

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**Böbrek Nakli Sonrası Gelişen BK Virus Enfeksiyonu ile
Kaveolin ve Klatrin Moleküllerinin Arasındaki İlişkinin
İncelenmesi ve HLA Doku Tipi Dağılımı**

EMRE ARPALI

DANIŞMAN
PROF. DR. FATMA SAVRAN OĞUZ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2020

Böbrek Nakli Sonrası Gelişen BK Virus Enfeksiyonu ile Kaveolin ve Klatrin Moleküllerinin Arasındaki İlişkinin İncelenmesi ve HLA Doku Tipi Dağılımı



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Emre Arpalı (İmza)



İTHAF

Hayalleri ve bilim aşkı ile bana yön veren Op. Dr. Bahattin Arpalı'ya
ithaf edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince ve bu tez çalışmasının her aşamasında hayati önemdeki desteğini esirgemeyen ve bana tüm imkanları sağlayan çok kıymetli hocam ve danışmanım Sayın Prof. Dr. Fatma Savran Oğuz'a teşekkür ederim.

Gerek Doktora eğitimim süresince ve gerekse meslek hayatımda bilgisini ve tecrübesini esirgemeyen çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Aydın Türkmen'e teşekkür ederim.

Tez çalışmasının gerçekleşmesinde gerekli laboratuvar desteğini veren, yoğun mesaisine rağmen bilgi ve tecrübesini paylaşan çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yasemin Özlük'e teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince yardımını ve desteğini hep hissettiğim Sayın Prof. Dr. Burak Koçak'a teşekkür ederim.

Tezimde yardımını ve desteğini esirgemeyen değerli meslektaşım Dr. Erol Demir ve Nefroloji Bilim Dalı'nın tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında ve doktora eğitimim süresince bana yardımcı ve destek olan çok değerli arkadaşım Dr. Sebahat Akgül'e teşekkür ederim.

Tezin istatistik aşamasında ve verilerin yorumlanmasındaki katkılarından dolayı değerli arkadaşım Güven Günver'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında bana destek veren ve sıcak aile ortamını hissettiğim Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda çalışan tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 29152

İÇİNDEKİLER

BEYAN	iv
İTHAF	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 İNSAN LÖKOSİT ANTİJENİNİN YAPISI VE GÖREVİ	2
2.2 LÖKOSİT ANTİJENLERİNİN HÜCRE YÜZEYİNE TAŞINMASI VE ANTİJEN SUNUMU	4
2.2.1 Hücre İçi Kaynaklı Peptitlerin Hücre Zarına Taşınması	4
2.2.2 Hücre Dışı Kaynaklı Proteinlerin Hücre Zarına Taşınması	5
2.3 İNSAN LÖKOSİT ANTİJENİ VE ORGAN NAKLİ	6
2.4 İNSAN LÖKOSİT ANTİJENİ (HLA) TİPLEMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER	6
2.4.1 Serolojik Yöntemler	6
2.4.2 Moleküler Yöntemler	7
2.5 İNSAN LÖKOSİT ANTİJENLERİNİN İSİMLENDİRİLMESİ	7
2.6 POLİYOMA VİRUSLERİN YAPISI VE GENEL ÖZELLİKLERİ	8
2.6.1 Viral Genom	9
2.6.2 Virüs Partikülü	9
2.6.3 Viral Yaşam Döngüsü	10
2.6.4 Viral Transkripsiyon	10
2.6.5 Viral Replikasyon	10
2.7 BK VİRÜSLER VE KLİNİK ÖNEMİ	11
2.7.1 Böbrek Nakli Hastalarında BK Virüs Enfeksiyonu	12
2.7.2 BK Virüs Enfeksiyonun Tanısı	14
2.7.3 BK Virüs Enfeksiyonunun Tedavisi	14
2.8 KAVEOLA YAPISI VE FONKSİYONU	15
2.8.1 Kaveolaların Yapısı	15
2.8.2 Kaveolaların Yapısında Yer Alan Proteinler	16
2.8.3 Kaveolaların Yapısında Yer Alan Lipitler	18

2.8.4 Kaveolaların Fonksiyonları.....	18
2.9 KLATRİN MOLEKÜLÜNÜN YAPISI VE FONKSİYONU	19
2.10 BK VİRÜSLERİN HÜCRE İÇİNE TAŞINMASI.....	19
2.11 BK VİRÜSLER VE HLA İLİŞKİSİ	21
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	22
3.1 HASTA GRUBU	22
3.2 LUMİNEX YÖNTEMİ İLE HLA TİPLEMESİ.....	22
3.2.1 Kit yardımı ile DNA izolasyonu.....	23
3.2.2 Manuel yöntem ile DNA izolasyonu	23
3.2.3 Amplifikasyon	25
3.2.4 Amplifikasyon siklus parametreleri	25
3.2.5 Hibridizasyon	25
3.2.6 Hibridizasyon siklus parametreleri	26
3.3 İMMUNHİSTOKİMYASAL BOYAMA İLE PREPARATLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ	26
3.4 İSTATİSTİKSEL ANALİZ	28
4. BULGULAR	29
4.1 BKV VİREMİSİ RİSK FAKTÖRLERİ	30
4.2 BKV VİRÜRİSİ RİSK FAKTÖRLERİ	33
4.3 HLA ALELLERİ İLE BKV VİREMİ VE VİRÜRİ ARASINDAKİ İLİŞKİ	33
4.4 KAVEOLİN VE KLATRİN MOLEKÜLLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE İNCELENMESİ VE BKV ENFEKSİYONU	35
5. TARTIŞMA	39
KAYNAKLAR	44

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: Kullanılan Antikorların Özellikleri.....	27
Tablo 4-1: Hastalara ait demografik veriler.....	29
Tablo 4-2: BKV viremi için risk faktörleri.....	30
Tablo 4-3: Etiyolojik nedenlere göre gruplandığında BKV viremi oranları.....	31
Tablo 4-4: İmmünsüpresif ilaçlara göre BKV viremi dağılımı.....	31
Tablo 4-5: BKV Virüsü için risk faktörleri.....	33
Tablo 4-6: BKV viremi ile ilişkili alıcı HLA antijenleri.....	34
Tablo 4-7: BKV viremi ile ilişkili verici HLA antijenleri.....	34
Tablo 4-8: BKV virüsü ile ilişkili verici HLA antijenleri.....	34
Tablo 4-9: Alıcı ve vericinin her ikisinde ortak bulunan HLA antijenleri ve viremi üzerine etkisi.....	35
Tablo 4-10: SV40 immün reaktif olan (Grup I) ve olmayan (Grup II) grupların anti-kaveolin-1 antikorlu ile yapılan immünohistokimyasal analiz sonuçları.....	36
Tablo 4-11: Anti-kaveolin ile immün reaktivite gösteren örneklerde boyanma düzeyine göre dağılım.....	37
Tablo 4-12: SV40 immün reaktif olan (Grup I) ve olmayan (Grup II) grupların anti-klatrin antikorlu ile yapılan immünohistokimyasal analiz sonuçları.....	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 İnsan Majör Histokompatibilite Kompleksi.....	2
Şekil 2.2 HLA Moleküllerinin Yapısı.....	4
Şekil 2.3 Hücre İçi ve Hücre Dışı Kaynaklı Peptitlerin Hücre Zarına Taşınması.....	5
Şekil 2.4 Kompleman Aracılı Lenfotoksisite Testi ile HLA Antijenlerinin Saptanması	7
Şekil 2.5 HLA Molekülünün İsimlendirilmesi.....	8
Şekil 2.6 Poliyoma Virüslerin Yapısı.....	9
Şekil 2.7 Kaveolaların Elektron Mikroskop ile Görüntüsü.....	16
Şekil 2.8 Kaveolin-1 Molekülünün Yapısı.....	17
Şekil 2.9 Klatrin Molekülünün Yapısı.....	20
Şekil 2.10 BK Virüslerin Hücre İçine Taşınması.....	21
Şekil 4-1: DJ Stent kalım süreleri ve BKV viremi ilişkisi.....	32
Şekil 4-2 BKV nefropatisi bulunan iki farklı renal transplant biyopsisinde, hem viral sitopatik etki gösteren ve tubulit bulunan tubuluslarda, hem de viral etkilenme göstermeyen tubuluslarda anti-Caveolin 1 antikoruna negatif immun reaktivite.....	38
Şekil 4-3 BKV nefropatisi bulunmayan iki farklı renal transplant biyopsisinde, tubulus epitel hücre sitoplazmalarında anti-Caveolin 1 antikoruna pozitif immun reaktivite.....	38

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

α :	Alfa
β :	Beta
BKPyV:	BK Poliyoma virüs
BKV:	BK Virüs
BKVAN:	BKV nefropatisi
Cav-1:	Kaveolin-1
CLIP:	Klas-II ile ilişkili değişmeyen zincir peptit
DNA:	Deoksiribo Nükleik Asit
EHD:	EPS15 Homoloji Domain
ERp57:	Protein disülfid izomeraz A3
GER:	Granüllü Endoplazmik Retikulum
HKPTEC:	İnsan Proksimal Renal Tübüler Epitel Hücreleri
HLA :	İnsan Lökosit Antijenleri
HSP:	Heat Shock Protein
JCPyV:	JC Poliyoma virüs
KBY:	Kronik Böbrek Yetmezliği
kDa:	Kilodalton
LTag:	Büyük Tümör Antijeni
MHC:	Majör Histokompatibilite Kompleksi
μ l :	Mikrolitre
NCCR:	Kodlamayan Kontrol Bölgesi
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PE:	Fikoeritrin
PV:	Poliyomavirüsler
ROR1:	Receptor Tyrosine Kinase–Like Orphan Receptor 1
siRNA:	Küçük Susturucu RNA
SAPE:	R-Fikoeritrin Bağlı Streptavidin
SLE:	Sistemik Lupus Eritematozus

SSO:	Sekans Spesifik Oligonükleotit Prop
STAg:	Küçük Tümör Antijeni
SV40:	Simian Virüs 40
TAP:	Antijen İşlenmesi ile İlişkili Transport Proteini
TSPyV:	Trikodisplasi Spinulosa Poliyomavirüs
VP:	Viral Kapsid Proteini
WD:	Triptofan-Aspartik Asit Dipeptit



ÖZET

Arpalı, E. Böbrek Nakli Sonrası Gelişen BK Virüs Enfeksiyonu ile Kaveolin ve Klatrin Moleküllerinin Arasındaki İlişkinin İncelenmesi ve HLA Doku Tipi Dağılımı. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2019.

Sağlıklı insanlarda genellikle asemptomatik olarak seyreden BK virüs enfeksiyonu bağışıklık sistemi baskılanmış hasta grubunda farklı klinik tablolarla kendini gösterebilir. Böbrek nakli hastalarında BK Virüs reaktivasyonu %8 oranında BK Virüs nefropatisine ve tedavi edilmediği takdirde transplante böbrek kaybına yol açabilir. BK Virüs'ün de içinde bulunduğu Poliyomavirüs ailesinden birçok virüsün hücre içine transportunda Klatrin veya Kaveolar sistemin görev aldığı ve HLA moleküllerinin yardımcı reseptör görevi görebileceği bilinmektedir. Bu çalışmada BKV viremi olan böbrek nakli hastaları, alınan böbrek biyopsisinde BKV nefropatisi saptanmasına göre iki gruba ayrıldı (Grup I: Viremi +, Nefropati+/ Grup II: Viremi+, Nefropati-) Her iki hasta grubu HLA doku tiplerinin uyumu ve HLA doku tipleri yönünden değerlendirildi. Böbrek biyopsilerindeki kaveolin-1 ve klatrin moleküllerinin dağılımı ve konsantrasyonu immünohistokimyasal boyama yöntemiyle incelendi. İncelenen 343 hastanın 42'sinde BKV viremi mevcuttu. Alıcı ve verici arasındaki HLA uyumu viremi için önemli bir risk faktörü olarak saptanmazken, verici veya alıcıdaki bazı HLA allellerinin BKV viremi veya virüsünde önem arz ettiği saptandı. Patolojik incelemeye alınan 31 örneğin anti-kaveolin-1 immunoglobulin ile yapılan immünohistokimyasal analizinde Grup-I ve Grup-II arasında boyanma yönünden istatistiksel yönden anlamlı bir fark olduğu ve Grup-I de kaveolin-1'in boyanmasının az olduğu görüldü. Ancak benzer immünohistokimyasal analiz anti-klatrin ile yapıldığında Grup-I ve Grup-II arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Bu bulgular ışığında, BKV enfeksiyonu için belli bazı HLA tiplerinin risk faktörü olabileceği düşünülebilir. Ayrıca kaveolin-1 ekspresyonunun BKV enfeksiyonunda böbrek tutulumu için koruyucu rol oynayabileceği düşünülebilir. Her iki verinin de geniş çaplı çalışmalarla doğrulanması gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek Nakli, BK Virüs, Kaveolin-1, HLA, Klatrin

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 29152

ABSTRACT

Arpali, E. An analysis of the relationship between Caveolin and Clathrin molecules and BK virus infection seen after kidney transplantation and HLA tissue type distribution.

Istanbul University, Institution of Health Sciences, Department of Medical Biology, Doctorate Thesis. 2019. Istanbul.

BK virus infections which usually remains asymptomatic in healthy adults may have different clinical manifestations in immunocompromised patient population. BK virus reactivation can cause BK virus nephropathy in 8% of kidney transplant patients and graft loss may be seen if not treated. Clathrin or Caveolar system are known to be required for the transport of many viruses from Polyomaviruses family including BK viruses and HLA molecules are speculated to have roles as co-receptors for some virus types. In this study, kidney transplant patients with BK virus viremia were divided into two groups according to the BK virus nephropathy found in kidney biopsy (Group I: Viremia +, Nephropathy + / Group II: Viremia+, Nephropathy -). Both patient groups were evaluated with regard to HLA tissue typing match and HLA tissue types. Kidney biopsies were examined with immunohistochemical staining to determine the distribution and density of the Caveolin-1 and Clathrin molecules. Of the 343 patients, 42 had BKV viremia. While HLA match was not found to be a significant factor for viremia, some of donor or recipient HLA alleles was found to be significant in BKV viremia or viruria. Immunohistochemical staining of the 31 pathologic specimens with anti-caveolin-1 immunoglobulin revealed statistically significant difference between group-I and group-II. The number of the specimens stained with anti-caveolin-1 was less in group I. On the other hand, we did not find any difference between the groups regarding the anti-clathrin immunochemical analysis. According to these findings, some HLA types may be regarded as risk factors for BKV infection. Besides, caveolin-1 expression can be considered as a protective factor for kidney involvement. Both results should be verified with high scale studies.

Key Words: Kidney Transplantation, BK Virus, Caveolin-1, HLA, Clathrin

This Project was the PhD thesis of EA, supported by the Istanbul University Scientific Research Unit (Project ID: 29152).

