. En sık görülen kanamalar burun, dişeti, gastrointestinal sistem (hematemez, melena, intraabdominal), genital(vajinal), üriner sistem (hematüri) ve solunum yolları (hemoptizi) kanamalarıdır (1).

Ülkemizde hepatomegali görülme oranı yapılan çeşitli çalışmalarda %20-40 splenomegali görülme oranı % 14-23 arasında bildirilmiştir. Ağır seyreden olgularda hepatorenal sendrom, kardiyovasküler ve disemine intravasküler koagülopati (DİK) gelişebilir. Beyin kanaması, konfüzyon ve somnolans kötü prognoz göstergesidir (20).

Konvalesan dönem, hastalığın başlangıcının 10. gününden itibaren ortaya çıkar. Bu dönem içinde taşikardi, polinörit, solunum güçlüğü, görme, işitme ve hafıza kaybı gibi bulguların görüldüğü rapor edilmiştir. Hafif ve orta derecede klinik seyir gösteren hastalar yaklaşık 9-10. günde iyileşir ve tam iyileşme süreci 2- 6 hafta sürer. Ölüm ise genellikle klinik bulguların ikinci haftasında görülür ve hastalar çoklu organ yetmezliği tablosu nedeniyle kaybedilir (20).

2.1.9. Tanı

Kene tarafından ısırılma, hangi mevsimde ısırılma olduğu, enfekte insan veya hayvan kanı veya dokuları ile temas öyküsü ve endemik bölgeye seyahat öyküsü sorulmalı, klinik semptom ve bulgular değerlendirilmeli, özellikle ateş ve kanaması olan hastalarda dikkatli olunmalıdır (14).

Trombositopeni, lökopeni, nötropeni hemen hemen bütün olgularda görülür. Ciddi hastalarda anemi görülebilir. Aspartat transferaz (AST), alanin transferaz (ALT), laktik dehidrogenaz (LDH) ve kreatinin fosfokinaz (CPK) değerleri artmıştır. Başlangıçta proteinüri, daha sonra hematüri saptanır. Total protein albümin değerleri azalabilir. Hemostaz testlerinden protrombin zamanı, aktive parsiyel tromboplastin zamanı uzamıştır. Fibrinojen düzeyi düşebilir, fibrin yıkım ürünleri artabilir. Az sayıda ciddi olguda bilirubin, üre ve kreatin değerleri artabilir (4).

Laboratuvar testleri sağ kalan hastalarda yaklaşık 5-9 günde normal sınırlara döner. Kesin tanı virüsün izolasyonu, serolojik yöntemler ve moleküler yöntemlere dayanılarak konur (1).

2.1.9.a. Seroloji: ELİSA, KKKA’inde antikor tespiti için kullanılan en yaygın tekniktir. Duyarlılığı >%90’dır. IFA’nın daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. IgM akut enfeksiyonu gösterir ve enfeksiyonun birinci haftasında tespit edilir. Spesifik IgM düzeyi hastalığın başlangıcından 2-3 haftaya kadar en yüksek düzeydedir ve enfeksiyondan 4 ay sonra saptanamayacak seviyelere geriler (19). IgG hastalığın 7-10. gününde oluşur, 5 yıl boyunca saptanabilir. Yeni bir enfeksiyon, çift örnekli serumda 4 kat titre artışı veya tek bir örnekte IgM antikorlarının saptanması ile tanımlanır (19). Fatal seyreden olgularda antikor cevabı gösterilemeyebilir (14).

2.1.9.b. Virüsün İzolasyonu: Virüs izolasyonu biyogüvenlik-4 standartları olan laboratuvarlarda yapılmalıdır. Virüsün izolasyonu, akut fazdaki kan veya doku örneklerinin yenidoğan fare beynine veya peritona inokulasyonu ile yapılır ve 2-5 günde sonuç alınabilir. 1960 yılında rapor edilen çalışmada yetişkin farelerin bağışıklığının virüse dayanıklı olduğu, yenidoğan fare beyinde ise virüsün hızla replike olduğu, yüksek titrede çoğaldığı tespit edilmiştir (1,12).

2.1.9.c. Moleküler Yöntemler: Viremi genellikle hastalığın ilk 7-10 günü içindedir. Hız, hassasiyet ve emniyet göz önüne alındığında RT-PZR en güvenilir tanı yöntemidir. Viral yük hastalığın şiddeti ve mortalitesi hakkında fikir verir. Ağır hastada antikor yanıtı tespit etmek mümkün olmayabilir (12).

Bu tanı yönteminde klinik örneklerden ve kenelerden virüsün genetik materyali ortaya konmaktadır. RT-PZR ile virüs RNA'sı hastalığın 16. gününe kadar tespit edilebilir. Çok yüksek özgüllüktedir ve kültür sonucu negatif çıkan örneklerde de pozitif sonuç alınabilmektedir (11).

2.1.10. Ayırıcı Tanı

KKKA septik şok, viral ve toksik hepatitler, bruselloz, tifo, şigelloz, salmonelloz, grip, meningokoksemi, febril nötropeni, B12 eksikliği, İdiyopatik trombositopenik purpura (ITP), akut lösemi, hemolitik üremik sendrom (HÜS), trombotik trombositopenik purpura (TTP), disemine intravasküler koagülasyon (DİK), kollagen vasküler hastalıklar, HELP sendromu ile karışabilir (1,21).

Hastalıkların endemisitesine göre Hanta virüs hemorajileri, riketsiyoz ve Q ateşi, Akdeniz benekli ateşi, tripanozomiyazis, erlihyoz, falsiparum sıtması, leptospiroz, boreliyo, Uzak doğu ve Orta Avrupa kene ısırığı ensefalitleri, Kolorado ateşi, Kayalık Dağlar benekli ateşi, septisemik veba, babesioz, Afrika'da Lassa ateşi ve Filovirüsler, Ebola ve Marburg virus enfeksiyonları da ayırıcı tanıda düşünülmelidir (21).

2.1.11. Tedavi

2.1.11.a. Destek Tedavisi: Tedavinin esasını destek tedavisi oluşturmaktadır. Trombositopeni tedavisinde trombosit replasmanı, APTT'nin uzamasına yönelik olarak taze donmuş plazma replasmanı, anemiye yönelik tam kan veya eritrosit süspansiyonu verilmesi, sıvı ve elektrolit dengesinin korunması, böbrek yetmezliği gelişirse hemodiyaliz, gerektiğinde mekanik ventilasyon desteğinin sağlanması gerekli görülmektedir. Hastaların ağrı, ateş ve ajitasyonlarına yönelik semptomatik tedavi de gerekebilir. Gastrointestinal kanama varsa enteral beslenmenin kesilmesi, H2 reseptör blokerleri ile midenin korunması, parenteral beslenmenin sağlanması önerilmektedir (11).

2.1.11.b. Antiviral tedavi: Ribavirin KKKA ve Lassa Ateşi dahil olmak üzere viral hemorajik ateş sendromlarında kullanılmış tek antiviral ajandır (21). Etik

kısıtlardan dolayı randomize klinik çalışmaların yapılması mümkün olmadığı için, ribavirin etkisi ancak gözlemsel çalışmalarla tanımlanmıştır. Ribavirinin *in vitro* çalışmalarda hücre kültürlerinde virüs replikasyonunu durduğu saptanmıştır (1).

Erken dönemde ribavirin kullanımını vurgulayan ilk çalışmalarda, hastalığın başlangıcında viremi olduğu için ribavirinin etkili olabileceği bildirilmiştir. Son yapılan çalışmalarda ribavirinin ilk 72 saatte kullanımıyla %20 olan fatalite hızının %5'in altına indiği bildirilmiştir. Hastalığın kanamalı evresinin hemen öncesinde sitokin fırtınasının başlaması nedeniyle, hemorajik dönemde antiviraller yerine antiinflamatuvar ajanların etkili olabileceği de belirtilmektedir. Hastalığın erken döneminde ribavirin ile kortikosteroidlerin kullanımının yararlı olduğu rapor edilmiştir, ancak bu gözlemsel bir çalışma ile sınırlıdır (22). Türkiye'den yapılmış bir çalışmada ribavirinin orta düzey hasta grubunda vaka-ölüm oranını azaltmada etkili olduğu bulunmuş; aynı çalışmada kortikosteroidlerin özellikle şiddetli seyreden hastalarda faydalı olduğu tespit edilmiştir (23).

Ribavirin KKKA tedavisinde, CDC tarafından henüz onay almamış olsa da gerek Dünya Sağlık Örgütü gerekse Sağlık Bakanlığımız tarafından hem tedavide hem de profilakside önerilmektedir (24,25). Avrupa Hastalıklardan Korunma ve Kontrol Merkezi (ECDC)'ne göre ribavirin özellikle erken dönemde tedavi amacıyla, yüksek riskli durumlarda maruziyet sonrası profilaksi amacıyla kullanılmalıdır (24).

Bunun yanında ülkemizde yapılan bir çalışma da ise 126 hastaya oral ribavirin verilmiş, kontrol grubu olarak da bir önceki yıl ribavirin verilmeyen 92 hasta kullanılmış ve ribavirin verilen grupta mortalitenin %7.1, kontrol grubunda ise %11.9 olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma oral ribavirinin mortalite üzerine belirgin bir etkisinin olmadığı şeklinde değerlendirilmiştir (26). Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada hastalıktan iyileşme süresinin ribavirin verilen grupta daha kısa olduğu, ancak ölüm oranlarının her iki grupta da benzer şekilde olduğu kaydedilmiştir (8).

2.1.12. Mortalite Belirleyicileri

KKKA'da farklı araştırmacılar çeşitli klinik ve laboratuvar verilerini prognostik faktör olarak öne sürmüşlerdir. Swanepoel ve ark, klinik semptomların başlamasından sonraki ilk beş günde lökosit sayısı $\geq 10 \text{ bin/mm}^3$, trombosit sayısı $\leq 20 \text{ bin/mm}^3$, AST değeri $\geq 200 \text{ IU/L}$, ALT değeri $\geq 150 \text{ IU/L}$, aPTT $\geq 60 \text{ sn}$ veya fibrinojen seviyesi $\leq 110 \text{ µg/dl}$ laboratuvar değerlerinden en az biri varsa şiddetli vaka, hiçbiri yoksa hafif vaka olarak tanımlamış ve bu bulgulardan en az birinin varlığında hastaların %90'ının ölümle sonuçlandığını belirtmişlerdir (19).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, AST ve ALT (>700 ve $>900 \text{ U/L}$) düzeylerinin yüksekliğinin, fatal vakaları tesbit etmede daha duyarlı olduğu görülmüştür. Lökositoz, ölen dört hastadan sadece birinde görülmüştür (1). Konfüzyon, ense sertliği, birden fazla bölgeden kanama, uzun süren ateş (13), şuur bozukluğu, splenomegali(28), somnolans, hematemez, melana, yüksek ateş, DİK, böbrek yetmezliği (29) klinik olarak tanımlanmış kötü prognoz kriterleridir.

2.1.13. Aşı Çalışmaları

1970'lerde Eski Sovyetler Birliği ve Bulgaristan'da fare beyninden izole edilen virüsün formalin ile inaktivasyonu ile hazırlanan aşı kullanılmış ve yüksek oranda antikor titresi gözlenmiştir. Bugün için modern anlamda insanlarda kullanılan bir aşı bulunmamaktadır, aşı çalışmaları devam etmektedir (11).

2.2. Defensinler

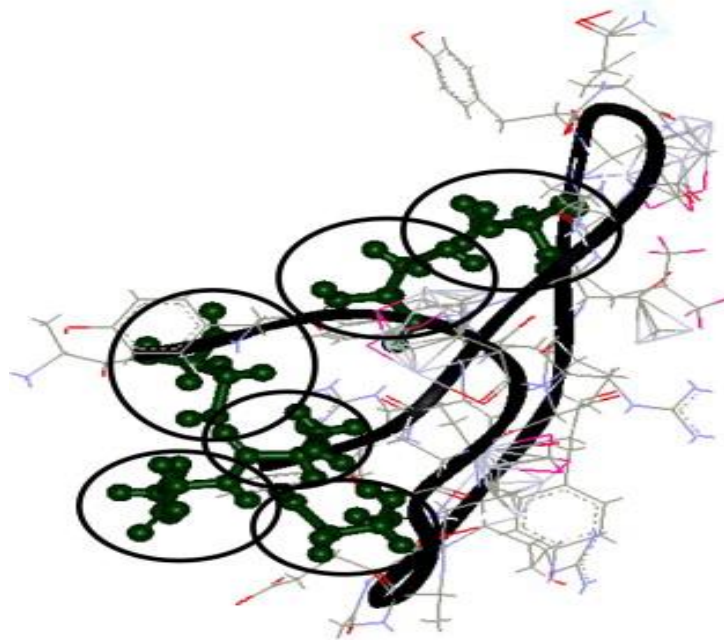
2.2.1. Genel Özellikleri

Günümüzde antibiyotiklere karşı gelişen yüksek direnç oranları, araştırmacıları yeni antimikrobik etkili kaynakların arayışına yöneltmiştir. Bunların arasında en fazla öne çıkan grup, canlıların çevrelerini kuşatan mikroorganizmalara karşı savunmalarında doğal bağışıklığın önemli unsurlarından olan antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerdir (30).

Memelilerde en önemli antimikrobiyal peptit grubu defensinlerdir (31). Defensinler katyonik, 30-40 aminoasitten oluşan, arjininden zengin, β -tabakalı katlantı gösteren, moleküler ağırlıkları 3.5-6 kDa arasında olan ve altı sistein rezidüsünün oluşturduğu üç disülfid köprüsü içeren molekülüdür. Bilinen tüm insan defensin genleri 8. kromozomda telomer bölgesine yakın p22-23.1 bölgesindedir (32). Sistein rezidülerine ve disülfid bağlarının yerleşimine göre alfa (α), beta (β) ve teta (θ) defensinler olmak üzere üç alt gruba ayrılırlar (33).

2.2.2. Antimikrobiyal Peptidlerin Yapısı

Katyonik peptitlerin primer yapısı % 50 oranında hidrofobik aminoasit içeren ve sahip oldukları bazik yapıdaki lizin ve arjinin aminoasitlerinin etkisiyle pozitif yüklü bir yapıdır. Bu pozitif yük genellikle +2 değerindedir. İçerdikleri disülfid bağlarının yardımıyla, kendi üzerlerine katlanarak üç boyutlu amfipatik yapılar oluşur. Bu yapılar hem polar pozitif yüklü aminoasitlerden oluşan bir hidrofilik kısım, hem de non-polar nötral aminoasit yan zincirlerini içeren bir hidrofobik kısımdan oluşmaktadır (33). α ve β defensinlerin içerdikleri β şeritleri birbirine iki ya da daha fazla disülfid köprüsü ile bağlanarak antiparalel, sekonder yapılarını meydana getirirler (34).



Şekil 5. α -defensin-1(DEFA-1), HNP-1'in yapısı. Ulusal Biyoteknoloji Merkezindeki mevcut dizisi: Siyah kalın çizgilerle çevrili yerler 6 sistein rezidüsü ve siyah kurdele β tabaka yapısını gösterir (35)

Antimikrobiyal peptitler bu yapıları ile, hidrofobik bir iç kısım ve negatif yüklü hidrofilik dış grupları bulunan bakteri membranıyla çok iyi ilişki kurabilmektedir (33).

