



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞ HASTALIĞI İLE VEGF-KDR
SİNYAL YOLU GENLERİNİN İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Doktora Tezi

Laleh BAHRIKAREHMI

Danışman

Doç.Dr. Serbülent YİĞİT

SAMSUN

2021

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞ HASTALIĞI İLE VEGF-KDR SİNYAL YOLU GENLERİNİN İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Doktora Tezi

Laleh BAHRIKAREHMI

Danışman

Doç.Dr. Serbülent YİĞİT

SAMSUN
2021

TEZ KABUL VE ONAYI

Laleh BAHRIKAREHMI tarafından **Doç. Dr. Serbülent YİĞİT** Danışmanlığında hazırlanan “**Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığı ile VEGF-KDR sinyal yolu Genlerinin İlişkisinin Araştırılması**” konusundaki çalışma jürimiz tarafından 02.07.2021 tarihinde yapılan sınav ile Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr.Nurten KARA Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
Üye (Danışman)	Doç.Dr. Serbülent YİĞİT Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Şengül TURAL Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr . Ayse Feyda NURSAL Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi/Dahili Tıp Bilimleri Bölümü		☐ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Akın TEKCAN Amasya Üniversitesi Tıp Fakültesi / Temel Tıp Bilimleri Bölümü		☐ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

/ /2021

Prof.Dr.ALİ BOLAT

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

/ /2021

Laleh BAHRIKAREHM

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığı ile VEGF-KDR sinyal yolu Genlerinin İlişkisinin Araştırılması

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 27.05.2021 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 18

Tek kaynak oranı : % 4 çıkmıştır.

27 /05/ 2021

Doç. Dr. Serbülent YİĞİT

ÖZET

KIRIM KONGO KANAMALI ATEŞ HASTALIĞI İLE VEGF-KDR SİNYAL YOLU GENLERİNİN İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Laleh BAHRIKAREHMI
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı
Doktora, Temmuz/ 2021
Doç. Dr.Serbülent YİĞİT

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve reseptör kinaz insert alan içeren reseptör (KDR) yolu, Kırım Kongo Kanamalı Ateş (KKKA) hastalığının lezyonlarının gelişmesine ve ilerlemesine neden olan anjiyogenezin yanı sıra enflamasyon sürecini de tetikler. Bu çalışma, toplam 51 Kırım Kongo Kanamalı Ateş hastasından ve 51 sağlıklı kontrolden oluşan bir vaka-kontrol çalışmasıdır. Hastalar literatürde kabul edilen hastalık prognoz düzeylerinin sınıflandırılmasında kullanılan kriterler ile tanımlanmışlar. VEGF ve KDR genlerindeki polimorfizmler, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve RFLP yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Sonuç olarak, bu çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıklar ve Mikrobiyoloji kliniğinde KKKA ön tanısı ile yatırılarak takip ve tedavi edilmiş hastalarda KKKA gelişimi ile KDR -604T > C (rs2071559) polimorfizminin değil, VEGF 936C > T (rs3025039) polimorfizminin ilişkili olduğunu göstermiştir. Ek olarak, rs3025039'un CC dominant genotipi ve TT resesif modellerde artmış KKKA gelişimi riski ile ilişkilendirilirken, KDR genindeki rs2071559 polimorfizmi, vakalarımızda KKKA'ye duyarlılıkla ilişkili değildi.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP OF CRIMINAL CONGO BLEEDING FEVER DISEASE AND VEGF-KDR SIGNAL PATH GENES

Laleh BAHRIKAREHMI
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Medical Biology
PhD, July/ 2021
Assoc. prof. Dr. Serbülent YİĞİT

The receptor (KDR) pathway, which includes vascular endothelial growth factor (VEGF) and receptor kinase insert area, triggers angiogenesis as well as the inflammatory process that contributes to the development and progression of the Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) disease lesions. This study is a case-control study of 51 Crimean-Congo Hemorrhagic Fever patients and 51 healthy controls. The patients were identified with the criteria used in the classification of disease prognosis levels accepted in the literature. Polymorphisms in VEGF and KDR genes were evaluated using polymerase chain reaction (PCR) and RFLP method. As a result, In conclusion, This study showed that the development of CCHF in patients hospitalized and treated with a prediagnosis of CCHF in Gaziosmanpaşa University Faculty of Medicine Research Hospital, Infectious Diseases and Microbiology clinic, was associated not with the KDR-604T > C (rs2071559) polymorphism, but with the VEGF 936C > T (rs3025039) polymorphism. In addition, CC dominant genotype of rs3025039 and TT recessive models were associated with an increased risk of CCHF development, whereas the rs2071559 polymorphism in the KDR gene was not associated with susceptibility to CCHF in our cases.

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tecrübesi ve önderliği ile doktora eğitimimin tamamlanmasını sağlayan danışman hocam Doç. Dr. Serbülent YİĞİT başta olmak üzere, bilgisini ve desteğini asla esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr.Nurten KARA ve Prof.Dr.Mehmet ELBİSTAN ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı altında görev yapmakta olan Doç. Dr.Şengül TURAL'a, Tıp Fakültesi temel tıp bilimleri bölümünde görev yapmakta olan Prof.Dr.Cem KOPUZ ,Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı altında görev yapmakta olan Araş Gör. Nilüfer KURUCA'ya teşekkür ederim. Eğitim sürecimde en büyük pay sahibi olan aileme sonsuz sevgilerimi sunarım. İlkokuldan bu yana üzerimde emeği olan tüm hocalarıma saygımı ve sevgimi sunar, teşekkür ederim.

Bu tez, 19-KAEK-216 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Laleh BAHRIKAREHMI

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	i
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ ^[1] _[SEP]	vii
TABLolar DİZİNİ ^[1] _[SEP]	1
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi	4
2.2. KKKA Rezervuarı ve Bulaşması	6
2.3. Hastalığın Belirtileri	7
2.4. KKKA Genomu ve Replikasyon Döngüsü	7
2.5. Hücre Girişi	8
2.6. Transkripsiyon ve Replikasyon	9
2.7. VEGF	10
2.7.1. VEGF geni için protein özellikleri	11
2.8. KDR	11
2.8.1. KDR Geni İçin Protein Özellikleri	12
2.10. VEGFR2 Sinyali	17
2.11. Patogenez	18
2.12. Kırım-Kongo Kanamalı Ateş Hastalığının Tanısı	19
2.12.1. Virüs İzolasyonu	19
2.12.2. Moleküler Yöntemler	20
2.12.3. Serolojik Yöntemler	20
2.13. Moleküler Epidemiyoloji	21
2.14. Klinik Tanımları	21
2.15. Vaka Tanımları	21
2.16. Risk Grupları	22
2.17. KKKA Hastalığında Klinik	22
2.18. Laboratuvar Bulgular	23
2.19. KKKA Hastalığın Tedavisi	23
2.19.1. Destekleyici Tedavi	23

2.19.3. Yeni Antiviral İlaçlar	25
2.19.4. Spesifik İmmünoglobulin Tedavisi	25
2.20. KKKA 'da Korunma	26
2.21. Temas Sonrası Profilaksi	26
2.22. KKKA'ya Karşı Aşılar	27
2.23. Biyoterörizm ve Viral Kanamalı Ateşler	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Çalışmada Kullanılan Araç Ve Gereçler	29
3.1.1. Aletler ve Cihazlar	29
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	29
3.2. Kullanılan Solüsyonlar ve Tamponlar	31
3.2.1. Etidiyum Bromür solüsyonu	31
3.2.2. Elektroforez Tamponu	31
3.2.3. Agaroz Jel (% 1.25 'lik)	31
3.2.4. dNTP çalışma solüsyonu	31
3.2.5. Primer stoklarının hazırlanması	31
3.2.6. EDTA Solüsyon hazırlaması	32
3.2.7. 5XTBE (Tris-Borat-EDTA) tamponu	32
3.3. ÇALIŞMA GRUBU	33
3.3.1. Hasta Grubu	33
3.3.2. Hasta Gruplarının Tanımlanması	33
3.3.3. Örneklerin Alınması	33
3.3.4. Araştırma Takibinde Kullanılacak Parametrelerin Listesi	34
3.4. YÖNTEM	35
3.4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Tekniği	35
3.4.2. VEGF ve KDR Polimorfizmlerinin Genotiplenmesi	35
3.4.3. VEGF PCR	36
3.5.4. Enzimle Kesim Aşaması	36
3.4.5. KDR PCR	36
3.4.6. Enzimle Kesim Aşaması	36
3.4.7. Elektroforez Tekniği	37
3.4.8. Agaroz Jelde PCR Ürünlerinin yürütülmesi	38
3.4.9. İstatistiksel Yöntem	38
4. BULGULAR	39

4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Analizi	40
4.2. İstatistiksel Bulgular.....	42
5. TARTIŞMA	1
6. SONUÇ VE ÖNERİ.....	10
KAYNAKLAR.....	11
EKLER.....	17
ÖZGEÇMİŞ.....	22



SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenosine Triphosphat
aPPT	: Aktive parsiyel thrombin time
AMD	: Yaşa bağlı maküler dejenerasyon
bç	: Baz çift
BSL	: Biyogüvenlik seviye -4
°C	: Santigrat derece
CK	: Kreatinin kinaz
CPK	: Kreatinin fostokinaz
cRNA	: Tamamlayıcı RNA
DARP	: Ankirin tekrar protein inhibitörü
DIC	: Dissemine intravasküler koagulasyon
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonüklrik Asit
dNTP	: Deoksiniükleotid trifosfat
EDTA	: Etilrndaaimintetra asetik asit
ELİSA	: Enzyme-linked immunoassy
EtBr	: Ethidium bromür
FAK	: Fokal adezyon kinaz
FRET	: Flüresan rezonans enerji transfer
FLT	: Fms benzeri tirozin kinaz
gr	: Gram
HCl	: Hidroklorik Asit
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Sendromu
H₂S	: Hidrojen Sülfür
IFA	: İndirektfluoresans antikor
IgG	: Immunoglobulin G
IgM	: Immunoglobulin M
IL	: İnterlökin
INR	: İnternational normalized
IVIG	: İntravenöz immünoglobulin
G-PR	: G-protein çiftli reseptör
Kb	: Kilo Baz
kDa	: Kilo Dalton
KKKA	: Kırım Kongo Kanamalı Ateş
KKKAV	: Kırım Kongo Kanamalı Ateş Virüsü
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
M	: Marker
mg	: Miligram
MgCl₂	: Magnezyum Klorü
µl	: Mikrolitre
mM	: Milimolar

ml	: Mililitre
m7G	: 7-metilguanil
mRNA	: Mesenjer RNA
MVB	: Çok küler cisimler
NaOH	: Sodyum Hidroksit
N	: Nükleokapsid
NCR	: Kodlanmayan Bölgeler
nm	: Nanometre
NGS	: Novo next generation sequencing
NO	: Nitrik Oksit
NP	: Nükleoprotein
NSS	: Yapısal olmayan S protein
OD	: Optik Yoğunluk
ORF	: Açık okuma çerçevesi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyon
PIGF	: Plasental büyüme faktörü
PI3K	: Bifosfat 3-kinaz
pmol	: Pikmol
PT	: Protrombin zamanı
RT-PCR	: Real time polymerase chain reaction
RdRp	: RNA'ya bağımlı RNAPolymeraz
RTK	: Reseptör tirozin kinaz
RNA	: Ribonükleik Asit
RNP	: Ribonükleoprotein
SiRNA	: Küçük müdahaleci RNA
Sn	: Saniye
St	: Standart sapma
TAE	: Tiris Asetat
TBE	: Tiris Borat
TPE	: Tiris Fosfat
TNF-α	: Tümör nekrozis
UV	: Ultraviyole
V	: Volt
VEGF	: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü
X²	: Ki- Kare

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1 Bunyaviridae ailesine ait virusler	5
Şekil 2. 2 KKKH kaynaklı vaka ve ölümlerle ilgili 2002-2017 yıllara göre veriler	5
Şekil 2. 3 Hyalomma cinsi keneler tarafından KKK virüsünün bulaşma döngü	6
Şekil 2. 4 Dişi ve erkek Hyalomma cinsi kenelerin sırt ve karın tarafından görünümü	7
Şekil 2. 5 Kırım Kongo Kanamalı Ateşi virüsünün şematik gösterimi	10
Şekil 2. 6 Genomik konumda VEGF geni	11
Şekil 2. 7 VEGF Geninin hücrel ekspresyon konumları(https://www.uniprot.org/)	11
Şekil 2. 8 Genomik konumda KDR geni	12
Şekil 2. 9 KDR Geninin hücrel ekspresyon konumları (https://www.uniprot.org/).....	13
Şekil 2. 10. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ailesi üyelerinin VEGF 1,2,-3 reseptörleri (VEGFR) ve ile etkileşimler.	16
Şekil 2. 11. VEGF aracılığı ile gerçekleşen fizyolojik ve patolojik süreçler	16
Şekil 2. 12. Şekil 2.12. VEGF'nin VEGFR-2'ye bağlanmasından sonra aktiflenen yollar (Pervin Vural ,2015).....	18
Şekil 2. 13. KKK Ateşinin Klinik ve Laboratuvar Seyri	23
Şekil 2. 14. Kırım-Kongo kanamalı ateşinde ribavirin özellikle erken dönemde etkilidir.	25
Şekil 4. 1. %2.5 'lik agaroz jelde yürütülen KDR geninin PCR sonrası bant örnekleri ..	41
Şekil 4. 2. %2.5 'lik agaroz jelde yürütülen VEGF geninin PCR sonrası bant örnekleri	41
Şekil 4. 3. %2.5 'lik agaroz jelde yürütülen KDR geninin kesim sonrası bant örnekleri	41
Şekil 4. 4. %2.5 'lik agaroz jelde yürütülen VEGF geninin kesim sonrası bant örnekleri	41

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4. 1. Hastaların Yaş Ortalamaları.....	39
Tablo 4. 2. Hastaların Cinsiyet Dağılımları.....	39
Tablo 4. 3. Kontrollerin Cinsiyet Dağılımları.....	40
Tablo 4. 4. Kontrollerin Yaş Ortalamaları.....	40
Tablo 4. 5. Hasta ve kontrol gruplarında KDR gen polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları.....	42
Tablo 4. 6. Hasta ve kontrol gruplarında VEGF gen polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları.....	43

1.GİRİŞ

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) birçok organ ve sistemleri etkileyen, kanamalar ve karaciğer fonksiyon bozuklukları ile karakterize, mortalite oranı yüksek olan (%30-50) zoonotik enfeksiyondur (Hürrem, 2006). Türkiye’de yapılan çalışmalarda takip edilen olgulardaki mortalite oranı % 2-12 arasındadır. Enfekte olanlarda hastalık gelişme olasılığı yaklaşık %22’dir. Yani, enfekte olan her beş kişiden birinde hastalık gelişmektedir (WHO, 2008).

KKKA’ya neden olan virüs insanlara genellikle vektör olan Hyalomma ve Amblyomma cinsi kenelerin ısırması ile bulaşır. Virüs, birçok evcil ve yabanî hayvanı enfekte etmekte ve hastalık hafif seyretmektedir. Birçok kuş, virüse karşı dirençli iken, virüsün yayılmasında önemli rol oynarlar. Hayvanlardaki hastalık enfekte kenelerin ısırması ile başlamaktadır. Daha çok hayvancılıkla uğraşanlarda, mezbaha çalışanlarında ve kırsal kesimde yaşayanlarda enfekte hayvanların kan ve dokuları ile temas sonucu ve süt içimi ile de bulaş olabilmektedir. Nazokomiyal epidemilerin, ağır kliniği olan hastalara ait kan veya kanlı sekresyonlar ile direkt temas ve hava yolu ile de oluşabileceği belirtilmektedir (SB, 2004).

Hastalık Afrika, Güney Doğu Avrupa ve Asya’daki birçok ülkede endemik olup Türkiye’den ise ilk defa 2002 yılında Tokat’tan bildirimi yapılmış ve 2013 yılı itibariyle yaklaşık 8000 olgu ve 400 ölüm saptanmıştır. Türkiye’nin pek çok ilinden bildirimler var olmakla birlikte olguların çoğunun (%95) Mart-Ekim ayları arasında, Karadeniz Bölgesinin iç kısımları, Orta ve Doğu Anadolu’nun kuzey ve orta bölgelerinde görüldüğü tespit edilmiştir (SB,2004).

Klinik ani başlayan ateş ve genel enfeksiyon bulguları ile birlikte hemorajik belirtiler şeklinde ortaya çıkar. Keneye temas, kene tutunması, hayvanla temas, kırsal kesimde yaşama veya son iki hafta içinde kırsal alana seyahat öyküsü gibi epidemiyolojik özelliklerin bulunması KKKA tanısını kuvvetle düşündürse de kesin tanı mikrobiyolojik incelemelerle konulur (Akıncı, vd., 2013). KKKA patojenik mekanizması ve şiddetli ya da hafif seyreden vakaların neden kaynaklandığı hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. KKKA virüsünün ana hedefi mononükleer hücreler ve vasküler endoteldir. KKKAV hücre fonksiyonlarına zarar verir ve antiviral immün

cevabı başlamasına sebep olur (Kaya, vd., 2014). Güncel çalışmalar yüksek düzeyde viral yükün varlığı, kandaki inflamatuvar sitokinler ve Dissemine intravasküler koagülasyon (DIC)'un şiddetli KKKA ile güçlü ilişki olduğunu göstermiştir. Ayrıca viremi kontrol altına alınmadığında ölümün kaçınılmaz olduğu vurgulanmaktadır (Saksida, 2010 ;Bonetti, 2003).

Endotel, vazoaktif maddelerin sekresyonunda ve düzenlenmesinde, vasküler düz kasların kontraksiyon ve gevşemesinde, koagülasyonun düzenlenmesinde, lökosit adhezyonunda ve maddelerin transvasküler difüzyonunda bir bariyer olarak görev alan, vasküler düz kas ile damar lümeni arasında uzanan bazal membran üzerinde yerleşmiş tek sıralı yassı epitel hücrelerden oluşan bir dokudur (Douglas, 1998).

Endotel, trombositlerin adezyonuna dirençli ve koagülasyonu aktive etmeyen bir yüzey sağlar. Trombin oluşumunun kontrolü, endotelin antitrombotik ve protrombotik aktivitesinin dengelenmesinde anahtar basamaktır (Bombeli, 1997). Endotel, hemostaz ve tromboz mekanizmasında çok önemlidir. Trombin üretiminin kontrolü, endotel hücrelerin antikoagülan ve prokoagülan aktiviteyi dengelemesiyle sağlanır. Normal endotel, pıhtılaşmayı önleyici bir yüzey oluştururken, hasarlandığında veya inflamatuvar durumlarda prokoagülan olabilir (Alcaïs, vd., 2010).

Endotelin birçok hastalıktaki önemi, Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (VEGF) ve onun reseptörü (KDR) yolu ile multipl sklerozda demiyelinizan lezyonların gelişmesine ve ilerlemesine katkıda bulunan iltihaplanma sürecinin yanı sıra anjiyogenez sürecini tetiklediği gösterilmiştir (Girolamo, vd., 2014).

VEGF, anjiyogenezde ve inflamasyonda kan damarı fizyolojisinin düzenlenmesine aracılık eden yeni damarların oluşumunda önemli bir bileşendir. Yeni bir damar ağının geliştirilmesinde veya hasar görmüş hücrelerde enerji talebinde bir artışla ortaya çıkan plak ve beyaz maddedeki anjiyojenik reaksiyonu açıklayabilir. Anjiogenezis süreci proanjiogenik ve antianjiogenik faktörler olarak adlandırılan pozitif ve negatif regülatörler ile endojen olarak sıkı şekilde kontrol altındadır. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) anjiogenezisde temel proanjiogenik faktördür (Murat, vd., 2017).

VEGF aynı zamanda vasküler geçirgenlik faktörü olarakta bilinir. KKKA patogenezinde ana aberasyonlarında biri vasküler disfonksiyon bozukluğudur ve hemorajiye neden olur. 2015 ve 2017 yılında yapılan iki farklı çalışmada KKKA hastalarında VEGF serum düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı artışı saptanmıştır (Enver, vd., 2015; Wang, vd., 2007).

VEGF'ye benzer şekilde reseptörü KDR anjiyojenez ve vasküler onarımda önemli bir rol oynar. Aynı zamanda VEGFR2 (KDR) olarak da adlandırılan reseptör / fetal karaciğer kinaz-1'i içeren kinaz ek domeni, protein kodlayan bir gendir ve tip III reseptör tirozin kinaz olarak tespit edilmiştir. VEGF'nin neden olduğu endotel proliferasyonuna KDR'nin fonksiyonu aracılık eder ve farklı sinyal yolları, endositoz, göç, tübüler morfogenez ve artan nitrik oksit üretimi ile ilişkilidir. Çoklu faktörler, Rab GTPaz, P2Y pürin nükleotit reseptörü, integrin alfa-v beta-3 ve T-hücre proteini tirozin fosfataz dahil KDR'nin sinyalleşmesini ve trafiğini düzenler (Hürrem, vd., 2010).