1. GİRİŞ VE AMAÇ

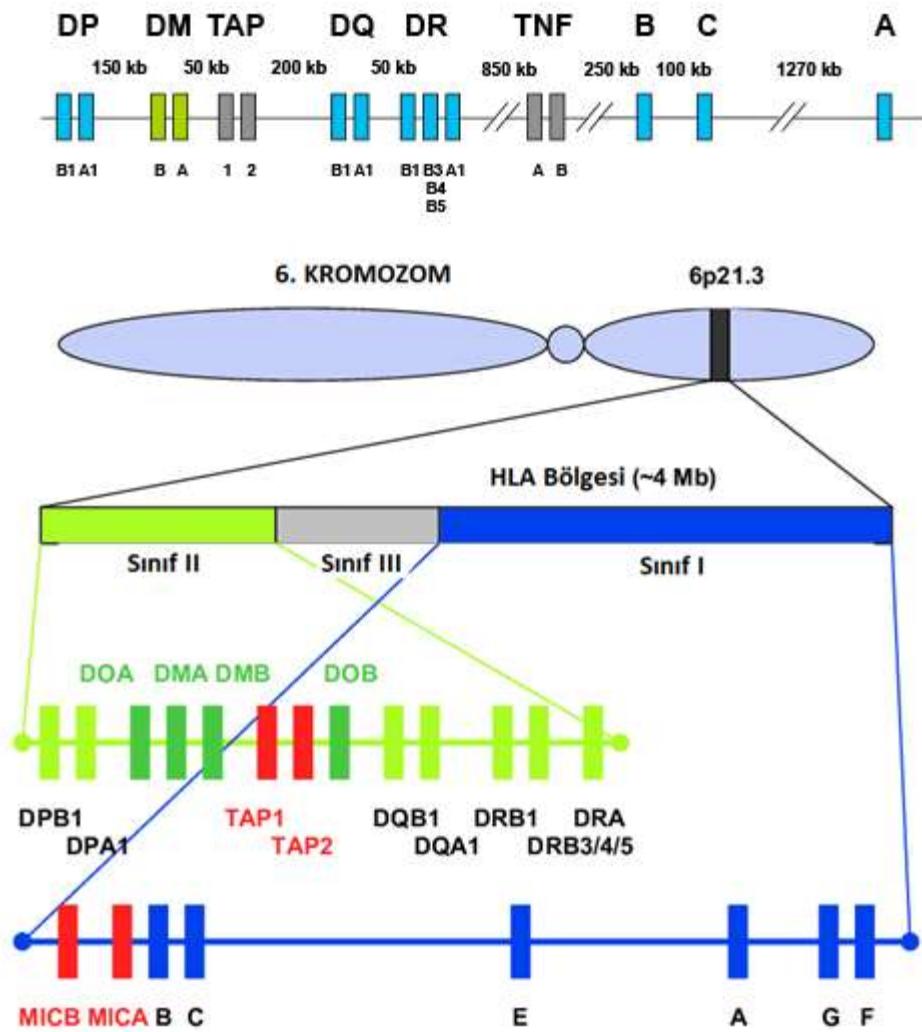
Erişkin insanların %50-90'nın BK virüs (BKV) yönünden seropozitif olduğu bildirilmektedir. Sağlıklı insanlarda enfeksiyon asemptomatik olarak seyreder ve virüs genitoüriner sistemde latent halde bulunur. Böbrek nakli gibi immün sistemin baskılandığı durumlarda %10-70 civarında yeniden aktivasyon görülebildiği bildirilmiştir [1, 2]. Bu hastalarda viruri ile başlayan enfeksiyon nefropati ve neticede %50'ye varabilen oranlarda greft kaybına neden olabilmektedir. Son yıllarda geliştirilen idrar sitolojisi ve PCR tarama yöntemleri ile izlem metotlarına rağmen greft kaybı %20 gibi ciddi bir düzeyde olabilmektedir [3]. On dört Poliyoma virüsten biri olan BKV, 40-44 nm ebadında ikosahedral bir kapsidi bulunan, çift sarmal DNA içeren zarfsız bir virüstür [4]. BKV'nün hücre içerisine kaveola aracılıklı yolk ile taşındığı bildirilmiştir [5, 6]. Kaveola kolesterol ve sfingolipidden zengin 50-80 nm büyüklüğünde küçük membran invajinasyonlarıdır. Esas görevlerinin bulundukları hücreye göre değişmekle beraber makro moleküllerin hücre içine taşınması, kolesterolün hücre içi organellerden hücre dışı reseptörlere aktarılması ve birçok sinyal molekülünün taşınmasının kontrolünde rol aldıkları bildirilmiştir [7-9]. Moriyama ve ark. insan proksimal renal tübüler epitel hücreleri (HKPTEC) kullanarak yaptıkları kültür çalışmasında siRNA yardımıyla Kaveolin-1 (Cav-1) ekspresyonunu inhibe ettiklerinde, BKV ile enfeksiyonun gerçekleşmediğini göstermişlerdir [4]. Aynı yöntemi kullandıklarında klatrin ekspresyonunun inhibisyonunun BKV ile HKPTEC enfeksiyonunu engellemediği de gösterilmiştir. Cav-1'in BKV enfeksiyonundaki önemini böylece vurgulamışlardır. Böbrek nakli sonrası BKV enfeksiyonuna duyarlılıkta önemli olabilecek bir başka faktörün de alıcı ve vericideki HLA antijenleri ve uyum sayısı olduğu bildirilmiştir [10]. Artan HLA uyumsuzluğunun BKV enfeksiyonu sıklığını arttırdığı gösterilmiştir. Böbrek naklinde alıcı-verici arasındaki HLA-A2, B44, DR7 uyumunun düşük viremi insidansı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [10].

Yukarıdaki bilgilerin ışığında bu tez çalışmasında amacımız BKV viremi, virürisi veya nefropatisi saptanmış böbrek nakli hastalarında böbrek alıcı-verici HLA antijenlerinin uyumunun ve HLA antijen dağılımının karşılaştırılması sureti ile var olması olası riskli grupların saptanmasıdır. Buna ek olarak BKV viremi olan ancak alınan böbrek biyopsisinde nefropati izlenmeyen hasta grubu ile BKV viremi olan ve nefropati izlenen hastalardaki kaveolin-1 molekülünün dağılım ve materyaldeki konsantrasyonunun immün histokimyasal boyama yöntemiyle değerlendirilmesi ve muhtemel korelasyonun varlığını araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 İNSAN LÖKOSİT ANTİJENİNİN YAPISI VE GÖREVİ

İnsan majör histokompatibilite kompleksi (MHC) 6. Kromozomun kısa kolunda 3,6 milyon baz çifti uzunluğundaki bir genomik segmentte bulunmaktadır [11]. MHC İnsan Lökosit Antijeni (HLA) olarak adlandırılan ve bütün çekirdekli hücrelerin yüzeyinde mevcut olan bir protein ailesini kodlamaktadır (Şekil 2.1).



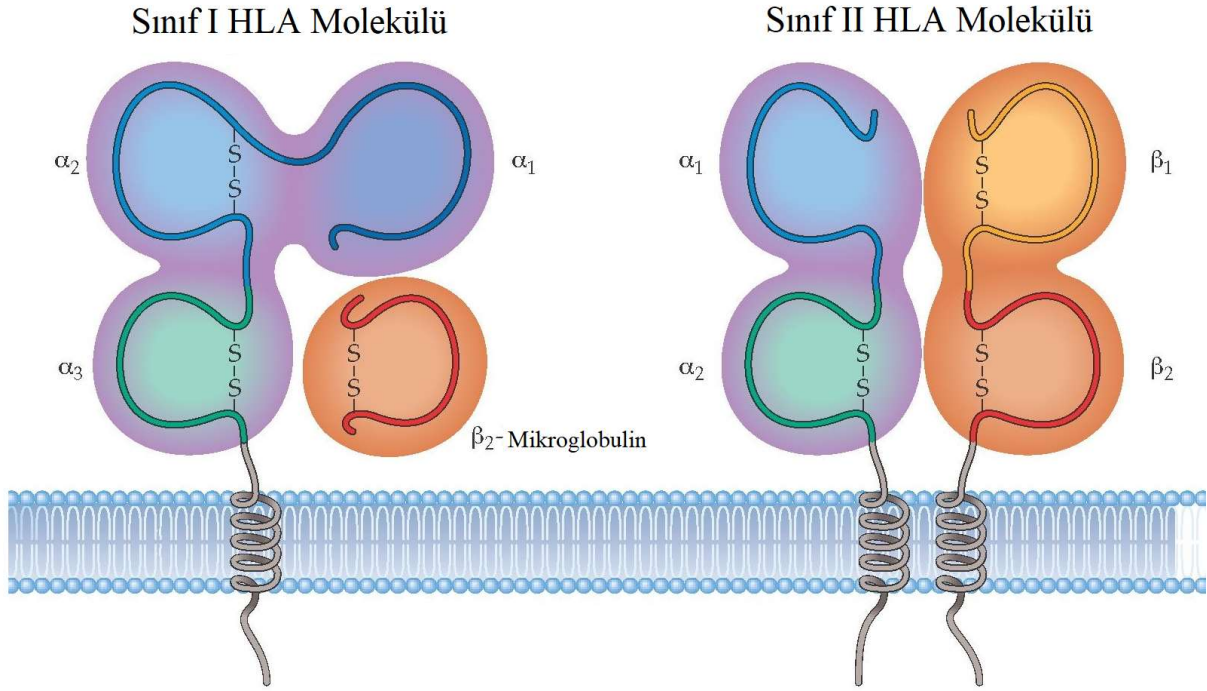
Şekil 2.1 İnsan Majör Histokompatibilite Kompleksi

Bu bölgedeki bazı genler çok sayıda allele sahip olmakta ve ileri düzeyde polimorfizm göstermektedir [11]. MHC genleri üç sınıf molekülü kodlamak üzere gruplanmışlardır [11-14]:

- Sınıf I MHC Genleri: Bu genler bütün çekirdekli hücrelerin yüzeyinde bulunan ve hücre içi kaynaklı peptitleri hücre yüzeyinde $CD8^+$ T lenfositlere sunmakla görevli olan glikoproteinleri kodlamaktadır.
- Sınıf II MHC Genleri: Bu genler, antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunan ve antijeni $CD4^+$ T lenfositlere sunan glikoproteinleri kodlamaktadır.
- Sınıf III MHC Genleri: Kompleman sistem aktivasyonunda ve enflamasyonda rol oynayan bazı proteinleri kodlamaktadır.

Sınıf I HLA molekülleri, MHC kompleksi üzerinde kodlanan bir α zincir ile 15. kromozomda kodlanan 12 kDa ağırlığındaki β_2 mikroglobulin molekülün birleşimiyle oluşan polipeptitlerdir (Şekil 2-2). Alfa zinciri, 3 adet α segmenti bulunan bir hücre dışı kısım ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$), 25 hidrofobik aminoasit ihtiva eden transmembran bir bölüm ve hücre içine uzanan kısa bir hidrofilik zincirden oluşturmaktadır. β_2 mikroglobulin ise hücre zarına bağlanmadan sadece non-kovalent bağlarla α zincirine bağlı halde bulunmaktadır. Alfa-1 ve 2 segmentleri arasında oluşan moleküler yarık peptit bağlama bölgesini oluşturmakta ve 8-10 a.a. uzunluğundaki peptitleri bağlayabilmektedir. Bu kesim ileri ölçüde değişkenlik göstermektedir. Bir HLA molekülünün uygun şekilde katlanıp hücre yüzeyine taşınabilmesi için Sınıf-I α zincirinin, β_2 mikroglobulinin ve peptitin birlikte bulunması şarttır. İnsanlarda üç adet sınıf I HLA α - zincir geni bulunmaktadır. Bunlar HLA-A, HLA-B ve HLA-C'dir [15, 16].

Sınıf II molekülleri her ikisi de MHC kompleksi üzerinde kodlanan sırasıyla 33-kDa ve 28-kDa ağırlığındaki bir α zincir ve bir β zincirinden ibarettir. Her iki zincir birbirine non-kovalent bağlarla bağlıdır (Şekil 2-2). Sınıf I moleküllerinde olduğu gibi Sınıf II moleküllerinin de bir hücre dışı antijen sunan kısmı, bir transmembran bölümü ve bir intrasitoplazmik segmenti bulunmaktadır [14]. MHC üzerinde 3 çift Sınıf II HLA geni mevcuttur. Bunlar DR, DP ve DQ için α ve β genleridir. Birçok insanda DR gen kümesinde fazladan bir β geni (DRB3, DRB4, DRB5) bulunabilmektedir.



Şekil 2.2 HLA Moleküllerinin Yapısı.

2.2 LÖKOSİT ANTİJENLERİNİN HÜCRE YÜZEYİNE TAŞINMASI VE ANTİJEN SUNUMU

Hücre içerisindeki proteinler proteazom ismi verilen bir yıkım sistemi ile oligopeptitlere ayrılırlar. Hücre içi parçalanmış proteinlere ait aminoasit zincirlerinin çoğu tekrar kullanılırken bir kısmı sitozolde serbest olarak kalabilir. Bu kısa aminoasit zincirleri sınıf I HLA molekülleri ile immün sisteme sunulmak üzere hücre zarına taşınır. Hücre dışı kaynaklı peptitlerin hücre zarında sunulması, endositozla hücre içine alınan peptitlerin sınıf II HLA molekülleri ile birleşmesi ile olur [17].