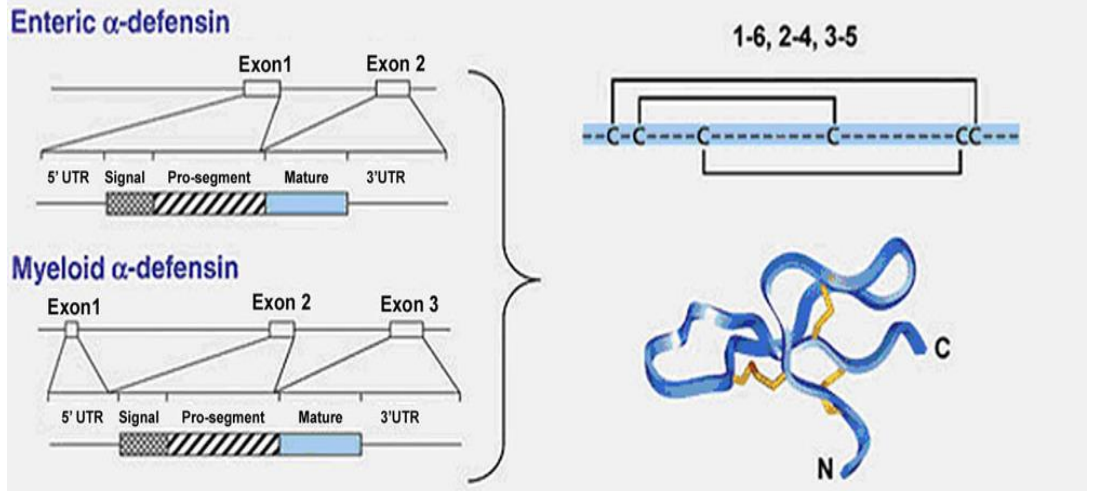
2.2.3. Antimikrobiyal Peptidlerin Sentezlenmesi

Antimikrobiyal peptidler, homolog bir aileye ait genler ile, her peptit için bir gen olacak şekilde kodlanmaktadır. α ve β defensinlerin lokalize oldukları defensin lokusu 8. Kromozom üzerinde telomer bölgesine yakın p21 – 23 bölgesinde bulunmaktadır. Genlerde kodlanan, ilk translasyon ürünleri prepropeptitlerdir. Bu prepropeptitler endoplazmik retikulumu hedef alan bir N-terminal sinyal dizisi, bir prosegment ve antimikrobik aktivite gösteren kısım olan bir C-terminal katyonik peptit olmak üzere üç kısımdan ibarettir. Propeptitler hücre içindeki sürecin ileri safhalarında ya da hücre dışına salgılandıktan sonra parçalanırlar. Antimikrobiyal peptitler ya propeptit ya da olgun C-terminal peptit şeklinde depo edilirler (36).

Pro-segment ayrıldıktan sonra PMN granüllerde saklanan matür HNP1-4, serbest kalır. Yapılan çalışmalarda, bazen matür defensinlerin biyolojik aktiviteleri onların propeptidleri ile uyuşmayabilir. Mesela proHNP-1 doza bağlı bir şekilde matür HNP -1 in antibakteriyel aktivitesini hemde sitotoksitesini inhibe eder. Ayrıca birçok faktör matür peptid oluşumunu regüle edebilir. Endoplazmik retikulum şaperon kompleksinin bir komponenti olan stromal cell derived faktör 2-like 1(SDF2L1), alfa (α), beta (β), teta (θ) defensinlerin işlenmesinde ve /veya düzenlenmesinde katkıda bulunabilir (37).

Alfa defensin genleri (DEFA1-3), insan nötrofil peptid (HNP)1-3'ü kodlar ve kopya sayısında çeşitlilik gösterir. DEFA1-3 genomik kopya sayısı, nötrofillerdeki HNP1-3 düzeyi ile ilişkili görülmektedir. Bu durum, konağın enfeksiyona ve inflamasyonuna yanıtındaki bireysel farklılığın sebebi olabilir. Bu çalışmalar defensin gen kümesinin sepsise duyarlılıkta potansiyel bir genetik bölge olduğuna işaret etmektedir (38).

Alfa defensin (HNP) 1-3'ü kodlayan genler DEFA-1, DEFA-2, DEFA-3, her biri yaklaşık 3 kb lik uzunluğa sahip, üç ekzon ihtiva ederken; HNP 5-6 enterik defensinler iki ekzon içerir (35).



Şekil 6. Defensin peptidler ve genleri. Solda alfa defensin genleri, sağda disülfid bağları, üç boyutlu yapı taşıyan alfa defensin (37)

2.2.4. Antimikrobiyal Peptidlerin Etki Spektrumları

Antimikrobiyal peptitlerin, birçok Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere, mantarlara, HIV, Herpes Simplex, Influenza gibi bazı zarflı virüslere ve ökaryot hücreli parazitler gibi canlılara karşı aktiviteleri mevcuttur (33). Bununla birlikte monositler, polimorfonükleer lökositler ve T hücreleri için kemotaktik etkilere, antiendotoksik, antitümör, immüno-modülatör, hemolitik, mitojenik, kontraseptif vb. aktivitelere de sahiptirler (39).

2.2.5. Antimikrobiyal Peptidlerin Etki Mekanizmaları

Antimikrobiyal peptitler etkilerini, mikroorganizmaların membranı ile etkileşerek göstermektedirler. Bu şekilde hücrenin dengesini bozarak hücre ölümüne neden olmaktadır. Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin pozitif yüklü ve hidrofobik olması bu maddelerin bakteri membranıyla etkileşime girmeleri için çok önemlidir. Gram negatif bakterilerin dış membranında bulunan lipopolisakkarit (LPS) tabakası ve Gram pozitif bakterilerde bulunan ve asidik bir polisakkarit olan lipoteikoik asit, antimikrobiyal peptitlerin bağlanabilmesi için gerekli olan negatif yükü temin eder. Ayrıca bakterilerin fosfolipit yapısındaki iç membranının da negatif yüklü oluşu antimikrobik etkiyi kolaylaştırmaktadır (40).

Memeli hücrelerin dış membranı, bakteriyel membrandan farklı olarak sfingomiyelin ve fosfatidilkolin gibi nötral fosfolipitlerden yapılmıştır. Bakteri dış membranı ise negatif yüklü fosfatidilgliserol ve kardiyolipinden oluşmaktadır. Ayrıca memeli hücrelerinde kolesterol bulunurken, bakterilerin dış membranında bulunmamaktadır. Bu farklılıklar, antimikrobik etkili peptitlerin insan hücreleri üzerine önemli bir toksik etkileri olmaksızın bakteriler üzerindeki seçici öldürücü etkilerini açıklamaktadır (41).

Antimikrobiyal peptitlerin, bakterinin dış membranından geçmesi, bunların öldürücü etkileri için gerekli ancak yeterli değildir. Bakteriler için asıl öldürücü olan katyonik peptitlerin negatif yüklü sitoplazma membranı ile elektrostatik olarak etkileşmesidir. Bu olay sırasında katyonik peptitlerin hidrofilik grupları ile membran fosfolipitlerinin hidrofobik zincirleri karşılıklı gelir. Peptitler membrana paralel bir şekilde konum alarak membranın bütünlüğünü bozan kanalların oluşmasına neden olurlar (41). Bu olayı açıklamak için çok sayıda model membran çalışmaları yapılmıştır.

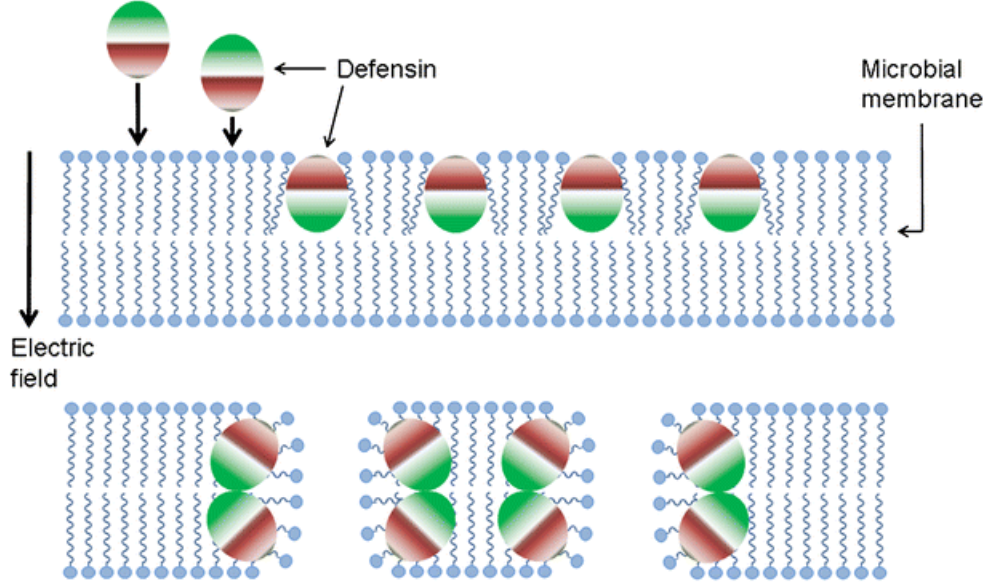
2.2.5.a. Carpet Model

Carpet modeline göre mikrobiyal zarın negatif yüklü yüzeyinde bulunan fosfolipit grupları ile pozitif yüklü peptit monomerleri arasındaki ilk etkileşim elektrostatik olarak meydana gelir. Antimikrobiyal peptitlerin hidrofilik yüzleri, mikrobiyal membrandaki fosfolipit gruplarıyla karşılıklı gelecek şekilde bağlanarak hücreyi bir halı gibi örterler. Bu durumdaki peptitler yeterli konsantrasyona ulaştıncaya, mikrobiyal membranın hidrofobik kısmına doğru bakacak şekilde yeniden yerleşirler. Deterjanlara benzer bir etki göstererek membranın parçalanmasına neden olurlar. Carpet modelinde pozitif yüklü peptitler membranın hidrofobik kısmının içine girmezler, onun yerine hidrofilik kısımları birbirine bakacak şekilde bir topluluk halinde bulunurlar (43).

2.2.5.b. Fıçı Tahtası Model

Fıçı tahtası modelinde farklı sayılardaki peptitler, membranın iç kısmında bir halka görünümünü verecek şekilde yerleşirler. Membranda kanalların oluşmasını sağlayan bu peptit moleküllerinin herbiri fıçıyı oluşturan tahtalara benzetilmektedir

Bu modelde peptitlerin hidrofilik yüzleri çözücü ile, hidrofobik yüzleri ise membranın lipit kısmı ile temas eder ve sonuçta membranda kanallar ya da porlar meydana gelir (44).



Şekil 7. Defensin aktivitesi. carpet-wormhole modeli. Pozitif yüklü aminoasit yan zincirleri kırmızı renkli, hidrofobik aminoasit yan zincirleri yeşil renkte. Mavi olan mikrobiyal zarın negatif yüklü fosfolipid ana grubu ve hidrofobik yağ asiti zincirleri. Üst panelde elektrostatik çekim ve transmembran biyoelektrik alanı (45)

2.2.6. Antimikrobiyal Peptidlere Karşı Direnç Mekanizmaları

Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin potansiyel klinik kullanımlarını ve etki mekanizmalarını sınırlayabilecek en önemli mekanizma, patojen mikroorganizmada bulunan proteinazlarca inaktive edilmeleri ve bu şekilde bu maddelere karşı ortaya çıkabilecek direnç yer almaktadır. *P. aeruginosa*, *Bacillus*, *Salmonella*, *E. coli* ve *S. aureus* gibi patojenlerde çeşitli proteinazlar tanımlanmıştır (46,47).

Serratia, *Proteus*, *Providencia* ve *Burkholderia* gibi mikroorganizma türleri yapısal özellikleri dolayısıyla antimikrobik etkili peptidlere karşı doğal olarak dirençlidirler (44).

Antimikrobiyal peptitler ile Gram negatif bakterilerde dış membranın ana bileşeni LPS'ler arasında elektrostatik olarak gerçekleşen tanıma ve bağlanma olayının

engellenmesi bir diğer direnç mekanizmasıdır. Bu mekanizma *Borrelia burgdorferi* suşlarında LPS'in bulunmaması, ayrıca katyonik peptitlere karşı doğal olarak dirençli bakteriler olan *Proteus* ve *Burkholderia* türlerinde LPS'nin modifikasyonu ile negatif yükün azalması şeklinde olabilir. Gram negatif bakterilerin dış membranından geçerken, LPS'e bağlanmak yerine bazı peptitlerin membranın diğer bileşenlerini tercih etmeleri, bunların etkisiz kalmalarına neden olabilmektedir. Buna örnek olarak patojen *Yersinia* türlerinin defensinlere, *Haemophilus influenzae*'nin diğer antimikrobiyal peptidlere karşı olan direncidir (48).

2.2.7. β -defensinler

β -defensinlerde üç disülfid köprüsü 1-5, 2-4, 3-6 sisteinler arasındadır. β -defensinlerin peptid büyüklükleri 36-42 aa arasında değişmektedir. İnsanlarda şimdiye 6 adet β -defensin belirlenmiştir (49). İnsanlarda gösterilen ilk β -defensin (HBD-1), diyaliz tedavisi alan hastaların hemofiltratlarından izole edilmiştir (49). HBD-2, ilk kez psoriatik deride tanımlanmıştır (50). Daha sonra idrar yolları, gastrointestinal kanal, solunum yolları epitelyal hücrelerinde varlığı tespit edilmiştir. BD-3 en katyonik defensindir. Bazı epitelyal yüzeylerden ekspresse edilmiştir. Tükrük ve servikovajinal sıvılarda yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. BD-4 testis, mide ve uterusunda bulunurken, BD-5 ve BD-6 spesifik olarak epididimlerde ekspresse edilmektedir (51).

β -defensin-1, epitel dokuların yapısal bir parçası olup sürekli sentez edilmesine karşın, HBD- 2, HBD-3 ve HBD-4'ün ekspresyonu çeşitli bakteriyel ürünler (LPS, Gram pozitif bakteriler, *Candida* türleri) ve sitokinlerce (IL-1, TNF- α) uyarılır (51).

β -defensinlerden HBD-1 ve HBD-2 esas olarak Gram negatif bakterilere karşı mikrobisidal etki gösterir, Gram pozitiflere olan etkileri daha azdır (52). β -defensin ayrıca *Mycobacterium tuberculosis*'in membranına yapışma ve mikobakterinin büyümesini kontrol etme kapasitesine sahip olduğu bulunmuştur (53). Antifungal çalışmalarda özellikle β -defensinlerin mantarları invitro öldürme ve etkisiz hale getirme özelliğine sahip olduğu gösterilmiştir. Örneğin HBD-1'in *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*'yı inhibe ettiği gösterilmiştir (54). HBD2-3 benzer şekilde. *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*'i inhibe eder ancak *C. glabrata*'ya karşı inaktiftir

(54). HBD-2'lerin HIV'li hastalarda yükseldiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, HBD-1 ve 2'nin HSV-2 enfeksiyonunu engellemediği, HBD-3'ün doza bağımlı bir şekilde HSV-2 enfeksiyonunu engellediği tespit edilmiştir (55). Rekombinant HBD1-2 peptidlerin *Cryptosporidium parvum* sporozoitlerine karşı invitro antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu rapor edilmektedir (56).

2.2.8. θ -defensinler

Üçüncü bir yeni defensin sınıfıdır. Alfa ve beta defensinden yapısal olarak farklı olduğu bilinen tek siklize defensinlerdir. İlk olarak al yanaklı maymunların nötrofil ve monositlerinde tespit edilmiştir. Bugüne kadar altı adet θ -defensin tespit edilmiştir. Rhesus teta defensin1-3 (RTD-1,RTD-2,RTD-3) maymunların lökositlerinde tespit edilmiştir. Dairesel defensin izoformları dört ve beş, *Papio anubis* (zeytin babun)'un kemik iliğinde ve periferik kan lökositlerinde tespit edilmiştir. Teta defensinler, eski dünya maymunlarında filogenetik olarak önceden var olan α defensin geninin mutasyonu ile ortaya çıkan daha genç ailesidir. Bunlar, α -defensinin 76 aminoasit öncüllerinden türetilmiş iki nanopeptidin post-translasyonel yapıştırma sonucu olarak imal edilmişlerdir. Bu peptidlerin antimikrobiyal aktiviteleri iki değerli katyonların yüksek konsantrasyonunda ve tuz varlığında azalmaz. Teta defensinler, insanlarda tanımlanmamışlardır (35).

