

# KIRIM-KONGO KANAMALI ATEŐİ PATOGENEZ, KLİNİK, LABORATUAR



**Doç. Dr. Nazif ELALDI**

Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı

SİVAS

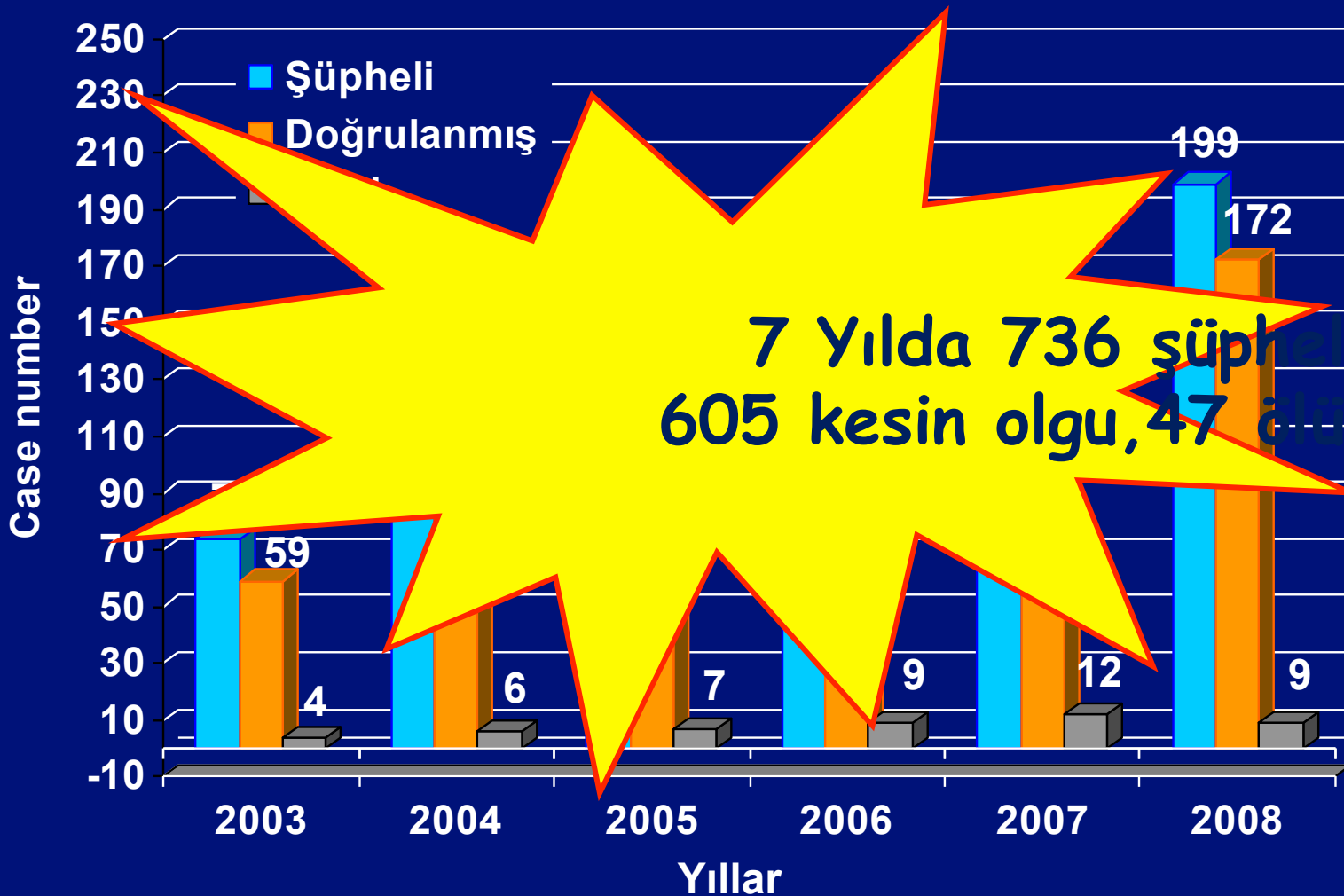


# Kayıplar

- Vaka-ölüm oranı (%5)
- Ekonomik kayıplar
  - Tanıda kullanılan testler (?)
  - Tedavi masrafları
    - Ortalama 1 hasta 1.750 YTL
    - 3128 hasta 5.5 milyon YTL
  - İş gücü kaybı (?)
- Toplumda korku, endişe



# KKKA Olgularının Yıllara Göre Dağılımı (Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi, Sivas)



# Viral Innate (Doğal) İmmünite

- Viral replikasyon doğal bağışıklığı hızla aktive eder
- Toll-like reseptörler
- Dendritik hücreler
- İnterferonlar ve diğer sitokinler
- Natural Killer (NK) hücreleri
- Kompleman proteinleri
  - Virus zarfını haraplar
  - Virus partiküllerini opsonize eder



# Toll-like reseptörler (TLR)

- TLR' ler immün hücrelerde transmembran proteinleri
- İstilacı mikroorganizma DNA ve RNA' larını tanır
  - Bakteri, Fungus, Protozoa, Virüs
- Toplam 13, 11' i insanlarda
- TLR 3, 7, 8 ve 9 viral RNA, DNA tanınmasında önemli

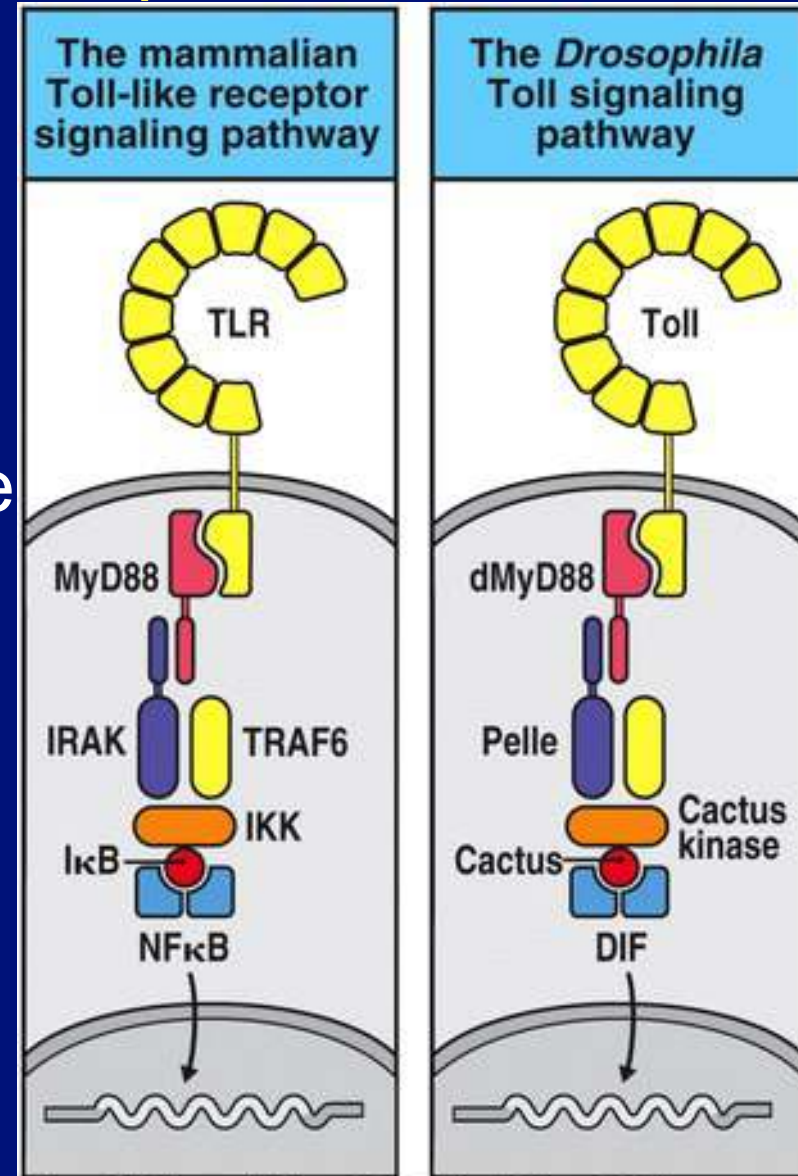
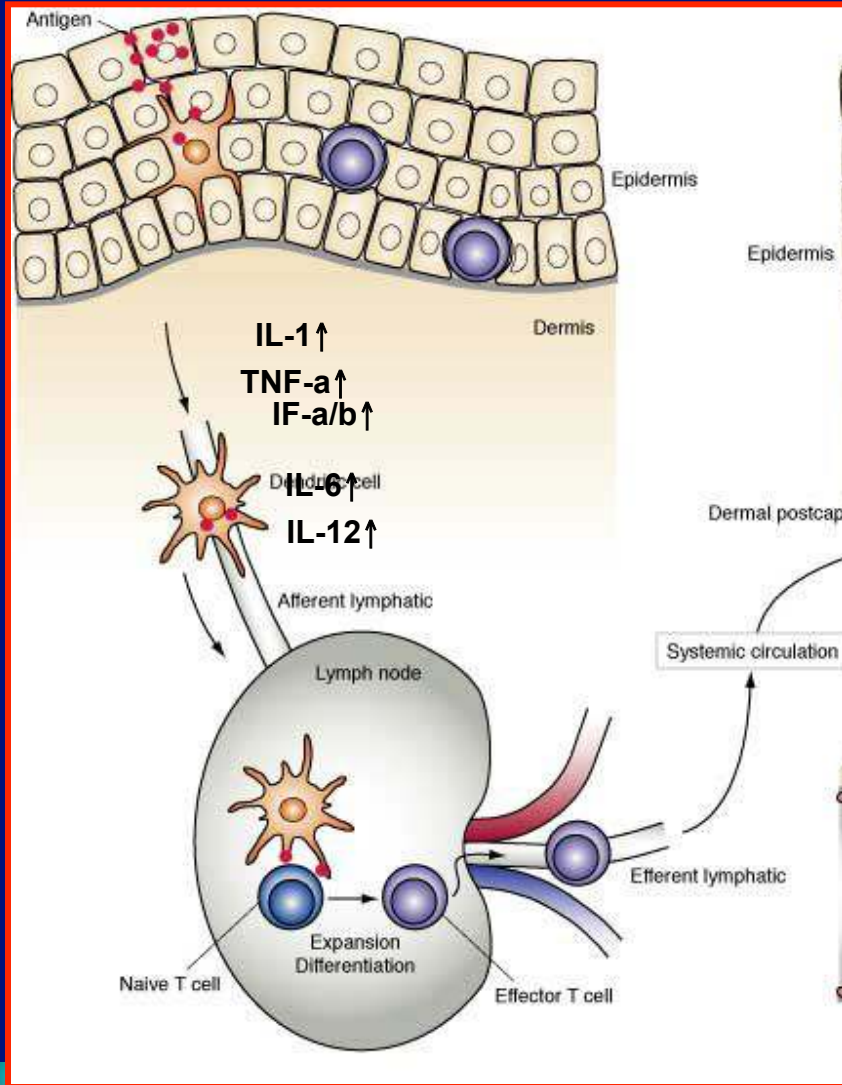