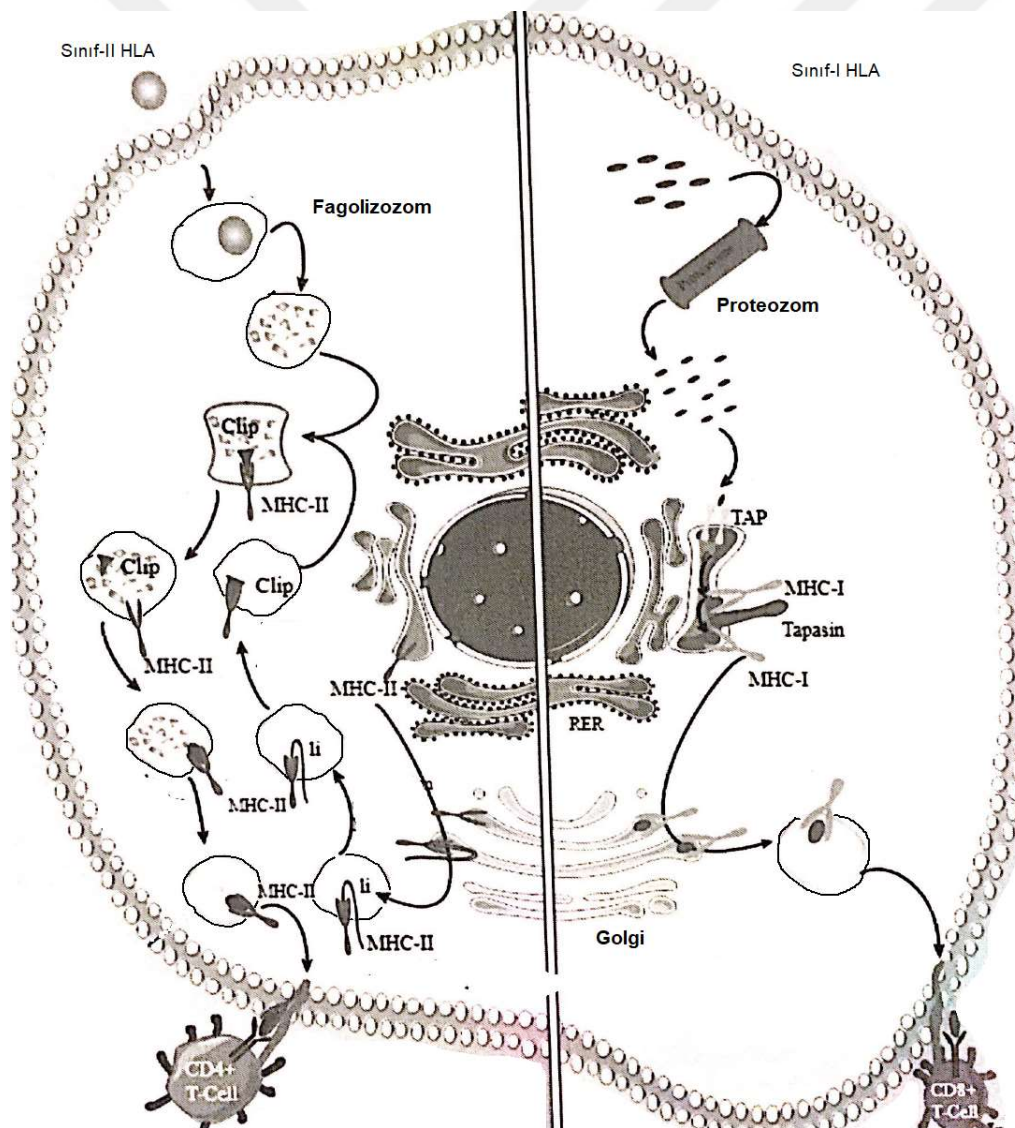
2.2.1 Hücre İçi Kaynaklı Peptitlerin Hücre Zarına Taşınması

Sınıf I HLA molekülleri ve β_2 Mikroglobulin granüllü endoplazmik retikulumda (GER) sentezlenmektedir. Bu sentez ve katlanma sırasında sitozol kaynaklı oligopeptitlerin GER içerisine taşınması gerekmektedir. Antijen işlenmesi ile ilişkili transport proteininin (TAP) bu oligopeptitlerin GER içine taşınmasında ve HLA-I ile birleştirilmesinde önemli rolünün olduğu gösterilmiştir. Hücre yüzeyinde HLA-I molekülünün stabil bir şekilde bulunabilmesi için GER içerisinde α zincirin, β_2 Mikroglobulinin şaperonlarla katlanırken, peptit zincirinin uygun şekilde bu yapıya sitozolden taşınması gerekmektedir. Kalneksin, ERp57, kalretikülin ve tapasin gibi şaperonların yardımıyla katlama süreci ve TAP proteini ile oligopeptitlerin

taşınması ve HLA-I molekülüne bağlanması ile stabilizasyon kazanan HLA-I molekülü GER'den ayrılır ve Golgi cisimciğine geçerek hücre yüzeyine taşınır [18] (Şekil 2.3).

2.2.2 Hücre Dışı Kaynaklı Proteinlerin Hücre Zarına Taşınması

Antijen sunan hücreler ile fagositoz veya reseptör aracılı endositoz ile hücre içine alınan antijenler önce erken endozomlarda sonra geç endozomlarda ve son olarak da lizozomlarda parçalanırlar. GER'de üretilen HLA-II molekülleri invaryant zincir isimli proteine bağlı olarak GER'den Golgi cisimciğine, oradan da endositik kompartımanlara taşınırlar. Bu sırada invaryant zincir proteolitik aktivite ile kısaltılır. Klasik bir HLA molekülü olan HLA-DM bu kısa peptit zincirinin (CLIP) antijenik peptitler ile değişiminde önemli rol oynar. Peptit ile bağlanan HLA-II kompleksi hücre yüzeyine taşınır [17].



Şekil 2.3 Hücre İçi ve Hücre Dışı Kaynaklı Peptitlerin Hücre Zarına Taşınması

2.3 İNSAN LÖKOSİT ANTİJENİ VE ORGAN NAKLİ

T lenfositlere HLA molekülleri üzerinde sunulan antijenik peptitler sıklıkla immün sistemde o antijene özgü bir yanıtın başlamasına sebep olmaktadır. HLA moleküllerinde görülen büyük çeşitlilik ise immün sistemin kendinden olmayanı ayırma kabiliyetine katkı sağlamaktadır. Ancak söz konusu organ nakli olduğunda, identik olmayan bireyler arasında yapılan organ veya doku nakillerinde, immün sistemin aktivasyonu ve oluşan anti-HLA antikorlar nakledilen doku veya organların kaybına ve sensitizasyona sebep olmaktadır. Allojenik anti-HLA antikorları hamilelik, kan transfüzyonu veya organ nakli sonrasında ortaya çıkmaktadırlar. Alıcıda bulunan bu antikorların veya titrelerinin tespiti bugün klinik olarak başarılı bir organ nakli için büyük önem arz etmektedir [19].

Tarihsel olarak bakıldığında, insanda ilk olarak tanımlandığı 1952 yılından günümüze kadar MHC ve HLA'nın organ naklindeki önemi giderek artmıştır [20]. 1960'lı yılların sonuna doğru anti-HLA antikorların organ ve doku kaybına sebep olduğu kesin olarak anlaşılmıştır [21]. Takip eden yıllarda kompleman bağımlı sitotoksikite testinin yaygın olarak kullanıma girmesi ile greft sağ kalımının arttığı görülmüştür. Gelişen teknoloji ile akım sitometrisi ve enzime bağlı immunosorbent tabanlı testlerin kullanıma girmesi, anti-HLA antikorların tespitindeki duyarlılığı artırmıştır. Öte yandan HLA sınıflaması için kullanılan tekniklerde serolojik tetkiklerin yerini giderek DNA bazlı metotlar almıştır.

Günümüzde anti-HLA antikorların duyarlı metotlarla tespiti titrelerinin takibi ve desensitizasyon protokolleri ile bu antikorların güvenli sınırlara çekilmesi ile duyarlı hastalarda böbrek ve diğer organ nakilleri yapılabilmektedir [22].

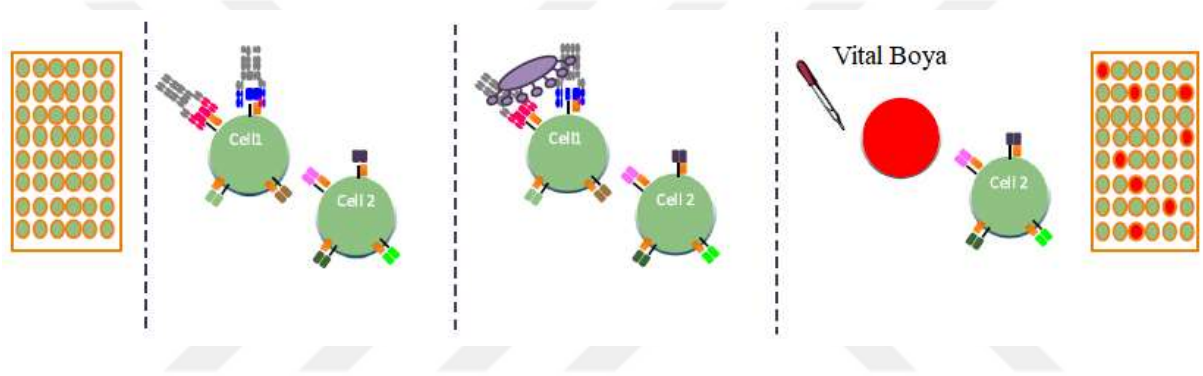
2.4 İNSAN LÖKOSİT ANTİJENİ (HLA) TİPLEMESİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

2.4.1 Serolojik Yöntemler

En erken kullanıma giren metottur. Kompleman aracılı mikrositotoksikite prensiplerine dayalı olarak yapılan bir testtir [23]. Multipar veya çok defa kan transfüzyonu yapılmış sensitize bireylerden alınan serum örnekleri ayıraç olarak kullanılır. T ve B lenfositler sırası ile sınıf I ve sınıf II HLA antijenlerinin tespiti için kullanılır. Lenfotoksikite testinde izole edilen lenfositler doku tiplmesinde kullanılan bilinen bir serumla muamele edilir. Eğer lenfositlerin

üzerinde spesifik anti-HLA serumunun reaksiyona gireceği HLA molekülü varsa antijen antikör bağlanması gerçekleşir ve eklenen kompleman vasıtasıyla membran hasarı gerçekleşir (Şekil 2-4).

Eklenen vital boyaların hasarlanmış hücre zarından girmesi ile hücreler mikroskopta boyanır hale gelir. Böylece doku grubunun tespiti yapılmış olunur. Ancak HLA molekülleri arasında izlenen çapraz reaktivite, bir antikora özgü serumun kolay elde edilememesi, hücre yüzeyinde ekspresyonu düşük olan HLA moleküllerinin zaman zaman reaksiyon vermemesi ayrıca sık izlenen yanlış pozitiflik ve yanlış negatiflikler bu test yöntemi için önemli sakıncalar olarak karşımıza çıkmıştır. Zaman içerisinde geliştirilen monoklonal antikörler ile çapraz reaktivite problemi önemli ölçüde aşılmıştır [15].



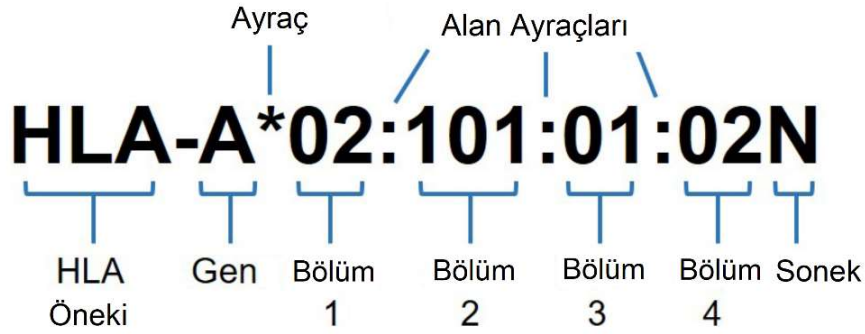
Şekil 2.4 Kompleman Aracılı Lenfotoksosite Testi ile HLA Tipinin Saptanması.

2.4.2 Moleküler Yöntemler

Gelişen teknoloji ile sekansa özgü polimeraz zincir reaksiyonu tabanlı ve yeni jenerasyon dizileme yöntemleri kullanıma girmiş, daha detaylı HLA tiplemesi mümkün olmuştur[15].

2.5 İNSAN LÖKOSİT ANTİJENLERİNİN İSİMLENDİRİLMESİ

Serolojik yöntemlerden moleküler yöntemlere geçilmesi ile HLA moleküllerinin isimlendirilmesinde değişiklikler olmuştur. Günümüzdeki isimlendirmede basamakların ifade ettiği değişkenler aşağıdaki şekilde özetlenmiştir [15] (Şekil 2.5).



Bölüm 1: Allel Grubu

Bölüm 2: Spesifik HLA Proteini

Bölüm 3: Kod bölgesinde eşanlımlı DNA değışimi

Bölüm 4: Kodlamayan bölge değışiklikleri

Sonek: Ekspresyon farklılıkları

Şekil 2.5 HLA Molekülünün İsimlendirilmesi.

2.6 POLİYOMA VİRUSLERİN YAPISI VE GENEL ÖZELLİKLERİ

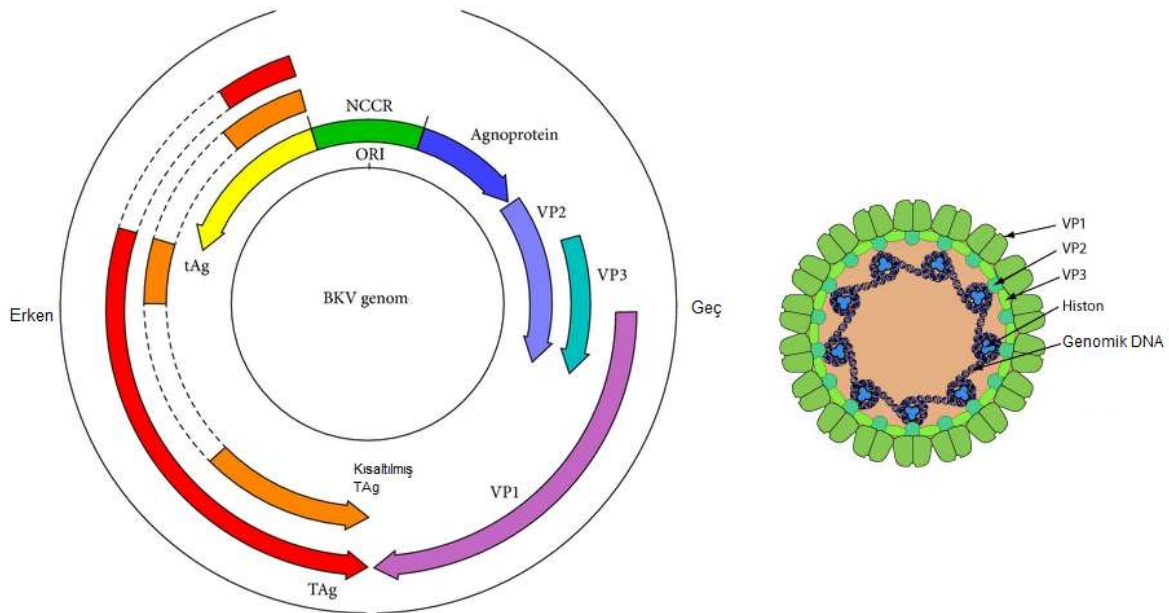
Papovaviridea ailesinden olan Poliyoma virüsler (PV) zarfsız sirküler DNA'ya sahip küçük virüsler olarak bilinirler. Bilinen 100 kadar Poliyoma virüsünden 80'i tür olarak sınıflandırılmıştır. Büyük tümör antijenine göre (LTAğ) bu türler de 4 büyük genus altında toplanmıştır (Alfa-Delta) [24]. Poliyoma virüslere bu ismin verilmesi, 1950'li yıllarda bu ailenin ferdi olan ilk virüs bulunduğunda hayvan modellerinde çoklu tümörler yapması nedeniyle [25]. Gelişen teknoloji ve tanı yöntemleri ile değışik konakçılara özgü birçok yeni Poliyoma virüs tespit edilmiştir. İnsan PV'leri immün sistemi sağlam olan hastalarda genellikle zararsız gibi görünmekle birlikte immün sistemleri zayıflamış olan hasta grubunda ciddi hastalıklara yol açabilmektedirler. BK Poliyoma virüsü (BKPyV) böbrek nakli hastalarında renal hasara, JC Poliyoma virüsü (JCPyV) AIDS hastalarında progresif multifokal lökoensefalopatiye, Trikodisplasi spinulosa PV'u (TSPyV) nadir görülen bir cilt hastalığı olan trikodisplazi spinulosaya yol açmaktadır [26]. PV'ler içerisinde sadece iki tanesinin konakçıda görülen kanserle ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bunlar: Merkel hücreli Poliyoma virüs – Merkel hücreli kanser (bir tür cilt kanseridir) ve Rakun Poliyoma virüsü- beyin tümörleridir [27]. BKPyV ve JCPyV'ların prostat ve kolon kanseri ile ilişkili olabileceği de ileri sürülmüştür [28].