Teta defensinlerin humanize edilmiş, yapay dairesel analoglarından retrosiklinler sentezlenir. Retrosiklinler geniş bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler. İnfluenza virüsünü inhibe ettiği, herpes virüslerin bazı adımlarını engellediği (57), Şarbon letal toksinini inaktive ettiği gösterilmiştir. *Bacillus anthracis* bakterisini, invitro olarak öldürdüğü (58) ve HIV Env aracılı giriş ve füzyonu bloke ettiği tespit edilmiştir (59).

2.2.9. α -defensinler

İnsanlarda altı adet α -defensin eksprese edilmektedir. Dört tanesi nötrofil azurofilik granüllerinden izole edilmiştir ve bu nedenle "human neutrophil defensin" (HNP 1-4) olarak isimlendirilmişlerdir. Günümüzde DEFA1-3 olarak adlandırılırlar (35). Ayrıca monosit/makrofaj, bazı T lenfosit hücreleri, B lenfosit, immatür dentritik

hücreler, Natural Killer (NK) hücrelerinden de eksprese edilirler (35). HNP 1-3 iltihaplı kornea stromasında, konjunktiva ve göz yaşında da saptanmıştır (37). Alfa defensinler, insan nötrofillerindeki toplam proteinin %5-7'sini oluştururlar (60).

Enterik defensinler denilen ve “human defensin (HD)” olarak adlandırılan iki α -defensin (HD5, HD6) başlıca incebarsak Paneth hücrelerinde bulunur. Alfa defensinler Paneth hücrelerinin yoğunluğuna bağlı olarak, ileumda ve daha az miktarlarda duodenum ve jejunumda gösterilmiştir. Paneth hücrelerindeki α -defensin ekspresyonu sürekli (61). Defensinlerin lümene salınımı Paneth hücrelerinin bakteriyel ürünlere cevabı olarak ortaya çıkmaktadır (62). HD5 aynı zamanda erkek ve dişi genital sistem epitelyum hücrelerinde de eksprese edilir (63).

Alfa defensinlerin üretimi proinflamatuvar sitokinler tarafından regüle edilir. Bununla ilgili olarak immatür monosit türevli dentritik hücre (IMDDCs)'de HNP1-3'ün üretimi üzerinde IL-1 β , TNF- α , IL-6'nın rolü incelenmiş, sonuçta her bir proinflamatuvar sitokinin özellikle IL-1 β 'nin defensin regülasyonunda etkili olduğu bulunmuştur. Sinyal yolu açık değildir, fakat çalışmalarda nükleotid binding oligomerizasyon domain (NOD)2 stimülizasyonunun, HD5-6 aktivasyonu yanı sıra HNP-1 salgılanmasına da neden olduğu kanıtlanmıştır (37).

HNP'nin normal plazma seviyeleri 50-100 ng/ml aralıktadır. Bakteriyel infeksiyonların başlangıcında ve nonbakteriyel infeksiyon boyunca HNP seviyeleri sağlıklı gönüllülerden 2-4 kat daha yüksektir. Sepsisli hastalarda plazmada HNP seviyeleri 900-170,000 ng/ml ölçülmüş, kontrol grubu sağlıklı gönüllülerde 42 ± 53 ng/ml ölçülmüştür. İnflamatuvar hastalıklarda hastaların kanında HNP konsantrasyonları, polimorfonükleer lökositlerin sayıları ile koreledir (64).

Fizyolojik defensinin ölçümü, defensinler spesifik hücre türleri içindeki yüksek lokal konsantrasyonlarda bulunduğu zaman ya da sınırlandırılmış anatomik niş içindeki hücrelerden (ör, ince bağırsaktaki kriptler) salındığında karmaşıktır. Myeloid α -defensinin, nötrofil içindeki tahmini miktarı 3 mM (10 mg/ml) olarak, hatta onların depolandığı azürofilik granüller içindeki lokal konsantrasyonları daha yüksek olarak ölçülmüştür. Enterik α -defensinin kript lümenindeki konsantrasyonları 3.5 mM (15-100

mg/ml) olarak hesaplanmıştır. Sağlıklı insanlarda akciğer epitelyal lining sıvısında HNP1-3 miktarları 31-79 nM, nazal sıvıda 2.7 µM, tükürükte 0.3-3 µM, vajinal sekresyonda 1.5µM'dır. Ancak bazı hastalık gruplarında defensin seviyeleri son derece yüksek olabilir. Kistik fibrozlu hastalarda akciğer epitelinin sınırlayan sıvıda HNP-1, 2.4mM konsantrasyonda bulunmuştur (63).

HNP, mast hücreleri, makrofajlar, immatür dentritik hücreler, T hücreleri için direkt kemotaktiktir. HNP1-2, T hücre ve monosit için kemoatraktan özelliktedir. Çeşitli inflamatuvar hastalıklarda IL-8 plazma seviyelerinin artması HNP'nin yüksek konsantrasyon miktarları ile ilişkilidir. HNP stimülasyonu ile akciğer alveolar makrofajlar, primer bronşiyal epitelyum hücreleri ve monositlerden IL-8 üretimi artar (64).

2.2.10. Alfa Defensinlerin Antimikrobiyal Etkileri

DEFA1-4 defensinlerin, HSV1-2 ve CMV'ye karşı inaktivasyonu gösterilmiştir. İnfluenza virüse karşı da etkinliği teyit edilmiştir. Enfekte hücre kültürlerinde DEFA-1, viral replikasyonu ve viral proteinlerin sentezlenmesini inhibe eder. Ancak zarfsız virüslere (ECHO, Reo) karşı DEFA-1'in aktivitesinde eksiklik görülmektedir. Araştırmalarda zarflı ve zarfsız virüslere karşı aktivite farklılıkların, zarflı virüslerin yapısındaki lipid bileşiminden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. DEFA-1'in *S. aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare* gibi bakteri suşlarına karşı etkinliği kanıtlanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada DEFA1-3'ün *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı eşit derecede etkili olduğu sonucuna varılmıştır(35).

S. aureus'a karşı α-defensinlerin etkinliği HNP-2>HNP-1>HNP-3>HNP-4 olarak tespit edilmiştir. *E. coli* ve *Enterobacter aerogenes*'e karşı potansiyel etkinlikleri HNP-4>HNP-2>HNP-1=HNP-3'dir. HD5, *S. aureus*a karşı HNP-2 kadar etkilidir, ayrıca Gram negatif bakterilere karşı HNP-4 kadar aktivitesi mevcuttur. HD-6'nın az veya hiç antibakteriyel etkinliği olmadığı gösterilmiştir. Şarbon etkeni *Bacillus anthracis*'in patogenezinde letal faktör, protektif antijen önemli rol oynar. HNP1-3 ve

retrosiklinlerin her ikisi de şarbon öldürücü letal faktörü yüksek affinite ile bağlayarak enzimatik aktiviteyi inhibe eder (37).

Alfa defensinlerin HIV ve HSV virüs enfeksiyonlarını önleyebildiği kanıtlarla gösterilmiştir. HNP1-3 lektin benzeri özellikleri ile HIV viral gp120 ve CD4 reseptörlerine nispeten daha yüksek affinite ile bağlanabilir. Bununla birlikte HNP-1, protein kinaz C (PKC)nin non-kompetitif inhibitörü olarak, PKC sinyal yolları ile etkileşime geçerek HIV-1 genomunun nükleer taşıma ve transportunu engeller (37).

HSV enfeksiyonuna karşı korunmak için defensinlerin antiviral yeteneği değerlendirildiğinde her α -defensin (HNP1-4, HD5-6)'ın sitotoksik olmayan konsantrasyonda (25-50 $\mu\text{g/ml}$) HSV enfeksiyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (37). Çeşitli etyolojik faktörlerin neden olduğu serviks iltihabı ve vajinitli hastalardan elde edilen serviko-vajinal yıkamalarda DEFA1-3 konsantrasyonlarında artış tespit edilmiştir. Dahası human nötrofil defensinler, Bronşiyolitis Obliterans Sendromu (BOS) gelişen akciğer transplant alıcılarında, potansiyel biomarker olarak çalışılmıştır. ELİSA DEFA-1 testi ile yapılan çalışmada, HNP-1, akciğer alıcılarında bazal pulmoner fonksiyonlara ulaştıktan sonra erken dönemde yükselmiş, BOS gelişen hastalarda yüksek seviyelerde ısrar etmiştir (35). Ayrıca antiparaziter çalışmalarda HNP-1 ve HD-5'in, *Toxoplasma gondii* ve *Trypanosoma cruzi* gibi parazit öldürücü güce sahip olduğu rapor edilmiştir (37).

Başka bir çalışmada HNP1-3 İnsan PMN granüllerden arıtılıp invitro mikrop öldürücü aktiviteleri test edilmiştir. Sonuçta düşük ph ve yüksek tuz konsantrasyonlarında antibakteriyel aktivitelerinin inhibe olduğu gösterilmiştir (37).

2.2.11. Defensinlerin Antiviral Mekanizmaları

α -defensin, β -defensin her ikisinin de hem zarflı hemde zarfsız virüslere karşı antiviral aktiviteleri vardır. Defensin duyarlı virüsler, çoklu antiviral mekanizmaya sahiptir. Bunlar, viral füzyon inhibisyonuna ve giriş sonrası nötralizasyona ek olarak, defensinin direkt olarak viral zarf, glikoprotein ve kapsidi hedef almasını içerir. Konak hücre yüzey resöptörlerine bağlanma ve modülasyon ve defensinler tarafından hücre içi

haberleşmenin durdurulması da viral çoğalmayı durdurabilir. Ayrıca defensinler antiviral mekanizmalar ortaya koyarak, immün cevapları artırarak ve değiştirerek kemokinler gibi fonksiyon gösterebilirler (63).

2.2.11.a. Virüslere Bağlanan Defensinlerin Modları ve Belirleyicileri

Defensinleri viral partikül gibi ligandlara bağlayan bir çok belirleyici bulunmaktadır. İlk olarak, defensinler lipid çift katmanlarla etkileşim halindedirler, bu da negatif yüklü fosfolipidlerle kolaylaştırılmıştır. İkinci olarak, α -defensinlerin dört tanesi HNP1-3, HD5 ve HBD3, zarf glikoprotein ve glikolipidlere bağlanma yeteneği olan lektinlerdir. Üçüncüsü, potansiyel olarak defensinler protein-protein ya da protein-DNA etkileşimine katılabilirler. Defensinler katyonik ve amfipatik oldukları için ligandlarla hem şarj-şarj, hem de hidrofobik olarak etkileşime geçerler. Özellikle α defensin için, defensin oligomerleşmesi ve disülfid bağı tarafından kazandırılan yapısal kararlılık, bağlanmayı daha da fazla etkileyebilir. Bu etkileşimlerden her biri defensinlerin antiviral aktivitesine katkı sağlar (63).

Defensinlerin bu açıdan geniş bir biçimde araştırılmış olan en önemli özelliği, disülfid bağı oluşumu ile üç boyutlu yapısal kıvrımının stabilizasyonudur (63). Bildirilmiş olan tüm çalışmalar α defensinlerin disülfid-stabilize edilmiş formlarının hem HSV-1, human adenovirüs (HAdV) serotip5, İnfluenza A virüs (IAV), HIV-1'i engellemek için hem de HIV-1 virüs enfeksiyonunu iyileştirmek için gerekli olduğunu göstermiştir (65-70). Defensinlerin lektin olarak görev yapma ve seçici bir şekilde şekerleri bağlama kapasitesi onların antiviral özelliğine katkı sağlar (65)

Çeşitli virüslerin defensinler tarafından seçici bir şekilde tanınması büyük ölçüde anlaşılamamıştır. Defensinler ya lipid çiftkatmanı ya da zarflı virüslerin glikoproteinleri ile etkileşebilirler. Fakat protein-protein etkileşimi zarfsız virüslere (ör, HPV ve HAdV) bağlanmak için önemlidir. Aynı zamanda da zarflı virüslere bağlanmaya büyük bir ihtimalle katkı sağlamaktadır (63).

2.2.11.b. Zarfı Etkileyerek Direkt Virüs İnaktivasyonu

Defensinlerin zarflı virüslerin lipid çift katmanını ile olan direkt etkileşimi virüsü yok edebilir ya da destabilize edebilir. HNP1'in HSV-1'i direkt olarak bağladığı ve fosfatidilkolin içeren membranları biçimlendirdiği kanıtlanmıştır (65). Birçok zarflı virüsün kapsamlı nötralizasyonu lipid çift katmanın hedef olduğu hipotezini destekliyor. Diğer yandan, zarflı virüslerin α -defensinlere karşı duyarlılıkları oldukça değişkendir. Zarfın lipid bileşenindeki farklılığın virüslerin defensinlere karşı ayırıcı duyarlılığını kısmen açıklayabilir (63).

2.2.11.c. Ekstraselüler Agregasyon

Hem kristal yapılarda hem de solüsyonda gösterilmiş olan birçok defensin, multimerik yapılar oluşturur (63). Komşu virüse bağlanmış defensin peptitler arasındaki etkileşimin virionların agregasyonuna neden olma potansiyeli vardır. Bu durum HNP1 tarafından IAV için, HD5 tarafından BKV ve HAdV-5 için direkt olarak kanıtlanmıştır (71, 72, 73).

2.2.11.d. Reseptör Bağlanımını Bloke Etme

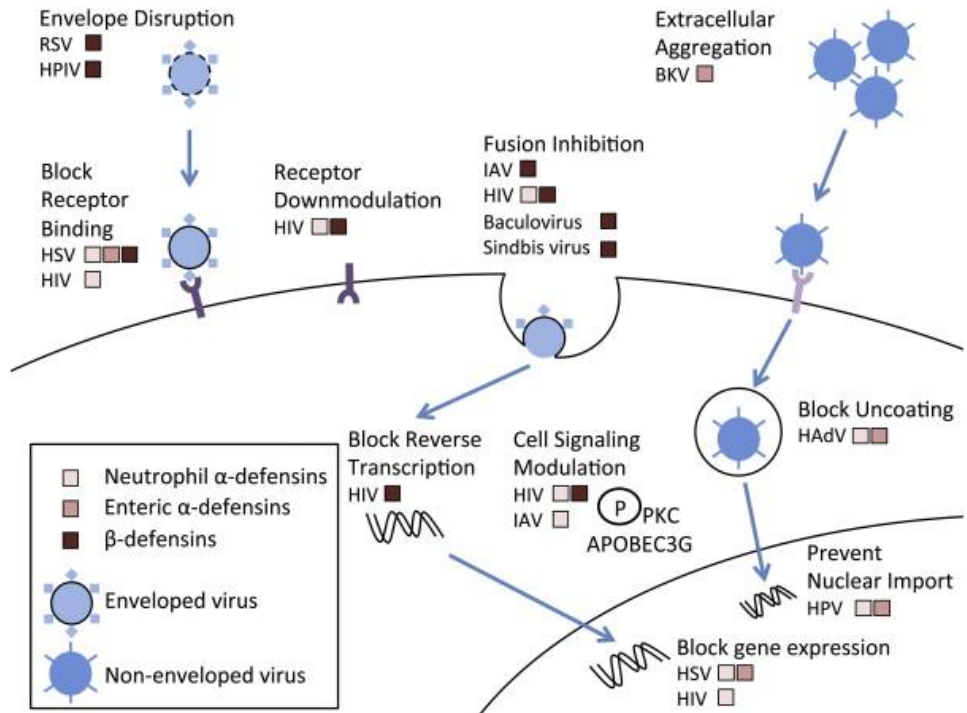
Genel olarak, konak hücre reseptörünü bloke etme ve viral glikoproteinlere bağlanma, defensinlerin HSV-1 ve HSV-2 enfeksiyonunu engellediği ana bir mekanizmadır. Viral ekli proteine defensin bağlanması hücre içine viral giriş için önemli olan reseptör etkileşimini bozabilir. HNP1-3, HD5 ve HBD3, hem HSV-1 hem de HSV-2' nin viral glikoprotein rekombinanını bağlar. Bu da bu defensinlerin HSV-1, HSV-2 nin girişini ve adezyonunu engelleme yeteneğiyle ilişkilidir (55). Aynı şekilde, HNP1-4, HIV-1 gp41, gp120'yi ve hücre yüzeyi reseptörü CD4'ü de bağlar. Defensinler HSV'de olduğu gibi, HIV-1'in bağlanmasına ve tutunmasına direkt olarak karışırlar (69).

