

**HIV-1'E KARŞI DİRENÇ SAĞLAYAN
CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A
ALLELLERİNİN
TÜRK POPÜLASYONUNDAKİ DAĞILIMI
AYŞE BALCI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

T.C.
SİNOP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HIV-1'E KARŞI DİRENÇ SAĞLAYAN CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A
ALLELLERİNİN TÜRK POPÜLASYONUNDAKİ DAĞILIMI

AYŞE BALCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. İSMET BERBER

SİNOP - 2015

T.C.
SİNOP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma, jürimiz tarafından 19/10/2015 tarihinde yapılan sınav ile Biyoloji Anabilim dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. İsmet BERBER



Üye : Yrd. Doç. Dr. İbrahim Halil YILDIRIM



Üye : Yrd. Doç. Dr. Hülya SİPAHİ



ONAY:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

19/10/2015

Doç. Dr. Turgay KORKUT
Fen Bilimleri Enstitü Müdürü



HIV-1'E KARŞI DİRENÇ SAĞLAYAN CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A ALLELLERİNİN TÜRK POPÜLASYONUNDAKİ DAĞILIMI

ÖZET

İnsan immün yetmezlik virüsü HIV-1'in neden olduğu AIDS tüm dünyada hızla yayılmaya devam etmektedir. Yapılan tüm çalışmalara rağmen virüsü tamamen yok edecek bir tedavi bulunamamıştır. HIV-1 virüsü genetik yapısını değiştirme yeteneğine sahip olduğu için virüse karşı geliştirilen aşıların tamamı başarısız olmuştur. Bununla birlikte CCR5, CCR2 ve SDF1 genlerinde meydana gelen CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A genetik polimorfizmlerinin HIV enfeksiyonuna karşı koruyucu ve AIDS progresyonunu yavaşlatıcı bir etki sağladıkları gösterilmiştir.

Bu çalışmada, Sinop bölgesinden 205 sağlıklı gönüllü bireye ait kan örneklerinden tuzla çöktürme metodu ile elde edilen genomik DNA'lar PCR ve PCR-RFLP yöntemleriyle incelenmiştir. CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfizmlerinin allel frekansları hesaplanarak Türk popülasyonunun HIV/AIDS'e karşı genetik yatkınlığı değerlendirilmiştir. Popülasyonda bu genlerin allel sıklıkları CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A için sırasıyla %3.17, %17.80 ve %27.07 olarak bulunmuştur ve gözlenen genotip sıklıkları Hardy-Weinberg dengesiyle uyumludur. CCR5-Δ32 allel sıklığı Avrupa ülkeleriyle karşılaştırıldığında nispeten daha düşük olmakla birlikte Asya ve Afrika ülkelerindeki sıklıktan daha yüksektir. CCR2-64I ve SDF1-3'A allel sıklıkları farklı kıtalardaki birçok ülke ve etnik grupla paralellik göstermektedir. Araştırılan polimorfizmin allel sıklıkları komşu ülkeler Yunanistan, Girit, Kıbrıs Yunanlıları ve Bulgaristan ile benzerdir.

Tıp dünyası bireysel genetik yapıya göre teşhis ve tedavi yöntemleri uygulamalarına ağırlık vermeye başlamıştır. Genetik polimorfizmlerin araştırılması Türk popülasyonunda HIV-1 enfeksiyonuna karşı yüksek risk taşıyan bireylerin belirlenmesi ve HAART tedavisinin gelecekteki bireyselleşmesini etkileyebilme potansiyeli açısından önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Polimorfizm, HIV-1, CCR5-Δ32, CCR2-64I, SDF1-3'A

DISTRIBUTION OF THE HIV-1 RESISTANCE-CONFERRING ALLELES CCR5-Δ32, CCR2-64I, AND SDF1-3'A IN TURKISH POPULATION

ABSTRACT

AIDS caused by Human Immunodeficiency Virus-1 (HIV-1) has continued to spread rapidly throughout the world. Despite all conducted studies, no treatment that can eradicate the HIV virus completely has been found. All of the vaccines developed against the virus failed since the virus is capable of changing its genetic structure. Besides, it has been shown that CCR5-Δ32, CCR2-64I, and SDF1-3'A genetic polymorphisms occurring on CCR5, CCR2, and SDF1 genes in human respectively provide effects that confer resistance to HIV infection and decelerate the progression of AIDS.

In this study, genomic DNAs obtained from blood samples with salting-out method from 205 healthy volunteers of Sinop province were investigated by PCR and PCR-RFLP methods. The genetic liability of Turkish population was evaluated by calculating the allele frequencies of CCR5-Δ32, CCR2-64 and SDF1-3'A polymorphisms. Allele frequencies of these genes in the population were found as 3.17%, 17.80% and 27.07% respectively for CCR5-Δ32, CCR2-64I and SDF1-3'A and all the observed genotype frequencies were in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium. CCR5-Δ32 allele frequency is relatively lower compared to European countries but higher compared to Asian and African countries. CCR2-64I and SDF1-3'A allele frequencies coincide with many countries and ethnicities in different continents. Allele frequencies of three polymorphisms investigated are similar with neighbour countries Greece, Crete, Greek Cypriots, and Bulgaria.

The medical world has begun to focus on the diagnosis and treatment applications based on the individual genetic structure. Investigation of genetic polymorphisms is important in terms of identifying high-risk individuals for HIV-1 infection in Turkish population and potential of future individualization of HAART therapy.

Keywords: Polymorphism, HIV-1, CCR5-Δ32, CCR2-64I, SDF1-3'A

TEŞEKKÜR

Sinop Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam esnasında bana her türlü desteği veren değerli danışman hocam Biyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. İsmet BERBER'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın başlangıcından son noktasını koyana kadar; hem araştırma, hem laboratuvar hem de yazım aşamasında destek, tecrübe ve bilgi birikimiyle yardımını hiç esirgemeyen, bana bilimsel bir duruş ve bakış açısı kazandıran Uzm. Dr. Zeynep YEĞİN'e teşekkür ederim. Araştırmamız neticesinde elde ettiğimiz bulguları istatistiksel analizlerle bilimsel olarak anlamlı verilere dönüştüren Yrd. Doç. Dr. Haydar KOÇ'a tezime katkılarından dolayı teşekkür ederim; ayrıca araştırmamızın laboratuvar aşamasında ve çalışma grubu oluşturulmasında titizlikle çalışan ve yardımlarını esirgemeyen Kimyager Uğur ÇARLI'ya teşekkür ederim.

Bu çalışmaya mali destek veren Sinop Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi destek olan, beni her zaman eğitime teşvik eden aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SEMBOLLER ve KISALTMALAR LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER ve ÇİZELGELER LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. HIV Virüsünün Kökeni	2
2.2. HIV/AIDS Patogenezi	4
2.3. AIDS Komplikasyonları	5
2.4. HIV Virüsü ve Genetik Yapısı	6
2.4.1. HIV'in Yapısal Genleri	8
2.4.1.1. Gag (Grup Spesifik Antijen) Geni	8
2.4.1.2. Pol (Polimeraz) Geni	9
2.4.1.3. Env (Envelope: Zarf) Geni	9
2.4.1.4. LTR (Long Terminal Repeat)	9
2.4.2. HIV'in Regülatör Genleri	9
2.4.2.1. Tat (Transkripsiyon Transaktivatör) Geni	9
2.4.2.2. Rev (Viral Ekspresyon Regülatör) Gen	10
2.4.2.3. Nef (Negatif Regülatör) Gen	10
2.4.3. HIV Aksesuar Proteinlerini Kodlayan Genler	10
2.4.3.1. Vif (Viralİnfektivite Faktörü)	10
2.4.3.2. Vpr (Viral Protein R)	11
2.4.3.3. Vpu (Viral Protein U)	11
2.5. HIV-1 Virüsünün Replikasyon Döngüsü	11
2.6. Dünyada ve Türkiye'de HIV/AIDS	13
2.7. HIV/AIDS Tedavi Yaklaşımlarındaki Yetersizlikler	16
2.8. Genom Çapı İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS)	20
2.8.1. Popülasyon Genetiği ve Hardy-Weinberg Denge Prensibi	21

2.9. HIV/AIDS Enfeksiyonunu Etkileyebilen CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Polimorfizmleri	23
2.9.1. CCR5-Δ32 Polimorfizmi	25
2.9.2. CCR2-64I Polimorfizmi	26
2.9.3. SDF1-3'A Polimorfizmi	27
3. MATERYAL ve METOD	40
3.1. Katılımcı Profili ve Örneklerin Toplanması	40
3.2. Uygulanan Yöntemler	40
3.2.1. DNA İzolasyonu	40
3.2.2. DNA Miktar Tayini	42
3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi ve Örneklerin Görüntülenmesi	44
3.2.4. CCR5-Δ32 Genotiplendirilmesi	44
3.2.5. CCR2-64I Genotiplendirilmesi	47
3.2.6. SDF1-3'A Genotiplendirilmesi	50
3.2.7. İstatistiksel Değerlendirme	54
4. BULGULAR	55
4.1. Çalışma Grubuna Ait Verilerin Değerlendirilmesi	55
4.1.1. CCR5-Δ32 Polimorfizm Bulguları	56
4.1.2. CCR2-64I Polimorfizm Bulguları	57
4.1.3. SDF1-3'A Polimorfizm Bulguları	58
4.1.4. İkili Z Testi Değerleri	60
5. TARTIŞMA	64
5.1. Asya Kıtasında CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Polimorfizmleri	64
5.2. Afrika Kıtasında CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Polimorfizmleri	70
5.3. Amerika Kıtasında CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Polimorfizmleri	71
5.4. Avrupa Kıtasında CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Polimorfizmleri	
5.5. Türkiye'de CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Polimorfizmleri	78
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	81
6.1. Gen Varyantlarının Araştırılmasının Gelecekteki Klinik Önemi	81
7. KAYNAKÇA	83

8. EKLER	96
EK-1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	96
EK-2. Kullanılan Cihazlar ve Teknik Malzemeler	97
EK-3. Kullanılan Solüsyonlar ve Hazırlanışı	98
EK-4. OMÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onayı	102
EK-5. Bilgi Formu	103
EK-6. Gönüllü Olur Formu	104
9. ÖZGEÇMİŞ	107

SEMBOLLER ve KISALTMALAR LİSTESİ

SEMBOLLER

bç	Baz çifti
CaCl ₂	Kalsiyum Klorür
°C	Santigrat derece
Δ	Delta
dk	Dakika
EtBr	Etidyum Bromid
g	Gram
HCl	Hidrojen Klorür
L	Litre
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
mg	Miligram
mM	Milimolar
μl	Mikrolitre
μM	Mikromolar
M	Molar
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
rpm	Rotation per minute
s	Saniye
U	Ünite
sa	Saat

KISALTMALAR

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome (Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu)
ART	Anti Retroviral Tedavi
ATI	Anti Retroviral Treatment Interruption (Anti Retroviral Tedavi Arası)
AZT	Zidovudin
CA	Kapsid
cART	Combined Anti-Retroviral Therapy (Kombine Anti-Retroviral Tedavi)
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi)
CRF	Circulating Recombinant Factor (Dolaşan Rekombinant Formlar)
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksinükleotit Trifosfat
E	Expected (Beklenen)
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
Env	Envelope (Zarf)
F	Forward primer
Gag	Grup Spesifik Antijen
HAART	Highly Active Anti-Retroviral Therapy (Yüksek Derecede Aktif Anti Retroviral Tedavi)
HIV	Human Immunodeficiency Virus (İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü)
HSCT	Hematopoietic Stem Cell Transplantation (Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu)
IN	İntegraz
INI	İntegraz İnhibitörleri
LTR	Long Terminal Repeat
MA	Matriks
NC	Nükleokapsid
Nef	Negatif Regülatör Gen
O	Observed (Gözlenen)
OD	Okuma Değeri
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PR	Proteaz

POL	Polimeraz
R	Reverse primer
Rev	Viral Ekspresyon Regulator Gen
RRE	Rev Responsive Element (Rev Sorumlu Element)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi)
RM	<i>Rhesus macaques</i>
RNA	Ribonukleik Asit
RT	Revers Transkriptaz
SFV	Simian Foamy Virus
SIV	Simian Immunodeficiency Virus
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nukleotid Polimorfizmi)
SU	Surface
TAT	Transkripsiyon Transaktivator Gen
TAR	Tat Responsive Region (Tat Duyarlı Bölge)
TBE	Tris, Borik Asit, EDTA
TE	Tris, EDTA
TM	Transmembran
URF	Unique Recombinant Factor (Özgün Rekombinant Formlar)
Vif	Viral İnfektivite Geni
Vpr	Viral Protein R'yi Kodlayan Gen
Vpu	Viral Protein U'yu Kodlayan Gen
Vpx	Viral Protein X'i Kodlayan Gen
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
wt	wild-type

ŞEKİLLER ve ÇİZELGELER LİSTESİ

ŞEKİLLER

		Sayfa no
Şekil 2.1.	HIV-1 virüsünün yapısal komponentleri	7
Şekil 2.2.	HIV-1'in genomik yapısı	8
Şekil 2.3.	HIV-1 virüsünün replikasyon döngüsü	12
Şekil 2.4.	HIV saati	16
Şekil 2.5.	HIV-1'in hedef hücreye girişi	24
Şekil 2.6.	HIV-1'in makrofaj ve T-hücreye girişi	24
Şekil 2.7.	CCR5 kemokin reseptörü	25
Şekil 3.1.	CCR5 geni delesyon bölgesini amplifiye etmede kullanılan primerlerin forward ve revers bağlanma bölgeleri ile delesyon bölgesinin nükleotit dizisi	47
Şekil 3.2.	CCR2 geninin amplifikasyonunda kullanılan primerlerin forward ve revers bağlanma bölgeleri ile SNP bölgesi	50
Şekil 3.3.	SDF1 geninin amplifikasyonunda kullanılan primerlerin forward ve revers bağlanma bölgeleri ile SNP bölgesi	53
Şekil 4.1.	CCR5-Δ32 polimorfizminin jel görüntüsü	57
Şekil 4.2.	CCR2-64I polimorfizminin jel görüntüsü	58
Şekil 4.3.	SDF1-3'A polimorfizminin jel görüntüsü	59

ÇİZELGELER

	Sayfa no
Çizelge 2.1. T.C. Sağlık Bakanlığı AIDS vaka ve taşıyıcılarının yıllara göre dağılımı	15
Çizelge 2.2. Dünyanın çeşitli populasyonlarında HIV/AIDS koruyucu allellerinin sıklıkları	29
Çizelge 3.1. Araştırılan genlerin özellikleri	43
Çizelge 3.2. CCR5 geni genotiplemesinde kullanılan primerler	45
Çizelge 3.3. CCR5 geni PCR işleminde bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı	45
Çizelge 3.4. CCR5-Δ32 PCR koşulları	46
Çizelge 3.5. PCR sonucu elde edilen fragment uzunlukları	46
Çizelge 3.6. CCR2 geni genotiplemesinde kullanılan primerler	48
Çizelge 3.7. CCR2 geni PCR işleminde bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı	48
Çizelge 3.8. CCR2-64I PCR koşulları	48
Çizelge 3.9. CCR2 geni RFLP reaksiyonunda bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı	49
Çizelge 3.10. CCR2 geninde PCR-RFLP sonucu elde edilen fragment uzunlukları	49
Çizelge 3.11. SDF1 geni genotiplemesinde kullanılan primerler	51
Çizelge 3.12. SDF1 geni PCR işleminde bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı	51
Çizelge 3.13. SDF1-3'A PCR koşulları	51
Çizelge 3.14. SDF1-3'A RFLP işleminde bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı	52
Çizelge 3.15. SDF1-3'A PCR-RFLP sonucu elde edilen fragment uzunlukları	52
Çizelge 4.1. Çalışma grubunun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu gösteren veriler	56
Çizelge 4.2. CCR5-Δ32 polimorfizmi genotip ve allel frekansları	57
Çizelge 4.3. CCR2-64I polimorfizmi genotip ve allel frekansları	58
Çizelge 4.4. SDF1-3'A polimorfizmi genotip ve allel frekansları	59

Çizelge 4.5.	CCR5-Δ32 allel frekansı açısından farklılık ve benzerlikleri gösteren p değerleri	61
Çizelge 4.6.	CCR5-Δ32 allel frekansı açısından farklılık ve benzerlikleri gösteren p değerleri	62
Çizelge 4.7.	CCR5-Δ32 allel frekansı açısından farklılık ve benzerlikleri gösteren p değerleri	63

1. GİRİŞ

Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar tüm dünyada giderek artmaktadır. Bunların başında ise HIV/AIDS gelmektedir (Akın, 2006). Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu olarak adlandırılan AIDS'e (Acquired Immune Deficiency Syndrome) insan immün yetmezlik virüsleri HIV-1 ve HIV-2 (Human Immunodeficiency Virus 1 ve 2) neden olmaktadır (Sharp ve Hahn, 2011).

HIV-1 virüsünün izole edilmesinden bu yana bazı temel konuları daha iyi anlamak için özel çaba sarfedilmiştir. Bu nedenle HIV transmisyonu ile ilişkili yüksek riske sahip davranışların sıklığı, düzeyi, insanların tutumları ve ölçülebilen veriler önem teşkil etmektedir. Bu araştırmalar HIV'i önlemek için hedefler, sınırlar ve ihtiyaçların belirlenmesi gibi konularda yüksek derecede riske sahip popülasyonları tanımlamak adına önemli bilgi sağlamaktadır (Ugarte ve ark., 2013). Bu bağlamda yapılan araştırmalarla kemokin reseptör proteinleri ve onların ligandlarını kodlayan genlerde meydana gelen polimorfizimlerden özellikle CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A'nın HIV-1'e karşı koruyucu ve AIDS gelişiminde ertelenmeyle ilişkili olduğu öne süren çalışmalar yapılmıştır (Vieira ve ark., 2011; Khabour ve ark., 2013).

HIV'in izole edilmesinin ardından farklı etki mekanizmalarına sahip antiretroviral ilaçlar geliştirilmeye başlanmıştır. Yedi farklı ilaç grubundan oluşan Highly Active Anti-Retroviral Therapy (HAART) HIV'e karşı standart tedaviyi oluşturmaktadır (Sulukan ve ark., 2009). Bu ilaçlar HIV'in moleküler yapısı ile ilgili sürdürülen çalışmalar sonucunda geliştirilmiştir (Lever, 2009).

HIV/AIDS enfeksiyonunun yayılmasına kaynak oluşturabilecek kişi ve ortamların belirlenmesi, enfeksiyonun yayılma eğilimi ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi gibi amaçlarla birçok ülkede çeşitli araştırma ve geliştirme faaliyetleri yürütülmektedir (Akın, 2006). Virüsün evrimi, transmisyonu ve patogenezi anlamak AIDS'li hastalar için hayati bilgiler sağlayacaktır. Etkili bir HIV aşısı geliştirmek için anahtar olabilecek araştırma alanlarına ihtiyaç duyulmaktadır (Woodman ve Williams, 2009).

Elde ettiğimiz sonuçlarla farklı ülke ve etnik gruplara ait allel frekanslarını karşılaştırarak Türk popülasyonunun HIV/AIDS'e karşı koruma ve direnç sağladığı düşünülen CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfizm oranını belirleyip, gelecekte yapılacak olan farmakogenomik çalışmalara katkı sağlamak amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. HIV Virüsünün Kökeni

Çeşitli bilimsel çalışmalarla AIDS pandemisine neden olan koşullar, virüslerin evrimi ve kökenleri anlaşılmaya çalışılmıştır. Doğal yollarla Afrika primatlarını enfekte eden Simian immün yetmezlik virüslerinin (SIV: Simian Immunodeficiency Virus) türler arası çoklu transmisyonunun sonucunda HIV-1 ve HIV-2 enfeksiyonları meydana gelmiştir (Sharp ve Hahn, 2011).

HIV-1, Batı-Orta Afrika'daki şempanzeleri (*Pan troglodytes*) enfekte eden SIV virüsü olan SIVcpz'den köken almaktadır (Gao ve ark., 1999). SIV'ler doğal konakçısı oldukları türlere göre isimlendirilmektedirler. Örneğin SIVrcm virüsü kırmızı pelerinli mangabey (red capped mangabey) cinsi maymunun ilk harfleri kullanılarak adlandırılmıştır. SIVcpz'nin doğal konağı şempanzeler (chimpanzees) olduğu için cpz ekini almıştır. SIV'lerin türler arası transmisyonu oldukça karmaşık bir olaydır ve uzak SIV kökenleri arasında gerçekleşen rekombinasyonlar farklı SIV suşlarının oluşumuyla sonuçlanmıştır (Özkaya, 2006). Şempanzelerdeki SIVcpz genomunun 5' bölgesi kırmızı pelerinli mangabey maymunundaki SIVrcm ile benzer yapıya sahipken 3'bölgesi büyük benekli-burunlu (*C. nictitans*), bıyıklı (*C. cephus*) ve mona (*C. mona*) maymunlarını enfekte eden SIVgsn/mus/mon kökenleriyle yakından ilişkilidir. Simian köpüklü virüsünün de (SFV: Simian Foamy Virus) birkaç vakada insan olmayan primatlardan insanlara bulaştığı görülmüştür. SFV'nin sporadik yayılımında insandan insana bulaştığı konusunda ise henüz rapor edilen bir bilgi bulunmamaktadır (Peeters ve ark., 2014).

HIV ve SIV'lerin keşfinden bu yana insan olmayan primat türleri, HIV/AIDS'in patogenezi, aşı denemeleri ve tedavi edici müdahale çalışmalarında kullanılmışlardır. İlk kez 1989 yılında denenen bir HIV aşısında *Rhesus macaques* (RM) maymunundan izole edilen SIV virüsü kullanılmıştır. İnsan ve Simian AIDS'i arasındaki uyumsuzluklar, HIV araştırmalarında Hint RM'lerinin belirli dezavantajlarını ortaya koymaktadır. Hint RM'leri gibi aynı türe ait olan Çin RM'leri de HIV-SIV araştırmalarında kullanılmaktadırlar (Zhou ve ark., 2013).

SIV'lerin oldukça karmaşık olan evrimsel tarihine rağmen insan olmayan primat türlerinin her biri monofiletik kökene sahip olan türe özgü SIV'ler ile enfekte olmuşlardır. HIV-1'in en yakın SIV akrabaları şempanzelerdeki SIVcpz ve gorillerdeki

SIVgor'dur. HIV-2'in en yakın akrabaları ise kurumlu mangabeyleri enfekte eden SIV'lerdir (Peeters ve ark., 2014).

AIDS ilk kez 1981 yılında Amerika'daki Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nde (CDC: Centers for Disease Control and Prevention) tedavi gören otuz bir homoseksüel erkekte *Pneumocystis carini* (*Pneumocystis jiroveci*) enfeksiyonu ile tespit edilmiştir. Hastalığın etkeni olan HIV virüsü ise 1983 yılında Fransa Pasteur Enstitüsünden Luc Montaignier ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir (Gallo ve Montaignier, 2003). 1985 yılında ilk antiretroviral ilaç olan zidovudin tedavi amaçlı kullanılmaya başlanmıştır (Gallo ve Montaignier, 2003; Clay ve ark., 2006).

Dünya çapındaki HIV enfeksiyonlarının etkeni ağırlıklı olarak HIV-1 virüsüdür. HIV-1 virüsü M, N, O ve P olmak üzere dört alt tipe ayrılır. P grubu 2009 yılında tanımlanan en yeni gruptur ve sadece iki hastada tespit edilmiştir. HIV pandemilerinin çoğuna sebep olan M alt tipi kendi içinde A, B, C, D, F, G, H, J ve K olmak üzere 9 alt tipe; A ve F ise A1-A5 ve F1, F2 olmak üzere kendi alt tiplerine ayrılmaktadır. Diğer HIV-1 tipleri daha az yayılım göstermektedir ve çoğunlukla Kamerun bölgesiyle sınırlı kalmışlardır (Peeters ve ark., 2014).

HIV-2'nin A ve B alt tipleri A1, A2 ve B1, B2 olmak üzere 4 alt tipe ayrılmaktadır. Ayrıca alt tipler arasında gerçekleşen rekombinasyonlar sonucu iki rekombinant form oluşmuştur. Bunlar dolaşan rekombinant formlar (Circulating Recombinant Form: CRF) ve özgün rekombinant formlardır (Unique Recombinant Form: URF). Tam genom dizisi yapılmış olan rekombinant formlardan, birbiri ile ilişkisi olmayan üçten fazla bireyde tespit edilenler CRF; üç ya da daha az bireyde tespit edilenler ise URF olarak isimlendirilmektedir (Hemelear ve ark., 2011). Şimdiye kadar 49 CRF ve 30'a yakın URF tanımlanmış olmakla birlikte sayıları artış göstermektedir. Daha önce HIV-1'in alt tipi olarak adlandırılan E ve I grupları artık CRF olarak kabul edilmektedir (Sayan ve ark., 2013). HIV virüsünün kendine özgü yüksek mutasyon özelliğinden dolayı bu alt tiplerin birbirleriyle rekombinasyonlar oluşturması sonucunda CRF'ler ortaya çıkmıştır. (Visawapoka ve ark., 2006; Woodman ve Williams, 2009).

HIV-1 ve HIV-2 türleri nispeten farklıdır ve nükleik asit dizilerinin sadece %40'ı homologtur. SIV'lerin hiçbiri kendi doğal primat konaklarında immün yetmezliğe sebep olmazken HIV-1 ve HIV-2 insanlarda patojendir. Her iki virüs de insanlarda AIDS'e neden olmasına rağmen HIV-2 daha az virülansa sahiptir ve dünyadaki yaygınlığı daha azdır. Dünyadaki AIDS vakalarının %98'i HIV-1 kaynaklıdır (Lever, 2009).

Günümüz bilim dünyasında geçerli olan görüş; farklı yollarla insanlara bulaşan SIV suşlarının zamanla değişime uğrayarak insanlarda ağır immün yetmezliğe neden olan HIV virüslerine dönüştüğüdür. HIV virüsünün çok hızlı replike olmasını sağlayan revers transkriptaz enziminin mevcudiyeti önemlidir. Revers transkriptaz enziminin replikasyon esnasında oluşabilecek hataları düzeltme kabiliyetine sahip olmaması virüsün hızlı bir şekilde mutasyona uğramasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda bağışıklık sisteminden sürekli kaçabilen, ilaçlara hızlı bir şekilde direnç geliştirebilen suşların devamlı olarak gelişmesi söz konusu olmaktadır (Badur, 2006).

Genetik değişiklikler neticesinde maymunlardan maymunlara ve insanlara bulaşan SIV'ler nedeniyle gelecekteki zoonotik riskleri ölçmek ve başarılı konakçı değişimlerinin gereksinimlerini incelemek için yeni bir çalışma alanı gerekmektedir (Sharp ve Hahn, 2011).

2.2. HIV/AIDS Patogenezi

HIV-1 cinsel temas, intravenöz enjeksiyon ve perinatal yolla yayılan bir virüstür (Sharp ve Hahn, 2011). HIV genel olarak kan, meni, anne sütü, vaginal ve anal sekresyonlar ile bulaşır ancak, bu sıvıların enfekte olmamış kişiye temasıyla virüs bulaşmaz çünkü sağlıklı deri bunun için doğal bir bariyer teşkil etmektedir. Sağlıklı bireyin derisindeki kesi, yara ya da genital bölge, anüs ve rektum mukoza dokularının membranları vasıtasıyla HIV virüsü bulaşmaktadır. Diğer vücut sıvılarından olan tükürük, ter, gözyaşı ve idrarda virüs yoğunluğu çok düşük konsantrasyonlarda olduğu veya hiç bulunmadığı için bu yollarla HIV virüsü bulaşma riski yoktur (Sulukan ve ark., 2009).

Cinsel yolla ve parenteral yolla bulaştığı gibi enfekte annenin gebeliği esnasında perinatal yolla ve emzirme yoluyla bebeğe de bulaşabilmektedir (Özbal, 2007). HIV(+) bir anne bebeği doğurmakta kararlı ise gebeliğin son trimesterında anneye, doğumdan sonra ise bebeğe antiretroviral tedavi başlanmalıdır. Vajinal doğumda, bebeğin doğum kanallarından geçişi esnasında virüsün bulaşma olasılığı daha fazla olduğu için HIV(+) annelerde sezeryan ile doğum tercih edilmektedir. HIV(+) annenin sütünden bebeğe virüs geçişi kanıtlandığı için anne sütü verilememektedir (Babayiğit ve Bakır, 2004).

Yapılan araştırmalara göre şankroid, klamidya, gonore, sifiliz ve trikomonas enfeksiyonlarının varlığı HIV geçiş riskini 29 kat arttırmaktadır. Kan ve kan ürünleriyle transmisyonu önlemek amacıyla 1985 yılında geliştirilen antikor testlerinin, kan

örneklerine uygulanarak virüs taşımayan kan ve kan ürünlerinin hastalara verilmesi kararı alınmıştır. Ülkemizde ise 1987 yılında hastalara verilecek kan ve kan ürünlerine antikor testi uygulanması mecburiyeti getirilmiştir (Babayiğit ve Bakır, 2004).

Kandaki ölçülebilen genom miktarı "viral yük" olarak isimlendirilmektedir. Enfekte olmuş bir bireyde tahminen günde 10^{10} virüs üretilmekte ve enfeksiyon sırasında virüs nedeniyle 10^8 lenfosit yıkıma uğramaktadır. Enfeksiyonun asemptomatik fazında ise bu hücreler yeniden üretilmektedir. Lenfosit aracılığıyla gerçekleşen aktivasyon azalması patojenik HIV ve patojen olmayan SIV enfeksiyonlarının önemli ayırtedici özelliklerinden birisidir (Lever, 2009; Sulukan ve ark., 2009).

HIV enfeksiyonu sonucunda hücresel ve humoral bağışıklıkta önemli değişiklikler gözlenir. T ve B lenfosit yapıları büyük oranda değişikliğe uğrar. B lenfositlerin değişimi, antikor salgılanmasında ve lenfoma oranlarında artışla karakterizedir. Merkezi sinir sisteminde miyelin kılıfların solgunluğu, astrosit proliferasyonu ve çok çekirdekli sinsityum hücrelerinin oluşması önemli değişikliklerdir. HIV merkezi sinir sisteminde en çok mikroglia ve beyin makrofajlarını etkilemektedir (Şevik, 2013).

Akut dönemde hızla artan virüs sayısında daha sonra ani bir düşüş yaşanmaktadır. Bunun nedeni CD8(+)T hücrelerinin virüse karşı savunmaya geçmesidir. CD8(+)T hücreler, enfekte hücreleri lizise uğratarak virüs sayısını azaltmaktadırlar. Ayrıca salgıladıkları kemokin miktarını arttırıp virüsün konak hücreye girmek için bağlanacağı kemokin reseptörlerini bloke ederek virüs replikasyonunu engellemektedirler. Ancak bu savunma mekanizması bir süre sonra zayıflayarak yetersiz kalır ve enfeksiyon kronik özellik kazanır. Çünkü CD8(+)T lenfositlerin aktivasyonunu sağlayan CD4(+)T lenfositlerinin içinde replike olarak çoğalan HIV virüsleri bu hücrelerin aktivasyonunu bozarak sitokin salgılamalarının önüne geçer. Böylece CD8(+)T hücreleri, CD4(+)T hücrelerinin sitokin aktivasyonunun azalmasına bağlı olarak hem sayısal hem de işlevsel olarak güç kaybederler (Spira ve ark., 2003; Badur, 2007).

2.3. AIDS Komplikasyonları

HIV enfeksiyonuna bağlı olarak meydana gelen ikincil bir bağışıklık eksikliği sendromu olan AIDS fırsatçı enfeksiyonlar, malignite, nörolojik işlev bozukluğu gibi semptomlarla ortaya çıkmaktadır. Bu hastalarda kanser geliştirme olasılığı yüksektir,

beraberinde sıklıkla kaposi sarkomu ve non-hodgin lenfoma görülmektedir (Kaya ve ark., 2010). HIV virüsü vücuda girdiğinde ilk olarak submukozal tabakalarda bulunan dendritik kökenli hücreleri ve makrofajları enfekte etmektedir. Buradan lenf nodları aracılığı ile taşınır, replike olur ve yayılır (Lever, 2009; Sulukan ve ark., 2009).

HIV ile enfekte olan pek çok kişide başlangıçta herhangi bir belirti görülmemektedir. Bazılarında ise ateş, yorgunluk, baş ağrısı ve yorgunluk gibi genel gribal enfeksiyon benzeri belirtiler gözlemlenmektedir. Bu belirtiler kısa süre içerisinde kaybolmaktadır. Bu süre zarfında HIV virionları genital sıvıda hızla çoğalır ve taşıyıcı olan bireyin virüsü bulaştırma potansiyeli oldukça yüksektir (Badur, 2007). Bağışıklık sisteminin çökmesi sonucunda gelişen aşırı yorgunluk hali, kısa sürede oluşan nedensiz kilo kaybı, açıklanamayan yüksek ateş, gece terlemesi, özellikle boyunda ve koltuk altında bulunan lenf bezlerinin şişmesi, ağız içi lezyonlar ve mantar enfeksiyonları, devam eden uzun süreli ishal, solunum yolu enfeksiyonlarıyla birlikte gelişen öksürük, nefes darlığı ve deride oluşan çok katlı leke ve şişlikler AIDS'in ileri döneminde fırsatçı enfeksiyonlar sonucu oluşan patojenik durumlardır (Babayiğit ve Bakır, 2004; Sulukan ve ark., 2009).

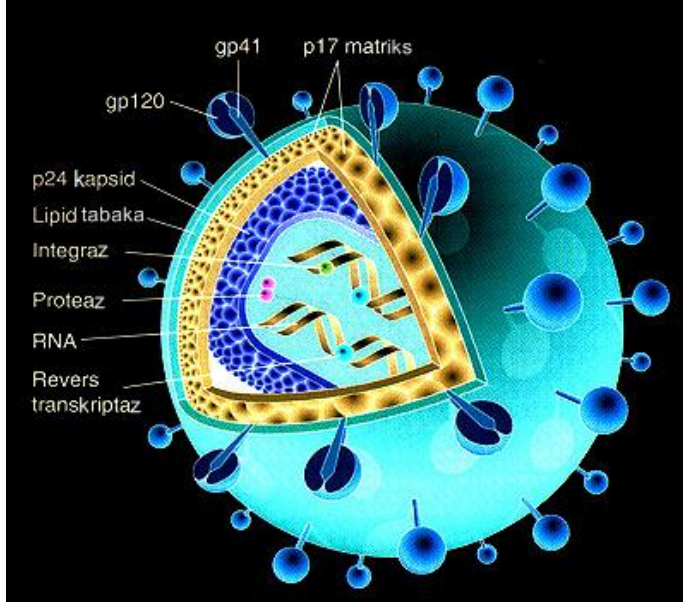
2.4. HIV-1 Virüsü ve Genetik Yapısı

HIV-1 insanlarda kazanılmış immün yetmezlik sendromu etkeni olan virüstdür (Nunzio ve ark., 2012). HIV-1, Retroviridae ailesinin Orthoretrovirinae alt familyasının Lentivirüs üyesidir. Dünya genelinde AIDS'in major etkenidir. Lenti yavaş anlamına gelmektedir. Virüsün bulaşması ile semptomların ortaya çıkışı arasında uzun zaman farkı olmasından dolayı bu isim verilmiştir (Sulukan ve ark., 2009). Yakın zamana kadar Lentivirüsler modern virüsler kategorisinde kabul görmekle beraber moleküler saat temelli uygulamalar bazı alt grupların yüzlerce ya da binlerce yıl öncesinden köken aldığını yansıtmaktadır (Gifford, 2012).