2.6.1 Viral Genom

Virüs partikülleri bir adet çift sarmallı sirküler DNA'yı içeren ikozahedral kapsid ile kaplı yapılardır. Bütün PV'lerin 3 bölgeden oluşan ve benzer bir genomik organizasyonları vardır: Erken bölge, geç bölge, kodlamayan kontrol bölgesi (NCCR). NCCR replikasyon başlangıç noktasını ve erken ve geç transkripsiyon için kontrol noktalarını içermektedir (Şekil 2.6) [29].

2.6.2 Virüs Partikülü

Yaklaşık olarak 40-45 nm çapındaki virionların kapsidleri 72 adet pentamerik kapsomer içermektedir. Her pentamer majör kapsid proteini olan VP1'in beş adet kopyasını içermektedir. VP1'ler birbirlerine C-terminallerinden bağliırken, N-terminalleri genomla ilişkilidir [30]. Kapsomerler arasındaki kalsiyum iyonları ve disülfid bağları kapside daha fazla direnç ve sağlamlık kazandırmaktadır [31, 32]. Olgun viral partiküller minör kapsid proteinleri olan VP2 ve VP3'ü de içerir [33]. Kapsid içinde histonlar haricinde başka sellüler protein bulunmamaktadır.



Şekil 2.6 Poliyoma Virüslerin Yapısı

2.6.3 Viral Yaşam Döngüsü

Yapılan çalışmaların bazılarında MHC sınıf-I antijenlerinin koreseptör olarak önemi olduğu ancak esas reseptörlerin özellikle insan Poliyoma virüslerinde ganglioizidler olduğu düşünülmektedir [34, 35]. BKPyV'lerin sıklıkla GD1v ve GT1b ganglioizidlerini reseptör olarak kullandığı bildirilmiştir [36]. VP1 proteininin üzerindeki bir kısım bölgelerin türler ve dokular arasındaki reseptör seçiminde önemi olduğu düşünülmektedir.

Bağlanmayı takiben virüsün hücre içine alınması aşamasında neler olduğuna dair çok fazla yayın olmamakla birlikte viral internalizasyonun büyük bölümünün kaveolar/lipit aracılıklı endositozla olduğu düşünülmektedir [37]. Hücre içine girmeyi takiben PV partikülleri ER'a transfer edilirler ve buradan tam anlaşılmayan bir mekanizma ile nukleusa taşınırlar [38].

2.6.4 Viral Transkripsiyon

Viral genomun transkripsiyonu ve replikasyonu çekirdekte gerçekleşir ve NCCR tarafından kontrol edilir. Geç transkripsiyon viral DNA replikasyonunu takiben başlar. Erken ve geç genlerin transkripsiyonu konakçı hücresi polimeraz II ve konakçı faktörleri yardımı ile gerçekleşir. Erken transkripsiyon için promoter bölgeleri; TATA-box dizileri, hücresel transkripsiyon bölgelerinin bağlanma bölgeleri ve LTag için çoklu bağlanma bölgeleridir. Erken transkripsiyon tek bir öncü mRNA'dan alternatif kesilme ile regülatör proteinlerin sentezlenmesi ile sonuçlanır. Bu regülatör proteinler LTag ve STAg'dir. Memeli LTag'si çok fonksiyonlu bir proteindir ve NCCR içerisindeki bağlanma bölgesine bağlanarak erken transkripsiyondan geç transkripsiyona ve geç transkripsiyona geçişin kontrolünde rol oynar. Bu regülatör proteinlere ek olarak başka birçok proteinde virüs türüne göre erken transkripsiyonda sentezlenebilir. Ancak bunlarının çoğunun nasıl bir rol üstlendiği bilinmemektedir. Geç transkripsiyon, erken transkripsiyon genlerini kodlayan zincire tamamlayıcı olan DNA zinciri üzerinde aksi yöne transkripsiyonla sentezlenir. LTag ve diğer transkripsiyon faktörlerinin yardımı ile geç transkripsiyon başlar. Geç transkripsiyonda VP1 ve VP2 proteinleri sentezlenir. Bazı PV türlerinde bunlara ek olarak VP3 de sentezlenmektedir [39].

2.6.5 Viral Replikasyon

LTag viral replikasyon için gerekli en önemli proteindir. LTag replikasyon başlangıç noktalarına bağlanarak replikasyonun başlaması için gerekli proteinlerin işlev görmesine yardımcı olur. STAg'nin de viral replikasyonda yardımcı bir görevi mevcuttur [39].

2.7 BK VİRÜSLER VE KLİNİK ÖNEMİ

İlk defa 1971 yılında böbrek nakli yapılmış bir hastanın idrarında tespit edilmiştir. Takip eden dönemde bu hastanın isminin baş harfleri verilerek adlandırılmıştır [40]. BK virüsler, poliyoma virüs ailesinin tüm üyeleri gibi çift sarmallı sirküler bir DNA taşıyan zarfsız virüslerdir. Viral kapsid proteini (VP)-1'i kodlayan bölgedeki ve “kodlanmayan-kontrol bölgesi”ndeki polimorfizme göre 4 genotipe ayrılmıştır [41, 42]. Dünyada en sık olarak Grup-I ve takiben de Grup-IV gelmektedir. Grup-I'in dört alt grubunun ve Grup-4'ün de 6 alt grubunun olduğu saptanmıştır [43, 44].

BK virüs (BKV) ile ilk karşılaşma sıklıkla çocukluk çağında olmaktadır. Solunumsal sekresyonlar veya idrar ile yakın temas neticesinde görülen ilk enfeksiyon genellikle kendini hafif bir üst solunum yolu enfeksiyonu veya ateş şeklinde gösterir [45]. Respiratuvar sistemde çoğalan virüs kan yoluyla diğer organlara yayılır. İmmün sistemi sağlam bireylerde böbreklerde (Renal tübüler epitel, Bowman kapsülünün paryetal epiteli, transizyonel epitel) , mesanede ve lenfoid dokuda latent bir şekilde kalan virüs, organ nakli gibi immün sistemin baskılandığı durumlarda reaktifte olabilmektedir [46]. Bu reaktivasyonun özellikle hücre aracılıklı immün sistemin baskılanması sonucunda olduğu bilinmektedir. Nakledilmiş böbrekte başlayan replikasyonu virüs partiküllerinin idrara geçmesi takip eder ve en son olarak da viremi görülmektedir. BKV'lerin en sık hedefi tübülointerstisyel epitel hücreleridir [47]. Bu hücrelerin tutulması sonucunda gelişen tübülointerstisyel nefrit ilerleyerek graft fonksiyonunun kaybına sebep olabilir. Yapılan çalışmalarda toplumlara göre değişmekle beraber insan popülasyonunda %60-90 oranlarında anti-BKV antikoru saptanmaktadır [48-50]. Bu seropozitivite ilk defa çocukluk çağında ortaya çıkar ve genellikle erişkin yaşa kadar devam eder. İmmün sistemi sağlam olan insanlarda viral partiküllerin aralıklı olarak idrarda görülme sıklığı %20'ye varan oranlarda olabilmektedir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda ise idrarda viral saçılma %10-%60 arasındaki oranlarda bildirilmiştir [51]. BKV'ler immün sistemi baskılanmış hastalarda aşağıda belirtilen klinik durumlara neden olabilirler [52-58]:

- Asemptomatik
- Nefropati/İnterstisyel nefrit
- Hemorajik sistit
- Üreter darlığı
- Hidronefroz

- Sistit
- Vaskülopati
- Meningo-ensefalopati
- Retinit
- Pnömoni
- Hemofagositik Sendrom
- Multifokal lökoensefalopati
- SLE (Sistemik Lupus Eritematozus)

2.7.1 Böbrek Nakli Hastalarında BK Virüs Enfeksiyonu

Böbrek nakli hastalarında görülen viruri, viremi ve BKV nefropatisi (BKVAN) insidansının sırasıyla %30, %14 ve %8 olduğu bildirilmiştir [59]. Bir başka retrospektif analizde BKVAN görülme insidansı böbrek nakli sonrası 1. yıl %2,3, 2. yıl 3,45 ve 5.yıl %6,6 olarak saptanmıştır [60]. BKVAN gelişen hastaların ise %15-50'sinde graft kaybı görülmektedir [46]. Böbrek nakli hastalarında BKV viremi ve virürisinin en sık görüldüğü dönem nakil sonrası ilk 1-3 ay arası olduğu ifade edilmiştir [61]. Böbrek haricinde diğer solid organ transplantasyonları sonrasında viruri sıklıkla görülebilse de çok daha az sıklıkla BKVAN görülmektedir [62].

BK Virüs nefropatisi genellikle asemptomatik olarak başlar. İlk bulgu çoğunlukla laboratuvar değerlerine yansımayan viruri ve takiben viremi şeklindedir. Yüksek titrede ve inatçı viremi görülmesi BKVAN saptanmasında yüksek duyarlılığa sahiptir. Ancak BKV, BKVAN'nin histolojik veya laboratuvar bulguları olmaksızın, böbrek nakli hastalarının %10-40'ında bulunabilmektedir [51]. BKVAN reaktivasyonunun transplante böbrekteki tübüler epitel hücrelerde bulunan BKV aktivasyonu ile olduğu düşünülmektedir. BKV reaktivasyonunun sebep olduğu interstisyel nefrit tipik olarak viremi veya virürinin eşlik ettiği serum kreatinin değerinde yükselme ile karşımıza çıkar. Piyüri, hematüri, tübüler hücreleri ve enflamatuvar hücreleri içeren silindirlerin görüldüğü idrar tetkiki anomalileri non-spesifik olmakla birlikte BKV enfeksiyonuna eşlik edebilir. İdrar sitolojisinde, intranükleer bazofilik inklüzyonların bulunduğu genişlemiş bir hücre çekirdeği olan enfekte hücreler görülebilir. Bu hücreler “Decoy Hücreleri” olarak adlandırılır. BKVAN olan hastaların çoğu asemptomatik

kreatinin yüksekliği ile başvurduğu için bu durumlarda BKV'nün idrarda ve kanda PCR ile taranması gereklidir. BKVAN için birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Bunlar şu şekilde sıralanabilir [51]:

Verici ile İlişkili Risk Faktörleri

- Kadın cinsiyet
- Kadavradan organ nakli
- İskemi-reperfüzyon hasarı
- Yüksek titrede anti-BKV antikoru bulunması
- HLA uyumsuzluğu
- Afrika kökenli olma

Alıcı ile İlişkili Risk Faktörleri

- İleri yaş
- Erkek cinsiyet
- BKV özgü-T hücre aracılıklı aktivitenin az veya hiç olmaması
- Beyaz ırk

Nakil Sonrası Döneme Ait Risk Faktörleri

- İmmun supresyonun derecesi
- Üreteral travma
- Üreteral stentler
- Diyabet mellitus
- Gecikmiş graft fonksiyonu
- Sitomegalovirüs enfeksiyonu
- Akut rejeksiyon tedavisi
- Yüksek doz steroid tedavisi

- Lenfosit-tüketen antikorlarla tedavi
- Takrolimus içeren tedavi protokolleri

Organ veya kemik iliği nakli yapılmış hastalarda görülebilen bir başka klinik tablo da hemorajik sistittir. Kemik iliği nakli hastalarında daha sık olarak görülmekle beraber böbrek nakli hastalarında da görülebilir [63].

2.7.2 BK Virüs Enfeksiyonun Tanısı

BK virüs enfeksiyonu viral serolojik testler, idrar sitolojisi ve PCR gibi nükleik asit test metotları kullanılarak tespit edilmektedir. PCR ile plazma ve idrardaki virüs yükü kalitatif olarak belirlenebilmektedir. Test sonuçlarının müspet olması durumunda doğrulamak amacıyla biyopsi yapılması önerilmektedir [64]. PCR teknikleri arasında standardizasyonun olmaması sebebi ile sonuçlar arasında varyasyon görülmesi şaşırtıcı değildir. Ancak ısrar eden virüsünün görülmesi yüksek özgünlük ve duyarlılıkla virüriyi takiben vireminin de gelişeceğini bir işareti olarak kabul edilebilir [65]. BKV viremi genellikle virüriyi takiben 4 hafta içinde ortaya çıkar. İdrar ve serumda BKV DNA için eşik değerler belirlense de BKV virüsü ve viremi her zaman BKVAN ile korelasyon gösteremeyebilir.

BK virüs nefropatisinin histolojik tanısı tübüloepitelyal hücrelerde sitopatik değişikliklerin görülmesi, buna ek olarak enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve SV40 poliyomavirüsünün LT antijeni ile çapraz reaksiyon veren pozitif immünohistokimyasal boyanması ile konulmaktadır [66].

2.7.3 BK Virüs Enfeksiyonunun Tedavisi

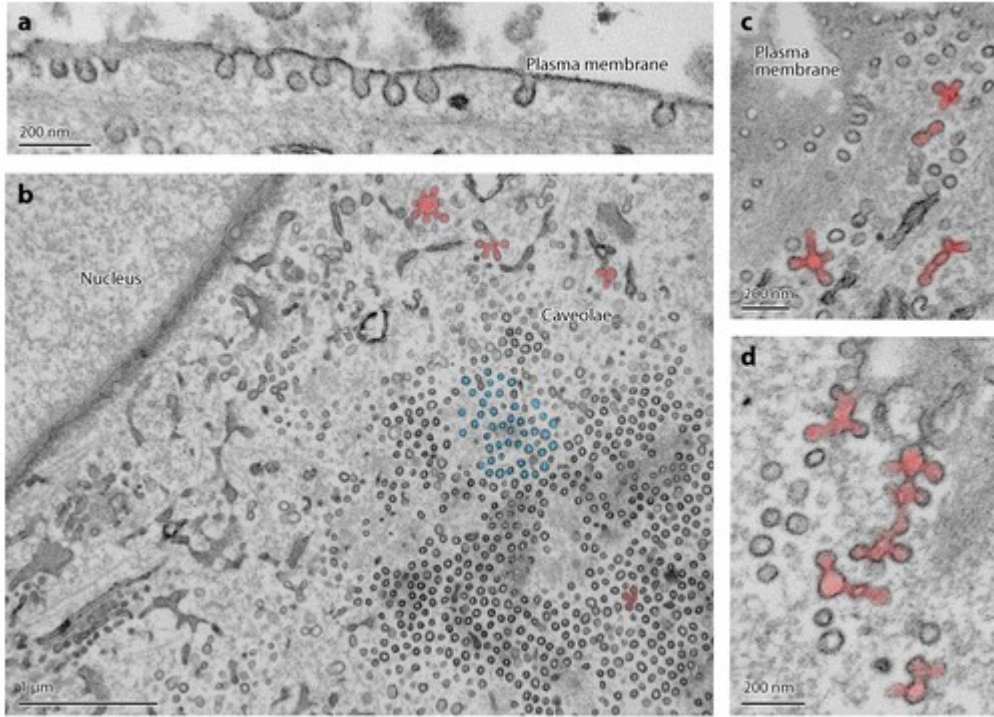
BK virüs enfeksiyonunda veya BKVAN'nin tedavisinde ilk yaklaşım immünsupresyonun azaltılmasıdır. Diğer tedavi seçenekleri ve ana tedaviye yardımcı ajanlar aşağıda sıralanmıştır [67].