Enfeksiyon hastalıklarında klinik özellikler ve sonuçları hastadan hastaya değişiklik göstermektedir. Çeşitli teoriler bu heterojenitenin öneminden bahsetmektedir. Ancak genetik faktörler enfeksiyon hastalıklarına duyarlılıkta önemli bir rol oynamaktadır (Mehrdokht, vd., 2017).

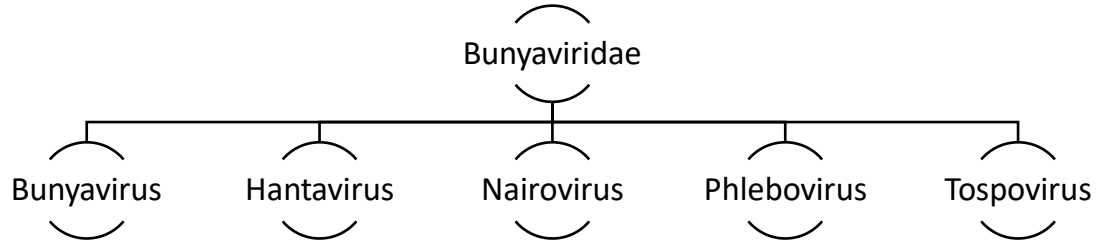
KKKA viral kanamalı ateş hastalıklarından biri olup genel özelliği KKKA virüsü tarafında konak immün cevabının bloke edilmesidir. Virüsün hedef hücrelerde meydana getirdiği değişiklik aşırı viral yüke ve konak immün cevabının ve endotelial fonksiyonların bozulmasına neden olur (Bonetti, vd., 2003). Endotelial hasar koagulaopati ve DIC'e katkıda bulunur ve hemorajiler ortaya çıkar (Kaya, vd., 2014).

Genetik mutasyon ve polimorfizm insanda hastalığa duyarlılık yada viral ajanlara direnci işaret etmektedir. Ancak literatür taramasında KKKA hastalarında VEGF-KDR gen polimorfizmleri ile ilgili çalışma bulunmamıştır. Bu çalışmanın amacı KKKA hastalarında VEGF-KDR genlerindeki polimorfizmi ile hastalığın prognozu arasında bir ilişki olup olmadığını saptamaktır.

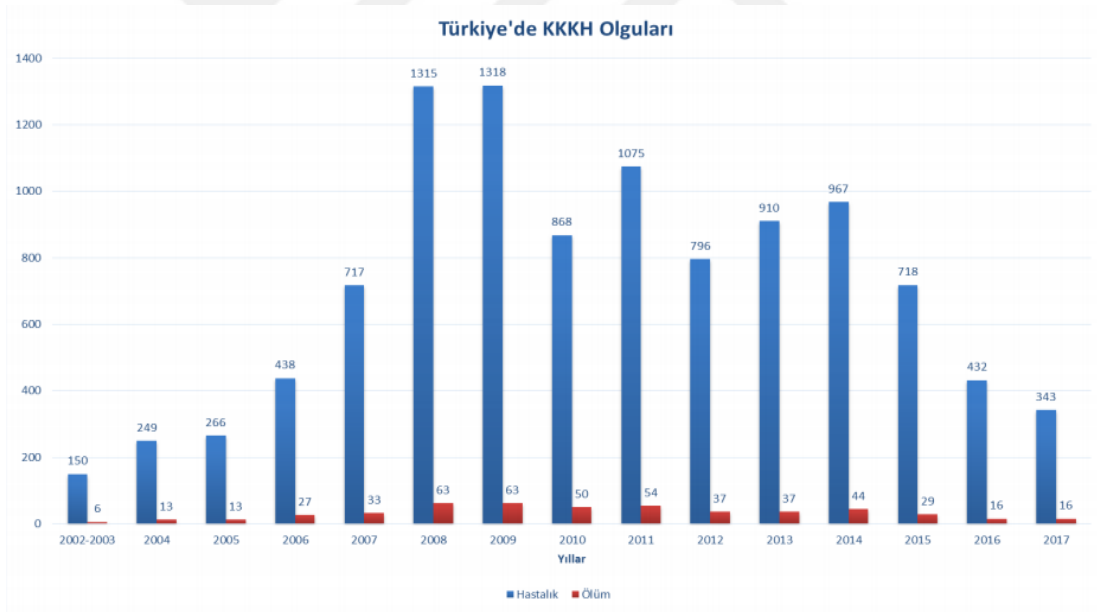
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi

Kırım-Kongo kanamalı ateş virüsü (KKKA), Bunyavirales ailesinde Nairovirüs virüsleri sıralamasında yer alan negatif bir RNA virüsüdür. KKKA üç genomik segment içerir: sırasıyla nükleoprotein ve glikoproteinleri kodlayan ve RNA'ya bağımlı RNA polimerazı kodlayan büyük bir segment (David, vd., 2018). Halsizlik, iştahsızlık, kas ağrısı, baş ağrısı, bulantı, kusma, ishal ve ağır vakalarda kanama gibi bulgular ile seyredererek ölümlere neden olabilen zoonotik karakterli bir enfeksiyon hastalığıdır. Hastalık ilk olarak Kırım'da 1944'te tanımlandı ve "Kırım kanamalı ateşi" olarak tanındı, ancak virüs ilk olarak 1956'da Kongo'da izole edildi ve "Kongo virüsü" olarak adlandırıldı; iki isim 1969'da KKKA olarak birleşti (Laura, vd., 2018). KKKA'nın ana vektörü ve esas olarak Hyalomma cinsinin sert gövdeli keneleridir, evcil hayvanlar ve tavşan gibi yabani hayvanlar omurgalı konakçılar büyük olasılıkla KKKAV konakçıları olarak görev yaparlar, enfekte olmamış keneler viremik hayvanlarla beslenme sırasında veya enfekte kenelerle birlikte besleme sırasında enfekte olur. Hyalomma vektörü Afrika, Güney ve Doğu Avrupa, Orta Doğu, Hindistan ve Asya'da bulunur, bu bölgelerde KKKA vakaları rapor edilir; KKKAV ile tahmini 10.000 ila 15.000 insan enfeksiyonu her yıl ortaya çıkmaktadır, ancak bunların çoğu subkliniktir ve tanınmamıştır. KKKAV'nın kapsamlı coğrafi dağılımı ile ilişkili olarak, KKKAV coğrafi olarak farklı izolatlar arasında önemli genetik çeşitlilik sergiler; izolatlar, amino asit seviyesinde nükleoprotein ve L proteininde% 5 ve glikoprotein öncüsünde% 25'e kadar farklılık gösterir (David, vd., 2018).



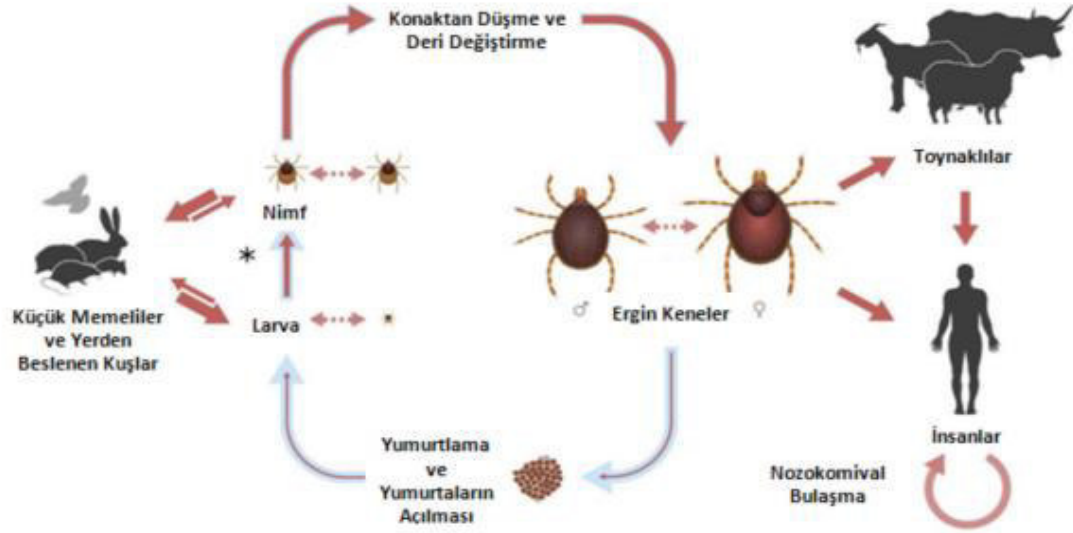
Şekil 2. 1. Bunyaviridae ailesine ait virusler



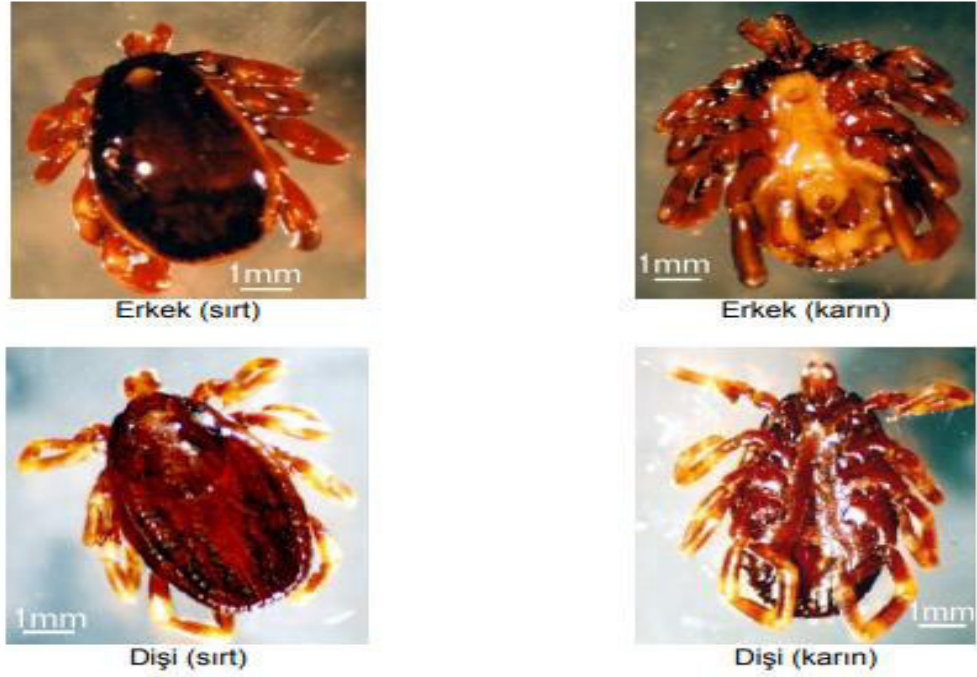
Şekil 2. 2. KKKH kaynaklı vaka ve ölümlerle ilgili 2002-2017 yıllara göre veriler.
(<https://slideplayer.biz.tr/slide/2482331/>)

2.2. KKKA Rezervuarı ve Bulaşması

Ixodidae (sert) keneler, şu anda Afrika, Avrupa, Orta Doğu ve Asya'da kuru veya yarı kurak ortamlarda yaygın olarak bulunan KKKA için bir rezervuar ve vektördür. Sığır, keçi, koyun dahil çok sayıda yabani ve evcil hayvan, develer ve yabani tavşanlar, enfekte keneler tarafından ısırıldıktan sonra konakçı görevi görürler, ancak kene-hayvan-kene döngüsü asemptomatik olduğundan hayvan enfeksiyonlarını tespit etmek zordur. KKKAV, kene yaşam döngüsü boyunca devam eder ve omurgalı konakçılar olmadan uzun süreler boyunca enfeksiyon rezervuarlarına olanak tanır. İnsanlara bulaşma en sık, enfekte bir kenenin ısırılmasından sonra tarım işçileri arasında ve enfekte hayvanların kanı ve dokusuna maruz kalan mezbaha veya veteriner çalışanları arasında meydana gelir. İnsandan insana bulaşma nadirdir, ancak enfekte hastalar veya kontamine tıbbi ekipmanla temastan kaynaklanmıştır (Laura, vd., 2018).



Şekil 2. 3. Hyalomma cinsi keneler tarafından KKKA virüsünün bulaşma döngü. (Önder , 2016)



Şekil 2. 4. Dişi ve erkek Hyalomma cinsi kenelerin sırt ve karın tarafından görünümü. (Nazir , 2016)

2.3. Hastalığın Belirtileri

Hastalık 1-14 gün sürebilen kuluçka döneminden sonra ateş, halsizlik, üşüme, titreme, kas ve baş ağrısı, bulantı-kusma, ishal, yüzde ve gözlerde kızarıklık, deri döküntüsü gibi şikâyetlerle kendini gösterir İlerleyen dönemlerinde cilt kanaması, burun kanaması, , diş eti kanaması, mide-barsak kanaması, akciğer ve beyin kanamaları görülebilir.

2.4. KKKAV Genomu ve Replikasyon Döngüsü

KKKAV, Bunyaviridae ailesindeki Nairovirus cinsinin bir üyesidir. KKKAV, negatif polariteye sahip üçlü bir RNA genomu ile karakterizite edilir. Küçük (S), orta (M) ve büyük (L) segmentlerin 51 ve 31 numaralı uçlarında kodlamayan bölgeler (NCR'ler) mevcuttur ve KKKAV ve bunyavirüs genomlarının dairesel görünümüne neden olurlar. Dokuz terminal nükleotid (5'-UCUCAAAGA ve 3'-AGAGUUUCU) nairovirüsler arasında korunur ve viral promoter bölgeler olarak görev yapar. NCR'ler, viral RNA'ya bağımlı RNA polimerazın (RdRp veya L proteini) viral genomun transkripsiyonunu ve / veya replikasyonunu bağlaması ve başlatması için gereklidir.

Tüm NCR sekansları viral segmentler arasında farklılık gösterse de, her biri genomların enkapsülasyonunu, transkripsiyonunu, replikasyonunu ve yeni oluşan viryonlara paketlenmesini başlatabilir. Son yıllarda, KKKAV'nin üç segmentinin her birinin tek bir proteini kodladığına inanılıyordu. Bununla birlikte, ikinci bir protein olan yapısal olmayan S (NSS), segmentinde nükleoprotein (NP) genine göre ters yönde kodlanır, bu da KKKAV'nin bir ambisens virüsü olarak kabul edilebileceğini gösterir, KKKA'deki ambisens kodlaması, örtüşen kodlama bölgelerini içerir. Ambisens kodlaması bunyavirüsler ve arenavirüsler ile farklıdır, burada viral proteinler zıt yönde kodlanır ve bir transkripsiyon sonlandırma sinyali olarak hizmet eden bir intergenik bölge ile ayrılır. Boyut olarak diğer bunyavirüslerle karşılaştırılabilir olan küçük S segmentinin (~ 1.6 kb) aksine, KKKAV'nün M (~ 5.4 kb) ve L (~ 12.1 kb) segmentleri diğer bunyavirüslerinkinden önemli ölçüde daha büyüktür ve sırasıyla glikoprotein öncüsünü (GPC) ve L proteinini kodlayan tek genlerdirler. Genom segmentleri veya viral RNA (vRNA), genomik ribonükleoprotein kompleksleri (RNP) oluşturmak için NP ve L proteini ile kapsüllenir. Genomik RNP'ler, bir lipid zarfı ve yüzey glikoproteinleri Gn ve Gc elde edilerek viral partiküller halinde paketlenir. Nairovirüslerin elektron mikroskobu çalışmaları, partikül yüzeyinden küçük (<10 nm) sivri çıkıntılara sahip, ~ 90-100 nm çapında nispeten eşit büyüklükte küresel partikülleri rapor etmektedir. Yüzey glikoproteinlerinin kesin düzenlenmesinin daha fazla karakterizasyonu, kriyo-elektron mikroskobu gibi daha ayırdedici yöntemleri gerektirecektir (Marko, vd., 2016).

2.5. Hücre Girişi

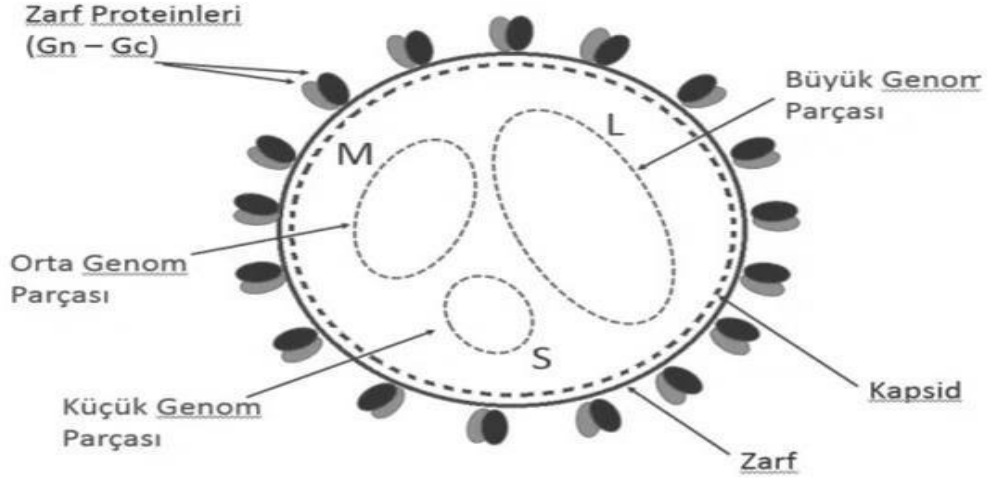
KKKAV'nin hücre yüzeyine ilk bağlanmasına glikoproteinler Gn ve / veya Gc aracılık eder. Bununla birlikte, viral bağlanma, içselleştirme ve füzyondaki spesifik glikoprotein katılımının ayrıntıları bilinmemektedir. Gc'yi hedefleyen monoklonal antikorlar memeli hücrelerinin KKKA enfeksiyonunu nötralize edebildiğinden, Gc'nin hücre reseptörlere bağlanmaktan sorumlu olduğundan düşünülmektedir. KKKA'nın Gc'sinin de füzyona aracılık ettiği düşünülmektedir; KKKA'nın tahmin edilen füzyon döngüsü, Rift Valley ateş virüsü (RVFV) Gc füzyon döngüsü ile önemli homolojiyi paylaşır. KKKA girişi için gerekli hücre reseptörler tanımlanmamıştır. KKKAV Gc ve ağırlıklı olarak nükleollerde bulunan bir protein olan hücre yüzeyi nükleolini arasında fonksiyonel bir etkileşim önerilmiştir. Nükleolin, solunum sinsitiyal virüsü için bir

reseptör görevi görür, Japon ensefalit virüsü için bir giriş faktörü olarak işlev görür ve insan immün yetmezlik virüsünün (HIV) girişini artırır. Bununla birlikte, KKKAV hücre bağlanması ve / veya füzyonunda nükleolinin rolünü desteklemek için KKKAV enfeksiyonu bağlamında daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Hücre yüzeyine bağlandıktan sonra KKKAV, klatrin aracılı bir endositoz mekanizması yoluyla hücre içine alınır. Giriş, klatrin ve klatrin çukur adaptör protein-2 kompleksi gerektirir, ancak caveolin-1 gerektirmez. KKKAV girişi ayrıca kolesterole ve düşük pH değerine bağlıdır. Endositozun ardından KKKAV partikülleri, Rab5'e bağlı bir süreçte erken endozomlara ve ardından çoklu veziküler cisimlere (MVB) taşınır. Buna karşılık, Rab7'ye bağımlı trafiğin engellenmesi (erken endozomlardan geç endozomlara veya MVB'den nakil), MVB ile enfeksiyon veya KKKAV ilişkisi üzerinde hiçbir etkiye sahip değildir. Örneğin taşıma (ESCRT) yolu için gerekli endozomal ayırma kompleksinin bileşenlerini tüketerek fonksiyonel MVB'lerin oluşumuna müdahale etmek, KKKAV enfeksiyon seviyelerini düşürür. Bu, MVB'nin muhtemelen KKKAV zarfının konakçı membranlarla birleştiği ana organel olduğunu gösterir (Marko, vd., 2016).