2.2.11.e. Viral Füzyonun Engellenmesi

Zarflı virüsler kendi genlerini konak hücre içine sokmak için, lipid çift katmanıyla konak hücrenininki arasında füzyon yapmalıdır. Gp41 tarafından aracılık edilmiş HIV-1 füzyonu HNP1 tarafından engellenir. İnhibisyon, HNP1'in stabilize disülfid biçimini gerektirir. Böylece HNP1'in bağlanması direkt olarak gp41 etkileşimiyle HIV-1 füzyonunu değiştirir (69).

2.2.11.d. Giriş Sonrası Nötralizasyon

Enfeksiyon sadece konak hücre membranına penetrasyonu ile tamamlanmaz. Viral transkripsiyon, protein üretimi, birleşmesi ve çıkışı kopyalama yinelenen bir siklusu tamamlamak için oluşmalıdır. Bu adımlar defensinlere viral enfeksiyonu bloklamak için ya özellikle virüsü ya da hücreyi hedef alarak fırsatlar sunar. Bu açıdan, HNP1 ve HD5, HSV-1 ve HSV-2'yi giriş sonrası eklendiklerinde bloke edebilir (51). Yapılan bir çalışmada HNP2 ve HD5'in HSV-2 DNA'yı bağlayabildiği ve bunun gen üretimini bloke ederek inhibisyona katkı sağlayabildiği gösterilmiştir (55).



Şekil 8. Defensinlerin major antiviral mekanizmaları. HSV, HIV, HPIV, IAV, BKV, HAV, Had, HPV için mekanizmalar tarif edilmiştir (63)

2.2.11.g. Enfeksiyonu Etkileyen Hücreiçi Haberleşmedeki Değişimler

Birçok virüs, protein kinaz C(PKC) sinyalizasyonunu, giriş ve enfeksiyon sırasında düzenler. HIV-1 viral füzyonu, transkripsiyon, entegrasyon için fosforlanmış PKC gerektirir. IAV, endozomal kaçış ve nükleer giriş için PKC gerektirir. HSV, viral kapsitin nükleer çıkışı ve hücre girişi için PKC gerektirir (63). HNP1-3'in in-vitro, PKC aktivitesini inhibe ettiği bilindiği için bu hücresel haberleşme yolunu inhibe etmek ya da değiştirmek belki de başka bir defensin aracılı antiviral mekanizmadır; ki bu da bazı virüsler için gözlemlenmiş olan enfeksiyonu giriş sonrası bloke etmeyi açıklar (74).

Yapılan çalışmalarda, HIV-1 pozitif kadının servikovajinal lavaj sıvısında daha düşük HNP1-3 seviyesine ve daha düşük anti HSV-2 aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur. Yine, HNP1-3'in servikovajinal lavaj sıvısındaki miktarı, sıvının anti-HIV-1 aktivitesi ile ilişkilidir. Ayrıca, yüksek seviyede defensin bulunan kişilerde CD4+ T hücre sayısı, defensin sayısının düşük olduğu kişilerden daha yavaş düşmüştür. Bununla beraber; α -defensin varlığı daha yüksek annede, CD4+ T hücre sayısı ile da pozitif ilişkili olarak, emzirme ile HIV'in bebeğe geçme riski de azalmıştır (63).

Özetle bir çok çalışma, viral enfeksiyonun sonucu olarak defensin üretiminin başlamasını ve indüklenen defensinlerin viral patojenez de hem direkt hem de indirekt rol oynayabildiklerini belgeledi.

Defensinlerin antiviral etkisini gösteren çalışmalar hücre kültürü çalışmalarıdır. Aslında, endojen defensinlerin in-vivo virüs enfeksiyonunu bloke etme rolü ile ilgili bir örnek yoktur. Bu da büyük ölçüde, tam bir defensin knockout hayvan modeli olmamasından kaynaklanmaktadır. İn vivo defensinlerin önemini gösteren indirekt kanıt, çeşitli viral hastalıklar sırasındaki defensin seviyelerini araştıran çalışmalardaki ilişkidir (63).

Antimikrobiyal peptidlerin kemoatraktan özellikleri, aşıların etkinliğini geliştirmede, kanser ve diğer hastalıklar için güvenli klinik immünoterapi oluşturulmasında kullanılabilir. Ayrıca yapılan klinik çalışmalarda defensin ve kanser arasında olası bir ilişki gösterilmiştir. Örneğin HNP1-3 ekspresyonu ile kolorektal

adenom ve karsinom gelişimi ilişkili bulunmuştur. DEFA3-4 miktarları, oral bening neoplazide yüksek bulunmuştur (35).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya Mart 2012-Ağustos 2012 döneminde Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği'nde yatarak takip edilen, RT-PCR ve/veya ELISA yöntemiyle çalışılmış örnekler sonucu KKKK kesin tanısı almış 50 hasta alındı. Hastalar, Swanepoel kriterleri (lökosit sayısı ≥ 10 bin/mm³, trombosit sayısı ≤ 20 bin/mm³, AST değeri ≥ 200 IU/L, ALT değeri ≥ 150 IU/L, aPTT ≥ 60 sn veya fibrinojen seviyesi ≤ 110 µg/dl) (19) ile Ergönül ve ark. önerdiği modifiye kriterlere (AST>900, ALT>900) (18) göre ve bununla birlikte klinik olarak kötü prognoz kriterleri(ense sertliği, somnolans, konfüzyon, şuur bozukluğu, splenomegali, uzun süren ateş, birden fazla bölgeden kanama, hematemez, melena, DIK, böbrek yetmezliği) (8, 28)'de baz alınarak hafif, orta ve ağır olmak üzere üç gruba ayrıldı.

Hasta verileri, hastalara ait epidemiyolojik, demografik, klinik, laboratuvar bilgileri hastanın dosyasındaki kayıtlardan alınarak önceden hazırlanan formlara (Ek 1) kaydedildi. Çalışmaya kontrol grubu olarak sağlıklı gönüllülerden oluşan toplam 38 kişi alındı.

3.2. Çalışmanın Yöntemi

Hastaların kanları gönüllülük esasına göre alındı ve gönüllü bilgilendirme formu imzalatıldı (Ek 2). Hastanın hastaneye yatışında, uygun bir periferik venden 5 ml kan alındı, 30 dakika bekletildikten sonra 2000 devir/dk'da 5 dakika santrifüj edilerek serum örneği ayrıştırıldı. İki ayrı ependorf tüpüne serum örneği konuldu. Tüm hastaların serum örnekleri referans laboratuvar olan Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı Viroloji Laboratuvarı'na uygun taşıma usullerince Erzurum Halk Sağlığı Müdürlüğü aracılığıyla test edilmek üzere gönderildi. Çalışmaya alınan hastalar, PCR ile serumlarında KKKAV varlığı doğrulanmış ya da spesifik IgM antikoru pozitif olan hastalardı. Çalışmaya kontrol grubu olarak toplam 38 sağlıklı gönüllü katıldı. Hastaların ve kontrol grubu bireylerin serumları (1 ml'lik tüplerdeki) çalışma yapılıncaya kadar -

80°C’de saklandı. Dondurulmuş serum örnekleri 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek çözünmeleri sağlandı ve tüm ölçümler aynı gün yapıldı.

3.3. Serum AD-1 Düzeyinin Ölçümü

Serum AD-1’nin serum düzeyleri ticari olarak hazırlanmış USCN, P.R. Chine marka ELISA kiti kullanılarak ölçüldü (SEB705Hu For Defensin Alpha 1, Neutrophil DEF a1, Human). Testin çalışma prosedürü doğrultusunda her bir ELISA plağı kuyucuğuna 100 µL serum örneği eklendi ve 2 saat 37 °C derecede inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklar boşaltıldı ve her kuyucuğa daha önceden hazırlanmış 100 µL Detection Reagent A koyuldu ve bir saat 37 °C inkübe edildi. Bundan sonra kuyucuklar boşaltıldı ve üç kez yıkandı. Sonrasında kuyucuklara 100 µL Detection Reagent B koyulup 30 dk 37 °C inkübe edildi. Kuyucuklar tekrar boşaltılıp 5 defa yıkandı, 90 µL substrat solüsyonu eklendi ve 37 °C de 15-20 dk inkübe edildi. Son olarak kuyucuklarda boşaltma ve yıkama yapılmadan 50 µL stop solüsyonu eklendi ve 450 nanometrelik absorbans değeriyle sonuçlar verildi. Testin lineer aralığı 0,312-20 ng/ml olarak ölçüldü. Sonuçlar, serumları 20 kat dilüe ederek verildi.

Hastaların serum AD-1 düzeyleri;

- ❖ Yaşa göre
- ❖ Cinsiyete göre
- ❖ Ölen ve yaşayan hastalar arasında
- ❖ Semptomların başlangıcından kan alınıncaya kadar geçen süreye göre
 - Grup 1: 1-3 gün
 - Grup 2: 4-7 gün
 - Grup 3: >7 gün
- ❖ Ağır, hafif, orta grup hastalar arasında
- ❖ Hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında
- ❖ Hafif seyreden hastalarla kontrol grubu arasında
- ❖ Orta seyreden hastalarla kontrol grubu arasında
- ❖ Ağır seyreden hastalarla kontrol grubu arasında
- ❖ Ölen ve yaşayan hastalarla kontrol grubu arasında

- ❖ Laboratuvar olarak;
 - ALT, AST, CK, LDH seviyeleri arasında
 - PT, aPTT, INR düzeyleri arasında
 - Beyaz küre (WBC) ve trombosit (PLT) miktarları arasında
- ❖ Klinik olarak
 - Kanama varlığı ile
 - Şuur değişikliği olmasıyla
 - Pozitif akciğer muayene bulgularının varlığı ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizinde Mikrosoft Windows veritabanlı Statistical Package for Social Sciensess (SPSS; Ver:20.0) bilgisayar programı kullanıldı. Bütün testler için $p < 0,05$ olduğunda anlamlı kabul edildi. Numerik veriler ortalama ve standart sapma, kategorik veriler sayı ve yüzde olarak verildi. Verilerin analizinde Mann Witney U testi ve Kruskall Wallis testleri kullanıldı. AD-1 ile ALT, AST, CK, LDH, PT, aPTT, INR, WBC, PLT değişkenleri arasında Spearman's Correlations analiz testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Demografik ve Epidemiyolojik Bulgular

Çalışma toplam 50 hasta üzerinde yapıldı. Bu hastaların 26 (% 52)'ü erkek, 24 (% 48)'sı kadındı. Sağlıklı kontrol grubu 38 kişiden oluşuyordu. Kontrol grubunda 20 (% 52) erkek, 18 (% 47) kadın yer alıyordu. Hasta grubunda cinsiyet dağılımı benzerdi ($p=0,88$). Kontrol grubunda cinsiyet dağılımı benzerdi ($p=0,87$). Hastaların yaş ortalaması $49,12 \pm 18,33$, kontrol grubunun yaş ortalaması ise $40,92 \pm 16,51$ yıl idi. Hastalar klinik seyirlerine göre 18'i (% 32) ağır, 16'sı (%32) orta, 16'sı (% 36) hafif olarak gruplara ayrıldı. Çalışmaya alınan toplam 50 hastanın 4 (%8)'i öldü, 46 (%92)'si şifa ile taburcu edildi. Ölümcül vakalarımızın hepsinde çeşitli derecelerde şuur bozukluğu mevcuttu. Bir vakamızda DIC'e bağlı gelişen ciddi akciğer ve GİS kanamaları oluştu. İki olgumuzda böbrek fonksiyon bozukluğu (ARY) gelişti. Ölüm ile sonuçlanan bir vakamızda da myokard enfaktüsü gelişti.

Tablo 1. Hasta-Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

	Vaka	n	%	Yaş ortalama
Hasta	erkek	26	52,0	$47,12 \pm 19,72$ (16-81)
	kadın	24	48,0	$51,29 \pm 16,84$ (21-86)
Kontrol	erkek	20	52,6	$43,35 \pm 16,93$ (19-69)
	kadın	18	47,4	$38,22 \pm 16,06$ (18-70)

Otuzbir hastada (% 62) kene temas öyküsü mevcuttu. Diğer 19 hastanın (% 38)'inde kene teması yoktu. Hastaların tamamı kırsal alanda yaşıyordu. Hastalardan 12'si (% 24) çiftçilikle uğraşırken, 12'si (%24) hayvancılık, 21'i (% 42) ev hanımı olmakla birlikte bunların da hemen hepsi çiftçilik- hayvancılıkla uğraşıyordu. Hastalardan 2'si (% 4) çoban, 1'i (% 2) öğrenci, 1'i (% 2) serbest meslek, 1'si (%2) emekli meslek gruplarındandı. Hastaların demografik özellikleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 2. KKKA Hastalarının Demografik Özellikleri

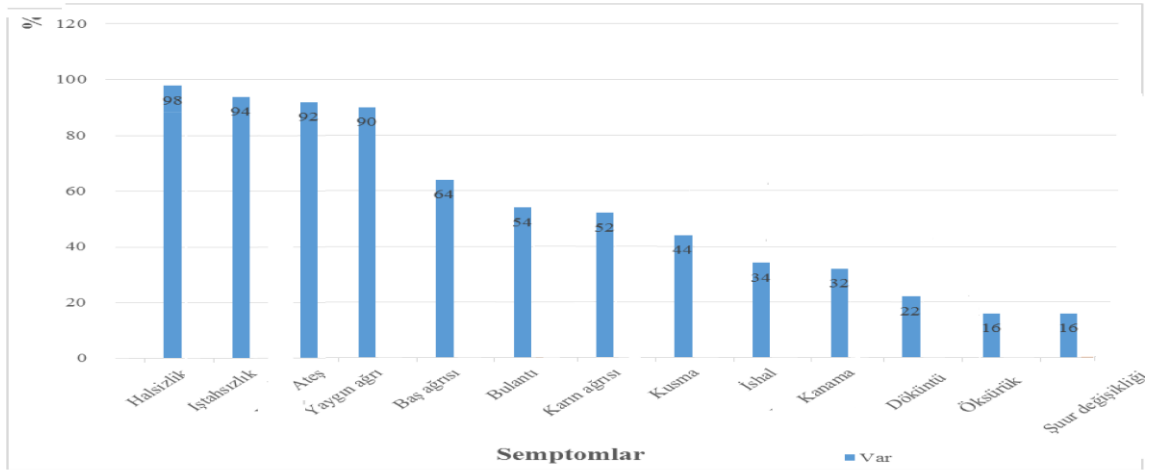
	n	%
Kene öyküsü var	31	62
Kene öyküsü yok	19	38
Meslek		
Çiftçi	12	24
Hayvancılık	12	24
Ev hanımı	21	42
Serbest	1	2
Öğrenci	1	2
Emekli	1	2
Çoban	2	4

4.2. Semptomlar

Hastalarda en sık semptomlar; halsizlik (% 98), iştahsızlık (% 94) ve ateş (% 92), idi. Toplam 16 hastada (% 32) yatışlarında ya da daha sonraki takiplerinde kanama görüldü. Hastaların semptomları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 3. KKKA Tanısı ile Takip Edilen Hastaların Semptomları

Semptom	n	%
Halsizlik	49	98
İştahsızlık	47	94
Ateş	46	92
Yaygın vücut ağrısı	45	90
Baş ağrısı	32	64
Bulantı	27	54
Karın ağrısı	26	52
Kusma	22	44
İshal	17	34
Kanama	16	32
Cilt döküntüsü	11	22
Öksürük	8	16
Şuur değişikliği	8	16



Grafik 2. Semptomlar

4.3. Fizik Muayene Bulguları

Hastalarda en sık saptanan fizik muayene bulguları; hepatomegali (%76), fasiyal hiperemi (%66), orofarenkste hiperemi (%68) idi. Bir hastada (% 2) bradikardi görüldü.

