



Kırım Kongo Kanamalı Ateş hastalarında ağırlık ve ölüm riskinin tahmininde plazma cell-free DNA düzeyinin önemi

Bakır M¹, Engin A¹, Kuşkucu MA², Bakır S³, Gündoğ
Ö¹, Midilli K²

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi ¹Enfeksiyon
Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, ³Biyokimya AD,
Sivas

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji AD, İstanbul



Giriş



- Apoptotik yada nekrotik hücrelerden köken alan hücreden arındırılmış plazma DNA (cell free DNA, **cf-DNA**) düzeyi **hücresel hasarı gösteren bir parametre**
- Literatürde pek çok akut ve kronik hastalığındaki düzeyi ve rolü araştırılmış



Giriş



- Sepsis ve Hantavirus infeksiyonunda yükselmiş plazma cf-DNA düzeyi saptanmış ve plazma düzeyinin bu hastalıkların ciddiyetini öngörmede yararlı olabileceği öne sürülmüş*
- Kırım Kongo Kanamalı Ateş (KKKA) hastalarında plazma cf-DNA düzeyini araştıran bir çalışma literatürde bulunmamakta
 - * *Outinen TK et al. PLoS ONE 7(2): e31455*
 - *Saukkonen K et al. Intensive Care Med 2007;33:1624-7*



Amaç

- Bu çalışmada KKA hastalarında plazma cfDNA düzeyini saptamak ve
- Plazma cfDNA düzeyleri ile hastalık ciddiyeti ve KKA virüs yükü arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmak istedik



Materyal Metod

- Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alındı
- Haziran-Eylül 2013 tarihleri arasında izlenen **72 KKKA hastası ve 31 sağlıklı erişkin** çalışmaya alındı
- Hastalardan kan örnekleri; başvuru anında (**akut**) ve taburcu olacakları gün (**konvelesan**) alındı
- Kontrol grubunda (sağlıklı olup çalışmaya katılmayı kabul edenler) tek kan örneği alındı



Materyal Metod

- 10 mL periferik kan örneği EDTA'lı tüpe alındı
- Kan 2500 rpm de 10 dk santrifüj edilerek hücrelerinden uzaklaştırıldı
- 500 µl (0.5 mL) plazma ikinci kez 14000 rpm'de 1 dk santrifüjlendi ve 200 µl hücreden arındırılmış süpernatant (plazma) başka bir ependorf tüpe alınarak çalışma zamanına kadar -80°C 'ye kaldırıldı



Materyal Metod

- Çalışmamızda nükleik asitler, otomatik bir ticari nükleik asit ekstraksiyon kiti ve sistemi kullanılarak hücreden arındırılmış plazmadan ekstrakte edildi (MagNA Pure System Roche Diagnostics GmbH, Basel, Switzerland)
- KKKA virüs RNA ve plazma cf-DNA kuantifikasyonu TaqMan prob bazlı Real Time PCR yöntemiyle Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışıldı



Materyal Metod

- Hastaların ciddiyeti Bakır ve arkadaşlarının bildirdiği "**Ciddiyet Değerlendirme Skorlaması**"na göre belirlendi*

- *Bakır M et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015;34:325-30



Bulgular

- 72 hastanın 31'i kadın, 41'i erkek, ortalama yaşları 45 yıl
- 31 kişilik kontrol grubunun 13'ü kadın, 18'i erkek, ortalama yaşları 44 yıl
- Yaş ve cinsiyet açısından hasta ve kontrol grubu arasında fark yoktu
- Hastaların şikayetlerinin başlamasından hastaneye başvurmalarına kadar geçen süre ortalama 4 gündü



Bulgular

- Klinik açıdan ciddiyet skorlamasına göre hastaların 43'ü hafif, 25'i orta ciddiyette, 4'ü ise ciddi seyirliydi
- Hastaların 6'sı öldü

Hastaların yatış sırasındaki plazma cfDNA düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Hasta/Kontrol	N	Ortalama cf-DNA	Sonuç
Hasta	72	,7679	P=0,291
Kontrol	31	,4428	



Sonuçlar



- Hastaların yattığı andaki plazma cfDNA düzeyleri kontrol grubundaki kişilerden yüksekti (0.76'ye karşı 0.44)
- Bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0.291$)
- Bu durumum hasta sayısının az olmasından kaynaklanabileceği düşünüldü

Hastaların ciddiyet skorlamasına göre yatış sırasındaki plazma cf-DNA düzeyleri

Hasta (Klinik ciddiyet)	N	Ortalama cf DNA	Sonuç
Hafif	43	,2605	P=0,001*
Orta ciddiyet	25	1,4428	
Ağır	4	2,4167	
Toplam	72	,7679	

Klinik ciddiyet arttıkça hastaların plazma cfDNA düzeyi artmakta

Ölen ve yaşayan hastaların yatış sırasındaki plazma cfDNA düzeylerinin karşılaştırılması

Hasta	N	Ortalama plazma cfDNA	Sonuç
Ölen	6	4,96	P=0,001*
Yaşayan	66	0,38	

Ölen hastalardaki cfDNA düzeyi yaşayan hastalardan daha yüksek



Bulgular



- ROC analizi yapıldığında ölümlü tahmin etmede cfDNA düzeyinin cut-off değeri 0.42 olarak saptandı
- Eğri altında kalan alan 0.955'ti ve istatistiksel olarak önemliydi
- Mortaliteyi tahmin etmedeki PPV NPV, spesifite ve sensitivite oranları sırayla %100, %72, %100 ve %21 saptandı



Bulgular

- Hastaların yatışında alınan kan örneklerindeki viral yük düzeyleri ile cfDNA düzeyleri arasında aynı yönlü bir ilişki bulundu
- Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ve zayıf bir ilişkiydi



Bulgular



- Hastaların akut ve konvelesan dönem plazmalarındaki cfDNA düzeyleri arasında aynı yönlü ilişki vardı ($r=0.07$)
- Ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi ve zayıf bir ilişkiydi
- Zayıf ilişki hasta sayısının az olmasından kaynaklanabilir



Sonuç

- Bu çalışma KKKA hastalarında plazma cfDNA düzeyini araştıran **literatürdeki tek/ilk çalışmadır**
- KKKA hastalık ciddiyeti ile plazma cfDNA düzeyi arasında **pozitif yönlü bir ilişki saptadık**
- Çalışma sonuçları KKKA hastalarının yatışı sırasında saptanan plazma cfDNA düzeylerinin, **hastalık prognozunu belirlemede yararlı bir biomarker olabileceğini düşündürmekte**

İlginiz için teşekkür ederim