Figure 15-4 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)





# Dendritik hücreler



- Antijenleri alıp işler ve peptid-MHC kompleksleri ile T-hücrelerine sunar
- Doğal ve adaptif bağışıklığı başlatma yeteneğinde
- Sitokin ve kemokinlerle hücre farklılaşma ve aktivasyonunda rol oynar

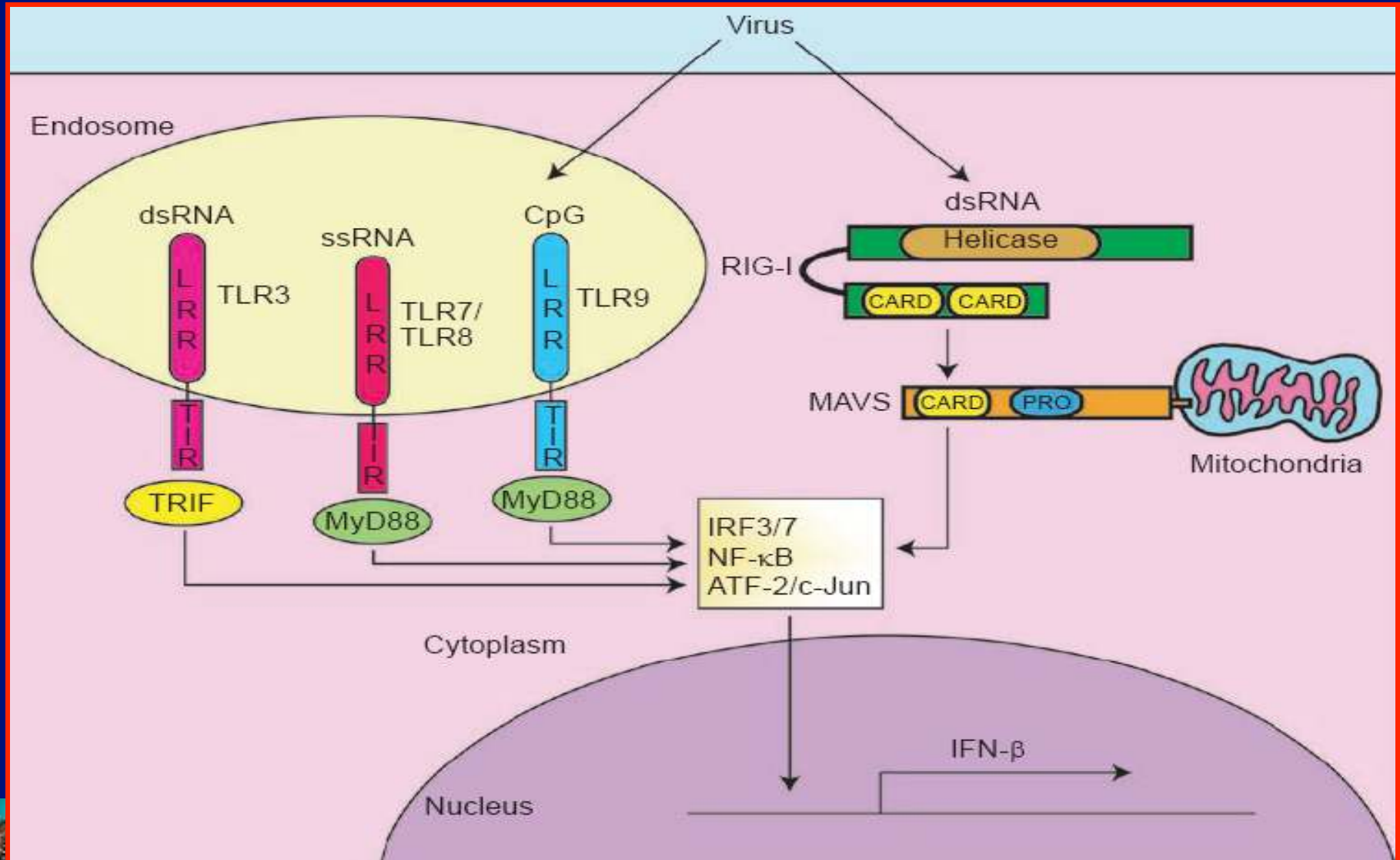


# İnterferon(IF)' ların antiviral etkileri

- Tip I/Tip II, Tip III IF
- Biyokimyasal olarak farklı ama üç tip de antiviral etkili
- Viral infeksiyonların kontrolünde önemli:
  - **İnfekte ve sağlam hücrelerde IF-R' ye bağlanır**
    - Virüsün yayılımını engelleyebilir
    - Viral protein sentezi engellenir
    - MHC class I molekül sayısı artar
      - **İnfekte hücrelerin CTL ile yıkılması artar**
      - **Sağlam hücreleri NK hücrelerinden korur**



# İnterferon(IF) yanıtı





# Natural Killer (NK) hücrelerinin antiviral etkileri

- Virüs ile indüklenen MHC class I downregülasyonu
  - **İnfekte hücrelerin apoptozunu tetikler**
- Virüse özgül ab kaplı infekte hücreleri FcR ile tanıyarak antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksisite (ADCC) ile öldürebilir
- IL-12 ye yanıt olarak IF-gamma üretimi artar
  - **IF-gamma, IF-R' lerine bağlanarak virüs üretimini azaltır**



# Viral Adaptif İmmünite

- Hücre aracılı (hücreesel) immünite
- Antikor aracılı (humoral) immünite
  - Viral infeksiyonların kontrolünde en önemli !
- Geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonları



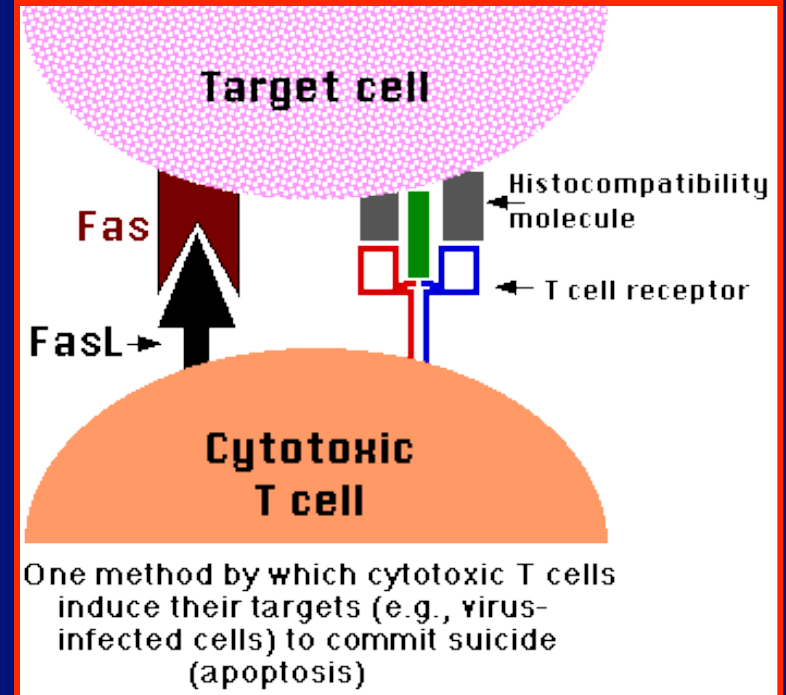
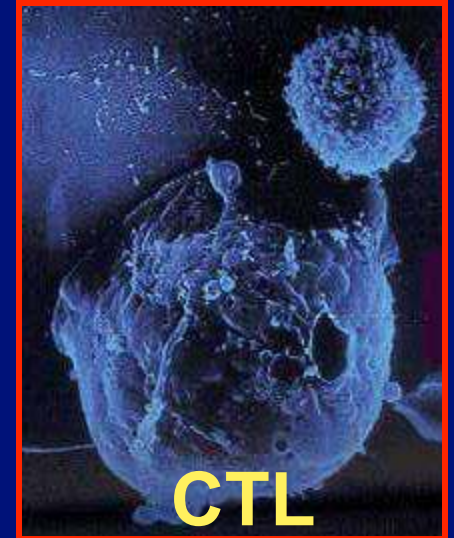
# Hücresel İmmünite

- Virüslerin yayılımının kontrolünde ve viral klirenste önemli !