Tablo 4. KKKA Olgularının Fizik Muayene Bulguları

Bulgu	N	%
Hepatomegali	38	76
Orofarenkste hiperemi	34	68
Fasiyal hiperemi	33	66
Splenomegali	26	52
Akciğer dinleme bulgusu*	24	48
Konjunktival hiperemi	21	42
Lenfadenopati	1	2
Kardiak bulgular**	1	2
Herpes labialis	1	2

*Ral, ronküs, whezing ,solunum seslerinde kabalaşma **Bradikardi,

4.4. Laboratuvar Bulguları

Hastalardan AD-1 kanı ile eş zamanlı olarak alınan kandaki laboratuvar parametrelerinden WBC, PLT, AST, ALT, CPK, LDH, PT, aPTT ve INR değerleri

çalışmada kullanıldı. Hafif, orta, ağır hasta gruplandırmaları bu laboratuvar ölçümleri ile klinik olarak kötü prognoz kriterleri esas alınarak yapıldı. Hastalara ait laboratuvar bulguları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 5. Hastalara Ait Nonspesifik Laboratuvar Bulguları

	n=50 Ortalama ± standart sapma	Referans Aralığı	Birim
WBC	2432 ± 1977 (900-11700)	4.3-10.3	10 ³ /μ
PLT	40800 ± 26853 (6000-128000)	150-450	10 ³ /μL
AST	737 ± 1693 (48-11150)	1-50	U/L
ALT	322 ± 485 (26-2944)	1-50	U/L
CPK	997 ± 1290 (48-7641)	1-171	U/L
LDH	1107 ± 1663 (186-9458)	1-247	U/L
PT	11.7 ± 2.33 (9.0-18.9)	10-15.89	sn
aPTT	36.72 ± 8.01 (23.0-64.0)	26.5-36	s
INR	1.58 ± 0.27 (0.80-1.70)	0.9-1.3	INR

4.5. Serum AD-1 Seviyeleri

Kırım-Kongo kanamalı ateşi tanısı almış toplam 50 hastanın kanlarından elde edilen serum örneklerinde AD-1 seviyeleri çalışıldı.

4.5.1. Yaş, Cinsiyet, Sonuç ve Semptomların Başlamasından Çalışma Kanı Alınmasına Kadar Geçen Süreye Göre Serum AD-1 Düzeylerinin Hastalar Arasındaki Karşılaştırılması

Hastaların yaşları ile AD-1 değerleri arasında pozitif yönlü, zayıf dereceli bir korelasyon vardı ($r=0.287$, $p=0.043$). Yani yaş arttıkça AD-1 düzeyleri de artmaktadır. Kontrol grubunun yaşları ile AD-1 düzeyleri arasında anlamlı ilişki yoktu ($p=0.163$). Hasta grubunda kadınların AD-1 düzeyleri ile erkeklerin AD-1 düzeyleri arasında istatistiksel açıdan fark yoktu ($p=0.666$). Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyetleri arasında AD-1 ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

($p=0.465$). AD-1 düzeyleri ölen hastalarda, yaşayan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.014$). Semptomların başlangıcından çalışma kanı alınan güne göre AD-1 düzeyleri; 1-3 günlük grup, 4-7 günlük grup >7 günlük grup arasında AD-1 ortalamaları açısından anlamlı fark yoktu ($p=0.255$). Hafif, orta ve ağır grup hastaların AD-1 düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.729$).

Tablo 6. Hastaların Cinsiyet, Sonuç, Klinik Seyir ve Çalışma Gününe Göre AD-1 Değerlerinin Karşılaştırılması

		n	AD-1 (ng/ml)	p
Cinsiyet	Kadın	24	122.6 ± 34.44	0.666
	Erkek	26	129 ± 26.76	
Sonuç	Ölen	4	179.95 ± 54.31	0.014
	Sağ	46	121.32 ± 23.20	
Klinik seyir	Ağır	16	131.38 ± 36.95	0.729
	orta	16		
	Hafif	18	124.66 ± 30.33	
Çalışma kanı günü	1-3 gün		116,91 ± 26,77	0.255
	4-7-gün		127,70 ± 34,55	
	7> gün		132,20 ± 21,52	

4.5.2. Hastaların Bazı Klinik Özelliklerine Göre Serum AD-1 Seviyelerinin Karşılaştırılması

Klinik olarak, hastalardan kanaması olanlarla olmayanlar ($p=0.216$) ve akciğer dinleme bulgusu mevcut olanlarla olmayanlar ($p=0.719$) arasında serum AD-1 düzeylerinin karşılaştırılması yapıldı ve aralarında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Şuur değişikliği olanlarla olmayanlar arasında yapılan karşılaştırmada AD-1 düzeyleri istatistiksel anlamlı fark yoktur ($p=0.989$) olarak tespit edildi.

4.5.3. Hastalar ve Sağlıklı Kontrol Grubu Arasında Serum AD-1 Seviyelerinin Karşılaştırılması

Hastalarla kontrol grubunun serum AD-1 düzeylerinin karşılaştırılmasında ortalama AD-1 düzeyleri hasta grubunda $126,00 \pm 30,54$ ng/ml (91,99 - 251,02), kontrol grubunda ise $112,24 \pm 24,48$ ng/ml (65,67- 178,16) olup hastalarda kontrol grubundan anlamlı oranda yüksekti ($p=0.017$).

Tablo 7. Hasta Grubu ile Kontrol Grubu Arasındaki AD-1 Değerlerinin Karşılaştırılması

	Hasta n=50	Kontrol Grubu n=38	P
AD-1 (ng/ml)	$126,00 \pm 30,54$	$112,24 \pm 24,48$	0,017

Ölen ve sağ kalan hastalara göre serum AD-1 düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldığında; ortalama AD-1 değeri ölen hasta grubunda 179.95 ± 54.31 ng/ml, sağ kalan hasta grubunda 121.32 ± 23.20 ng/ml idi. Sağ kalan grupta düşük olmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.014$). Sağ kalan hasta grubu, sağlıklı kontrol grubu ile AD-1 değerleri yönünden ayrı ayrı karşılaştırıldı, sınırda anlamlı kabul edildi ($p_1=0,047$). Ayrıca ölen hasta grubu 4 kişi olduğundan sağlıklı kontrol grubu ile AD-1 değerleri yönünden istatistiksel hesaplama yapılmadı (en az 7 kişi olmalı). Sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 8. Ölen ve Sağ Kalan Hastaların Serum AD-1 Seviyeleri ile Kontrol Grubu AD-1 Değerlerinin Karşılaştırılması

	Hasta		Kontrol Grubu		
	Sağ n:46	Ölen n:4	p	n:38	p1
AD-1 (ng/ml)	121.32 ± 23.20	179.95 ± 54.31	0.014	$112,249 \pm 24.48$	0.047

p: Ölen hastalarla sağ kalan hastalar arasındaki AD-1 p değeri

p1: Sağ kalanlarla kontrol grubu arasındaki p değeri

Hastalığın seyrine göre, hafif grupta serum AD-1 düzeyi 124.66 ± 30.33 ng/ml iken, orta grup hastalarda serum AD-1 düzeyi ise 122.15 ± 24.32 ng/ml olup, ağır grup hastalarda serum AD-1 düzeyi 131.38 ± 36.95 olarak ölçüldü. Fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi ($p=0.729$). Hafif seyirli hastalarla kontrol grubunun AD-1 değerleri arasında anlamlı fark yoktu ($p_3=0.118$). Orta klinik seyirli hastalar ile kontrol grubu AD-1 ortalamaları açısından anlamlı ilişki yoktu ($p_2=0.116$). Ağır seyirli hastalar ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardı ($p_1=0.034$).

Tablo 9. Klinik Şiddete Göre Hasta Gruplarının ve Kontrol Grubunun AD-1 Değerlerinin Karşılaştırılması

Hastalığın seyri				Kontrol grubu				
	Ağır	Hafif	Orta	p		p1	p2	p3
(ng/ml)	131,38 ± 36,95	124,66 ± 0,33	122,15 ±24,32	0,729	112,24 ±24,48	0,034	0,116	0,118

p: Ağır ve hafif, orta seyreden hasta grubu arasında AD-1 p değeri

p1: Ağır seyreden hastalarla kontrol grubu arasında AD-1 p değeri

p2: Orta seyreden hastalarla kontrol grubu arasında AD-1 p değeri

p3: hafif seyreden hasta grubu ile kontrol grubu arasında AD-1 p değeri

4.5.4. Hastaların Eş Zamanlı Çalışılan Laboratuvar Bulgularının Serum AD-1 Düzeyleri ile Karşılaştırılması

Hastaların çalışma kanıyla eş zamanlı alınıp çalışılan kandaki bazı laboratuvar testleri (WBC, PLT, AST, ALT, CK, LDH, PT, aPTT, INR)'ne ait sonuçlar ile serum AD-1 düzeyleri arasında ilişkinin olup olmadığı araştırıldı. Her biri için yapılan ayrı ayrı korelasyon analiz sonuçları ile anlamlı korelasyon saptanmadı. AD-1 düzeyleri ile bakılan laboratuvar parametreleri arasında anlamlı ilişki yoktu.

Tablo 10. Hastaların Eş Zamanlı Çalışılan Laboratuvar Test Sonuçlarının Serum AD-1 Düzeyleri ile Korelasyonu

Parametre	Ortalama	AD-1	
		R	p
WBC	2432±1977(900-11700)	0.253	0.077
PLT	40800±26853(6000-128000)	-0.027	0.850
AST	737 ± 1693(48-11150)	0.063	0.664
ALT	322 ± 485 (26-2944)	0.116	0.421
CK	997 ±1290 (48-7641)	0.051	0.723
LDH	1107± 1663(186-9458)	0.029	0.842
PT	11.70 ± 2.33 (9.0-18.9)	-0.227	0.112
aPTT	36-72 ± 8.01(23-64)	0.084	0.564
INR	± 0.2 (0.86-1.9)	-0.112	0.437

5. TARTIŞMA

KKKA Afrika, Asya, Doğu Avrupa ve Ortadoğu bölgelerinde görülen mortalitesi yüksek viral bir enfeksiyondur (1). KKKAV, insanlara başlıca vektör olan Hyalomma cinsi keneler ile bulaşıp, zoonotik bir enfeksiyon oluşturmaktadır. Vertebralılar arasında sadece insanlarda şiddetli ve fatal enfeksiyon oluşturmaktadır. Türkiye’de ilk vaka 2002 yılında bildirilmiştir (1).

Virüs insanlara genelde ya infekte kenelerin ısırması ile ya da viremik hayvanların kesilmesi sırasında hayvana ait kan ve dokulara temas ile bulaşmaktadır (5). Bir araştırmada 123 KKKA olgusunda predispozan faktörleri incelenmiş, %44’ünde kene ısırığı öyküsü, %37’sinde hayvan teması ile birlikte kene ısırığı, %6’sında hastanede KKKA hastası ile temas bildirilmiştir. %17 olguda predispozan faktör belirlenememiş olmakla birlikte kene ısırığı olabileceği bildirilmektedir (75). Ülkemizdeki çalışmalarda hasta olarak başvuranların %60’ında kene öyküsü saptanmıştır. Hastalığın inkübasyon dönemi kene ısırığından sonra 2-12 gündür. Hastane personeli arasında index olguyu takiben 3-10 (ortalama 5,6) gündür (5). Özkurt ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hastaların %45’inde kene teması öyküsü olduğu tespit edilmiştir. Kene teması öyküsü olanlarda ortalama kuluçka süresi 4 gün olarak değerlendirilmiştir (8). Bizim çalışmamızda kene teması öyküsü olan 31 (%62) hasta tespit edildi. Kene teması olan hastalarda kuluçka süresi ortalama 3.4 (1-13) gündü.

Hastalık için tarım çalışanları ve hayvancılık ile uğraşanlar (çiftlik çalışanları, çobanlar, mezbaha çalışanları, kasaplar), veterinerler, hasta hayvan ile teması olanlar, endemik bölgelerde çalışan sağlık personeli, askerler, kamp yapanlar yüksek risk altındadır (5). Ülkemizdeki vakalarda olguların %90’ı çiftçidir. Olgular aktif çalışma yaşında olan bu nedenle keneye daha çok maruz kalan tarım ve hayvancılık ile uğraşanlarda yoğunlaşmaktadır. Yaptığımız çalışmada hastaların %24’ü hayvancılık, %24’ü çiftçilik, %42 ev hanımı olarak tespit edilmiş olup ev hanımlarının tamamı çiftçilik ve hayvancılık ile uğraşıyordu. 2 hasta (%4) çobanlık yapıyordu. Bir hasta öğrenci (%2), bir hasta emekli (%2), bir hasta serbest çalışandı (%2). Sağlık çalışanları ikinci en çok etkilenen gruptur. Sağlık çalışanları arasında KKKA enfeksiyonu ve ölümler genel popülasyondaki salgınlar ile paralel olarak bildirilmiştir (1). Perkütan

maruziyet, GİS kanamalı hastalara müdahaleler, henüz KKKA tanısı almamış acil opere edilen hastalardan bulaş en riskli durumlardır (1). Bizim çalışmamızda nosokomiyal bulaş öyküsü olan sağlık çalışanı yoktu.

Cinsiyet dağılımı tarım işlerinde kadınların katılımına bağlı olarak, ülkeler arasında farklılık gösterir (1). Özkurt ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %46.7 kadın hasta, %53.3 erkek hasta olarak bulunmuş; erkek ve kadın olguların yüzdelerinin benzer olduğu ve cinsiyet açısından anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir (8). Bizim çalışmamızda %52 erkek, %48 kadın hasta olarak tespit edildi. Bizim yaptığımız çalışmada hastaların yaş ortalaması 49 olarak bulundu.

Klinik olarak ani başlayan 39-40 °C'yi bulan ateş, halsizlik, yaygın kas-eklem ağrıları, baş ağrısı ve boğaz ağrısı görülür. Bazen bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısı gibi belirtiler görülmektedir. Erken belirtiler hipotansiyon, konjunktival hiperemi, deride kızarıklık yüzde malar raş olabilir (21). Özellikle trombositopenisi derin olan ve hemostaz paneli bozuk olanlarda mukoza ve cilde kanama eğilimi vardır. Dişeti kanaması, epistaksis, hematüri, vajinal kanama, melena, hematüri, hemoptizi, ve iç organlarda kanama gibi hemorajik bulgular ortaya çıkabilir. Ayrıca kliniği şiddetli olan hastalarda şuur bulanıklığı, ajitasyon, konfüzyon görülebilir (1, 3, 6). Çalışmamızda hastalarımızın semptomları tablo 3 ve grafik 2'de görüldüğü gibi sırasıyla %98'inde halsizlik, %94'ünde iştahsızlık, %92'sinde ateş, %90'ında yaygın vücut ağrısı, %64'ünde baş ağrısı, %54'ünde bulantı, %52'sinde karın ağrısı, %34 ishal, %32'sinde kanama, %22'sinde ciltte döküntü, %16 öksürük, %16'sında şuur değişikliğidir. Olgularımızın fiziki muayene bulguları %66'sında fasiyal hiperemi, %68'inde orofarenkste hiperemi, %42'sinde konjunktival hiperemi tespit edildi. Hastaların %48'inde solunum seslerinde kabalaşma, ral, ronküs de dahil çeşitli akciğer muayene bulguları görüldü. Bir hastamızda (%2) bradikardi kardiyak muayene bulgusu olarak rapor edildi.