- Sidofovir
- Leflunamid
- Kinolonlar
- IVIG

2.8 KAVEOLA YAPISI VE FONKSİYONU

2.8.1 Kaveolaların Yapısı

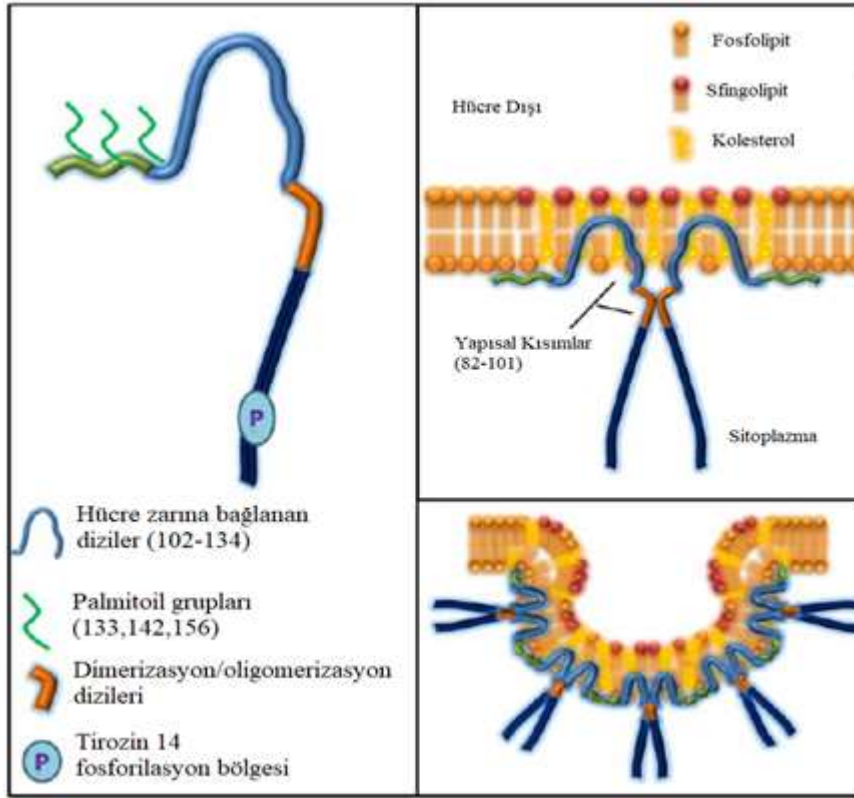
Hücre zarında bulunan kaveola isimli küçük girinti veya çukurcuklar memeli hücre zarının en göze çarpan özelliklerinden biridir. Yağ hücreleri, endotel hücreleri ve kas hücreleri gibi bazı özelleşmiş hücrelerde bu küçük girintiler hücre zarının alanını iki katına kadar çıkartabilmektedirler. Kaveolalar elektron mikroskopisinde ampul ve kupa görüntüsünde invajinasyonlar şeklinde görülmektedirler (Şekil 2.7). Bu yapısal özellikleri kaveolaların tanınmalarında ve özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak kaveolarlar içerdikleri kaveolin ve kavin gibi proteinlerle de farklılık göstermektedirler. Kaveolaların şekil olarak klatrin kaplı hücre zarı girintilerine benzedikleri düşünülebilir. Ancak kaveola ve klatrin kaplı girintiler arasında önemli farklılıklar mevcuttur. Bunlardan ilki, klatrin kaplı girintiler bütün dokularda eşit yoğunlukta bulunurken, kaveolaların miktarı ve yoğunluğu dokudan dokuya değişiklik gösterir. Kas dokusunda hücre yüzeyinin %50'sinden fazlasını kaplarken, hepatositlerde ve böbrek proksimal tübülünde az oranda bulunmaktadır. İkinci fark, klatrin kaplı çukurcuklar, klatrin kaplı düz bir yüzeyden hızla hücre yüzeyi invajinasyonlarına dönüşüp hücre içerisine tomurcuklanırken, kaveolalar genellikle bir boyun bölgesi olan ve süreklilik arz eden hücre yüzeyi yapılarıdır. Bunlara ek olarak kaveolalar değişik şekillerde dizilimler göstererek daha karmaşık yapılar oluşturabilirler. Bu yapılara kaveola kümeleri veya rozetleri ismi verilmektedir [68]. Bu şaşırtıcı yapılanma sadece kaveolalara özgüdür.



Şekil 2.7 Kaveolaların Elektron Mikroskop ile Görüntüsü

2.8.2 Kaveolaların Yapısında Yer Alan Proteinler

Kaveolanın yapısındaki proteinler iki başlıkta ele alınabilir: Ana yapısal proteinler ve yardımcı proteinler. Kaveolin-1, kaveolin-3, kavin1 ve paksin/sindapin kaveola oluşumu için gerekli ana yapısal proteinlerdir. Reseptör tirozin kinaz-benzeri reseptör-1 (receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1) (ROR1), EHD (EPS15 homoloji domain) proteinleri 1, 2 ve 4 yardımcı proteinler olarak anahtar rol oynamaktadırlar. Memelilerde CAV1, CAV2 ve CAV3 olmak üzere üç kaveolin geni mevcuttur. Kaveolinler kolesterol bağlayan oligomerik küçük proteinlerdir (17-24 kDA). Bu proteinlerin hem N hem de C terminalleri sitoplazma içerisinde olduğundan hücre zarında bir saç tokası şeklinde bulundukları düşünülmektedir. Kaveolin proteininin hücre zarına giriş noktaları tam olarak bilinmemekle beraber proteinin büyük kısmının hücre zarına bağlı olduğu düşünülmektedir [69]. CAV-1 proteininin C terminalinin palmitollenmiş olduğu ve N terminalindeki sabit bir tirozin rezidüsünün fosforile edilebileceği gösterilmiştir (Şekil-2.8).



Şekil 2.8 Kaveolin-1 Molekülünün Yapısı

Bakteriyel modellerde CAV1'in tek başına normal kaveola büyüklüğünde ve kaveolin formasyonunda tomurcuklanmalar oluşturabileceği bildirilmiştir [70]. Ancak *In vivo* çalışmalarda kaveola oluşumu için CAV-1'in yansıra kavin-1 proteininin de gerekli olduğu gösterilmiştir [71]. Kavin proteinleri yağ bağlama özelliğine sahip periferel hücre zarı proteinleridir [72]. Kavinler oluşturdukları oligomerik yapılarla kaveola oluşumunun stabilizasyonuna katkıda bulunurlar. Kavin-1 fosfatidil inozitol 4, 5-bifosfat ve fosfatidilserine bağlanarak CAV-1'den zengin bölgelerin stabilizasyonuna katkıda bulunmaktadır [72].

Kaveolanın ampul şeklindeki yapısını oluşturan kaveolin ve kavinlerden farklı olarak EHD proteinleri kaveolanın boyun kısmıyla ilişkilidir [73]. Kaveola ile ilişkisi ilk olarak gösterilen EHD proteini EHD2'dir. Daha sonra yapılan çalışmalarda EHD1 ve EHD4'ün de EHD2 seviyesi azaldığı durumlarda kaveola oluşumu ile ilişkili olabilecekleri gösterilmiştir [73]. Bu her üç EHD proteininin kaybı kaveola oluşumunu engellemezken boyun morfolojisinde değişikliğe neden olmaktadır. Buna ek olarak EHD proteinlerinin kaybında kaveola kümelerinin oluşmadığı izlenmiştir. Bu yüzden EHD'nin kaveola rozetlerinin veya kümelerinin stabilizasyonunda görev üstlendikleri düşünülmüştür. Yakın zamana kadar sadece kaveolin ve kavinlerin kaveola oluşumunda gerekli olduğu düşünülmekteydi. Ancak

paksin/sinaptin proteinlerinin genetik ablasyonu sonucu hücre kültürlerinde kaveolaların morfolojik olarak izlenmemesi bu proteinlerin de kaveola oluşumunda önemli rol oynadığını göstermektedir [74]. Bu bulgular mevcut modellerin yenilenmesine sebep olmuştur. Paksinlerin kaveola oluşumu için şart olan hücre zarı deformasyonunda rol oynadıkları düşünülmektedir. Kaveolin oluşumunda gerekli bir diğer protein ROR1'dir (Receptor Tyrosine Kinase–Like Orphan Receptor 1). ROR1 kaveola oluşumunda kaveolinler veya kavinlerle sabit orantılı miktarlarda bulunmayabilmektedir. ROR1, kaveolinleri ve kavinleri farklı bağımsız bağlanma bölgeleri ile bağlayarak ve CAV1'in parçalanmasına engel olarak kaveola oluşumuna yardımcı olur [75]. ROR1 ekspresyonu embriyonik hayatta ve fetal gelişim esnasında mevcuttur ama olgun dokuda genellikle görülmemektedir.

Anahtar yardımcı proteinler kaveolin-2, kavin2, kavin3 ve kavin4 proteinleridir. Bu proteinlerin kaveola stabilizasyonunda veya şekillenmesinde ve bazı spesifik görevlerde rol oynadıkları düşünülmektedir[76].

2.8.3 Kaveolaların Yapısında Yer Alan Lipitler

Kaveolaların detaylı analizi bu bölgelerin hücre zarının diğer kesimlerine nispeten kolesterol ve bazı glikosfingolipidlerden zengin olduğunu ortaya koymuştur [77]. Kaveolaların ana yapısal elemanlarının kendisine has lipit bağlama özelliklerinin olduğu gösterilmiştir. Örneğin, kaveolin-1 molekülü kolesterol bağlayabilmektedir [78]. Kaveolinden elde edilen peptitlerin lipozomlara yerleştirildiğinde, kolesterol, fosfatidilinositol (4,5) bifosfat ve fosfatidilserin moleküllerine özel bir afinite göstererek lipit yapının yeniden düzenlenmesine sebep oldukları anlaşılmıştır [79].

2.8.4 Kaveolaların Fonksiyonları

- Endositozis
- Sinyal İletimi
- Mekanokoruma

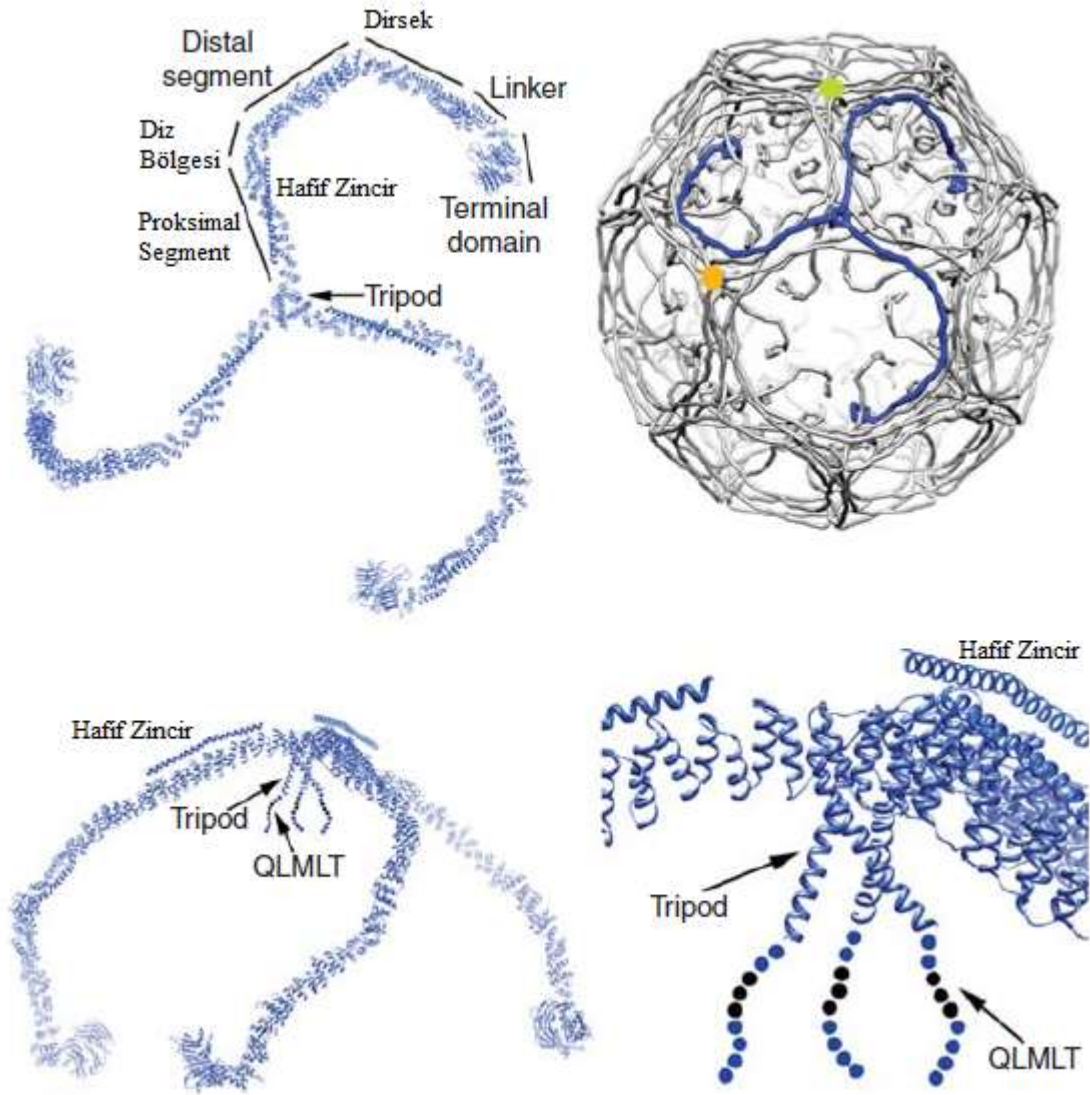
2.9 KLATRİN MOLEKÜLÜNÜN YAPISI VE FONKSİYONU

Klatrin, üç ağır zincir ve bu ağır zincirlere ilişik olarak bulunan 3 hafif zincirden oluşmuş bir trimerdir (Şekil 2.9). Birçok hücre türünde hücre yüzeyinde önemli ölçüde yer işgal eden ve “kaplı veziküller” olarak isimlendirilen oluşumların ana yapısını klatrin molekülü (Ağır ve hafif zincirleri) ve heterotetromerik adaptör kompleksinin 4 alt ünitesi oluşturur [80, 81]. Heterotetramerik adaptörler, klatrin kaplama ile hücre zarını birbirine bağlayan ve taşınacak kargonun tanınmasından esas olarak sorumlu moleküllerdir [82]. Bu moleküllere ek olarak birçok kargonun tanınmasında görev alan veya yardımcı olan adaptör proteinler de önem arz etmektedir. Klatrin molekülünün ağır zincirinin amino terminal kısmı, “Beta-pervane” kısmı olarak adlandırılan ve 7 adet WD40 tekrarından meydana gelmiş yapıyla başlar. Bu yapıyı her biri 30 aminoasit rezidüsü içeren 42 alfa helikal zikzak takip eder, bunu takiben gelen kısımda daha uzun bir alfa heliksten ibaret olan üçlü temas bölgesidir [83]. Molekülün karboksi ucunda yapısı tam olarak belirlenememiş 42 amino asit rezidüsü içeren bir bölüm bulunmaktadır. Karboksi terminal ucu HSP 70 tarafından tanınan kısa bir bölüm içermektedir. Molekülün 42 zikzak bölgesi klatrin triskelion’unun bacaklarını oluşturan esas kesimdir. Bu bacak bölgelerinin ucundaki terminal kısımları ise beta pervane bölgeleri meydana getirmiştir. Hafif zincirler memeli hücrelerinde her biri alternatif kesilme ile üretilen 2 tür olarak karşımıza çıkar. Sahip oldukları uzun bir merkezi alfa heliks kısmı ile üçlü temas bölgesiyle ilişki halindedirler[83].