HIV-1, 100-120 nm çapında küresel diploit bir RNA virüsüdür. Viral kapsidin etrafı lipitten oluşan bir zarf ile çevrelenmektedir. Kapsidin içinde revers transkriptaz (RT) enzimi bulunmaktadır. Zarf yüzeyinde 72 adet glikoproteinden oluşan peplomer çıkıntı mevcuttur (Özbal, 2007). Bu yapılar HIV'in konak hücreye penetrasyonunu sağlamakta ve env (envelope) geni tarafından kodlanmaktadır. Peplomer çıkıntı gövde ve başlık kısımlarına sahiptir ve her bir gövde kısmı 3 adet gp41 adı verilen

transmembran glikoproteininden, her bir başlık kısmı ise 3 adet gp120 adı verilen yüzey glikoproteininden oluşmaktadır (Sulukan ve ark., 2009).

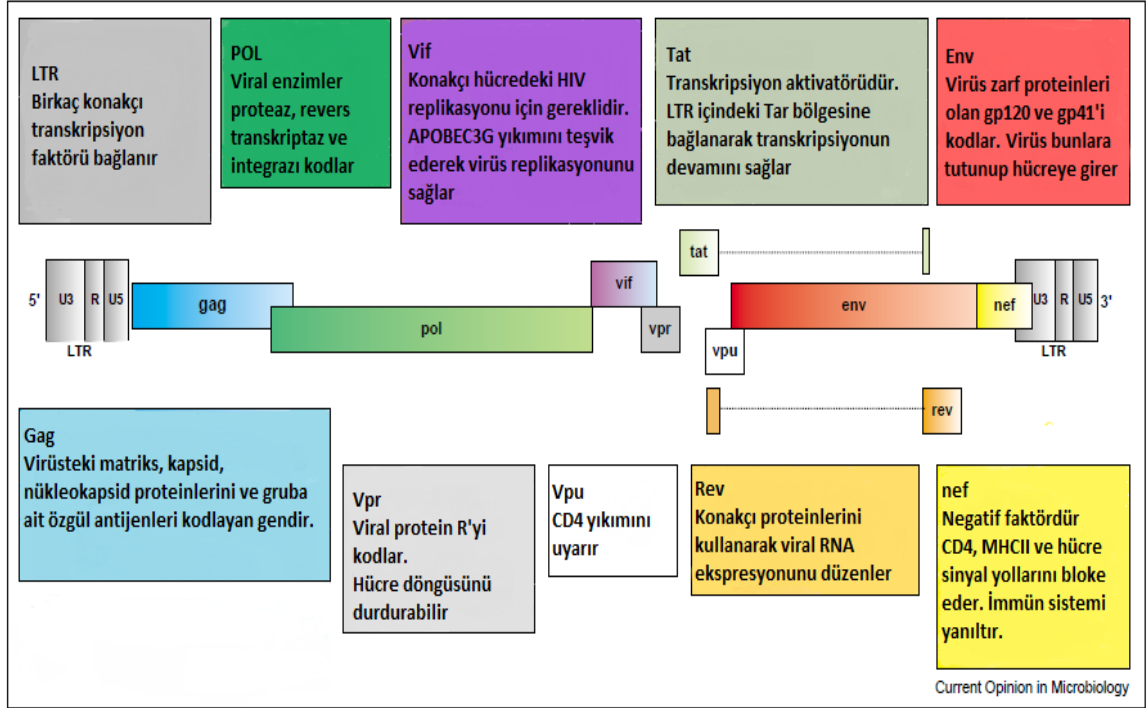
HIV-1 virüsünün yapısal komponentleri Şekil 2.1.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. HIV-1 virüsünün yapısal komponentleri (Anonim, 2015a)

Her bir virüs bir çift kopya RNA'ya sahiptir. Retrovirüsler sahip oldukları revers transkriptaz enzimi ile olağan gen bilgi akışını tersine işletebilme kabiliyetine sahiptirler, yani RNA'dan çift zincirli DNA sentezleyebilirler. Virüs genomu konak hücrenin genomuna entegre olduktan sonra provirüs adını alır. HIV virüsü tüm retrovirüslerde karakteristik olan üç adet açık okuma bölgesine sahiptir. Bunlar gag (grup spesifik antijen), pol (polimeraz) ve env genleridir. Bunlara ilave olarak en az altı tane aksesuar ve düzenleyici gen mevcuttur (Lever, 2009; Sulukan ve ark., 2009). Dört gag proteini matriks (MA), kapsid (CA), nükleokapsid (NC) ve P6, virion korunum yapısal komponentlerini oluştururken, iki env proteini gp120 ve gp41 zarf dış membran komponentlerini oluşturmaktadır. Üç pol proteini proteaz (PR), RT ve integras (IN) temel enzimatik fonksiyonları yerine getirmektedir. Vif, Vpr ve Nef olarak adlandırılan aksesuar genleri ise viral partikülde bulunurlar ve diğer proteinleri kodlarlar. Diğer iki protein Tat ve Rev temel gen düzenleyici fonksiyonları sağlamaktadırlar. Son protein olan Vpu dolaylı olarak virion oluşumuna katkı sağlamaktadır. Retroviral genom yaklaşık olarak 9 kb'lık bir RNA tarafından kodlanır ve iki genomik RNA molekülü partikül içinde paketlenmektedir (Frankel ve Young, 1998; Lever, 2009;).

HIV-1 genleri ile kodladıkları proteinlerin fonksiyonları ve konakçı faktörlerle etkileşimleri Şekil 2.2.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.2. HIV-1'in genomik yapısı (Trkola, 2004)

2.4.1. HIV'in Yapısal Genleri

2.4.1.1. Gag (Grup Spesifik Antijen) Geni

Viriondaki matriks, kapsid, nükleokapsid proteinlerini ve gruba ait özgül antijenleri kodlayan genlerdir. Gag geni viral proteazlar tarafından bölünen bir protein prekürsörü olan Pr55'e transle olur. Pr55 tomurcuklanmış virüsün içine dahil olur ve bölünme meydana gelir. Daha sonraki aşamada transmembran proteinlerinin sabitlenmesi için gerekli olan ve virüs zarfının iç kısmını kaplayan p17 matriks proteini ortama salınır. Gag geninin ayrılmış diğer ürünlerinden biri olan p24 kapsid proteini kapsid yapısının ana bileşenlerindendir. Kan testlerinde p24 antijeni kullanılmaktadır. p9 nükleokapsid proteini virüs genomu olan RNA'yı kuşatır, revers transkripsiyonun düzenlenmesi gibi önemli görevleri vardır. Diğer bir protein ise p6'dır. P6 endozom

proteinleriyle etkileşime geçerek virüsün tomurcuklanmasını sağlamakla birlikte Vpr proteinine bağlanmaktadır (Freed, 2004; Özbal, 2007; Lever, 2009).

2.4.1.2. Pol (Polimeraz) Geni

Proteaz, revers transkriptaz ve integrası kodlayan gendir. Gag geninin çerçeve kaydırma sonucu uzaması ile transkribe olmaktadır. Gag-pol füzyon proteini olan pr160'ı kodlamaktadır. pr160 virüs partikülü ile birleştikten sonra virüsün enzimatik bileşenlerini oluşturmak için bölünmektedir (Frankel ve Youngs, 1998; Lever, 2009).

2.4.1.3. Env (Envelope: Zarf) Geni

Viral zarf glikoproteinlerini kodlamaktadır. Env geni, öncü bir glikoprotein olan gp160'ı kodlamaktadır. gp160 ise hücrel proteazlar tarafından bölünerek transmembran proteini (TM) gp41'i ve dış yüzeydeki bir protein olan surface (SU) gp120'yi oluşturmaktadır. Bu glikoproteinler sayesinde virüs konak hücrenin membranındaki kemoreseptörlere tutunarak hücrenin içine girebilir (Özbal, 2007; Escors ve Bretpot, 2010).

2.4.1.4. LTR (Long Terminal Repeat)

HIV-1 RNA genomunun 5' ucunda bulunan promotor bölgesidir (Frankel ve Youngs, 1998). LTR bölgeleri virüsün gen ekspresyonu, revers transkripsiyon ve konak hücre kromozomuna entegrasyonu için gereklidir (Escors ve Bretpot, 2010). Env genlerinin nesilden nesile değişmesi gibi HIV replikasyonunun transkripsiyonel promotor bölgelerini içeren LTR'ler de çeşitlilik göstermektedir (Spira ve ark., 2003).

2.4.2. HIV'in Regülatör Genleri

2.4.2.1. Tat (Transkripsiyon Transaktivatör) Geni

Viral çekirdekte yer alır ve transaktivatör proteini olan p14'ü kodlamaktadır. Transkripsiyonu düzenlemektedir. Yeni transkribe olmuş virüs, mRNA'sındaki Tat duyarlı bölge (TAR: Tat Responsive Region) olarak isimlendirilen sap-ilmik kısmına

bağlanır. Bu etkileşim sonucunda viral RNA polimeraz II'nin aktivitesi artar ve viral protein miktarı da buna bağlı olarak artış gösterir. Tat yokluğunda polimerazlar belirli bölgelerde sonlanmamakla birlikte genellikle birkaç yüz nükleotidin ötesinde transkribe olmazlar (Frankel ve Youngs, 1998; Lever, 2009).

2.4.2.2. Rev (Viral Ekspresyon Regülatör) Geni

Viral ekspresyonu düzenleyen p19 proteinini kodlayan gendir. Virüsün yapısal ve enzimatik proteinleri kodlayan RNA'ların içindeki kompleks bir yapıya bağlanarak bu RNA'ların çekirdekten çıkıp sitoplazmaya girişlerini ve tranlasyonlarına izin vermektedir. Ayrıca virüsün yaşam döngüsünün erken ve geç evrelerini kontrol etmektedir. Rev'in bağlı bulunduğu bölgeye Rev Sorumlu Element (RRE: Rev Responsive Element) denir ve RNA'nın paketlenmesinde kilit rol oynamaktadır. Rev direk olarak kesime uğramamış RNA'ların atılmasını ya da inhibisyonunu arttırmaktadır (Frankel ve Youngs, 1998; Lever, 2009).

2.4.2.3. Nef (Negatif Regülatör) Geni

Virüs replikasyonunda düzenleyici rol oynayan Nef proteinini kodlar, negatif bir faktör olduğu düşünülmektedir. Ayrıca LTR'yi baskılayarak konağın immün sistemini yanıltır. Enfekte hücrenin yüzeyinden salınan interlökin-II, MHC sınıf I proteinleri ve CD4'ün ekspresyonlarını azaltmaktadır. Böylece immün yanıtta sorumlu olan hücre-hücre etkilemişi engellenmiş olur (Özbal, 2007; Lever, 2009; Vicenzi ve Poli, 2013).

2.4.3. HIV Aksesuar Proteinlerini Kodlayan Genler

2.4.3.1. Vif (Viral Enfektivite Faktörü) Geni

Viral enfektivite proteinini kodlamaktadır. Vif proteininin viral genetik materyale saldıran APOBEC3G'nin yıkımını teşvik ettiği bilinmektedir (Özbal, 2007; Lever, 2009; Vicenzi ve Poli, 2013).

2.4.3.2. Vpr (Viral Protein R) Geni

Viral protein R'yi kodlamaktadır. Ubiquitin ligaz mekanizması üzerinden hücre döngüsünü durdurabilmektedir. Vpr HIV-2'de bulunmaz, HIV-2'de Vpr yerine Vpx geni bulunmaktadır (Özbal, 2007; Lever, 2009; Vicenzi ve Poli, 2013).

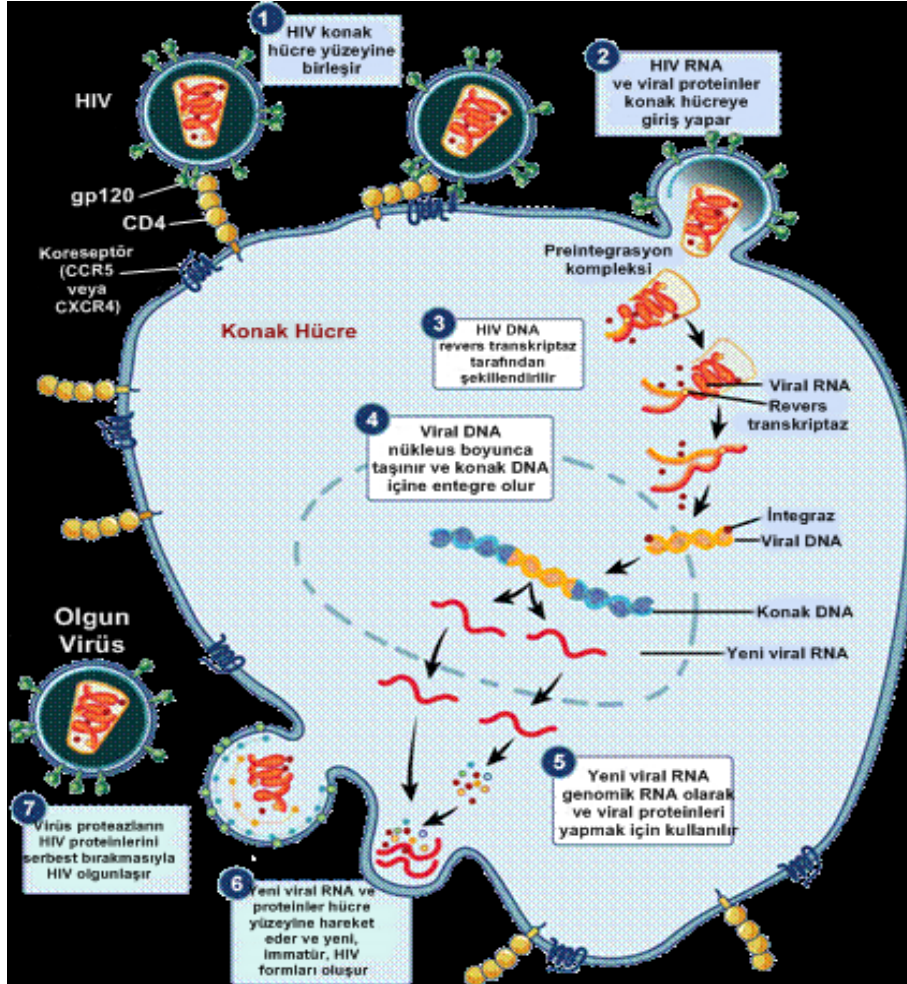
2.4.3.3. Vpu (Viral Protein U) Geni

Viral protein U'yu kodlamaktadır. Virüsün konak hücreden çıkışına yardımcı olmakta ve bu işlemi CD4 glikoproteini ve enfekte hücrenin içinde üretilmiş gp120 kompleksinin oluşumunu azaltarak yapmaktadır. Son bulgular virüs tomurcuklanmasında hücresel bir protein olan tetherinin inhibitör etkisini azalttığını göstermiştir (Özbal, 2007; Lever, 2009; Sulukan ve ark., 2009, Vicenzi ve Poli, 2013).

2.5. HIV-1 Virüsünün Replikasyon Döngüsü

HIV-1'in replikasyon döngüsü 15 ayrı basamaktan oluşur. Gen transkripsiyonunun birinci aşamasında viral transkriptler LTR'den eksprese olurlar. İkinci basamakta kesime uğramış genomik uzunluktaki RNA'ların bir takımı çekirdekten translasyona uğrayacakları veya paketlenecekleri yer olan sitoplazmaya taşınırlar. Bu basamak Rev tarafından düzenlenmektedir. Üçüncü basamakta viral mRNA'lar sitoplazmada translasyona uğrarlar ve gag ve gag-pol poliproteinleri hücre membranına yerleşirler. Zarf proteinini kodlayacak olan mRNA granüllü endoplazmik retikulumda translasyona uğrar. Dördüncü basamakta korpartikülleri gag ve gag-pol poliproteinlerinden oluşur, genomik RNA ve immatür bir virion hücre yüzeyinden tomurcuklanmaya başlar. Tomurcuklanma sürecinde dış membranın yüzey ve transmembran proteinlerini sağlamak için env poliproteini CD4 kompleksinden salınmalıdır. Beşinci basamakta Vpu CD4 degradasyonuna yardımcı olur. Altıncı basamakta env CD4 ile tekrar bağlanmasının önlenmesi gereken hücre yüzeyine taşınır. Yedinci basamakta Nef endositozu ve yüzey CD4 molekülünün degradasyonunu başlatır. Sekizinci basamakta partikül tomurcuklandıkça SU ve TM ile kaplanmış olan hücre yüzeyinden ayrılır, virion olgunlaşma olarak bilinen morfolojik bir değişiklik geçirir (9. Basamak). Bu basamak gag ve gag-pol poliproteinlerinin proteaz tarafından proteolitik işlenmesini ve Vif'in kısmi fonksiyonunu gerektirmektedir. Olgun virion SU

ve CD4 arasındaki etkileşimleri ve CC veya CXCR4 kemokin koreseptörlerini hedefleyerek bir sonraki hücreyi enfekte etmeye hazır hale gelir (10. Basamak). Bağlanmayı takip eden süreçte TM, virüs-hücre membran füzyonunu tetikleyen ve böylece korun hücreye girişine izin veren konformasyonel bir değişiklik geçirir (11. Basamak). On ikinci basamakta virion çekirdeği MA, RT, IN, Vpr ve RNA içeren viral nükleoprotein kompleksiyle temas sağlamak için kılıfından ayrılır. On üçüncü basamakta bu kompleks nükleusa taşınır. On dördüncü basamakta genomik RNA revers transkriptaz enzimi tarafından kısmen çift katlı lineer DNA'ya transkribe edilir. On beşinci basamakta IN tarafından konakçı kromozomunun içine viral DNA'nın entegrasyonu katalizlenerek DNA onarılır ve böylece viral replikasyon döngüsü tamamlanmış olur (Frankel ve Youngs, 1998; Lever, 2009; Özbal, 2007; Vicenzi ve Poli, 2013). HIV-1'in replikasyon döngüsü Şekil 2.3.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.3. HIV-1 virüsünün replikasyon döngüsü (Anonim, 2013)

2.6. Dünyada ve Türkiye’de HIV/AIDS

Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar tüm dünyada giderek artmakta ve bunların başında ise HIV/AIDS gelmektedir. HIV/AIDS enfeksiyonunun yayılmasına kaynak oluşturabilecek kişi ve ortamların belirlenmesi, enfeksiyonun yayılma eğilimi ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi gibi amaçlarla birçok ülkede çeşitli araştırma ve geliştirme faaliyetleri yürütülmektedir (Akın, 2006). AIDS ve HIV ile ilgili farkındalığı arttırmak her yıl 1 Aralık "Dünya AIDS Günü" olarak kutlanmaktadır (UNAIDS, 2014).

HIV’in dünyada en sık görüldüğü yer Afrika’dır. HIV’in major alt grubu olan M’nin C alt tipi buradaki olguların %55’inden, A alt tipi %31’inden ve D alt tipi ise %7’sinden sorumludur. B alt tipi sadece %3 oranında gözlenmiştir. Avrupa ve Amerika gibi gelişmiş ülkelerde ise en sık görülen HIV-1’in alt tipi B grubudur ve bu nedenle aşı ve antiretroviral ilaç çalışmaları HIV-1’in B alt tipi üzerinde yoğunlaşmaktadır (Spira ve ark., 2003). HIV-1’in N alt tipi Kamerunda sadece iki vakada, O alt tipi Kamerun, Gabon ve Ekvatoryal Gine’de tespit edilmiştir. HIV-2 ise Batı Afrika ve Hindistan’da yaygındır (Mc Cutchan, 2006). Gelişmekte olan ülkeler en yüksek HIV/AIDS hastalık riskine ve ölüm oranına sahiptir. Afrika Sahra altı bölgeler kaydedilmiş genç yetişkin oranıyla en yüksek yaygınlığa sahiptir (WHO, 2011; Sharp ve Hahn, 2011).

Türkiye’de (İstanbul) 72 HIV(+) hasta üzerinde yapılan çalışmada HIV-1 revers transkriptaz (pol) bölgesinin direkt dizilenmesi yöntemiyle yapılan filogenetik analiz sonucunda en sık karşılaşılan HIV-1 tipinin CRF’ler olduğu (%50), bunu sırasıyla alt tip B (%43), alt tip A1 (%4.2) ve alt tip F1’in (%2.8) izlediği görülmüştür (Sayan ve ark., 2013). HIV virüsünün yaşam döngüsünün çok hızlı olması, konak immün sistemin seçiciliği, retroviral rekombinasyon sıklığı ve mutasyon hızının yüksekliği genetik olarak çok değişken HIV virüslerinin oluşumuna yol açmaktadır. HIV’in genetik değişkenliği hastalığın tanısı, tedavisi, antiretroviral tedaviye verilecek yanıtı, oluşabilecek ilaç direncini ve viral yük ölçümünü etkilemesi nedeniyle önem taşımaktadır (Visawapoka ve ark., 2006; Woodman ve Williams, 2009; Sayan ve ark., 2013).

Türkiye uluslararası ticaret ve seyahat yolları üzerinde bulunduğu için coğrafik olarak HIV/AIDS açısından riskli bir ülkedir. Bu nedenle HIV/AIDS’le mücadele için uluslararası eylem planı ve politikalar geliştirilmelidir (Akın, 2006).

Türkiye’de HIV/AIDS bildirimi zorunlu hastalıklardan olup Sağlık Bakanlığı tarafından düzenli olarak toplanan veriler hastalık sıklığı ve yayılımı ile ilgili önemli

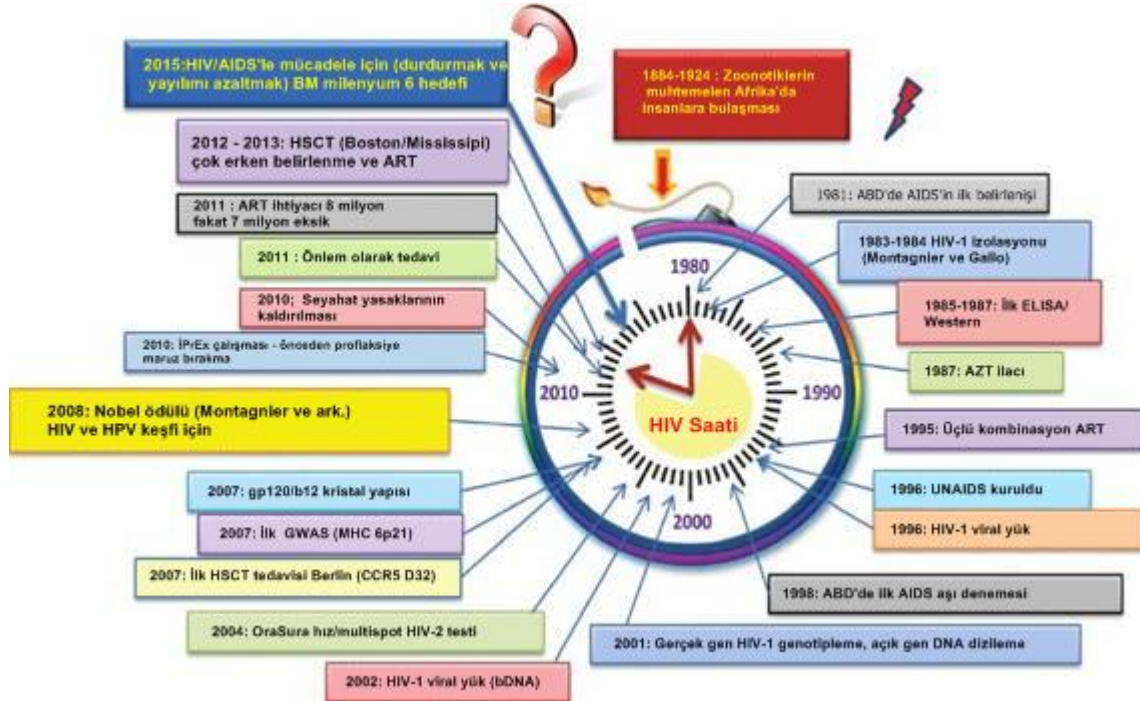
bilgiler vermektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2013). Türkiye’de ilk HIV taşıyıcısı bildirimini 1985’te yapılmıştır. Sağlık Bakanlığının verilerine göre 1985’ten 2013 Kasım ayına kadar toplam 7050 HIV(+) kişi bildirilmiştir. Bu vakaların yaklaşık %73’ünü erkekler oluşturmaktadır. Enfeksiyondan en çok etkilenenler 40-49 yaş aralığındaki bireylerdir. Bildirilen HIV(+) vakaların yaklaşık %17’si yabancı uyrukludur. Ülkemizde en sık bulaşma cinsel yolla ve damar içi bağımlılık yapıcı madde kullanımıyla olmaktadır (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2013).

2014 yılının dahil edildiği T.C. Sağlık Bakanlığı’nın verilerine dayanılarak AIDS vaka ve taşıyıcılarının yıllara göre dağılımı Çizelge 2.1.’de gösterilmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2014).

Çizelge 2.1. Türkiye’de HIV/AIDS vaka ve taşıyıcılarının yıllara göre dağılımı (Sağlık Bakanlığı, 2014)

Yıllar	HIV (+)	AIDS	Toplam
1985	0	3	3
1986	1	1	2
1987	32	8	40
1988	21	11	32
1989	22	11	33
1990	23	13	36
1991	27	24	51
1992	36	29	65
1993	47	33	80
1994	48	35	83
1995	59	28	87
1996	92	35	127
1997	95	38	133
1998	82	42	124
1999	89	28	117
2000	111	46	157
2001	137	45	182
2002	136	41	177
2003	136	46	182
2004	175	58	233
2005	246	46	292
2006	253	44	297
2007	345	24	369
2008	390	53	443
2009	437	66	503
2010	516	73	589
2011	632	78	710
2012	973	95	1068
2013	1280	111	1391
2014	1486	99	1585
Toplam	7927	1264	9191

Şekil 2.4.'te gösterildiği üzere Kaur ve arkadaşları bir "HIV saati" hazırlayarak bu saat üzerinde HIV virüsünün ortaya çıkışını, ilk kez belirlenmesini, yayılış sürecini ve geliştirilen tedavi yaklaşımlarını tarihsel olarak özetlemişlerdir (Kaur ve ark., 2013).



Şekil 2.4. HIV saati (Kaur ve ark., 2013)

2.7. HIV/AIDS Tedavi Yaklaşımlarındaki Yetersizlikler

AIDS etkeni olan HIV'in belirlenmesinin ardından atılan en önemli adım antiretroviral ilaçların kullanılmaya başlanması olmuştur. Revers transkriptaz inhibitörü olarak AZT (zidovudin) geliştirilmiş ve bunun akabinde virüs replikasyonunu farklı basamaklarda inhibe etmeye yarayan yeni ilaçlar geliştirilerek kullanılmaya başlanmıştır. Teknolojinin ilerlemesiyle birlikte 1995 yılında proteaz inhibitörleri ve 2003 yılından itibaren de virüs zarf yapısını ve virüsün konak hücre membranı ile olan birleşmesini inhibe edecek yeni ilaçlar geliştirilmiştir. Antiretroviral ilaç kullanımına bağlı olarak HIV kaynaklı ölüm ve hastalık oranları azalmıştır (Badur, 2007).

HIV virüsünün tamamıyla yok edildiği bir tedavi geliştirilememiş olmasına rağmen teknolojinin ilerlemesiyle keşfedilen yeni ilaçlar sayesinde HIV enfeksiyonu ölümcül hastalık olmaktan çıkıp yaşam boyu ilaç kullanımı gerektiren kronik bir hastalığa dönüşmüştür (Babayiğit ve Bakır, 2004).

HIV-1 varyasyonlar sayesinde immünolojik ve farmakolojik savunmalardan kaçabilmekte ve bu nedenle virüse karşı etkili bir aşı üretimi zorlaşmaktadır. Her virüs paketlenmiş halde iki RNA'ya sahiptir ve bu RNA'ların kendi aralarındaki rekombinasyonel değişimi sonucu konakçı hücrede farklı virüsler çoğalabilmektedir. Bu durum viral çeşitliliğin en büyük kaynağı olarak kabul edilmektedir (Lever, 2009). HIV virüsünün sahip olduğu revers transkriptaz enzimi hücresel DNA polimeraz enzimleriyle kıyaslandığında yüksek derecede hata oranına sahiptir. Bu durumda çoğunlukla bazlar birbiriyle yanlış eşleşerek beklenmeyen Watson-Crick eşleşmesinin meydana gelmesine neden olurlar. Bu yanlış eşleşme durumu, doğal bazları taklit ederek onların yerine DNA zincirine dahil olup; zincirinin sonlanmasını sağlayan zidovudin ve didanozin gibi nükleozid analogu ilaçların geliştirilebilmesini mümkün kılmıştır (Lever, 2009).

HIV-1 virüsü konak hücrenin CD4 reseptörü ve CD4' n koreseptörleri olan CCR5 ve CXCR4 ile virüsün gp120 proteininin bir parçası olan V3 ilmeğinin etkileşimi sonucu konak hücreye giriş yapar. CCR5 koreseptör bağlayıcı giriş inhibitörleri virüsün hücreye girişini önleyebilme potansiyeline sahiptir. Maraviroc ve vicriviroc gibi son geliştirilen ilaçlar özellikle CCR5 reseptörüne bağlanan R5 tropik virüslerin hücreye girişini inhibe eden ilaçlardır. Ancak bu ilaçlar X4 tropik suşlarına karşı etkisizdir. Bu nedenle hastaların antiretroviral tedavisinin etkinliği için koreseptör tropizminin belirlenmesi de kritik öneme sahiptir (Heider ve ark., 2014).

HIV-1'in izole edilmesinin ardından farklı etki mekanizmalarına sahip antiretroviral ilaçlar geliştirilmeye başlanmıştır. HIV-1'e karşı standart tedavi olan HAART, virüsün moleküler yapısı ile ilgili sürdürülen çalışmalar sonucunda geliştirilmiştir. Bu ilaçlar AIDS hastalarının yaşam süresini önemli ölçüde arttırmakla birlikte virüsü tamamen yok edemedikleri için HIV-1 virüsünün replikasyonunu baskılamak amacıyla ömür boyu kullanılmaları gerekmektedir (Lever, 2009). Geliştirilmiş kombine antiretroviral tedavinin (cART) ortaya çıkması HIV-1'le enfekte hastaların yaşam kalitesinde ve klinik durumunda önemli ölçüde ilerleme sağlamıştır (Passaes ve Ciri n, 2014).

Tedaviye başlanmamış bir bireyde ortalama olarak plazmadaki viral yük bir milyarı aşabilmektedir ( zkaya, 2006). HAART terapi viral yükü azaltarak HIV-1'in transmisyonunu önler ve AIDS tedavisi için efektif bir katkı sağlamakla birlikte virüsü tamamen yok edemez (Nunzio ve ark., 2012). Bir kez yerleşen enfeksiyonun elimine edilememesinin nedeni büyük ölçüde virüsün kendine has bir kapasiteyle konak hücreye

entegre olarak gizli bir şekilde kalmasıdır. HIV-1'in latent kalması ve enfekte hücrelerde ısrarlı bir şekilde viral sessizliğini koruma mekanizmasının anlaşılması bu nedenle hastalığın eradikasyonunu amaçlayan yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde ufuk açıcı olacaktır (Lusic ve Giacca, 2014).

HIV-1 virüsünün latent kalması ve yerleşmesi ile ilgili olarak moleküler düzeyde en az dört mekanizma öngörülmektedir (Lusic ve Giacca, 2014).

- 1) HIV-1'in cDNA'sının entegre olduğu konakçı genomik bölgenin etkisi,
- 2) Konak CD4(+)T hücrelerinin aktivasyon durumuna göre hücresel transkripsiyon faktörlerinin mevcudiyeti,
- 3) Epigenetik mekanizmalar tarafından viral gen ekspresyonunun düzenlenmesi,
- 4) Nükleer topolojide HIV-1'in transkripsiyonel durumunun bağımlılığı,

Virüs replikasyonun başarılı olması için konak hücre genomuna entegrasyon şarttır. Proviral DNA ve konakçı DNA arasında bulunan bağlantılardaki HIV-1 DNA dizileri, hedef alanlarda zayıf bir şekilde korunan diziler içermektedir. HIV-1 aktif seçici bölgeler için kuvvetli seçimi gösteren transkripsiyonel birimlerin içine seçici bir şekilde entegre olmaktadır. Bu nedenle HIV-1 entegrasyon alanları doğal olarak HIV-1 gen ekspresyonunun düzenlemesinde önemli bir belirleyicidir (Lusic ve Giacca, 2014).

HIV'e karşı etkili bir aşı geliştirilememesinde virüsün üstün replikasyon yeteneği, oluşacak immün yanıtı karşı saldırma özelliği, hem mukozal hem de enfekte hücrelerle bulaşabilmesi, sistemik uyarıya yol açmaması, nötralizasyona direnç göstermesi, viral nükleik asitin konak hücre genomuna entegre olması gibi nedenler bulunmaktadır (Badur, 2006). HIV'e karşı bir aşı denemesi başarısız olmasına rağmen yeni keşfedilen birkaç bulgu enfeksiyonda sürekli bir azalma sağlanabileceğini desteklemektedir (Passaes ve Ciri3n, 2014).

Gen terapi konsepti 20. yüzyılın ortalarından köken almaktadır ve moleküler temeli anlaşılan hemen hemen tüm hastalıklar için umut vadeden devrimsel bir teknoloji olarak algılanmıştır. O zamandan beri birkaç gen vektörü geliştirilerek gen terapinin geçerliliği insan hastalıklarını taşıyan birçok deney hayvanı üzerinde gösterilmiştir. Gen terapi klinik çalışmaları mevcut insan hastalıklarının büyük bir kısmında lentivektörler kullanılarak devam ettirilmektedir (Escors ve Breckpot, 2010). Genotipik analizlerdeki ilerlemeler her bir antiretroviral ilaca hatta proteaz inhibitörleri gibi nükleosid ve nükleosid olmayan antiretroviralleri de içine alan ilaçlara karşı direnç sağlayabilecek dizilerdeki değişiklikler tanımlanmıştır. Ancak alt tür çeşitliliğinin ilaç direnç ve

duyarlılığını nasıl etkileyebileceği konusunda çok az veri mevcuttur (Spira ve ark., 2003).