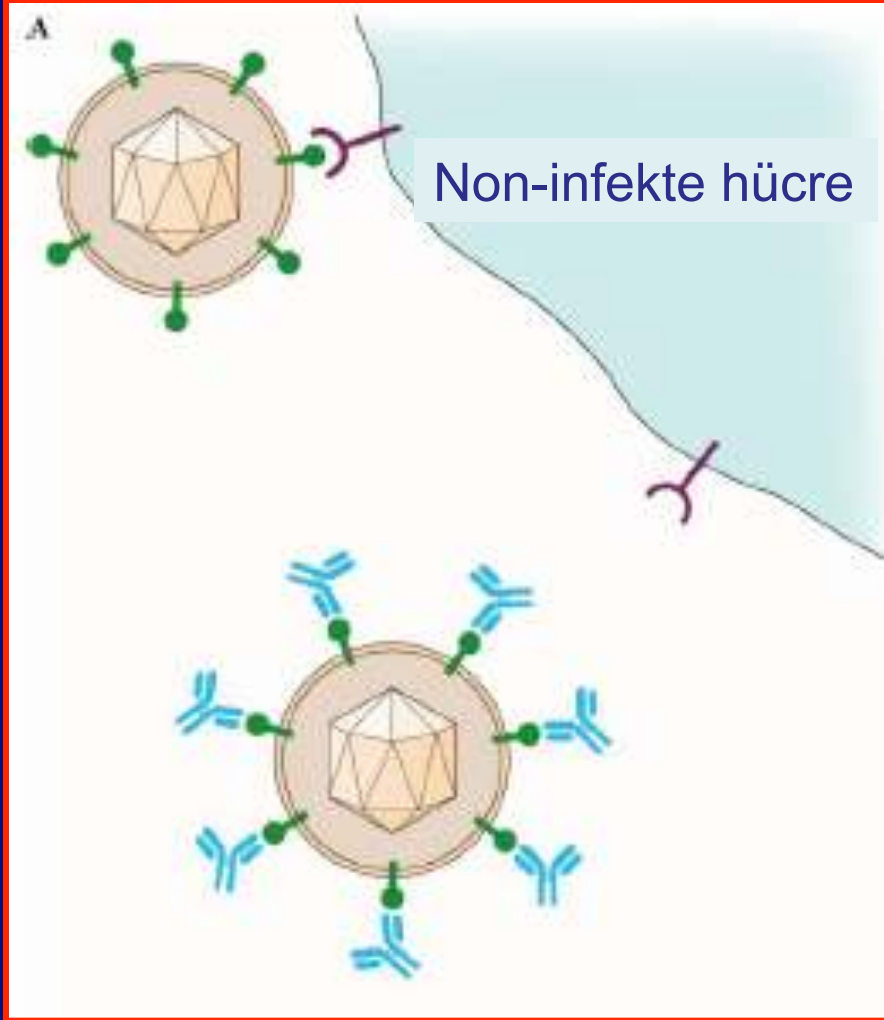
- Effektör hücreler sitotoksik T lenfositleri (CTL)

- CTL infekte hücreleri öldürme yeteneğinde

- Perforin/granzim yolu
- Fas/FasL yolu
- İki yol da apoptoza yol açar
- CTL-----T-bellek hücreleri



# Humoral İmmünite



- Özgül antikorlar antijenlere bağlanarak virüsün konak hücre reseptörlerine yapışmasını ve hücreye girişini engeller
- İnfekte hücreler, kompleman sistemi ve FcR aracılığıyla NK hücreleriyle öldürülür



# Viral Kanamalı Ateşlerde Patogenez

- Hala açık değil !
- Dendritik hücreler, endotel, monositler, makrofajlar, hepatositler, adrenal hücreleri ana hedef !
- İnflamatuvar mediyatörler
  - IL-6, IL-8, IL-10, TNF-alfa, NO.....
- Koagülasyon fonksiyon defektleri, fibrinoliz
  - Peteşi, ekimoz, kanamalar
  - Yaygın damarıçi pıhtılaşma (YDP)



# KKKA Patogenezi ile ilgili arařtırmalar

- Altamura LA, et al. Identification of a novel C-terminal cleavage of CCHFV PreGN that leads to generation of an NSM protein. J Virol 2007.
- Andersson I, et al. Role of actin filaments in targeting of CCHFV nucleocapsid protein to perinuclear regions of mammalian cells. J Med Virol 2004.
- Andersson I, et al. CCHFV delays activation of the innate immune response. J Med Virol 2008.
- Andersson I, et al. Human MxA protein inhibits the replication of CCHFV. J Virol 2004.
- Ardalan MR, et al. CCHF presenting as thrombotic microangiopathy in a patient with end-stage renal failure. Nephrol Dial Transplant 2006.
- Bergeron E, et al. CCHFV protein processing and the role of the NSM protein in virus infectivity. J Virol 2007.
- Bertolotti-Ciarlet A, et al. CCHFV glycoprotein processing and the role of the NSM protein. J Virol 2005.
- Connolly-Andersen A M, et al. CCHFV glycoprotein processing and the role of the NSM protein. J Virol 2007.
- Cagatay I, et al. CCHFV glycoprotein processing and the role of the NSM protein. J Virol 2007.
- Cevik MA, et al. CCHFV glycoprotein processing and the role of the NSM protein. J Virol 2007.
- Doganci L. New findings in CCHF. J Infect Dis 2007.
- Doganci L, et al. CCHF in Turkey. Emerg Infect Dis 2004.
- Duh D, et al. Viral load and clinical course in CCHF. J Infect Dis 2007.
- Elaldi N, et al. Mortality in CCHF. J Infect Dis 2007.
- Engin A, et al. CCHF: Does it involve the central nervous system? J Infect Dis 2007.
- Ergonul O, et al. Evaluation of serum interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  in patients with CCHF. J Infect Dis 2006.
- Erickson BR, et al. N-linked glycosylation of CCHFV glycoprotein (Gc) is important for CCHFV glycoprotein localization and transport. Virology 2007.
- Haferkamp S, et al. Intracellular localization of CCHFV glycoproteins. Virology Journal. 2005.
- Hewson R, et al. Evidence of segment reassortment in CCHFV. J Gen Virol 2004.
- Karti SS, et al. CCHF in Turkey. Emerg Infect Dis 2004.
- Lukashev A. Evidence for recombination in CCHFV. J Gen Virol 2005
- Onguru P, et al. High serum levels of neopterin in patients with CCHF and its relation with mortality. J Infect 2008.
- Papa A, et al. Cytokine levels in CCHF J Clin Virol 2005.
- Sannikova IV, et al. Respiratory lesions in Congo-Crimean hemorrhagic fever. Ter Arkh. 2007. (Rusça)
- Sanchez AAJ. CCHFV glycoprotein precursor is cleaved by Furin-like and SKI-1 proteases to generate a novel 38-kilodalton glycoprotein. J Virol 2006.
- Tasdelen NF, et al. CCHF: five patients with hemophagocytic syndrome. Am J Hematol. 2008
- Yilmaz M, et al. Peripheral blood natural killer cells in CCHF. J Clin Virol 2008.

Son 4 Yılda 27 yayın,  
11'i Türkiye'den!



# KKKA' da Patogenez

Ateş

+

Kanama



# KKKA' da ölüm görülür..... Çünkü:

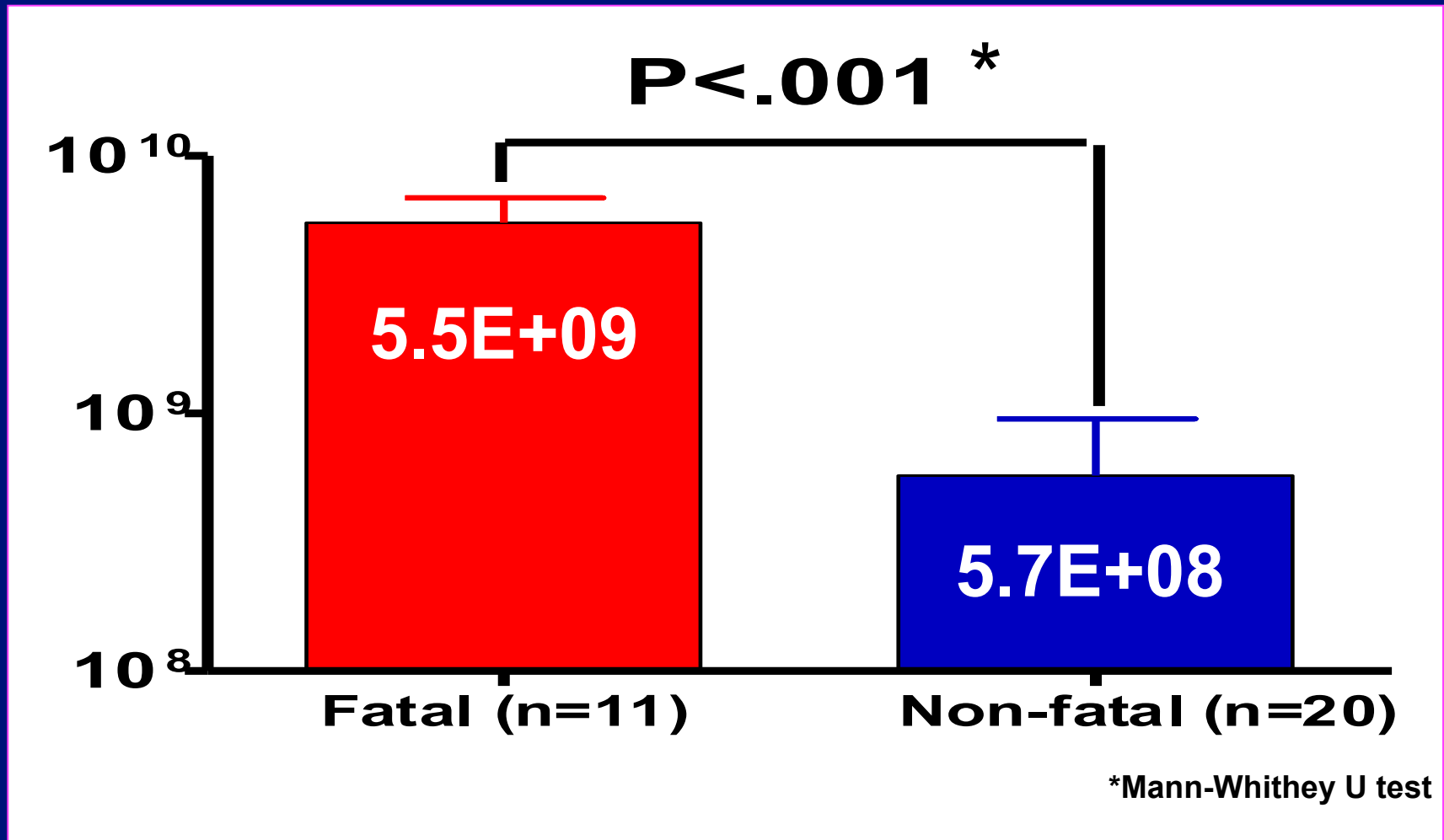
- Kontrol edilemeyen viremi
- Özgül IgG antikor yokluğu
- ↑ Sitokin seviyeleri
- Yaygın damar içi pıhtılaşma
  - Kanamalar
- ŞOK