2.6. Transkripsiyon ve Replikasyon

Hücre girişi ve füzyonu takiben, genomik RNP'ler sitozole salınır ve kapsüllenmiş vRNA, viral mRNA'yı sentezlemek için L proteini bir şablon görevi görür. Hiçbir çalışma nairovirüs mRNA'nın 3' terminalini veya transkripsiyonun sonlandırılmasında rol oynayan unsurları açıklamamıştır. Bununla birlikte, ilgili bir nairovirüs olan Dugbe virüsünün 5' terminal bölgesi, hücresel mRNA'dan türetilen sekanslara sahip bir 7-metilguanilat (m7G) başlığı içerir. Viral mRNA sentezini başlatmak için L proteininde bulunan bir endonükleaz alanı tarafından hücresel mRNA'dan yakalanan m7G başlıklı primerler kullanır. KKKAV L proteini, diğer L proteinlerinin endonükleazlarında gösterildiği gibi, kapak yakalama aktivitesi için kritik bir Mn²⁺ + 'yı koordine ettiği tahmin edilen bir rezidü (D693) içerir. D693'ün mutasyona uğratılması, L protein transkripsiyon aktivitesini seçici olarak ortadan kaldırır, ancak KKKAV genom analoglarını kopyalama yeteneğini bozmadı. Genomik RNP'lerin replikasyonu, başlıksız, negatif anlamda vRNA ve pozitif anlamda tamamlayıcı RNA'nın (cRNA) replikasyonunu ve kapsüllenmesini gerektiren bir süreçtir. RNP'lerin replikasyonu minimum düzeyde L proteini ve NP gerektirir. cRNA ve vRNA'nın kapsüllenmiş

formları sırasıyla antijenomik ve genomik RNP'ler olarak tanımlanır. KKKA bir negatif sarmallı RNA virüsü olduğundan, genomik RNP'ler, başlıklı mRNA'yı sentezlemek ve antijenomik RNA üretmek için şablon olarak kullanılır. Genomik RNP'lerin replikasyonu sırasında, bir cRNA sentezlenir L proteini ve NP alt birimleri, antijenomik RNP'ler elde etmek için uzayan şeritlere eklenir ve karşılığında antijenomik RNP'lerin cRNA'sını, genomik RNP'leri elde etmek için bir şablon kullanılır (Marko, vd., 2016).



Şekil 2. 5. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi virüsünün şematik gösterimi

(<https://epistemturkiye.org/kirim-kongo-kanamali-atesi-virusunu-birlikte-taniyalim>)

2.7. VEGF

Anjiyogenez, vaskülogenez ve endotel hücre büyümesinde aktif büyüme faktörüdür. Endotel hücre proliferasyonunu indükler ve hücre göçünü teşvik eder, apoptozu inhibe eder ve kan damarlarının geçirgenliğini indükler. FLT1 / VEGFR1 ve KDR / VEGFR2 reseptörlerine, heparan sülfat ve heparine bağlanır. NRP1 / Neuropilin-1, izoformlar VEGF-165 ve VEGF-145'i bağlar. Izoform VEGF165B, KDR'ye bağlanır ancak aşağı akış sinyal yollarını aktive etmez, anjiyogenezi aktive etmez ve tümör büyümesini inhibe eder. İzoformları VEGF189, VEGF165 ve VEGF121 geniş çapta ifade edilmektedir ancak VEGF206 ve VEGF145 izoformları ekspresyonları zayıftır.

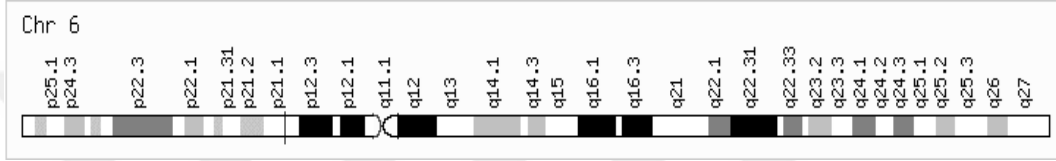
VEGF121 asidiktir ve serbestçe salgılanır. VEGF165 daha baziktir, heparin bağlama özelliklerine sahiptir ve önemli bir kısmı hücre ile ilişkili kalmasına rağmen

çoğu serbestçe salgılanır. VEGF189 çok basittir, salgılandıktan sonra hücre ile ilişkilidir ve heparin, heparinaz veya plazmin tarafından çözünür bir form olarak salınabilmesine rağmen heparin hücre dışı matris tarafından bağlanır (<https://www.uniprot.org/>).

2.7.1. VEGF geni için protein özellikleri

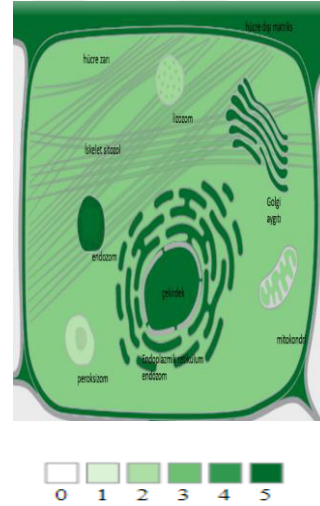
Boyut: 232 amino asit

Moleküler kütle: 27042 Da



Şekil 2. 6 Genomik konumda VEGF geni

hücre dışı matris	5
mitokondri	4
çekirdek	4
sitozol	4
plazma zarı	3
hücre iskeleti	3
endoplazmikretikulum	3
endozom	3
lizozom	3
peroksizom	2
golgi aygıtı	2



Şekil 2. 7. VEGF Geninin hücresel ekspresyon konumları(<https://www.uniprot.org/>)

2.8. KDR

VEGFA, VEGFC ve VEGFD için bir hücre yüzeyi reseptörü görevi gören tirozin-protein kinazdır. Anjiyogenez, vasküler gelişim, vasküler geçirgenlik ve embriyonik hematopoezin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Endotel hücrelerinin proliferasyonunu, hayatta kalmasını, göçünü ve farklılaşmasını teşvik eder. Aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesini teşvik eder. İzofom 2 ve izofom 3 gibi bir

transmembran alanı içermeyen izoformlar, VEGFA, VEGFC ve / veya VEGFD için tuzak reseptörler olarak işlev görebilir. İzofom 2, serbest VEGFA ve / veya VEGFC miktarını sınırlayarak ve bunların fms benzeri tirozin kinaz-4'e (FLT4) bağlanmasını önleyerek VEGFA ve VEGFC aracılı lenfanjiyogenezin negatif düzenleyicisi olarak önemli bir rol oynar. Heterodimerler oluşturarak FLT1 ve FLT4 sinyallemesini modüle eder. Vasküler büyüme faktörlerinin izofom 1'e bağlanması, birkaç sinyalleme kaskadının aktivasyonuna yol açar. PLCG1'in aktivasyonu, hücrel sinyal molekülleri diacilgliserol ve inositol 1,4,5-trisfosfat üretimine ve protein kinaz C'nin aktivasyonuna yol açar. MAPK1 / ERK2, MAPK3 / ERK1 ve MAP kinaz sinyal yolunun yanı sıra AKT1 sinyal yolunun aktivasyonuna aracılık eder. Fosfatidilinozitol 3-kinazın düzenleyici alt birimi olan PIK3R1'in fosforilasyonuna, aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesine ve PTK2 / FAK1'in aktivasyonuna aracılık eder. NOS2 ve NOS3'ün VEGFA aracılı indüksiyonu için gereklidir, bu da endotel hücreleri tarafından sinyal molekülü nitrik oksit (NO) üretimine yol açar. Fosforilatlar PLCG1, FYN, NCK1, NOS3, PIK3R1, PTK2 / FAK1 ve SRC'nin fosforilasyonunu destekler.

Bağlı ligand yokluğunda inaktif bir yapıda bulunur. VEGFA, VEGFC veya VEGFD'nin bağlanması, tirozin kalıntıları üzerinde otofosforilasyon ile dimerizasyona ve aktivasyona yol açar. H₂S'ye duyarlı hücre içi disülfür bağı aracılığıyla hidrojen sülfür (H₂S) seviyeleri tarafından düzenlenebilir (<https://www.uniprot.org/>).

2.8.1. KDR Geni İçin Protein Özellikleri

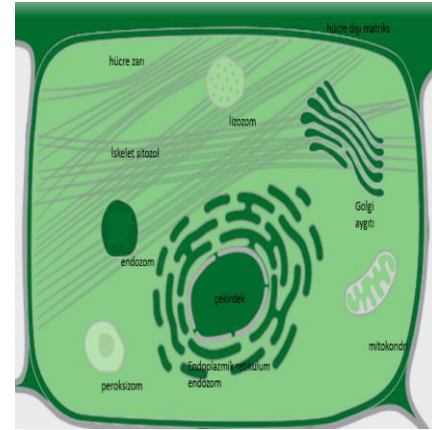
1356 amino asit

Moleküler kütle: 151527 Da



Şekil 2. 8. Genomik konumda KDR geni

hücre dışı matriks	5
golgi aygıtı	5
çekirdek	5
endozom	5
plazma zarı	5
endoplazmikretikulum	5
hücre iskeleti	3
sitozol	3
lizozom	2
peroksizom	2
mitokondri	2



Şekil 2. 9. KDR Geninin hücresel ekspresyon konumları (<https://www.uniprot.org/>)

2.9. VEGF - KDR Sinyal Yolu Genler

Nörovasküler bir anjiyogenez geliştirilmesi, kan damarları besinleri dokulara ve organlara taşıdığı ve katabolik ürünleri çıkardığı için önemli homeostatik rollere hizmet eder. Bununla birlikte, kan damarlarının kontrolsüz büyümesi, tümörler ve intraoküler vasküler bozukluklar dahil olmak üzere çok sayıda hastalık sürecini teşvik edebilir veya kolaylaştırabilir. 70 yıl önce, "kan damarı büyümesini uyarıcı faktörlerin" serbest bırakılması yoluyla yeni damar büyümesini tetikleme yeteneğinin, tümör hücrelerine bir büyüme avantajı sağladığı hipotezi ileri sürüldü (Haller, vd, 2006). Aynı zamanda, normal retinal damarın gelişiminden değil, proliferatif diyabetik retinopati ve diğer bozukluklarda patolojik neovaskülarizasyondan başka bir bozukluk olabileceği olabilir (Sadler, vd., 2008). Judah Folkman'ın "anti-anjiyogenez" kanseri ve muhtemelen diğer bozuklukları tedavi etmek için bir strateji olabileceği hipotezi büyük bir coşku yarattı ve bu alana büyük bir destek verdi (Ergonul, 2006). Vaskülogenez, endotelial hücrelerin de novo oluşumundan kan damarlarının oluşumu ve yeni kan damarı oluşumu süreci olan anjiyogenez, gelişme ve müteakip fizyolojik homeostaz sırasında kritiktir, ancak

kanserlerde ve çeşitli oftalmik hastalıklarda patojenik olabilir. Vaskülogenez ve anjiyogenezde önemli olan VEGF, 25 yıl önce tanımlanmış, izole edilmiş ve klonlanmıştır (Randall, vd., 2008). VEGF esas olarak endotel hücrelerini hedef alırken, bu faktörün ek hücre tipleri üzerinde birçok etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. VEGF-B, VEGF-C ve plasental büyüme faktörü (PIGF) dahil olmak üzere birkaç ilgili gen olmasına rağmen, homeostaz ve hastalık sırasında anjiyogenezin düzenlenmesindeki anahtar rolü nedeniyle en çok ilgi VEGF-A'ya odaklanmıştır. VEGF, fizyolojik vasküler homeostaz için gerekli olmasına rağmen, farklı hücre ve dokularda önemli olduğu kanıtlanmıştır.

Tümör büyümesi ve metastazının moleküler patogenezi, ve yaşa bağlı maküler dejenerasyon (AMD), diyabetik ve hipertansif retinopati dahil olmak üzere çeşitli kör edici göz hastalıkları ile ilişkilidir (Schnittler, vd., 2003). VEGF aracılı patojenik etkiler, esas olarak vasküler geçirgenlik ve neo-anjiyogenez üzerindeki etkilerinden kaynaklanmaktadır. O zamandan beri bir dizi terapötik yaklaşım, VEGF'nin bir veya daha fazla izoformunu, VEGF reseptörlerini veya sinyal yollarını hedeflemiştir (Connolly-Andersen, vd., 2007).

VEGF'nin biyolojisinin temel keşfi, 15 yıldan daha kısa, nispeten kısa bir süre içinde hedef alan terapötik keşif ve geliştirmeyi nasıl bilgilendirdiğinin ve dönüştürdüğünün benzersiz bir örneğidir. VEGF ve ilişkili yolakların hedeflenmesi, göz hastalığı olan milyonlarca hastada körlüğü önledi ve bir dizi farklı kanser türünden muzdarip hastalar için yaşam süresinin artmasını sağladı.

VEGF protein ailesi, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, Plasental Büyüme Faktörü (PIGF), virüs kodlu VEGF-E ve yılan zehirinden türetilmiş VEGF-F içerir (Chen, vd., 2008). VEGF-A, anjiyojenik süreçlerin en güçlü uyarıcısı ve bu nedenle çok sayıda anti-kanser terapötiklerinin hedefi olan en iyi karakterize edilmiş aile üyesidir (Lei, vd., 2001). VEGF-A, katlanmış bir yapıya monte edildiğinde molekül içi disülfür bağları oluşturan sistein kalıntılarının merkezi düğüm motifine dayanan, proteinlerin "Cys-loop" süper ailesine ait olan büyük bir anti-paralel homodimerik peptiddir (Chen, vd., 2007).

VEGF-A, endotel hücreleri, fibroblastlar, düz kas hücreleri, trombositler, nötrofiller, makrofajlar ve tüm tümörlerin yaklaşık% 60'ı gibi birçok hücre tipi tarafından salgılanır (Ergonul, vd., 2006). VEGF-A sekresyonu ayrıca iskemi ve enflamatuvar uyaranlarla da indüklenir (Onguru, vd., 2008). VEGF-A'ya hücrel yanıt, esas olarak bunların aynı kökenli reseptörlerine - vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörlerine (VEGFR'ler) bağlanmaları ile yönlendirilir. VEGFR'ler, sınıf IV reseptör tirozin kinaz (RTK) ailesine aittir ve tip III RTK'lar trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü (PDGFR), makrofaj koloni uyarıcı faktör reseptörü (M-CSFR), c-KIT ve fms benzeri tirozin kinaz 3 (FLT3) ile benzerlikler gösterir (Shibuya, 2013).

Ayrı genler tarafından kodlanan üç VEGFR alt tipi vardır: VEGFR1 (farelerde Flt-1) ve VEGFR2 (Flk-1; KDR) yapısal olarak benzerken VEGFR3 (Flt-4) proteolitik olarak işlenmiş bir hücre dışı alana sahiptir (Koch, vd., 2011).

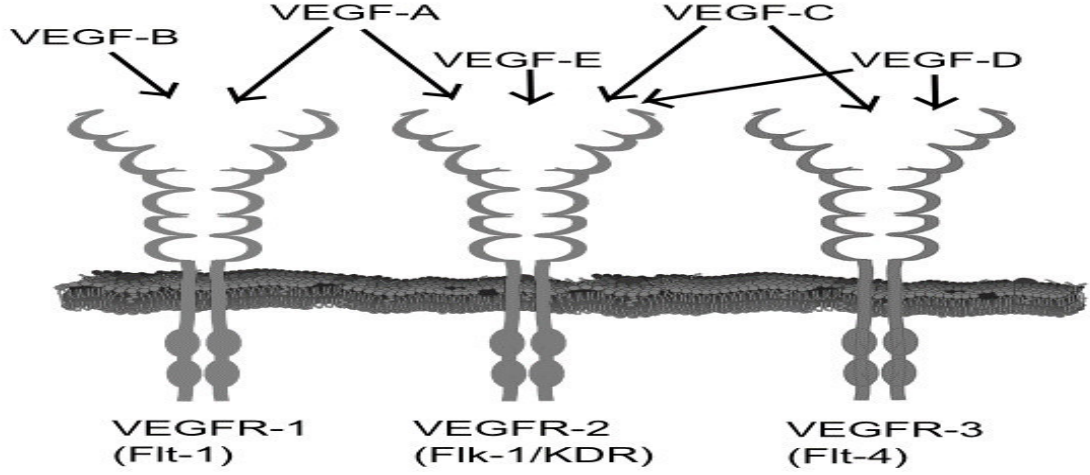
VEGFR'ler endotelial hücreler, makrofajlar, hematopoetik hücreler ve düz kas hücreleri tarafından ifade edilir.

VEGF-A izoformlarının VEGFR1 ve VEGFR2 yoluyla fizyolojik ve patofizyolojik anjiyogenezi sinyalleşmesini yönlendirirken, lenfanjiyogeneze ise VEGFR3 yoluyla VEGF-C / D izoformları tarafından yönlendirilir (Simons, vd., 2016).

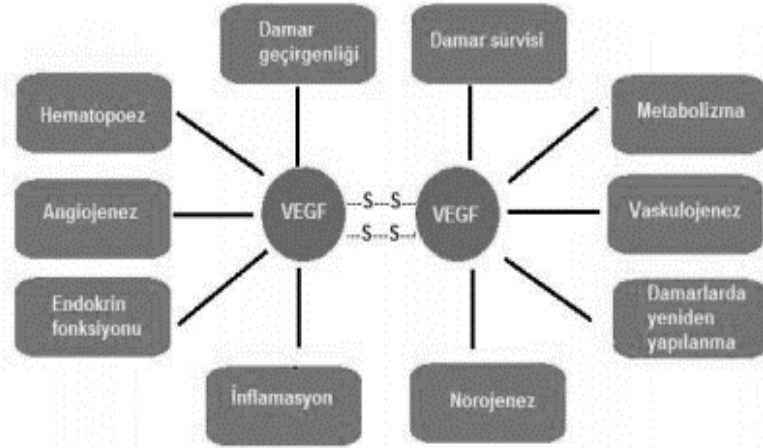
VEGFR1, VEGFR2'den daha yüksek bir VEGF-A afinitesine sahip olmasına rağmen, azalmış tirozin kinaz aktivitesi gösterir ve bu nedenle büyük ölçüde VEGFR2 (KDR) aktivitesini negatif olarak modüle edebilen bir tuza reseptör olarak kabul edilir. VEGFR1 ayrıca immün hücre farklılaşmasında rol oynasa da VEGFR1 bu incelemenin kapsamı dışındadır (Cao, 2009).

VEGFR-2(KDR) iki bölümden oluşur ve bunlar 7 adet immünoglobülin benzeri hücre dışı bölümü ve tirozin kinaz etkisine sahip olan bir hücre içi bölümdür. 200-300 kDa'luk bir glikoprotein olan VEGFR-2'ye, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve VEGF-F ligandları bağlanır. Ligandlar VEGFR-2'e bağlanınca, endotel hücre proliferasyonu, migrasyon, hematopoetik kök hücre mobilizasyonu, monosit kemotaksisi gibi olaylar gelişir. VEGFR-2 endotel hücrelerinin yanı sıra osteoblast, megakaryosit, nöron ve hematopoetik kök hücrelerde de sentezlenir. VEGFR-2'nin de plazmada serbest olarak dolaşan çözülebilir bir formu olduğu tespit edilmiş, buna da sVEGFR-2

adı verilmiştir. Bu reseptörün de sVEGFR-1'le benzer şekilde anjiogenezi baskıladığı düşünülmektedir. Endotel hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunda önemli rol oynadığından, anjiogenezin baskılanması gerektiğinde VEGFR-2 hedef molekül haline gelmektedir. Deneysel skuamöz hücreli karsinom modelinde VEGFR-2'nin bloke edilmesiyle tümör gelişiminde önemli olan stromal dokunun normale döndüğü bildirilmiştir (Kol, vd., 2018).



Şekil 2. 10. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ailesi üyelerinin VEGF 1,2,-3 reseptörleri (VEGFR) ve ile etkileşimler. (Pervin , 2015)



Şekil 2. 11. VEGF aracılığı ile gerçekleşen fizyolojik ve patolojik süreçler. (Pervin , 2015)

2.10. VEGFR2 Sinyali

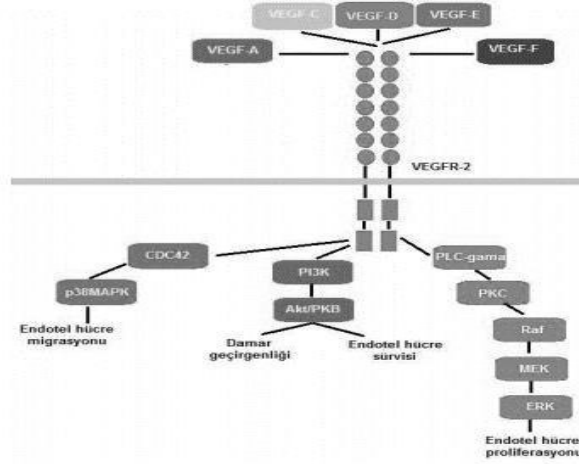
VEGF-A izoformları, aşağı akış VEGFR2 aktivasyonunun farklı sinyal ağına veya sinyal iletimine sonuçlarına sahiptir (Woolard, vd., 2009). VEGF-A izoformlarının VEGFR2'de benzer bağlanma özelliklerine sahip olmasına rağmen, VEGFR2'nin aktivasyonu karmaşık, çok adımlı bir işlemdir. Ortosterik ligand bağlanma bölgesini bağlayan VEGF-A'nın yanı sıra, allosterik etkileşimler topografik olarak farklı bölgelerde meydana gelebilir. VEGFR2 monomerleri arasındaki allosterik homotipik etkileşimler Ig benzeri D4, D5 ve D7, VEGFR2 aktivasyonu için gerekli ek bir adımdır , tasarlandığı gibi ankirin tekrar protein inhibitörleri (DARPinler) bu etkileşimleri sterik olarak bloke edebilir ve VEGFR2 aktivasyonunu allosterik olarak inhibe olur (Thieltges, vd., 2018).