Gen terapisi, uygun hücrel hedeflerin içine tedavi edici genlerin yerleştirilmesi ile gerçekleştirilmeye çalışılan bir tedavi şekli olarak tanımlanabilir. Bu tedavi edici genler bir hastalığın üstesinden gelmek amacıyla hücre fonksiyonlarını yeniden programlayabilir ya da spesifik gen mutasyonlarının zararlı sonuçlarını düzeltebilirler. Başarılı bir gen terapisi için ekzojen tedavi edici gen, özellikle verimli ve stabil bir şekilde hedef hücrenin içine yönelmek zorundadır (Escors ve Breckpot, 2010).

HIV-1 virüsünün izolasyonundan bu yana öncelikli olarak temel bir tedavi yöntemi geliştirmek için araştırmalar devam etmektedir. 2007 yılında Berlin hastası olarak adlandırılan akut miyeloid lösemili HIV(+) bir hastaya HLA uyumlu kan bağı olmayan, homozigot CCR5-Δ32 alleleline sahip bir donörden çift allojenik hematopoetik kök hücre (HSCT: Hematopoietic Stem Cell Transplantation) transplantasyonu yapılmıştır (Hutter ve ark., 2009). HSCT'den sonra ender bir olgunun tanımlanması HIV enfeksiyonu tedavisinin mümkün olabileceği konusundaki umudu alevlendirmiş ve bu alandaki iyimserliği dikkat çekici bir şekilde arttırmıştır. Transplantasyondan bir gün önce hasta ART'yi (antiretroviral tedavi) bırakmış ve tedavi yapılmadan geçen 6 yıl aradan sonra kan ve dokularında HIV'e rastlanılmamıştır. HIV spesifik antikor seviyelerinin azalma gösterdiği ve transplantasyondan sonra HIV antijen uyarısının bulunmadığı ya da çok düşük olduğu bildirilmiştir (Hutter ve ark., 2009; Passaes ve Cirión, 2014). Birkaç farklı çalışmada daha lenfoma ve/veya lösemili HIV seropozitif hastalarda virüsü yok edecek strateji olarak ART ile birlikte otolog ya da allojenik HSCT kullanımı amaçlanmıştır. Bütün bunlara rağmen bu çalışmaların çoğunda ya tedavinin bırakılması ya da tedavi rejimi viral rezervuarı tamamen elimine edemediği için transplantasyondan sonra HIV'in belirlendiği, birkaç vakada ise hastaların öldüğü bildirilmiştir (Passaes ve Cirión, 2014).

Amerika Birleşik Devletlerinde 2012 yılı Temmuz ayında Timoty Henrich Boston hastaları olarak bilinen HIV(+) olan iki hastaya kanser tedavisi için kök hücre transplantasyonu yapıldığını ve bu çalışmada HSCT yapılan hastalarda transplantasyon sonrası 24. ayda HIV DNA seviyelerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Her iki bireyde de transplantasyondan sonra antiretroviral tedavi devam etmiştir (Henrich ve ark., 2013; Jefferys, 2013).

Bu iki çalışma verileri HIV ile enfekte hastalarda cART ile birlikte HSCT'nin viral rezervuarları azaltabileceğini önermektedir (Henrich ve ark., 2013; Jefferys, 2013).

Bununla birlikte, 6. Uluslararası HIV Direnci, Rezervuarları ve Eradikasyon Stratejileri Çalıştayı'nda Boston hastalarında analitik tedavi arasından (ATI) birkaç ay sonra plazma viremisinde güçlü bir geri dönüş olduğu açıklanmıştır. Bu sonuçlar HIV'in henüz tanımlanmamış sığınaklarda saklandığını ya da mevcut tekniklerle belirlenemeyen düzeylerde olduğunu önermektedir. Şu ana kadar HSCT yalnızca Berlin hastasında virüsü yok etme konusunda başarılı olmuştur ve virüsü yok eden mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır (Passaes ve Ciri3n, 2014). Bunun sonucu olarak homozigot CCR5-Δ32 delesyon polimorfizminin HIV enfeksiyonuna karşı doğal bir direnç sağladığı ve bu durumun HIV tedavisi için CCR5 temelli yeni bir tedavi yaklaşımını destekleyebileceği fikri ileri sür÷lmüştür (Hutter ve ark., 2009; Henrich ve ark., 2013; Passaes ve Ciri3n, 2014).

Virüsün transmisyonunu engellemek için alınabilecek en önemli tedbir bu konuda bireylerin bilinçlenmesini sağlayacak eğitimlerin verilmesidir (Lever, 2009).

2.8. Genom Çapı İlişkilendirme Çalışmaları (GWAS)

Son yıllarda çeşitli hastalıklara neden olan genlerin keşifleri konusunda genom çapı ilişkilendirme çalışmaları standart bir metot olmaya başlamıştır. Yeni GWAS çalışmalarının önemli bir kısmı hastalıkların çoğu için gösterge teşkil etmektedir, bunlara yalnızca birkaç genel varyant dahil edilmektedir ve genetik risklerin sadece küçük fraksiyonları SNP'lerle (SNP: Single Nucleotide Polymorphism: Tek Nükleotit Polimorfizmi) ilişkili olarak açıklanmaktadır (Cantor ve ark., 2010).

Meta-analizler yanlış pozitifler arasında doğru pozitifleri bulma şansını arttırmak için çoklu GWAS bilgi havuzunu araştırmaktadır. GWAS'ın sonuçları biyolojik yollarda genleri öncelik sırasına göre dizmek için kullanılmaktadır. GWAS dizaynının öncülü %1'den daha büyük sıklık ile SNP'ler tarafından gösterilmiş insan genomundaki kapsamlı yaygın varyasyonlardır. Bu varyasyonlar genetik olarak karmaşık bir çok hastalığın riskinden sorumludur (Cantor ve ark., 2010).

GWAS için üç temel element gerekmektedir.

- 1) Araştırma sorularıyla ilgili sağlıklı genetik bilgi sağlayacak yeterli genişliğe sahip popülasyondan çalışma örnekleri,
- 2) Yeteri kadar genomu kapsayan, sağlıklı bir şekilde genotiplendirilmiş ve düşük maliyetli polimorfik alleller,

- 3) İstatistiksel olarak güçlü ve tarafsız bir şekilde genetik ilişkileri belirlemek için kullanılabilecek analitik metotlardır (Cantor ve ark., 2010).

Günümüz GWAS çalışmaları çok sayıda bilimsel keşfe öncülük etmiştir. GWAS çalışmaları popülasyondaki kompleks özelliklerle ilişkili genomik yapıdaki varyantların belirlenmesini amaçlamaktadır, ayrıca HIV, sıtma, prostat kanseri, bazı kalp hastalıkları, diyabet, otoimmün hastalıklar ve psikiyatrik hastalıklar gibi sık görülen hastalıkla ve yaygın SNP'lerin arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde kullanılmaktadırlar (Visscher ve ark., 2012; Peprah ve ark., 2015).

Mutasyon ve polimorfizm anlam bakımından karıştırılan ve birbirlerinin yerine kullanılan terimlerdir. DNA yapısında nadir olarak görülen kalıcı ve kalıtılabilir değişiklikler mutasyon olarak adlandırılırken; polimorfizmler, %1 ve daha yüksek sıklıkta meydana gelen genetik varyasyonlardır. Polimorfizmi mutasyondan ayıran da görülme sıklığındaki bu farktır. Mutasyonlar polimorfizmlere göre çok daha nadirdir. Farklı popülasyonlarda polimorfizm sıklığı değişken olabilmektedir. Polimorfizmler kişinin hastalığa yakalanma riskinin, hastalığa verdiği yanıtın, ilaçlara karşı gözlenen yan etkilerin farklı olmasından sorumludur (Klug ve Cummings, 2002; Lüleyap, 2008).

SNP (Single Nucleotide Polymorphism-Tek Nükleotid Polimorfizmi); belli bir baz dizisinde meydana gelen tek nükleotitlik kalıcı değişikliklerdir. İnsan genomunda en çok bulunan genetik çeşitlilik tipidir ve tüm polimorfizmlerin %90'ını oluşturmaktadır (Lüleyap, 2008; Bozkaya, 2009).

2.8.1. Popülasyon Genetiği ve Hardy-Weinberg Denge Prensibi

Popülasyon genetiği toplumlarda genlerin dağılımını ve bu gen frekanslarının nasıl korunduğunu ya da değiştiğini inceleyen bilim dalıdır. Popülasyon genetiğinde toplumun gen havuzu incelenmekte olup, bu incelemelerde toplumdaki hastalıkların dağılımını ve sıklığını belirleyen çeşitli genetik ve çevresel faktörler arasındaki ilişkiyi değerlendiren epidemiyoloji kurallarından yararlanılır (Güler, 2006).

1908 yılında İngiliz matematikçi Hardy ve Alman oftalmolojist Weinberg birbirlerinden habersiz olarak yayınladıkları makalelerinde geniş toplumlarda ve belirli varsayımlar göz önüne alınarak genotip oranlarında kuşaklar boyu bir değişikliğin olmadığını, yani gen sıklıklarının sabit kaldığını ileri sürmüşlerdir. Bugün Hardy-Weinberg yasası olarak adlandırılan bu görüş matematiksel olarak gösterilebilir ve

dominant özelliklerin niçin otomatik olarak resesif özelliklere göre artmadığını açıklamaya yardımcı olur (Güler, 2006).

Hardy-Weinberg denge prensibine göre toplumdaki herhangi bir otozomal resesif gen tarafından oluşturulan hastalığın sıklığı, o resesif genin toplumdaki sıklığının karesine eşittir ya da genin sıklığı, bu gen için homozigot olan bireylerin sıklığının kareköküne eşittir. Heterozigot sıklığı ise bir allel sıklığının diğer allel sıklığı ile çarpımının iki katına eşittir (Başaran, 1999).

Hardy-Weinberg dengesine göre ideal popülasyonda bütün genotipler eşit hayatta kalma oranına ve eşit üreme başarısına sahiptir. Yani hiçbir seçim yoktur. Yeni allel oluşturacak veya mevcut bir alleli diğerine dönüştürecek mutasyonlar bulunmaz. Popülasyonun içine veya içinden dışına hiçbir göç yoktur. Popülasyon sınırsız bir genişliğe sahiptir. Bir başka deyişle, bu popülasyon örnekleme hatalarının ve diğer rastgele etkilerin göz ardı edilebileceği kadar büyük bir popülasyondur. Popülasyondaki bireyler rastgele eşleşirler (Klug ve Cummings, 2002).

Hardy-Weinberg kanununa göre, yukarıdaki varsayımlara uygun popülasyonda allel frekansları nesilden nesile değişmez; diğer bir deyişle popülasyon evrimleşmez ve bir nesil süren rastgele eşleşmenin ardından genotip frekansları allel frekansından tahmin edilebilir (Klug ve Cummings, 2002).

Hardy-Weinberg denge prensibi formüllerini şu şekilde özetleyebiliriz; İki allelli tek bir lokusun en basit şekliyle var olduğu bir durumda, **A** baskın alleli, **a** ise çekinik alleli ifade eder, onların sahip olduğu frekanslar da **p** ve **q** ile gösterilir:

$$\text{frekans (A)} = p$$

$$\text{frekans (a)} = q$$

Eğer popülasyon dengeli bir popülasyon ise bu durumda;

$$p + q = 1$$

$$\text{AA homozigotları için frekans; } (AA) = p^2$$

$$\text{aa homozigotları için frekans; } (aa) = q^2$$

$$\text{Aa heterozigotlar için frekans; } (Aa) = 2pq$$

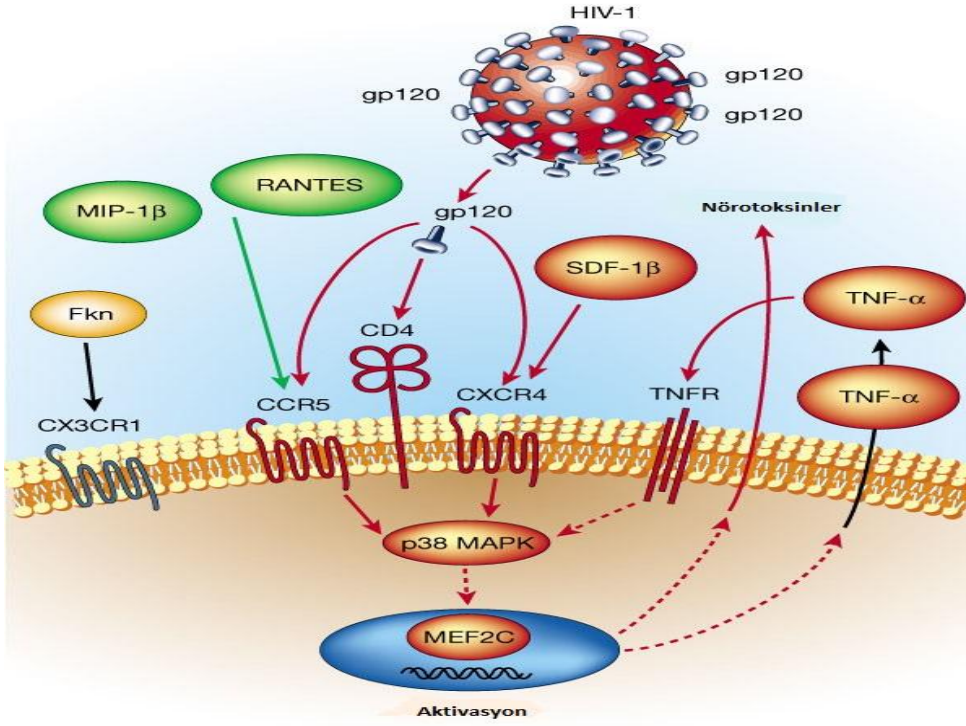
Böylece genotip frekansı formülü aşağıdaki gibidir;

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

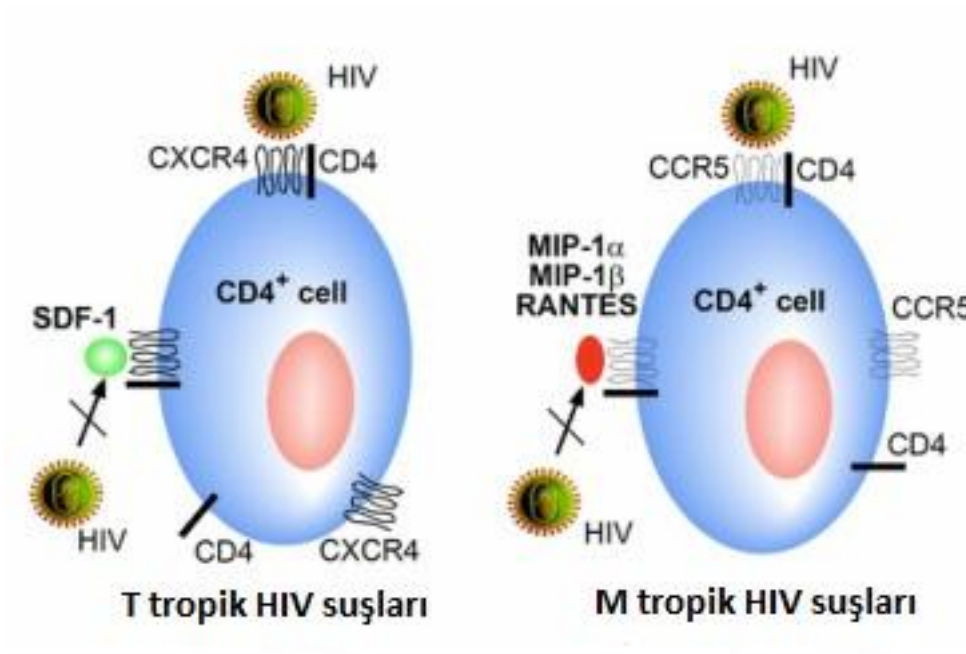
2.9. HIV/AIDS Enfeksiyonunu Etkileyebilen CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Polimorfizmleri

Kemokinler yeni bir sitokin ailesidir. Enflamasyonda ve homeostazda lökositlere ve kök hücrelere kemotaksis yaptıran sitokinlerdir. Hücre yüzeyinde bulunan spesifik reseptörlerine bağlanarak hücreyi uyarırlar. Kemokinler öncelikle α ve β olarak ikiye ayrılırlar ve daha sonra molekülün amino terminal ucundaki sistein (C) amino asidinin pozisyonuna göre sınıflandırılarak isimlendirilirler. C, CC, CXC, CXXXC (Çağlar ve Kansu, 2004). Kemokin proteinlerini kodlayan konakçı genetik faktörlerde meydana gelen kalıcı genetik değişiklikler HIV-1 enfeksiyonuna karşı duyarlılık ve AIDS'in gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Kemokin reseptör proteinleri ve onların ligandlarını kodlayan genlerdeki mutasyonlardan özellikle CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A'nın AIDS gelişimi ve HIV-1'e karşı koruyucu etkilerinin olduğu çeşitli araştırmalarla kanıtlanmıştır. Bu gen polimorfizmlerinin dağılımı ve hastalığın seyrindeki rolleri farklı ırk, etnik köken ve risk gruplarının bireyleri arasında çeşitlilik göstermektedir. HIV/AIDS koruyucu mutasyonlarının global, etnik ve bölgesel dağılımı HIV enfeksiyonu ve AIDS gelişimi için her popülasyona farklı bir genetik dirençlilik profili verecek şekilde önemli derecede değişmektedir (Verma ve ark., 2007).

HIV-1 hedef hücreye giriş için hem CD4 molekülüne hem de kemokin reseptörlerine ihtiyaç duymaktadır. Bazı kemokinler ve reseptörleri HIV-1 patogenezinde ve transmisyonunda önemli rol oynamaktadır. β -kemokin reseptör 5 (CCR5) ve α -kemokin reseptör 4 (CXCR4) en önemli HIV-1 koreseptörleri olarak belirtilmiştir. CCR2 ve diğer kemokin reseptörleri minör HIV-1 koreseptörleri olarak rol oynamaktadır. CXCR4 virüsün T-hücre hattı-tropik (X4) suşları için temel koreseptörken, CCR5 Makrofaj-tropik (R5) HIV-1 suşları için temel koreseptördür. SDF1, CXCR4'ün doğal ligandıdır. HIV-1 suşları konak hücreye girebilmek için env proteinini kullanır. Env ilk olarak konak hücrenin yüzeyinde bulunan CD4'e bağlanır. Zarf proteininde bazı konformasyonel değişikliklere sebep olur ve sonuçta ikinci bir bağlanma yeri ortaya çıkar. Virüs bu ikinci bölgedeki CCR5'e bağlanarak konak hücre yüzeyine tutunur ve HIV-1'in viral içeriği hücre sitoplazmasına geçer (Klug ve Cummings, 2002). HIV-1'in konakçı hücreye giriş mekanizmaları Şekil 2.5. ve Şekil 2.6.'da gösterilmektedir.



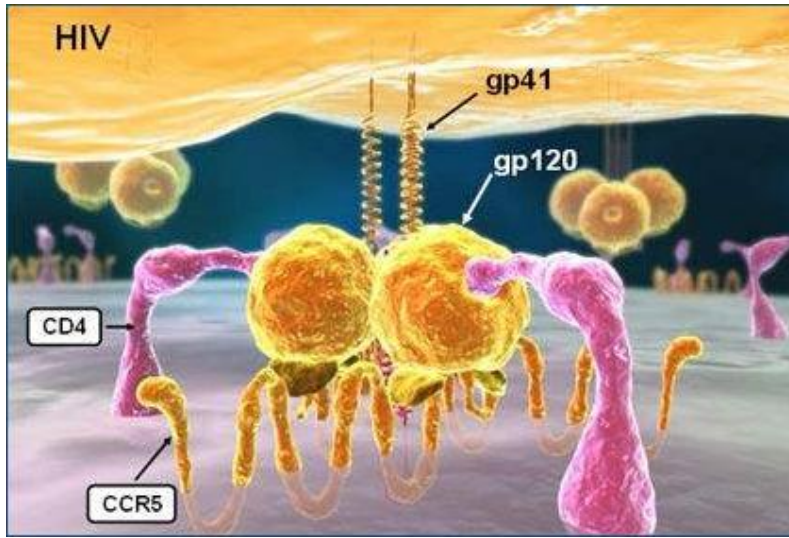
Şekil 2.5. HIV-1'in hedef hücreye girişi (Kaul ve ark., 2001)



Şekil 2.6. HIV-1'in makrofaj ve T-hücreye girişi (Anonim, 2011)

2.9.1. CCR5-Δ32 Polimorfizmi

CCR5-Δ32, CCR5 geninde 32 nükleotitlik bir delesyon (gtcagtatcaattctggaagaa ttccagaca) sonucu oluşan bir polimorfizmdir. Bu delesyon sonucunda hücrenin translayon mekanizması çok erken bir dur kodonuyla karşılaşmaktadır. Bu durum, hücre yüzeyine ulaşmada yetersiz kalan kesilmiş bir protein sentezine yol açar. Bu protein hücre yüzeyine göç edemez ve sitoplazmada kalır. Böylece HIV-1 virüsü hücre yüzeyine bağlanamaz (Liu ve ark., 1996; Juhász ve ark., 2011). HIV-1'in bağlandığı CCR5 kemokin reseptörü aşağıdaki Şekil 2.7.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.7. CCR5 kemokin reseptörü (Anonim, 2010)

Cinsel yolla mukozal membranlar aracılığıyla insandan insana bulaşan HIV-1'in R5 suşuna karşı CCR5-Δ32 polimorfizmini taşıyan bireylerin güçlü bir direnç kazandırdığı düşünülmektedir. Heterozigot genotipi de AIDS gelişiminde ertelenmeyle ya da HIV-1'e karşı sınırlı bir dirençle ilişkilidir (Khabour ve ark., 2013). CCR5-Δ32 polimorfizmi için heterozigotluk kısmen koruyucuyken, homozigotluk HIV-1 enfeksiyonuna karşı yüksek derecede koruyucudur (Verma ve ark., 2007; Juhász ve ark., 2011). CCR5-Δ32 için heterozigot olan HIV-1 ile enfekte kadınların CCR5'in yabanıl tip (wt) versiyonunu taşıyan annelerle karşılaştırıldıkları zaman çocuklarına virüs transmisyon oranının daha az olduğu belirlenmiştir (Ometto ve ark., 2000).

CCR5-Δ32 allelinin Avrupa popülasyonlarında zenginleşmesi bu polimorfizmin yüksek olasılıkla Avrupa'dan köken aldığını ve doğal pozitif seleksiyon altında dünyaya dağıldığını yansıtmaktadır (Khabour ve ark., 2013). CCR5-Δ32 allel sıklığı Avrupa boyunca %4-16 aralığında değişmekte ve net bir kuzey-güney gradienti göstermektedir; fakat polimorfizm Afrika, Asya ve Yerli Amerikan popülasyonlarında düşüktür veya hiç yoktur. Bu çarpıcı coğrafik dağılım Kuzey Avrupa'da tek ve yerli orijinli bir mutasyon hipoteziyle ve seçici güce bağlı sıklıktaki artışla uyumludur (Struyf ve ark., 2000). Avrupalı olmayan popülasyonlarda ise muhtemelen bu popülasyonlara Kafkaslık karışımından dolayı sadece sporadik oluşumlar gözlenmektedir (Juhász ve ark., 2011).

CCR5-Δ32'nin varlığı CD4(+)T-hücre sayısının 200 hücre/μl altına düşmesinde önemli bir koruma sağlamıştır. CCR5-Δ32 heterozigot bireylerde gözlenen daha yavaş progresyon CCR5'in azalmış hücre yüzey ekspresyonuna bağlanabilir. CCR5-Δ32 allelinin enfeksiyonun erken aşamalarındaki koruyucu etkisine zıt olarak, AIDS tanısından sonra ölüm riskini arttırmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (Vieira ve ark., 2011).

CCR5-Δ32 global dağılımındaki eşitsizlik, CCR5-Δ32 geninin olmadığı veya çok düşük sıklığa sahip olduğu popülasyonlarda CCR5 geninde henüz tanımlanmamış başka koruyucu polimorfizmlerin olabileceğine işaret eder ve böyle varyantların tanımlanması hem bilimsel hem de klinik öneme sahiptir (Khabour ve ark., 2013).

2.9.2. CCR2-64I Polimorfizmi

CCR2-64I polimorfizmi, CCR2 kemokin reseptör geninin 190. pozisyonunda bir G-A transisyonu ile gerçekleşen nokta mutasyonudur (Verma ve ark., 2007; Juhász ve ark., 2011). Bu mutasyon sonucu CCR2 proteininin 64. pozisyonundaki valin amino asiti izolösin ile yer değiştirir (Apostolakis ve ark., 2005). CCR2 proteininin fonksiyonunda değişiklik olmamakla beraber, hem homozigot hem de heterozigot tipleri hastalık gelişiminde ertelenmeyle ilişkilidir. Etki mekanizması tam olarak bilinmediği için bu konudaki çalışmalar halen devam etmektedir. CCR2-64I varyantının bir veya iki kopyasına sahip olan bireyler enfeksiyondan sonra AIDS gelişimine karşı azalmış riske sahiptir (Verma ve ark., 2007; Vieira ve ark., 2011). Bu risk HIV serokonversiyonundan sonraki ilk 4 yıl içerisinde %58, sonraki 4 yılda %22 azalmakta ve bundan sonra azalış göstermemektedir (Khabour ve ark., 2013). CCR2-64I için homozigotluk AIDS gelişiminde 2-4 yıl arası gecikmeyle ilişkilendirilmiştir (Ammaranond ve ark., 2013).

Ayrıca CCR5-Δ32 proteinin CCR5 ve CXCR4 ile etkileştiği ve onların hücre yüzey ekspresyonlarını azalttığı ispatlanmıştır (Juhász ve ark., 2011). Bu allel dünyanın her yanına yayılmıştır ve ayrı haplotiplerde oluştuklarından dolayı CCR5-Δ32 ile birlikte kalıtılmamaktadır (Khabour ve ark., 2013). CCR2-64I geninin HIV/AIDS'e karşı Afro-Amerikanlarda koruyucu bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. CCR5-Δ32 polimorfizminden farklı olarak CCR2-64I analiz edilen tüm etnisitelerde mevcuttur. CCR2-64I Kafkaslarda %10, Afro-Amerikanlarda %15, Hispaniklerde %17 ve Asyalılarda %25 frekansında gözlenmiştir (Vieira ve ark., 2011). CCR5-Δ32 ile karşılaştırıldığı zaman CCR2-64I polimorfizminin daha yüksek global dağılımı CCR2-64I'nın modern insanların yayılımından önce köken alan çok daha eski bir polimorfizm olabileceği fikrini önermektedir (Mangano ve ark., 2001).

Mangano ve arkadaşlarının 1999 yılında yaptıkları çalışmada ise anne karnında HIV-1 virüsü ile enfekte olan çocuklarda tarama yapılmıştır. HIV ile enfekte yeni doğanlarda CCR2-64I geninin yaygınlığının önemli ölçüde arttığı ve CCR2-64I genotip dağılımının Hardy-Weinberg eşitliğine uymadığı gözlenmiştir. HIV ile enfekte, CCR2-64I allelini taşıyan bireylerde AIDS gelişiminde gecikme olduğu belirlenmiştir. Bu durum CCR2-64I allel varlığının, HIV'in anneden bebeğe bulaşmasında koruyucu olduğu ve hastalık progreyonunda erteleme sağladığının kanıtı olarak gösterilmektedir (Mangano ve ark., 2000).

CCR2-64I heterozigotlarda bile AIDS gelişiminde önemli bir gecikmeyle ilişkilendirilmiştir. Bu polimorfizmi taşıyan AIDS hastaları HAART tedavisine önemli derecede olumlu prognoz göstermektedir (Apostolakis ve ark., 2005).

2.9.3. SDF1-3'A Polimorfizmi

SDF-1 inflamator olmayan bir kemokindir ve SDF1 (CXCL12) T-hücre tropik HIV-1 suşlarına koreseptör olan CXCR4 için temel ligandır (Verma ve ark., 2007). SDF1-3'A polimorfizmi SDF1'i kodlayan β transkript geninin yüksek derecede korunmuş 3' transle edilmeyen bölgesinin (3' UTR) 801. pozisyonundaki bir G-A transisyonudur (Paz-Y-Mino ve ark., 2005, Ammaranond ve ark., 2013). Bu transisyon SDF1'in aşırı üretimine yol açar. Sonuçta X4 HIV-1 suşlarının oluşumu sınırlandırılır; çünkü SDF1, CXCR4 reseptörlerine bağlanarak HIV-1'in bağlanmasını bloke eder (Juhász ve ark., 2011). SDF1-3'A da hastalık progresyonuna karşı koruma sağlamakla

ilişkili bulunmuştur ancak bu etki CCR2 genotipi tarafından etkilenmektedir. Kümülatif bir etkiyi işaret edecek şekilde her iki polimorfizmi de taşıyan enfekte bireylerin AIDS gelişimi riski %53 oranında azalmıştır (Vieira ve ark., 2011). SDF1-3'A polimorfizmi homozigot bireylerde AIDS gelişiminde erteleme ve heterozigot gebe kadınlarda HIV-1'in prenatal transmisyonuyla ilişkilidir (Khabour ve ark., 2013).

SDF1-3'A polimorfizminin dağılımı Güneydoğu Asya ve Avustralya yerli popülasyonlarında yüksek sıklıklarda gözlenmiş olmakla birlikte etnik gruplar boyunca geniş bir aralıkta dağılım göstermektedir (Verma ve ark., 2007).

SDF-1-3'A dağılımı farklı popülasyonlarda büyük oranda değişiklik göstermektedir; Afrikalılarda %2-9 arasında; Okyanusya bölgesinde %54-71 arasında değişiklik gösterir (Lewandowska ve ark., 2002;Vieira ve ark., 2011).

Kapsamlı bir literatür taraması sonucunda dünyanın çeşitli popülasyonlarında HIV/AIDS korucu allellerinin sıklıkları araştırılmış olup; bu değerler Çizelge 2.2.'de belirtilmektedir.