**ÖLÜM**





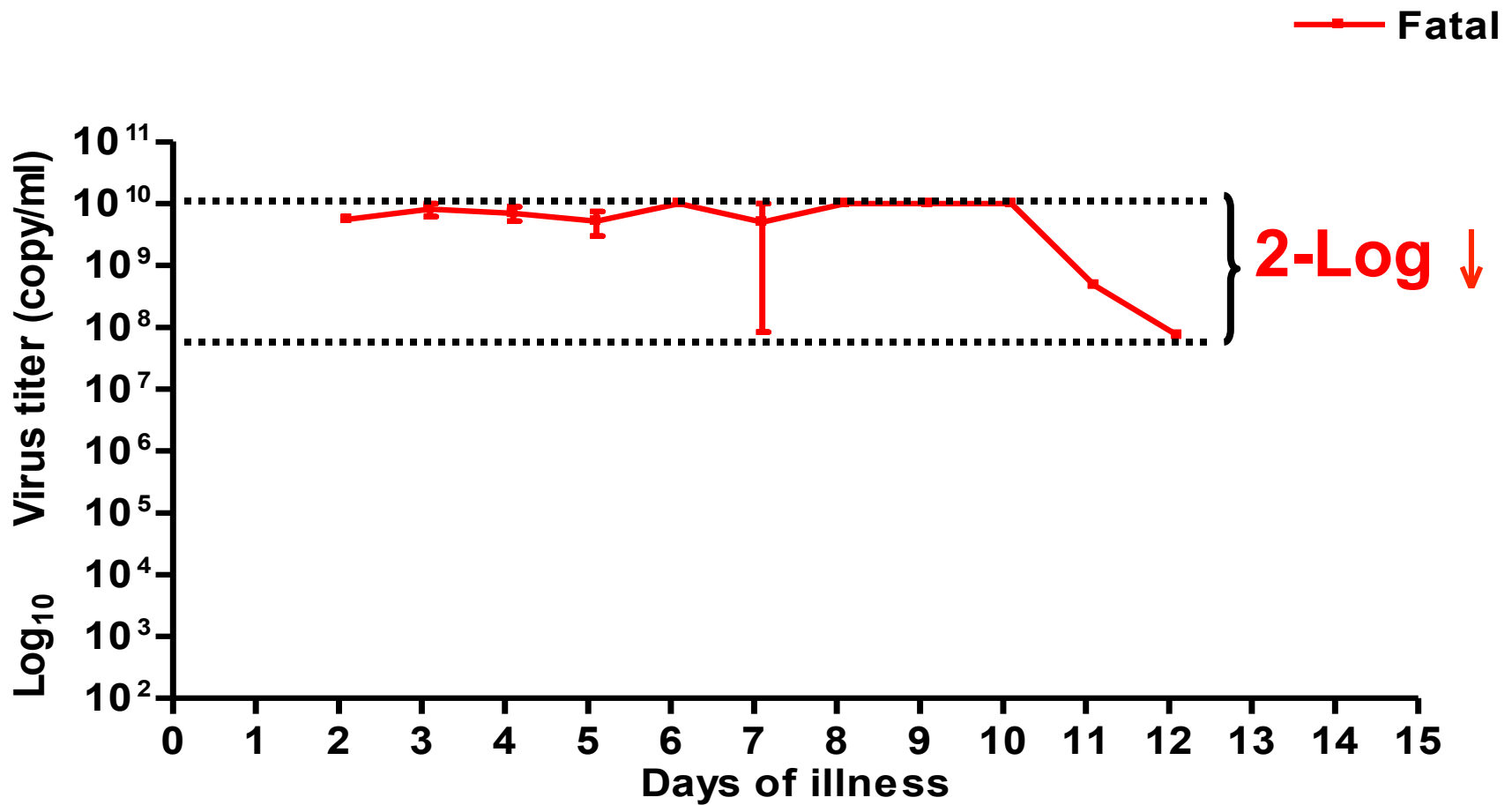
# Hastaneye başvuruda virüs yükleri (Kopya/ml)



\* Elaldi N, et al. ICAAC 2007, Chicago, USA



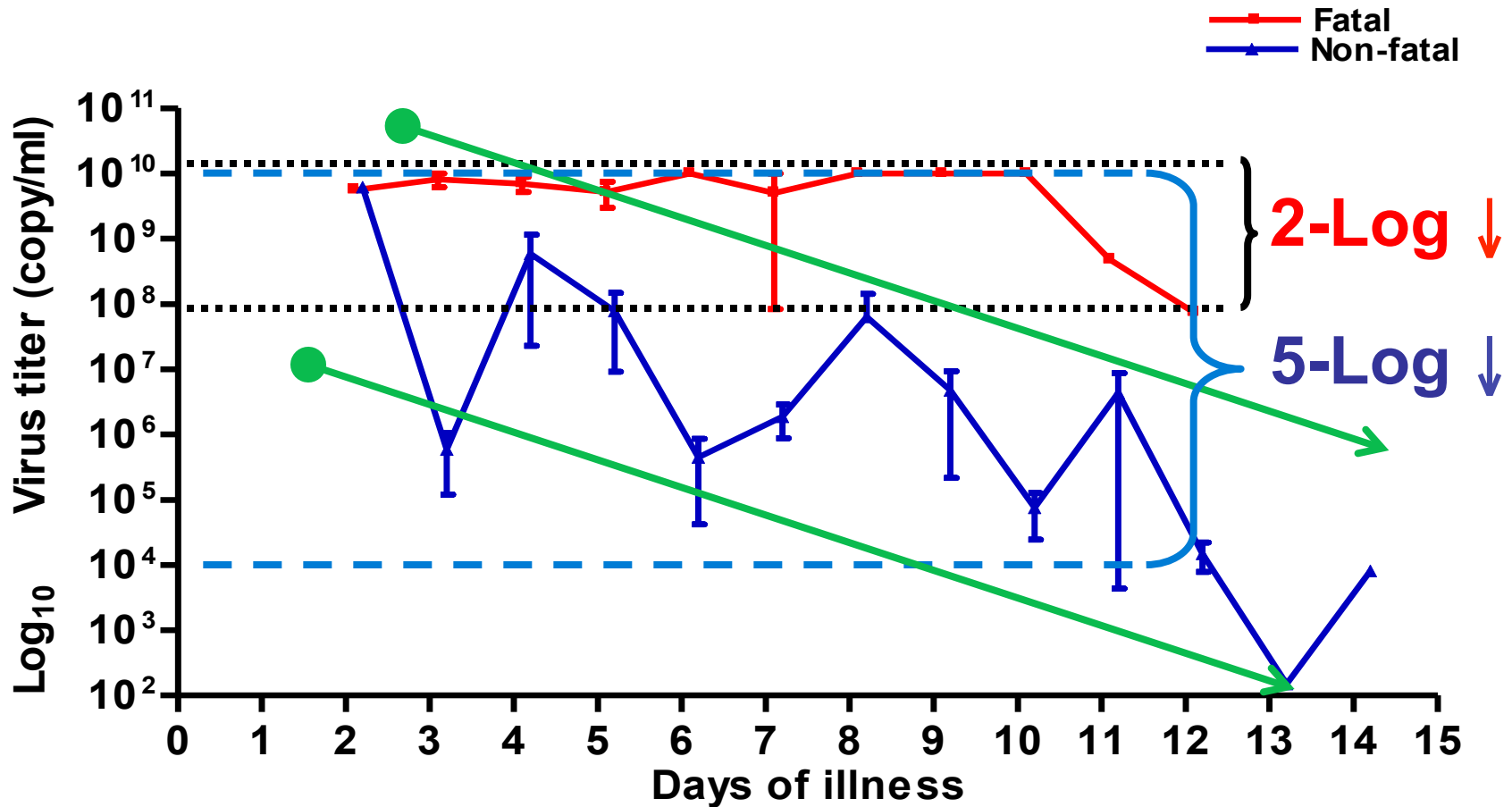
# Fatal KKKA hastalarında serum virüs kinetiği (kopya/ml)



\* Elaldi N, et al. ICAAC 2007, Chicago, USA



# Fatal ve non-fatal KKKK hastalarında serum virüs kinetiği (kopya/ml)



\* Elaldi N, et al. ICAAC 2007, Chicago, USA



# CCHFV' nin Innate İmmün Sisteme olası etkileri

- Ebola virüs dendritik hücre fonksiyonlarını bozar\*
- Bazı virüsler sitokin yanıtını bozar
  - Vaccinia virüs IL-1, IL-18, IF ve steroid sentezini bozar
  - HIV, Adenovirüsler, İnfluenza virüsler antiviral protein sentezini bozar
  - IF-beta sentezinin bozulması NK aktivasyonunu ve T-hücre yaşam ömrünü azaltır

\*Mahanty S, et al. J Immunol 2003



# CCHFV İnterferon yanıtını geciktirir !

- IF-a/b yanıtı infeksiyondan birkaç saat sonra olur
- IF salınımı konak hücrede genetik kontrol altında !
  - İnterferon regülatör faktör (IRF-3) virüslerin ana hedefi
  - CCHFV, IRF-3 yolağını bozar, IF sentezi gecikir (48 h)\*
    - KKKA' da infeksiyondan sonra IF tedavisi etkisiz olabilir
  - Bunyavirüslerde NSs proteini IF antagonisti
  - RVF' de gecikmiş IF yanıtı vireminin kontrol edilememesi ve şiddetli karaciğer hasarına yol açar\*\*
  - Tip I IF yanıtı ve üretiminde bozukluk olanlar şiddetli virüs infeksiyonuna yatkındır

\*Andersson I, et al. J Med virol 2008

\*\* Morril JC, et al. Arch virol 2008

\*\*\*\* Joungay E, et al. Biochimie 2007



# Toll-like reseptörler (TLR)' lerde genetik polimorfizm

- Farklı etnik toplumlarda TLR polimorfizm sıklığı var
  - TLR polimorfizmi viral infeksiyonlara duyarlılığı etkiler\*
  - Toplumumuzda polimorfizm?
  - KKKA hastalarında polimorfizm?