Klatrin ve adaptör proteinler birlikte hekzagon veya pentagon simetride örgüler içeren üç boyutlu küresel yapılara dönüşerek hücre içinde veya hücre dışında moleküllerin ve partiküllerin reseptör aracılıklı taşınmasında hayati roller üstlenirler [84].

2.10 BK VİRÜSLERİN HÜCRE İÇİNE TAŞINMASI

Poliyomavirüslerin hücre içerisine taşınmasında birkaç mekanizmadan bahsedilebilir. JC virüs hariç bütün poliyomavirüsler için kaveola aracılığı ile hücre içine girişin söz konusu olduğuna dair ciddi kanıtlar mevcuttur [85, 86]. JC virüslerin ise klatrin aracılıklı bir yolakla hücre içine girdiği gösterilmiştir. Kaveolar yapıların eşlik ettiği reseptör aracılıklı endositozda hücre yüzeyinde reseptör vazifesi gören moleküller virüs türüne göre değişiklik gösterebilmektedir. Bunlardan en çok göze çarpanları MHC I molekülleri, gangliozitler ve siyalize glikanlardır [87].

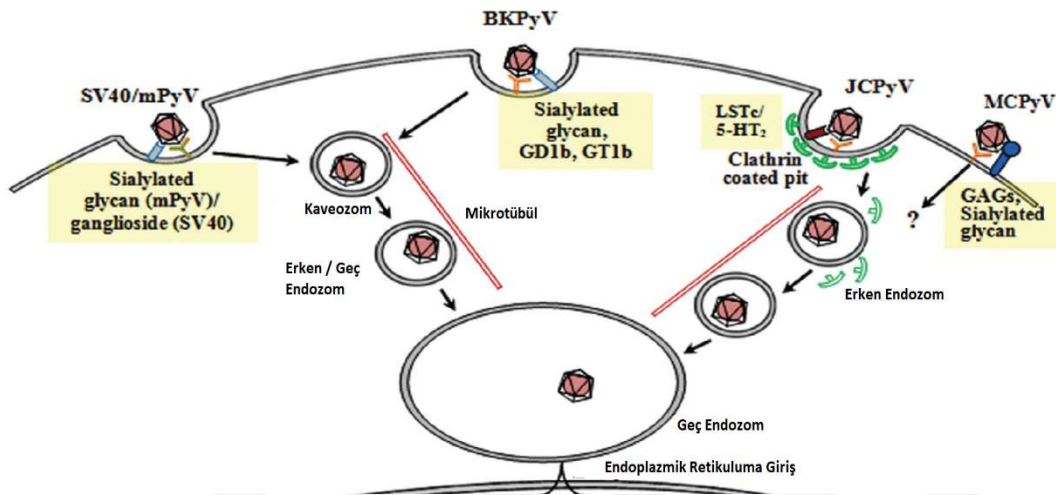


Şekil 2.9 Klatrin Molekülünün Yapısı

Poliyomavirüs hücre yüzeyindeki kaveolar yapı içerisindeki reseptörüne bağlandığında kaveola içinde hapsolür, daha sonra aktive olan tirozin kinaz ve Dinamin II (GTPaz) vezikülün yavaş ama etkili bir şekilde internalizasyonunu sağlayacak silsileyi başlatır (Şekil 10) [8]. Bunlara ek olarak kaveolin ve klatrinden bağımsız yolakların olabileceğine dair yayınlar da mevcuttur [88]. Ancak kaveolin ve klatrinden bağımsız bu yolakların mekanizması ve araçları net olarak bilinmemektedir.

2.11 BK VİRÜSLER VE HLA İLİŞKİSİ

Literatürde HLA türleri ve BK virüs ilişkisini inceleyen çok sayıda yayın bulunmamakla beraber bazı HLA gruplarının uyumu arttıkça viremi riskinin azaldığından bahsedilmektedir [10]. HLA A30 ve DRw6 taşıyıcılarının daha yüksek titrede anti-LTAg antikoruna sahip olduğu ve HLA A1 ve DR3 taşıyıcılarının daha düşük titrede antikor taşıdıkları ifade edilmiştir [89].



Şekil 2.10 BK Virüslerin Hücre İçine Taşınması

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 HASTA GRUBU

Çalışmaya İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji ve Genel Cerrahi Bölümlerinde Şubat 2006 ile Şubat 2017 tarihleri arasında böbrek nakli yapılmış ve yine İstanbul Üniversitesi Nefroloji Bölümü tarafından takip edilen 343 hasta dahil edildi. Tüm hastaların HLA doku tipleme analizleri İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştı. Bu hasta grubuna ait verilere retrospektif dosya tarama yöntemi ile ulaşıldı. Hastalara ait yaş, cinsiyet, böbrek yetmezliği nedenleri, operasyon tarihleri, böbrek vericisinin türü, BKV viremisi veya virüsüne ait bilgiler, böbrek iğne biyopsisi sonuçları ve HLA doku tipleme sonuçları istatistiksel analizde kullanılmak üzere tasnif edildi. Bunlara ek olarak İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına BKV nefropatisi ön tanısı ile gelmiş otuz bir böbrek biyopsi preparatı immünohistokimyasal inceleme için çalışmaya alındı. BVK viremisi ve böbrek fonksiyonlarında bozulma nedeni ile yapılan iğne biyopsisinde BKV nefropatisi saptanan ve saptanmayan hastalar olmak üzere bu örnekler iki gruba ayrılarak incelendi. Bu hastalara ek olarak böbrek nakli yapılmamış ve herhangi bir nedenle nefrektomi yapılmış 7 örnek de çalışmaya kontrol grubu olarak dahil edildi. Hastaların patolojik analizleri İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalında yapıldı. Bu çalışma için İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulundan Etik Kurul raporu (2017-1485) alındı.

3.2 LUMİNEX YÖNTEMİ İLE HLA TİPLEMESİ

Çalışmaya alınan hastaların HLA doku tipleme sonuçları retrospektif olarak dosya taramasıyla incelenmiştir. Laboratuvarımızda doku tipleme aşağıda belirtildiği şekilde rutin olarak her hasta için aynı şekilde yapılmaktadır.

Test PCR ile amplifiye edilmiş HLA dizilerinin SSO problemlerinin bağlı olduğu floresan işaretli mikro küreler ile melezlenmesi esasına dayanır. HLA sınıf II genlerinin ekson 2'si, HLA sınıf I genlerinin intronlu ve intronsuz ekson 2 ve 3'ü amplifiye edilir. Hedef DNA dizisiye özgü primerler kullanılarak amplifiye edilir. Amplifikasyon sırasında DNA materyali Biotin ile işaretlenir. Bu durum R-fikoeritrin bağlı Streptavidin (SAPE) ile görüntülenmesini sağlar. PCR ürünü denatüre edilir ve floresan mikro kürelere bağlı DNA problemleri ile melezlenir. LABScan, mikroküreler üzerinde bulunan PE (fikoeritrin) yoğunluğunu ölçmektedir.

3.2.1 Kit yardımı ile DNA izolasyonu

Çalışmaya dahil edilen hasta ve sağlıklı kontrollerden periferik venöz kan, 5cc'lik EDTA'lı tüpe alındı. Genomik DNA, kullanılan kitin protokolüne göre periferik kan lökositlerinden spin kolon yöntemi ile elde edildi (Roche High pure PCR Template Preparation Kit-100 reak).

Genomik DNA'ların, saflığı ve konsantrasyonu Spektrofotometre'de 260 ve 280 dalga boylarında okunarak saptandı. 1,4-1,8 arasında olan örnekler çalışmaya dahil edildi. Ölçümler sonucunda çalışmaya dahil edilen genomik DNA değerlerinin μ l'de 15-75 ng arasında değiştiği tespit edildi. Elde edilen DNA -20 °C'de saklandı.

3.2.2 Manuel yöntem ile DNA izolasyonu

Çalışmaya dahil edilen hasta ve sağlıklı kontrollerden periferik venöz kan, 5cc'lik EDTA'lı tüpe alındı. EDTA'lı tüpe alınmış periferik kandan DTAB/CTAB tuzları kullanılarak DNA izole edildi.

Solüsyonlar:

- 12% DTAB (12gr DTAB + 45ml 5M NaCl + 15ml 1M Tris-HCL* + 15ml 0,5M EDTA** + 100ml'ye dH2O ile tamamlandı)
- 0.5% CTAB (80ml dH2O içinde 5gr CTAB çözülür + 8ml 5M NaCl + 100ml'ye dH2O ile tamamlandı)
- Kloroform
- 1.2 M NaCl (5M NaCl □ 29,22gr NaCl + 80ml dH2O çözülür + 100ml'ye tamamlanıp, otoklav yapıldı. 1,2M NaCl □ 24ml 5M NaCl + 76ml dH2O)
- 99,9% Etanol
- 70% Etanol (70ml %99,9 etanol + 30ml dH2O)

* 1M Tris HCl → 12,1gr Tris base + 80ml dH2O içinde çözülür. pH 8,3-8,6 olarak ayarlanıp + 100ml'ye tamamlandı ve otoklav yapıldı.

**0,5M EDTA → 18,61gr EDTA + 80ml dH2O içinde çözüldü. pH, NaOH ile 8 olarak ayarlandı + 100ml'ye tamamlandı. Otoklav yapıldı.

Prosedür:

1. EDTA'lı tüpe alınan kan, 2500rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan buffy coat'dan 450µl alınıp 2 ml'lik ependorfa konuldu.
2. 450 µl buffy coat üzerine 450 µl DTAB solüsyonu eklendi.
3. 5 dakika 68 oC'deki ısıtıcı blokta bekletildi.
4. Buffy coat ve DTAB karışımı üzerine 900 µl Kloroform ilave edilir. Karışana kadar vortekslendi.
5. 10 000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
6. 1,5ml'lik ependorf içine 100 µl CTAB+900 µl dH₂O solüsyonu hazırlandı. 2 ml'lik ependorfda oluşan süpernatant hazırlanan CTAB solüsyonu üzerine döküldü. El ile sallanarak DNA gözlendi.
7. 10 000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
8. Üstte oluşan süpernatant döküldü. DNA-CTAB peleti üzerine 1.2 M NaCl solüsyonundan 300 µl ilave edildi.
9. Ependorfun dibinden pelet kalkana kadar vortekslendi.
10. 750 µl. %99,9 etanol üzerine ilave edildi. Ependorf 1-2 dakika aşağı yukarı çevrilerek DNA gözlendi.
11. 13 000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
12. Üstte oluşan süpernatant dökülerek 1ml %70 etanol ilave edildi. Ependorf vortekslendi ve DNA gözlendi.
13. 13 000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
14. Etanol dökülerek ependorf steril aplikatör ile iyice kurutuldu.
15. 500- 750µl steril dH₂O içinde çözüldü.
16. Spektrofotometre'de DNA konsantrasyonu ölçüldü.

Genomik DNA'ların spektrofotometrik ölçümleri:

Genomik DNA'ların, saflığı ve konsantrasyonu Spektrofotometre'de 260 ve 280 dalga boylarında okunarak saptandı. 1,4-1,8 arasında olan örnekler çalışmaya dahil edildi. Ölçümler sonucunda çalışmaya dahil edilen genomik DNA değerlerinin μl 'de 15-75 ng arasında değiştiği tespit edildi. Elde edilen DNA -20 $^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı edildi.

3.2.3 Amplifikasyon

1. Bütün amplifikasyon çözeltilerinin çözülmesi beklendi ve kullanılmadan önce vortekslendi.
2. DNA örneklerinden 4 μl (DNA konsantrasyonu 15-20 nanogram olarak) PCR plağına eklendi.
3. Gereken miktarlarda distile su (10 μl), lokusa özgü primer içeren master mix (6 μl) ve Taq polimeraz (0,2 μl) karıştırılarak vortekslendi.
4. SSO-amplifikasyon programı kullanılarak termalcycler da amplifiye edildi.

3.2.4 Amplifikasyon siklus parametreleri

95 $^{\circ}\text{C}$ 3 dk.

95 $^{\circ}\text{C}$ 15 sn.

60 $^{\circ}\text{C}$ 30 sn.

72 $^{\circ}\text{C}$ 30 sn.

12 siklus

95 $^{\circ}\text{C}$ 10 sn.

63 $^{\circ}\text{C}$ 30 sn.

72 $^{\circ}\text{C}$ 30 sn.

28 siklus

72 $^{\circ}\text{C}$ 2 dk.

4 $^{\circ}\text{C}$ ∞

3.2.5 Hibridizasyon

1. Boncuklar ısı bloğunda 56 derecede 7 dakika bekletildi.
2. Amplifiye olmuş üründen 5 μl alınıp costar plate'e aktarıldı.
3. Boncuklar vortekslendi.
4. Ürün üzerine 15 μl boncuk eklendi.

5.PCR cihazında hibridizasyon protokolüne alındı. İşlem 20 dakika sürdü.

6.Hibridizasyon programında 56 derecede iken kuyu başı 170 µl streptavidin solüsyonu eklendi.
(dilüsyon solüsyonu:170 µl+streptavidin: 0,85 µl)

7. LabScan 100 cihazında okutuldu. HLA-Fusion ile değerlendirildi.

3.2.6 Hibridizasyon siklus parametreleri

97 °C 2 dk.

47 °C 10 dk.

56°C 8 dk.