Çizelge 2.2. Dünyanın çeşitli popülasyonlarında HIV/AIDS koruyucu allellerinin sıklıkları

Ülke	Birey Sayısı (n)	CCR5-Δ32 (%)	CCR2-64I (%)	SDF1-3'A (%)	Referans
Macaristan (Vlach Çingeneleri)	560	12.2	18.6	11.5	Juhász ve ark., 2011
Çin (Guangxi Zhuang)	180 150 (HIV+)	0 0	24.7 20.3	30.6 29.3	Su ve ark., 2010
Girit	200	3.25	11.75	29.75	Apostolakis ve ark., 2005
Ekvador	225	0.5	16.6	48	Paz-Y-Mino ve ark., 2005
Ürdün	540	0.6	17.5	34.2	Khabour ve ark., 2013
Brezilya	249 (HIV +)	2.4	11.3	20.7	Vieira ve ark., 2011
Kamerun	147 32 (HIV+)	0	17.6	100	Nkenfou ve ark., 2013
Kuzey Hindistan	500	1.5	9.1	20.4	Verma ve ark., 2006
Tayland	221 (HIV+)	0	16	25	Ammaranond ve ark., 2012
Rusya	94 (HIV+)	15	12	21	Kozhekbaeva ve ark., 2004
Ukrayna	117 (HIV+)	12	7	20	Kozhekbaeva ve ark., 2004
Belarus	125 (HIV+)	12	8	26	Kozhekbaeva ve ark., 2004
Mısır ve Suriye	200	0.6			Salem ve Batzler, 2006
Türkiye (Sivas)	390	2.18			Degerli ve ark., 2005
Türkiye (Orta Karadeniz)	449	5.2			Güneş ve ark., 2007
Türkiye (Karadeniz)	61	4.1			Karakaya ve ark., 2013

(Devamı arkada)

Türkiye (Marmara)	58	0			Karakaya ve ark., 2013
Türkiye (Ege)	57	1.75			Karakaya ve ark., 2013
Türkiye (Akdeniz)	54	0.93			Karakaya ve ark., 2013
Türkiye (Güneydoğu Anadolu)	54	0.93			Karakaya ve ark., 2013
Türkiye (Doğu Anadolu)	54	2.78			Karakaya ve ark., 2013
Türkiye (İç Anadolu)	62	7.26			Karakaya ve ark., 2013
Rusya Karışık	53	10.4			Yudin ve ark., 1998
Batı Sibirya	27	22.2			
Merkez Asya					Yudin ve ark., 1998
Yerlileri	107	0.5			
Tuvan	77	0.6			
Moğol	30	0			
Inuit (Kanada)	40	0			Yudin ve ark., 1998
Fransa	1836	9.2			Lucotte ve
Kuzey Fransa		11.2			Mercier, 1998
Güney Fransa		6.3			
Fransa	45 (HIV+Çocuk)	10			Buseyne ve ark., 1998
Fransa	70 (HIV+Yavaş Progresyon)	18.6	12.9	19.3	Magierowska ve ark., 1999
Fransa	83	5.4	7.8	24.1	Magierowska ve ark., 1999
Güney Hindistan/	525				Ramana ve ark., 2001
Andhra Pradesh	277	~0	≤10	17 - 24	
Kast ve Kabileler	248	~0	4 - 17	22 - 35	
İzole Müslümanlar					
Tunus	145	1.03	19.31		Barbouche ve ark., 2001

(Devamı arkada)

İsrail Aşkenazi Yahudileri Sefarad Yahudileri		13.8 (n=363) 4.9 (n=257)	9.2 (n=142) 13.4 (n=67)		Maayan ve ark., 2000
Rusya/Moskova	122		11.06	21.25	Ryabov ve ark., 2002
Rusya/Moskova	171	9.06	10.61	22.18	Ryabov ve ark.,2004
Belçika	310	11.9	7.4		Struyf ve ark., 2000
Arjantin Kızılderilileri (Chiriguanos)	42	1.19	25.71		Mangano ve ark., 2001
Meksika	385 (HIV+) 472	3.5 3.28			Estrada-Aguirre ve ark., 2013
Polonya	1063		11.3	14.6	Lewandowska ve ark., 2002
Kafkaslar (Amerika)	58 (HIV +)	7.8		18.1	Sei ve ark., 2001
Afro- Amerikalılar	60 (HIV +)	1.7		10.0	Sei ve ark., 2001
İspanyollar (Amerika)	9 (HIV +)	5.6		16.7	Sei ve ark., 2001
Kafkas İspanyolları	184 (HIV+) 200 36 (HIV-ESN)	10.9 6.5 6.9			Veloso ve ark., 2010
İspanya	152 (HIV+) 148			29.6 25.6	Soriano ve ark., 2002
Tunus	140 (HIV+) 164			57.1 26.8	Amara ve ark., 2010
Japonya	393			34.47	Ikegawa ve ark., 2001
İtalya	37		13	15	Su ve ark., 2000
Kuzey Avrupa	23		16	22	Su ve ark., 2000
Almanya	25	7	13	17	Su ve ark., 2000

(Devamı arkada)

Polonya	26	14	18	18	Su ve ark., 2000
İspanya	26	2	8	18	Su ve ark., 2000
Hindistan Assam Kastı	26	0	22	24	Su ve ark., 2000
Hindistan Rajasthani	25	5	5	42	Su ve ark., 2000
Birleşik Arap Emirlikleri	26	0	6	35	Su ve ark., 2000
Benin (Afrika)	26	0	11	0	Su ve ark., 2000
Biaka Pigmeleri (Afrika)	35	0	11	3	Su ve ark., 2000
Sudan	25	0	19	50	Su ve ark., 2000
Mbuti Pigmeleri (Afrika)	20	0	10	8	Su ve ark., 2000
Lissongo (Afrika)	11	0	14	9	Su ve ark., 2000
Güney Karolina Zencileri	26	20	10	12	Su ve ark., 2000
Nijerya	23	0	12	12	Su ve ark., 2000
Brezilya Zencileri	26	4	18	16	Su ve ark., 2000
Karitiana (Brezilya Yerlileri)	36	0	7	6	Su ve ark., 2000
Güney Amerika (Mayalar)	40	0	33	15	Su ve ark., 2000
Surui (Brezilya Yerlileri)	20	0	3	25	Su ve ark., 2000
Amerikan Samoası	25	0	0	22	Su ve ark., 2000
Avustralya Aborjinleri	14	0	10	54	Su ve ark., 2000
Yeni Gine 1	69	0	18	66	Su ve ark., 2000

(Devamı arkada)

Yeni Gine 2	21	0	17	71	Su ve ark., 2000
Yeni Gine 3	26	0	7	72	Su ve ark., 2000
Malezya	12	0	0	67	Su ve ark., 2000
Ewenki (Kuzey Asya)	17	0	28	9	Su ve ark., 2000
Baryat (Kuzey Asya)	5	0	57	10	Su ve ark., 2000
Hui (Kuzey Asya)	19	0	20	11	Su ve ark., 2000
Tibet	25	2	28	12	Su ve ark., 2000
Uygur	10	0	20	20	Su ve ark., 2000
Güney Kore	28	0	26	27	Su ve ark., 2000
Japonya 1	15	0	11	37	Su ve ark., 2000
Japonya 2	26	0	24	33	Su ve ark., 2000
Mançurya	33	0	12	38	Su ve ark., 2000
Wa (Güneydoğu Asya)	35	0	16	6	Su ve ark., 2000
Ami (Güneydoğu Asya)	10	0	0	10	Su ve ark., 2000
Anni (Güneydoğu Asya)	21	0	0	12	Su ve ark., 2000
Atayal 1 (Güneydoğu Asya)	32	0	11	17	Su ve ark., 2000
Atayal 2 (Güneydoğu Asya)	20	0	3	13	Su ve ark., 2000
Lahu (Güneydoğu Asya)	11	0	0	14	Su ve ark., 2000
Bulang (Güneydoğu Asya)	26	0	0	15	Su ve ark., 2000

(Devamı arkada)

Yi (Güneydoğu Asya)	19	0	24	16	Su ve ark., 2000
Karaçi (Güneydoğu Asya)	26	0	25	17	Su ve ark., 2000
Deang (Güneydoğu Asya)	6	0	17	17	Su ve ark., 2000
Batak (Güneydoğu Asya)	26	0	25	20	Su ve ark., 2000
Kuzeydoğu Tayland	26	0	17	23	Su ve ark., 2000
Jingpo (Güneydoğu Asya)	15	0	7	23	Su ve ark., 2000
Malay (Güneydoğu Asya)	25	0	22	25	Su ve ark., 2000
Ahom (Güneydoğu Asya)	25	0	19	25	Su ve ark., 2000
Tujia (Güneydoğu Asya)	20	0	25	28	Su ve ark., 2000
Yao-Nandan (Güneydoğu Asya)	20	0	0	28	Su ve ark., 2000
Dong (Güneydoğu Asya)	20	0	15	30	Su ve ark., 2000
She (Güneydoğu Asya)	20	0	15	30	Su ve ark., 2000
Yao-Jinxu (Güneydoğu Asya)	20	0	8	30	Su ve ark., 2000
Cambodian 1 (Güneydoğu Asya)	28	2	15	32	Su ve ark., 2000
Cambodian 2 (Güneydoğu Asya)	26	0	22	32	Su ve ark., 2000
Pawian (Güneydoğu Asya)	20	0	3	33	Su ve ark., 2000
Dai (Güneydoğu Asya)	12	0	7	33	Su ve ark., 2000
Li (Güneydoğu Asya)	20	0	5	35	Su ve ark., 2000
Javanese (Güneydoğu Asya)	24	0	10	37	Su ve ark., 2000

(Devamı arkada)

Yami (Güneydoğu Asya)	20	0	5	43	Su ve ark., 2000
Kuzeybatı Han (Çin)	24	0	23	19	Su ve ark., 2000
Güneybatı Han (Çin)	48	0	18	22	Su ve ark., 2000
Kuzey Han (Çin)	138	0	21	24	Su ve ark., 2000
Doğu Han (Çin)	407	0	20	25	Su ve ark., 2000
Merkez Han (Çin)	168	0	22	26	Su ve ark., 2000
Kuzeydoğu Han (Çin)	37	0	24	26	Su ve ark., 2000
Güneydoğu Han (Çin)	40	0	22	26	Su ve ark., 2000
Güney Han (Çin)	34	0	11	34	Su ve ark., 2000
Çin Chengdu	25	0	18	34	Su ve ark., 2000
Güney Fransa	132 169 (HIV+) 104 (HAART'a cevap veren) 65 (HAART'a cevap vermeyen)	6 8.3 10.1 5.4	7.9 5 4.8 5.4	20 20.7 21.6 19.2	Puissant ve ark., 2006
Kolombiya	72 (HIV+) 100	4.2 4			Rugeles ve ark., 2002
Mordovya	86	16.3			Libert ve ark., 1998
Finlandiya	98	15.8			Libert ve ark., 1998
Rusya	83	13.9			Libert ve ark., 1998
Litvanya	283	11.5			Libert ve ark., 1998
İsveç Samileri	120	8.3			Libert ve ark., 1998

(Devamı arkada)

İsveç	201	14.2			Libert ve ark., 1998
Norveç	100	10.5			Libert ve ark., 1998
Danimarka	100	11.0			Libert ve ark., 1998
Fransa (Brittany)	100	11.0			Libert ve ark., 1998
Fransa (Montpellier)	99	10.01			Libert ve ark., 1998
Belçika	704	9.2			Libert ve ark., 1998
İspanya (Murcia)	100	9.5			Libert ve ark., 1998
İspanya (Basklar)	89	6.2			Libert ve ark., 1998
Portekiz	101	6.4			Libert ve ark., 1998
Macaristan	99	8.6			Libert ve ark., 1998
İtalya (Milano)	98	8.7			Libert ve ark., 1998
Sardunya Adası	100	4.0			Libert ve ark., 1998
Türkiye	104	6.3			Libert ve ark., 1998
Yunanistan	138 (HIV+) 240	2.2 5.2	13.4 14.6		Papa ve ark., 2000
Kıbrıs Yunanları	1002	2.9			Christodoulou ve ark. 1997
Hırvatistan	303	7.1			Ristić ve ark., 2005
İtalya (Pavia)	55			3.6	Guerini ve ark., 2008
İtalya (Podova)	148 (HIV+Çocuk) 280 (HIV-Çocuk)			16.85 20.50	Gianesin ve ark., 2012
İtalya (Milan)	123 158(HIV+)			21.95 23.10	Balotta ve ark., 1998

(Devamı arkada)

Brezilya (Güney Prana Kafkasları)	120	5.4			Muxel ve ark., 2008
Avusturya	225 (HIV+) 451 34 (HIV+Çocuk) 45 (Çocuk)	9.55 9.95 2.95 11.1			Mandl ve ark., 1998
Sicilya (Enna)	134	4.48			Sidoti ve ark., 2005
Sicilya (Trapani)	127	7.1			Sidoti ve ark., 2005
Sicilya (Palermo)	29	5.17			Sidoti ve ark., 2005
Sicilya (Catania)	45	1.11			Sidoti ve ark., 2005
Sicilya (Siracusa)	57	0.87			Sidoti ve ark., 2005
Sicilya (Agrigento)	91	3.84			Sidoti ve ark., 2005
Sicilya (Ragusa)	70	0			Sidoti ve ark., 2005
Sicilya (Messina)	234	6			Sidoti ve ark., 2005
Sicilya (Isole Eolie)	114	4.83			Sidoti ve ark., 2005
İspanya	164			32.32	Soriano ve ark., 2002
Brezilya	161 (HIV+) 617 (AIDS)			4.3 5.3	Reiche ve ark., 2006
Hindistan	100	<1			Husain ve ark., 1998
Çin (15 Etnik Popülasyon)	1082		20.64		Zhang ve ark., 2006
Güney Kore	200		4.5	8.5	Choi ve ark., 2007
Batı Kenya	445 (HIV+ Anne) 445 (HIV+Çocuk)		24.2 26.0		Brouwer ve ark., 2005
Lüksemburg	288 (HIV+) 158	9.35 10.76	9.49 7.39	5.11 0.8	Roman ve ark., 2002
Rusya (Udmurtlar)	96	7.0	7.0	15	Kofiadi ve ark., 2007
Rusya (Tatarlar)	96	7.0	6	14	Kofiadi ve ark., 2007
Rusya (Tyvanlar)	96	1.0	5	17	Kofiadi ve ark., 2007
Rusya (Vologda oblast)	96	10	8	17	Kofiadi ve ark., 2007
Rusya (Pomorlar)	96	18	9	17	Kofiadi ve ark., 2007

(Devamı arkada)

Amerika (İspanyol olmayan zenciler)	628 (HIV+Çocuk)	1.9	15.8	8.1	Singh ve ark., 2004
Amerika (İspanyol)	272 (HIV+Çocuk)	3	13.0	18.5	Singh ve ark., 2004
Amerika (İspanyol olmayan beyazlar)	140 (HIV+Çocuk)	7.5	9.25	19.05	Singh ve ark., 2004
Çin (Han)	1406	0.02	20.44	27.76	Wang ve ark., 2002
Çin (Uygur)	316	3.48	19.15	20.41	Wang ve ark., 2002
Çin (Moğol)	134	1.12	24.63	20.02	Wang ve ark., 2002
Çin (Tibet)	330	0	28.79	19.10	Wang ve ark., 2002
Çin (Hui)	386	0.13	21.76	24.87	Wang ve ark., 2002
Çin (Zhuang)	378	0	23.41	25.93	Wang ve ark., 2002
Çin (Dai)	101	0	20.79	20.30	Wang ve ark., 2002
Çin (Jinbo)	114	0	16.23	17.70	Wang ve ark., 2002
Çin (Han)	287 (HIV+) 49 (HIV-ESN) 388		22.6 19.4 23.1	25.6 23.5 25.8	Li ve ark., 2014
Çin (Han)	78 (HIV+) 70	2.56 1.43	14.74 18.57	21.15 27.14	Xu ve ark., 2010
Çin (Uygur)	251 (HIV+) 238	5.2 3.6	27.9 23.3	58.2 56.5	Tan ve ark., 2009
Hollanda	108	10.2	9.7		Schinkel ve ark. 1998
Sırbistan	352	4.55			Đorđević ve ark., 2013
Kenya (Nairobi)	272		25.7		Mabuka ve ark., 2009
Zimbabve	34 (HIV+Çocuk) 36 Çocuk		19.11 22.22	3 1.5	Mhandire ve ark., 2013
Hindistan	568 181 (HIV+)		8.9 7.3	20.9 26.2	Roy ve Chakrabarti, 2011
Bulgaristan	49 (HIV+)	2.04	16.32	26.52	Borissova ve ark., 2010
Amerika	204 125			18.4 18.8	Daar ve ark., 2005
İran	40 (HIV+) 530	0 0.76			Rahimi ve ark., 2014
İran	395	1.4	12.2		Gharagozloo ve ark., 2005
İtalya	30 120 (HIV+)	10 3.75			Trecarichi ve ark., 2006
Kuveyt	113		11.95		Voevodin ve ark., 1999

(Devamı arkada)

Kuveyt	108			25.93	Voevodin ve ark., 1999
Burkina Faso	51 (HIV+) 51	0 0			Kogané ve ark., 2014
Danimarka	105 (HIV+) 110		13.81 7.73		Olsen ve ark., 1998
Brezilya Amz. (Belem)		3.04 (394 kişi)	16.08 (56 kişi)	22.33 (345 kişi)	Carvalhaes ve ark., 2004
Brezilya Amz. (Afro-Brezilyalı)		0.75 (67 kişi)	22.95 (61 kişi)	15.33 (62 kişi)	Carvalhaes ve ark., 2004
Brezilya Amz. (Kızılderili)		0 (89 kişi)	13.27 (49 kişi)	22.74 (66kişi)	Carvalhaes ve ark., 2004
Brezilya Amz. (Japonlar)		0 (111 kişi)	24.00 (50 kişi)	26.00 (75 kişi)	Carvalhaes ve ark., 2004
Brezilya (Şehir Pop.)	100	3.5			Passos Jr ve Picanço, 1998
Brezilya (Kızılderili)	98	0			Passos Jr ve Picanço, 1998
Avustralya	64 (Yavaş Progresyon HIV+)	17.96			Stewart ve ark., 1997
Avustralya	95 (Hızlı Progresyon HIV+)	6.31			Stewart ve ark., 1997
Avustralya	120 (HIV+)	7.08			Stewart ve ark., 1997
Kolombiya	29 (HIV+) 39 (HIV-ESN) 150	1.7 3.8 2.7			Díaz ve ark., 2000
Bahreyn	304	2.8	8.9	26.5	Salem ve ark., 2009

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Katılımcı Profili ve Örneklerin Toplanması

Bu yüksek lisans tez çalışmasının 200 gönüllü ve sağlıklı birey dahil edilerek yapılması planlanmıştır. Çalışmaya başlamadan önce Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan 27.03.2014 tarihinde izin alınmıştır (Bkn. Ek-4). Etik kurul şartlarına uygun olarak katılımcılara çalışmanın önemi anlatılarak "Hasta Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" (Bkn. Ek-6) ve "Bilgi Formu" (Bkn. Ek-5) ile imzalı onay alınmıştır. Gönüllüler çoğunlukla Sinop Üniversitesi ve Sinop İl Özel İdaresi çalışanlarından oluşmaktadır. Çalışmada cinsiyet ayrımı yapılmamıştır. Yaş sınırı 18-65 yaş arasında değişmektedir. Katılımcılara ailevi kökenleri; başta HIV/AIDS olmak üzere herhangi bir bulaşıcı hastalık taşıyıp taşımadıkları sorulmuştur. Bulaşıcı hastalık taşıyanlar, kronik hastalığa sahip olanlar, yaşlı ve çocuklar çalışmaya dahil edilmemişlerdir. Bu kriterler baz alınarak 205 sağlıklı gönüllü birey çalışma kapsamına alınmıştır.

3.2. Uygulanan Yöntemler

Yazılı onayı alınarak bu çalışmaya dahil edilen sağlıklı gönüllülerden 5'er ml EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden standart salting-out (yoğun tuz konsantrasyonu ile çöktürme) yöntemi ile genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi (Miller ve ark., 1988). CCR5 geninde delesyon sonucu oluşan CCR5-Δ32, CCR2 ve SDF1 genlerinde tek baz değişimi sonucu oluşan CCR2-64I ve SDF1-3'A mutasyonlarının varlığını tespit edebilmek için PCR ve PCR-RFLP yöntemleri Juhász ve arkadaşlarının çalışması referans alınarak kullanıldı (Juhász ve ark., 2011). Agaroz jel elektroforezi sonrasında elde edilen sonuçlar jel görüntüleme ve dökümantasyon sisteminde değerlendirildi.

3.2.1. DNA İzolasyonu

Çalışmaya katılan gönüllülerden alınan 5'er ml kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu yapıldı. Bu işlem Miller'in "Salting out" (yoğun tuz

konsantrasyonunda çöktürme) yöntemi kullanılarak yapıldı (Miller ve ark., 1988). Salting out yöntemiyle kandan DNA izolasyonunun aşamaları aşağıda detaylı olarak belirtilmektedir.

I. GÜN

- EDTA'lı tüpteki 5 ml tam kan 50 ml'lik polipropilen tüpe alındı.
- Kan örneğinin üzerine, üç katı hacimde (15 ml) lizis tamponu ilave edilerek kapağı kapatılıp tüp birkaç kez ters yüz edildi.
- 2200 rpm'de 4°C'de 15 dk santrifüj yapıldı. Üstteki süpernatant atıldı.
- Lizis tamponu ile yıkama işlemi iki kez daha yapıp aynı devirde ve sıcaklıkta santrifüj edildi.
- Üstteki süpernatant atıldı. Dipte kalan çökelti üzerine 3 ml TEN tamponu konuldu ve kısa süre vortekslendi. Daha sonra 200 µl %10'luk SDS ve 50 µl proteinaz K ilave edildi.
- Bir gece (yaklaşık 16 saat) 37°C'de etüvde hafif çalkalamayla inkübe edildi.

II. GÜN

- Ertesi sabah örneklerin üzerine 1 ml 6 M NaCl solüsyonu ilave edildi ve kısa bir süre vortekslendi.
- 3300 rpm'de 20 dk oda ısısında santrifüj yapıldı.
- Üstteki süpernatant 15 ml'lik santrifüj tüpüne alındı ve tekrar 3300 rpm'de oda ısısında 30 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant başka bir 15 ml'lik santrifüj tüpüne alındı (dipteki çökeltinin süpernatanta karışmamasına dikkat edildi) çökelti atıldı.
- Süpernatantın üzerine iki katı hacimde absolü etil alkol ilave edildi. Tüp ağzı kapatılarak hafif şekilde alt üst edilerek DNA çöktürüldü.
- Pipet ucu ile DNA 15 ml'lik santrifüj tüpünden alındı ve içinde 1 ml % 70'lik etil alkol bulunan eppendorf tüpüne aktarıldı.
- Eppendorf tüp 14000 rpm'de 10 dk oda ısısında santrifüj yapıldıktan sonra üstteki alkol mikro pipetle çekilerek atıldı. Dipte pellet halinde kalan DNA, tüpün ağzı açık bırakılarak, 37°C'de etüvde 1 sa kadar bekletildi.
- DNA örneği üzerine 150 µl TE tamponu eklendi ve tüpün ağzı kapatılarak 37°C'ye ayarlanmış etüvde hafifçe çalkalanarak birkaç saat çözünmeye bırakıldı.
- Stok DNA örnekleri -20°C'de muhafazaya alındı.

3.2.2. DNA Miktarının Tayini

İzole edilen DNA'ların miktarını tayin edebilmek amacıyla spektrofotometrik ölçüm işlemi gerçekleştirildi. -20°C'de muhafaza edilen DNA örnekleri 1/100 dilüsyonla çözüldü. Bunun için 990 µl steril su koyduğumuz eppendorf tüpün içine stok DNA'dan 10 µl eklendi. İyi bir şekilde pipetajla homojen hale getirilen örneklerin UV spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında okuması yapıldı. 260 nm ve 280 nm dalga boyunda okunan değerler (OD) TE solüsyonu içindeki DNA miktarını göstermektedir. Bu iki okuma değerinin birbirine oranı ise elde edilen DNA'nın saflık oranını vermektedir. Saflık oranı 1,5 ve üzerinde olan değerlerin PCR çalışması yapmak için uygun olduğu kabul edilmektedir. Yaklaşık 10 adet temsili olarak seçilen örneğin spektrofotometrede değerlendirilmeleri yapılarak DNA izolasyonunun başarılı olduğu kanaatine varıldı ve PCR işlemleri için 1 µl genomik DNA kullanılmasına karar verildi. DNA konsantrasyonlarını hesaplamak için kullanılan formüller aşağıda detaylı bir şekilde gösterilmektedir.

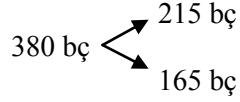
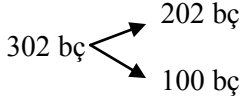
$$\text{DNA konsantrasyonu}_{260} = \text{OD}_{260} \times \text{Dilüsyon faktörü (100)} \times 50 \mu\text{g/ml (çift zincirli DNA'lar için standart katsayı)}$$

$$\text{DNA konsantrasyonu}_{280} = \text{OD}_{280} \times \text{Dilüsyon faktörü (100)} \times 50 \mu\text{g/ml (çift zincirli DNA'lar için standart katsayı)}$$

$$\text{DNA konsantrasyonu}_{260} / \text{DNA konsantrasyonu}_{280} = \text{DNA saflığının göstergesi}$$

Polimorfizm çalışmasında incelenen genlerin özellikleri, PCR işlemi için kullanılan primerler, PCR-RFLP işlemi için kullanılan restriksiyon enzimleri ve PCR-RFLP sonrası oluşan fragment uzunlukları Çizelge 3.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. Araştırılan genlerin özellikleri

Gen	CCR5-Δ32	CCR2-64I	SDF1-3’A (CXCL12)
OMIM No	601373	601267	600835
Gen ID No	1234	729230	6387
Kromozomal Lokalizasyon	3p21.31	3p21.31	10q11.1
Gen Büyükluğu	6065 bp	7179 bp	14945 bp
Ekzon, intron sayısı	3 ekzon	4 ekzon	6 ekzon
Polimorfizm	Delesyon	190 G → A	801 G → A
Snps No (rs)	rs333	rs1799864	rs1801157
PCR-RFLP kesim ürünleri			
Kullanılan Restriksiyon Enzimi		BseGI	MspI
Kullanılan Primerler	F: 5’CTTCATTACAC CTGCAGCTCT 3’ R: 5’CACAGCCCT GTGCCTCTTCTT 3’	F: 5’ GGATTGAACAA GGACGCATTTCCCC 3’ R: 5’ TTGCACATTGC ATTCCCAAAGACCC 3’	F: 5’ CAGTCAACCTG GGCAAAGCC 3’ R: 5’ AGCTTTGGTCC TGAGAGTCC 3’

3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi ve Örneklerin Görüntülenmesi

Yapılan PCR'in sağlıklı sonuç verdiğini görmek amacı ile standart %2,5'luk agaroz jel hazırlandı. 3 g tartılan agaroz jel, tampon sıvı olarak kullanılan 120 ml 1XTBE'ye eklenerek erlenmayerde karıştırıldı. Jelin iyice çözünüp eriyerek homojenize olmasını sağlamak amacıyla erlenmayer mikrodalgaya konularak ilk 3 seferde 30'ar saniye daha sonraki 4 seferde 15'er s aralıklarla taşması ve köpük oluşumu engellenerek çözünmesi sağlandı. Mikrodalgadan çıkarılan erlenmayer içinde sıvı fazda bulunan jel ~70-75 °C'ye kadar köpürtmeden karıştırılarak soğutuldu. Jelin içine 120 µl Etidyum bromid eklenerek homojenizasyon sağlanana kadar nazikçe karıştırıldı. Karışım içine tarak yerleştirilmiş elektroforez jel tepsisine köpük oluşmamasına dikkat edilerek döküldü. Oda sıcaklığındaki jel yaklaşık 1 saat polimerize olması beklendi. Elektroforez işlemi boyunca tampon çözeltisi olarak 1XTBE buffer kullanıldı. CCR5-Δ32 mutasyonu bir delesyon olduğu için PCR sonrası 5 µl 6X yükleme boyası ile 25 µl PCR ürünü karıştırılarak jel kuyucuklarına yüklendi. Sonuçlar jel görüntüleme ve dökümantasyon sisteminde değerlendirildi.

CCR2-64I ve SDF1-3'A mutasyonları SNP oldukları için PCR sonrası mutasyon noktalarından kesim için DNA kopyalarının RFLP işlemine tabi tutulmaları gerekmektedir. RFLP işlemine başlamadan önce yaptığımız PCR uygulamasının başarılı olup olmadığını öğrenmek amacıyla 2 µl 6X yükleme boyası ile 5 µl PCR ürünü jelde yürütüldü. PCR reaksiyonlarının başarılı olduğu belirlendikten sonra RFLP aşamasına geçildi. RFLP sonucu elde edilen ürünler CCR5-Δ32'de olduğu gibi 5 µl 6X yükleme boyası ile 25 µl PCR ürünü karıştırılarak jel kuyucuklarına yüklendi. Marker olarak Thermo Scientific marka pUC19 DNA/MspI (Hall) marker kullanıldı. Jelin ilk kuyucuğuna marker, diğer kuyucuklarına ise yükleme boyası ile karıştırılan örnekler yüklenerek 80-90 voltluk elektrik akımı ile yaklaşık 1 saat jelde yürümeleri takip edildi. Sonuçlar jel görüntüleme ve dökümantasyon sisteminde değerlendirildi.

3.2.4. CCR5-Δ32 Genotiplendirilmesi

CCR5-Δ32 polimorfizmi, genomik DNA'nın 3p21.31 bölgesinde bulunan CCR5 geninde 32 nükleotitlik delesyon (gtcagtatcaattctggaagaattccagaca) sonucu oluşan bir polimorfizmdir. Gen üzerindeki delesyonu belirleyebilmek amacıyla Juhász ve arkadaşlarının PCR metodu bir miktar modifiye edilerek çalışılmıştır (Juhász ve

ark.,2011). Bağlanma sıcaklığı 63°C olarak ayarlanarak 32 bç'lik CCR5-Δ32 delesyon bölgesini içeren 184 bç'lik kısım PCR yöntemi ile amplifiye edildi. 205 kan örneği için kullanılan primerler Çizelge 3.2.'de, bir örnek için hazırlanan 25 µl'lik PCR karışımındaki reaktifler ise Çizelge 3.3.'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.2. CCR5 geni genotiplemesinde kullanılan primerler

Primerler
PCR (F) 5'-CTTCATTACACCTGCAGCTCT-3' (R) 5'-CACAGCCCTGTGCCTCTTCTT-3'
F: Forward primer, R: Reverse primer

Çizelge 3.3. CCR5 geni PCR işleminde bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı

PCR bileşeni (stok)	25 µl karışımındaki miktar	Final konsantrasyonu
10X Taq DNA polimeraz tamponu	2,5 µl	1XTampon
MgCl ₂ (25mM)	2 µl	2 mM
dNTP mix (10 mM)	0,5 µl	0.2 mM
Primer Forward (100 µM)	0,25 µl	1µM
Primer Reverse (100 µM)	0,25 µl	1µM
Genomik DNA	1 µl	
Taq DNA polimeraz	0,3 µl	1,5 U
Steril bidistile su	18,2 µl	
Toplam	25 µl	

Genomik DNA hariç tutularak çalışılacak örnek sayısı kadar reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra karışım 24 µl'lik porsiyonlara bölündü ve her bir örnek için üzerlerine 1 µl genomik DNA eklenerek PCR cihazına yerleştirildi. Hazırlanan reaksiyon karışımı Çizelge 3.4.'te belirtilen koşullarda amplifikasyon işlemine tabi tutuldu. PCR işlemi sonucunda oluşan amplikonlar, önceden hazırlanan %2.5'luk agaroz jelde yürütülerek, oluşan bantlar UV görüntüleme ve dökümantasyon sistemi ile görüntülendi. CCR5-Δ32 için PCR sonrası elde edilen fragment uzunlukları Çizelge 3.5.'te belirtilmektedir.

Çizelge 3.4. CCR5-Δ32 PCR koşulları

PCR koşulları			
Ön denatürasyon	94 °C	5 dk	1 döngü
Denatürasyon	94 °C	30 s	
Annealing (bağlanma)	63 °C	30 s	35 döngü
Extension (uzama)	72 °C	45 s	
Final extension	72 °C	7 dk	1 döngü

Çizelge 3.5. PCR sonucu elde edilen fragment uzunlukları

Homozigot yabanıl tip (wt/wt)	184 baz çifti (bç)
Heterozigot mutant (wt/Δ32)	184 bç, 152 bç
Homozigot mutant (Δ32/Δ32)	152 bç

CCR5 geni delesyon bölgesini amplifiye etmede kullanılan primerlerin forward ve revers bağlanma bölgeleri ile delesyon bölgesinin nükleotit dizisi Şekil 3.1.'de gösterilmektedir.

CCR5

(NCBI Referans Dizi: NG_012637.1)

```
3061 gtgtcaactc ttgacagggc tctatTTTTat aggcttcttc tctggaatct tcttcatcat
3121 cctcctgaca atcgataggt acctggctgt cgtccatgct gtgtttgctt taaaagccag
3181 gacggtcacc tttggggtgg tgacaagtgt gatcacttgg gtggtggctg tggttgctgc

                                     → F Primer
3241 tctcccagga atcatcttta ccagatctca aaaagaaggt cttcattaca cctgcagctc

                                     → Delesyon (32bp)
3301 tcattttcca tacagTcagt atcaattctg gaagaatttc cagacattaa agatagtcac
3361 cttggggctg gtccctgcgc tgcttgctat ggtcatctgc tactcgggaa tcctaaaaac
3421 tctgcttcgg tgtcgaaatg agaagaagag gcacagggct gtgaggctta tcttcaccat

                                     R Primer ←
3481 catgattggt tattttctct tctgggctcc ctacaacatt gtccttctcc tgaacacctt
3541 ccaggaattc tttggcctga ataattgcag tagctctaac aggttggacc aagctatgca
3601 ggtgacagag actcttggga tgacgcactg ctgcatcaac cccatcatct atgcctttgt
```

Şekil 3.1. CCR5 geni delesyon bölgesini amplifiye etmede kullanılan primerlerin forward ve revers bağlanma bölgeleri ile delesyon bölgesinin nükleotit dizisi (Anonim, 2015b)

3.2.5. CCR2-64I Genotiplendirilmesi

CCR2-64I polimorfizmi, CCR2 geninin 190. nükleotit dizisinde meydana gelen G-A transisyonudur. Bu polimorfizmi belirlemek amacıyla genomik DNA örnekleri PCR ve PCR-RFLP yöntemleriyle değerlendirildi. Yöntem olarak Juhász ve arkadaşlarının PCR metodu bir miktar modifiye edilerek çalışılmıştır (Juhász ve ark., 2011). Bağlanma sıcaklığı 62°C olarak ayarlanmıştır. PCR işlemi için genomik DNA hariç tutularak çalışılacak örnek sayısı kadar reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra karışım 24 µl'lik porsiyonlara bölünüp ve her bir örnek için üzerlerine 1 µl genomik DNA eklenerek PCR cihazına yerleştirildi. Hazırlanan reaksiyon karışımı Çizelge 3.8.'de belirtilen koşullarda amplifikasyon işlemine tabi tutuldu. PCR işleminin başarılı olup olmadığını anlamak için 5 µl PCR ürünü 2 µl 6X yükleme boyası ile karıştırılarak %2,5'lük agaroz jelde yürütülmüştür. Başarılı PCR ampikonlarına polimorfizm

noktalarından kesim için RFLP metodu uygulanmıştır. PCR işleminde kullanılan primerler Çizelge 3.6.'da, PCR reaksiyon karışımında kullanılan reaktifler Çizelge 3.7.'de ve PCR-RFLP işleminde kullanılan reaktifler Çizelge 3.9.'da, PCR-RFLP sonrası elde edilen fragment uzunlukları ise Çizelge 3.10.'da sırasıyla belirtilmiştir.

Çizelge 3.6. CCR2 geni genotiplemesinde kullanılan primerler

Primerler
PCR (F) 5'-GGATTGAACAAGGACGCATTTCCCC-3' (R) 5'-TTGCACATTGCATTCCCAAAGACCC-3'
F: Forward primer, R: Reverse primer

Çizelge 3.7. CCR2 geni PCR işleminde bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı

PCR Bileşeni (stok)	25 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyonu
10X Taq DNA polimeraz tamponu	2,5 µl	1XTampon
MgCl ₂ (25 mM)	2 µl	2 mM
dNTP mix (10mM)	0,5 µl	0.2 mM
Primer Forward (100 µM)	0,25 µl	1 µM
Primer Reverse (100 µM)	0,25 µl	1 µM
Genomik DNA	1 µl	
Taq DNA polimeraz	0,3 µl	1,5 U
Steril bidistile su	18,2 µl	
Toplam	25 µl	

Çizelge 3.8. CCR2-64I PCR koşulları

PCR koşulları			
Ön denatürasyon	94 °C	5 dk	1 döngü
Denatürasyon	94 °C	30 s	
Annealing (bağlanma)	62 °C	30 s	35 döngü
Extension (uzama)	72 °C	45 s	
Final extension	72 °C	7 dk	1 döngü

Çizelge 3.9. CCR2 geni PCR-RFLP reaksiyonunda bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı

RFLP Bileşeni (stok)	25 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyonu
10X Buffer Tango	2,5 µl	1XTampon
PCR ürünü	10 µl	
<i>BseGI</i> restriksiyon enzimi (10 U/µl)	0,6 µl	6 U
Steril bidistile su	11,9 µl	
Toplam	25 µl	

PCR işleminin ardından, PCR-RFLP işlemi için hazırlanan reaksiyon karışımı RFLP tüplerine 15'er µl olarak porsiyonlanıp, üzerine 10 µl PCR ürünü ilave edilerek karışımların homojenizasyonu sağlanmıştır. Restriksiyon enzimi olarak *BseGI* (10U/ µl) kullanılmıştır. 55°C 'lik etüvde reaksiyon karışımının buharlaşmaması için her örneğin üzerine 15 µl mineral yağ eklenmiştir. Örnekler 16 saat restriksiyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon süresinin bitiminde örnekler %2,5'luk agaroz jelde yürütülerek UV görüntüleme ve dökümantasyon sistemi ile görüntülenmiştir.

Çizelge 3.10. CCR2 geninde PCR-RFLP sonucu elde edilen fragment uzunlukları

Homozigot yabanıl tip (GG)	380 bç
Heterozigot mutant (GA)	380 bç, 215 bç, 165 bç
Homozigot mutant (AA)	215 bç, 165 bç

CCR2 geninin amplifikasyonunda kullanılan primerlerin forward ve revers bağlanma bölgeleri ile SNP bölgesi Şekil 3.2.'de gösterilmektedir.