Ligand bağlanması, elektron mikroskobu ile gösterilen farklı Ig benzeri alanları yeniden yönlendiren VEGFR2'nin hücre dışı bölgesi boyunca konformasyonel bir bükülmeye yol açar (Ruch, vd., 2007).

VEGF-A bağlanması sonuç olarak, flüoresan rezonans enerji transferi (FRET) kullanılarak ölçüldüğünde izoform VEGF 165a, VEGF 165b ve VEGF 121a tarafından indüklenen benzer konfigürasyonlarla transmembran helislerin dönüşüne yol açar (Dosch ve Ballmer, 2010).

VEGFR2'nin hücre içi bölgesi daha sonra konformasyonel değişikliklere uğrar, ATP'nin esnek N-lob yarığına bağlanması ile N- ve C-loblarından oluşur; bu, reseptör intrinsik kinaz aktivitesi ve C-lobdaki tirozin kalıntılarının fosforilasyonunu sağlar, özellikle aktivasyon döngüsünde Y1054 ve Y1059, Y951 in the kinaz ekleme alanı ve sırasıyla Y1175 ve Y1214. Tirozin fosforilasyonu, sitoplazmik adaptör proteinlerinin toplanması için bağlanma yerleri oluşturur ve sinyal yollarını başlatır. VEGFR2'nin akış aşağısındaki sinyal yolları aktivasyon sayısız hücresel kadere yol açar. Bunlar, PLC ve ERK1 / 2 yoluyla çoğalmayı, fokal adezyon kinaz (FAK) aracılı hücre göçünü ve fosfatidilinositol-4,5-bifosfat 3-kinaz (PI3K) / protein kinaz B (AKT) yoluyla hücre hayatta kalmasını içerir. VEGFR2 sinyalizasyonu ayrıca FAK görevlendirmesi, p38 MAPK aracılı aktin hücre iskeleti yeniden organizasyonu ve eNOS aktivasyonu yoluyla

vasküler geçirgenliğe yol açar. Bu sinyal yolları, kapsamlı bir karşılıklı konuşmaya maruz kalır. VEGFR2 aynı zamanda endoplazmik retikulumla lokalize edilmiş protein fosfataz 1b (PTP1b) tarafından defosforile edilerek VEGFR2 aktivasyonu üzerinde uzay-zamansal trafik işleminin önemini vurgulamaktadır (Haj, vd., 2002).



Şekil 2. 12. Şekil 2.12. VEGF'nin VEGFR-2'ye bağlanmasından sonra aktiflenen yollar (Pervin , 2015).

2.11. Patogenez

Virüs vücuda girdikten sonra retiküloendotelial sistemi başta olmak üzere hedef doku ve hücrelere tutunur, çoğalır ve hasar yapmaya başlar. Karaciğer en çok etkilenen organdır. Mononükleer fagositler ve vasküler endotel virüsün direkt ve indirekt hedefleri arasındadır ve salınan sitokinler tarafından uyarılır. Salınan proinflamatuvar sitokinleri virüs etkisi ile beraber hedef hücrelerde ve dokularda inflamatuvar immün yanıtı neden olurlar. İnterloklin 6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin, ağır ve ölen hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olması tespit edilmiş. hastalık tanısı alan ölen kişiler ile hayatta kalanlar ile karşılaştırıldığında damar içi pıhtılaşma daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hücresel immün yanıtı bağlı, neopterin seviyesinin KKKA'lı hastalarda arttığı, ağır klinik seyir gösteren ve ölen hastalarda ölmeyenlere göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu da KKKA'lı hastalarda ciddi inflamasyona neden olduğunu göstermektedir. Hemofagositozun da bu hastalığın patogenezinde önemli bir rolü olduğunu artmış proinflamatuvar sitokinlerin uyardığı histiyositik makrofajlar tarafından kemik iliğinde

eritrosit ve trombositlerin fagosite edilmesin ile gösterilmektedir. KKKA virüsü ile infekte hücrelerin perinükleer bölgelerinde NP birikmektedir ve biriken NP, aktin flamanlarının azalmasına ve aktin ile etkileşerek, endotel ve vasküler permeabilite artışına neden olmaktadır.

CD3+, CD8+ ve T sitotoksik lenfositlerin mortal seyreden hastalarda anlamlı derecede yüksek olduğu belirtilmiştir. Viremi döneminde kanda trombosit, lokosit ve fibrinojen değerlerinin düşük olduğu, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH) ve kreatinin kinaz (CK) enzimlerinin ve international normalization ratio (INR) değerlerinin yüksek olduğu, gösterilmiştir. IgG antikorları serumda kantitatif olarak arttıkça virüs yükü düşmektedir. Bu antikorlar virüs için nortalizan antikorlar olmasına bağlıdır (Hürrem, 2009).

2.12. Kırım-Kongo Kanamalı Ateş Hastalığının Tanısı

2.12.1. Virüs İzolasyonu

Virüs izolasyonu, viremi yüksek olduğunda hastalığın ilk 5 günü boyunca BSL-4 standartlarında olan laboratuvarlarında yapılmalıdır. Akut dönemindeki hastalardan alınan kan örnekleri SW-13, Vero, CER, LLC-MK2 veya BHK-21 gibi çeşitli hücre kültürlerin kullanarak izole edilir. Hücre kültüründe KKKA virüsü izolasyonu hastalığa karşı bağışıklık tepkisini bir antijenik madde ile tetikledikten 1-6 gün sonra yapılır. Viral kültür yüksek viremi düzeylerinin en yaygın olduğu semptomların başlamasından sonra erken uygulandığında pozitifliğe daha hızlı ulaşma olasılığı yüksektir. Sitopatik etki (CPE) genellikle görülmez; bu nedenle virüs izolasyonu, kantitatif RT-PCR'de titrelerin artırılması veya kontroller olarak bilinen antikor pozitif serum örnekleri kullanılarak dolaylı immünofloresan analizi (IFA) ile doğrulanabilir. Virüs ayrıca yeni doğan farelerin beyin dokusu içine inokülasyonu ve ardından izolasyonu ile elde edilebilir (Anna, 2019). Plak azaltma nötralizasyon testleri, KKKA nötralizasyon antikorlarının seviyesini tahmin etmek için uygulanabilir. 4'üncü seviye biyolojik güvenliği olmayan laboratuvarlarda, virüse karşı serum nötralizasyon aktivitesi psödoptipli bir virüs kullanılarak ölçülebilir (Berber, vd., 2013). Anti-KKKA virüsü ile problanan enfekte olmuş hücrelerin enzim katalizli renk gelişimine dayanan sahte plak indirgeme nötralizasyon testi antikorlar da uygulanabilir (Ackermann-Gaumann, vd.,

2019). KKKA teşhisi için viral kültür kullanmanın bir avantajı, çok çeşitli KKKAV suşlarını tespit etme kabiliyetidir.

2.12.2. Moleküler Yöntemler

Laboratuvar teşhisi esas olarak klinik örneklerde viral RNA'nın ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile saptanmasıyla sağlanır. Kullanılabilecek örnek tipleri arasında tam kan, plazma, serum, beyin-omurilik sıvısı, idrar, tükürük, biyopsi ve nekropsi örnekleri bulunur. PCR testi antikorların üretiminden önce en başarılı olanıdır. KKKAV (kırım-kongo kanamalı ateşi virüsü) RNA tespiti için yaygın olarak kullanılmıştır ve halen kullanılmaktadır Farklı virüs suşları göçmen kuşlar veya hayvan ticareti yoluyla taşınabileceğinden geniş spektrumlu bir PCR testi kullanılması tercih edilir. viral yükün hastalığın şiddeti ve sonucu ile önemli ölçüde ilişkili olduğu düşünüldüğünde, nicel gerçek zamanlı RT-PCR, hastalığın seyri için yararlı bir gösterge sağlayabilir. Virüs genellikle hastalığın ilk haftasında tespit edilebilir. Pozitif sonucu olan hastalarda, ölümcül sonuçları olan vakaların aksine virüs temizlenir (Bonney, vd., 2017). Virüsün tüm genom dizisini elde etmek amacıyla KKKA kültür süpernatantları ve KKKA pozitif keneler üzerinde de novo next generation sequencing (NGS) kullanımı hakkında raporlar vardır. WGS'lerin analizi, virüs gelişimi, rekombinasyon ve yeniden sıralama olayları üzerine yapılan çalışmaların temelini oluşturur ve etkili teşhis araçlarının tasarlanmasını sağlar . De novo NGS'nin doğrudan klinik örneklerde tanısal kullanımı, yüksek viremili vakalarda başarılıdır. Amplifikasyon hedeflendiğinde, virüs düşük konsantrasyonlarda bile tespit edilebilir (Dinçer, vd., 2017).

2.12.3. Serolojik Yöntemler

Serolojik testler antijenik varyasyona duyarlıdır ve kanda oluşan İmmunoglobulin G (IgG) ,İmmunoglobulin M (IgM) antikorların her ikisinin de serolojik olarak gösterilmesi bu yöntemin esasıdır. Aktif KKKAV enfeksiyonu, semptom başlangıcından 4-9 gün sonra, enfeksiyonun akut fazını takiben IgM veya IgG titresinde belirgin bir artış ile tespit edilebilir; bununla birlikte, ciddi ve ölümcül vakalar sıklıkla saptanabilir bir antikor yanıtı oluşturmaz. Anti-KKKA IgG'nin saptanması, mevcut veya çözülmüş enfeksiyonu gösterebilir ve sürveyans epidemiyolojik çalışmalarında yararlı olabilir. KKKA için ELISA testi IFA veya nötralizasyon testinden daha iyidir. Virüs

nötralizasyon analizleri teşhis için daha az yararlıdır, çünkü KKKA, nispeten düşük seviyelerde nötralize edici antikorlar ortaya çıkarır, ancak epidemiyoloji ve aşı araştırmaları için yararlı olabilir. KKKAV nötralizasyonu genellikle plak indigeme nötralizasyonu kullanılarak gerçekleştirilir ve 5-7 gün için de sonuçlar elde edilir (Laura, 2018). Bu testin avantajı biyogüvenlik düzeyi-4 olmayan laboratuvarlarda da kullanılabilmesidir.

2.13. Moleküler Epidemiyoloji

KKKA virüsü, GenBank'taki izolatlar arasında S, M ve L segmentleri için % 20, % 31 ve % 22 sapma ile yüksek derecede dizi çeşitliliği gösterir. Viral S segmentinin bir analizine dayanarak, virüsün Afrika'dan Avrupa'ya, Orta Doğu'ya ve ardından Asya'ya uzun bir coğrafi yayılma geçmişi olduğunu gösteren altı veya yedi viral soy tanımlanmıştır. Genom çeşitliliği, kene içinde memeli konakçıdan daha fazla olabilir. KKKAV'nin geniş dizi çeşitliliği muhtemelen suşların dolaşım ve yeni coğrafi bölgelere adaptasyonu ile arttırılan genetik yeniden düzenlenmelerden kaynaklanmaktadır (Laura, 2018).

Türkiye 'de Sağlık Bakanlığı genelgesine göre Kırım-Kongo Ateş hastalığının vaka tanımı ve klinik tanımlama önerileri aşağıda belirtilmiştir.

2.14. Klinik Tanımları

1. Şikayetler: Ani başlayan baş ağrısı, halsizlik , ateş, genel vücut ağrısı, karın ağrısı , ishal, bulantı-kusma

2. Laboratuvar bulgular: Karaciğer enzimleri ALT, AST, Laktat Dehidrojenaz (LDH) , CPK , Lökopeni ve trombositopeni değerlerinde yükselme.

3. Kanama belirtileri: Melena, Hemoptizi, Hemorajik veya purpurik dökümü, Epistaksis ve diğer hemorajik semptomlar.

2.15. Vaka Tanımları

İnsanda KKKA hastalığının üç sınıflandırılmış tanımı vardır:

1. Şüpheli vaka: hastalığın ani başlaması ateş, kas ağrısı, kene ısırması, hemorajik belirtiler (peteşi döküntüsü, oral mukozaya ve burun kanaması, kusma, hematüri, epidemiyolojik semptomlardan biri (kenelerin ısırması, taze kan veya enfekte olmuş

hayvanların diğer dokularıyla doğrudan temas, kesin veya şüpheli KKKA hastası ile doğrudan temas, çiftlik hayvanlarıyla temas etme olasılığı bulunan kırsal bir bölgede kalmak veya seyahat etmek).

2. Olası vaka: lökopeni veya lökositoz ile ilişkili olabilecek şüpheli trombositopeni vakaları.

3. Kesin vaka: olası vakalar ve pozitif serolojik testler veya virüsü şüpheli KKKA olan birinden izole etmek (Majidzadeh, vd., 2011).

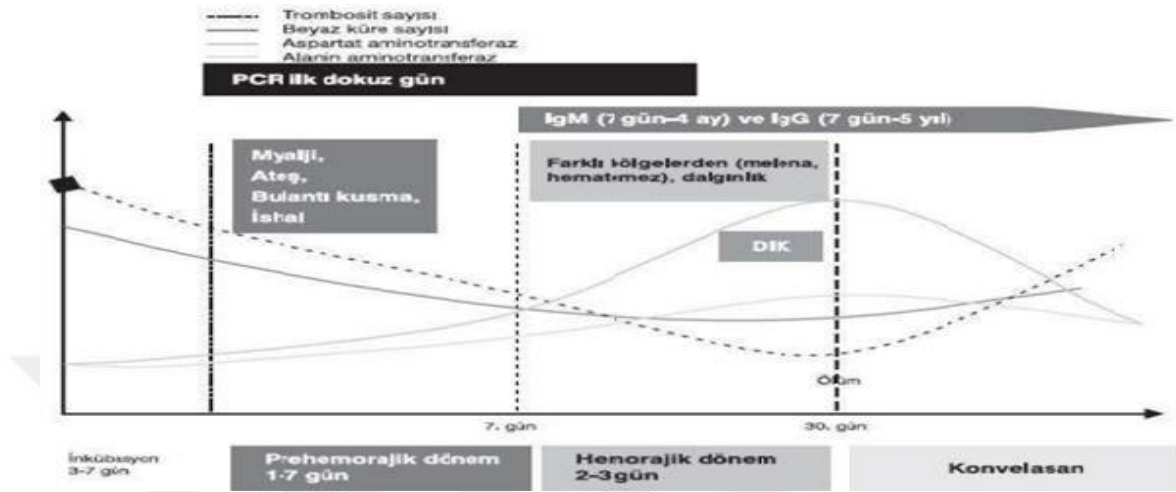
2.16. Risk Grupları

1. Endemik bölgede yaşayan
2. Enfekte kene veya virüs ile temas etme olasılığı yüksek olan insanlar
3. Enfekte hastalarla veya hastalara ait örnekler ile temas eden sağlık çalışanları
4. Laboratuvar çalışanları
5. Hasta yakınları

2.17. KKKA Hastalığında Klinik

KKKA hastalığının seyri tipik olarak inkübasyon, prehemorajik, hemorajik ve iyileşme dönemi olmak üzere dört evrede karşımıza çıkmaktadır. İnkübasyon dönemi virüsün bulaşma yoluna, viral yüke ve konağın bağışıklık durumuna bağlı olarak 3-14 gün arasında değişmektedir. Bu evrede ki değişiklikler ve hastalığın sonuçları virüsün soyuna dozu gibi diğer faktörlere bağlıdır. Prehemorajik evrede ani başlayan ateş , şiddetli baş ağrısı, üşüme, yaygın kas ağrısı, titreme, ishal, bulantı-kusma, yüzde ve konjonktivalarda kızarıklık, fotofobi ve makülopapüler döküntü gibi şikayetlerle başlar. Bu dönem 1-7 gün arasında sürmekte. Hemorajik dönemi kısa süren peteşi, purpura, diş eti, burun, vajina, midebağırsak, üriner sistem, akciğer , beyin ve deride yaygın kanamalar görüldüğü dönemdir. Şiddetli hastalarda üçte birinde karaciğer ve dalak büyümesi görünür şuur bozukluğu, solunum yetmezliği, ajitasyon, hepatorenal yetmezlik, dissemine intravasküler koagulopati, şok ve koma gelişerek ölüme kadar gidebilmektedir. Dünyada ölüm oranı yaklaşık %30'dur bazı ülkelerde bu oran %80'lere kadar çıkabilmektedir ve genellikle 5-14. günler arasında görülmektedir. İyileşme dönemi hastalığı atlatan bireylerde genellikle hastalığın başlangıcından itibaren 10-20

gündür ve İyileşme süreci 2-6 hafta arasında sürer ve hastalığın relapsı yoktur (Önder ve Hüseyin, 2016).



Şekil 2. 13. KKK Ateşinin Klinik ve Laboratuvar Seyri. (Önder ve Hüseyin, 2016).

2.18. Laboratuvar Bulgular

Trombositopeni kırım kongo kanamalı ateş hastalığının önemli laboratuvar bulgusudur. Hastalarda lökopeni ve anemi gözlenir. Aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) ve kreatin fosfokinaz (CPK) enzimlerinin değerlerinde artış görülmektedir. Protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel protrombin zamanı (aPTT) ve diğer kanama testlerinde belirgin bir süre uzaması görülmektedir. Fibrinojen seviyesinde düşüş, fibrin yıkım ürünleri ise artar.

2.19. KKKA Hastalığının Tedavisi

KKKA hastalığı kendiliğinden iyileşme özelliğine sahiptir. Klinik seyri ağır olan hastalarda tedavi gerekir. Destek tedavi hastalığın tedavisinin temelini oluşturur, bunun yanında hastanın sıvı-elektrolitlerinin ve kan değerlerinin izlenmesi gerekir. Taze donmuş plazma ve trombosit süspansiyonu gerekirse ağır seyri olan hastalara verilebilir (T.C SB).

2.19.1. Destekleyici Tedavi

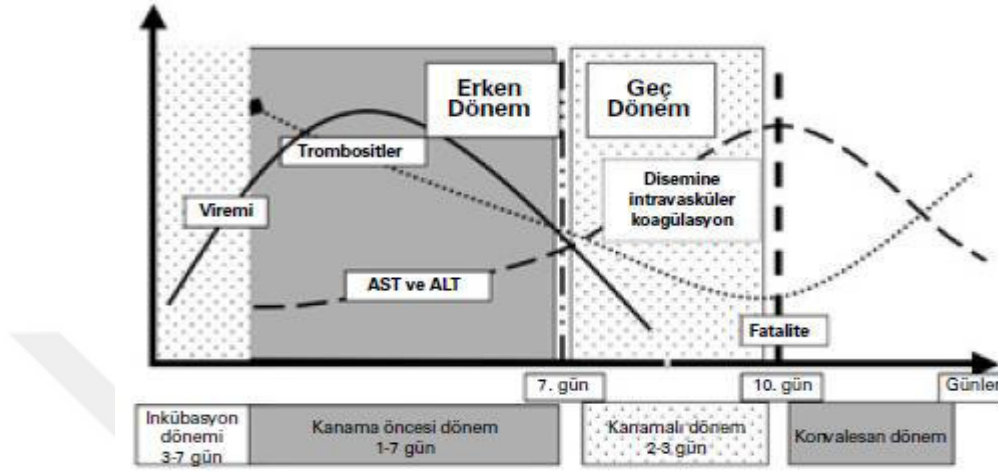
KKKA hastalarının tedavisinde en önemli adım destek tedavisidir. Doğrulanmış bir KKKA vakasının destek tedavisi için hastaların vital bulguları ve laboratuvar

değerleri takip edilmeli. transaminazlar, böbrek fonksiyon testleri ve pıhtılaşma parametreleri çok bilgilendirici ve kritiktir. Mekanik ventilatör ihtiyacı olan hastalarda ve organ yetmezliği olan hastalar özellikle solunum ve böbrek komplikasyonları yoğun bakım gereksinimi olabilir. Sıvı ikamesi, kan transfüzyonu ve taze donmuş plazma ve trombosit transfüzyonları gibi diğer destekleyici tedaviler, endike ise mümkün olan en kısa sürede başlatılmalıdır. Trombosit sayısı 50.000 /ml 'nin cerrahi operasyonu yapılacak hastalarda ve kanaması olan hastalarda ve kanaması olmayan hastalarda 10.000/ml'nin altında ise verilmeli. Dirençli trombositopenisi olan şiddetli KKKA hastalarına intravenöz immünoglobulin (IVIG) verilmelidir. Metilprednizolonun KKKA vakalarında etkinliğini bildiren bir çalışma da bulunmaktadır (Anna, vd., 2014).