\*Cheng PL, et al. Trans Res 2007



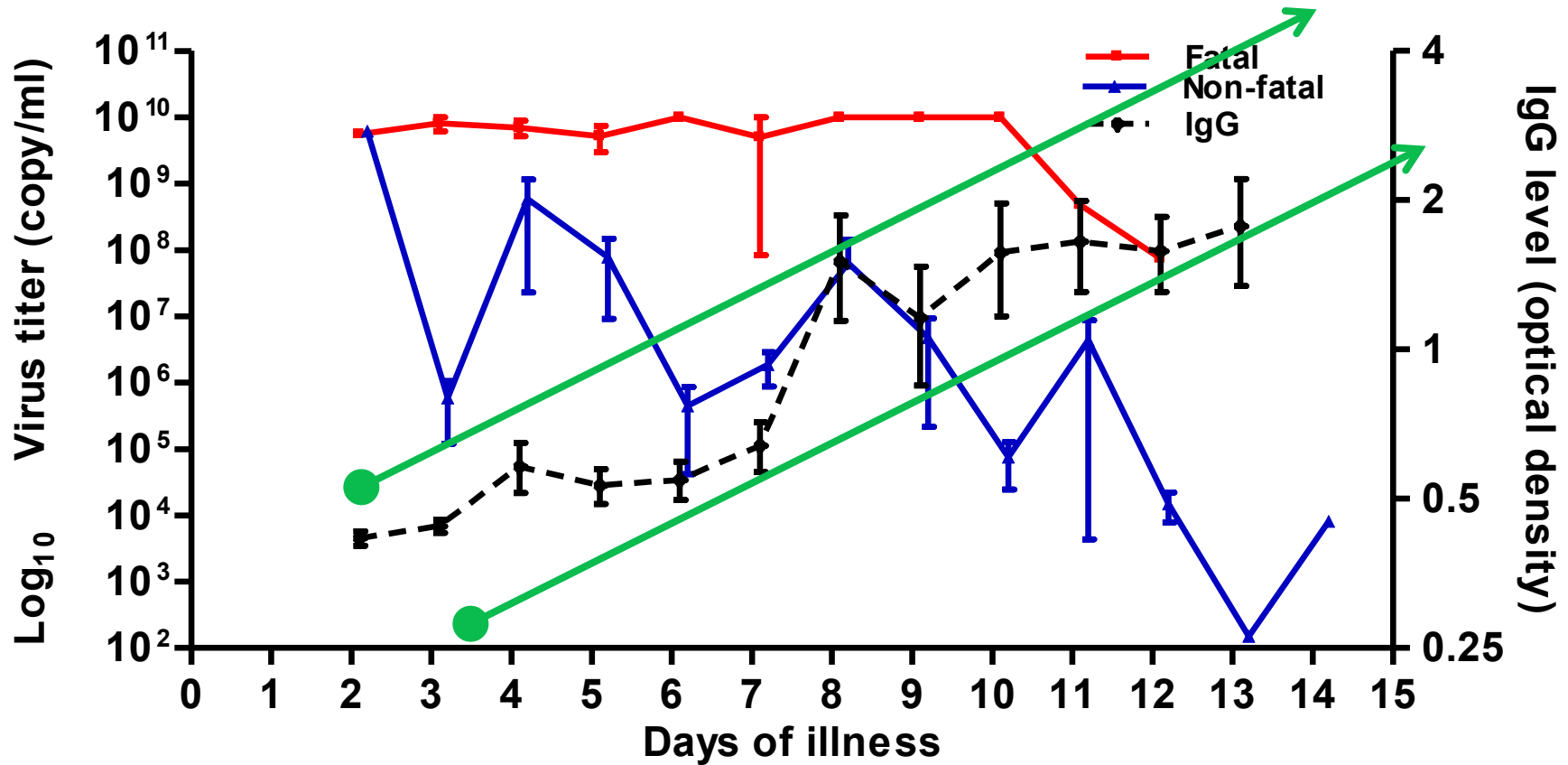
# KKKA' da özgül antikor yokluğu

31 fatal olguda akut fazda serolojik ve virolojik analiz sonuçları (CÜTF)

Variable	No. of (+) / No. of tested (%)	P-value
Anti-CCHFV IgM (+)	12/31 (39)	<0.0001
PCR (+)	21/22 (95)	
<b>Anti-CCHFV IgG (+)</b>	<b>3/31 (10)</b>	



# Serum virüs titresi ve özgül IgG antikor kinetiği

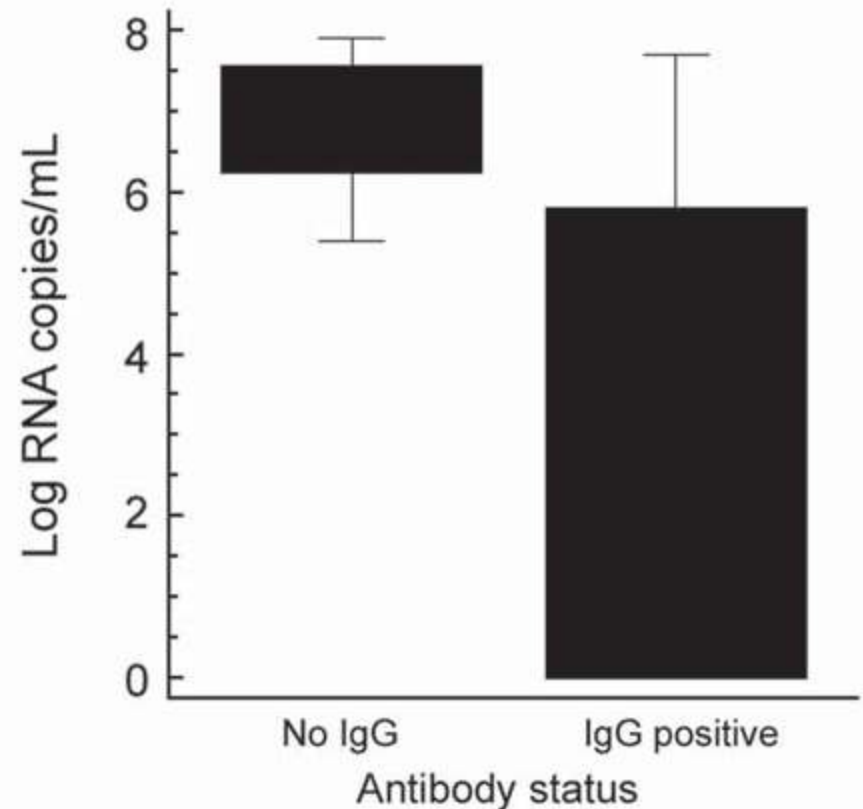
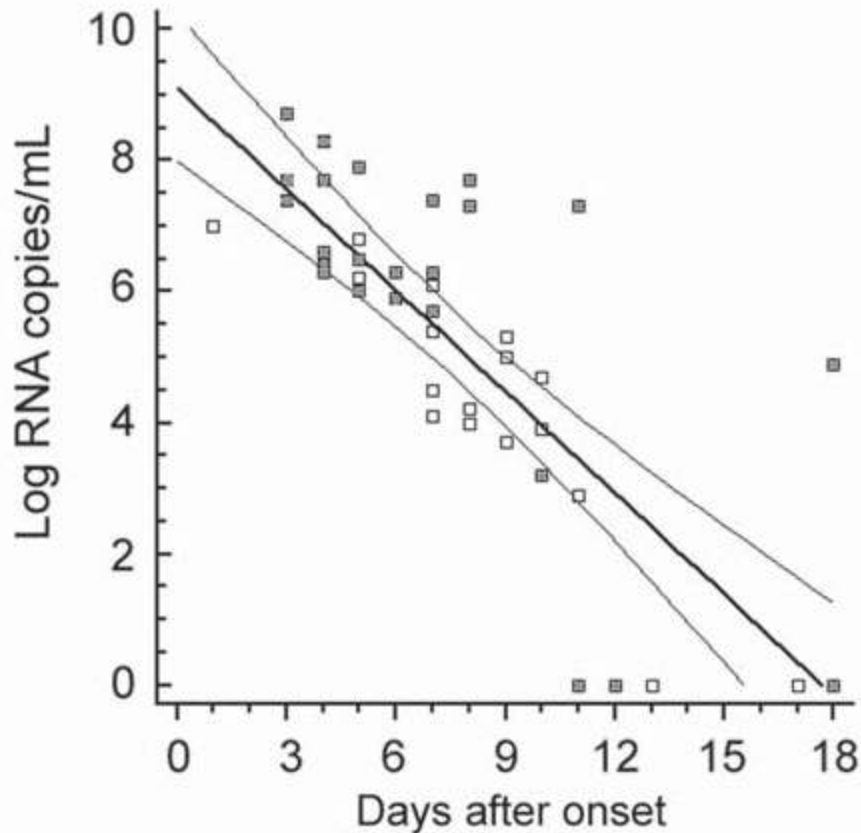