CCR2

(NCBI Referans Dizi: NG_021428.1)

```
3541 tgttgggtaa atcattgatg tctgccacta ggaatgaaag gcaaatcagg aactggcaca
3601 catgctttca gggagatggc tgcaagggag agggcaaaga ctgggaagtt gcttatgtgg
3661 tgccagacta tttggaagat catggattgc ggtgtttgtg ttgtgtggtc atcattttgt

                                → F Primer
3721 tctttgttta cagaacagag aaagtggatt gaacaaggac gcatttcccc agtacatcca|
3781 caacatgctg tccacatctc gttctcggtt tatcagaaat accaacgaga gcggtgaaga
3841 agtcaccacc ttttttgatt atgattacgg tgctccctgt cataaatttg acgtgaagca

                                ↓ BseGI
3901 aattggggcc caactcctgc ctccgctcta ctcgctgggt ttcattcttg gttttgtagg
3961 caacatgctg gtcgtcctca tcttaataaa ctgcaaaaag ctgaagtgc tgaactgacat
4021 ttacctgctc aacctggcca tctctgatct gctttttctt attactctcc cattgtgggc
4081 tcactctgct gcaaatgagt gggctcttgg gaatgcaatg tgcaaattat tcacagggct

                                R Primer ←
4141 gtatcacatc gggtattttg gcggaatctt cttcatcatc ctctgacaa tcgatagata
4201 cctggctatt gtccatgctg tgtttgcttt aaaagccagg acggtcacct ttgggggtggt
4261 gacaagtgtg atcacctggt tggtagctgt gtttgcttct gtcccaggaa tcacttttac
```

Şekil 3.2. CCR2 geninin amplifikasyonunda kullanılan primerlerin forward ve revers bağlanma bölgeleri ile SNP bölgesi (Anonim, 2015c)

3.2.6. SDF1-3'A Genotiplendirilmesi

SDF1 proteinini kodlayan β transkript geninin yüksek derecede korunmuş 3' transle edilmeyen bölgesinin (3' UTR) 801. pozisyonundaki bir G-A transisyonu PCR ve PCR-RFLP yöntemleriyle çalışıldı. Bu SNP polimorfizmini belirleyebilmek için Juhász ve arkadaşlarının PCR metodu bir miktar modifiye edilerek kullanıldı (Juhász ve ark., 2011). Bağlanma sıcaklığı 62°C olarak ayarlandı. SDF1-3'A geni ile CCR2-64I geni aynı PCR koşullarında optimize edilmişlerdir. PCR işlemi için genomik DNA hariç tutularak çalışılacak örnek sayısı kadar reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra karışım 24 µl'lik porsiyonlara bölünüp ve her bir örnek için üzerlerine 1 µl genomik DNA eklenerek PCR cihazına yerleştirildi. PCR işleminin başarılı olup olmadığını anlamak için 5 µl PCR ürünü 2 µl 6X yükleme boyası ile karıştırılarak %2,5'luk agaroz jelde yürütülmüştür. Başarılı PCR amplikonlara mutasyon noktalarından kesim için PCR-

RFLP metodu uygulanmıştır. PCR işleminde kullanılan primerler Çizelge 3.11.'de, PCR reaksiyon karışımında kullanılan reaktifler Çizelge 3.12.'de, PCR koşulları Çizelge 3.13.'de, RFLP işleminde kullanılan reaktifler Çizelge 3.14.'de, PCR-RFLP sonrası elde edilen fragment uzunlukları ise Çizelge 3.15.'de sırasıyla belirtilmiştir.

Çizelge 3.11. SDF1 geni genotiplemesinde kullanılan primerler

Primerler
PCR (F) 5'-CAGTCAACCTGGGCAAAGCC-3' (R) 5'-AGCTTTGGTCCTGAGAGTCC-3'
F: Forward primer, R: Reverse primer

Çizelge 3.12. SDF1 geni PCR işleminde bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı

PCR Bileşeni (stok)	25 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyonu
10X Taq DNA polimeraz tamponu	2,5 µl	1XTampon
MgCl ₂ (25 mM)	2 µl	2 mM
dNTP mix (10 mM)	0,5 µl	0.2 mM
Primer Forward (100 µM)	0,25 µl	1 µM
Primer Reverse (100 µM)	0,25 µl	1 µM
Genomik DNA	1 µl	
Taq DNA polimeraz	0,3 µl	1,5 U
Steril bidistile su	18,2 µl	
Toplam	25 µl	

Çizelge 3.13. SDF13'A PCR koşulları

PCR koşulları			
Ön denatürasyon	94 °C	5 dk	1 döngü
Denatürasyon	94 °C	30 s	
Annealing (bağlanma)	62 °C	30 s	35 döngü
Extension (uzama)	72 °C	45 s	
Final extension	72 °C	7 dk	1 döngü

Çizelge 3.14. SDF1-3'A RFLP işleminde bir örnek için hazırlanan reaksiyon karışımı

RFLP Bileşeni (stok)	15 µl karışımdaki miktar	Final konsantrasyonu
10x Buffer Tango	2,5 µl	1xTampon
PCR ürünü	10 µl	
MspI Restriksiyon enzimi (10 U/µl)	0,6 µl	6 U
Steril bidistile su	11,9 µl	
Toplam	25 µl	

SDF1-3'A mutasyonunu belirlemek için PCR işleminin ardından, PCR-RFLP işlemi için hazırlanan reaksiyon karışımı RFLP tüplerine 15'er µl olarak porsiyonlanıp, üzerine 10 µl PCR ürünü ilave edilerek karışımların homojenizasyonu sağlanmıştır. 37°C'lik etüvde 16 saat restriksiyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon süresinin bitiminde RFLP ürünleri %2,5'luk agaroz jelde yürütülerek UV görüntüleme ve dökümantasyon sistemi ile görüntülenmiştir.

Çizelge 3.15. SDF1-3'A PCR-RFLP sonucu elde edilen fragment uzunlukları

Homozigot yabanıl tip (GG)	100 bç, 202 bç
Heterozigot mutant (GA)	302 bç, 202 bç, 100 bç
Homozigot mutant (AA)	302 bç

SDF1 geninin amplifikasyonunda kullanılan primerlerin forward ve revers bağlanma bölgeleri ile SNP bölgesi Şekil 3.3.'de gösterilmektedir.

SDF1
(NCBI Referans Dizi: NG_016861.1)

```

12001 gactaaggcc attattgtac ttgccttatt agagtgtctt tccacggagc cactcctctg
12061 actcagggct cctgggtttt gtattctctg agctgtgcag gtggggagac tgggctgagg
12121 gaggcctggcc ccatggtcag ccctaggggtg gagagccacc aagaggggacg cctgggggtg

      →F Primer
12181 ccaggaccag tcaacctggg caaagcctag tgaaggcttc tctctgtggg atgggatggg

                                     ↓ MspI
12241 ggagggccac atgggaggct caccctcttc tccatccaca tgggagccg gctctgctct
12301 tctgggaggg cagcagggct accctgagct gaggcagcag tgtgaggcca gggcagagtg
12361 agaccagacc ctcatccga gcacctccac atcctccacg ttctgctcat cattctctgt
12421 ctcatccatc atcatgtgtg tccacgactg tctccatggc cccgcaaaa gactctcagg
12481 accaaagctt tcatgtaaac tgtgcaccaa gcaggaaatg aaaatgtctt gtgttacctg

      R Primer←
12541 aaaacactgt gcacatctgt gtcttggttg gaatattgtc cattgtccaa tcctatgttt
12601 ttgttcaaag ccagcgtcct cctctgtgac caatgtcttg atgcatgcac tgttccccct
12661 gtgcagccgc tgagcgagga gatgctcctt gggccctttg agtcagtc ccgatcagagc

```

Şekil 3.3. SDF1 geninin amplifikasyonunda kullanılan primerlerin forward ve revers bağlanma bölgeleri ile SNP bölgesi (Anonim, 2015d)

3.2.7. İstatistiksel Değerlendirme

SSPS 22 istatistik paket programı kullanılarak toplumlar arasındaki allel frekanslarını karşılaştırmak amacıyla toplum (popülasyon) oranlarına dayalı iki örneklem Z test istatistikleri hesaplandı. Ayrıca araştırma grubumuzun genotip oranları hesaplanarak popülasyonun Hardy-Weinberg dengesine uygunluk testi R 3.1.3 programında hesaplandı.

Araştırma grubumuzun genotip oranları hesaplandığında popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür. Çalışmamızın temel amaçlarından biri elde ettiğimiz sonuçlarla farklı ülke ve etnik gruplara ait allel frekanslarını karşılaştırmaktır. Bu amaçla popülasyon oranlarına dayalı iki örneklem Z testi kullanılmıştır. Bu test istatistiğinde hipotezler;

$H_0: p_1=p_2$; popülasyonların polimorfik allel frekans oranları arasında fark yoktur.
(fark önemsizdir)

$H_1: p_1 \neq p_2$; popülasyonların polimorfik allel frekans oranları arasında fark vardır.
(fark önemlidir) şeklinde kurulur.

Burada p_1 ; çalışmamızda elde ettiğimiz polimorfik allellerin oranı, p_2 ise karşılaştırma yapılacak ülke, etnik grup ya da diğer popülasyonlardaki polimorfik allellerin oranını ifade etmektedir. İstatistiksel önem seviyesi $\alpha=0.05$ alınarak test sonuçları değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen Türk popülasyonuna ait polimorfik allel frekansları, yapılan geniş çaplı literatür taraması ile dünyanın çeşitli ülke ve etnik gruplarına ait frekanslarla p değerleri üzerinden kıyaslanmıştır. CCR5- $\Delta 32$, CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfizmleri açısından benzerlik gösteren ve farklı olan popülasyonlar belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubuna Ait Verilerin Değerlendirilmesi

Yaptığımız tez çalışması 205 kişiden alınan kan materyallerinden izole edilen DNA örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma kohortu cinsiyet ayrımı yapılmaksızın 18 yaş üstü sağlıklı gönüllü bireylerden oluşmaktadır. Bireylerin herhangi bir bulaşıcı hastalık ve/veya kronik hastalığa sahip olmaması kriteri göz önüne alınarak çalışma grubu oluşturulmuştur. Yapılan genomik DNA izolasyonu, PCR ve PCR-RFLP metotları neticesinde araştırmaya dâhil edilen 205 bireyin;

%64,6'sının (132 birey) araştırılan polimorfizmlerin en az birini homozigot veya heterozigot durumda taşıdığı,

%19'unun (39 birey) araştırılan polimorfizmlerden ikisini homozigot veya heterozigot durumda taşıdığı,

%0,5'inin (1 birey) her üç polimorfizmi de heterozigot olarak taşıdığı,

%33,2'sinin ise (68 birey) polimorfizmlerden hiçbirini taşımadığı tespit edilmiştir.

Araştırılan polimorfizmlerde genotipler belirlenerek Hardy-Weinberg dengesinin sağlanıp sağlanmadığı kontrol edilmiştir. CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfizmlerinin üçünün de Hardy-Weinberg dengesinde olduğu gözlemlenmiştir. Çizelge 4.1.'de çalışma grubunun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu sayısal verilerle ayrıntılı bir şekilde gösterilmektedir.

Çizelge 4.1. Çalışma grubunun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu gösteren veri

CCR5-Δ32					
Genotip	Gözlenen Birey Sayısı (O)	Beklenen Birey Sayısı(E)	(O-E) ² /E		
wt/wt	192	192,2060976	0,000220993	p alleli	0,968293
wt/Δ32	13	12,58780488	0,013497573	q alleli	0,031707
Δ32/Δ32	0	0,206097561	0,206097561	Toplam	1
Toplam			0,219816127		
CCR2-64I					
Genotip	Gözlenen Birey Sayısı(O)	Beklenen Birey Sayısı(E)	(O-E) ² /E		
wt/wt (GG)	141	138,4987805	0,045170788	p alleli	0,821951
wt/64I (GA)	55	60,00243902	0,417056316	q alleli	0,178049
64I/64I (AA)	9	6,498780488	0,962657388	Toplam	1
Toplam			1,424884492		
SDF1-3'A					
Genotip	Gözlenen Birey Sayısı(O)	Beklenen Birey Sayısı(E)	(O-E) ² /E		
wt/wt (GG)	106	109,0256098	0,083964808	p alleli	0,729268
wt/3'A (GA)	87	80,94878049	0,452350948	q alleli	0,270732
3'A/3'A (AA)	12	15,02560976	0,609247448	Toplam	1
Toplam			1,145563204		

O: Observed (Gözlenen)
E: Expected (Beklenen)

4.1.1. CCR5-Δ32 Polimorfizm Bulguları

CCR5 geninde 32 bç'lık delesyon sonucu oluşan CCR5-Δ32 polimorfizmini belirlemek amacıyla sağlıklı gönüllülerden alınan kan örneklerinden izole edilen genomik DNA'lar PCR yöntemi ile amplifiye edildi. Amplifikasyon ürünleri EtBr ile boyanmış %2,5'luk agaroz jelde yürütülerek sonuçlar jel görüntüleme ve dökümantasyon sisteminde değerlendirildi.

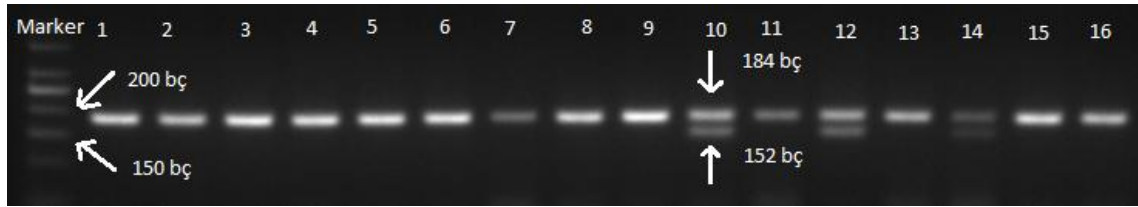
205 kişilik çalışma grubundaki 192 bireyin (%93.66) wild-type genotipte, 13 kişinin (%6.34) ise heterozigot genotipte olduğu belirlendi. Çizelge 4.2.'de CCR5-Δ32 polimorfizmi genotip ve allel frekansları verilmektedir.

Çizelge 4.2. CCR5-Δ32 polimorfizmi genotip ve allel frekansları

CCR5-Δ32	wt/wt	wt/Δ32	Δ32/Δ32	Toplam
Birey sayısı	192	13	0	205
Genotip frekansı	0.9366 (%93.66)	0.0634 (%6.34)	0	1
Allel frekansı	$0.9366 + \frac{1}{2} \times 0.0634 = 0.9683$ (%96.83) → p alleli	$\frac{1}{2} \times 0.0634 = 0.0317$ (%3.17) → q alleli		1

CCR5-Δ32 polimorfizmi analizinde homozigot mutant birey gözlenmedi.

CCR5-Δ32 polimorfizmi için ampliconların agaroz jel görüntüsü Şekil 4.1.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.1. CCR5-Δ32 polimorfizminin jel görüntüsü

Marker: Gene Ruler 50 bp DNA Ladder

(Wild-type, 184 bç)

(Heterozigot mutant, 184 bç, 152 bç)

(Homozigot mutant, 152 bç)

1-9) Wild-type, 10) Heterozigot mutant, 11) Wild-type, 12) Heterozigot mutant

13) Wild-type, 14) Heterozigot mutant, 15-16) Wild-type

4.1.2. CCR2-64I Polimorfizm Bulguları

CCR2-64I polimorfizmi CCR2 geninin 190. pozisyonunda guanin nükleotidi yerine adenin nükleotidinin gelmesi sonucu oluşan bir SNP'dir. Tek nükleotit değişimini gözlemlemek amacıyla gönüllü donörlerin kanlarından izole edilen genomik DNA'lar PCR yöntemiyle amplifiye edildi. RFLP işlemi için ampliconlar *BseGI* restriksiyon enzimiyle kesilerek oluşan bantlar %2.5'luk agaroz jelde yürütüldü ve jel görüntüleme ve dökümantasyon sisteminde değerlendirildi.

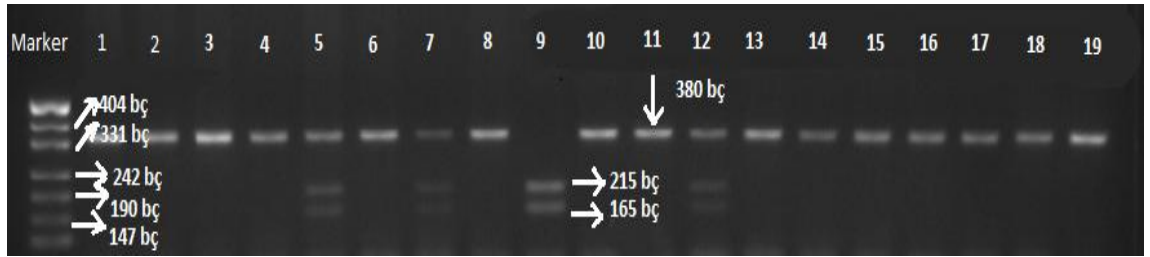
Araştırmaya katılan toplamda 205 bireyden 141 bireyin (%69) wild-type, 55 bireyin (%27) heterozigot mutant ve 9 bireyin (%4) homozigot mutant olduğu

belirlendi. Çizelge 4.3.'te CCR2-64I polimorfizmi genotip ve allel frekansları verilmiştir.

Çizelge 4.3. CCR2-64I polimorfizmi genotip ve allel frekansları

CCR2-64I	wt/wt (GG)	wt/64I (GA)	64I/64I (AA)	Toplam
Birey sayısı	141	55	9	205
Genotip frekansı	0.6878 (%68.78)	0.2683 (%26.83)	0.0439 (%4.39)	1
Allel frekansı	$0.6878 + 1/2 * 0.2683 = 0,8219$ (%82.20) → p alleli	$1/2 * 0.2683 + 0.0439 = 0,1780$ (%17.80) → q alleli		1

CCR2-64I polimorfizminin incelenmesi için ampliconların *BseGI* restriksiyon enzimiyle kesilerek oluşan jel görüntüsü Şekil 4.2.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.2. CCR2-64I polimorfizminin jel görüntüsü,
Marker: pUC19 DNA/MspI (HpaII)
(Wild-type, 380 bç)
(Heterozigot mutant, 380 bç, 215 bç, 165 bç)
(Homozigot mutant, 215 bç, 165 bç)
1-4) Wild-type, 5) Heterozigot mutant, 6) Wild-type, 7) Heterozigot mutant,
8) Wild-type, 9) Heterozigot mutant, 10-11) Wild-type, 12) Heterozigot mutant,
13-19) Wild-type

4.1.3. SDF1-3'A Polimorfizm Bulguları

SDF1-3'A polimorfizmi SDF1 geninin 801. pozisyonunda guanin nükleotidi yerine adenin nükleotidinin gelmesi sonucu oluşan tek nükleotit değişimidir. Oluşan bu değişimi belirlemek amacıyla gönüllü bireylerin kanlarından izole edilen genomik DNA'lar PCR yöntemiyle amplifiye edildi. RFLP analizi için PCR ampliconları *MspI*

restriksiyon enzimiyle kesilerek oluşan bantlar %2.5'luk agaroz jelde yürütüldü ve jel görüntüleme ve dökümantasyon sisteminde değerlendirildi.

Araştırmaya dâhil edilen toplamda 205 bireyden 106 bireyin (%52) wild-type, 87 bireyin (%42) heterozigot mutant ve 12 bireyin (%6) homozigot mutant olduğu belirlendi.

Çizelge 4.4. SDF1-3'A polimorfizmi genotip ve allel frekansları

SDF1-3'A	wt/wt (GG)	wt/3'A (GA)	3'A/3'A (AA)	Toplam
Birey sayısı	106	87	12	205
Genotip frekansı	0.5171 (%51.71)	0.4244 (%42.44)	0.05853 (%0.05)	1
Allel frekansı	$0.5171 + 1/2 * 0.4244 = 0,7267$ (%72.93) → p alleli	$1/2 * 0.4244 + 0,0585 = 0,2707$ (%27.07) → q alleli		1

SDF1-3'A polimorfizminin incelenmesi için ampliconların *MspI* restriksiyon enzimiyle kesilerek oluşan jel görüntüsü Şekil 4.3.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.3. SDF1-3'A polimorfizminin jel görüntüsü

Marker: pUC19 DNA/*MspI* (*HpaII*) Marker

(Wild type, 202 bç, 100 bç)

(Heterozigot mutant, 302 bç, 202 bç, 100 bç)

(Homozigot mutant, 302 bç)

1)Wild-type, 2) Heterozigot mutant, 3) Wild-type, 4)Heterozigot mutant, 5) Wild-type, 6-7) Heterozigot mutant, 8) Homozigot mutant, 9) Wild-type, 10) Heterozigot mutant

4.1.4. İkili Z Testi Değerleri

Dünya genelindeki CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfik allel sıklıklarını çalışma bulgularımızla kıyaslamak amacıyla ikili Z testi ile olarak popülasyonlar arasında p değerleri hesaplanmıştır. İki popülasyon arasındaki allel frekansı farkı arttıkça p değeri sıfıra yaklaşmakta; allel frekans farkı azaldıkça da p değeri artmaktadır. Türk popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasındaki p değerlerini yorumlamak için oluşturulan çizelgeye, genel olarak birey sayıları yaklaşık 100 ve üzeri olan popülasyonlar dahil edilmiştir. Bunların dışında birey sayıları düşük ancak p değerleri açısından 0 veya 1'e yakın olup; dikkat çeken popülasyonlar da çizelgeye eklenmiştir. Örneğin 20 kişilik bir popülasyon olan Brezilya yerlileri SDF1-3'A polimorfizmi açısından 0.419 p değeri ile bizim sonuçlarımıza oldukça benzerlik gösterirken; 35 kişiden oluşan Afrika Biaka pigmeleri 0.000 p değeri ile bizden oldukça farklı allel frekansına sahiptirler. Birey sayısı düşük (49 HIV pozitif birey) ve p değerleri bakımından büyük farklılık göstermeyen Bulgaristan ise yakın komşumuz olması nedeniyle değerlendirmeye alınmıştır.

Allel frekansı açısından farklılık gösteren ülke ve etnik gruplar için $p \leq 0.005$ olanlar dikkate alınmıştır. Her üç polimorfizm açısından sonuçlarımızla kıyaslanan ülke ve etnik gruplara ait sıralı p değerleri Çizelge 4.5., Çizelge 4.6. ve Çizelge 4.7.'de belirtilmektedir.

Çizelge 4.5. CCR5-Δ32 allel frekansı açısından farklılık ve benzerlikleri gösteren p değerleri

Türkiye CCR5-Δ32 allel frekansı: % 3.17			
Allel frekansı açısından farklılık gösteren ülkeler		Allel frekansı açısından benzerlik gösteren ülkeler	
Ülke	p	Ülke	p
Avustralya	0.000	Girit	0.482
Avusturya	0.000	Avusturya	0.472
Belçika	0.000	Meksika	0.470
Fransa	0.000	Brezilya Amazonları (Belem)	0.465
İsrail (Aşkenazi Yahudileri)	0.000	Amerika (İspanyollar)	0.458
İsveç	0.000	Brezilya (Şehir popülasyonu)	0.441
Litvanya	0.000	Çin (Uygur)	0.423
Macaristan (Vlach Çingeneleri)	0.000	Kıbrıs Yunanlıları	0.420
Rusya (Pomorlar)	0.000	Bahreyn	0.405
Finlandiya	0.001	Kolombiya	0.397
Kafkas İspanyolları	0.001	İtalya	0.392
Mordovya	0.001	Çin (Han)	0.389
Rusya	0.001	Sicilya (Agrigento)	0.388
Lüksemburg	0.002	Sardunya Adası	0.360
Belarus	0.003	Bulgaristan	0.316
Ukrayna	0.003	Brezilya	0.311
Brezilya	0.005	Yunanistan	0.289
Brezilya (Kızılderililer)	0.005	Sicilya (Enna)	0.273
Çin	0.005	Fransa	0.210
Güney Hindistan	0.005	Sırbistan	0.202
Kamerun	0.005	Brezilya (Güney Prana Kafkasları)	0.176
Kanada (Inuit)	0.005	İsrail (Sefarad Yahudileri)	0.171
Tayland	0.005	İspanya (Basklar)	0.143

Çizelge 4.6. CCR2-64I allel frekansı açısından farklılık ve benzerlikleri gösteren p değerleri

Türkiye CCR2-64I allel frekansı: % 17.80			
Allel frekansı açısından farklılık gösteren ülkeler		Allel frekansı açısından benzerlik gösteren ülkeler	
Ülke	p	Ülke	p
Amerikan Samoası	0.000	Brezilya zencileri	0.490
Belçika	0.000	Çin (Chengdu)	0.490
Güney Fransa	0.000	Polonya	0.490
Güney Kore	0.000	Çin (Güneybatı Han)	0.487
Güneydoğu Asya (Anni)	0.000	Yeni Gine	0.485
Güneydoğu Asya (Yao-Nandan)	0.000	Kamerun	0.480
Güneydoğu Asya (Bulang)	0.000	Ürdün	0.461
Rusya (Tyvanlar)	0.000	Tayland (Kuzeydoğu)	0.459
Çin (Tibet)	0.001	Çin (Han)	0.443
Güneydoğu Asya (Atayal)	0.001	Güneydoğu Asya (Ahom)	0.443
Güneydoğu Asya (Pavian)	0.001	Sudan	0.443
Hindistan	0.001	Zimbabwe	0.429
Lüksemburg	0.001	Bulgaristan	0.401
Ukrayna	0.001	Macaristan (Vlach Çingeneleri)	0.400
Rusya(Tatarlar)	0.001	Ekvador	0.371
Bahreyn	0.002	Tunus	0.361
Kuzey Hindistan	0.002	Çin (Uygur)	0.349
Rusya (Udmurtlar)	0.002	Tayland	0.310
Belarus	0.003	Çin (Guangxi Zhuang)	0.278
Danimarka	0.003	Amerika(İspanyol olmayan zenciler)	0.255
İsrail (Aşkenazi Yahudileri)	0.003	İtalya	0.217
Çin (Uygur)	0.005	Yunanistan	0.181

Çizelge 4.7. SDF1-3'A allel frekansı açısından farklılık ve benzerlikleri gösteren p değerleri

Türkiye SDF1-3'A allel frekansı: % 27.07			
Allel frekansı açısından farklılık gösteren ülkeler		Allel frekansı açısından benzerlik gösteren ülkeler	
Ülke	p	Ülke	p
Afro-Amerikalılar	0.000	Çin (Han)	0.496
Amerika (İspanyol olmayan zenciler)	0.000	Tunus	0.477
Benin	0.000	Belarus	0.475
Brezilya	0.000	Bulgaristan	0.469
Biaka Pigmeleri (Afrika)	0.000	Güneydoğu Asya (Tujia)	0.465
Çin (Uygur)	0.000	Çin (Kuzeydoğu Han)	0.446
Ekvador	0.000	Çin (Güneydoğu Han)	0.444
Güney Kore	0.000	Bahreyn	0.443
İtalya (Pavia)	0.000	Hindistan	0.423
Kamerun	0.000	Surui (Brezilya yerlileri)	0.419
Lüksemburg	0.000	Güneydoğu Asya (Malay)	0.411
Macaristan (Vlach Çingeneleri)	0.000	Çin (Zhuang)	0.383
Polonya	0.000	İspanya	0.378
Rusya (Tatarlar)	0.000	Güney Hindistan Müslümanları	0.368
Tunus	0.000	Güney İspanya	0.314
Yeni Gine	0.000	Girit	0.275

5. TARTIŞMA

Bu yüksek lisans tez çalışmasında birçok ülkede yapılan araştırmalar sonucunda HIV/AIDS'e karşı koruma ve hastalığın progresyonunda yavaşlama sağladığı düşünülen CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfizmlerinin Türk popülasyonundaki frekansları araştırılmıştır. Etnik köken ayırımı yapılmaksızın Sinop İlinde ikamet etmekte olan sağlıklı 205 gönüllü bireyin kan örnekleri alınarak CCR5-Δ32, CCR2-64I, SDF1-3'A genlerinin allel frekansları tespit edilmiştir.

Dünyanın farklı bölgelerinde aynı polimorfik durumları araştıran diğer bilimsel çalışmalar incelenerek, geniş kapsamlı bir literatür taraması (Çizelge 2.2.) yapılarak, Türk popülasyonunu ile diğer ülke ve etnik grupların allel frekansları karşılaştırılmıştır. Bu çalışma kapsamında Türkiye'de HIV/AIDS'e karşı direnç sağlayan üç polimorfizm ilk kez aynı araştırmada bir arada değerlendirilmiştir.

5.1. Asya Kıtasında CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Polimorfizmleri

Asya Kıtasında bulunan ülke ve etnik gruplarla yapılan çalışmalar incelendiğinde Asya'nın kuzey ve batısı ile doğu ve güney ülkeleri açısından önemli farklılıklar olduğu görülmüştür. Asya'nın büyük bölümü Rusya, Çin ve Hindistan gibi dünya nüfusunun yaklaşık üçte birini kapsayan üç ülkeden oluşmaktadır.

Su ve arkadaşlarının Çin'de Guangxi Zhuang popülasyonuna ait HIV(+) ve HIV(-) bireylerle yaptığı araştırmaya göre HIV'e karşı koruyucu etkiye sahip CCR5-Δ32 polimorfizminin bulunmadığı görülmüştür. CCR5-Δ32'den farklı olarak CCR2-64I (%24.5) ve SDF1-3'A (%30.6) polimorfizmleri ise genellikle yüksek allel frekanslarında seyretmektedir. Sağlıklı grup ve HIV(+) grup arasında CCR2-64I ve SDF1-3'A allel frekansları karşılaştırıldığında bir farklılık bulunmaması, bu popülasyonda hem CCR2-64I hem de SDF1-3'A'nın HIV-1 enfeksiyonuna karşı koruma sağlamada yetersiz olabileceğini düşündürmekle birlikte farklı sonuçların da rapor edilmesi CCR2-64I ve SDF1-3'A allellerinin rollerinin genetik varyasyondan dolayı farklı popülasyonlarda farklı olabileceğini akıllara getirmektedir (Su ve ark., 2010). Su ve arkadaşlarının 2000 yılında Asya Kıtası ağırlıkta olmak üzere dünya genelinden örneklerle yaptıkları çalışmada CCR5-Δ32 polimorfizminin Çin'in kuzey, güney ve batısında bulunan Han bölgelerinde; Japonya, Güney Kore, Mançurya, Uygur, Malezya ve Tayland gibi ülkelerde bulunmadığı tespit edilmiştir. Su ve arkadaşlarının

yaptığı bu çalışma ile CCR5-Δ32 allel frekansı Uzakdoğu'da yalnızca Tibet'te ve Kamboçya'da %2 oranında bulunmuştur. CCR2-64I ve SDF1-3'A allel frekansları genellikle birbirine benzer ve yüksek oranda dağılım göstermektedir (Su ve ark., 2000). Bununla beraber farklı etnik grup ve bölgelerdeki bireylerin dâhil edildiği bu çalışmada örnek sayıları genellikle 20 -30 arasında değiştiğinden dolayı sağlıklı bir yorum yapmak için nispeten yetersiz görünmekte; ancak genel bir izlenim sunması açısından önemlidir.

Çin'de yapılan bir diğer çalışma Yudin ve arkadaşlarının araştırmasıdır. Merkez Asya yerlileriyle yapılan bu çalışmada CCR5-Δ32 koruyucu polimorfizminin %0.5 gibi çok düşük bir frekansta olduğu bildirilmiştir (Yudin ve ark., 1998).

Wang ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptığı bir araştırmada CCR5-Δ32 allel frekansının Uygurlarda %3.48, Moğollarda %1.12; CCR2-64I ve SDF1-3'A allel frekanslarının ise araştırılan etnik grupların tümünde %20 oranında olduğu tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2002). Diğer Çin bölgelerine nazaran Uygurlar ve Moğollarda görülen CCR5-Δ32 allel frekansı yüksekliğinin, Çin'in kuzey ve batısında bulunmalarından dolayı Rusya ve Kafkaslarla yıllar boyunca süregelen yakın ilişkiler ve Orta-Asya Türk menşeyinden kaynaklanabileceği olasılıklarını akıllara getirmektedir (Onay, 2012).

Tan ve arkadaşlarının Çin'in Uygur bölgesinde HIV(+) ve HIV(-) bireylerle yaptıkları çalışmada ise CCR5-Δ32 allel frekansları sırasıyla %5.2 ve %3.6; CCR-64I allel frekansları %28 ve %23; SDF1-3'A allel frekansları ise %58 ve %56 olarak tespit edilmiştir (Tan ve ark., 2009). Aynı çalışma Xu ve arkadaşları tarafından Çin'in Han bölgesinde yapılmış olup; HIV(+) ve HIV(-) bireylerde CCR5-Δ32 allel frekansları sırasıyla %2.7 ve %1.4; CCR2-64I allel frekansları %15 ve %19; SDF1-3'A allel frekansları ise %21 ve %27 olarak belirlenmiştir (Xu ve ark., 2010). Zhang ve arkadaşlarının 2006 yılında 15 farklı etnik gruptan 1082 katılımcı ile yaptıkları araştırmada ise CCR2-64I polimorfizminin dağılımını incelemiş ve allel frekansı %20.64 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışma CCR2-64I polimorfizminin dünya genelinde olduğu gibi Çin'de de yüksek frekanslarda olduğunu yansıtmaktadır (Zhang ve ark., 2006).

Uzakdoğunun önemli ülkelerinden olan Japonya'nın geleneklerine bağlı bir ada ülkesi olması nedeniyle genetik yapısı nispeten homojendir. SDF1-3'A polimorfizminin araştırıldığı 393 bireyden oluşan çalışmada allel frekansı %34.4 olarak belirlenmiştir (İkegawa ve ark., 2001). Su ve arkadaşlarının 15 ve 26 katılımcıyla ayrı ayrı yaptığı iki çalışmada ise CCR5-Δ32'nin bulunmadığı, CCR2-64I allel frekanslarının sırasıyla %11

ve %24; SDF1-3'A allel frekanslarının ise %37 ve %33 olduğu gözlenmiştir. Güney Kore'de 28 kişi ile yapılan araştırmada ise yine benzer sonuçlara ulaşılmıştır: CCR5-Δ32 polimorfizmi gözlenmemiş, CCR2-64I allel frekansı %26, SDF1-3'A allel frekansı ise %27 olarak bildirilmiştir. Malezya, Yeni Gine'nin üç farklı bölgesi ve Avustralya Aborjinleri ile ilgili yaptıkları çalışma sonuçları da diğer sonuçları destekleyici şekildedir. Bu ülkelerin hiçbirinde CCR5-Δ32 polimorfizmine rastlanmamıştır. Malezya'da 12 kişinin dahil edildiği araştırmada CCR2-64I alleli gözlenmemiş, SDF1-3'A allel frekansı ise %67 gibi çok yüksek bir oranda tespit edilmiştir. Yeni Gine ve Avustralya Aborjinlerinde CCR2-64I allel frekansı ortalama %17, SDF1-3'A allel frekansı ise %50'nin üzerinde belirlenmiştir (Su ve ark., 2000). Su ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışma sonuçları SDF1-3'A polimorfizminin en yaygın olduğu bölgenin Avustralya, Malezya, Yeni Gine ve Endonezya gibi ülkeleri içine alan Okyanusya bölgesi olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlar SDF1-3'A polimorfizminin bu bölgeden köken alarak dünyaya yayıldığı düşündürmektedir.