2.19.2. Antiviral Tedavi

Ribavirin KKKA vakalarının tedavisinde kullanılan tek antiviral ilaçtır. Henüz tam olarak anlaşılmayan çeşitli mekanizmalarla hareket eden geniş spektrumlu sentetik bir purin nükleozid analogudur. Ribavirin, konsantrasyona bağlı bir şekilde in vivo ve in vitro KKKA replikasyonunu inhibe eder. İnsanlarda etkinliği büyük ölçüde klinik gözlemlere dayanmaktadır. Bununla birlikte genel olarak ribavirinin etkinliği tartışmalıdır. Bazı çalışmalar, ribavirin'in hastalığın erken evresinde verildiğinde etkili olduğunu ileri sürmüştür. Türkiye'nin Karadeniz bölgesinde yapılan randomize prospektif bir çalışma, ribavirin verilen KKKA hastalarında klinik ve laboratuvar parametreleri üzerinde olumlu bir etki belirlememiştir ve ribavirin ile tedavi edilen hastalarda hastanede kalış süresi uzamıştır; mortalite oranları ribavirin alan veya almayan hastalarda benzerdi. Sistemik bir derleme ve meta-analiz, ribavirin'in KKKA tedavisinde etkili olduğu fikrini desteklemedi, çünkü ribavirin ile tedavi edilen hastaların sonuçları, ribavirin tedavisi almayan hastalarla karşılaştırıldı ve ribavirinin hayatta kalma oranını artırmadığı bulundu hastanede kalış süresini kısaltmadı ve kan ve kan ürünleri ihtiyacını azaltmadı. Ribavirin alan hastalarda ilaca bağlı yan etkileri bildiren başka bir meta-analizde benzer sonuçlar bildirilmiştir. Öte yandan, enfeksiyonun erken döneminde kortikosteroidler ve ribavirin ile tedavi edilen altı hastayı içeren bir çalışmada gösterildiği gibi kombinasyon tedavisi faydalı olabilir. Flusin ve ark. ribavirin ve küçük müdahaleci RNA'ların (siRNA'lar) kombinasyonunun, bir hayvan modelinde

Hazara virüsüne karşı sinerjik bir antiviral etki sergilediğini bildirmiş, bu da tedavinin KKKAV için de faydalı olabileceğini düşündürmüştür (Anna, vd., 2014).



Şekil 2. 14. Kırım-Kongo kanamalı ateşinde ribavirin özellikle erken dönemde etkilidir. (Anna, vd., 2014).

2.19.3. Yeni Antiviral İlaçlar

Yeni tedavi seçenekleri için yapılan çalışmalar yeni ilaç adaylarından dinamin ailesinden interferon indükleyen yeni tanımlanmış bir GTPaz olan MxA'nın KKKA viral RNA replikasyonunu engellediği belirtilmiştir. Nükleokapsid bileşenleriyle etkileşerek yeni virüs parçacıklarının üretimini inhibe etmektedir (Onder, 2016).

2.19.4. Spesifik İmmünoglobulin Tedavisi

Geçmişte, bazı KKKA hastaları at immünoglobülini ve insan iyileşme serumu ile tedavi edilmiştir. Ancak, bu yaklaşımın etkinliğine ilişkin veriler hala sınırlıdır. İyileşen KKKA hastalarının plazmasından elde edilen spesifik immünoglobulin, özellikle Bulgaristan'da profilaktik ve tedavi amaçlı olarak intramüsküler olarak verilmiştir. Türkiye'de yapılan bir çalışmada sağlıklı donörlerden hazırlanan KKKAV hiperimmünoglobulin, yüksek KKKA viral yükü olan (108 kopya / mL) 15 hastaya verildi. Anti-CCHF hiperimmünoglobulin uygulaması, özellikle yüksek riskli hastalar için yeni bir terapötik yaklaşımı temsil edebilir (Anna, vd., 2014).

2.20. KKKA 'da Korunma

Kene kaynaklı tüm hastalıklarda olduğu gibi, kişilerin kene ısırıklarından kaçınmaya dikkat etmesi gerekir. KKKA viremik hastaların veya hayvanların, özellikle çiftlik hayvanlarının salgıları veya kanıyla doğrudan temastan sonra oldukça bulaşıcı olduğundan, hayvancılık ve mezbahalarda çalışan kişiler ve sağlık çalışanları, eldiven, maske, maske kullanımı gibi enfeksiyon kontrol prosedürlerini takip etmelidir. koruma için yeterli olduğu kanıtlanan önlükler ve yüz siperleri. KKKA hastalarını yönetirken bariyer hemşireliği ve hasta izolasyonu gereklidir (Anna, vd., 2014).Orman ve piknik alanları gibi kene yönünden riskli alanlara gidilirken, kenelerin vücuda girmesini engellemek için vücudu örten giysiler giyilmeli.Vücuda tutunan keneyi çıplak elle dokunmadan çıkartılmalı. Enfekte kan ve vücut sıvıları ile direct temas bulaşıcılık oldukça yüksektir ve insandan insane geçmesinden direct sorumludur. Tanısı yada şüphelenilen vakalar üç bölümden oluşan hasta odası,tuvalet, değişim odası odalara izole edilmelidir. Kene tutunmasından sonra, 10 gün içinde;

Halsizlik, Baş Ağrısı, Vücut Ağrısı, Ateş, İştahsızlık, Kusma, Bulantı, İshal şikâyetlerinden herhangi birinin görülmesi durumunda, zaman kaybetmeden en yakın sağlık kuruluşuna gidilmelidir.

2.21. Temas Sonrası Profilaksi

KKKAV ile temas sonrası profilaksinın esasen yüksek riskli kişilerde yararı tartışmalıdır. Buna en iyi örnek KKKA hastalarının kan ile kontamine iğne batmasıdır. Enfeksiyona maruz kalan kişi biyokimya ve kan sayımı testleri ile takip edilmelidir. Cerrahi prosedürler esasında eğer kesici bir aletle oluşan penetran yaralanma mevcut ise 20-30 saniye %70 alkol sürülmesi ve takiben bol su ve sabunla yıkanmalı. Bununla birlikte, yüksek bulaşma ve perkütan maruz kalma riski olan sağlık çalışanları üzerinde yapılan çalışmalar, ribavirin profilaksisinin faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Ribavirin'in enfeksiyonda erken uygulandığında en iyi faydası olduğu bilgisine dayanarak yaralanma / maruziyetten hemen sonra başlanması önerilir. Bu çalışmalara göre, ribavirin profilaksisi, perkütan yaralanma gibi KKKA'ye yüksek risk maruziyeti olan sağlık personeline önerilebilir. Ribavirin profilaksisi ağızdan 2 g yükleme dozu olarak uygulanır, ardından 4 gün 4 g / gün ve 6 gün boyunca 2 g / gün uygulanır.

Ribavirin profilaksisi ağızdan 2 g yükleme dozu olarak uygulanır, ardından 4 gün 4 g / gün ve 6 gün boyunca 2 g / gün uygulanır (Anna, vd., 2014).

2.22. KKKA'ya Karşı Aşılar

KKKA için dünya çapında tanınan bir aşı olmamasına rağmen, Bulgaristan'da 1974'ten beri kullanılmakta olan bir aşı vardır. Bulgar aşısı Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği'nden kaynaklandı. Bu KKKAV ile enfekte olmuş yenidoğan farelerin beyin dokusundan hazırlanan inaktive edilmiş bir aşıdır. KKKA partiküllerinin inaktivasyonu, kloroform ve ısı işlem kombinasyonu ile sağlandı. Aşı, 16 yaşından büyük risk gruplarında deri altından birçok kez yapılır. 1974 ile 1996 yılları arasında, Bulgaristan Sağlık Bakanlığı'na bildirilen vakalarda ani bir düşüş oldu ve 1996'dan sonra yılda 20'den az vaka rapor edildi (Thomas Tipih ve Felicity, 2020). Bununla birlikte, bildirilen Bulgar vakalarındaki azalma aşı etkinliğinden bağımsız olabilir, ancak başka faktörlerin bir ürünü olabilir. Fare beyininden elde edilen aşı Bulgaristan'da kullanılmasına rağmen, aşı, büyük ölçüde güvenlik endişeleri ve etkinlik denemelerinin olmaması nedeniyle yaygın küresel kullanım için uygun bir seçenek değildir (Hemachudha, vd., 1987). Son zamanlarda, KKKA aşısı gelişimi, korumanın immün bağıntıları henüz tanımlanmamış olsa da viral glikoproteinler ve nükleoprotein (NP) üzerine odaklanmıştır. İncelenen KKKAV proteinleri, in vitro veya in vivo olarak üretilen rekombinant proteinlerdir. İn vitro proteinler hücre kültürlerinde üretilir, saflaştırılır ve hayvan modellerine aşılanırken, in vivo protein üretimi, endojen protein üretimini kolaylaştıran KKKAV antijenlerini kodlayan genleri teslim etmek için kullanılan vektörlerden yararlanır. İn situ antijen üretimi arzu edilir çünkü proteinler doğal enfeksiyonlara benzer translasyon sonrası modifikasyonlar kazanır (Bins, vd., 2013).

2.23. Biyoterörizm ve Viral Kanamalı Ateşler

Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Allerji ve Enfeksiyon Hastalıkları Enstitüsü'nde yapılan sınıflandırmada kanamalı ateşler A kategorisinde değerlendirilmiştir. Ancak, KKKA virüsü C kategorisinde sınıflandırılmıştır. C kategorisi öncelikli patojen olarak bilinmektedir. Kırım Kongo kanamalı ateş virüsü (KKKAV), Bunyaviridae ailesinin Nairovirüs türündendir. Bunyavirus'lar, zarflı ve

negatif polaritesi olan tek iplikçikli RNA parçacığından oluşmaktadırlar (Elliott, vd., 1991). KKKAV'nın sekiz farklı genetik grubu bulunmaktadır. Türkiye'den izole edilen KKKAV izolatları Güneydoğu Rusya ve Kosova suşlarına yakındır ve İran'da 2002'de görülen salgındaki suşlardan farklıdır (Midilli, vd., 2007).

Hemorajik Ateş Virüsleri

- Arenaviridae
 - Lassa ateşi
 - Arjantina hemorajik ateşi
 - Venezuela hemorajik ateşi
 - Brezilya hemorajik ateşi
- Bunyaviridae
 - Hanta virüs RSHA
 - Hanta virüs PS
 - Rift vadesi ateşi
 - KKKA
- Flaviviridae
 - Sarı humma
 - Dang hemorajik ateşi
 - Kyasanur orman hastalığı
- Filoviridae
 - Marburg hemorajik ateşi
 - Ebola hemorajik ateşi

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Araç Ve Gereçler

3.1.1. Aletler ve Cihazlar

- 1.PCR Cihazı (Px2 Thermo cycle)
- 2.Elektroforez Tankı
- 3.Elektroforez Güç Kaynağı (MULT-MIXER)
- 4.Jel Görüntüleme Sistemi (BIO RAD chemiDoc MP)
- 5.Bilgisayar (Hp)
- 6.Hassas Terazi (METTLER TPLEDO)
- 7.Mikrosantrifüj (BECKMAN COULTER)
- 8.Vorteks
- 9.Mikropipet Seti
- 10.Otoklav
- 11.Buzdolabı
- 12.Mikrodalga Fırın
- 13.PCR Tüpü
14. Steril Eldiven
- 15.PH metre
- 16.Isıtıcı (Biosan)
- 17.Sim tüp

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 1.Agaroz (ROUTINE GRADE)
- 2.Primerler

A. KDR geninin polimorfizmini tespit etmek için ilgili primer çifti

Polimorfizm	Kullanılan Primerler
KDR	Forward primer: 5'- CCTTCCCCTGGGACTAAGGA -3'
rs2071559	Reverse primer: 5'-AAAGTGCAGGACCCTCTTCG-3'

B. VEGF geninin polimorfizmini tespit etmek için ilgili primer çifti

Polimorfizm	Kullanılan Primerler
VEGF	Forward primer: 5'-CCACACCATCACCATCGACA-3'
rs302503	Reverse primer: 5'-ACATCCAGTGAAGACACCAATA-3'

3. MgCl₂
4. Taq DNA polimeraz
5. PCR Buffer
6. Marker
7. Tris Base
8. Hin 1 II rflp enzimi
9. Bsm I rflp enzimi
10. d NTP seti
- 11 .DNA loading
12. Etil alkol
13. Etididum Bromide
15. Borik Asit
16. Green buffer
17. Buf Tango
18. Buf G

3.2. Kullanılan Solüsyonlar ve Tamponlar

3.2.1. Etidyum Bromür solüsyonu

0.1 gr Etidyum Bromür 10 ml distile su içerisinde bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Kullanılacak tüpler aliminyum folyo ile kapandı. Hazırlanan solüsyon +4°C 'de saklandı.

3.2.2. Eletroforez Tamponu

200 ml 5x TBE tamponundan alınıp 800 ml distile su ile seyreltilerek 1x TBE hazırlandı.

3.2.3. Agaroz Jel (% 1.25 'lik)

1.250 gr agaroz, 100 ml 1XTBE ile erlenmayer içerisinde karıştırılıp mikrodalga fırında 2 dakika 800°C ısıtıldı. Hafif soğuması beklenerek 0.4 µl Etidyum Bromür eklenip hızlı bir şekilde iyice karıştırıldı ve yükleme yapacak tarakları hazırlanmış olan kasete döküldü ve katılaştıktan sonra buz dolabında bekletildi

3.2.4. dNTP çalışma solüsyonu

100 mM Adenin, Timin, Sitozin, Guanin nükleotidlerinin her birinden 25µl alınarak ile 25 mM 'lik 100µl dNTP ara stoğu hazırlanır. 25 mM ara stoktan 100µl alınarak 250 µl steril distile su ile karıştırılarak totalde 350 µl ve 10 mM'lik konsantrasyonda dNTP çalışma solüsyonu hazırlandı.

3.2.5. Primer stoklarının hazırlanması

KDR geninin primerleri: 100pmol ana stoktan çalışma solüsyonu, konsantrasyonu 10pmol olacak şekilde distile suyla 10 kat sulandırıldı.

VEGF geninin primerleri: 100pmol ana stoktan çalışma solüsyonu, konsantrasyonu 10pmol olacak şekilde distile suyla 10 kat sulandırdı.

Son hacim hazırladıktan sonra 2 dakika santrifüj yapılır ve 3 saat boyunca manyetik karıştırıcıda 37 °C bekletilir, beklemeden sonra tekrar 2 dakika santrifüj yapıldı.

3.2.6. EDTA Solsüyon hazırlaması

18.16 gr $\text{Na}_2 \text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 80 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözülmenin oluşabilmesi için 2 g NaOH karışıma eklendi (pH:8). pH ayarlaması HCl ile yapıldı ve distile su ile 100 ml 'ye tamamlandı. Hazırlanan EDTA solüsyonu otoklavlanıp (121°C-20 dakika) oda sıcaklığında saklandı.

3.2.7. 5XTBE (Tris-Borat-EDTA) tamponu

54 gr Trisma Base 27.5 gr Borik asit ve 20 ml EDTA 500 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Homojen olunca distile su ile 1 litreye tamamlanarak çözüldü ve çözelti oda sıcaklığında saklandı.

3.3. ÇALIŞMA GRUBU

3.3.1. Hasta Grubu

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıklar ve Klinik Mikrobiyoloji kliniğinde KKKA ön tanısı ile yatırılarak takip ve tedavi edilmiş hastalardan KKKA kesin tanısı konmuş 51 erişkin hasta çalışmamıza alınmış. Kontrol grubu olarak ise hiçbir enfeksiyon hastalığı olmayan ve daha önce KKKA tanısı almamış bireyler seçilmiştir.

3.3.2. Hasta Gruplarının Tanımlanması

Hastalar Ergönül ve arkadaşları ile Swanepoel ve arkadaşlarının belirlediği hastalık tanı kriterleri kullanılarak tanımlanmışlar

Tablo 3. 1. Hastaların AST, ALT, PLT, APTT ve PT Ortalamaları

	N	Minimum	Maksimum	ortalama	Std.Sapma
AST	51	32,50	1415,00	329,2529	299,36456
ALT	51	25,10	1539,50	210,5549	243,76897
PLT	51	11,00	114,00	39,2353	21,32096
APTT	51	26,30	77,00	49,9255	13,94205
PT	51	8,80	24,40	14,3804	3,47079
Valid N (listwise)	51				

3.3.3. Örneklerin Alınması

Bu araştırma yardımcı araştırmacısı olduğum, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmış 16/KA EK/031 proje numaralı "Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığında IL 1 ve IL 6 Gen Polimorfizminin Araştırılması" isimli çalışmada kullanılan hasta ve sağlıklı kontrol grubuna ait kanlardan izole edilen ve -20 °c 'de derin dondurucuda saklanan DNA'lar kullanılarak yapıldı. Bahsi geçen çalışma için katılımcılar hasta onam formlarında "İzole edilen genetik materyalinin gelecekteki bilimsel çalışmalarda da kullanılmasına izin veriyorum" şeklinde onay vererek imza atmışlardır.

3.3.4. Araştırma Takibinde Kullanılacak Parametrelerin Listesi

1. Hasta yaşı, cinsiyeti, tam kan sayımı sonuçları, INR, AST ve ALT değerleri
2. VEGF rs302503 varyantının analizi
2. KDR rs2071559 varyantının analizi

Etik Kurul İzni Ve Bilgilendirilmiş Onam

Çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakóltesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 2019/15 sayılı toplantısında görüşülmüştür. 24.10.2019 tarih ve 19-KAEK-216 etik kurul proje nosuyla onaylanmıştır.

3.4. YÖNTEM

3.4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Tekniği

PCR yapay oligonükleotitler (primer) kullanarak in vitro ortamında uygun koşullar altında hedef bölgenin çoğalmasdır. PCR sırasıyla DNA çift zincirinin birbirinden ayrılması (Denatürasyon), primerlerin hedef bölgeye bağlanması (Hibridasyon) ve DNA'nın uzaması (Polimerizasyon) aşamalarından meydana gelir. PCR da kullanılan girdiler sırası ile aşağıdaki gibidir.

Distile su: Optimum konsantrasyon değerlerinin elde edilmesi için kullanılır.

Kalıp DNA: Genomik DNA'lar veya herhangi bir DNA parçası kullanılabilir.

dNTP: Deoksiribonükleozid trifosfat olarak adlandırılan dNTP 'ler primerden sonra zincirin uzaması için kullanılır.

Polimerazlar: Çalışan hedef dizisinin sentezini katalizlerler. Taq DNA polimerazlar sıklıkla kullanılan çeşittir.

Primerler: Kalıp DNA'nın sentezi için başlangıç noktasını oluşturan sentetik oligonükleotitlerdir.

Tamponlar ve $MgCl_2$: Reaksiyon esnasında enzimin aktivitesini arttırmak için kullanılır.

3.4.2. VEGF ve KDR Polimorfizmlerinin Genotiplenmesi

VEGF ve KDR genlerin açıklanan varyantlarını genotiplemek için PCR-RFLP yöntemini kullandık. PCR reaksiyonunda, VEGF geninde bulunan rs3025039 polimorfizminin amplifiye etmek için forward [5'CCACACCATCACCATCGACA-3'] ve reverse [5'ACATCCAGTGAAGACACCAATA- 3'] çift primerleri ve KDR geninde bulunan rs2071559 polimorfizmi için de forward [5'CCTTCCCCTGGGACTAAGGA-3'] ve reverse [5'AAAGTGCAGGACCCTCTTCG-3 ']) kullandık. VEGF geninin PCR reaksiyonu 1 µl genomik DNA (100 ng), her primerden 0,6 µl (10 pmol), 0.7 µl Taq DNA Polimeraz, 1,2 µl dNTP mix ve 2,5 µl buffer ve 18,4 µl su içeren toplam 25 µl hacimde optimize edilmiştir.

KDR geni için 1 µl genomik DNA (100 ng), her primerden 0,6 µl (10 pmol), 0,7 µl Taq DNA Polimeraz 1,4 µl d NTPmix ve 4 µl buffer ve 16,9 µl su içeren toplam 25 µl hacimde optimize edilmiş karışım hazırladık. Amplifikasyon prosedürleri Thermo Cyclers üzerinde programla gerçekleştirildi.

3.4.3. VEGF PCR

95 ° C'de 5 dakika için ilk denatürasyon ve ardından 45 saniye 95 ° C denatürasyon, 45 saniye için 56,5 ° C bağlanma (annealing) ve 45 saniye için 72 ° C uzama olmak üzere 33 döngü serisi uygulandı. Nihai uzatma, 72 ° C'de 5 dakika süreyle gerçekleştirildi.

3.5.4. Enzimle Kesim Aşaması

VEGF rs3025039 (374 bp) PCR ürününden 10 µl, 0,5 µl Hin 1II restriksiyon enzimi, 4 µl buffer Tango, 4 µl reaksiyon buffer G ve 2 µl steril su karışımı hazırladık sonra 37 °C'de 24 saat bekletildi ve ardından elektroforez tekniği ile kesim ürünlerini görüntüledik.