Hastalarda serum AST, ALT, CPK, LDH değerleri genellikle artmıştır. Hastaların üçte birinde hepatosplenomegali olduğu rapor edilmiştir. Türkiye'de olguların %20-40'ında hepatomegali, %14-23'ünde splenomegali bildirilmiştir (8, 28). Burt ve ark. KKKA hastalarında yaptıkları çalışmada, hepatositlerde virüsün varlığını

tespit etmiş; karaciğer parankimindeki hasarın virüsün direkt sitopatik etkisine bağlı olduğunu rapor etmişlerdir (76). Rodrigues ve ark. (77), 2012 yılında yaptıkları çalışmada hepatositlerdeki KKKAV replikasyonunun, sitopatik etkiyle apoptozisi indüklediğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmalar karaciğer transaminazlardaki yükselmelerin virüsün sitopatik etkisinin bir sonucu olduğunu desteklemektedir. Biz çalışmamızda fiziki muayenede hastaların %76'sında hepatomegali ve % 52'sinde splenomegali saptadık. Hastalarımızın hemen hepsinde karaciğer transaminaz enzim seviyeleri yüksek olarak ölçüldü. Ölen hastalarda serum AST, ALT düzeyleri yaşayanlardan anlamlı olarak daha yüksek seyretti. Bizde çalışmamızda KKKHA hastalarında AST, ALT yüksekliğinin mutad bir laboratuvar bulgusu olduğunu ve prognostik önemi olduğunu düşünmekteyiz.

KKKHA'nde laboratuvar bulguları olarak ayrıca lökopeni, trombositopeni görülür. Ölümle sonuçlanan olgularda, hastalığın erken döneminden itibaren ciddi trombositopeni vardır ve bazı ağır vakalarda lökositoz görülmüştür. Hastalığın erken aşamasında anemi genellikle görülmez, klinik olarak ağır hastalarda geç dönemde hemoglobinde düşme saptanabilir (1, 12, 21). KKKHA hastalarında görülen sitopeninin hemofagositik sendroma bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ülkemizde KKKHA hastalarında yapılan kemik iliği biyopsilerinde hemofagositozla (reaktif histiyositler tarafından eritrosit, lökosit ve trombositlerin yıkımı) uyumlu histopatolojik bulgulara rastlanmıştır. Bu durum aktive makrofaj ve proinflamatuvar sitokinlerin yüksekliğine bağlıdır (1, 17). Ayrıca endotel hasarının trombosit yıkımına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızdaki hastaların tamamında trombositopeni mevcuttu ve ağır-ölümcül seyirli hastalarda erken dönemden itibaren ciddi trombositopeni vardı.

Klinik olarak ağır vakalarda PT, aPTT uzaması, fibrin yıkım ürünlerinin artması, fibrinojen düzeyi düşmesi görülebilir (1, 3, 6, 7). Şiddetli olgularda AST ve ALT değerlerinin > 700 IU ve > 900 IU olması yüksek duyarlılığa sahiptir. Hemogram ve biyokimyasal testler yaşayan vakalarda 5-9 gün içinde normal seviyelere döner (1). Bakır ve ark. (28), ölen hastalarda INR, AST, LDH ve CK düzeylerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada splenomegali ve bilinç bozukluğunun ölümcül sonuçlar için prediktif olduğu değerlendirilmiştir. Ölümcül sonuca katkıda bulunan faktörler beyin kanaması, şiddetli anemi, ağır dehidratasyon, uzamış ishal, myokard

enfarktüsü, akciğer ödemi, plevral efüzyon ile ilişkilidir (11). Goad ve ark. (8), yaptığı çalışmada yüksek vireminin ve çok yüksek transaminaz değerlerinin kötü prognoz göstergesi olduğu; ölümcül vakalarda yoğun ve uzayan vireminin olduğu tespit edilmiştir. Viremi düzeyinin prognostik özelliğe sahip olduğu, ölümcül vakalarda, yaşayanların ortalama değerlerinden 1000 misli daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (78). Türkiye’den Çevik ve ark.nın (78),yaptığı çalışmada viral yükün KKKA hastalarının prognozunu gösteren bir faktör olduğu iddia edilmiştir. Saksida ve ark. nın (79), yaptığı çalışmada yaşayan hastalarda etkin bir immun cevabın viral replikasyonu baskıladığı, ölen hastalarda ise immünitinin yetersiz kalması sonucu vireminin kontrol edilemediği rapor edilmiştir. Aynı çalışmada 10^8 kopya/ml üzerindeki viral yükün mortalite ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Tüm bu çalışmalar viral replikasyonun immun sistem tarafından baskılanamaması durumunda hastalığın mortal seyredeceğini gösterir. KKKA hastalarında vasküler sızıntı, multiorgan yetmezliği, şok ve kanama şiddetli bir spektrumu gösterir ve ölümcül vakalar 5-14 günde oluşur (12). Bizim çalışmamızda ölümcül vakalarımızın hepsinde AST, ALT, CPK, LDH değerleri >1000 ’in üzerinde seyretti. Ayrıca bu hastalarda çeşitli boyutlarda şuur değişikliği mevcuttu.

KKKA’nın patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Viral kanamalı ateş sendromunda, bağışıklık sistemi hastalıktan iyileşmede önemlidir. KKKA’nde ölümcül durumlarda zayıf ya da hiç antikor cevabının olmayışı, dolaşımdaki yüksek viral yük titreleri, yükselmiş serum sitokin düzeyleri enfeksiyonu kontrol etmek için yeterli bağışık yanıtın oluşmadığını gösterir. Sağ kalım ile antikor tepkileri arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. Ölümcül vakalarda inflamatuvar mediatörler önemli rol oynarlar (12). Ölen olgularda IL-6 ve TNF- α , IL-10, IFN-gama düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (79). Özellikle TNF- α ’nın yüksek serum düzeylerinin, ciddi hastalık gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. KKKA’da virüsün esas hedef hücreleri mononükleer fagositler, hepatositler ve endotelial hücrelerde viral RNA ve antijenleri 12 olgunun nekropsilerinde rapor edilmiştir (76). Kapiller permeabilite artışı ve pıhtılaşma fonksiyon bozukluğu kanamaya eğilimi artırmaktadır. Proinflamatuvar sitokinlerin indüksiyonu, endotel hasarı, lökosit adezyonu, trombosit agregasyonu ve degranülasyonu ile intrinsek pıhtılaşma kaskadı aktive edilebilir. KKKA’da karaciğer

disfonksiyonu özellikle hastalığın geç döneminde hemostazın bozulmasına neden olur (12).

Ülkemizde 2010 yılı itibariyle 5000 olgu kanıtlanmış KKKK enfeksiyonu bildirilmiştir ve olgu fatalite hızı %5-10 dolayındadır (1). Ülkemizde önceki çalışmalarda mortalite %2-12 olarak bildirilmiştir (8). Türkiye’den bildirilen 2002-2009 yılları arasındaki 6000 vakada ölüm oranı %5 olarak bildirilmiştir (12). Akın ve arkadaşları ülkemizdeki mortaliteyi %4,6-6,2 olarak değerlendirmişlerdir (3). Özkurt ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mortalite %10 olarak belirlenmiştir. Türkiye’de KKKAV suşları Rusya ve Kosova suşları ile %95-98 homoloji gösterir. 2001 yılında Kosova salgınında ölüm oranları ülkemizin mortalite oranlarına benzer olarak %8,6 tespit edilmiştir (8). Bizim yaptığımız çalışmada 50 hastanın 4’ü ex oldu; mortalite oranlarımız %8 olarak raporlandı. Ölümcül vakalarımızın hepsinde çeşitli derecelerde şuur bozukluğu mevcuttu. Bir vakamızda DIC’e bağlı gelişen ciddi akciğer ve GİS kanamaları oluştu. İki olgumuzda böbrek fonksiyon bozukluğu (ARY) gelişti. Ex olan bir hastamızda myokard enfarktüsü gelişti. Ex olan vakalarda bize başvurularında trombosit değerleri < 20000 idi. Kronik Hepatit B’nin eşlik ettiği bir vakamızda klinik ağır seyretti. HBV DNA > 2000 Ü olan ve antiviral tedavi almayan hastada AST değerleri 13000 Ü’ye yükseldi, plevral mayii ve batin içine kanama meydana geldi. Yoğunbakım şartlarında takip edilen hastaya 5 kez double filtrasyon işlemi yapıldı ve hasta şifa ile taburcu edildi.

Doğal bağışıklığın önemli bir bileşeni olan antimikrobiyal etkili katyonik peptidlerin insanlarda en fazla bulunan grubu defensinlerdir. Defensinlerin bir çok bakteri, mantar, protozoa ve virüsleri inaktive etme yetenekleri bulunmaktadır. Bununla birlikte makrofaj, T hücreleri, immatür dentritik hücreler için kemotaktiktirler (37).

Defensinler katyonik ve amfipatik özellikleri ile mikroorganizmaların membranlarındaki negatif yüklü moleküllere etki ederler. Bunlar gram negatif bakterilerde lipopolisakkaritler, gram pozitiflerde polisakkaritler ve lipoteikoik asit ayrıca bunların iç membranında bulunan fosfolipidlerdir. Nötrofil defensinleri kemik iliğinde nötrofil öncül hücrelerde büyük pre-propeptid olarak sentezlenir, daha sonra dolaşımdaki nötrofillerde biyoaktif molekül olarak depo edilir (37).

Defensinler, aynı zamanda immunmodulator peptid özellikleri ile immun yanıtın oluşmasında önemli rol oynarlar. Çeşitli inflamatuvar uyarılara yanıt olarak bazı hastalıklarda düzenleyici olabilirler. Son yıllarda α -defensinlerin otoimmun hastalıkların patogenezinde görev aldığı rapor edilmiştir. Behçet hastalığında oral ülser önemli kardinal bir bulgudur ve nötrofilik aktivite patogenezin bir parçasıdır. Tükürükte, oral epitel hücreleri ve nötrofiller antimikrobiyal peptid içerir. Behçet hastalığında bağışıklık disregülasyonu, proinflamatuvar sitokinlerin artışı, mukozal ve sistemik inflamasyon etyopatogeneizde rol alır. Kronik tekrarlayan sistemik bir vaskülit meydana gelir. Mumcu ve ark.nın (80), yaptığı bir çalışmada Behçet hastalarında HNP 1-3 düzeyleri anlamlı oranda daha yüksek bulunmuştur. HNP1-3 seviyelerinin hastalığın şiddeti ile ilişkili olarak şiddetli hastalıkta daha yüksek seyretmiştir. Mumcu ve ark.nın (81), yaptıkları başka bir çalışmada tükürükteki HNP 1-3 düzeylerindeki azalmanın Behçet hastalarında ve sağlıklı insanlarda gelişen oral ülserlere yatkınlığa sebebiyet verebileceği ve bunlarda biyolojik bir faktör olabileceği düşünülmüştür. KKKA’nda de kanda kompleman sisteminin aktivasyonu ile oluşan immunkompleksler meydana gelmektedir. Bunlar vasküler endotel hasarı ve permeabilite artışı ile seyreden vaskülit ve TNF, IL-1, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin artışına neden olmaktadır (12). Bizim sonuçlarımızda da AD-1 düzeyi bu çalışmalar ile benzer şekilde şiddetli hastalarda yüksek tespit edildi.

Birçok klinik çalışmada defensin ve kanser arasındaki ilişki gösterilmiştir. Defensinlerin tümör hücrelerinin düzenleyicisi olarak işlev gördükleri bilinmektedir. HNP1-3 birçok tümör çeşidinde üretilir. Gunes ve ark.nın (82), çalışmalarında mesane kanseri hastalarda HNP1-3 düzeyi klinik ve patolojik parametreler arasındaki ilişki araştırılmıştır, sonuçta grade 1-4 mesane tümörü olan hastalarda istatistiksel olarak daha yüksek olarak belirlenmiştir. Ayrıca sonuçları, lenfo-vascüler tümör yükü artmış hastalarda önemli derecede daha yüksek olarak tespit etmişlerdir. Mesane kanserinde yüksek HNP1-3 plazma düzeyinin, tümör invazyonunu artırdığı ve hastalığın progresyon indikatörü olduğu öne sürülmektedir. Bununla birlikte ameliyat öncesi HNP1-3 plazma düzeyinin patolojik evrelemede yol gösterici olduğu söylenebilir (82). KKKA de lenfovasküler bir hastalıktır. Virüs önce bölgesel lenf bezlerinde replike olur

ve karakteristik olarak endotel infeksiyonu yapar. Bizim sonuçlarımızda bu çalışma ile paralel olarak AD-1 düzeyini yüksek bulduk.

Düşük dereceli inflamasyonun, kronik kalp yetmezliği (KKY) gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı görülmektedir. C-reaktif protein ve monosit-türevli sitokinler gibi çeşitli inflamatuvar belirteçlerin artmış plazma seviyeleri, kronik kalp yetmezliği (KKY) olan hastalarda negatif prediktiftir. Alfa defensin yüksek konsantrasyonlarda koroner arterlerin aterosklerotik plaklarında gösterilmiştir. Alfa defensinlerin başka bir patojenik rolü artan tromboembolik olaylar ve KKY'da pro-trombozu teşvik etmektir. Alfa defensinler doku plazminojen aktivatörünü (t-PA) inhibe eder, böylece plazmin gelişimini inhibe ederek pıhtılaşmayı artırır. Alfa Defensinlerin mortalite açısından tip 1 diyabet, alt ekstremitte periferik arter hastalığı, erkeklerde koroner kalp hastalığı için de prognostik değeri gösterilmiştir. 2.6 yıl süren ileriye dönük gözlemsel bir çalışmada, kronik kalp yetmezliği hastalarında plazma α -defensin, mortalite ile ilişkili olarak incelenmiş, α -defensinin prognostik bilgiye sahip olduğu ve yerleşik klinik risk göstergelerine artan fayda sağladığı rapor edilmiştir (83). KKKA'de de IL-1, ve TNF ile fibrinolizin baskılanması için plazminojen aktivatör inhibitör serbestleşir ve pıhtılaşma mekanizmaları aktive edilir. Bizim çalışmamızda ağır ve mortal seyreden hastalarda AD-1 düzeyinin yüksek seyretmesi, yukarıdaki çalışmaya benzer şekilde koagülasyon kaskadının aktivasyonu ile, bu hasta grubunda DİK'e gidişi hızlandırmış olabilir.

Human nötrofil peptid-1 (HNP-1) nötrofillerin ürettiği en güçlü defensinlerden biridir. Dabirian ve ark.nın (84), yaptığı bir çalışmada, layşmanya amastigotları ve promastigotlarına karşı recombinan rHNP-1'in anti parazitik aktivitesi tanımlanmıştır. Ayrıca rHNP-1'in parazit bulaşmış nötrofiller üstünde immünmodülatör etkisini ve nötrofil apoptozunun nasıl etkilendiği değerlendirilmiştir. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (real-time PCR) kullanarak, laboratuvar ortamında, nötrofildeki layşmanya infektivitesinin rHNP-1 tedavisini takiben, tedavi edilmemiş hücrelere kıyasla önemli derecede azaldığı gösterilmiştir. KKKA'nde hastalığın ilerlemesinde anahtar oyuncular interlökin IL-10, IL-1, IL-6 ve TNF- α 'dır. İn vitro çalışmalarda KKKA'nin dendritik hücrelerde ve makrofajlarda çoğaldığı gösterilmiştir. Daha sonra endotel hücreleri aktivasyonu ile proinflamatuara sitokinler salınır (12). KKKA'da

vireminin neden olduğu hücresel bağışıklık hasarı öne çıktığından özellikle vireminin daha yüksek olduğu ağır seyirli ve mortal hastalarda, yukarıdaki çalışmaya benzer şekilde AD-1'in immun-modulator olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Nötrofiller mikrobik enfeksiyonlara karşı oksidatif ve non-oksidatif mikrobiyosidal mekanizmalarını her ikisini de kullanabilir. Defensinler nötrofil granüllerinde bol miktarda bulunan, oksijen bağımsız çalışan antimikrobiyal peptid ve proteinlerdir. Defensinler mikobakteri ve spiroketlere karşı da geniş antimikrobiyal etki spektrumuna sahiptirler. Direkt antimikrobiyal etkinliğe ek olarak sitokin üretimini modüle eder ve opsonin veya kemotaktik faktör gibi davranarak inflamatuvar ve immun yanıtları etkiler. Fu ve ark.nın (85), yaptığı çalışmada HNP'in invitro ve makrofaj içindeki *M.tuberculosis*'e karşı aktif olduğu rapor edilmiştir. Erken lezyonda nötrofiller tarafından salınan HNP'lerin bölgeye monositleri çektiği ve makrofajların in vivo extraselüler HNP'leri aldığı, ayrıca hücre içi patojenleri öldürdüğü tespiti yapılmıştır. Bu çalışmada HNP'nin, tüberküloza karşı potansiyel terapötik bir ajan olabileceği düşünülmüştür.