\* Elaldi N, et al. ICAAC 2007, Chicago, USA

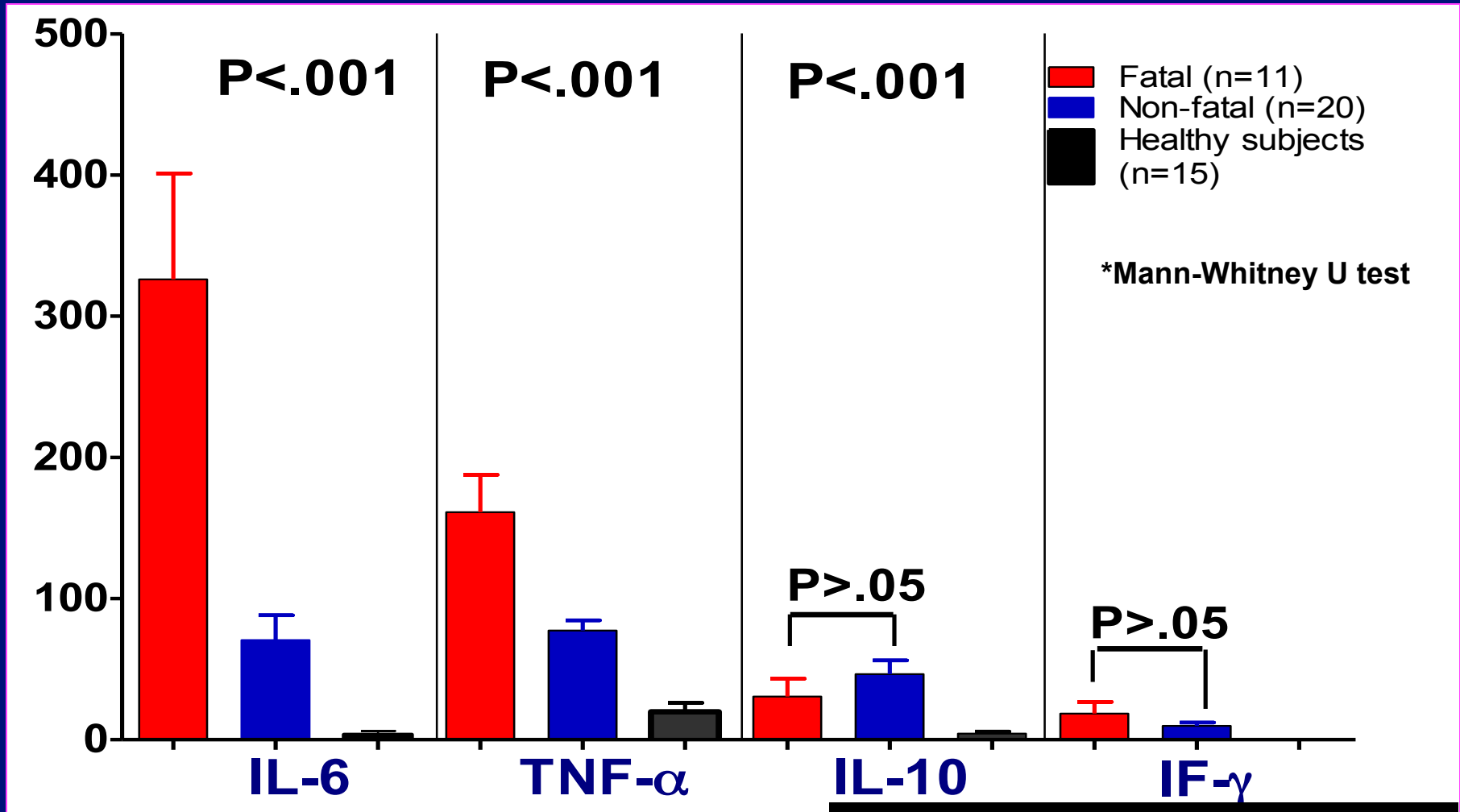




# KKKA' lı hastalarda düşük seviyeli virüs titresi özgül IgG ile korele

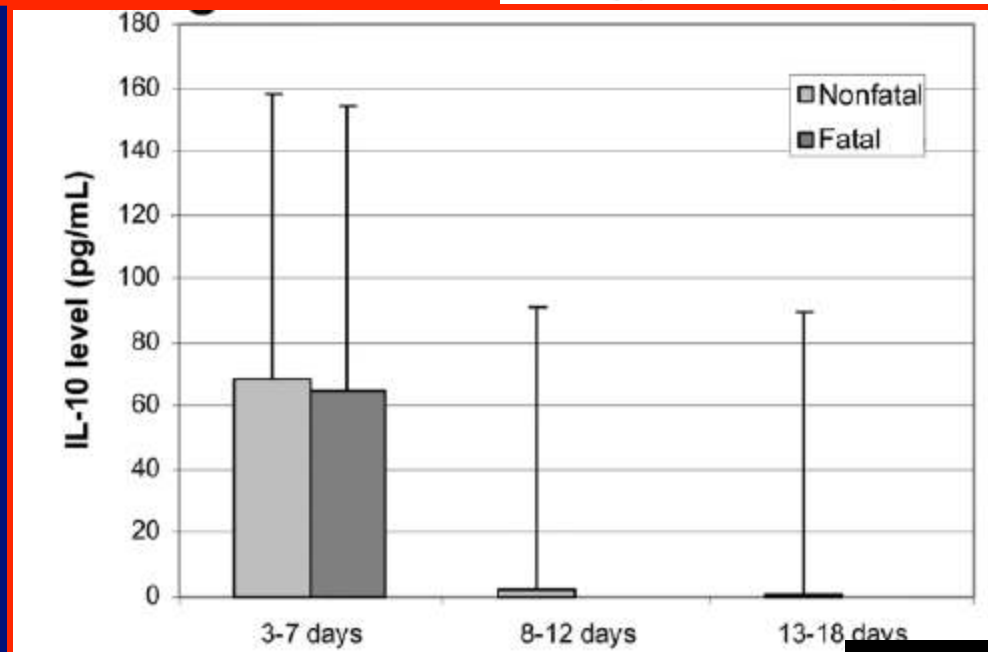
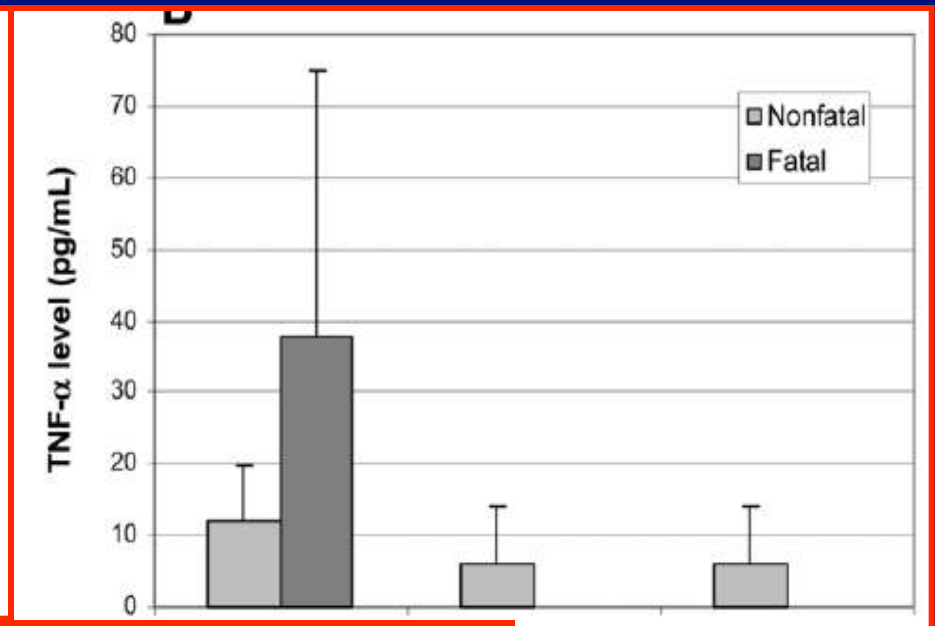
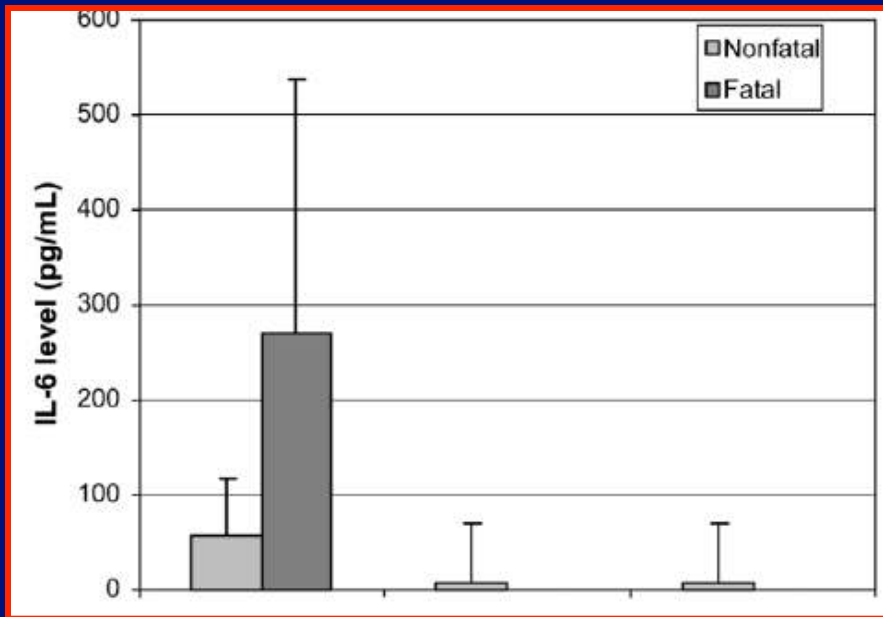