3.4.5. KDR PCR

95 °C'de 5 dakika ilk denatürasyon için ve ardından 45 saniye 95 C denatürasyon, 45 saniye için 68 °C bağlanma (annealing) ve 45 saniye için 72 °C uzama olmak üzere 35 döngü serisi uygulandı. Nihai uzatma, 72 °C'de 5 dakika süreyle gerçekleştirildi.

3.4.6. Enzimle Kesim Aşaması

KDR rs2071559 (413 bp) PCR ürününden 10 µl, 0,4 µl BsmI restriksiyon enzimi, 3 µl Green buffer, 5 µl reaksiyon buffer ve 2 µl steril su karışımı hazırladık sonra 37 ° C'de 24 saat beklettik ve ardından elektroforez tekniği ile kesim ürünlerini görüntüledik.

Tablo 3. 2. KDR ve VEGF geni için kullanılan PCR karışımı

PCR Birleşeni	KDR (µl/Tüp)	VEGF (µl/Tüp)
Steril Su	16.9 µl	18.4 µl
Buffer	4 µl	2.5 µl
dNTPMix	1.4 µl	1.2 µl
Forward Primeri	0.6 µl	0.6 µl
Reverse Primeri	0.6 µl	0.6 µl
Taq Polimeraz	0.7 µl	0.7 µl
Genomik DNA	1 µl	1 µl

Tablo 3. 3. KDR ve VEGF geni için kullanılan PCR programı.

Program Türü	Derece °C		Zaman		Döngü Sayısı	
	KDR	VEGF	KDR	VEGF	KDR	VEGF
İlk Denatürasyon	95 °C	95 °C	5min	5 min		
Denatürasyon	95 °C	95 °C	45 s	45 s		
Beğlanma	68.6 °C	56 °C	45 s	45 s	35	35
Uzama	72 °C	72 °C	45 s	45 s		
Final Uzama	72 °C	72 °C	45 s	5 min		

3.4.7. Elektroforez Tekniği

Elektroforez, DNA, RNA veya protein moleküllerini boyutlarına ve elektrik yüklerine göre ayırmak için kullanılan bir laboratuvar tekniğidir. Ayrılacak molekülleri bir jel boyunca hareket ettirmek için bir elektrik akımı kullanılır. Jeldeki gözenekler bir elek gibi çalışır ve küçük moleküllerin büyük moleküllerden daha hızlı hareket etmesini sağlar. Agaroz deniz suyundan ekstrakte edilen bir polisakkarittir. %5-2 konsantrasyonlarda sulu çözeltilerle çözöldüğünde katı bir jel oluşturur ve belirli

büyükteki DNA parçası agaroz konsantrasyonuna bağlı olarak farklı hızlarda jel içinde hareket eder. Örnek olarak %1.25 agaroz jel konsantrasyonu 300-5000 bp aralığında DNA parçaları hareket eder. Elektroforez tamponu dış bir elektrik alanının etkisi ile yüklü bir parçacığın çözelti içerisinde yönlendirilmesidir. Ortak nükleik asit elektroforez tamponu şunlardır: tris-asetat (TAE), tris-borat (TBE), tris-fosfat (TPE).

3.4.8. Agaroz Jelde PCR Ürünlerinin yürütülmesi

0.8 µl karışım agaroz jeldeki kuyucuklara yüklendi ve DNA fragmentlerinin baz çift uzunluklarını karşılaştırmak için 100-1000bp çiftlik marker DNA kullanıldı. Yüklenen DNA 'lar 150 voltta 30 dakika yürütüldü ve jel görüntüleme sisteminde görüntülendi. Görüntüleme sonucunda KDR bölgesinde 413 bp uzunluğunda tek bant (TT), 413 bp ve 338 bp ve 75 bp uzunluğunda üç bant (CT), 338 bp ve 75 bp uzunluğunda iki bant (CC) gözlemlendi. VEGF bölgesinde 374 bp uzunluğunda tek bant (CC), 238 bp ve 136 bp uzunluğunda iki bant (TT) ve 374 bp ve 238 bp ve 136 bp uzunluğunda üç bant (CT) gözlemlendi.

3.4.9. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel analizi için SPSS 16.0 paket bilgisayar programı kullanıldı ve $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Genotip sıklıkları için Hardy-Weinberg dengesinden sapma olup olmadığı Ki-kare(X^2) testi ile araştırıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda yardımcı araştırmacısı olduğum, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmış 16/KA EK/031 proje numaralı "Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığında IL 1 ve IL 6 Gen Polimorfizminin Araştırılması" isimli çalışmada kullanılan 51 KKKA tanısı almış ve 51 sağlıklı kontrol grubuna ait kanlardan izole edilen DNA'lar kullandık. 51 KKKA hastasının 31'i erkek, 20'si kadın idi. Hastalarımızın yaş ortalamaları (yıl $\pm$ St.Sapma) 16,827 idi. Çalışmamızda hastalığın seyri sırasındaki AST, ALT, PLT, APTT ve PT değerleri tablo 1'deki gibiydi.

Çalışmamıza dahil edilen KKKA hastalarının laboratuvar bulguları ait istatistik veriler Tablo 3, 4,5 ve 6'da gösterilmiştir.

Tablo 4. 1. Hastaların Yaş Ortalamaları

	N	Minimum	Maksimum	ortalama	Std.Sapma
YAŞ	51	10	76	45,94	16,827
Valid N (listwise)	51				

Tablo 4. 2. Hastaların Cinsiyet Dağılımları

	Sıklık	Yüzde	Seçili gruptaki oranı	Toplamdali oranı
E	31	27,0	27,0	82,6
K	20	17,4	17,4	100,0
Toplam	115	100,0	100,0	

Tablo 4. 3. Kontrollerin Cinsiyet Dağılımları

	Sıklık	Yüzde	Seçili gruptaki oran	Toplamdaki oran
E	27	42,2	42,2	64,1
K	23	35,9	35,9	100,0
Total	64	100,0	100,0	

Tablo 4. 4. Kontrollerin Yaş Ortalamaları

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
YAŞ	50	20	65	38,18	10,447
Valid N (listwise)	50				

4.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Analizi

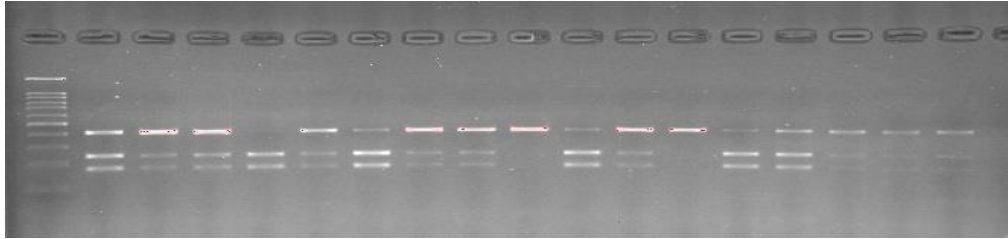
VEGF ve KDR genlerini in vitro ortamında uygun koşullar altında PCR uygulaması ile çoğaltılması sağlandı ve çok sayıda kopyaları elde edilerek %2.5 lik agaroz jel içerisinde 150 voltta 30 dakika yürütülerek UV ışık ile incelendi. Görüntüleme sonucunda KDR bölgesinde 413 bç uzunluğunda tek bant (TT), 413 bç ve 338 bç ve 75 bç uzunluğunda üç bant (CT), 338 bç ve 75 bç uzunluğunda iki band (CC) gözlemlendi. VEGF bölgesinde 374 bç uzunluğunda tek bant (CC), 238 bç ve 136 bç uzunluğunda iki bant (TT) ve 374bç ve 238bç ve 136bç uzunluğunda üç bant (CT) gözlemlendi. İnceleme sonucunda elde edilen jel görüntüsü aşağıda verilmiştir (Şekil 15 ve 16 ve 17 ve 18).



Şekil 4. 1. %2.5 'lik agaroz jelde yürütülen KDR geninin PCR sonrası bant örnekleri



Şekil 4. 2. %2.5 'lik agaroz jelde yürütülen VEGF geninin PCR sonrası bant örnekleri



Şekil 4. 3. %2.5 'lik agaroz jelde yürütülen KDR geninin kesim sonrası bant örnekleri



Şekil 4. 4. %2.5 'lik agaroz jelde yürütülen VEGF geninin kesim sonrası bant örnekleri

4.2. İstatistiksel Bulgular

KKKA hasta gurubunda çalışan örnekler PCR analizi ile elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde. Toplam 51 KKKA hastasında VEGF geninde 36 (%70.6) bireyde genotip CC , 11 (%21.6) hastanın genotipi CT ve 4 (%7.8) bireyde genotip TT gözlemlendi. 51 KKKA hastasında C allelinin sıklığı %81.37 iken T allelinin sıklığı %18.62 olarak saptanmıştır. VEGF geninin toplam 51 kontrol bireyden 21 (%42) bireyin genotipi CC , 23 (% 46) bireyde genotip CT ve 6 (% 12) bireyde genotip TT olarak tespit edilmiştir. C allelinin sıklığı %65 ve T allel sıklığı % 35 olarak belirlenmiştir. KDR geninde hasta grubunda sırasıyla TT alleli 23(%45), CT alleli 19(%37.3), CC alleli 9 (%17.6) bireyde TT alleli gözlemlendi, T allel sıklığı %63.72 ve C allel sıklığı %35 ve kontrollarda 22(%44) bireyde genotip TT , 21(%42) bireyin genotipi CT ve 7(%14) bireyin genotipi CC ve T allel sıklığı %65 ve C allel sıklığı %35 saptanmıştır. Hasta ve kontrol grupları karşılaştırdığında istatistiksel olarak KKKA gelişimi ile KDR -604T > C (rs2071559) polimorfizminin değil, VEGF 936C > T (rs3025039) polimorfizminin ilişkili olduğunu göstermiştir.

Tablo 4. 5. Hasta ve kontrol gruplarında KDR gen polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları.

Gen	Hasta n ^a (%)	Kontrol n ^b (%)	p	OR Exp (B) (CI 95%)
KDRGen				
Genotip				
T/T	23 (45.1)	22 (44.0)		
T/C	19 (37.3)	21 (42.0)	>0.05*	
C/C	9 (17.6)	7 (14.0)		
T/T+T/C:C/C	42:9	43:7	>0.05*	0.761 (0.24-2.27)
T/T:T/C+C/C	23:28	22:28	>0.05*	0.104 (0.473-2.31)
Allel				
T	65 (63.72)	65 (65.0)	>0.05&	0.946 (0.52-1.68)
C	37 (36.27)	35 (35.0)		
HWE p value	0.165	0.586		

Tablo 4. 6. Hasta ve kontrol gruplarında VEGF gen polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları.

Gen	Hasta n ^a (%)	Kontrol n ^b (%)	p	OR Exp (B) (CI 95%)
VEGF Gen				
Genotip				
C/C	36 (70.6)	21 (42.0)	<0.05*	0.627 (0.14-2.44)
C/T	11 (21.6)	23 (46.0)		
T/T	4 (7.8)	6 (12.0)		
C/C+C/T:T/T	47:4	44:6	>0.05*	0.627 (0.14-2.44)
C/C:C/T+T/T	36:15	21:29	<0.05 &	3.273 (1.44-7.63)
Allel				
C	83 (81.37)	65 (65.0)	<0.05 &	2.821 (1.55-5.22)
T	19 (18.62)	35 (35.0)		
HWE p value	0.039	0.938		

5. TARTIŞMA

Viral kanamalı ateş hastalıkları ateş ve kanama ile karakterize, yüksek mortalite oranı ile seyreden akut enfeksiyondur. Bu hastalıkların etkenleri genellikle RNA virüsleridir. Bunyaviridae (Kırım Kongo kanamalı ateşi, Hantaan hemorajik ateşi), Filoviridae (Ebola ve Marburg), Arenaviridae (Lassa ateşi, Junin ve Machupo) ve Flaviviridae (dengue, Omsk hemorajik ateşi) gibi önemli viral kanamalı ateş etkeni olan ajanlardırlar. Virüsler, sinekler, keneler aracılığı ile veya bazıları enfekte olmuş kan ve vücut sıvıları ile bulaşma özelliği taşırlar (Önder).

Son zamanlarda viral kanamalı ateşler arasında KKKA 'nın dünyada artış göstermesi merak uyandırmaktadır. Kırım-Kongo kanamalı ateş, ölüm oranı yüksek olan enfekte kişide hemorajik ateş geliştiren kene kaynaklı bir hastalıktır. KKKA, Güney Afrika da dahil olmak üzere kıtadaki birkaç ülkeden bildirilmiştir. Virüs evriminin potansiyeli düşünüldüğünde Yeniden sınıflandırma ve konak değiştirme yoluyla, virüs hastalıklarının izlenmesi ve sürekli aktif gözetimi son derece önemlidir (Ravendra, vd., 2020).

Son zamanlarda viral kanamalı ateşler arasında KKKA'nın dünyada artış göstermesi merak uyandırmaktadır. Yapılan araştırmaların sonucunda Ebola kanamalı ateş ile KKKA arasında yakın benzerlik var. Bu benzerliklerden göz önüne alınarak olarak KKKA patogenezinin, konağın antiviral cevabının yeterli olmamasına bağlı olarak viral yük miktarının artması, bağışıklık doğrudan olamayan bağışıklık yanıtının enfekte dokularda dokularda hasar oluşturmalarının bir sonucu olabileceği iddia edilmektedir (Bakır, 2004).

Vasküler endotelial büyüme faktörünğn (VEGF) düzenlenmesi, fizyolojik ve patolojik koşullar altında çok sayıda dokuda neovaskülarizasyon için kritik öneme sahiptir. VEGF, alternatif ekleme veya proteolitik bölünme ile oluşturulan ve farklı reseptör bağlama ve matris bağlama özellikleri ile karakterize edilen çoklu izoformlara sahiptir. Bu izoformların, dallanmadaki farklılıklar ile belirgin bir anjiyogeneze yol açtığı bilinmektedir (Prakash, vd., 2013).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) sadece anjiyogeneze değil, aynı zamanda inflamasyonda da önemli bir rol oynamaktadır. KDR ekspresyonu, VEGF gen transkripsiyonunun önemli bir indükleyicisidir. Artmış VEGF / KDR sinyalleme sadece anjiyogenezi arttırmakla kalmaz, aynı zamanda ateroskleroz , kronik inflamasyonda ve vasküler onarımda da önemli bir rol oynar (Agnieszka, vd., 2019).

Literatürdeki birçok çalışmada VEGF ve KDR sinyal yolu genlerinin çeşitli hastalıklar ile ilişkisi kanıtlanmıştır.

Murat ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi olan türk çocuklarında artmış VEGF-A ve HIF-1 α seviyeleri araştırdılar. 17 yaştan daha küçük 30 vaka RT-PCR ve / veya ELISA için bu çalışmaya dahil edilmiş ve 30 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak alınmıştır. Hasta ve kontrol gruplarından alınan kan örnekleri HIF-1 α ve VEGF-A'nın serum seviyeleri ELISA ile ölçülmüştür. Kontrol grubuna göre KKKA hastalarında HIF-1 α ve VEGF-A seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştır (P <0.05). Hasta grubunda HIF-1 α ve VEGF-A seviyeleri arasında anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur (P <0.01). Hastalarda ALT, AST, CK, aPTT, WBC ve Trombosit sayısı seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (P <0.001). Biyokimyasal parametrelerden AST ve CK düzeyleri ile hasta grubunda VEGF ve HIF-1 α düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulundu (P <0.05). Araştırmanın sonucunda HIF-1 α ve VEGF-A, KKKA patogeneziinde önemli bir rol oynadığını bulunmuştur (Murat, vd., 2015) Bizim yapılan çalışmamızda bütün KKKA hastalarında karaciğer enzim seviyelerinde önemli derecede artış gözlemlendi. Hasta yaş grubumuz 10-76 yaş arasındaydı ve VEGF geninin anlamlı ilişkisi olduğunu gösterdik.

Mehrdokht ve arkadaşları 2017 yılında VEGF-KDR sinyal yolu genlerinin Önemi Multipl Skleroz geliştirme riskinde araştırdılar. Bu çalışmada, multipl toplam 400 hasta ve 400 sağlıklı kontrolden oluşan bir vaka-kontrol çalışmasıdır. Katılımcılar genotipleme için nörolojik muayene ve periferik kan örneklemesine tabi tutuldu. VEGF ve KDR genlerindeki polimorfizmler, RFLP-PCR yöntemi kullanılarak değerlendirildi. T alleli ve TT genotipinin önemli ölçüde daha yüksek frekansı VEGF 936C> T (rs3025039) polimorfizmi multipl skleroz grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre bulundu (sırasıyla P = 0.01 [OR = 1.41] ve P = 0.01 [OR = 3.12]). Ek olarak VEGF

936C> T, resesif modelde hastalarla bir ilişki gösterdi. Bununla birlikte, KDR -604T> C (rs2071559) polimorfizmi, iki grup arasında allelik veya genotip frekansında önemli bir fark göstermedi. Birlikte ele alındığında, mevcut çalışmanın sonuçları, VEGF genindeki rs3025039 Allelinin İran popülasyonunda multipl skleroz gelişimi için bir risk faktörü olarak kabul edilebileceğini göstermektedir (Mehrdokht, vd., 2017). Bizim çalışmamızda örneklerin birey sayısı bu çalışmadan az olmasına rağmen KKKA hasta gurubu kontrol gruplarını karşılaştırdığımızda KKKA gelişiminde VEGF C>T polimorfizminin ilişkili olduğu ($p<0.05$) ve KDR polimorfizminin anlamlı ilişkisi $p>0.05$ olmadığını bulduk.

Megan ve arkadaşları 2017 yılında çalışmalarında VEGF-A165b, tüm endojen VEGF-A ek yeri izoformlarının böbrekten giderek azalmasıyla bir fare modelinde proteinüriye karşı koruma sağlamasını araştırmışlardır. Kronik böbrek hastalığı, vasküler endotelial büyüme faktörü A'nın ekspresyonunda bir azalma ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Bununla birlikte, VEGF-A ekleme izoformlarının böbrek fizyolojisi ve patolojisine katkısı hakkında çok az şey bilinmektedir. Önceki çalışmalar, ekleme izoformunun VEGF-A165b'nin (terminal eksonda 3 birleşme bölgesinin alternatif kullanımından kaynaklanan) böbrek fonksiyonu için koruyucu olduğunu ileri sürmektedir. Bu çalışmada, dörtlü transgenik bir modelde şunu gösteriyor: VEGF-A165b'nin aşırı ekspresyonu, podositlerden tüm VEGF-A izoformlarının giderek azalması bağlamında proteinürideki artışın yanı sıra glomerüler su geçirgenliğini kurtarmak için yeterlidir. Ultrastrüktürel çalışmalar, glomerüler bazal membranın kalınlaştığını, podosit yarık genişliğinin arttığını ve alt podosit alanı kapsamı azaltılır. VEGF-A tükendiğinde, bunların tümü in VEGF-A165b aşırı ekspresörler tarafından kurtarılır. VEGF-A165b, glomerüler endotelial hücrelerde ve glomerüler kılcal çevrede trombosit endotel hücre adezyon molekülü-1 ekspresyonunu eski haline getirir. Mekanik olarak VEGF reseptör 2 ekspresyonunu artırır hem in vivo hem de in vitro ve endotel hücrelerinin göçünde ve proliferasyonunda rol oynayan genleri aşağı regüle eder, aksi takdirde kanonik izoform VEGF-A165 tarafından yukarı regüle edilir. Mevcut çalışmanın sonuçları, VEGF-A ekleme izoformlarının manipülasyonunun kronik glomerüler hastalıkta yeni bir terapötik yol olabileceğini göstermektedir. (Megan, vd., 2017). Bizim çalışmamızda VEGF-A geninin KKKA hastalığı ile ilişkili olduğunu

gösterdik ve bu neden ile KKKA tedavisinde umut verici olduğunu ve klinik deneylerin tasarımında dikkate alınmalıdır.

Aubin Moutal ve arkadaşları 2021 yılında SARS-CoV-2 başak proteini, analjeziyi indüklemek için VEGF-A / Nöropilin-1 reseptör sinyalinin birlikte kullanmasını göstermişler. Bu çalışma, ağrıda VEGF-A / NRP-1 sinyalleşmesinin şimdiye kadar bilinmeyen bir rolünü tanımlar ve NRP-1'in VEGF-A bağlantısının spike protein tarafından engellendiğini ve sonuç olarak iki anahtar nöroseptif voltaj kapılı sodyum, ve kalsiyum kanallarının aktivitelerini azalttığını göstermektedir ve bunun sonucu ağrıda bir azalma oluşur. Verilerimiz SARS-CoV-2 başak veya NRP-1 inhibitörü EG00229 kullanılarak VEGF-A / NRP-1'e müdahale etmenin analjezik olduğunu göstermektedir (Aubin Moutal, vd., 2021). Bizim çalışmamız VEGF geninin (rs3025039) polimorfizminin KKKA hastalığı ile ilişkili olduğunu gösterir.