56°C ∞

3.3 İMMUNHİSTOKİMYASAL BOYAMA İLE PREPARATLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

İmmünohistokimyasal analizin çalışma prensibi genellikle dört aşamayı kapsamaktadır [90]. Bunlar sırasıyla:

1-Doku Fiksasyonu

2-Antijen Geri Kazanımı

3-Endojen Enzim Blokajı

4-Antikor etiketleme ve görüntüleme

Bu genel prensiplerin ışığında örnekler belirtilen aşamalardan geçerek aşağıda anlatıldığı şekilde hazırlandı.

Böbrek transplant biyopsilerine ait olgular arasından belirlenen parafin blokların her birinden 3-5 µm kalınlığında kesitler hazırlanarak hazır temin edilen pozitif şarjlı lamlara alındı. Bu preparatlar 56 °C etüvde bir gece boyunca bekletilerek kurutulup, kesitlerin bu şekilde lama yapışması sağlandı.

Bir gece etüvde bekletilen lamalar “Ventana Medical System-Benchmark XT/ISH Staining” modüle yerleştirilerek “Ultraview Universal DAB Detection Kit” kullanılarak sırasıyla şu işlemler uygulandı:

- 1- 15 dakika deparafinizasyon
- 2- Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) ile pH:8’de (CC1) antijen geri kazanımı
- 3- Her bir antikorun 37 derecede inkübasyonu (Tablo 3.1)
- 4- İki kez 8 dakika boyunca amplifikatör A ve B uygulanması (Biyotinli sekonder antikor, streptavidin-biyotin-peroksidaz)
- 5-Dört dakika boyunca asetat tampon içinde bakır sülfat çözeltisinde bekletme
- 6- Mayer hematoksilen boyası (Merck Corporate Headquarters, New Jersey, USA) ile zıt boyama

Tablo 3-1: Kullanılan Antikorların Özellikleri

Antikor/Klon	Üretici	Dilüsyon Oranı	Antijen Geri Kazanım	İnkübasyon Süresi ve Sıcaklık
Caveolin 1 (4D6) Fare, monoklonal	Novacastra	1/100	EDTA	120 dakika, 37 °C
Clathrin (TD.1) Fare, monoklonal	Santa Cruz	1/100	EDTA	120 dakika, 37 °C

Makineden çıkarılan lamalar deterjanlı suyla çalkalanıp saf alkolde 3 kez 3 dakika boyunca bekletilip ardından 3 kez 3 dakika boyunca ksilende bekletildikten sonra ‘DPX mount’ kapatma maddesi ile kapatıldı. Her immünohistokimyasal boyama aşamasında her antikor için pozitif ve negatif kontroller dahil edildi.

Tüm mikroskopik değerlendirmeler Olympus BX40 ışık mikroskopu ile gerçekleştirildi. Uygulanan iki antikorun viral sitopatik etki gösteren ve göstermeyen tubuluslar başta olmak üzere böbrek parenkimindeki ekspresyonu semi kantitatif yöntemle şiddet, yaygınlık ve boyanma şekli (sitoplazmik) dikkate alınarak değerlendirildi.

Her iki antikor için böbrek parenkimindeki vasküler endotel internal pozitif kontrol olarak kabul edildi. Endotelin boyanma şiddetinden daha zayıf boyanma hafif şiddette boyanma, endotel boyanma şiddetine eşit boyanmalar orta şiddette boyanma ve endotel boyanma şiddetinden daha kuvvetli boyanmalar şiddetli boyanma olarak değerlendirildi.

Elde edilen immünohistokimyasal değerlendirme sonuçları hastanın klinik, laboratuvar ve histomorfolojik bulguları ile karşılaştırıldı.

3.4 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Viremi ve virüri ayrı ayrı bağımsız değişkenler olmak üzere, tüm test parametreleri ile viremi ve virüri üzerinde sürekli değişkenler için Student T test, kesikli değişkenler için Ki-kare testi uygulanmıştır. Ayrıca, bu iki parametreyi çok boyutlu olarak tahmin edebilmek için, exhaustive CHAID algoritması ile karar ağaçları üretilmiştir.

Aleller arası ilişkiyi ortaya koyabilmek için, alellerin ikili kombinasyonlarında Ki-kare testleri yapılmıştır. P değeri 0,05'ten küçük sonuçlar için anlamlı fark, 0,1'den küçük değerler için anlamlı farka yakın fark çıkarımı yapılmış ve sonuçlar sunulmuştur. Analizler bilgisayar ortamında MS Excel ve SPSS versiyon 25 üzerinde yürütülmüştür.

4. BULGULAR

Çalışmaya böbrek nakli yapılan ve takip verilerine ulaşılan 343 hasta dahil edildi. Bu hastalara ait yaş, cinsiyet, böbrek vericisinin türü (canlı/kadavra) ve kronik böbrek yetmezliği (KBY) nedenleri yapılan retrospektif dosya taraması ile elde edildi. Hastaların 141'i erkek ve 202'i kadındı. Hastaların 141'ine (%39) böbrek nakli kadavradan geri kalan 202'sine (%61) ise canlı vericiden yapılmıştı. KBY sebebi olarak 166 hastada nefrolojik nedenler ön planda iken 82 hasta KBY nedeni olarak altta yatan sebep olarak ürolojik etiyoloji saptanmıştı. Doksan beş hasta da ise herhangi bir tanı KBY nedeni olarak belirtilmemiştir. Bu hastalara ait demografik veriler (yaş, cinsiyet, verici türü, KBY nedeni) Tablo 4-1'de özetlenmektedir. Plazmada PCR ile saptanan virüs miktarı mililitrede 10000 kopyanın üzerinde olduğunda viremi olarak kabul edildi. Aynı eşik düzeyi virüri için 10^7 kopya olarak kabul edildiğinde, takip süreleri boyunca 77 hastada BKV virürisi (%22,5), 42 hastada (%12,2) ise BKV viremisi saptandı.

Viremi ve virüri için HLA-A, HLA-B, HLA-DR uyumsuzlukları, HLA uyum oranları, yaş, cinsiyet, immünsupresyon protokolleri, indüksiyon ajanları, KBY nedenleri, idrar yolu enfeksiyonu (İYE), DJ stent süreleri, verici tipi risk faktörleri olarak değerlendirildi.

Tablo 4-1: Hastalara ait demografik veriler

YAŞ (YIL±SD)	41,8 ± 12,9
CİNSİYET	
<i>Kadın</i>	141
<i>Erkek</i>	202
VERİCİ TÜRÜ	
<i>Kadavra</i>	132
<i>Canlı</i>	211
KBY NEDENİ	
<i>Nefrolojik Nedenler</i>	166
<i>Ürolojik Nedenler</i>	82
<i>Sebebi Bilinmeyenler</i>	95

4.1 BKV VİREMİSİ RİSK FAKTÖRLERİ

BKV viremi olan ve olmayan grup arasında yapılan istatistiksel karşılaştırma ile risk faktörleri tespit edilmeye çalışıldı. HLA uyumu, HLA uyumsuzluğu, nakil türü ve nakil sayısı, indüksiyon ajanı, yaş, cinsiyet ve İYE öyküsü her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermedi. Yalnızca yapılan istatistik analizde veriler immünosupresyon protokolü ve KBY nedeninin viremi açısından önemli değişkenler oldukları görüldü (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: BKV Viremi için Risk Faktörleri

	p değeri
HLA-A Uyumsuzluğu	0,831
HLA-B Uyumsuzluğu	0,354
HLA-DR Uyumsuzluğu	0,578
HLA Uyumu (A, B, DR)	0,668
Nakil türü-Canlı/Kadavra	0,461
İkinci Böbrek Nakli	0,628
KBY Nedeni	0,027
İndüksiyon	0,622
Transplantasyon sonrası immünosüpresif protokolü	0,005
Operasyon sonrası İYE öyküsü	0,398
Cinsiyet	0,868
Yaş	0,8

KBY nedeni ve immünosüpresif protokoldeki farklılıkları incelemek için çapraz tablo metodu kullanıldı.

KBY nedenleri için yapılan çapraz karşılaştırmada hastaların etiyolojik nedenleri; ürolojik, nefrolojik ve bilinmeyenler olmak üç gruba ayrılarak incelendi. Viremi yönünden nefrolojik ve ürolojik etiyolojiye bağlı KBY gelişen gruplar arasında çapraz karşılaştırmada fark görülmedi ($p=0,29$). Ancak nedeni bilinmeyen grup ile diğer her iki grup arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda, vireminin nedeni bilinmeyen grupta önemli derecede az olduğu görüldü ($p<0,05$).

Tablo 4-3: Etiyolojik nedenlere göre gruplandığında BKV viremi oranları

			KBY Nedeni			TOPLAM
			BİLİNMEYEN	NEFROLOJİK	UROLOJİK	
VİREMİ	YOK	SAYI	90	144	67	301
		YÜZDE	29,9%	47,8%	22,3%	100,0%
	VAR	SAYI	5	22	15	42
		YÜZDE	11,9%	52,4%	35,7%	100,0%
TOPLAM		SAYI	95	166	82	343
		YÜZDE	27,7%	48,4%	23,9%	100,0%

P=0,29

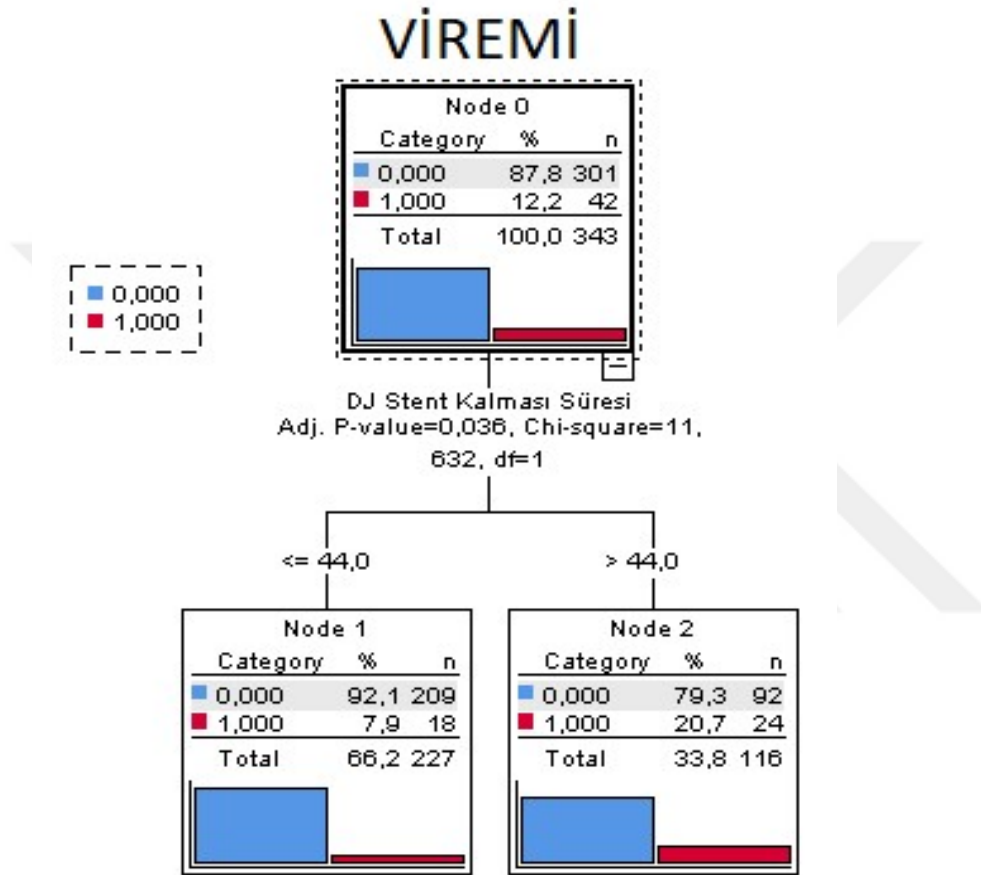
Diğer önemli bir değişken olan immünosupresyon protokolü incelendiğinde herhangi bir kalsinörin inhibitörünün azatiopürinle kombinasyonunun diğerlerine oranla daha yüksek risk ihtiva ettiği sonucuna varıldı (p=0,005) (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: İmmünsüpresif ilaçlara göre BKV viremi dağılımı

TEDAVİ PROTOKOLÜ	VİREMİ-	VİREMİ +	TOPLAM
KALSİNÖRİN+AZA	11 (%65)	6 (%35)	17
SİKLOSPORİN+MMF	56 (%95)	3 (%5)	59
TAKROLİMUS+MMF	229 (%88)	31 (%12)	260
MTOR İNH+AZA	5 (%71)	2 (%29)	7
TOPLAM	301	42	343

Çalışmaya dahil edilen bütün böbrek nakil hastalarında, operasyon sırasında rutin olarak transplante böbreğe ait üretere DJ stent yerleştirildiği için, çalışmamızda DJ stent yerleştirilmesinin BKV enfeksiyonu üzerine olan etkisini incelemek mümkün olmadı. Ancak

viremi ile DJ stent kalım süresi arasındaki ilişki incelendiğinde kalım süresi uzadıkça BKV viremisi görülme sıklığının giderek anlam kazandığı görüldü. Buna göre operasyon sonrası 44 günden fazla stent kalanlarda viremi sıklığının anlamlı ölçüde daha fazla olduğu görüldü ($p=0,036$) (Şekil 4-1).



Şekil 4-1: DJ Stent kalım süreleri ve BKV viremisi ilişkisi

4.2 BKV VİRÜRİSİ RİSK FAKTÖRLERİ

BKV virürisi için risk faktörleri incelendiğinde ise sadece HLA-A uyumunun istatistiksel olarak önem arz eden bir değişken olduğu görüldü (Tablo 4-5). Artan HLA-A uyumu ile virürinin azaldığı görüldü.

Tablo 4-5: BKV Virürisi için risk faktörleri

	P değeri
HLA-A Uyumsuzluğu	0,024
HLA-B Uyumsuzluğu	0,473
HLA-DR Uyumsuzluğu	0,535
HLA Uyumu (A, B, DR)	0,76
Nakil türü-Canlı/Kadavra	0,56
Kaçıncı Bb. Nakli	0,122
KBY Nedeni	0,167
İndüksiyon	0,577
Transplantasyon sonrası immünosüpresif protokolü	0,051
Postop. İYE öyküsü	0,645
Cinsiyet	0,118
Yaş	0,838
Stent kalma süresi	0,081

4.3 HLA ALELLERİ İLE BKV VİREMİ VE VİRÜRİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Yapılan çalışmada alıcı ve vericilerde sık görülen HLA alelleri ve bunlarla BKV viremisi ve virürisi arasındaki olası ilişkilerin varlığı da araştırıldı. Sonuç olarak belli bazı HLA alellerinin alıcıda veya vericide bulunması ya da bulunmaması ile viremi ve virüri arasında anlamlı ilişki bulundu. Alıcıda, HLA-A*01 ve HLA-B*15 bulunanlarda ve vericide ise HLA-DRB1*12 bulunanlarda bulunmayanlara göre vireminin daha sık görüldüğü tespit edildi (Tablo 4-6 ve Tablo 4-7). Ancak alıcıda HLA-A*29 alelinin bulunması durumunda BKV viremisinin önemli ölçüde az görüldüğü saptandı ($p=0,028$).