Stewart ve arkadaşları 1997 yılında Avustralya'da HIV'e karşı koruculuğunu test etmek amacıyla 279 HIV(+) bireyde CCR5-Δ32 polimorfizm çalışması yapmışlardır. Yavaş progresyon gösteren 64 HIV(+) bireyde CCR5-Δ32 allel frekansı %17.69, hızlı progresyon gösteren 95 HIV(+) bireyde CCR5-Δ32 allel frekansı %6.32 ve progresyonunda hız değişimi gözlenmeyen 120 HIV(+) bireyde ise CCR5-Δ32 allel frekansı %7.08 olarak hesaplanmıştır. Stewart ve arkadaşları elde ettikleri sonuçlara dayanarak CCR5-Δ32 polimorfizminin HIV'e karşı koruyucu ve AIDS gelişimini erteleyici bir etkisinin olabileceğini önermektedirler (Stewart ve ark., 1997).

Güney Kore'de Choi ve arkadaşlarının 200 sağlıklı bireyle yaptığı çalışmada CCR2-64I allel frekansı %4.5, SDF1-3'A allel frekansı ise %8.5 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar diğer Uzakdoğu ülkeleri ile kıyaslandığında oldukça düşüktür (Choi ve ark., 2007). Bunun nedeninin Korelilerin kültürel bakımdan kapalı bir toplum olmaları ve yıllarca süren savaşlardan dolayı yaşanan insan kaybı olduğu düşünülebilir.

Tayland'da HIV ile enfekte 221 bireyde CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfizmlerinin değerlendirildiği çalışmada Uzakdoğunun neredeyse tamamında olduğu gibi CCR5-Δ32 polimorfizminin bulunmadığı, CCR2-64I allel frekansının %16 ve SDF1-3'A allel frekansının ise %25 oranında bulunduğu tespit edilmiştir (Ammaranond ve ark., 2012).

Asya Kıtasının yüzölçümü bakımından en büyük, nüfus açısından ise üçüncü büyük ülkesi olan Rusya'da allel frekansları Çin'e göre farklılıklar göstermektedir.

Özellikle CCR5-Δ32 allel frekansları Avrupa'ya yakın olan Rusya'da önemli derecede artış göstermiştir. Kozhekbaeva ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları çalışmada CCR5-Δ32 allel frekansları Rusya'da %15, Ukrayna ve Belarus'ta ise %12 oranında; CCR2-64I allel frekansları sırasıyla %12, %7 ve %8; SDF1-3'A allel frekansları ise %21, %20 ve %26 olarak tespit edilmiştir (Kozhekbaeva ve ark., 2004). Rusya'da yapılan bir başka çalışmada CCR5-Δ32 allel frekansı %9, CCR2-64I %10.6 ve SDF1-3'A için %22 oranında bulunmuştur (Ryabov ve ark., 2004). Yudin ve arkadaşlarının 1998 yılında Rusya'da 53 kişi ile yaptıkları araştırmada CCR5-Δ32 allel frekansı %10.4, Batı Sibirya'da 27 kişi ile yaptığı çalışmada ise CCR5-Δ32 allel frekansı %22.2 gibi yüksek bir oranda gözlenmekle beraber birey sayısının azlığı kesin bir yorum yapmak için yetersizdir. Kofiadi ve arkadaşlarının 2007'de yaptıkları bir başka çalışma Rusya sınırları içindeki her biri 96 bireyden oluşan 5 farklı etnik grubu kapsamaktadır. Udmurtlar, Tatarlar, Tyvanlar ve Vologda Oblastlar ile yapılan CCR2-64I (%7), SDF1-3'A (%16) allel frekanslarının oranları yaklaşık olarak yakındır. CCR5-Δ32 allel frekansları ise Udmurt ve Tatarlarda %7, Tyvanlarda %1 olarak bulunmuştur. Pomorlarda ise durum tam tersi olup; CCR5-Δ32 allel frekansı %18 gibi yüksek bir orana sahiptir. CCR2-64I ve SDF1-3'A allel frekansları ise diğerleri ile paralellik göstermektedir (Kofiadi ve ark., 2007). Bu durum Tyvanların ve Pomorların çevrelerindeki diğer etnik gruplara kıyasla daha izole olduklarını düşündürmektedir.

Hindistan nüfus olarak dünyanın ikinci büyük ülkesi, yüzölçümü bakımından ise Asya'nın üçüncü büyük ülkesidir. Hindistan demografik olarak çok kalabalık ve bir o kadar da kendi içinde izole etnik gruplar içermektedir. Hindistanda uygulanan kast sisteminin katı kuralları, farklı dini inanç ve kültürel yapılar toplumlar arasında seyreden gen akışının kesintiye uğratmaktadır.

Kuzey Hindistan'da 500 katılımcı ile yapılan bir çalışmada CCR5-Δ32 allel frekansı %1.5, CCR2-64I allel frekansı %9.1, SDF1-3'A allel frekansı ise %20.4 olarak tespit edilmiştir. CCR5 geni için gözlenen genotip sıklığı Hardy-Weinberg eşitliği ile uyumlu iken CCR2 ve SDF1-1'in genotip sıklıkları Hardy-Weinberg eşitliğinden önemli derecede sapma (sırasıyla $p=0.0252$ ve 0.0153) göstermiştir. Verma ve arkadaşları CCR5-Δ32 koruyucu allel frekansının düşüklüğünden dolayı Kuzey Hintlilerin HIV-1 enfeksiyonuna açık olduğunu düşünmektedirler (Verma ve ark., 2006).

Ramana ve arkadaşları Güney Hindistan'ın Andhra Pradesh bölgesinde 11 farklı popülasyondan oluşan 525 sağlıklı bireyde CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfizmlerini araştırmışlardır. Araştırma grubu Andhra Pradesh; kast popülasyonu

(Vizag Brahmins, Peruru Brahmins, Kammas), kabile popülasyonu (Bagata, Poroja, Valmiki) ve izole müslümanlardan (Yamani, Pathan, Sünni, Şii, Bohra) oluşmaktadır. Genelde kast ve kabile popülasyonları polimorfizm sıklığı açısından farklılık göstermezken, müslüman gruplarda polimorfizm sıklığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. SDF1-3'A sıklığı beş müslüman popülasyonda kast kabile gruplarına kıyasla oldukça yüksektir (%22-%35 aralığında). CCR2-64I allel sıklığı kast ve kabile gruplarında %10'u geçmezken beş müslüman grubunda geniş aralıkta varyasyon (%4-%17 aralığında) göstermektedir. Araştırılan popülasyonlarda CCR5-Δ32 allel sıklığı ise ya sıfırdır ya da ihmal edilebilir düzeydedir (Ramana ve ark., 2001). Husain ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada CCR5-Δ32 allel frekansının %1'den düşük olduğu görülmüştür (Husain ve ark., 1998). HIV(+) 181 birey ve 568 sağlıklı bireyle yapılan bir başka çalışmada ise CCR2-64I allel frekansları sırasıyla %7,3 ve %8,9; SDF1-3'A allel frekansları ise %26,2 ve %20,9 olarak bulunmuştur. Roy ve arkadaşları her iki grupta da allel frekanslarının birbirine yakın oluşu nedeniyle bu polimorfizmlerin Hindistan'ın bu bölgesinde HIV'e karşı koruyuculuk sağlamada yetersiz kaldığı fikrini öne sürmektedirler (Roy ve Chakrabati, 2011).

Asya Kıtasının güneybatısında Arap yarımadası bulunmaktadır. Bu ülkelerde yapılan araştırmalar CCR5-Δ32 polimorfizminin Arap toplumlarında düşük frekanslarda dağılım gösterdiğini gözler önüne sermektedir. Ürdün'de 540 sağlıklı bireyin dâhil edildiği çalışmada CCR5-Δ32 allel frekansı %0,6, CCR2-64I %17,5, SDF1-3'A allel frekansı ise %34,2 olarak gözlenmiştir (Khabour ve ark., 2013). Bahreyn'de CCR5-Δ32 allel frekansı %2,8, CCR2-64I allel frekansı %8,9, SDF1-3'A allel frekansı ise %26,5 olarak bulunmuştur (Salem ve ark., 2009). Voevodin ve arkadaşlarının Kuveyt'te yaptığı çalışmada CCR2-64I allel frekansı %8,9 ve SDF1-3'A allel frekansı %25,93 olarak bildirilmiştir (Voevodin ve ark., 1999). Su ve arkadaşlarının Birleşik Arap Emirlikleri'nde 26 kişiyle yaptıkları çalışmada CCR5-Δ32 polimorfizmine rastlanmamış, CCR2-64I allel frekansı %6, SDF1-3'A allel frekansı ise %35 olarak bulunmuştur (Su ve ark., 2000).

Arap ülkeleri genel olarak değerlendirildiğinde Asya Kıtasına benzer allel frekanslarına sahip oldukları görülmektedir. CCR5-Δ32 polimorfizminin yalnızca Bahreyn'de %2,8 oranında görüldüğü, diğer Arap ülkelerinde bulunmadığı ya da çok düşük frekanslarda olduğu anlaşılmaktadır. AIDS progresyonunda CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfizmlerinin etkili olabileceği düşünülmektedir.

Asya Kıtasında CCR5-Δ32 koruyucu polimorfizmi açısından ilginç bir çalışma İsrail’de yapılmıştır. Almanya ve Polonya’dan İsrail’e göç eden 363 Aşkenazi Yahudisi, İspanya’dan göç eden 257 Sefarad Yahudisi, 148 ikinci jenerasyon İsrail popülasyonu ve 27 karışık orijinli birey olmak üzere toplam 922 seronegatif bireyde CCR5-Δ32 ve CCR2-64I polimorfizm çalışması yapılmıştır. CCR5-Δ32 allel sıklığı açısından karşılaştırıldığında Sefarad Yahudileriyle (%4.9) Aşkenazi Yahudileri (%13.8) arasında önemli bir fark olduğu belirlenmiştir. CCR2-64I allel sıklığı açısından ise Aşkenazi Yahudileri (%9.2) ile Sefarad Yahudileri (%13.4) arasında önemli bir farklılık bulunmamaktadır. Aşkenazi bireylerindeki CCR5-Δ32’nin yüksek allel sıklığı bu popülasyona endojen Kuzey Avrupa genlerinin karışımıyla açıklanabilir (Maayan ve ark., 2000).

İran’da 2005 yılında 395 sağlıklı bireyle yapılan bir çalışmada CCR5-Δ32 allel frekansı %1.4, CCR2-64I allel frekansı ise %12.2 olarak belirlenmiştir (Gharagozloo ve ark., 2005). 2014 yılında 40 HIV(+) ve 530 sağlıklı bireyle yapılan başka bir çalışmada sağlıklı popülasyonda CCR5-Δ32 allel frekansı %0.76 oranında tespit edilmiştir, HIV(+) bireylerde CCR5-Δ32 polimorfizmine rastlanmamıştır (Rahimi ve ark., 2014).

Asya Kıtasında yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçları p değerleri üzerinden kendi çalışmamızla kıyasladığımızda CCR5-Δ32 polimorfizminin Asya kıtasının kuzeyinde bulunan Rusya ve Kafkaslara göre düşük; doğu, uzakdoğu ve güneyinde bulunan ülkelere göre daha yüksek bir allel frekansına sahip olduğumuzu görmekteyiz. CCR5-Δ32 polimorfizminin Kuzey Avrupa kökenli olması Asya’nın uzakdoğu ve güney bölgelerindeki düşük frekans oranını açıklamaktadır. Uzakdoğuya gidildikçe çoğu bölgede CCR5-Δ32 polimorfizmi görülmemektedir. Türkiye’nin Avrupa ve Kafkas bölgelerine yakın olması ve jeopolitik konumu nedeniyle Asya’dan Avrupa’ya geçiş güzergahı olarak kullanılması CCR5-Δ32 polimorfizminin nispeten yüksek frekanslara ulaşmasını açıklayabilir. Bu polimorfizm Rusya ve Avusturalya ile kıyaslandığında ise oldukça düşüktür. Rusya’nın Avrupa sınırında oluşu ve Kafkas ırklarını bünyesinde bulundurması; Avusturalya’nın ise Avrupa’dan yoğun göç alması CCR5-Δ32 polimorfizminin frekans yüksekliğini izah edebilir. Yapılan p değerleri kıyaslamasına göre CCR5-Δ32 polimorfizmi açısından Asya Kıtasında en çok Çin’in Uygur bölgesi, Han bölgesi, İsrail’in Sefarad Yahudileri ve Bahreyn ile benzerlik göstermektedir.

Türkiye CCR2-64I polimorfizmi açısından Asya Kıtası ile benzerlik gösterdiği gibi diğer kıtalarla da benzerlik göstermektedir. CCR2-64I polimorfizmi kuzey-güney

ya da doğu-batı yönünde anlamlı bir gradient sergilememektedir. Bu polimorfizm yönüyle Çin'deki çeşitli etnik popülasyonlar, Tayland, Ürdün ve Asya'nın güneyinde Avusturalya'ya yakın bir ada ülkesi olan Yeni Gine ile benzerlik oranlarımız yüksektir.

SDF1-3'A polimorfizminin allel frekansları genel olarak yüksektir. Diğer ülkelerle kıyasladığımızda Çin'de ve Asyanın güneyinde bulunan çeşitli etnik gruplar, Hindistan ve Bahreyn ile benzerlik göstermektedir.

5.2. Afrika Kıtasında CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Polimorfizmleri

HIV virüsü Afrika Kıtasından köken alarak dünyaya yayılmıştır. Afrika'da çok sayıda ülke bulunmaktadır ve bu ülkeler de kendi içinde çok sayıda etnik köken ve kabilelerden oluşmaktadırlar. Bu bölgelerde yapılan çalışmalar incelendiğinde ortaya çıkan sonuçların Asya ile benzer olduğu görülmüştür.

Su ve arkadaşları 2000 yılında yaptıkları çalışmada Afrika'daki farklı ülke ve etnik gruplardan örnekler toplayarak her üç polimorfizmi de araştırmışlardır. 26 Güney Karolina zencisinde CCR5-Δ32 allel frekansını %20 olarak bulmuşlar, ancak diğer etnik gruplardan alınan örneklerde CCR5-Δ32 mutasyonuna rastlamamışlardır (Su ve ark., 2000). Bu istisna durum kabile içi evliliklerin fazla olmasının neticesi olarak allel frekansının artmış olduğunu düşündürmektedir.

Kamerun'da 32 HIV(+) ve 147 sağlıklı bireyle yapılan bir çalışmada CCR5-Δ32 genine rastlanmamıştır. CCR2-64I allel frekansı %17.6 ve SDF1-3'A allel frekansı ise şaşırtıcı şekilde %100 olarak bulunmuştur. SDF1-3'A alleli için değerlendirilmeye alınan tüm bireyler heterozigottur. Kamerun popülasyonunda CCR5-Δ32 mutasyonu bulunmadığı için HIV/AIDS'e karşı korumayla ilişkilendirilmemektedir (Nkenfou ve ark., 2013). Suriye ve Mısır'daki bireylerin dâhil olduğu bir çalışmada ise CCR5-Δ32 allel frekansı %0.6 olarak bulunmuştur (Salem ve Batzer, 2006). Tunus'da 145 sağlıklı bireyle yapılan araştırmada CCR5-Δ32 allel frekansı %1.03, CCR2-64I allel frekansı %19.3 olarak belirlenmiştir (Barbouche ve ark., 2001). Tunus'da başka bir çalışmada 140 HIV(+) ve 164 sağlıklı bireyde SDF1-3'A polimorfizmi araştırılmıştır. HIV(+) bireylerde SDF1-3'A allel frekansı %57, sağlıklı bireylerde %26.8 olarak bulunmuştur. Amara ve arkadaşları su sonuçları Tunus popülasyonunda SDF1-3'A polimorfizminin HIV'e karşı bir koruyuculuk sağlamadığı, ancak AIDS progresyonunda etkili olabileceği şeklinde yorumlamışlardır (Amara ve ark., 2010).

Batı Kenya’da 2005 yılında Brouwer ve arkadaşları 445 HIV(+) anne ve 445 HIV(+) çocukta CCR2-64I allel frekanslarını sırasıyla %24.2 ve %26 olarak bulmuşlardır (Brouwer ve ark., 2005). Kenya’da Mabuka ve arkadaşları 272 sağlıklı bireyi dahil ederek gerçekleştirdikleri CCR2-64I polimorfizm çalışmasında allel frekansını %25.7 olarak hesaplamışlardır (Mabuka ve ark., 2009). Bu iki çalışmanın sonuçları birbiriyle paralellik göstermekte olup; Kenya’da CCR2-64I polimorfizminin HIV/AIDS’e karşı direnç sağlamadığı görüşünü desteklemektedir. Afrika’nın başka bir ülkesi Zimbabwe’de 34 HIV(+) ve 36 sağlıklı çocukla yapılan çalışmada CCR2-64I allel frekansları sırasıyla %19.11 ve %22.22 oranında SDF1-3’A allel frekansları ise sırasıyla %3 ve %1.5 olarak bulunmuştur. SDF1-3’A polimorfizmi Afrika’da araştırılan diğer sonuçlara göre nispeten düşük olup; bu durumun etnik köken farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Mhandire ve ark., 2014). Burkina Faso’da 51 HIV(+), 51 sağlıklı bireyle yapılan araştırmada CCR5-Δ32 polimorfizminin olmadığı görülmüştür (Kogané ve ark., 2014).

Afrika Kıtasında CCR5-Δ32 polimorfizmi bizim çalışmamıza göre daha düşük frekanslarda seyretmekte olup; bazı bölgelerde ise bu polimorfizme hiç rastlanılmamıştır. Avrupa’nın kuzeyinden güneyine doğru azalan gradient Afrika’nın bazı bölgelerinde sıfırlanmıştır. CCR2-64I polimorfizmi bizim çalışmamızdaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Bu polimorfizm açısından kıyas yaptığımızda Türkiye ile Kamerun, Sudan, Zimbabwe ve Tunus benzerlik göstermektedir. SDF-1-3’A polimorfizmi etnik gruplar arasında büyük farklılıkları yansıtmakta olup bizim çalışmamızdaki frekans değeri Tunus’la benzerdir.

5.3. Amerika Kıtasında CCR5-Δ32,CCR2-64I ve SDF1-3’A Polimorfizmleri

Amerika Kıtası 1500’lü yılların başlarında keşfedilmiştir. Keşiften önce Kuzey, Orta ve Güney Amerika’da Eskimolar, Kızılderililer, Brezilya Yerlileri, Mayalar gibi yerli halklar yaşamlarını sürdürmekteydi. Amerika Kıtası bu önemli keşif sonrasında tüm dünyadan hızla göç alan kozmopolit bir kıta haline gelmiştir.

Amerika Birleşik Devletlerinde Singh ve arkadaşları üç farklı gruba ayırdıkları HIV(+) çocuklarda CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3’A polimorfizmlerini incelemiş, İspanyol kökenli olmayan 628 HIV(+) zenci çocukta CCR5-Δ32 allel frekansını %1.9, CCR2-64I allel frekansını %15.8 ve SDF1-3’A allel frekansını %8.1 olarak; İspanyol kökenli 272 HIV(+) çocukta CCR5-Δ32 allel frekansını %3, CCR2-64I allel frekansını

%13 ve SDF1-3'A allel frekansını %18.5 olarak; İspanyol kökenli olmayan 140 HIV(+) beyaz çocukta ise CCR5-Δ32 allel frekansını %7.5, CCR2-64I allel frekansını %9.25 ve SDF1-3'A allel frekansını %19.05 olarak tespit etmişlerdir (Singh ve ark., 2004). Beyazlarda zenci ve İspanyollara nispeten daha yüksek oranda CCR5-Δ32 polimorfizminin bulunması bu polimorfizminin Avrupa'dan göç eden insanlarla Amerika Kıtasına yayılmış olabileceği görüşünü desteklemektedir. Daar ve arkadaşları ise Amerika'da 2005 yılında 329 kişide SDF1-3'A allel frekansını %18.8 olarak bulmuşlardır (Daar ve ark., 2005).

Vieira ve arkadaşları Brezilya'da 249 HIV(+) hastaya CCR5-Δ32, CCR2-64I, CCR5-59029A ve SDF1-3'A polimorfizmlerinin klinik etkisini değerlendirmişlerdir CCR5-Δ32 allel frekansı %2.4, CCR2-64I allel frekansı %11.3 ve SDF1-3'A allel frekansı %20.7 olarak bulunmuştur. CCR5-Δ32'nin varlığının CD4(+)T hücre sayısının 200 hücre/μl altına düşmesinde önemli bir koruma sağladığı görülmüştür. CCR5-Δ32 heterozigot bireylerde gözlenen nispeten yavaş progresyon CCR5'in azalmış hücre yüzey ekspresyonuna bağlanabilir. CCR5-Δ32 polimorfik geninin enfeksiyonun erken aşamalarındaki koruyucu etkisine zıt olarak, AIDS tanısından sonra ölüm riskini arttırmayla ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir. CCR2-64I polimorfizmini barındıran bireylerin AIDS gelişimine karşı azalmış bir riske sahip olduğu belirtilmiştir. SDF1-3'A polimorfizminin de hastalık progresyonunda ertelenmeyle ilişkili olduğu, ancak bu etkinin CCR2 genotipi tarafından arttırıldığı ve kümülatif bir etkiyi işaret edecek şekilde her iki polimorfizmi de taşıyan bireylerin AIDS gelişimi riskinin %53 oranında azalabileceğini öne sürmüşlerdir (Vieira ve ark., 2011). Brezilya'da 161 HIV(+) ve 617 AIDS'li hasta ile yapılan SDF1-3'A polimorfizm çalışmasında allel frekansları sırasıyla %4.3 ve %5.3 bulunmuştur (Reiche ve ark., 2006).

Brezilya'da Güney Prana Kafkas ırkına mensup 120 kişide CCR5-Δ32 allel frekansı %5.4 olarak hesaplanmıştır (Muxel ve ark., 2008). Carvalhaes ve arkadaşları 2004 yılında dört farklı Brezilya yerli grubu olan Belem, Afro-Brezilyalı, Kızılderili ve Japonlarla her üç polimorfizmi de araştırmışlardır. Belem yerlilerinde 394 kişide CCR5-Δ32 allel frekansı %3.04, 56 kişide CCR2-64I allel frekansı %16.08, 345 kişide SDF1-3'A allel frekansı %22.33; Afrika kökenli Brezilya yerlilerinde 67 kişide CCR5-Δ32 allel frekansı %0.75, 61 kişide CCR2-64I allel frekansı %22.95, 62 kişide SDF1-3'A allel frekansı %15.33; Kızılderililerde 89 kişide CCR5-Δ32 allel frekansı 0, 49 kişide CCR2-64I allel frekansı %13.27, 66 kişide SDF1-3'A allel frekansı %22.74; Japonlarda 111 kişide CCR5-Δ32 allel frekansı 0, 50 kişide CCR2-64I allel frekansı %24, 345

kişide SDF1-3'A allel frekansı %26 olarak hesaplanmıştır (Carvalhaes ve ark., 2004). Brezilya'da bir başka çalışma şehir popülasyonu ile Kızılderili yerlileri arasında yapılmıştır. CCR5-Δ32 allel frekansı şehir popülasyonunda 100 kişide %3.5 olarak bulunmuş, Kızılderililerde ise taranan 98 kişide CCR5-Δ32 polimorfizmine rastlanmamıştır (Passos Jr ve Picanço, 1998). Bu sonuç gen akışının kapalı olduğu yerli halka dışarıdan herhangi bir karışım olmadığının göstergesidir.

Amerika'nın kuzeyinde İnuit olarak bilinen 40 Kanada yerlisi ile yapılan çalışmada CCR5-Δ32 polimorfizmine rastlanmamıştır (Yudin ve ark., 1998).

Chiriguanos olarak adlandırılan (Kafkaslarla çok az gen karışımı olan; kabile evliliğinin fazla olduğu bir grup) Arjantin Kızılderililerinden oluşan 42 kişilik grupta CCR5-Δ32 ve CCR2-64I allel sıklıkları sırasıyla %1.19 ve %25.71 olarak bulunmuştur. CCR5-Δ32 için heterozigot olan tek Chiriguano bireyinin HLA tiplmesiyle Avrupa ata orijinli olduğunun belirlenmesi yerli Chiriguano popülasyonunda CCR5-Δ32 allelinin doğal olarak bulunmadığını önermektedir. CCR5-Δ32 ile karşılaştırıldığı zaman CCR2-64I mutasyonunun daha yüksek global dağılımı CCR2-64I'nın modern insanların yayılımından önce köken alan çok daha eski bir mutasyon olduğunu düşündürmektedir (Mangano ve ark., 2001).

Meksika'da 385 HIV(+) ve 472 sağlıklı bireyle yapılan çalışmada CCR5-Δ32 allel frekansları sırasıyla %3.5 ve %3.28 olarak hesaplanmıştır (Esrtada-Aguirre ve ark., 2013). Yine bir Güney Amerika ülkesi olan Kolombiya'da 72 HIV(+) ve 100 sağlıklı bireyle yapılan polimorfizm araştırmasında CCR5-Δ32 allel frekansları sırasıyla %4.2 ve %4 olarak bulunmuştur (Rugeles ve ark., 2002). Kolombiya'daki başka bir çalışmada 29 HIV(+) bireyde CCR5-Δ32 allel frekansı %1.7, 39 HIV'e maruz kaldığı halde kan testleri seronegatif sonuç veren bireyde CCR5-Δ32 allel frekansı % 3.8, 150 sağlıklı bireyde ise %2.7 olarak tespit edilmiştir. Díaz ve arkadaşları elde ettikleri sonuçları CCR5-Δ32 polimorfizminin bu popülasyonda HIV/AIDS'e karşı nispeten bir koruyuculuk sağladığı şeklinde yorumlamışlardır (Díaz ve ark., 2000).

Paz-Y-Mino ve arkadaşları Ekvador popülasyonunda yaptıkları CCR5-Δ32 polimorfizm çalışmasında %0.5 gibi nispeten düşük bir değer bulmuşlardır. CCR2-64I allel frekansı %16.6 ve SDF1-3'A allel frekansı da %48 olarak bulunmuştur (Paz-Y-Mino ve ark., 2005).

Amerika Kıtadaki allel frekanslarını p değerleri üzerinden çalışmamızla kıyasladığımızda CCR5-Δ32 allel frekansının Amerika'nın güney bölgelerindeki frekanslarla benzerlik gösterdiği, kuzeyinde yapılan çalışmalara göre ise daha yüksek

olduğu anlaşılmaktadır. Amerika’da görülen CCR5-Δ32 polimorfizminin yerli halklarda bulunmaması ya da nadir olarak görülmesi bu polimorfizmin yayılımının Avrupa kökenli olabileceği fikrini vermektedir. Allel frekansları etnik gruplara göre değişiklik göstermektedir. Türkiye CCR5-Δ32 polimorfizmi açısından Amerika Kıtadaki Meksika, Brezilya, Amerikalı İspanyollar ve Kolombiya ile benzerlik göstermektedir. CCR2-64I ve SDF1-3’A allel frekansları ise tüm dünyada ve ülkemizde olduğu gibi nispeten yüksek olmakla birlikte oransal farklılıklar gözlenmektedir. Türkiye CCR2-64I açısından Ekvador ve Amerika’daki İspanyol olmayan zencilerle; SDF1-3’A açısından ise Brezilya yerlileri olan Suruilerle benzerlik göstermektedir.

5.4. Avrupa Kıtasında CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3’A Polimorfizmleri

Avrupa milattan sonra 350 yılında başlayan Kavimler Göçü ile yüzyıllar boyunca yoğun göç alan bir kıta olmuştur. Büyük göç hareketleri Avrupa Kıtasında gen havuzunun değişmesine ve burada oluşan polimorfizmlerin tüm dünyaya yayılmasına neden olmuştur.

CCR5-Δ32 temel olarak Avrupa kökenli popülasyonlarda bulunmaktadır. Avrupa’da sıklığı kuzeyden (allel sıklığı %15) güneye (allel sıklığı %4) doğru azalan bir gradient göstermektedir. Avrupa dışındaki ülkelere CCR5-Δ32 polimorfizminin muhtemelen Kafkas ırklarının karışımıyla yayıldığı; Avrupalı olmayan popülasyonlarda görülen CCR5-Δ32 polimorfizminin çoğunlukla sporadik oluşumlar olduğu düşünülmektedir. CCR2-64I allel sıklığı farklı etnik gruplar arasında %10 ile %25 arasında; SDF1-3’A allel sıklığı ise %14.9-%21.7 arasındaki frekanslarda seyretmektedir.

1998 yılında Libert ve arkadaşlarının Avrupa ülkelerini dahil ederek yaptıkları CCR5-Δ32 polimorfizm çalışması en yüksek allel frekanslarının Avrupa’nın kuzeyinde dağılım gösterdiğini, kuzeyden güneye indikçe de allel frekans oranının düştüğünü gözler önüne sermektedir. CCR5-Δ32 allel frekanslarının Finlandiya, Danimarka, İsveç, Norveç, Fransa, Rusya ve Litvanya’da %15.8-%10 aralığında, Belçika, İspanya, Macaristan, Portekiz, Türkiye ve İtalya’da %9.5-%6.2 aralığında olduğu görülmüştür. İtalya’ya bağlı bir ada olan Sicilya’da ise CCR5-Δ32 allel frekansı %4 olarak bulunmuştur (Libert ve ark., 1998).

CCR5-Δ32 polimorfik geninin Avrupa popülasyonlarında zenginleşmesi bu polimorfizmin yüksek olasılıkla Avrupa’dan köken aldığını ve doğal pozitif seleksiyon

altında dünyaya dağıldığını önermektedir. Bu hipotez temel alındığında, diğer Arap ülkelerine nazaran Avrupalı karışımının fazla olduğu Lübnan, Suriye ve Ürdün'de CCR5-Δ32 allel frekansının yüksek olması beklenebilir. Bununla beraber CCR5-Δ32 geninin Lübnan, Suriye ve Ürdün'de nadiren bulunması bu hipotezle uyumlu görünmemektedir. CCR5-Δ32'nin global dağılımındaki eşitsizlik, bu polimorfizmin olmadığı veya çok düşük sıklıkta olduğu popülasyonlarda CCR5 geninde henüz tanımlanmamış başka koruyucu polimorfizmlerin olabileceğini işaret etmektedir ve böyle varyantların tanımlanması hem bilimsel hem de klinik olarak öneme sahiptir (Khabour ve ark., 2013).

Macaristan Vlach Çingene popülasyonunda 560 bireyle yapılan çalışmada CCR5-Δ32, CCR2-64I, SDF1-3'A allel sıklıkları sırasıyla %12.2, %18.6 ve %11.5 olarak bulunmuştur. Çalışılan 560 bireyin 121'i (%21.6) CCR5-Δ32 polimorfizmi için heterozigot, 8'i (%1.4) homozigottur. 560 bireyin 174'ü (%31.1) CCR2-64I için heterozigot ve 17'si (%3) homozigottur. SDF1-3'A alleli için 117 birey (%20.9) heterozigot ve 6 birey (%1.1) homozigottur. CCR2-64I'nın allel sıklığının Avrupa'daki en yüksek değerler arasında olduğu belirtilmiş, toplamdaki 560 bireyin %63'ünün araştırılan polimorfizmlerden en az birini taşıdığı belirlenmiştir. Bireylerin %14.3'ünün polimorfizmlerden ikisini ve %0.5'inin ise polimorfizmlerin tamamını taşıdığı görülmüştür. Bu sonuçlar Macaristan'daki Vlach Çingeneleri'nde HIV/AIDS'in düşük insidansını kısmen açıklamaya yardımcı olmaktadır. Macaristan'daki mevcut AIDS durumu komşu Avrupa ülkeleri ile kıyaslandığında daha olumludur. Vlach Çingene popülasyonunda CCR5-Δ32 polimorfizminin kurucu etki meydana getirdiği düşünülmektedir (Juhász ve ark., 2011).

Fransa'nın on farklı bölgesine ait 1836 DNA örneği ile yapılan çalışmada CCR5-Δ32 allel sıklığı %9.2 olarak bulunmuştur. Polimorfizm ülkenin kuzeyinde (%11.2) güneye (%6.3) göre daha sıklıkta görülmektedir (Lucotte ve Mercier, 1998). 45 HIV(+) çocukla yapılan bir çalışmada ise CCR5-Δ32 allel sıklığı %10 olarak bulunmuştur (Buseyne ve ark., 1998). Magierowska ve arkadaşlarının AIDS progresyonu yavaş olan 70 bireyle yaptıkları çalışmada CCR5-Δ32 allel sıklığının %18.6, 83 sağlıklı bireyde ise allel sıklığının %5.4 olduğu belirtilmiştir. AIDS gelişimindeki yavaş progresyon CCR5-Δ32 polimorfizminin viral replikasyonu yavaşlattığı görüşünü desteklemektedir (Magierowska ve ark., 1999). Güney Fransa'da Puissant ve arkadaşları çoğunlukla HIV(+) ve HAART tedavisi alan bireyler üzerinde her üç polimorfizmi de araştırmışlardır. 132 sağlıklı bireyde CCR5-Δ32 allel sıklığı %6,

CCR2-64I %7.9, SDF1-3'A %20; 169 HIV(+) bireyde CCR5-Δ32 allel sıklığı %8.3, CCR2-64I %5, SDF1-3'A %20.7; HAART'a cevap veren 104 bireyde CCR5-Δ32 allel sıklığı %10.1, CCR2-64I %4.8, SDF1-3'A %21.6; HAART'a cevap vermeyen 65 bireyde ise CCR5-Δ32 allel sıklığı %5.4, CCR2-64I %5.4, SDF1-3'A %19.2 olarak bulunmuştur (Puissant ve ark., 2006).