HNP-1'in T hücreleri için kemotaktik olduğu gösterilmiştir ve monositlerden ve aynı zamanda solunum yolu epitelinin IL-8 üretimini indükler. Zhu ve ark.ları (86), multidrugrezistan tüberkülozlu (MDR-TB) olgularda direnç oluşumu ile HNP1-3 arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Sonuçta MDR-TB'nin, HNP1-3'ün düşük plazma konsantrasyonu ile ilişkili olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca HNP1-3 konsantrasyonları ile balgam ARB pozitifliği arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, *Mycobacterium tuberculosis* H(37) Rv'ye karşı HNP-1'in isoniasid ve rifampicin ile kombinasyonu arasında sinerjizm gözlemlenmiştir. Sonuçta geleneksel tüberküloz tedavisine, HNP-1'in adjuvan kemoterapötik ajan olarak eklenebileceği gösterilmiştir (87).

Defensinler hem zarflı, hem de zarfsız virüslere karşı çoklu antiviral mekanizmaya sahiptir. Bunlar viral füzyonun inhibisyonu, giriş sonrası nötralizasyona ek olarak direkt viral zarfı parçalayan, viral glikoprotein ve kapsidi etkileyen mekanizmaları içerir. Ayrıca defensinler tarafından hücre içi haberleşmenin bozulması viral kopyalanmayı engelleyebilir (63). Bastian ve Schafer'in çalışmalarında DEFA1-4

defensinlerin *HSV tip 1-2* ve *CMV*'ye karşı inaktive edici etkileri gösterilmiştir. Enfekte hücre kültürlerine DEFA-1 ekleyerek viral proteinlerin sentezi ve viral replikasyonun inhibisyonu rapor edilmiştir. Yazarlar defensinlerin bu aktivitesini, zarflı virüslerin lipidleriyle olan etkileşime bağlamışlardır (35).

Bastian ve ark.ları (88), *Adenovirüs tip 5* ile infekte edilmiş hücrelere 50 µgr/ml HNP-1 verildiği takdirde %95 oranında *Adenovirüs* enfeksiyonunu azalttığını tespit etmişlerdir. Ortaya konulan verilerde, BAL'da HNP-1 defensinin özellikle inflamatuvar hastalığı olanlarda, adenoviral gen transferini büyük oranda engellediği gösterilmiştir.

İnfluenza virüsü enfeksiyonun başlangıcından 18 saat sonra pulmoner nötrofillerin şiddetli inflamasyonu ile alveolit gelişir. Grip salgını sırasında akciğerlerde aktive edilmiş nötrofiller tarafından α -defensin salınması influenza virüs replikasyonunu inhibe etmek için yardımcı olabilir. Salvatore ve ark.ları (89), yaptıkları bir çalışmada α -defensin-1'in, invitro *İnfluenza* virüsüne karşı antiviral aktivitesini incelemişlerdir. Hücre kültürlerinde HNP-1'in viral replikasyonu ve viral protein sentezini belirgin şekilde inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu etkisi, sitotoksiste veya virüs üzerinde doğrudan bir etkiye bağlı değildir. HNP-1'nin infekte hücrelerde protein kinaz C aktivasyonunu inhibe ederek etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

İnsan Papilloma virüs (HPV), servikal kanserin başlıca nedenidir. Buck ve ark.ları (90), zarfsız bir virüs olan HPV'ye karşı doğal antimikrobiyal peptidlerin etkinliğini araştırmışlardır. Sonuçta HNP1-3 ve HD-5'in hem cilt hem de mukozal *Papilloma virüs* enfeksiyonunun güçlü antagonisti olduğunu ortaya koymuşlardır. HNP1-3 ve HD-5'nin dışı genital sistem içinde mevcut olduğu, defensinlerin in vitro olarak cinsel yolla iletilen HPV için doğal bir bariyer olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada α -defensinlerin HIV-1, *Herpes simpleks* enfeksiyonlarını önleyebildiğini göstermişlerdir (37). Bundan dolayı potansiyel olarak aynı anda birden fazla cinsel yolla iletilen patojenleri engellemek için geniş spektrumlu topikal mikrobisid işlevi görebileceği düşünülmüştür (90). KKKA'da doğal bağışıklık sistemi hastalıktan iyileşmede önemlidir. KKKA nedeni ile ölen hastalarda inflamatuvar mediatörler önemli rol oynar. Çalışmamızda tespit ettiğimiz KKKA'nde artan AD-1 seviyelerinin konak savunmasına katkıda bulunabileceğini düşündük.

Hsu ve ark.nın (91), yaptığı çalışmada, *Human parvovirüs B19* enfeksiyonunun yapısal olmayan protein ve viral protein transfekt edilmiş (bir hücreye nükleik asit vermek) hücrelerde, HNP1-3'in üretimi araştırılmıştır. Transfekte olmuş hücrelerde, post transfeksiyondan 24 saat sonra ve de 20.günde önemli derecede yükselmiş HNP1-3 düzeyleri saptanmıştır.

Bizim çalışmamız da yukarıdaki bütün çalışmalara benzer şekilde KKKAV'ın serum AD-1 salınımını doğrudan ya da dolaylı olarak artırdığını düşündürmekte ve mevcut çalışmaları destekler niteliktedir. KKKAV virüsünün zarflı bir virüs olmasına karşın, AD-1'in antiviral etkinliğini göremedik. Özellikle kliniği ağır seyreden ve ölen hastalarda AD-1 düzeyleri daha yüksek olarak ölçüldü. HNP-1 polimorfonükleer lökositlerin granüllerinde bol miktarda bulunmaktadır. Çalışmamızda özellikle ağır seyirli ve ölümcül vakalarda ciddi lökopeni ve nötropeni olması, buradan salgılanan AD-1 miktarının antiviral etkinlik için yeterli olmadığını düşündürmektedir. Bununla birlikte hastalığın ağırlığı ne düzeyde olursa olsun AD-1'in artan düzeylerinin hastalığın patogeneğinde önemli bir yeri olduğunu göstermektedir.

Medikal literatür taramalarında VKA'larda serum α defensin-1 ile ilgili yapılan bir çalışma gösterilememiştir. Bizim yaptığımız çalışmada serum AD-1'nin serum düzeyleri ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. KKKAV hastalarında AD-1 düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı oranda daha yüksek bulundu ($p=0.017$). Mortal seyreden hastalarda, yaşayan hastalara göre AD-1 değerleri anlamlı olarak daha yüksek tespit edildi ($p=0.014$). Yaşayan hastalarda AD-1 miktarları kontrol grubuna göre daha yüksek olarak raporlandı ($p=0.047$). Hastaların klinik seyirlerinde ortaya çıkan akciğer dinleme bulguları, şuur değişikliği, çeşitli boyutlarda deri ve mukozal kanaması olanlarda, bu bulguları olmayan hastalarla karşılaştırılmalarında AD-1 düzeyleri arasında istatistiksel fark tespit edilmedi. Ayrıca ağır seyirli hastalar ile kontrol grubu arasında AD-1 değerleri arasında anlamlı fark vardı ($p=0.034$). Yaptığımız çalışmada, hastaların yaşları ile AD-1 düzeyleri arasında pozitif yönlü zayıf dereceli bir korelasyon vardı. Yani yaş ile birlikte AD-1 düzeyleri de artmıştır. Ancak, AD-1 ile hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılmasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmedi.

20.yüzyılın sonlarında klasik antibiyotiklere karşı gelişen bakteriyel direnç, araştırmacıları yeni sınıf anti-patojenik ilaçların keşfine zorlamıştır. Defensinler ve diğer antimikrobiyal peptidler üzerindeki çalışmalar umut vericidir. Bulaşıcı hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde defensinlerin kullanılması önemli olabilir, ancak pratik uygulamada bir çok zorluklar vardır. İnsan kökenli defensinler klinik denemelerde nadiren kullanılmıştır. Bir çok araştırmacı ve ilaç firmaları böcekler ve kurbağalar üzerinde türetilmiş sentetik ve doğal antimikrobiyal peptidler üzerinde çalışmıştır. İnsan defensinlerinin güçlü antimikrobiyal aktiviteleri, düşük moleküler ağırlığa sahip olmaları, düşük immünojeniteleri, geniş aktivite spektrumları ve proteolize karşı direnç gibi özellikleri dikkate alınırsa farmasötik potansiyelleri göz ardı edilemez. 2007 yılında ticari olarak temin edilebilen iki peptid gösterilmektedir. Gram negatif bakteriler için Polimixin B, Gram pozitif bakteriler için daptomisin belirtilmiştir. Yüksek üretim maliyetleri, potansiyel toksisiteleri, düşük stabiliteleri pratik uygulamalardaki zorluklardır. Bununla birlikte HIV füzyon önleyici olarak kullanılan T-20 peptid (Fuzeon) üretim zorluklarının aşılabildiğini göstermektedir (35).

Yaptığımız çalışmada, KKKA'da serum AD-1 salınımının artmış olması, ağır seyirli hastalarda ve ölen hastalarda seviyelerinin daha yüksek seyretmesi, AD-1'in KKKA'nda klinik seyir ve mortalite hakkında yol gösterici olabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda genelleme yapmak için immunolojik parametrelerin, viral yükün ayrıca diğer defensinlerin birlikte değerlendirildiği daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Ergonul O. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis.*2006;6:203-14.
2. T.C.Sağlık Bakanlığı Bulaşıcı Hastalıklar Bölümü raporları, Ankara, 2005
3. Akın L. Kırım Kongo Hemorajik Ateşi. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2008;39:134-143
4. Özkurt Z. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. *Yoğun Bakım Dergisi* 2007; 7 (1): 85-90.
5. Elaldı N. Kırım Kongo Hemorajik Ateşi Epidemiyolojisi. *Klimik Dergisi*. Cilt 17, Sayı: 3, 2004;151-156.
6. Bodur H. Kırım-Kongo kanamalı ateşi ve DAS yönetimi. 5.Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi-2007; 509-20.
7. Ergönül Ö. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. *ANKEM Derg.* 2009; 23 (Ek 2): 234-240.
8. Ozkurt Z. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eastern Turkey:clinical features, risk factors and efficacy of ribavirin therapy. *J.Infect.* 2006 ;52(3):207-15
9. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Zoonotik Hastalıklar Daire Başkanlığı. 2013 raporları
10. Vatansever Z. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Epidemiyolojisinde Çevresel, Vektörel, İklimsel Değişikliklerin Rolü. 3.Ulusal VirolojiKongreKitabı, Bursa, 2007;203-209.
11. Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *AntiviralRes* 2004;64:145-205.
12. Bente DA.,Whitehouse CA. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral research.* 2013;100:159-189
13. Bakır M. Kırım Kongo Hemorajik Ateşi *Ankem Derg.* 2004;18(Ek 2): 90-93
14. Seçmeer ve ark. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi. *J Pediatri Inf* 2010;4:152-161
15. Midilli K. Kırım Kongo kanamalı ateşi virüsünün biyolojik ve moleküler epidemiyolojisi. 3. Ulusal VirolojiKongreKitabı, Bursa, 2007:195-203
16. Gargılı A. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi'nin Vektörleri, Vektör Biyolojisi. 3. Ulusal Viroloji Kongre Kitabı, Bursa, 2007:200-202
17. Ergönül Ö, Söyletir G, Doğanay M. Viral Kanamalı Ateşler. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi* 3.Baskı Nobel Tıp Kitabevleri 2008; 1: 1251-1265
18. Ergonul O, Tuncbilek S, Baykam N, Celikbas A, Dokuzoguz B. Evaluation of serum levels of interleukin (IL)-6, IL-10, and tumor necrosis factor-alpha in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2006; 193: 94
19. Swanepoel R, Gill DE, Shepherd AJ, et al. The clinical pathology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis* 1989; 11(Suppl 4): 794-800.

20. Çevik M. Kırım-Kongo Kanamalı ateşi: Klinik özellikleri. *Klinik Derg* 2004;17:59-61.
21. Ergönül Ö. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: new outbreaks, new discoveries. *Virology Current Opinion in* 2012; 2: (215-220)
22. Ergonul O. Treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res* 2008; 78(1): 125-131.
23. Dokuzoğuz B. , Severity scoring Index for CCHF and the Impact of Ribavirin and corticosteroids on fatality, *Clin Infect Dis*, 2013;57(9)
24. T.C. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Kırım Kongo kanamalı ateşi. 1. Baskı: Ankara: T.C.Sağlık Bakanlığı, 2005.
25. World Health Organization. Crimean-Congo hemorrhagic fever. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs208/en/> 10 June 2008
26. Elaldi N, et al. Comparison of oral ribavirin treatment in Crimean-Congo hemorrhagic fever: a historical cohort study in Turkey. *ECCMID and 25th International Congress of Chemotherapy*, 2007, Munich, Germany
27. Maltezou HC, Andonova L, Andraghetti R, et al. Crimean- Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Euro Surveill* 2010; 15(10): 19504.
28. Bakir M, Ugurlu M, Dokuzoguz B, Bodur H, Tasyaran MA, Vahaboglu H. Crimean-Congo haemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: a multicentre study of clinical features and outcome measures. *J Med Microbiol* 2005; 54 385-89.
29. Jamil B, Hasan RS, Sarwari AR, Burton J, Hewson R, Clegg C. Crimean-Congo hemorrhagic fever: experience at a tertiary care hospital in Karachi, Pakistan. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2005;99(8):577-661.
30. Hancock RE: Cationic peptides: effectors in innate immunity and novel antimicrobials, *Lancet Infect Dis* 2001;1:156.
31. Froy O. Regulation of mammalian defensin expression by Toll-like receptor-dependent and independent signalling pathways. *Cell Microbiol* 2005; 7: 1387-1397.
32. Fellermann K, Stange EF. Defensins- innate immunity at the epithelial frontier. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 771-776.

33. Ganz T, Lehrer RI: Antibiotic peptides from higher eukaryotes: biology and applications, *Mol Med Today* 1999;5:292.
34. Hancock RE, Lehrer R: Cationic peptides: a new source of antibiotics, *Trends Biotechnol* 1998;6:82.
35. Jarczak J., et al, Defensins: Natural component of human innate immunity, *Human Immunology*, 2013;1069-1079
36. Nicolas P, Vanhoye D, Amiche M. Molecular strategies in biological evolution of antimicrobial peptides. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins. *Biotechnol Lett.* 2005; 27: 1337-1347.
37. Linda Hazlett & Minhao Wu. Defensins in innate immunity. Springer-Verlag, Received: 2010; 10.1007-1022
38. Linzmeier RM, Ganz T. Human defensin gene copy number polymorphisms. *Genomics* 2005;86:423-30
39. Kamysz W, Okroj M, Lukasiak J. Novel properties of antimicrobial peptides. *Acta Biochim Pol* 2003; 50:461.
40. Hancock RE: The bacterial outer membrane as a drug barrier. *Trends Microbiol* 1997; 5:37.
41. Matsuzaki K: Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainins and tachyplesins as archetypes, *Biochim Biophys Acta* 1999;1462:1.
42. Hancock RE, Rozek A. Role of membranes in the activities of antimicrobial cationic peptides, *FEMS Microbiol Lett* 2002;206:143.
43. Shai Y, Oren Z: From "carpet" mechanism to de-novo designed diastereometric cell-selective antimicrobial peptides, *Peptides* 2001;22:1629.
44. Yeaman MR, Yount NY: Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance, *Pharmacol Rev* 2003;55:27.
45. Ganz T (2003) Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 3(9):710–720
46. Peschel A: How do bacteria resist human antimicrobial peptides?. *Trends Microbiol* 2002; 10:179.
47. MacFarlane ELA, Kwasnicka A, Hancock RE: Role of *Pseudomonas aeruginosa* PhoP-PhoQ resistance to antimicrobial cationic peptides and aminoglycosides, *Microbiology* 2000;146:2543.