# Hastaneye kabulde serum sitokin seviyeleri (pg/ml)\*



\* Elaldi N, et al. ICAAC 2007, Chicago, USA





# Yaygın Damariçi Pıhtılaşma (YDP)

- Neredeyse ölen hastaların hepsi, şiddetli hastaların çoğunda var



# Hastaneye kabulde Laboratuvar (CÜTF)

	Non-fatal (n=20)	Fatal (n=11)	p value	Normal range
WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	2.9	5.4	<u>0.04</u>	4.0-11.0
Platelet (x10 <sup>9</sup> /L)	53	29	0.09	150-450
Hb (g/dL)	13.8	12.4	0.07	12-18
ESR (mm/h)	21	27	0.73	
PT (s)	14.0	21.7	< <u>0.001</u>	9.45-13.0
aPTT (s)	34.2	49.7	<u>0.001</u>	25.1-34.7
INR	0.97	1.90	< <u>0.001</u>	
YDP, n (%)	5	11	< <u>0.001</u>	
AST (U/L)	352	1376	<u>0.043</u>	9-36
ALT (U/L)	275	428	0.68	10-28
LDH (U/L)	922	2902	<u>0.004</u>	200-480
CPK (U/L)	956	1341	0.457	20-150
Creatinin (mg/dL)	0.8	2.1	<u>0.000</u>	0.6-1.2
Bilirubin (mg/dL)	0.84	1.35	<u>0.034</u>	0.2-1.6



# Yaygın Damariçi Pıhtılaşma (YDP)

- Kapiller endotel virüste ana hedeflerden biri
  - Direkt endotel hasarı?
  - İndirekt endotel hasarı
    - Sitokinler, NO, inflamatuvar medyatörler



# VKA' larda endotel hasarı nasıl olur?

- Kapiller endotel hasarı ebola VKA' da oluşmaz !\*
- Lassa virüs, in vitro endotel hasarı oluşturmadan endotelde replike olur ! \*\*
- Diğer VKA' larda da endotel hasarı yok \*\*\*
- Endotel hasarı sitokin ve inflamatuvar medyatörlere bağlı....

\*Geisbert TW et al. Am. J Pathol 2003

\*\*Lukashevich IS et al. J Med Virol 1999

\*\*\* Geisbert TW. Nature 2003



# VKA' larda endotel hasarı nasıl olur?

- Virüs ile infekte hücrelerden salınan medyatörler damar bütünlüğünü bozar !\*
- Damar bütünlüğünün bozulması TNF-alfa' ya bağlı
- TNF-alfa etkisi  $H_2O_2$  ile artar\*
- TNF-alfa Lassa VKA' da ödemden sorumlu \*\*
- Nitrik oksid (NO) de damar bütünlüğünü bozar

\*Feldman H, et al. J virol 1996

\*\*Callis RT et al. Am J Trop Med Hyg 1996



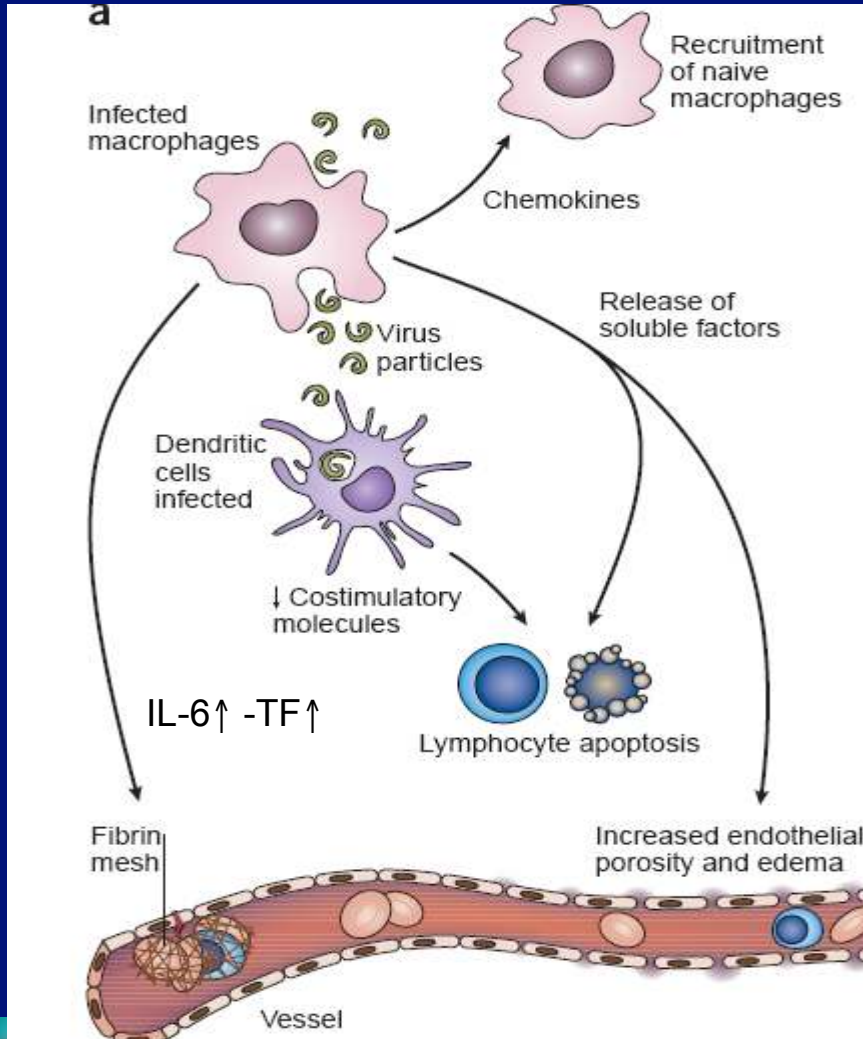


# CCHFV' nin damar endoteline etkisi

- Tight junction, vakuoller bütünlükte önemli
- Fonksiyonları bozar
- CCHFV epitel hücrelerinde mitopatik etki oluşturmuyor
- CCHFV epitel hücrelerinde mitopatik etki oluşturmuyor
- Virüsün epitele direkt etkisi yok?
- Damar hasarı immünolojik mekanizmalara mı bağlı?
- CCHFV bazilateral
- kısımdan ... yayılır
- CCHFV epitel hücrelerinde mitopatik etki oluşturmuyor



# YDP Patogenezi



- Endotel hasarı:
- Platelet agregasyonu, degranülasyonu, sayısı ve fonksiyonlarında ↓
- Ekstrinsik koagülasyon yolak aktivasyonu
- Fibrinojen ↓, FYÜ ↑, D-dimer, TPA, PAI-1, Protein C seviyelerinde deęişmeler
- IL-6
- Kompleman sistemi



# Korelasyon analizleri (Pearson test) (N=31)

Sitokin, Karşılaştırılan	<i>r</i>	P
• IL-6, CRP	0.489	<0.01
• IL-6, Koagülasyon testi		
PT	0.462	<0.01
aPTT	0.692	<0.01
INR	0.544	<0.01
YDP skoru	0.626	<0.01
• TNF- $\alpha$ , Koagülasyon testi		
PT	0.109	>0.05
aPTT	0.236	>0.05
INR	0.220	>0.05



# KKKA' da patolojik bulgular (1)

- Fatal olgularda
  - Serebral kanama, şiddetli anemi, dehidratasyon ve şok, MI, akciğer ödemi, plevral effüzyon , diffüz alveolar hemoraji ve hasar, hyalen membran oluşumu, interstisiyel alanlarda hücre infiltrasyonu
- Karaciğer
  - Yaygın nekrotik fokuslar, yağlanma, Kupffer hücre hiperplazisi, portal alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonu, sinüzoidal genişleme, safra stazı



# KKKA' da patolojik bulgular (2)

- Dalakta
  - Lenfoid hücrelerde azalma, fokal nekroz alanları,
- Kalp
  - Konjesyon, interstisyel ödem
  - Şiddetli ve fatal olgularda EKO ile \*
  - Sol ventrikül EF ↓
  - Pulmoner arteriyel basınç ↑
  - Perikardial effüzyon
- Böbreklerde
  - Glomerüller mesangial genişleme \*\*

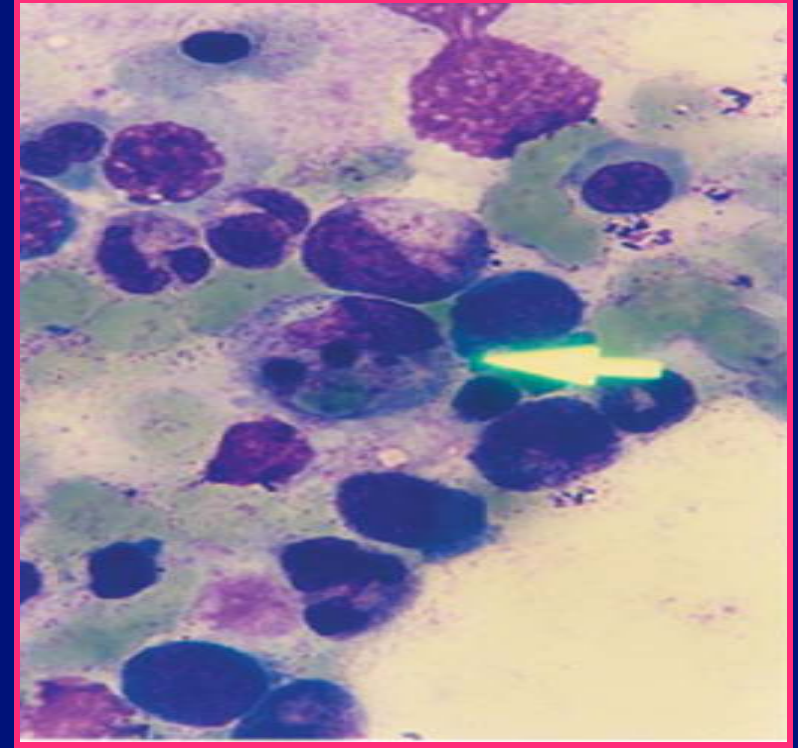
\*Engin A, et al. Int J Infect Dis 2008

\*\*Ardalan MR, et al. Nephrol Dial  
Transplant 2006



# KKKA' da patolojik bulgular (3)

- Kemik İliđi
  - Hipoplazi
  - Megakaryositlerde ↓
  - Hemofagositoz (%50-76)