Sei ve arkadaşlarının 2001 yılında tamamı HIV(+) 58 Kafkas kökenli, 60 Afro-Amerikalı ve 9 İspanyol bireyle yaptıkları çalışmada CCR5-Δ32 allel frekanslarını %7.8, %1.7, %5.6; SDF1-3'A allel frekanslarını ise %18.1, %10 ve %16.7 olarak bulmuşlardır (Sei ve ark., 2001). İspanya'da başka bir çalışma 184 HIV(+), 200 sağlıklı birey ve HIV'e maruz kalmasına rağmen serolojik olarak negatif olan 36 birey dahil edilerek yapılmıştır. CCR5-Δ32 allel frekanslarının sırasıyla %10.9, %6.5 ve %6.9 olduğu tespit edilmiştir (Veloso ve ark., 2010). SDF1-3'A allel sıklığının araştırıldığı başka bir çalışmaya ise 152 HIV(+), 148 sağlıklı birey dahil edilmiş ve allel sıklıkları %29.6 ve %25.6; farklı bir çalışmada 164 kişide SDF1-3'A allel sıklığı ise %32.32 olarak hesaplanmıştır (Soriano ve ark., 2002).

Trecarichi ve arkadaşları 2006 yılında İtalya'da 120 HIV(+) ve 30 sağlıklı bireyle yaptıkları CCR5-Δ32 polimorfizm çalışmasında allel frekanslarını %3.75 ve %10 olarak tespit etmişlerdir (Trecarichi ve ark., 2006). İtalya Milano'da 123 sağlıklı ve 158 HIV(+) bireyle yapılan başka bir çalışmada SDF1-3'A allel sıklığı sırasıyla %21.95 ve %23.1 olarak bulunmuştur (Balotta ve ark., 1998). Benzer bir çalışma İtalya'nın Podova şehrinde yapılmıştır. 148 HIV(+) ve 280 sağlıklı çocukta SDF1-3'A allel sıklığına bakılmış ve sırasıyla %16.85 ve %20.50 olarak bulunmuştur (Gianesin ve ark., 2012). Buna karşılık İtalya'nın Pavia şehrinde Guerine ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise 55 kişide SDF1-3'A polimorfizmine bakılmış ve allel sıklığı %3.6 olarak hesaplanmıştır (Guerini ve ark., 2008). Bu iki çalışma popülasyonlar arasında allel sıklığı bakımından ciddi fark olduğunu göstermektedir. İtalya'ya bağlı Akdeniz'in en büyük adası olan Sicilya'nın dokuz ayrı ilinde Sidoti ve arkadaşları CCR5-Δ32 polimorfizmini araştırmışlar ve birbirinden farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Enna'da 134 kişide CCR5-Δ32 allel sıklığı %4.48, Trapani'de %7.1, Palermo'da %5.17, Catania'da %1.11, Siracusa'da %0.87, Agrigento'da %3.84, Messina'da %6 olarak bulunmuş, Ragusa'da ise CCR5-Δ32 polimorfizmine rastlanmamıştır (Sidoti ve ark., 2005).

Polonya’da 16 bölgeyi kapsayan 1063 sağlıklı katılımcı ile yapılan araştırmada CCR2-64I allel frekansı %11.3, SDF1-3’A allel frekansı %14.6 olarak hesaplanmıştır (Lewandowska ve ark., 2002).

Hırvatistan’da 303 kişi ile yapılan CCR5-Δ32 polimorfizm çalışmasında allel frekansı %7.1 olarak bulunmuştur. Bu durum Hırvat toplumunda CCR5-Δ32 allel sıklığının doğu ülkelerine göre yüksek olduğunu ve HIV/AIDS’e karşı koruyuculuk sağladığını desteklemektedir (Ristić ve ark., 2005). Sırbistan’da 352 kişilik CCR5-Δ32 polimorfizm taramasında allel sıklığı %4.55 olarak bulunmuştur (Đorđević ve ark., 2013).

Avusturya’da 451 sağlıklı bireyde CCR5-Δ32 allel frekansı %9.95, 225 HIV(+) bireyde %9.55, 35 HIV(+) çocukta %2.95 ve 45 sağlıklı çocukta %11.1 olarak hesaplanmıştır (Mandl ve ark., 1998). Hollanda’da 108 bireyle yapılan araştırmada CCR5-Δ32 allel sıklığı %10.2, CCR2-64I allel sıklığı %9.7’dir (Schinkel ve ark., 1998). Belçikalı 310 sağlıklı bireyden oluşan kohortta CCR5-Δ32 ve CCR2-64I polimorfizmlerinin sıklıkları sırasıyla %15.9 ve %7.4 olarak bulunmuştur (Struyf ve ark., 2000). Olsen ve arkadaşlarının Danimarka’da 105 HIV(+) ve 110 sağlıklı bireyle yaptıkları CCR5-Δ32 polimorfizm çalışmasında allel sıklıkları %13.81 ve 7.73 olarak tespit edilmiştir (Olsen ve ark., 1998). Avrupa’nın küçük bir ülkesi olan Lüksemburg’da 288 HIV(+) bireyde CCR5-Δ32 allel sıklığı %9.35, CCR2-64I %9.49, SDF1-3’A %5.11; 158 sağlıklı bireyde ise CCR5-Δ32 allel sıklığı %10.76, CCR2-64I %7.39, SDF1-3’A %0.8 olarak hesaplanmıştır (Roman ve ark., 2002).

Borissova ve arkadaşları Bulgaristan’da 49 HIV(+) bireyde CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3’A polimorfizm incelemesi yapmışlardır. CCR5-Δ32 allel frekansının %2.04, CCR2-64I %16.32 ve SDF1-3’A %26.52 olduğu görülmüştür (Borissova ve ark., 2010).

Girit popülasyonunda 200 sağlıklı bireyin dahil edildiği çalışmada HIV/AIDS’e karşı koruyucu CCR5, CCR2 ve SDF1 gen varyantlarının dağılımı araştırılmıştır. CCR5-Δ32 allel sıklığı %3.25, CCR2-64I allel sıklığı %11.75 ve SDF1-3’A allel sıklığı da %29.75 olarak bulunmuştur. CCR5-Δ32 polimorfizmini homozigot olarak taşıyan bir birey belirlenememiştir. CCR2-64I polimorfizmi için 39 birey (%19.5) heterozigot ve 4 birey (%2) homozigot olarak bulunmuştur. SDF1-3’A varyantı için 73 birey (%36.5) heterozigot ve 23 birey (%11.5) homozigot bulunmuştur. Diğer Kafkas gruplarında rapor edilen sıklıklarla karşılaştırıldığı zaman Girit popülasyonundaki CCR5-Δ32 allel sıklığı nisbeten daha düşüktür. Bununla beraber Kafkas-Avrupa popülasyonlarında

gözlenen değerlerle karşılaştırıldığında SDF1-3'A allel sıklığı daha yüksek dağılım profili göstermektedir (Apostolakis ve ark., 2005).

Yunanistan'da 138 HIV(+) ve 240 sağlıklı bireyin dahil edildiği araştırmada CCR5-Δ32 allel frekansları sırasıyla %2.2 ve %5.2, CCR2-64I allel frekansları ise %13.4 ve % 14.6 olarak bulunmuştur (Papa ve ark., 2000). Kıbrıs Yunanlıları'nda 1002 kişinin dahil edilerek yapıldığı CCR5-Δ32 polimorfizm çalışmasında CCR5-Δ32 allel frekansı %2.9 olarak hesaplanmıştır (Christodoulou ve ark., 1997).

Avrupa'daki allel frekansları ile araştırma sonuçlarımız p değerleri üzerinden kıyaslandığında ülkemizde CCR5-Δ32 allel frekansının Avrupa ortalamasının altında olduğu görülmektedir. Türkiye'de CCR5-Δ32 polimorfizminin HIV-1/AIDS'e karşı koruyuculuğunun Avrupa'ya göre daha düşük olduğu ifade edilebilir.

Türkiye'nin Avrupa'nın güney doğusunda bulunması ve farklı sosyokültürel yapısı nedeniyle CCR5-Δ32 allel frekansının Avrupa'ya oranla düşük olması anlaşılabilir bir durumdur. Türkiye'de Avrupa benzeri kuzey-güney yönlü azalan bir gradient görülmekle birlikte, CCR5-Δ32 için en yüksek allel frekansı İç Anadolu bölgesinde belirlenmiştir.

Çalışma sonuçlarımızla Avrupa ülkelerini p değerleri ile kıyasladığımızda CCR5-Δ32 polimorfizmi açısından sırasıyla Girit, Kıbrıs Yunanlıları, İtalya, Sicilya (Agrigento), Sardunya Adası, Bulgaristan, Yunanistan, Sicilya (Enna), Fransa'nın bazı bölgeleri, Sırbistan ve İspanyollarla benzer frekanslara sahip olduğumuz görülmektedir.

CCR2-64I allel frekansları bakımından Türkiye Avrupa'dan Polonya, Bulgaristan ve Yunanistan ile CCR2-64I allel frekansları bakımından ise Belarus, Bulgaristan, İspanya ve Girit ile benzer frekanslara sahiptir. Bu ülkelerin çoğu komşumuz ya da Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerdir. Başta deniz ticareti, savaşlar ve göçler olmak üzere yüzyıllarca süren etkileşimlerin halklar arasındaki gen akışında devamlılığı sağladığı düşünülmektedir.

5.5. Türkiye'de CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Polimorfizmleri

Türkiye coğrafik olarak Asya, Avrupa ve Afrika Kıtalarının ortasında ve göç yolları üzerinde bulunan bir ülkedir. Türklerin Orta Asya'dan köken alarak batı ve kuzey yönlü göç etmiş olması, üç kıtaya yayılan Osmanlı İmparatorluğu'nun devamı olması, ayrıca coğrafi konumundan dolayı göç yolları üzerinde bulunması; Türkiye'yi etnik köken olarak farklı milletlerin karışımı haline getirmiştir. Türkiye'nin demografik

yapısı; Türkler çoğunlukta olmak üzere Kürt, Laz, Çerkes, Boşnak, Arnavut, Ermeni, Rum, Gürcü ve Kırım Tatarları gibi birçok farklı kökenden insanın bir araya gelmesinden oluşmaktadır.

Türkiye’de HIV/AIDS’e karşı direnç sağlayan polimorfizmlerin araştırıldığı ilk çalışma 1998 yılında Libert ve arkadaşlarının dünya çapında yaptıkları CCR5-Δ32 polimorfizm araştırmasıdır. Çalışmaya Türkiye’den 104 sağlıklı birey dahil etmiştir ve araştırma sonucunda buldukları CCR5-Δ32 allel frekansı %6.3’tür (Libert ve ark., 1998).

2005 yılında Değerli ve arkadaşları CCR5-Δ32 polimorfizm sıklığını araştırmışlardır. Çalışmaya 390 birey dahil edilmiştir. Bunlardan 267’si sağlıklı, 39’u meme, 34’ü gırtlak, 30’u tiroid ve 20’si beyin kanserili hastalardır. Yapılan istatistik çalışma neticesinde popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür. CCR5-Δ32 allel frekansı %2.18 olarak belirlenmiştir. CCR5-Δ32 polimorfizmini homozigot olarak taşıyan bir bireye rastlanmamıştır (Degerli ve ark., 2005).

2007 yılında Güneş ve arkadaşları Orta Karadeniz bölgesinde 449 sağlıklı bireyde CCR5-Δ32 polimorfizmini incelemişlerdir. 402 bireyin homozigot yabanıl tip allel, 47 bireyin ise heterozigot mutant allel taşıdığı belirlenmiştir. Bu çalışmada da homozigot mutant bireye rastlanmamıştır. Popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirtilmiş ve CCR5-Δ32 allel frekansı %5.2 olarak bildirilmiştir (Güneş, 2007).

Karakaya ve arkadaşları Türkiyenin 7 coğrafik bölgesine ait sağlıklı bireylerin kan örnekleriyle yaptıkları çalışma ile Türkiye geneline ait CCR5-Δ32 allel frekansını tespit etmeyi amaçlamışlardır. Karadeniz bölgesinden çalışmaya dahil edilen 61 bireyde CCR5-Δ32 allel frekansı %4.1, Ege bölgesinden 57 kişide % 1.75, Akdeniz bölgesinden 54 kişide %0.93, Doğu Anadolu bölgesinden 54 kişide %2.78, Güneydoğu Anadolu bölgesinden 54 kişide %0.93 ve en yüksek allel frekansı %7.26 ile İç Anadolu bölgesinde bulunmuştur. Marmara bölgesinden 58 kişide ise CCR5-Δ32 polimorfizmine rastlanmamıştır. CCR5-Δ32 polimorfizmini taşıyan bireylerin tamamı heterozigottur. Tüm katılımcıların ortalama allel frekansı ise %1.95 olarak hesaplanmıştır (Karakaya ve ark., 2013).

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında yaptığımız araştırmada Türk popülasyonunda CCR5-Δ32 polimorfizmi ile birlikte HIV/AIDS’e karşı direnç sağladığı düşünülen CCR2-64I ve SDF1-3’A polimorfizmleri de ilk kez incelenmiştir. Araştırma yaptığımız popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür. Çalışmaya dahil ettiğimiz 205 sağlıklı bireyde CCR5-Δ32 allel frekansı %3.17, CCR2-64I allel

frekansı %17.80, SDF1-3'A allel frekansı ise %27.07 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada CCR5-Δ32 polimorfizmi açısından 192 kişinin homozigot yabanıl tipte, 13 kişinin ise heterozigot olarak bu polimorfizmi taşıdığı görülmüştür; CCR5-Δ32 polimorfizmini homozigot olarak taşıyan bir bireye rastlanmamıştır. CCR2-64I polimorfizmi değerlendirmesinde 141 kişinin homozigot yabanıl tipte, 9 kişinin homozigot mutant ve 55 kişinin heterozigot mutant olduğu; SDF1-3'A polimorfizmine baktığımızda ise 106 kişinin homozigot yabanıl tipte, 87 kişinin heterozigot mutant ve 12 kişinin homozigot mutant olduğu belirlenmiştir.

CCR5-Δ32 polimorfizmi açısından Türkiye'nin farklı bölgelerindeki allel sıklıklarını kendi çalışmamızla p değerleri üzerinden kıyasladığımızda polimorfizmin bulunmadığı Marmara bölgesi dışındaki diğer bölgelerle önemli bir farkın bulunmadığını görmekle birlikte, $p=0.439$ değeriyle en çok benzeyen Doğu Anadolu bölgesi olmuştur. Doğu Anadolu bölgesini sırayla Karadeniz, Ege, İç Anadolu, Akdeniz ve Doğu Anadolu bölgeleri izlemektedir. Marmara bölgesinde yapılan çalışmanın örnek sayısı düşük olduğu için daha yüksek birey sayısına sahip bir popülasyonda çalışmanın tekrar edilmesi önerilebilir. Bu değerler bakımından CCR5-Δ32 polimorfizminin Avrupada olduğu gibi Türkiye'de de kuzey-güney yönlü azalan bir gradiente sahip olduğu söylenebilir. Türk toplumunun kapalı bir toplum olması, akraba evliliklerinin yaygın olması ve ekonomik, siyasi ve sosyo kültürel nedenlerle ağırlıklı olarak doğu-batıya yönlü yoğun göç hareketleri allel sıklıklarını etkilemektedir. CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfimlerinin Türkiye'de HIV-1'e bağlı olarak daha önce araştırılmamış olması kıyas yapmamıza imkan vermemektedir.

Araştırılan polimorfizmlerin allel sıklıkları p değerlerine göre komşu ülkelerle kıyaslandığında CCR5-Δ32 polimorfizmi bakımından en çok Girit, Kıbrıs Yunanlıları, Bulgaristan ve Yunanistan'la; CCR2-64I polimorfizmi bakımından Bulgaristan ve Yunanistan'la; SDF1-3'A polimorfizmi bakımından ise Bulgaristan ve Girit ile benzerdir. Yüzyıllar boyu süren ilişkiler, göç hareketleri ve kültürel etkileşimler tamamı yakın komşumuz olan bu halklarla aramızdaki gen akışını sağlamış olabilir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Sinop-Samsun bölgesi başta olmak üzere Türkiye'nin çeşitli bölgelerine mensup sağlıklı bireylerin dahil edilerek yapıldığı HIV/AIDS'e karşı direnç sağlayan CCR5-Δ32, CCR2-64I, SDF1-3'A polimorfizmlerinin Türk popülasyonundaki dağılımı konulu yüksek lisans tez çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular, Türk popülasyonunda koruyucu CCR5-Δ32 polimorfizmi allel sıklığının Avrupa ülkelerine nispeten düşük, Asya ve Afrika ülkelerine nispeten yüksek olduğunu göstermektedir. Hastalık prognozunda ve AIDS gelişiminde yavaşlama sağlayan CCR2-64I ve SDF1-3'A polimorfizmlerinin ise farklı kıtalardaki birçok ülke ve etnik grupla paralellik gösterdiği anlaşılmıştır.

Yüzyıllar boyu süren etkileşim sonucunda toplumlar arasında gen akışının meydana gelmesi doğal bir süreçtir. Literatür taramasında Türklerin köken aldığı Orta Asya'da bulunan Türk devletleri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Çin'de yapılan çalışmalarda Uygurların dahil edildiği araştırmalar incelenmiş ve Türk popülasyonu ile benzer sonuçlara sahip oldukları görülmüştür. Bunun nedeni her iki popülasyonun da aynı kökenden gelmiş olması olabilir. Avrupa'da İspanyollarla olan benzerlik de dikkat çekicidir.

Araştırılan polimorfizmlerin allel sıklıkları p değerlerine göre komşu ülkelerle kıyaslandığında CCR5-Δ32 polimorfizmi bakımından en çok Girit, Kıbrıs Yunanlıları, Bulgaristan ve Yunanistan'la; CCR2-64I polimorfizmi bakımından Bulgaristan ve Yunanistan'la; SDF1-3'A polimorfizmi bakımından ise Bulgaristan ve Girit ile benzerdir.

Bunların dışında CCR5-Δ32 polimorfizmi bakımından İtalya'nın Sicilya Adasında yapılan çalışmalarda, bize uzak olmasına rağmen Avusturalya, Meksika, Brezilya yerlileri, Çin Uygur bölgesi, Bahreyn, Amerikadaki İspanyolların allel frekanslarının benzerlik gösterdiği ülke ve etnik gruplar da mevcuttur.

6.1. Gen Varyantlarının Araştırılmasının Gelecekteki Klinik Önemi

Tıp dünyası geliştikçe hastalıkların tedavisinde bireysel genetik yapıya göre teşhis ve tedavi yöntemleri uygulamalarına ağırlık vermeye başlamıştır. Bilimsel araştırmalar aslında her bireyin sahip olduğu genetik yapıya göre hastalık ve tedavilere verdikleri cevapların birbirinden farklı olduğunu ortaya koymaktadır. HIV/AIDS gibi tedavisinde ilerleme sağlansa bile bugünkü imkanlarla tamamen yok edilemeyen bazı

hastalıklardan korunma ve kalitesi yüksek daha uzun bir yaşam için bireyin genetik yapısının bilinmesi önemlidir. Bu nedenle son yıllarda hem yan etkileri azaltmak hem de daha etkin bir tedavi sağlamak amacıyla yapılan farmakogenomik çalışma sayısı oldukça artmıştır.

İlerleyen süreçte HIV virüsünün moleküler biyolojik yapısı daha iyi anlaşıldıkça virüs replikasyonunu inhibe eden ilaçların keşfi hız kazanacaktır. Acilen yeni tedavi modellerine ve viral hedeflere ihtiyaç duyulmaktadır. Gen tedavileri belirli durumlarda tedaviye katkı sağlayabilir (Lever, 2009).

Genetik polimorfizmlerin araştırılması HIV-1 enfeksiyonunun genetik epidemiyolojisini daha iyi karakterize etmek, daha hızlı hastalık geliştirebilecek yüksek riskteki bireylerin belirlenmesi ve HAART tedavisinin gelecekteki bireyselleşmesini etkileyebilme potansiyeli açısından önemlidir (Juhász ve ark., 2011).

Türk popülasyonunda HIV/AIDS'e karşı direnç sağlayan CCR5-Δ32, CCR2-64I, SDF1-3'A polimorfizmlerinin birlikte araştırıldığı bu çalışma literatürü zenginleştirerek belirtilen hedeflerin uygulanabilirliğine katkı sağlama bağlamında oldukça faydalı olacaktır.

7. KAYNAKÇA

- Akın, L. 2006. Türkiye’de Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonların Epidemiyolojisi. Türkiye Klinikleri J Med Sci., 26: 655-665.
- Amara, S., Domenech, J., Jenhani, F. 2010. Stromal cell-derived factor 1 polymorphism in patients infected with HIV and implications for AIDS progression in Tunisia. HIVAIDS, 2: 203-9.
- Ammaranond, P., Sanguansitthianan, S., Phaengchomduan, P., Sae-Lee, C., Mardkhumchan, S. 2013. Impact of CCR2 and SDF1 polymorphisms on disease progression in HIV-infected subjects in Thailand. J Clin Lab Anal., 27(1): 38-44.
- Anonim. 2011. <http://hivbook.com/category/part-1-the-basics/3-pathogenesis-of-hiv-1-infection>. 12.08.2014
- Anonim. 2015a. <http://medsci.indiana.edu/c602web/602/c602web/adcas/aids3a1.htm>. 23.05.2015
- Anonim. 2015b. ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NG_012637.1?from=5001&to=11065&report=genbank. 15.03.2015
- Anonim. 2015c. ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NG_021428.1?from=5001&to=12179&report=genbank. 15.03.2015
- Anonim. 2015d. ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NG_016861.1?from=5001&to=19945&report=genbank. 15.03.2015
- Anonim. 2013. http://boundlessthicket.blogspot.com.tr/2012_05_01_archive.html. 12.09.2014
- Anonim. 2010. http://www.hivandhepatitis.com/2010_conference/croi/docs/0223_2010_a.html. 12.09.2014
- Apostolakis, S., Baritaki, S., Krambovitis, E., Spandidos, DA. 2005. Distribution of HIV/AIDS protective SDF1, CCR5 and CCR2 gene variants within Cretan population. J Clin Virol., 34(4): 310-4.
- Babayiğit, M.A., Bakır, B. 2004. HIV enfeksiyonu ve AIDS: epidemiyoloji ve korunma. TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni, 3(11):280-290.
- Badur, S. 2007. 2007 Yılında AIDS: Nereden Nereye Geldik? ANKEM Derg., 21(Ek2): 1-6.
- Balotta, C., Bagnarelli, P., Corvasce, S., Mazzucchelli, R., Colombo, M.C., Papagno, L., Santambrogio, S., Ridolfo, A.L., Violin, M., Berlusconi, A., Verlleca, R., Facchi, G., Moroni, M., Clementi, M., Galli, M. 1999. Identification of two

- distinct subsets of long-term nonprogressors with divergent viral activity by stromal-derived factor 1 chemokine gene polymorphism analysis. *J Infect Dis.*, 180(2): 285-9.
- Barbouche, R.M., Hong, L., Dellagi, K., Kostrikis, L.G. 2001. Contrasting frequencies of CCR5 delta 32 and CCR2-64I alleles in the Tunisian population. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, 26(3): 298-9.
- Başaran, N.1999. Tıbbi Genetik. Güneş ve Nobel Tıp Kitapevi, Bursa, 120-292.
- Bell, N.M., L'Hernault, A., Murat, P., Richards, J.E., Lever, A.M.L., Balasubrahmanian, S. 2013. Targeting RNA-Protein Interaction within the Human Immunodeficiency Virus Type 1 Lifecycle. *Biochemistry*, 52(51): 9269-74.
- Birben, E. 2006. Polimeraz Zincir Reaksiyonu [Polymerase Chain Reaction (PCR)]. *Astım Allerji İmmünoloji.*, 4(2): 92-94.
- Brouwer, K.C., Yang, C., Parekh, S., Mirel, L.B., Shi, Y.P., Otieno, J., Lal, A.A., Lal, R.B. 2005. Effect of CCR2 chemokine receptor polymorphism on HIV type 1 mother-to-child transmission and child survival in Western Kenya. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 21(5): 358-62.
- Borissov, K., Tsekov, I., Gavazova, R., Kalvatchev, Z., Argirova, R. 2010. Do human polyoma viruses and human immunodeficiency virus share common co-receptors? *J Med Virol.*, 82(1): 8-13.
- Bozkaya, O.G. 2009. Mutation and Polymorphism for Clinicians: Medical Education. *Türkiye Klinikleri J Pediatr.*, 18(2): 47-53.
- Buseyne, F., Janvier, G., Teglas, J.P., Ivanoff, S., Burgard, M., Bui, E., Mayaux, M.J., Blanche, S., Rouzioux, C., Rivière, Y. 1998. Impact of heterozygosity for the chemokine receptor CCR5 32-bp-deleted allele on plasma virus load and CD4 T lymphocytes in perinatally human immunodeficiency virus-infected children at 8 years of age. *J Infect Dis.*, 178(4): 1019-23.
- Cantor, R.M., Lange, K., Sinsheimer, J.S. 2010. Prioritizing GWAS Results: A Review of Statical Methods and Recommendations for Their Application. *Am. J. Hum. Genet.*, 86(1): 6-22.
- Christodoulou, C., Poullikas, M., Neumann, A.U., Kostrikis, L.G. 1997. Low frequency of CCR5 delta 32 allele among Greeks in Cyprus. *AIDS Res Hum Retroviruses.*, 13(16): 1373-4.

- Choi, .B.S., Choi, J.H., Kim, S.S., Kee, M.K., Lee, J.S. 2007. CCR2b-64I allelic Polymorphisms in advanced. HIV-infected Koreans accelerate disease progression. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 23(6): 805-11.
- Clay, P.G., Dong, B.J., Sorensen, S.J., Tseng, A., Romanelli, F., Antoniou, T. 2006. Advances in human immunodeficiency virus therapeutics. *Ann Pharmacother*, 40(4): 704-9.
- Çağlar, M. ve Kansu E. 2004 Kemokinler, Kemokin Reseptörleri ve İnflamasyon. *ANKEM Derg.*, 18 (Ek 2): 164-168.
- Daar, E.S., Lynn, H.S., Donfield, S.M., Lail, A., O'Brien, S.J., Huang, W., Winkler, C.A., 2005. Hemophilia Growth and Development Study. Stromalcell-derived factor-1 genotype, coreceptor tropism, and HIV type 1 disease progression. *J Infect Dis.*, 192(9): 1597-605.
- Degerli, N., Yılmaz, E., Bardakci, F. 2005 .The $\Delta 32$ allele distribution of the *CCR5* gene and its relationship with certain cancers in a Turkish population. *Clinical Biochemistry.*, 38(3): 248-252.
- De Pinho Lott Carvalhaes, F.A., Cardoso, G.L., Hamoy, I.G., Liu, Y.T., Guerreiro, J.F. 2004. Distribution of *CCR5*-delta32, *CCR2*-64I, and *SDF1*-3'A mutations in populations from the Brazilian Amazon region. *Hum Biol.*, 76(4): 643-6.
- Díaz, F.J., Vega, J.A., Patiño, P.J., Bedoya, G., Nagles, J., Villegas, C., Vesga, R., Rugeles, M.T. 2000. Frequency of *CCR5* delta-32 mutation in human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and HIV-exposed seronegative individuals and in general population of Medellin, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.*, 95(2): 237-42.
- Dorđević, V., Timotijević, G., Pruner, I., Radojković, D., Milovanović, B., Miljković, Đ. 2013. The Frequency of Allele *CCR5* Δ 32 in a Serbian Population / Učestalost Alela *CCR5* Δ 32 U Srpskoj Populaciji. *J Med Biochem.*, 32: 368-374.
- Escors, D., Breckpot, K. 2010. Lentiviral Vectors in Gene Therapy: Their Current Status and Future Potential. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 58: 107-119.
- Estrada-Aguirre, J.A., Cázarez-Salazar, S.G., Ochoa-Ramírez, L.A., Acosta Cota, Sde. Zamora-Gómez, R., Najar-Reyes, G.M., Villarreal-Escamilla, P., Osuna-Ramírez, I., Díaz-Camacho, SP., Sánchez-Zazueta, J.G., Ríos-Tostado, J.J., Velarde-Félix, JS. 2013. Protective effect of *CCR5* Delta-32 allele against HIV-1 in Mexican women. *CurrHIVRes*. 11(6): 506-10.

- Eugen-Olsen, J., Iversen, A.K., Benfield, T.L., Koppelhus, U., Garred, P. 1998. Chemokine receptor CCR2b 64I polymorphism and its relation to CD4 T-cell counts and disease progression in a Danish cohort of HIV-infected individuals. Copenhagen AIDS cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.*, 18(2): 110-6.
- Frankel, A.D., Young, J.A. 1998. HIV-1:Fifteen Proteins and an RNA. *Annu Rev Biochem.*, 67: 1-25.
- Gallo, R.C., Montagnier, L. 2003. The Discovery of HIV as the Cause of AIDS. *N Engl J Med.*, 349(24): 2283-5.
- Gharagozloo, M., Doroudchi, M., Farjadian, S., Pezeshki, A.M., Ghaderi, A. 2005. The frequency of CCR5 Delta 32 and CCR2-64I in southern Iranian normal population. *Immunol Lett.*, 96(2): 277-81.
- Gianesin, K., Freguja, R., Carmona, F., Zanchetta, M., Del Bianco, P., Malacrida, S., Montagna, M., Rampon, O., Giaquinto, C., De Rossi, A. 2012. The role of genetic variants of Stromal cell-Derived Factor 1 in pediatric HIV-1 infection and disease progression. *PLoS One.*, 7(9): 44460
- Gifford, R.J. 2012. Viral evolution in deep time: lentiviruses and mammals. *Trends Genet.*, 28(2): 89-100.
- Guerini, F.R., Delbue, S., Zanzottera, M., Agliardi, C., Saresella, M., Mancuso, R., Maresati, R., Marchioni, E., Gori, A., Ferrante, P. 2008. Analysis of CCR5, CCR2, SDF1 and RANTES Gene polymorphisms in subjects with HIV-related PML and not determined Leukoencephalopathy. *Biomed Pharmacother.* 62(1): 26-30.
- Güler, DA., 2006. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, 152-160.
- Güneş, S.Ö., Kara, N., Bağcı, H. 2007. The Frequency of CCR5 delta 32 Polymorphism in the Central Black Sea Coastal Region in a Healthy Population. *Turk J Med Sci.*, 37(1): 17-19.
- Heider, D., Dybowski, J.N., Wilms, C., Hoffmann D. 2014. A simple structure-based model for the prediction of HIV-1 co-receptor tropism. *Bio Data Mining*, 7: 14.
- Hemelaar, J., Gouws, E., Ghys, P.D., Osmanov, S. 2011. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000–2007. *AIDS*, 25(5): 679-689.

- Husain, S., Goila R, Shahi S, Banerjea A. 1998. First report of a healthy Indian Heterozygous for delta 32 mutant of HIV-1 co-receptor-CCR5 gene. *Gene.*, 207(2): 141-7.
- Jefferys, R. 2014. Kök hücre nakli alıcısı Boston hastalarında HIV geri tepti. *HIV Tedavi Bülteni*, Aralık, 3(43): 33-34.
- Juhász, E., Béres, J., Kanizsai, S., Nagy, K. 2012. The Consequence of a Founder Effect: CCR5-Δ32, CCR2-64I and SDF1-3'A Polymorphism in Vlach Gypsy Population in Hungary. *Pathol Oncol Res.*, 18(2): 177-82.
- Karakaya, G., Budak Yıldırım, F.A., Çakır Arıca, Ş. 2013. Investigation of the frequency of the mutant CCR5-Δ32 allele related to HIV resistance in Turkey. *Turk J Med Sci.*, 43: 886-890.
- Kagoné, T.S., Bisseye, C., Méda, N., Testa, J., Pietra, V., Kania, D., Yonli, A.T., Compaoré, T.R., Nikiéma, J.B., de Souza, C., Simporé, J. 2014. A variant of DC-SIGN gene promoter associated with resistance to HIV-1 in serodiscordant couples in Burkina Faso. *Asian Pac J Trop Med.*, 7S1: S93-6.
- Kaul M., Garden, G.A., Lipton, S.A. 2001. Pathways to neuronal injury and apoptosis in HIV- associated dementia. *Nature*, 410:988-994.
- Kaur, G., Sharma, G., Kumar, N., Kaul, M.H., Bansal, R.A., Vajpayee, M., Sharma, S. Wig, N., S.K., Mehra, N.K. 2013. Genomic architecture of HIV-1 infection: current status & challenges. *Indian J Med Res.*, 138(5): 663-81.
- Khabour, O.F., Abu-Haweleh, L.J., Alzoubi, K.H. 2013. Distribution of CCR-5Δ32, CCR2-64I, and SDF-1-3'A alleles among Jordanians. *AIDS Res Hum Retroviruses.*, 29(1): 151-5.
- Klug, W.S., Cummings, M.R. 2002. *Genetik Kavramlar*. Palme Yayıncılık, İstanbul, 683-703.
- Kofiadi, I.A., Rebrikov, D.V., Trofimov, D.Y., Alexeev, L.P., Khaitov, R.M. 2007. Allelic distribution of the CCR5, CCR2, and SDF1 gene polymorphisms associated with HIV-1/AIDS resistance in Russian populations. *Dokl Biol Sci.*, 415: 320-3.
- Kozhekbaeva, G.M., Borodina, T.A., Borinskaia, S.A., Gusar, V.A., Feshchenko, SP., Akhmetova, V.L., Khusainova, R.I., Gupalo, Elu., Spitsyn, V.A., Grechanina, Elu., Khusnutdinova éK, Iankovskiï NK. 2004. Distribution of the HIV-1 resistance-conferring alleles (CCR5delta32, CCR2-64I, and SDF1 3'A) in Russian, Ukrainian, and Belarusian populations. *Genetika.* ,40(10): 1394-1401.