Po-Chu Lee ve arkadaşları 2019'da calreticulin, mide kanseri hücrelerinde vasküler endotelial büyüme faktörü-A mRNA stabilitesini düzenlemesini çalışmışlardır. Kalretikülin (CRT) ve vasküler endotelial büyüme faktörü-A (VEGF-A), anjiyogenez için çok önemlidir ve mide kanserinde çoklu habis davranışlara aracılık eder. Bu çalışmada, mide kanseri hastalarında CRT'nin VEGF-A ile pozitif korelasyon gösterdiğini bildirdiler. Ayrıca, hem CRT hem de VEGF-A'nın yüksek ifadeleri, patolojik evre ile belirgin bir şekilde ilişkilidir, hastala ilerleme ve kötü prognoz. Bu nedenle, CRT'nin mide kanserinde VEGF-A'yı etkilediği mekanizmayı aydınlatmaya çalıştılar. İlk olarak, CRT'nin yok edilmesinin, iki mide kanseri hücre çizgisinde, AGS ve MKN45'te VEGF-A mRNA stabilitesini azalttığına dair yeni bulguyu gösterdiler. AU-Zengin elementin (ARE) VEGF-A mRNA stabilitesinin korunmasında önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. Lusiferaz raportör deneyi, CRT'nin yok edilmesinin, VEGF-A ARE dizisi ile renilla lusiferaz aktivitesini önemli ölçüde azalttığını gösterir. Ek olarak, RNA bağlama / elektroforetik hareketlilik kayma deneyinden elde edilen rekabet sonuçları, CRT'nin ARE'ye bağlanarak VEGF-A mRNA ile bir RNA-protein kompleksi oluşturduğunu gösterir. Ek olarak, insan umbilikal ven endotelial hücrelerinin (HUVEC) proliferasyon oranı, CRT nakavt hücrelerinden gelen koşullu ortam ile tedavi edildiğinde önemli ölçüde azaldı; bu eksojen VEGF-A rekombinant protein tarafından kurtarıldı. Sonuçları, CRT'nin VEGF-A mRNA'yı stabilize etmek için

VEGF-A ARE bağlayıcı protein komplekslerinde yer aldığını ve böylece mide kanserinin anjiyogenezini ve ilerlemesini teşvik ettiğini göstermektedir. (Po-Chu Lee, vd., 2019). Bizim çalışmada ise KKKA hastalarında VEGF polimorfizminin anlamlı bir şekilde ilişkili olduğu bulundu.

Yueshui ve ekip arkadaşları yaptıkları çalışmada yağ dokusunda vasküler endotel büyüme faktörü A'nın geçici aşırı ifadesi, sempatik sinir sisteminin aktivasyonu yoluyla enerji harcamasını teşvik etmesini 2018 yılında çalışdılar. Yağdan türetilen vasküler endotelyal büyüme faktörü A (VEGF-A), obez yağ pedlerinde fonksiyonel kan damarı oluşumunu uyarır ve bu da yağ dokusunun sağlıklı genişlemesini kolaylaştırır. Sempatik sinir sistemi aktivasyonunun süreçteki rolünü araştırdılar. Bununla birlikte, süreci yöneten ayrıntılı mekanizma (lar) büyük ölçüde bilinmemektedir. Bu amaçla, yüksek yağlı diyet (HFD) beslemesi sırasında kısa bir süre için adipoz dokuya özgü doksisisiklin (Dox) ile indüklenebilir transgenik fare modelinde VEGF-A'nın aşırı ekspresyonunu indüklediler. Yağ dokusunda VEGF-A'nın lokal olarak aşırı ekspresyonunun, Dox indüksiyonundan sonra lipolizi ve kahverengileşmeyi uyardığını buldular. Tirozin hidroksilaza (TH) karşı immünofloresan boyama, transgenik farelerin adipoz dokusunda daha yüksek seviyelerde sempatik innervasyon gösterdi. Artmış bir norepinefrin (NE) seviyesine yanıt olarak, 3-adrenoseptör ekspresyonu önemli ölçüde yukarı regüle edildi ve aşağı akış protein kinaz A (PKA) yolu, tüm PKA substratlarının gelişmiş fosforilasyonu ile gösterildiği gibi aktive edildi, özellikle adipositlerdeki hormona duyarlı lipaz (HSL). Sonuç olarak, yağ dokusu artan lipoliz, esmerleşme ve enerji harcaması sergilemiştir. Önemli olarak, bu etkilerin tümü, 3-adrenoseptör antagonisti SR59230A ile tedavi üzerine kaldırılmıştır. Toplu olarak, bu sonuçlar, geçici aşırı ifade VEGF-A'nın sempatik sinir sistemini aktive ettiğini ve dolayısıyla yağ dokusunda lipoliz ve kahverengileşmeyi teşvik ettiğini gösterir (Yueshui, vd., 2018). Bizim çalışmamız ise VEGF-A geninin varyantını KKKA ile ilişkili olduğunu gösterdik.

Xiaofeng ve arkadaşları çalışmalarında ANLN ve KDR arasındaki etkileşimlere ilişkin genetik kanıtlar sağlayarak ve kanser hücresi yaşamı / ölümü ile anjiyogenez / metastaz geçişleri arasındaki önemli rolünü araştırdılar. Tek nükleotid polimorfizimleri (SNP'ler), prognostik potansiyele sahip memeli hücrelerinde en yaygın genetik

varyasyondur. Anilin - aktin bağlayıcı proteinin (ANLN), hücre yaşamı / ölümü kontrolünde kritik olan PI3K / PTEN sinyallemede rol oynadığı tespit edilmiştir ve kinaz eklenti alan reseptörü (KDR), kanser anjiyogenez / metastaz anahtarına aracılık eden bir anahtar reseptörü kodlamaktadır. Karsinogenezde iki kritik geçişi temsil eden PI3K / PTEN ve KDR sinyalizasyonu arasındaki içsel bağlantıların bilgisi, mevcut çalışmayı ANLN ve KDR arasındaki potansiyel sinerjinin meme kanseri sonucu üzerindeki etkilerini araştırmaya ve genetik seviye. KDR ve ANLN'den gelen SNP'lerin hayatta kalma ilişkileri, ikili etkileşim hayatta kalma analizi, kantitatif özellik lokus analizi, yol zenginleştirme analizi ve ağ yapısı yoluyla değerlendirildi ve ANLN ile KDR arasındaki etkileşimler in vitro olarak doğrulandı. ANLN'de her iki nadir homozigotun da olduğu bulundu: rs12535394

ve KDR: rs11133360 SNP çifti, olumlu göğüs kanserinin hayatta kalmasının prognostığıdır ve kanser durumu kontrolünde bağışıklık tepkisinin önemli rollerini destekler. Bu çalışma, ANLN ve KDR arasındaki etkileşimlere ilişkin genetik kanıtlar sağlayarak ve kanser hücresi yaşamı / ölümü ile anjiyogenez / metastaz geçişleri arasındaki sinerjiyi karsinogenez sırasında yönlendirmede immün yanıtın önemli rolünü öne sürerek meme kanseri prognozuna ve terapötik tasarıma katkıda bulunur (Xiaofeng, vd., 2019).

Agnieszka ve arkadaşları Kinaz insert alan içeren reseptör (KDR) polimorfizmlerini ve protein seviyelerini Romatoid Artrit (RA) duyarlılığı ve ciddiyeti ile ilişkili olarak 2019 yılında araştırdılar. 641 RA hastası ve 340 kontrol (HC), rs1870377 KDR varyantı için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)-kısıtlama parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) yöntemi ve rs2305948 ve rs2071559 KDR tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) için TaqMan SNP genotipleme testi ile incelendi . KDR serum seviyeleri, enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) ile belirlendi. Rs1870377 KDR varyantı, kodominant ($p = 0,02$, $OR = 1,76$,% 95 $CI = 1,09-2,85$) ve resesif modeller ($p = 0,019$, $OR = 1,53$,% 95 $CI = 1,07-2,20$) altında RA ile ilişki göstermiştir. KDR rs2305948, dominant modelde RA ile ilişkilendirildi ($p = 0.005$, $OR = 1.38$,% 95 $CI = 1.10-1.73$). Kodominant modelde, rs2071559 TC ve GG genotiplerinin sıklığı RA hastalarında kontrollere göre daha düşüktü ($p < 0,001$, $OR = 0,51$,% 95 $CI = 0,37-0,69$)

ve $p = 0,002$, $OR = 0,57$, % 95 $CI = 0,39-0,81$). KDR rs2071559 T ve rs2305948 A allelleri RA ile ilişkilendirildi. KDR rs2305948SNP, Hastalık Aktivite Skoru (DAS) -28 skoru ($p < 0.001$), Görsel Analog Skala (VAS) skoru ($p < 0.001$), şişmiş eklem sayısı ($p < 0.001$), CRP ortalama değeri ($p < 0.001$). Mevcut sonuçlar, RA'nın ciddiyetinde KDR genetik varyantlarının rolüne ışık tutmaktadır (Agnieszka, vd., 2019). Biz çalışmamızda RFLP-PCR yöntemi kullanarak KDR TT, TC, CC genotiplerinde, T ve C allellerinde hasta ve kontrol gruplarında anlamlı fark bulamadık ve KKKA ile ilişkisi olmadığını gösterdik

Bir diğer çalışmada özofagus skuamöz hücreli karsinomun tedavisinde KDR ve proteazom inhibitörlerini hedeflemenin potansiyel rolünü Ling ve arkadaşları 2020 yılında araştırdılar. Özofagus skuamöz hücreli karsinom (ESCC), Çin'deki en agresif kanser türlerinden biridir. Son yıllarda, ESCC dahil olmak üzere çeşitli kanser genomik türlerinde ilerleme kaydedilmiştir. Bununla birlikte, ESCC'nin genomik varyasyonunun klinik önemi kötü tanımlanmış kalır. Bu çalışmada, 469 ESCC vakasından alınan genomik dizileme verileri analiz edilmiş ve potansiyel Druggable Genom Etkileşim Veritabanındaki (DGIdb) terapötik hedefler tarandı. ESCC'nin bortezomib (proteazomu hedefleyen spesifik bir inhibitör) ile tedavi edilmesi, 5 ESCC hücre çizgisinin çoğalmasını güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve bortezomib uygulaması, SCID farelerinde önemli tümör ksenograft gerilemesine yol açan bir dizi potansiyel terapötik hedef gen ve yol tanımlandı. Ayrıca, DGIdb tarafından entegre edilen 6 kaynağın tümünden ilaç önerileri alan ve ESCC'de önemli bir amplifikasyon barındıran kinaz eklenti alan alıcılar (KDR), çinko parmak proteini 750'nin (ZNF750) aşağı akış hedefi olabileceği de belirlendi. ZNF750 bir transkripsiyon faktörü olarak hareket eder ve önceki bağımsız çalışmalarla ESCC'de sıklıkla inaktive edici mutasyonları barındırdığı gösterilmiştir. Mevcut çalışmada, KDR, ZNF750'nin devrilmesi üzerine yukarı regüle edildi ve ZNF750'nin kurtarılması da KDR'nin önemli ölçüde restorasyonuna yol açtı. Kararlı ZNF750-knockdown KYSE150'de KDR devrildi ve KYSE140 ESCC hücreleri, ZNF750 knockdown ile indüklenen hücre büyümesi, koloni oluşumu, istila ve göçün teşvikini önemli ölçüde zayıflattı. Diğer deneyler, güçlü bir KDR inhibitörü olan apatinib tedavisinin, hücre proliferasyonu ve istilasının derin inhibisyonuna neden olduğunu buldu. Toplu olarak, bu çalışma ESCC'de potansiyel terapötik hedefler olarak genomik

değişiklikler için içgörü sağladı ve ESCC'de proteazomu hedefleyen bir terapötik strateji olasılığını destekledi. Mevcut sonuçlar ayrıca KDR'nin hedeflenmesinin, sadece KDR varyant vakalarında değil, aynı zamanda ZNF750 mutasyonları ve silmeleri olan kişilerde de ESCC'yi tedavi etmenin etkili bir yolu olabileceğini ileri sürdü (Ling, vd., 2020).

Vasküler bütünlüğün korunmasında vasküler endotel büyüme faktör (VEGF-A) ve reseptörü (VEGFR1) ve anjiyopietin-2 (Ang-2) ve reseptörü (Tie-2) çok önemli araçlardır. Enver Sancakdar ve arkadaşları 2015 yılında Ang-2 ve VEGF ile bunların reseptörleri Tie-2 ve VEGFR1'in KKKA enfeksiyonu ile ilişkisini incelemişlerdi. Tie-2, Ang-2, VEGF-A ve VEGFR1 serum seviyeleri önemli ölçüde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KKKA hastalarında artmıştır. Ayrıca, serum Tie-2, Ang-2, VEGF ve VEGFR1 düzeylerinin şiddetli grupta, şiddetli olmayan ve kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardı (sırasıyla $P < 0.05$ ve $P < 0.001$). Tie-2, Ang-2, VEGF-A ve VEGFR1 seviyeleri şiddetli olmayan grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede ($p < 0.05$) yüksekti (Enver Sancakdar). Biz çalışmamızda VEGF geninin varyantını KKKA hastalığıyla ilişkisini gösterdik.

Biz bu çalışmada VEGF genindeki rs3025039 polimorfizminin ve KDR genindeki rs2071559 polimorfizminin ilişkisini KKKA hastalığı ile 51 sağlıklı kontrol içeren 51 hasta içeren bir çalışmada test ettik. Hastaların ve kontrollerin yaşı 10 ve 76 arasında değişmekteydi. KKKA hastaları ve kontrol grupları arasında hem rs3025039 hem de rs2071559 için genotip dağılımı, Hardy Weinberg dengesi ($df = 1$, $P > 0.05$) ile uyum içindeydi. P değerleri rs3025039 ve rs2071559 için hastalarda $p < 0.05$ kontrolde $p < 0.05$ oldu. VEGF geni için, rs3025039'un CC genotipinin dağılımı hasta ve kontrol vakararın arasında önemli ölçüde farklıydı. Öte yandan, KDR rs2071559 polimorfizmi, KKKA'li vakalarda hastalık riski ile ilişkili değildi.

VEGF ve KDR genlerindeki anjiyojenik yolunda önemli rolları göz önüne alındığında VEGF / KDR polimorfizmlerin, KKKA'ye yatkınlığa katkıda bulunacağını varsaydık.

Bu amaçla, VEGF geninin 3' çevrilmemiş bölgesinde bulunan (rs3025039) polimorfizminin ve KDR geninin yukarı akış bölgesindeki (rs2071559) polimorfizminin

KKKA'nın gelişme riski ve moleküler temeli ile ilişkili olup olmadığını araştırdık. Çok sayıda çalışma, çeşitli hastalıklarda polimorfizmler ile VEGF geninin ekspresyon seviyesi arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir örnek olarak Murat ve arkadaşları 2015 yılında VEGF-A geninin KKKA patogenezinde rol oynadığını göstermiş başka bir çalışmada 2017 'de VEGFgeni MS hastalığı için bir risk olduğu saptanmış, 2019 yılında KDR geninin meme kanseri patogenezinde rolü gösterilmiş ancak sonuçlar etnik gruplar arasında tutarsızdır. Bu çalışma, KKKA hastaları ve kontrol bireyleri arasında VEGF genindeki rs3025039 polimorfizminin C allelinde önemli bir fark olduğunu ortaya koymuştur. Ek olarak, rs3025039'un CC homozigot genotipi, hem ko-dominant hem de resesif modellerde artmış KKKA gelişimi riski ile ilişkilendirilirken, KDR genindeki rs2071559 polimorfizmi, vakalarımızda KKKA'ye duyarlılıkla ilişkili değildi. Bildiğimiz kadarıyla bu, VEGF (rs3025039) polimorfizminin KKKA hastalığında duyarlılığı ile ilişkili olduğuna dair kanıt sağlayan ilk rapordur. VEGF polimorfizminin, sadece anjiyogeneze mekanizmasında değil, KKKA hastalığının çeşitli yönlerinde de önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Anjiyogeneze rolü gibi VEGF ile ilgili diğer fonksiyonları değiştirebilir. Meme kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, renal hücreli karsinom ve diffüz büyük B hücreli lenfoma dahil olmak üzere farklı kanserlerde nedensel bir role sahiptir ve kanser oluşumunda VEGF-KDR sinyal yolunun önemini gösterir. Önceki raporlar, KDR fonksiyonundaki düzensizliğin, anormal vasküler onarım, VEGF'nin azalmış anti-apoptotik spesifikasyonları ve bozulmuş endotel hücre sağkalımı veya hasarı olarak görünebilen vasküler disfonksiyonla ilişkili olabileceğini göstermiştir. Araştırma grupları arasındaki sonuçlardaki bu tutarsızlıklar, gen ifadesi ile düzenleme arasında bir denge kurmanın karmaşıklığını basitçe yansıtır olabilir. Vasküler sistem gelişiminin erken aşamalarında KDR'nin dengeli ekspresyonu ve VEGF ile uygun etkileşiminin önemli olduğu bildirildiğinden, VEGF-KDR yolunun ve bunun KKKA ile ilişkisinin düzenlenmesinde yer alan farklı adımlarda KDR işlevini araştırmak için ek araştırmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİ

Sonuç olarak, bu çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıklar ve Mikrobiyoloji kliniğinde KKKA ön tanısı ile yatırılarak takip ve tedavi edilmiş hastalarda KKKA gelişimi ile KDR -604T > C (rs2071559) polimorfizminin değil, VEGF 936C > T (rs3025039) polimorfizminin ilişkili olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmaya nispeten çok sayıda katılımcı kaydettik ve çalışmamızın sonuçları VEGF rs3025039 varyantının KKKA ile ilişkisi olduğunun ilk kanıtını sağladık.

VEGF'nin aracılık ettiği inflamasyon, bu genin modülatör işlevi KKKA tedavisinde umut verici sonuçlar sunabileceğinden, KKKA'lı hastalarda klinik deneylerin tasarımında dikkate alınmalıdır. Bu ilişki hasta sayıları arttırılarak ve VEGF ekspresyon çalışmaları yapılarak çıkan sonuçlar eşliğinde analiz edilmelidir.

KAYNAKLAR

- Ackermann-Gaumann R, Siegrist D, Züst R, et al. (2019). Standardized focus assay protocol for biosafety level four viruses. *J Virol Methods*. 264:51–54.
- Agnieszka PG, Barbara S, Andrzej P, Damian M, Katarzyna RP, Malgorzata M, Marzena. (2019). KDR (VEGFR2) Genetic Variants and Serum Levels in Patients with Rheumatoid Arthritis.
- Akıncı E, Bodur H, Leblebicioglu H. (2013). Pathogenesis of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 13(7):429-37.
- Anna P, Ali M, Ifthar K, Augustin EP, Heinz F. (2014). Recent advances in research on Crimean-Congo hemorrhagic fever.
- Aubin M, Laurent F, Martin B, Lisa B, Kimberly G, Dongzhi Ra, Yuan Z, Harrison J, Strattona, Song C, Shizhen L, Kerry B, Samantha PM, Amol P, Mohab M, brahima RK. (2021). SARS-CoV-2 spike protein co-opts VEGF-A/neuropilin-1 receptor signaling to induce analgesia.
- Berber E, Canakoglu N, Yoruk MD, et al. (2013). Application of the pseudo-plaque assay for detection and titration of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Virol Methods*.
- Bins AD, van den Berg JH, Oosterhuis K, et al. (2013). Recent advances towards the clinical application of DNA vaccines.
- Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. (2003). Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk.
- .Bonney LC, Watson RJ, Afrough B, et al. (2017). A recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection. *PLoS Negl Trop Dis*.
- SB (2004). Bulaşıcı Hastalıkların İhbarı ve Bildirim Sistemi, Standart Tanı, Sürveyans ve Laboratuvar Rehberi. Erişim: 06.01.2014, <http://www.shsm.gov.tr/public/documents/legislation/bhkp/asi/bhibs/BulHastBilSistStanSurveLabReh.pdf>
- Connolly-Andersen AM, Magnusson KE, Mirazimi A. (2007). Basolateral entry and release of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in polarized MDCK-1 cells. *J Virol*

- Chen ST, Lin YL, Huang MT, Wu MF, Cheng SC, Lei HY, et al. (2008). CLEC5A is critical for dengue-virus-induced lethal disease.
- Chen HC, Hofman FM, Kung JT, Lin YD, Wu-Hsieh BA. Both virus and tumor necrosis factor alpha are critical for endothelium damage in a mouse model of dengue virus-induced hemorrhage. *J Virol* 2007
- Cao, Y. (2009). Positive and Negative Modulation of Angiogenesis by VEGFR1 Ligands.
- Centers for Disease Control and Prevention Bioterrorism.(2005).from <http://www.bt.cdc.gov/Agent/Agentlist.asp>
- David WH, Heinz F. (2018). Recent advances in understanding Crimean–Congo hemorrhagic fever virus.
- Dinçer E, Brinkmann A, Hekimoğlu O, et al. (2017). Genel amplifikasyon ve yeni nesil diziliş Kırım-Kongo kanammasını ortaya koyuyor ateş virüsü AP92 benzeri suş ve farklı kene flebovirüsleri. *Anadolu, Türkiye*.
- Dosch D, Ballmer H. (2010). Transmembrane domain-mediated orientation of receptor monomers in active VEGFR-2 dimers.
- Douglas B. (1998). Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders.
- Enver S, Ahmet S. Guven, Elif B. Uysal, Köksal D, Esra G. (2015). Important of Angiopoietic System in Evaluation of Endothelial Damage in Children with Crimean–Congo Hemorrhagic Fever.
- Ergonul O. (2006). Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis* 2006;6(4):203–14.
- Ergonul O, Tuncbilek S, Baykam N, Celikbas A, Dokuzoguz B. (2006). Evaluation of serum levels of interleukin (IL)-6, IL-10, and tumor necrosis factor-alpha in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever.
- Elliott RM, Schmaljohn CS, Collett MS: Bunyaviridae genome structure and gene expression, *Curr Top Microbiol Immunol* 1991;169:91-141.