48. Döşler S. ve Ark., Geleceğin antibiyotikleri:antimikrobiyal etkili katyonik peptidler, ANKEM 2006;20(1):44-54
49. Bensch KW, Raida M, Magert HJ, Schulz-Knappe P, Forssmann WG. hBD-1: a novel beta-defensin from human plasma. FEBS Lett. 1995;368:331-336.
50. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M et al.. A peptide antibiotic from human skin. Nature Inducible. 1997; 387: 861-883.
51. Guaní-Guerra E, Santos-Mendoza T, Lugo-Reyes SO, Terán LM. Antimicrobial peptides: general overview and clinical implications in human health and disease. Clin Immunol. 2010;135:1-11.
52. Eckmann L. Defence molecules in intestinal innate immunity against bacterial infections. Curr Opin Gastroenterol. 2005; 21:147-151.
53. Rivas-Santiago B, Schwander SK, Sarabia C, et al. Human beta-defensin 2 is expressed and associated with Mycobacterium tuberculosis during infection of human alveolar epithelial cells. Infect Immun. 2005; 73(8):4505–4511
54. Feng Z, Jiang B, Chandra J,et al. Human beta-defensins: differential activity against Candidal species and regulation by Candida albicans. J Dent Res. 2005; 84:445–450
55. Hazrati E, Galen B, Lu W, Wang W, et al.. Human alpha- and beta-defensins block multiple steps in herpes simplex virus infection. J Immunol. 2006;177 (12):8658–8666
56. Zaalouk TK, Bajaj-Elliott M, George JT, McDonald V. Differential regulation of beta-defensin gene expression during Cryptosporidium parvum infection. Infect Immun. 2004;72(5):2772–2779
57. M. Doss, M.R. White, T. Tecle, D. Gantz, E.C. Crouch, G. Jung,et al. Interactions of alpha, beta, and theta defensins with Influenza A Virus and Surfactant Protein. DJ Immunol. 2009;182 :7878–7887
58. S. Welkos, C.K. Cote, U. Hahn, O. Shastak, J. Jedermann, J. Bozue, *et al.* Humanized theta-defensins (Retrocyclins) enhance macrophage performance and protect mice from experimental anthrax infectionsAntimicrob Agents Chemother, 55. 2011; 4238–4250
59. J. Ding, Y.Y. Chou, T.L. Chang. Defensins in viral infections. J Innate Immun. 2009; 413–420

60. Dommett R, Zilbauer M, George JT, Bajaj-Elliott M. Innate immune defence in the human gastrointestinal tract. *Mol Immunol*. 2005; 42: 903-912.
61. Muller CA, Autenrieth IB, Peschel A. Innate defenses of the intestinal epithelial barrier. *Cell Mol Life Sci*, 2005; 62: 1297-1307.
62. Bevins CL. Paneth cell defensins: key effector molecules of innate immunity. *Biochem Soc Trans*, 2006; 34: 263- 266.
63. Sarah S, et al., antiviral mechanisms of human defensins. *Journal of molecular biology*, 2013; 4965-4980
64. Kieran, Q. Et al.. Human neutrophil peptides: a novel potential mediator of inflammatory cardiovascular diseases. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* , 2008, 295; 1817-1824
65. K.A. Daher, M.E. Selsted, R.I. Lehrer Direct inactivation of viruses by human granulocyte defensins *J Virol*, 60 (1986), pp. 1068–1074
66. R.I. Lehrer, K. Daher, T. Ganz, M.E. Selsted. Direct inactivation of viruses by MCP-1 and MCP-2, natural peptide antibiotics from rabbit leukocytes. *J Virol*, 54 (1985), pp. 467–472
67. J.G. Smith, M. Silvestry, S. Lindert, W. Lu, G.R. Nemerow, P.L. Stewart. Insight into the mechanisms of adenovirus capsid disassembly from studies of defensin neutralization. *PLoS Pathog*. 2010 Jun 24; 6(6):e1000959
68. A. Rapista, J. Ding, B. Benito, Y.T. Lo, M.B. Neiditch, W. Lu, et al. Human defensins 5 and 6 enhance HIV-1 infectivity through promoting HIV attachment. *Retrovirology*. 2011; 14; 8:45. doi: 10.1186/1742
69. L.H. Demirkhanyan, M. Marin, S. Padilla-Parra, C. Zhan, K. Miyauchi, M. Jean-Baptiste, et al. Multifaceted mechanisms of HIV-1 entry inhibition by human alpha-defensin. *J Biol Chem*, 287 (2012), pp. 28821–28838
70. M. Salvatore, A. Garcia-Sastre, P. Ruchala, R.I. Lehrer, T. Chang, M.E. Klotman alpha-Defensin inhibits influenza virus replication by cell-mediated mechanism(s) *J Infect Dis*, 196 (2007), pp. 835–843
71. A.S. Dugan, M.S. Maginnis, J.A. Jordan, M.L. Gasparovic, K. Manley, R. Page, et al. Human alpha-defensins inhibit BK virus infection by aggregating virions and blocking binding to host cells. *J Biol Chem*, 283 (2008), pp. 31125–31132

72. A.P. Gounder, M.E. Wiens, S.S. Wilson, W. Lu, J.G. Smith Critical determinants of human alpha-defensin 5 activity against non-enveloped viruses. *J Biol Chem*, 287 (2012), pp. 24554–24562
73. T. Tecle, M.R. White, D. Gantz, E.C. Crouch, K.L. Hartshor Human neutrophil defensins increase neutrophil uptake of influenza a virus and bacteria and modify virus-induced respiratory burst responses. *J Immunol*, 178 (2007), pp. 8046–8052
74. P.A. Charp, W.G. Rice, R.L. Raynor, E. Reimund, J.M. Kinkade, T. Ganz, *et al* Inhibition of protein kinase C by defensins, antibiotic peptides from human neutrophils. *Biochem Pharmacol*, 37 (1988), pp. 951–956
75. Anonymous.SouthAfrica1981.<http://www.angefire.com/punk/lymedisease/cCHF81.html>
76. Burt FJ, Swanepoel R, Shieh WJ,et al.. Immunohistochemical and in situ localization of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in human tissues and implications for CCHF pathogenesis. *Arch Pathol Lab Med*,1997; 121(8): 83946
77. Rodrigues R, Paranhos-Baccalà G, Vernet G, Peyrefitte CN. CrimeanCongo hemorrhagic fever virus infected hepatocytes induce ER-stress and apoptosis crosstalk. *PLoS One*. 2012;7(1):e29712.
78. Cevik MA, Erbay A, Bodur H, Eren SS, Akinci E, Sener K, Ongürü P, Kubar A. Viral load as a predictor of outcome in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Clin Infect Dis*. 2007 Oct 1;45(7):e 96-100. Epub 2007 Aug 62
79. Saksida A, Duh D, Wraber B, Dedushaj I, Ahmeti S, Avsic-Zupanc T. Interacting roles of immune mechanisms and viral load in the pathogenesis of crimean-congo hemorrhagic fever. *Clin Vaccine Immunol*. 2010;17(7):1086-1179.
80. Mumcu G¹, Salivary levels of antimicrobial peptides HNP 1-3, LI-37 and S100 in Behcet's disease. *Arch Oral Biol*. 2012;57(6):642-648.
81. Mumcu et al, HNP1-3 Behcet's disease, *Int J Dermatol* 2013;50(109):1198-201)
82. Gunes M¹ , Plasma human neutrophil proteins-1, -2, and -3 levels in patients with bladder cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2013 ;139(2):195-9
83. Christensen HM, et al, α -Defensins and outcome in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2012 ;14(4):387-94
84. Dabirian S., Human neutrophil peptide-1 (HNP-1): A new anti-leishmanial drug candidate, *PLoS Negl Trop Dis*. 2013; 17;7(10):e2491

85. Fu LM.. The potential of human neutrophil peptides in tuberculosis therapy, *Int J Tuberc Lung Dis*, 2003 ;7(11):1027-32
86. Zhu LM. et al.. Multidrogresistant tuberculosis is associated with low plasma concentrations of human neutrophil peptides 1-3. *Int J tuberc Lund Dis*, 2011 ;15(3):369-443
87. Kalita A. et al.. Role of human neutrophil peptid-1 as possible adjunct to antituberculosis chemotherapy, *J Infect Dis*.2004 ;190(8):1476-1556
88. Bastian A. Human alpha defensin 1 inhibits adenoviral infection in vitro, *Regul Pept*. 2001 ;101(1-3):157-61
89. Salvatore M. Alpha defensin inhibits influenza virüs replication bycell-metiaded mechanism, *J Infect Dis*, 2007;196(6):35-43
90. Buck CB, et al. Human alpha-defensins block papillomavirüs infection. *Proc Natl Acad Sci USA*.2006;103(5):1516-21.
91. Hsu GJ. Effects of human parvovirus B19 on expression of defensins and Toll-like receptors. *Chin J Physiol*. 2011;54(5):367-76

EKLER

EK 1.

KKKA HASTA TAKİP FORMU									
HASTA BİLGİLERİ									
ADI		YAŞ		KENE TEMASI	VAR ☐ YOK ☐	ADRES BİLGİLERİ			
SOYADI		MESLEK		KULUÇKA SÜRESİ					
DOSYA NO		YATIŞ TARİHİ		KAN ALMA GÜNÜ					
SEMPLOMLAR									
ATEŞ	VAR ☐ YOK ☐	İŞTAHSIZLIK	VAR ☐ YOK ☐	İSHAL	VAR ☐ YOK ☐	ŞUUR DEĞİŞİKLİĞİ	VAR ☐ YOK ☐		
HALSİZLİK	VAR ☐ YOK ☐	BULANTI	VAR ☐ YOK ☐	DÖKÜNTÜ	VAR ☐ YOK ☐	ÖKSÜRÜK	VAR ☐ YOK ☐		
BAŞ AĞRISI	VAR ☐ YOK ☐	KUSMA	VAR ☐ YOK ☐	KANAMA	VAR ☐ YOK ☐	KARIN AĞRISI	VAR ☐ YOK ☐		
KLİNİK BULGULAR									
FASİYAL HİPEREMİ	VAR ☐ YOK ☐	LAP	VAR ☐ YOK ☐	AC MUYENE BULGULARI					
KONJUNKTİVAL HİPEREMİ	VAR ☐ YOK ☐	HMG	VAR ☐ YOK ☐	RADYOLOJİK BULGU					
DÖKÜNTÜ	VAR ☐ YOK ☐	SMG	VAR ☐ YOK ☐	DİĞER BULGULAR					
OROFARENKS MUAYENE BULGULARI									
LABORATUAR BULGULARI									
PLT		ALT		LDH		PT		INR	
WBC		AST		CK		PTT		NO DÜZEYİ	
TEDAVİ									
TROMBOSİT	EVET ☐ HAYIR ☐	TAM KAN	EVET ☐ HAYIR ☐	PALMAFEREZ	EVET ☐ HAYIR ☐				
TDP	EVET ☐ HAYIR ☐	ERİTROSİT	EVET ☐ HAYIR ☐	IMMUN SERUM	EVET ☐ HAYIR ☐				
		RİBAVİRİN	EVET ☐ HAYIR ☐	DİĞER					
SONUÇ	ŞİFA		EKSİTUS						

EK 2.**GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU**

Çalışmanın Adı: Kırım Kongo kanamalı ateşinde hemostaz göstergelerinin ve çeşitli immün parametrelerin serum seviyelerinin ve klinik seyirle ilişkisinin araştırılması

Amacı: Bu çalışma Kırım Kongo kanamalı ateşinde hastalarda kanamaya neden olan süreçte hangi maddelerde değişiklik olduğunun anlaşılması amacıyla planlanmıştır. Hastalığın tedavisi için faydalı olacak bilgilerin elde edilmesi, elde edilecek bilgilerin daha sonraki hastalara faydalı olmak için, yeni tedaviler araştırmak, geliştirmek için kullanılması ümit edilmektedir. Bu çalışmanın şu anda takip edilen hastadan ziyade sonraki hastalar için fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Metod: Çalışma için hasta servise ilk yattığında alınan kanlardan sadece 1 kez kan alınacak. Çalışma için ölçülecek parametreler hastadan bir kez alınan kanda yapılacaktır. Zaten hastaların izlenmesi esnasında trombosit sayıları düşük olduğundan tedavinin yönetimi açısından günde iki kez hemogram istenmekte, trombositreplasmanlarına bu tetkiklerin sonuçlarına göre karar verilmektedir. Çalışma kanı için hastanın damarına ayrı bir girişim yapılmayacak, sadece bir kez zaten kan alınırken yaklaşık 5 cc kan çalışma için ayrılacaktır. Çalışmalar hastanemiz laboratuvarlarında yapılacaktır.

Gönüllünün araştırmaya katılacağı süre: Kan alma süresi 1-2 dakika

Karşılaşılabilecek güçlükler: Kan alma sırasında acıma ve ilgili bölgede morarma görülebilir. Ancak zaten çalışma için ayrıca damara girişim yapılmayacak. Zaten tanı ve tedavi prosedürü için kan alınırken bir miktar da çalışma için alınacak.

Kişi veya kişiler için araştırmadan beklenen tıbbi yarar: Bu çalışmanın şu anda takip edilen hastadan ziyade sonraki hastalar için tanı ve ilerde destek tedavilerini geliştirme konusunda fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Muhtemel zarar durumunda gönüllünün veya yakının bilgi için ilişki kuracağı kişinin ismi: Hasta ilk yatışta zaten alınan kanlarda çalışma yapılacağı için

hastanede olduğu dönemde gelişebilecek her türlü sorun serviste ilgili asistan tarafından giderilecektir.

- Gönüllü araştırmaya katılmayı red etme hakkına sahiptir
- Gönüllünün kendi rızasına bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma harici bırakılabileceğinin bildirilmesi.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu Klinik Araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı: Telefon no:

Adresi (varsa, faks no.):

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya velisinin Adı, İmzası, Adresi (varsa telefon no, faks no.)

Açıklamaları yapan araştırmacının Adı, İmzası

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin Adı, İmzası, Görevi:

Hemşire:

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İLGİ: 25.12.2014/ 6080

TIPTA UZMANLIK TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta uzmanlık öğrencisi araştırma görevlisi **Dr. Meral BAYAR**'ın; "**Kırım-Kongo Kanamalı Ateşinde Serum Alfa Defensin-1 Düzeylerinin Klinik Seyir ve Prognoz ile İlişkisi**" konulu tezini incelemek üzere oluşturulan Değerlendirme tez jürisine üye olarak seçildiğimizin ilgi yazınızla bildirilmesi üzerine jüri üyeleri, **08 OCAK 2015** tarihinde toplanmış ve ilgili öğrenci tez savunmasına alınmıştır.

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunmasının tamamlanması sonucunda adı geçeninin tezi jüri üyelerince oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederiz.


Prof. Dr. Mehmet PARLAK
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları
Anabilim Dalı Başkanı
JÜRİ BAŞKANI
08.01.2015


Prof. Dr. Zülal ÖZKURT
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları
Öğretim Üyesi
JÜRİ ÜYESİ
08.01.2015


Prof. Dr. Ahmet KALKAN
Karadeniz Teknik Üniversitesi
Enfeksiyon Hastalıkları
Öğretim Üyesi
JÜRİ ÜYESİ
08.01.2015