- Leone, P.E. 2005. CCR5delta32, CCR2-64I, and SDF1-3'A polymorphisms related to resistance to HIV-1 infection and disease in the Ecuadorian population. *Hum Biol.*, 77(4): 521-6.
- Lever, A.M.L. 2009. HIV: the virus. *Medicine*, 37(7): 313-316.
- Lewandowska, M., Franciskiewicz, K., Prokop, J., Ofori, H., Jagodzinski, P.P. 2002. Distribution of two HIV-1-resistant polymorphisms (SDF1-3'A and CCR2-64I alleles) in the Polish population. *J Hum Genet.*, 47(11): 585-9.
- Li, H., Liu, T.J., Hong, Z.H. 2014. Gene polymorphisms in CCR5, CCR2, SDF1 and RANTES among Chinese Han population with HIV-1 infection. *Infect Genet Evol.*, 24: 99-104.
- Libert, F., Cochaux, P., Beckman, G., Samson, M., Aksenova, M., Cao, A., Czeizel, A., Claustres, M., de la Rúa C., Ferrari, M., Ferrec, C., Glover, G., Grinde, B., Güran, S., Kucinskas, V., Lavinha, J., Mercier, B., Ogur, G., Peltonen, L., Rosatelli, C., Schwartz, M., Spitsyn, V., Timar, L., Beckman, L., Parmentier, M., Vassart, G. 1998. The delta ccr5 mutation conferring-protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe. *Hum Mol Genet.* 7(3): 399-406.
- Liu, R., Paxton, W.A., Choe, S., Ceradini, D., Martin, S.R., Horuk, R., MacDonald, M.E., Stuhlmann, H., Koup, R.A., Landau, N.R. 1996. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *cell.*, 86(3): 367-77.
- Lucotte, G. ve Mercier, G. 1998. Fréquences de la mutation $\Delta 32$ du gène du corécepteur CCR5 dans les différentes régions françaises. *C R Acad Sci III.*, 321(5): 409-13.
- Lusic, M., Giacca, M. 2014. Regulation of HIV-1 Latency by Chromatin Structure and Nuclear Architecture. *J. Mol. Biol.*, 427(3): 688-94.
- Lüleyap, H.U. 2008. Moleküler Genetiğin Esasları. Nobel Yayınları, Adana, 112s.
- Maayan, S., Zhang, L., Shinar, E., Ho, J., He, T., Manni, N., Kostrikis, L.G., Neumann AU. 2000. Evidence for recent selection of the CCR5-delta 32 deletion from differences in its frequency between Ashkenazi and Sephardi Jews. *Genes Immun.*, 1(6): 358-61.
- Mabuka, J.M., Mackelprang, R.D., Lohman-Payne, B., Majiwa, M., Bosire, R., Johnston-Stewart, G., Rowland-Jones, S., Overbaugh, J., Farquhar, C. 2009. CCR2-64I polymorphism is associated with lower maternal HIV-1 viral load and reduced vertical HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, 51(2): 235-7.

- Magierowska, M., Theodorou, I., Debré, P., Sanson, F., Autran, B., Rivere, Y., Charron, D., Costagliola, D. 1999. Combined genotypes of CCR5, CCR2, SDF1, and HLA genes can predict the long-term nonprogressor status in human immunodeficiency virus-1-infected individuals. *Blood*. 93(3): 936-41.
- Mandl, C.W., Aberle, S.W., Henkel, J.H., Puchhammer-Stöckl, E., Heinz, F.X. 1998. Possible influence of the mutant CCR5 Allele on vertical transmission of HIV-1. *J Med Virol.*, 55(1): 51-5.
- Mangano, A., Theiler, G., Sala, L., Capucchio, M., Fainboim, L., Sen, L. 2001. Distribution of CCR5-Delta 32 and CCR2-64I alleles in an Argentine Amerindian population. *Tissue Antigens.*, 58(2): 99-102.
- Mhandire, K., Duri, K., Kandawasvika, G., Chandiwana, P., Chin'ombe, N., Kanyera, R.B., Stray-Pedersen, B., Dandara, C. 2014. CCR2, CX3CR1, RANTES and SDF1 genetic polymorphisms influence HIV infection in a Zimbabwean pediatric population. *J Infect Dev Ctries.*, 8(10): 1313-21.
- Miller, S.A., Dykes, D.D., Polesky, H.F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.*, 16(3): 1215.
- Miller, R.H., Sarver, N. 1995. HIV Accessory Proteins: Emerging Therapeutic Targets. *Molecular Medicine*, 1(5): 479-85.
- Muxel, S.M., Borelli, S.D., Amarante, M.K., Voltarelli, J.C., Aoki, M.N., Olivera, C.E. Ehara Watanabe, M.A. 2008. Association study of CCR5 delta 32 polymorphism among the HLA-DRB1 Caucasian population in Northern Paraná, Brazil. *J Clin Lab Anal.*, 22(4): 229-33.
- Nkenfou, C.N., Mekue, L.C., Nana, C.T., Kuiate, J.R. 2013. Distribution of CCR5-Delta32, CCR5 promoter 59029 A/G, CCR2-64I and SDF1-3'A genetic polymorphisms in HIV-1 infected and uninfected patients in the west region of Cameroon. *BMC Res Notes*. 6: 288.
- Nunzio, F.D., Felix, T., Arhel, N.J., Nisole, S., Charneau, P., Beignon, A.S. 2012. HIV-derived vectors for therapy and vaccination against HIV. *Vaccine*, 30(15): 2499-2509.
- Onay, İ. 2012. Cengizhan'ın Devletinde Türk Kültürünün Etkisi ve Katkısı. *Turkish Studies*, Fall, 7(4): 2441-2455.
- Ometto, L., Zanchetta, M., Mainardi, M., De Salvo, G.L., Garcia-Rodriguez, M.C., Gray, L., Newell, M.L., Chieco-Bianchi, L., De Rossi, A. 2000. Co-receptor usage of HIV-1 primary isolates, viral burden, and CCR5 genotype in mother-to-child HIV-1 transmission. *AIDS.*, 14(12): 1721-9.
- Özkaya, G. 2006.

- İnsan İmmün Yetmezlik Virüsünün Serüveni: Nereden Nereye? Mikrobiyol Bült., 40: 435-443.
- Özbal, Y. 2007. HIV-1 Enfeksiyon Patogenezi. Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal), 29(3):228-234.
- Papa, A., Papadimitriou, E., Adwan, G., Clewley, J.P., Malissiovas, N., Ntoutsos, I., Alexiou, S., Antoniadis A. 2000. HIV-1 co-receptor CCR5 and CCR2 mutations among Greeks. FEMS Immunol Med Microbiol., 28(1): 87-9.
- Passaes, C.P., Sáez-Cirión, A. 2014. HIV cure research: Advances and prospects. Virology, 454-455: 340-52.
- Paz-y-Mino, C., Morillo, S.A., Celi, A.P., Witte, T., Muñoz Guijarro, M.J., Collantes, J.C., Leone, P.E. 2005. CCR5delta32, CCR2-64I, and SDF1-3'A polymorphisms related to resistance to HIV-1 infection and disease in the Ecuadorian population. 77(4): 521-6
- Peeters, M., D'Arc, M., Delaporte, E. 2014. Origin and Diversity of Human Retroviruses. AIDS Rev., 16: 23-34.
- Peprah, E., Xu, H., Tekola-Ayele, F., Royal, C.D. 2015. Genome-wide association studies in Africans and African Americans: expanding the framework of the genomics of human traits and disease. Public Health Genomics., 18(1): 40-51.
- Puissant, B., Roubinet, F., Massip, P., Sandres-Saune, K., Apoil, P.A., Abbal, M., Pasquer, C., Izopet, J., Blancher, A. 2006. Analysis of CCR5, CCR2, CX3CR1, and SDF1 polymorphisms in HIV-positive treated patients: impact on response to HAART and on peripheral T lymphocyte counts. AIDS Res Hum Retroviruses., 22(2): 153-62.
- Rahimi, H., Farajollahi, M.M., Hosseini, A. 2014. Distribution of the mutated delta 32 allele of CCR5 co-receptor gene in Iranian population. Med J Islam Repub Iran., 29;28: 140.
- Ramana, G.V., Vasanthi, A., Khaja, M., Su, B., Govindaiah, V., Jin, L., Singh, L., Chakraborty, R. 2001. Distribution of HIV-1 resistance-conferring polymorphic alleles SDF-1-3'A, CCR2-64I and CCR5-Delta32 in diverse populations of Andhra Pradesh, South India. J Genet., 80(3): 137-40.
- Reiche, E.M., Ehara Watanabe, M.A., Bonametti, A.M., Kaminami Morimoto H., Akira Morimoto, A., Wiechmann, S.L., Breganó, J.W., Matsuo, T., Vissoci Reiche, F., Miranda, H.C., Brajão Oliveira, K., Vogler, I.H., Siscar, A.R. 2006. The effect

- of stromal cell-derived factor 1 (SDF1/CXCL12) genetic polymorphism on HIV-1 disease progression. *Int J Mol Med.*, 18(4): 785-93.
- Ristic, S., Cizmarevic, N.S., Milic, B.B., Martinovic, M.C., Kapovic, M. 2005. Frequency of CCR5 Gene 32-Basepair Deletion in Croatian Normal Population. *Croat Med J.*, 46(4): 693-694.
- Roman, F., Franck, N., Burgy, C., Servais, J., Zimmer, J.M., Mossong, J., Goubau, P., Schneider, F., Hemmer, R., Schmit, J.C. 2002. Prevalence of HIVco-receptor polymorphisms in HIV-infected patients and uninfected volunteers in Luxembourg. *HIV Clin Trials.*, 3(3): 195-201.
- Roy, P., Chakrabarti, S. 2012. The Distribution of CCR2-64I, SDF1-3'A and MCP1-2518G/A Genes Polymorphism in a Specific High Risk Group from the Northeastern States West Bengal, and Gorkha Population in India. *Indian J Virol.*, 23(3): 286-93.
- Rugeles, M.T., Solano, F., Díaz, F.J., Bedoya, V.I., Patiño, P.J. 2002. Molecular characterization of the CCR 5 gene in seronegative individuals exposed to human immunodeficiency virus (HIV). *J Clin Virol.*, 23(3):161-9.
- Ryabov, G.S., Kazennova, E.V., Bobkov, A.F. 2002. Frequencies of the CCR2-64I and SDF1-3'A alleles associated with progression of the HIV-1 disease in healthy individuals from Moscow. *Genetika*, 38(2):278-80.
- Ryabov, G.S., Kazennova, E.V., Bobkova, M.R., Bobkov, A.F. 2004. Prevalence of alleles associated with HIV resistance in Russia. *Genet Test.*, 8(1): 73-6.
- Salem, A.H., Batzer, M.A. 2006. Distribution of the HIV resistance CCR5-Delta 32 allele among Egyptians and Syrians. *Mutat Res.*, 616(1-2): 175-80.
- Salem, A.H., Farid, E., Fadel, R., Abu-Hijleh, M., Almawi, W., Han, K., Batzer, M.A. 2009. Distribution of four HIV type 1-resistance polymorphisms (CCR5-Delta32, CCR5-m303, CCR2-64I, and SDF1-3'A) in the Bahraini population. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 25(10): 973-7.
- Sayan, M., Kaya, S. 2013. Türkiye’de İlk Kez Saptanan Bir Rekombinant HIV-1 Kökeni: Crf08_BC. *Mikrobiyol Bul.*, 47(2): 339-345.
- Sayan, M., Karaosmanoğlu, H., Mete, B., Gündüz, A., Aydın, Ö., Yemişen, M., Uzun, N., Tabak, F. 2013. İstanbul’da İzole Edilen HIV-1 *pol* Geni Dizilerinin Moleküler Epidemiyolojik Analizi. *Mikrobiyol Bul.*, 47(1): 87-97.
- Schinkel, J., Langendam, M.W., Coutinho, R.A., Krol, A., Brouwer, M., Schuitemaker, H. 1999. No evidence for an effect of the CCR5 delta32/+ and CCR2b 64I/+

- mutations on human immunodeficiency virus (HIV)-1 disease progression among HIV-1-infected injecting drug users. *J Infect Dis.*, 179(4): 825-31.
- Sei, S., Boler, A.M., Nguyen, G.T., Stewart, S.K., Yang, Q.E., Edgerly, M., Wood, L.V., Brouwers, P., Venzon, D.J. 2001. Protective effect of CCR5 delta 32 heterozygosity is restricted by SDF-1 genotype in children with HIV-1 infection. *AIDS.*, 15(11): 1343-52.
- Sharp, P.M., Hahn, B.H. 2011. Origins of HIV and the AIDS Pandemic. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1(1): 006841.
- Sidoti, A., D'Angelo, R., Rinaldi, C., De Luca, G., Pino, F., Salpietro, C., Giunta, D.E., Saltalamacchia, F., Amato, A. 2005. Distribution of the mutated delta 32 allele of the CCR5 gene in a Sicilian population. *Int J Immunogenet.*, 32(3): 193-8.
- Singh, K.K., Barroga, C.F., Hughes, M.D., Chen, J., Raskino, C., McKinney, R.E. Jr, Spector, S.A. 2004. Prevalence of chemokine and chemokine receptor polymorphisms in seroprevalent children with symptomatic HIV-1 infection in the United States. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, 35(3):309-13.
- Soriano, A., Martínez, C., García, F., Plana, M., Palou, E., Lejeune, M., Arosteguini, J.I., De Lazzari E., Rodriguez, C., Barrasa, A., Lorenzo, J.I., Alcamí, J., del Romero, J., Miró, J.M., Gatell, J.M., Gallart, T. 2002. Plasma stromal cell-derived factor (SDF)-1 levels, SDF1-3'A genotype, and expression of CXCR4 on T lymphocytes: their impact on resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection and its progression. *J Infect Dis.*, 186(7): 922-31.
- Spira, S., Wainberg, M.A., Loemba, H., Turner, D., Brenner, B.G. 2003. Impact of clade diversity on HIV-1 virulence, antiretroviral drug sensitivity and drug resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(2): 229-40.
- Struyf, F., Thoelen, I., Charlier, N., Keyaerts, E., Van der Donck, I., Wu, J., Van Ranst, M. 2000. Prevalence of CCR5 and CCR2 HIV-coreceptor gene polymorphisms in Belgium. *Hum Hered.*, 50(5): 304-7.
- Sulukan, E.E., Küçükoğlu, K., Gül, H.İ. 2009. AIDS Tedavisinde Kullanılan İlaçlar. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 38(1): 47-78.
- Su, B., Jin, L., Hu, F., Xiao, J., Luo, J., Lu, D., Zhang, W., Chu, J., Du, R., Geng, Z., Qiu, X., Xue, J., Tan, J., O'Brien, S.J., Chakraborty, R. 1999. Distribution of two HIV-1-resistant polymorphisms (SDF1-3'A and CCR2-64I) in East Asian and world populations and its implication in AIDS epidemiology. *Am J Hum Genet.* 65(4): 1047-53.

- Su, B., Sun, G., Lu, D., Xiao, J., Hu, F., Chakraborty, R., Deka, R., Jin, L. 2000. Distribution of three HIV-1 resistance-conferring polymorphisms (SDF1-3'A, CCR2-64I, and CCR5-delta32) in global populations. *Eur J Hum Genet.*, 8(12): 975-9.
- Su, Q., Mai, Z., Zang, N., Wu, S., Xiao, X., Liang, H. 2010. Distribution of CCR5-Δ32, CCR2-64I and SDF1-3'A in Guangxi Zhuang Population. *JIAPAC*, 9(3): 145-149.
- Stewart, G.J., Ashton, L.J., Biti, R.A., French, R.A., Bennetts, B.H., Newcombe, N.R., Benson, E.M., Carr, A., Cooper, D.A., Kaldor, J.M. 1997. Increased frequency of CCR-5 delta 32 heterozygotes among long-term non-progressors with HIV-1 infection. The Australian Long-Term Non-Progressor Study Group. *AIDS*. 11(15): 1833-8.
- Şevik, M. 2013. Onkojenik Retrovirüsler. *Selçuk Tıp Derg.*, 29(1): 1-4.
- Tan, X.H., Zhang, J.Y., Di, C.H., Hu, A.R., Yang, L., Qu, S., Zhao, R.L., Yang, P.R., Guo, S.X. 2009. Distribution of CCR5-Delta32, CCR5m303A, CCR2-64I and SDF1-3'A in HIV-1 infected and uninfected high-risk Uighurs in Xinjiang, China. *Infect Genet Evol.*, 10(2): 268-72.
- T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hiz. Gen. Müd. Bulaşıcı Has. İhbar ve Bildirim Sis.1. Baskı, Ankara: Ada Matbaacılık LTD. Şti. p 6-8.
- T.C. Sağlık Bakanlığı. 2013. www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-32110/1-aralik-dunya-aids-gunu.html.
- T.C. Sağlık Bakanlığı. 2014. www.thsk.gov.tr/dosya/birimler/strateji_db/dokumanlar/faaliyet_raporu/2014_faaliyet_raporu.pdf.
- Temizkan, G., Arda N. 2008. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 101-73.
- Trecarichi, E.M., Tumbarello, M., de Gaetano Donati, K., Tamburrini, E., Cauda, R., Brahe, C., Tiziano, F.D. 2006. Partial protective effect of CCR5-Delta 32 heterozygosity in a cohort of heterosexual Italian HIV-1 exposed uninfected individuals. *AIDS Res Ther.* 3: 22.
- Trkola, A. 2004. HIV-host interactions: vital to the virus and key to its inhibition. *Curr Opin Microbiol.*, 7(5): 555-9.
- Ugarte, W.J., Högberg, U., Valladares, E., Essen, B. 2013. Assessing knowledge, attitudes, and behaviors related to HIV and AIDS in Nicaragua: A community-level perspective. *Sex Reprod Healthc.*, 4(1): 37-44.

- UNAIDS.2014.http://www.unaids.org/sites/default/files/documents/WAD2014_closethegap_en.pdf.
- Veloso, S., Olona, M., García, F., Domingo, P., Alonso-Villaverde, C., Broch, M., Peraire, J., Viladés, C., Plana, M., Pedrol, E., López-Dupla, M., Aguilar, C., Gutiérrez, M., Leon, A., Tacias, M., Gatell, JM., Richart, C., Vidal, F. 2010. Effect of TNF-alpha genetic variants and CCR5 Delta 32 on the vulnerability to HIV-1 infection and disease progression in Caucasian Spaniards. *BMC Med Genet.*, 11:63
- Verma, R., Gupta, RB., Singh, K., Bhasin, R., Anand Shukla, A., Chauhan, SS., Luthra, K. 2007. Distribution of CCR5delta32, CCR2-64I and SDF1-3'A and plasma levels of SDF-1 in HIV-1 seronegative NorthIndians. *J Clin Virol.*, 38(3): 198-203.
- Vicenzi, E., Poli, G. 2013. Novel factors interfering with human immunodeficiency virus-type 1 replication in vivo and in vitro. *Tissue Antigens*, 81: 61-71.
- Vieira, V.C., Barral, M.F., Mendoza-Sassi, R.A., Silveira, J.M., Soares, M.A., de Martínez, A.M. 2011. The effect of combined polymorphisms in chemokines and chemokine receptors on the clinical course of HIV-1 infection in a Brazilian population. *Mem Inst Oswaldo Cruz.*, 106(4): 408-15.
- Visscher, P.M., Brown, M.A., McCarty, M.I., Yang, J. 2012. Five Years of GWAS Discovery. *Am. J. Hum. Genet.*, 90(1): 7-24.
- Voevodin, A., Samilchuk, E., Dashti, S. 1999. Frequencies of SDF-1 chemokine, CCR-5 and CCR-2 chemokine receptor gene alleles conferring resistance to human immunodeficiency virus type 1 and AIDS in Kuwaitis. *J Med Virol.*, 58(1): 54-8.
- Wang, F.S., Hong, W.G., Cao, Y., Liu, M.X., Jin, L., Hu, L.P., Wang, Z., Feng, T.J., Hou, J., Zhang, B., Shi, M., Xu, D.P., Lei, Z.Y., Wang, B., Liu, Z.D., Ye, J.J., Peng, L., Qiu, Y., Winkler, C. 2003. Population survey of CCR5delta32, CCR5 m303, CCR2b 64I, and SDF1 3'A allele frequencies in indigenous Chinese healthy individuals, and in HIV-1-infected and HIV-1-uninfected individuals in HIV-1 risk groups. *J Acquir Immune Defic Syndr.*, 32(2): 124-30.
- WHO. 2011. <file:///C:/Users/FUJITSU/Downloads/hiv-aids-strategy-who-african-region-en.pdf>. 25.04.2014.
- Woodman, Z., Williamson, C. 2009. HIV molecular epidemiology: transmission and adaptation to human populations. *Curr Opin HIV AIDS.*, 4(4): 247.

- Xu, L., Qiao, Y., Zhang , X., Sun, H., Wang, J., Sun, D., Jin, Y., Yu, Y., Chen, F., Bai, J., Ling, H., Wang, K., Fu, S. 2010. CCR2-64I allele is associated with the progression of AIDS in a Han Chinese population. *Mol Biol Rep.*, 37(1): 311-6.
- Yudin, N.S., Vinogradov, S.V., Potapova, T.A., Naykova, T.M., Sitnikova, V.V., Kulikov, I.V., Khasnulin, V.I., Konchuk, C., Vloschinskii, P.E., Ivanov, S.V., Kobzev, V.F., Romaschenko, A.G., Voevoda, M.I. 1998. Distribution of CCR5-delta 32 gene deletion across the Russian part of Eurasia. *Hum Genet.*, 102(6): 695-8.
- Zhang, X.L., Zhang, C.Y., Yu, Y.,Chen, F., Li, P., Fu, S.B. 2006. CCR2 allele polymorphisms in15 Chinese ethnic populations. *Int J Immunogenet.*, 33(1): 45-8.
- Zhou, Y., Bao, R., Haigwood, N.L., Persidskyi, Y., Ho, W. 2013. SIV infection of rhesusmacaques of Chinese origin: a suitable model for HIV infection in humans. *Retrovirology*, 10: 89-99.

8. EKLER

EK-1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu yüksek lisans tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler aşağıda listelenmektedir.

1. Sükroz
2. Tris
3. Magnezyum klorür ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$)
4. TritonX-100
5. Hidrojen klorür (HCl)
6. Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)
7. Kalsiyum klorür ($CaCl_2$)
8. Proteinaz K
9. Sodyum dodesil sülfat (SDS)
10. Sodyum klorür (NaCl)
11. Borik asit
12. Saf etil alkol
13. Etidyum bromid
14. Sodyum hidroksit tablet (NaOH)
15. Agaroz (Roc)
16. 6X yükleme boyası (6X loading dye)
17. Deoksinükleotit trifosfat seti (dNTP)
18. CCR5, CCR2, SDF1 genlerine spesifik primerler (Thermo Scientific)
19. *Taq* DNA polimeraz enzimi (Thermo Scientific)
20. *MspI* ve *BseGI* restriksiyon enzimleri (Thermo Scientific)
21. Moleküler belirteç (pUC19 DNA/*MspI* (HpaII) Marker, 23 Thermo Scientific Marka ve 50 pb ladder plus Marker Biomatik Marka)

EK-2. Kullanılan Cihazlar ve Teknik Malzemeler

Bu tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve teknik malzemeler Sinop Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarına aittir.

1. Otoklav (ALP-CL4OL)
2. UV sterilizatörlü çeker ocak
3. Soğutmalı santrifüj (Heittich, Universal 320)
4. Soğutmalı mikrosantrifüj (Sigma, I-14)
5. Deiyonize saf su cihazı (ELGA, PURELAB7000)
6. Ultra saf su cihazı (Human, Power 1)
7. UV-VIS Spektrofotometre (Shimadzu UV-2600)
8. pH metre (Hanna, HI 2211)
9. Analitik hassas terazi (Shimadzu, ATX 224)
10. Vorteks (Dragonlab)
11. Isıtıcıli manyetik karıştırıcı (IKA)
12. PCR cihazı (Bioer, Genepro TC-E)
13. İnkübatör (Daihan, WIG-50)
14. Çalkalamalı inkübatör (Nbiotech, NB-205Q)
15. UV lambalı sterilizatör (Selecta, UV Esteril)
16. Yatay elektroforez tankı ve güç kaynağı (Midi) (Consort, E 3400)
17. Jel görüntüleme ve dökümantasyon sistemi (Uvitech Cambridge, Fire-Reader XS D-56-26MX)
18. Buz makinası (Telstar, IF90)
19. Mikrodalga fırın (Vestel, MD-GDX30)
20. Derin donduruculu buzdolabı (Bosch)
21. Otomatik pipetler (BRAND)

EK-3. Kullanılan Solüsyonlar ve Hazırlanışı

1. Lizis Tamponu

Sükroz	110 g
500 mM Tris pH:7.5	20 ml
MgCl ₂ .6H ₂ O	0.81 g
TritonX-100	10 ml

Gerekli miktarlar ölçülüp ve tartılıp karıştırılır. Hazırlanan solüsyon bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Isıtıcıda iyice karıştırılır. Solüsyon hazırlandıktan sonra otoklavlanır ve +4°C'de saklanır.

2. Proteinaz K Solüsyonu

500 mM Tris pH:8.0	10 ml
proteinaz K	0.1 ml
100 mM CaCl ₂	100 mg

Tris ve CaCl₂ karıştırılarak toz halindeki proteinaz K'nın üzerine ilave edilir. Bu şekilde 10 mg/ml proteinaz K solüsyonu hazırlanmış olur ve -20°C'de saklanır.

3. TEN Tamponu

500 mM Tris pH:8	1 ml
NaCl	1 ml
100 mM EDTA	1.17 g

Gerekli maddeler karıştırılır ve bidistile su ile 50 ml'ye tamamlanır. Solüsyon hazırlandıktan sonra otoklavlanır ve +4°C'de saklanır.

4. %10 SDS

10 g SDS alınır 100 ml bidistile su içinde çözülür. Oda ısısında saklanır.

5. Doymuş NaCl Solüsyonu (6M)

7 g NaCl bidistile su ile 20 ml'ye tamamlanır. İyice karıştırılır. Oda ısısında saklanır.

6. TE Solüsyonu

500 mM Tris pH: 7.5	1 ml
100 mM EDTA	0.5 ml

Gerekli miktarlar ölçülerek alınır ve bidistile su ile 50 ml'ye tamamlanır. +4°C'de saklanır.

7. 5×TB

Tris	54 g
Borik asit	27.5 g
EDTA 0.5 M pH:8.0	20 ml

Gerekli miktarlar ölçülüp tartılarak karıştırılır bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Oda ısısında saklanır.

8. 1×TBE

100 ml 5×TBE solusyonu üzerine 400 ml bidistile su eklenir. Oda ısısında saklanır.

9. Etidyum bromid solüsyonu (10 mg/ml)

1 g etidyum bromid 10 ml distile su içinde çözünür. Işık almayan bir şişe içinde +4°C'de saklanır. Stok solüsyondan, çalışma solüsyonu 0.5 mg/ml olacak şekilde porsiyonlar hazırlanır.

10. 0.5 M EDTA pH 8.0

Disodyum EDTA	18.6 g
Bidistile su	80 ml
NaOH tableti	2 g

Disodyum EDTA bidistile su içinde çözülür, solüsyona katı haldeki NaOH eklenerek çözünmesi sağlanır, pH 8.0'a ulaşınca bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

11. 500 mM Tris pH 7.5

Tris	6.1 g
Bidistile su	95 ml
Konsantre HCl	3.25 ml

Tris bidistile suda çözünür ve konsantre HCl eklenir, iyice çalkalandıktan sonra pH 7.5'a ulaşınca bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

12. 500 mM Tris pH 8.0

Tris	6.1 g
Konsantre HCl	95 ml
Bidistile su	0.42 ml

Tris bidistile suda çözünür ve konsantre HCl eklenir, iyice çalkalandıktan sonra pH 8.0'a ulaşınca bidistile su ile 100ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

13. 100 mM EDTA

3.72 g EDTA tartılır ve bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edilir ve +4°C'de saklanır.

14. 100 mM CaCl₂

1.47 g CaCl₂ tartılır ve bidistile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

15. %70 Etil alkol

70 ml %99.5 etil alkol alınır ve üzerine 30 ml bidistile su eklenir ve -20°C'de saklanır.

EK-4. OMÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/1438

18.02.2015

Sayın : Prof. Dr. İsmet BERBER

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz HIV-1'e Karşı Direnç Sağlayan CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3'A Allellerinin Türk Popülasyonundaki Dağılımı başlıklı OMÜ KAEK 2014/593 Karar nolu Genetik çalışma nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu yönergesine göre incelenmiş etik açıdan bir sakınca olmadığına, çalışmanın süresi 6 ayı geçerse 6 aylık bildirimlerinin yapılmasına; çalışma tamamlandıktan sonra sonucunun tarafımıza en geç üç(3) ay içerisinde bildirilmesine 27.03.2014 tarihli Etik kurulumuzda oy birliği ile karar verilmiştir

Bilgilerinize arz/rica ederim.

Prof. Dr. A.Tevfik SÜNER
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

EK-5. Bilgi Formu

BİLGİ FORMU

Gönüllünün adı soyadı	
Mesleği	
Adresi	
Tel	
Doğum tarihi ve yeri	
Annenin memleketi	
Babanın memleketi	
Herhangi bir bulaşıcı hastalık taşıyıp taşımadığı	

EK-6. Gönüllü Olur Formu

HASTA BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ *

ARASTIRMANIN ADI (ÇALIŞMANIN AÇIK ADI):

“HIV-1’e Karşı Direnç Sağlayan CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3’A Allellerinin Türk Popülasyonundaki Dağılımı”

Gönüllünün Baş Harfleri << >>

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağını çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz.

BU ÇALIŞMAYA KATILMAK ZORUNDAMIYIM?

Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirsiniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Katılmaya karar verirsiniz, çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Bu durum sizin aldığınız tedavinin standardını etkilemeyecektir. Eğer isterseniz, bu genetik çalışmaya katılımınızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir. Ayrıca destekleyici firma çalışmayı sonlandırmaya karar verirse bu durumda da çalışmadan çıkartılacaksınız.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI NEDİR? Açıklayınız

Araştırmaya katılan bireylerdeki CCR5-Δ32, CCR2-64I ve SDF1-3’A polimorfizmlerinin belirlenmesi, bu polimorfizmleri taşıyan bireylerin allel frekanslarının hesaplanması ve HIV-1 / AIDS direncine genetik yatkınlığın olup olmadığının belirlenmesi

ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:

Çalışmada kullanılmak üzere bir kereye mahsus olarak yalnızca yaklaşık 10 ml kan örneği alınacaktır.

BENİM NE YAPMAM GEREKİYOR?

Kan örneği vermeniz haricinde başka hiçbir işlem gerekmemektedir.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN NE GİBİ OLASI YAN ETKİLERİ, RİSKLERİ VE RAHATSIZLIKLARI VARDIR?

Araştırmaya dahil edilecek gönüllü olarak sizden sadece kan örneği alınacaktır. Dolayısıyla çalışmanın hiçbir yan etkisi, riski ve size vereceği herhangi bir rahatsızlık yoktur.

(devamı arkada)

GEBELİK VE DOĞUM KONTROLÜ

Gebelik ve doğum kontrolüne etkisi yoktur.

ÇALIŞMAYA KATILMANIN OLASI YARARLARI NELERDİR? (Varsa açıklayınız)

Bu bilimsel çalışmaya destek verdiğiniz takdirde, analiz edilecek polimorfizmlerden herhangi birini taşıdığınızın belirlenmesi HIV/AIDS'e karşı direnç sağlayıcı genetik yatkınlığınız konusunda fikir verecektir.

GÖNÜLLÜ KATILIM

Bu araştırmaya katılma kararımı tamamen gönüllü olarak veriyorum. Bu çalışmaya katılmayı reddedebileceğim veya katıldıktan sonra istediğim zaman hiçbir sorumluluk almadan ayrılabileceğim bilincindeyim.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN MALİYETİ NEDİR?

Araştırmacı ziyaretleri ve çalışmayla ilgili olan tüm laboratuvar testleri çalışma destekleyicisi tarafından karşılanacak ve size veya bağlı bulunduğunuz özel sigorta veya resmi sosyal güvenlik kurumuna ödetilmeyecektir.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Bu formu imzalayarak araştırmacı ve onun kadrosunun çalışması için sizin kişisel bilgilerinizi ("Çalışma Verileri") toplamalarına ve kullanmalarına onay vermiş olacaksınız. Bu durum doğum tarihiniz, cinsiyetiniz, etnik kökeniniz ayrıca çalışma verilerinizin kullanımı ile ilgili verdiğiniz onayın herhangi bir belirlenmiş birim tarihi yoktur, ancak araştırmacıyı haberdar ederek bu onayınızdan herhangi bir zamanda vazgeçebilirsiniz.

Çalışma destekleyicisi ile paylaşılan çalışma verileri size özel bir numara olan bir kod ("Kod") numarası kullanımıyla korunacaktır. Sizin çalışma verilerinize ulaşmak için gerekli olan kod anahtarı araştırmacının denetimindedir. Çalışma destekleyicisi- düzenleyici otorite veya diğer denetim kurumları tarafından atanmış kişiler araştırmacı tarafından tutulan çalışma verilerinizi inceleyebilirler.

Araştırmacı çalışma verilerinizi çalışma için kullanacaktır. Çalışma destekleyicisi; çalışmanın yürütülmesi, teşhis ve tıbbi yardım gereçlerinin geliştirilmesi için çalışma verilerinizi kullanabilir. Araştırmacıların çalıştığı kurum ve çalışma destekleyicisinin her ikisi de yürürlükte olan veri koruma kanunları ile uyumlu olarak çalışma verilerinizin yönetiminden sorumludurlar.

Çalışma destekleyicisi çalışma verilerinizi, diğer araştırma kuruluşları ile paylaşabilir. Çalışmanın sonuçları tıbbi yayınlarda yayınlanabilir, ancak sizin kimlik bilgileriniz bu yayınlarda açıklanmayacaktır.

Araştırmacınız-ya da çalışma destekleyicisinden, toplanan çalışma verilerinizle ilgili bilgi isteme hakkına sahiptir. Aynı zamanda bu verilerdeki herhangi bir hatanın düzeltilmesini isteme hakkına da sahiptir. Eğer bu konuda bir isteğiniz olursa lütfen çalışmayı yürüten araştırmacı ekibiyle görüşünüz.

(devamı arkada)

Eğer onayınızdan vazgeçerseniz, araştırmacı çalışma verilerinizi artık kullanamayacak ya da diğer kişilerle paylaşamayacaktır. Çalışma destekleyicisi onayınızdan vazgeçmeden önceki çalışma verilerinizi kullanmaya devam edebilir.

Bu formu imzalayarak, çalışma verilerinizin bu formda tanımlandığı şekilde kullanımına onay vermektedir.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE 24 SAAT ULAŞILABİLECEK KİŞİLER:

Prof. Dr. İsmet BERBER
GSM: 0543-9608173

Dr. Zeynep YEĞİN
GSM: 0505-4857518

Biyolog Ayşe BALCI
GSM: 0505-7424175

ÇALIŞMADAN AYRILMAMI GEREKTİRECEK DURUMLAR:

Yoktur.

YENİ BİLGİLER ÇALIŞMADAKİ ROLÜMÜ NASIL ETKİLEYEBİLİR

Çalışma sürerken ortaya çıkmış olan bütün yeni bilgiler talep ettiğim takdirde bana iletilecektir.

Çalışmaya Katılma Onayı

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

*** Açıklamalar hastanın anlayabileceği açıklıkta ve teknik terimlerden uzak bir şekilde belirtilmelidir.**

9. ÖZGEÇMİŞ

Ayşe BALCI 1983 yılında Erbaa’da doğdu. İlk, orta, lise öğrenimini Samsun’da tamamladı. 2000 yılında girdiği Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden 2004 yılında mezun oldu. 2013-2015 yılları arasında, Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı ve halen devam etmektedir.