- Girolamo F, Coppola C, Ribatti D, Trojano M. (2014). Angiogenesis in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Acta Neuropathol Commun* 2:1
- Haj F, Verveer P, Squire A, Neel BG, Bastiaens PIH. (2002). Imaging Sites of Receptor Dephosphorylation by PTP1B on the Surface of the Endoplasmic Reticulum.
- Haller O, Kochs G, Weber F. (2006). The interferon response circuit: induction and suppression by pathogenic viruses.
- Hemachudha T, Griffin DE, Giffels JJ, et al. (1987). Myelin basic protein as an encephalitogen in encephalomyelitis and polyneuritis following rabies vaccination. *N Engl J Med*. 1987;316:369–374
- Hürrem B. (2004). T.C.Sağlık Bakanlığı, Basın Bilgi Notu, 2006, Türk Enfeksiyon Web Sitesi, 2006.
- Hürrem B , Eragül A, Pınar Ö, Yavuz Uyar , Bilkay B , Mustafa GG, Bircan ÜK. (2010). Evidence of vascular endothelial damage in Crimean-Congo hemorrhagic fever.
- Koch S, Tugues S, Li X, Gualandi L, Claesson-Welsh L. (2011). Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Biochem. J*. 2011, 437, 169–183.
- Laura T Mazzola, Cassandra Kelly-Cirino. (2018). Diagnostic tests for Crimean-Congo haemorrhagic fever: a widespread tickborne disease
- Lei HY, Yeh TM, Liu HS, Lin YS, Chen SH, Liu CC. (2001). Immunopathogenesis of dengue virus infection.
- Majidzadeh AK , Soleimani M ,Gheilanchi LA. (2011). Review on the Laboratory Diagnosis of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever
- Marko Zivcec, Florine E. M. Scholte, Christina F. (2016). Spiropoulou, Jessica R. Spengler and Éric Bergeron Molecular Insights into Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus.
- Megan S, Christopher R , Neal, Andrew HJ, Salmon, David O, Bates SJ. Harper and Sebastian O. (2017). VEGF-A165b protects against proteinuria in a mouse model with progressive depletion of all endogenous VEGF-A splice isoforms from the kidney.

- Mehrdokht M, Rezvan N, Jalal Gh, Arezou S, Alireza K, Mohammad Mahdi E, Mohsen H, Mehdi T, Mohammad T. (11 April 2017). The Importance of VEGF-KDR Signaling Pathway Genes should Not Be Ignored When the Risk of Developing Multiple Sclerosis is Taken into Consideration
- Midilli K, Gargili A, Ergonul O et al. (2007). Imported Crimean-Congo haemorrhagic fever cases in Istanbul, BMC Infect Dis 2007;7:54.
- Murat S, Ali K, Huseyin A, Enver S, Veysel KC, Gokhan B. (2017). Increased Levels of VEGF-A and HIF-1 α in Turkish Children with CrimeanCongo Hemorrhagic Fever. J Arthropod-Borne Dis, March 2017, 11(1): 19–26.
- Onder E. (2016). Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Tedavisi ve Ribavirin Kullanımı
- Onguru P, Akgul EO, Akinci E, Yaman H, Kurt YG, Erbay A, et al. (2008). High serum levels of neopterin in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever and its relation with mortality. J Infect 2008;56(5):366–70.
- Po-Chu L, Jui-Chung Ch, Chih-Yu Ch, Yin-Chieh Ch, Wei-Min Ch, Chin-Wei H, Wen-Chin W, Chia-I Ch, Po-Huang L, Chiung-Nien Ch, Hsinyu L. (2019). Calreticulin regulates vascular endothelial growth factor-A mRNA stability in gastric cancer cells
- Prakash V, Aleksander S, Popel and Feilim MG. (2013). Extracellular regulation of VEGF: isoforms, proteolysis, and vascular patterning.
- Randall RE, Goodbourn S.(2008). Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures.
- Ruch, C, Skiniotis G, Steinmetz M.O, Walz, T, Ballmer-Hofer K. (2007). Structure of a VEGF–VEGF receptor complex determined by electron microscopy.
- Sadler AJ, Williams BR. (2008). Interferon-inducible antiviral effectors. Nat Rev Immunol
- Saksida A, Duh D, Wraber B, Dedushaj I, Ahmeti S, Avsic-Zupanc T. (2010) . Interacting roles of immune mechanisms and viral load in the pathogenesis of Crimean-Congo hemorrhagic fever. Clin Vaccine Immunol 17:1086–1093.
- Schnittler HJ, Feldmann H.(2003). Viral hemorrhagic fever – a vascular disease? Thromb Haemost

Ek-2. Hasta Bilgilendirilmiş önnüllü Olur Formu (BGOF)

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmacının/Hekimin Açıklaması

Bölgemizde sık görülen ve genellikle kene ısırması ile bulaşan Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalığında herhangi bir genetik yatkınlık olup olmadığının araştırılması amacıyla bir bilimsel araştırma yapmayı planlamaktayız. Yapılması planlanan araştırmanın ismi "Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığında IL 1 ve IL 6 Gen Polimorfizminin Araştırılması" dir.

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığı tanısı konan ve klinik takibi yapılan hastalar üzerinde uygulanacak olan bu çalışmaya, tıbbi durumunuz bu koşullara uyduğu için sizi de davet ediyoruz. Ancak hemen belirtilmelidir ki araştırmaya katılıp katılmamak gönüllölük esasına dayalıdır. Bu bilimsel çalışmaya katılma kararını tamamen hür iradeniz ile vermelisiniz. Bu kararı verirken hiç kimse tarafından size telkin ve baskıda bulunulamaz.

Kararınızdan önce söz konusu bilimsel araştırma ve bu araştırmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda yapılacak işlemler hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra bu bilimsel araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bilimsel çalışma hakkında bilgiler

Araştırmaya davet edilmenizden nedeni, 18 yaş ve üzerinde, Kırım Kongo kanamalı Ateşi Hastalığı tanısı konmuş bir birey olmanızdır. Bu araştırma Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı işbirliği ile gerçekleştirilecektir.

Bu araştırmada araştırılacak olan Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) birçok organ ve sistemleri etkileyen, kanamalar ve karaciğer fonksiyon bozuklukları ile karakterize, ölüm oranı yüksek olan (%30-50) bir enfeksiyondur. Türkiye’de yapılan çalışmalarda takip edilen olgulardaki ölüm oranı % 2-12 arasındadır. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalığına neden olan virüs ile karşılaşmış bireylerde hastalık gelişme olasılığı yaklaşık %22’dir. Yani, enfekte olan her beş kişiden birinde hastalık gelişmektedir.

Klinik ani başlayan ateş ve genel enfeksiyon bulguları ile birlikte kanamalar şeklinde ortaya çıkar. Keneye temas, kene tutunması, hayvanla temas, kırsal kesimde yaşama veya son iki hafta içinde kırsal alana seyahat öyküsü gibi epidemiyolojik özelliklerin bulunması Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalığı tanısını kuvvetle düşündürse de kesin tanı mikrobiyolojik incelemelerle konulur. Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalığının nasıl gerçekleştiği, bazı vakaların ölümlü sonuçlanırken bazı vakaların neden daha hafif klinikle geçirdiği bilinmemektedir. Bu konuyla ilgili elde edilecek bilgiler Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalığı oluşmadan önce tedbir alınabilmesi ya da hastalığın tedavisinde daha başarılı olmak için yararlı olacaktır. Bu çalışmanın amacı Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalığının genetik yatkınlığının olup olmadığını araştırıp bu konuyla ilgili tedbir ve tedavide faydalı olabilecek yeni bilgilere ulaşmaktır.

Çalışma için sizden kan alınacak mı?*

Hayır.

Eğer araştırmayı kabul ederseniz sizden söz konusu çalışma için ilave kan alınmayacaktır. Bu çalışmaya davet edilmenizden nedeni tıbbi durumunuz nedeniyle sizden rutin tetkik işlemleri nedeniyle alınacak ya da alınmış olan kandan artan kalan miktar üzerinde söz konusu analizler gerçekleştirilecektir. Hiçbir şekilde sizden bilimsel çalışma için kan alınmayacaktır.

*Çalışma, kan üzerinde analiz gerektiren bir çalışma değil ise bu kısmı onam formundan çıkartınız

Gen polimorfizm çalışmaları için açıklama**

Tıbbi durumunuz nedeniyle yapılmasını önerdiğimiz gen polimorfizm analizi için sizden daha önceden alınmış olan ya da tıbbi durumunuz nedeniyle rutin poliklinik kontrollerinizde sizden alınacak olan kan numunelerinden artan miktar üzerinde analizler gerçekleştirilecektir. Bu analizler için sizden kesinlikle ilave, rutin dışı bir kan alma işlemi olmayacaktır. Yukarıda belirtildiği gibi rutin tetkik kapsamında alınmış ya da alınacak olan kan numunelerinden genetik materyaliniz izole edilecek ve bu materyal üzerinde söz konusu analizler yapılacaktır. Söz konusu genetik materyal uzun süreler için uygun koşullarda saklanabilir ve gelecekteki bilimsel çalışmalar için de kullanılabilir. İzole edilen genetik materyalinizin bu çalışma dışında gelecekteki bilimsel çalışmalar için de kullanılabilmesi tamamen sizin vereceğiniz onaya bağlıdır.

Çalışma kapsamında bilinmesi gereken durumlar ve araştırmacılar ile gönüllülerin uyması gereken kurallar

Araştırmaya katılmıyorsanız;

1. Sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir.
2. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme yapılmayacaktır.
3. Hekim ile aranızda kalması gereken size ait bilgilerin gizliliğine büyük özen ve saygı gösterilecektir.
4. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgileriniz çok büyük bir hassasiyetle korunacaktır.
5. Çalışma sırasında meydana gelebilecek sağlığınız ile ilgili ve diğer olumsuzlukların sorumluluğu araştırmacılara aittir.

Araştırmanın adı	:Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığında IL 1 ve IL 6 Gen Polimorfizminin
Araştırılması	
Araştırma sorumlusu	:Yrd.DSoc.Dr Umur S. Şay Coşkun
Tarih	:
İmza	:

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Araştırmacının/Hekimin Açıklaması

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi (KKKA) hastalığının prognozunda rolü olabileceği düşünülen aday 2 farklı polimorfizmin analizinin yapılması ve bu polimorfizmlerle ile KKKA hastalığının oluşumu arasındaki ilişkinin toplumumuzda tespit edebilmek amacıyla bir bilimsel araştırma yapmayı planlamaktayız. Yapılması planlan araştırmanın ismi “**Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığında IL 1 ve IL 6 Gen Polimorfizminin Araştırılması**”dır.

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi tanısı konan ve bu nedenle klinik takibi yapılan hastalar üzerinde uygulanacak olan bu çalışmaya, tıbbi durumunuz bu koşullara **Kontrol grubu** olarak uyduğu için sizi de davet ediyoruz. Ancak hemen belirtilmelidir ki araştırmaya katılıp katılmamak gönüllülük esasına dayalıdır. Bu bilimsel çalışmaya katılma kararını tamamen hür iradeniz ile vermelisiniz. Bu kararı verirken hiç kimse tarafından size telkin ve baskıda bulunulamaz.

Kararınızdan önce söz konusu bilimsel araştırma ve bu araştırmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda yapılacak işlemler hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra bu bilimsel araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bilimsel çalışma hakkında bilgiler

Araştırmaya davet edilmenizden nedeni, Kırım Kongo Kanamalı Ateşi tanısı konmamış ve Kontrol grubu için uygun bir birey olmanızdır. Bu araştırma Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı işbirliği ile gerçekleştirilecektir.

Bu araştırmada KKKA oluşumunda rolü olabileceği düşünülen 2 farklı gende toplam 3 farklı polimorfizm araştırılacaktır. Bu amaçla tasarlanan bu projede rutin tetkikler için vereceğiniz kanlardan DNA izolasyonu yapılacaktır. Elde edilen DNA’lardan IL1Ra ve IL-6 genlerinizdeki polimorfik genotipler belirlenecektir. KKKA tanısı almış bireylerin genotipleri belirlenecek ve bu genotipler, ile KKKA oluşumu arasında bir ilişki olup olmadığı saptanacaktır. Bu sonuçlar KKKA oluşumu ve tedavisinde izlenecek olan strateji ve yöntemlerin geliştirilmesine ışık tutacaktır.

Çalışma için sizden kan alınacak mı?*

Hayır.

Eğer araştırmayı kabul ederseniz sizden söz konusu çalışma için ilave kan alınmayacaktır. Bu çalışmaya davet edilmenize neden olan tıbbi durumunuz nedeniyle sizden rutin tetkik işlemleri nedeniyle alınacak ya da alınmış olan kandan artan kalan miktar üzerinde söz konusu analizler gerçekleştirilecektir. Hiçbir şekilde sizden bilimsel çalışma için kan alınmayacaktır.

***Çalışma, kan üzerinde analiz gerektiren bir çalışma değil ise bu kısmı onam formundan çıkartınız**

Gen polimorfizm çalışmaları için açıklama**

Tıbbi durumunuz nedeniyle yapılmasını önerdiğimiz gen polimorfizm analizi için sizden daha önceden alınmış olan ya da tıbbi durumunuz nedeniyle rutin poliklinik kontrollerinizde sizden alınacak olan kan numunelerinden artan miktar üzerinde analizler gerçekleştirilecektir. Bu analizler için sizden kesinlikle ilave, rutin dışı bir kan alma işlemi olmayacaktır. Yukarıda belirtildiği gibi rutin tetkik kapsamında alınmış ya da alınacak olan kan numunelerinden genetik materyaliniz izole edilecek ve bu materyal üzerinde söz konusu analizler yapılacaktır. Söz konusu genetik materyal uzun süreler için uygun koşullarda saklanabilir ve gelecekteki bilimsel çalışmalar için de kullanılabilir. İzole edilen genetik materyalinizin bu çalışma dışında gelecekteki bilimsel çalışmalar için de kullanılabilmesi tamamen sizin vereceğiniz onaya bağlıdır.

****Çalışma gen polimorfizm çalışması ise bu kısım onam formunda olmalıdır. Değilse bu bölümü çıkartınız**

Çalışma kapsamında bilinmesi gereken durumlar ve araştırmacılar ile gönüllülerin uyması gereken kurallar

1. Araştırmaya katılmanız durumunda;
1. Sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir.
2. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme yapılmayacaktır.
3. Hekim ile aranızda kalması gereken size ait bilgilerin gizliliğine büyük özen ve saygı gösterilecektir.
4. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgileriniz çok büyük bir hassasiyetle korunacaktır.
5. Çalışma sırasında meydana gelebilecek sağlığınız ile ilgili ve diğer olumsuzlukların sorumluluğu araştırmacılara aittir.
6. Gönüllü olarak katıldığınız çalışmanın herhangi bir aşamasında araştırmadan ayrılabilirsiniz. Ancak ayrılmadan önce araştırmacılara bu durumu bildirmeniz önemlidir.

Araştırmanın adı : Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığında IL 1 ve IL 6 Gen Polimorfizminin Araştırılması

Araştırma sorumlusu : Yrd.Doç. Dr. Umut Safiye Şay Coşkun

Tarih :

İmza :

7. Çalışmaya katılmayı kabul etmemeniz durumunda tedavinizde ve klinik izlemlerinizi hiçbir değişiklik olmayacak, her zaman olduğu gibi aynı özen ve ihtimam ile hastalığınızın tedavisi sürdürülecektir.

Katılımcının (Gönüllü) / Hastanın Beyanı

Sayın Dr. Umut Safiye Say Coşkun tarafından, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı işbirliği ile bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler tarafıma aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam, hekim ile aramda kalması gereken, bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı gösterileceği, araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı kesin ve net bir şekilde belirtilmiştir.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Benden herhangi bir ücret talep edilmeyeceği ve bana da herhangi bir ödeme yapılmayacağı net ve kesin bir şekilde ifade edilmiştir.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilme hakkına sahip olduğum bildirilmiştir. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını da bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun, araştırma sürecinde araştırma ile ilgili ortaya çıkabilecek sağlık durumuyla ilgili olumsuzluklarda sorumluluk araştırmacılara ait olup parasal bir yük altına girmeyeceğim.

Araştırma sırasında araştırma ile ilgili bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; günün herhangi bir saatinde Dr. Umut Safiye Say Coşkun' a 0505 5410856 numaralı telefonlardan ulaşarak danışabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı herhangi bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntısıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (gönüllü) olarak yer alma kararını tamamen hür iradem ile almış bulunuyorum. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllük içerisinde kabul ediyorum.

İzole edilen genetik materyalin gelecekteki bilimsel çalışmalarda da kullanılmasına onay ...

Katılımcı "....." kısmı "veriyorum" ya da "vermiyorum" şeklinde kendisi, vasisi veya görüşme tanığının el yazısı ile yazılması suretiyle yanıtlayacak ve yanına parafatılacaktır. Not: Çalışma gen polimorfizm çalışması değil ise bu kutuyu ve içindeki açıklamayı formu bastırmadan önce kaldırınız.

Tarih 23/2/18

Katılımcı (Gönüllü)

Adı, Soyadı

Adres

Telefon

İmza

Görüşme Tanığı

Adı, Soyadı

Adres

Telefon

İmza

Katılımcı (Gönüllü) ile Görüşen Araştırmacı

Adı, Soyadı, Ünvanı

Adres

Telefon

İmza

Araştırmanın adı : Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığında IL 1 ve IL 6 Gen Polimorfizminin Araştırılması

Araştırma sorumlusu : Yrd. Doç. Dr. Umut Safiye Say Coşkun

Tarih :

İmza :

ÖZGEÇMİŞ

Laleh BAHRIKAREHMI

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4105-5991>

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler :

Mutasyon ve mutajen etki mekanizmaları. 6th International Scientific Conference of Iranian Academicians Abroad in Turkey 2016.

Karadeniz,Akdeniz, Marmara ve Ege Bölgesinde Bulunan Farklı Lagunun Zooplanktonik Organizmalar Açısından İncelenmesi. 6th International Scientific Conference of Iranian Academicians Abroad in Turkey 2016.

4th International Scientific Conference of Iranian Academicians Abroad in Turkey 2014.

Ömu sağlık topluluğu ulusal genel cerrahi öğrenci kongresi

Posterler

Mutasyon ve mutajen etki mekanizmaları

Karadeniz,Akdeniz, Marmara ve Ege Bölgesinde Bulunan Farklı Lagunun Zooplanktonik Organizmalar Açısından İncelenmesi.

Yayınlar

Laleh BAHRIKAREHMI¹, Amirreza FALLAH, Serbülent YİĞİT, SARS-COV-2'NİN GELİŞİMİ., Black Sea Journal of Health Science, 01 Eylül 2020

L. BAHRIKAREHMI, S. YİĞİT Kırım-Kongo Kanamalı Ateşi Laboratuvar Tanı Yöntemlerine Genel Bakış, Black Sea Journal of Health Science, 2021

Esra DUMAN, Serkan YİLDİZ, Nilufer KURUC, Lale BAHİRİ, Mehmet KEMAL TUMER, Enos GENE VNTR POLYMORPHISMS ARE ASSOCIATED WITH ORAL CYST., 2021

Sertifikalar

Has Successfully Attended The ICB2012 Training Course Entitled: CRISPER-CAS9 Workshop

- An introduction of Crispr systems
- Different type of Crispr systems
- Application of Crisper-Cas9
- SgRNA design