\*Kartı S et al. EID 2004



# KKKA' da Klinik

- İnkübasyon süresi virüsün alınma yoluna bağlı
  - Kene ısırmasından sonra
    - 1-3, 9 gün
  - İnfekte kan/doku teması sonrası
    - 3-10 (Ort 5) gün



# Hastalık belirtileri (1)

## Ani başlangıçlı

- Baş ağrısı
- Ateş
- Üşüme-titreme
- Kas-eklem ağrıları
- Baş dönmesi
- Boyun ağrısı
- Bel ağrısı
- Boğaz ağrısı
- Duygu bozukluğu
- Yaygın karın ağrısı
- Göz dibinde ağrı
- Fotofobi
- Bulantı-Kusma
- İshal





# Hastalık belirtileri (2)

## Bir-iki gün sonra

- Şuur bulanıklığı
- Huzursuzluk
- Sağ üst kadran ağrısı
- Kanamalar
- Hematemez, melena, epistaksis, hematüri, dişeti kanaması, iç organlara kanama

## Terminal dönemde

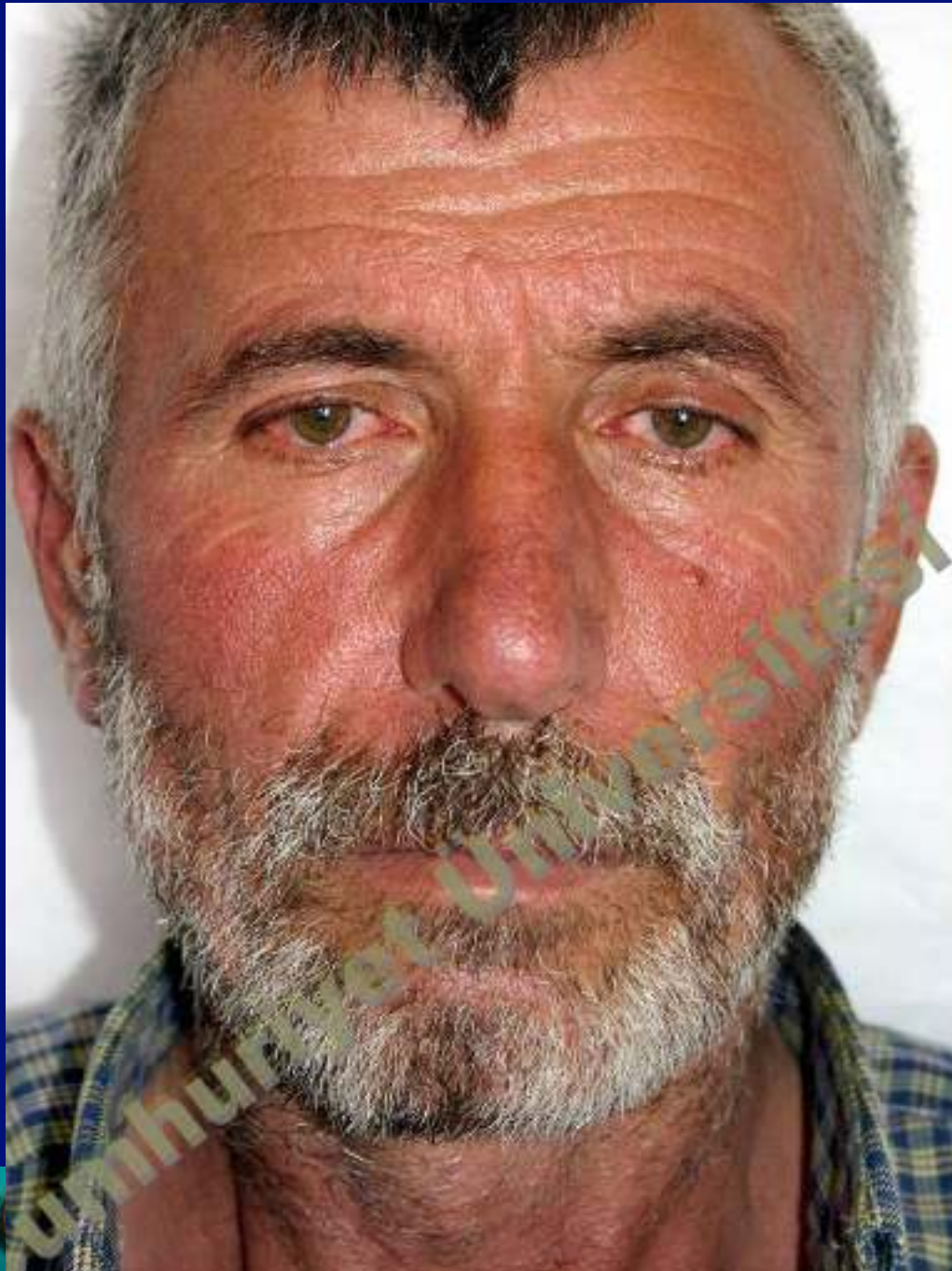
- Koma
- Şok
- Multiple organ yetmezliği
- Ölüm



# Klinik bulgular

- Ateş
- Yüz/gövdede hiperemi
- Kanamalar
- Hepatomegali
- Splenomegali
- Lenfadenopati
- Döküntü
  - Makülopapüler raş
  - Peteşi/ekimoz





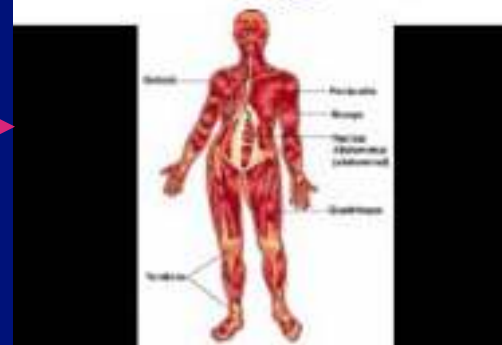
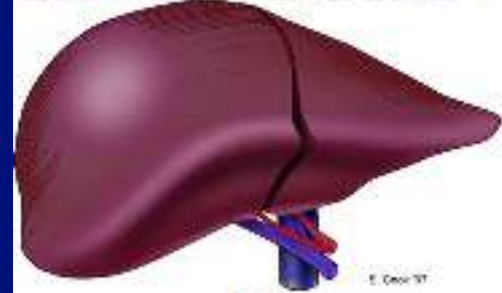
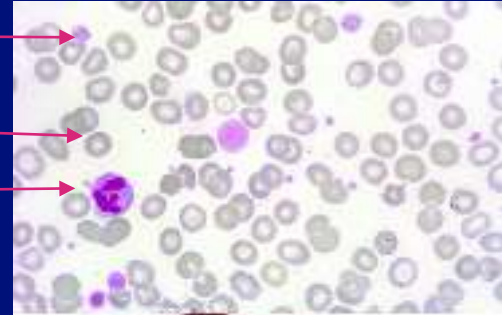
# Klinik bulgular

- Ral, ronküs
- Batında duyarlılık
- Konjunktival kızarıklık
- Gözdibi kanamaları
- Kalp dinleme bulguları
- Ense sertliđi
- Koma, semi-koma
- Sarılık



# Laboratuvar Bulgulari

- Trombositopeni
- Anemi
- Lökopeni
- Lökositoz
- AST ↑
- ALT ↑
- GGT ↑
- ALP ↑
- LDH ↑
- CPK ↑
- BUN ↑
- Kreatinin ↑
- Proteinüri
- Hematüri



# Laboratuvar Bulguları

- Koagülasyon fonksiyon testlerinde bozulma
- **PT** ↑
- **aPTT** ↑
- **INR** ↑
- **D-dimer** ↑
- **Fibrinojen** ↓



# KKKA' da Klinik gidiş

- Hafif olgularda iyileşme 9-10.günlerde başlar
- 9-20.günler arasında:
  - Ateş düşer
  - Kanama durur
- İyileşme dönemi uzayabilir (4 hafta veya üzeri)
  - Halsizlik-yorgunluk
  - Zayıf nabız
  - Saç dökülmesi
  - Terleme
  - Nörit
  - Baş ağrısı
  - Baş dönmesi
  - İştahsızlık
  - Bozuk görme
  - Hafıza kaybı
- İyileşenlerde sekel kalmaz



# KKKA' da Klinik gidiş

- Ölüm
  - Genelde 5-14ncü günlerde
  - Yaygın kanama, şok, kalp durması sonucu
  - Vaka-Ölüm Oranı %10-30
  - Türkiye' de %5-17
  - Sağlık Bakanlığına göre

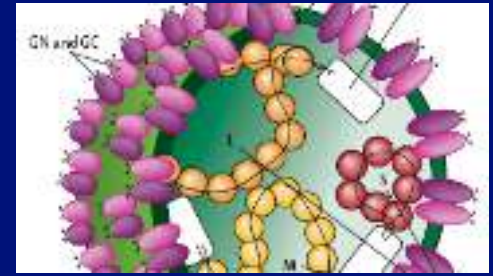






**Teşekkür ederim!**

???????



- Hücre kültüründe yapılan in-vitro çalışmada anti-Gc MoAbs, anti-Gn MoAbs' ın aksine CCHFV' yi nötralize ederek hücreleri infeksiyondan korur\*
- Anti-Gn Mo-abs hayvanları CCHFV infeksiyondan korur
- İn vitro nötralizasyon ve in-vivo infeksiyondan korunma farklı
  - İn-vivo antikor aracılı hücre toksisite (ADCC)
  - Kompleman aracılı hücre lizisi infeksiyonu yenmede önemli !

\*Bertolotti-Ciarlet A, et al. J Virol , 2005