Tablo 4-6: BKV viremi ile ilişkili alıcı HLA alelleri

Alıcı HLA Antijeni	p	ODDS ORANI
HLA-A*01 (n=48)	0,015	2,53
HLA-B*15 (n=8)	0,027	4,56
HLA-A*29 (n=18)	0,028	0,37
HLA-A*02 (n=160)	0,13	0,59
HLA-A*03 (n=88)	0,29	1,53
HLA-A*11 (n=56)	0,86	0,98
HLA-B*35 (n=141)	0,92	1,08

Tablo 4-7: BKV viremi ile ilişkili verici HLA alelleri

Verici HLA Antijeni	p	ODDS ORANI
HLA-A*68 (n=32)	0,081	2,20
HLA-B*38 (n=22)	0,07	0,30
HLA-B*40 (n=15)	0,081	1,58
HLA-B*44 (n=55)	0,056	2,08
HLA-DRB1*04 (n=108)	0,064	0,47
HLA-DRB1*12 (n=12)	0,023	3,85

Böbrek alıcı ve vericisindeki HLA grupları ile BKV virüsü arasındaki ilişki incelendiğinde, bazı belli HLA alelleri taşıyan hastalarda virüsünün daha sık görüldüğü saptandı. Alıcı için istatistiksel anlam taşıyan bir HLA alelleri belirlenemezken, vericide HLA-DRB1*01 bulunmasının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde virüs riskini arttırdığı görüldü (Tablo 4-8). Vericide HLA-B*39 bulunmasının BKV virüsü olmayan grupta sık görüldüğü yani koyucu etkisinin olabileceği tespit edildi (P=0,04).

Tablo 4-8 BKV virüsü ile ilişkili verici HLA alelleri

HLA Antijeni	p	ODDS ORANI
HLA-A*11 (n=39)	0,084	1,87
HLA-B*13 (n=21)	0,076	2,27
HLA-B*39 (n=14)	0,04	0,23
HLA-DRB1*01 (n=58)	0,019	2,1

Yukarıda yapılan istatistiksel analizlere ek olarak, alıcı ve verici arasında toplumda yaygın bulunan ve istatistiksel olarak yeterli sayıda tespit edilen bazı HLA allellerinin uyumunun viremi üzerine olan etkisi de çalışmamızda ele alınmıştır. İstatistiksel analiz sonucunda değerlendirilen HLA alel uyumu/uyumsuzluğu ile viremi arasında ilişki bulunmamıştır. HLA alelleri, sıklıkları ve p değerleri Tablo 4-9’da gösterilmiştir. Buna göre istatistiksel anlam kazanmaya en yakın HLA uyumu alıcı-verici arasındaki HLA-A*01 uyumudur ancak p değeri 0,05 olarak sınır değerde kalmıştır.

Tablo 4-9: Alıcı ve vericinin her ikisinde ortak bulunan HLA alelleri ve viremi üzerine etkisi

HLA	BKV Viremi (-)	BKV Viremi (+)	p DEĞERİ
A*01	14	5	0,05
A*02	79	7	0,054
A*03	37	3	0,5
A*24	38	5	0,9
B*35	72	11	0,74
B*44	22	4	0,61
DRB1*01	25	3	0,8
DRB1*04	54	3	0,08
DRB1*11	62	8	0,81
DRB1*13	37	4	0,6
DRB1*15	19	3	0,83

4.4 KAVEOLİN VE KLATRİN MOLEKÜLLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE İNCELENMESİ VE BKV ENFEKSİYONU

BKV ve HLA ilişkisinin incelenmesine ek olarak çalışmamızda BKV viremisi saptanan ve transplant böbrek biyopsisi yapılan hastaların immünohistokimyasal incelenmesi de dahil edildi. Bu kapsamda böbrek nakli yapılmış ve kanda PCR yöntemi ile BKV saptanan hastalara ait toplam 31 patoloji örneği incelendi. Böbrek nakli hastalarına ait patolojik örnekler, orijinal patoloji raporlarında belirtildiğine göre SV 40 boyası ile immün reaktivite saptanan (Grup I) ve saptanmayan (Grup II) olmak üzere iki gruba ayrılarak incelendi. Bütün patoloji örneklerinde en az yedi glomerülün olduğu görüldü. Yapılan immünohistokimyasal boyamada transplante

böbreğin korteks ve medulla kısımları anti-kaveolin ve anti-klatrin antikorları ile ayrı olarak değerlendirildi (Şekil 4-2).

Boyanma özelliği açısından viral sitopati bulguları bulunan ve bulunmayan tubuluslar arasında her iki antikor açısından da bir farklılık belirlenmedi. Bazı biyopsi örneklerinde sadece korteks veya medulla mevcuttu. Bu durumda toplu değerlendirmeye biyopsi materyalinde hem korteks hem de medulla bulunan örnekler dahil edildi (Şekil 4-3). Patolojik materyalde korteks ve medulla bulunan örneklerin anti-kaveolin-1 ile yapılan immünohistokimyasal analizinde Grup-I ve Grup-II arasında kortikal ve/veya medullar boyanma yönünden istatistiksel yönden anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p=0,00024$). SV immün reaktivitesi olan grupta (Grup-I) anti-kaveolin-1 ile herhangi bir derecede tutulum gösteren örnek sayısı diğer gruba kıyasla önemli derecede azdı (Tablo 4-10). On örnekte ise hastalarda BKV viremisi mevcutken SV40 boyası ile kortekste herhangi bir immün reaktivite söz konusu değildi (Tablo 4-11). Kontrol grubunda hiçbir örnekte medullar tutulum izlenmezken, 7 örneğin 3'ünde anti-kaveolin-1 ile immün reaktivite saptandı (Tablo 4-11). Boyanmalar tüm vakalarda tubulus epitel hücrelerinde ve sitoplazmik karakterdeydi. Boyanma yaygınlığı açısından bakıldığında boyanma izlenen vakalarda boyanmanın diffüz karakterde olduğu dikkati çekti. Fokal boyanma görülmedi.

Tablo 4-10: SV40 immün reaktif olan (Grup I) ve olmayan (Grup II) grupların anti-kaveolin-1 antikorlu ile yapılan immünohistokimyasal analiz sonuçları

	Anti-kaveolin-1 (+)	Anti-kaveolin-1 (-)	Toplam
Grup 1	2	10	12
Grup 2	15	4	19
Toplam	17	14	31

P=0,00024

Benzer immünohistokimyasal analiz anti-klatrin ile yapıldığında toplam 20 örnekte uygun boyanma sağlanabildi. Grup-I ve Grup-II arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p=0,29$). Gruplar arası dağılım Tablo 4-12' de gösterilmektedir.

Böbrek korteksinin Anti-kaveolin-I ile immün reaktivitesinin derecesi semi-kantitatif olarak hafif, orta ve şiddetli olarak sınıflandırıldığında dağılım gruplara göre Tablo 4-11’de özetlenmiştir.

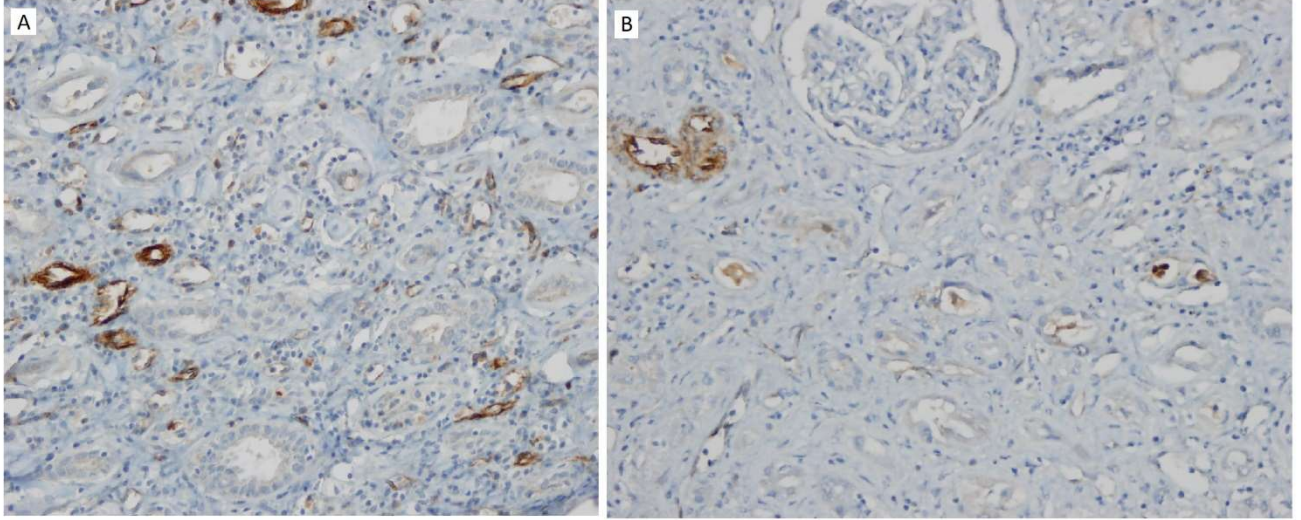
Tablo 4-11: Anti-kaveolin ile immün reaktivite gösteren örneklerde boyanma düzeyine göre dağılım

	Yok	Hafif	Orta	Şiddetli
Grup 1	10	1	0	1
Grup 2	4	9	2	4
Kontrol	4	3	0	0

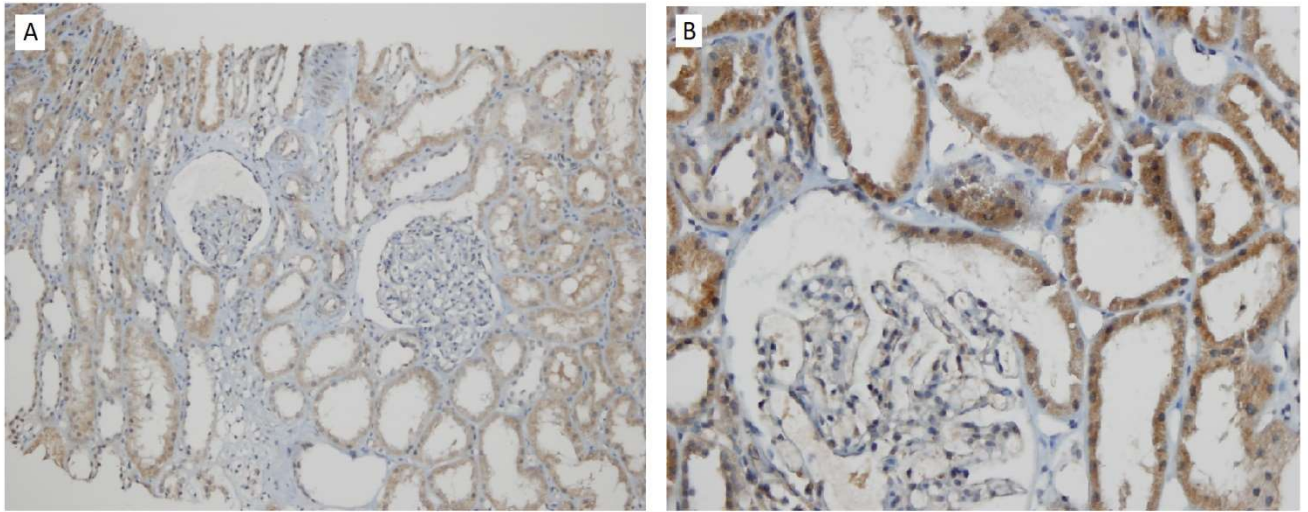
Tablo 4-12: SV40 immün reaktif olan (Grup I) ve olmayan (Grup II) grupların anti-klatrin antikoru ile yapılan immünohistokimyasal analiz sonuçları

	Anti-KLATRİN (+)	Anti-KLATRİN (-)	Toplam
Grup 1	5	3	8
Grup 2	10	2	12
Toplam	15	5	20

P=0,29



Şekil 4-2 BKV nefropatisi bulunan iki farklı renal transplant biyopsisinde, hem viral sitopatik etki gösteren ve tubulit bulunan tubuluslarda, hem de viral etkilenme göstermeyen tubuluslarda anti-Caveolin 1 antikoru ile negatif immünreaktivite. Kapiller damarlarda görülen pozitif immün reaktivite internal kontrolü temsil etmektedir. (A, medulla; B, korteks).



Şekil 4-3 BKV nefropatisi bulunmayan iki farklı renal transplant biyopsisinde, tubulus epitel hücre sitoplazmalarında anti-Caveolin 1 antikoru ile pozitif immün reaktivite (A, korteks-medulla; B, korteks)

5. TARTIŞMA

İlk defa tanımladığı günden bugüne kadar geçen 20 yılı aşkın süre içerisinde patogenezi önemli ölçüde açıklığa kavuşturulan BKV, önemi anlaşıldıkça böbrek nakli takibinde klinik pratikte önemli değişikliklere sebep olmuştur. Birçok transplantasyon ünitesinde BKV nefropatisinin tanısını erken koymak ve graft kayıplarını azaltmak amacıyla tarama şemaları yürürlüğe konulmuştur. Bütün bunlara rağmen, BKV nefropatisi sıklığında azalma görülmekle birlikte, graft kaybı yönünden önemini korumaktadır. Böbrek nakli alıcılarının yaklaşık olarak %10 ile %30 kadarında viremi izlenebilirken hastaların %1-%10 kadarında nefropati gelişebilmektedir. Maalesef bu hastalarda BKV nefropatisi ile ilişkili graft kayıpları %50'ye varan oranlarda olabilmektedir [91]. Bu veriler göz önünde bulundurulduğunda BKV tanısı ve takibi için riskli grupların belirlenmesi gerekmekte, yeni takip ve tedavi algoritmalarının geliştirilmesi graft sağ kalımı yönünden önem arz etmektedir. Bizim çalışmamızda viremi görülme sıklığı %12,2 olarak saptanmıştır.

BKV enfeksiyonu ile alıcı ve verici HLA antijenleri arasındaki ilişki daha önce yapılan çalışmalarda ele alınmıştır. Bu çalışmaların çoğunda HLA uyumlarının BKV enfeksiyonu üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir. Awadalla ve ark.'ları [92], böbrek alıcı ve vericisi arasındaki HLA uyumsuz alel sayısının artmasına paralel olarak böbrek nakli hastalarında BKV nefropatisi sıklığının arttığını yaptıkları retrospektif çalışmada göstermişlerdir. Çalışmada aynı zamanda artan HLA uyumsuz alel sayısı ile rejeksiyon sıklığında da artışın olduğu gözlenmiştir. Benzer sonuçlar Hirsch ve ark.'ları [93] tarafından da elde edilmiştir. Çalışmalarda rejeksiyon olayının sıklıkla BKV enfeksiyonu öncesinde olduğu ve dolayısıyla rejeksiyon neticesinde ortaya çıkan enflamatuvar hadiselerin BKV enfeksiyonu için gerekli zemini hazırlayabileceği düşünülmüştür. Buna ek olarak rejeksiyonu tedavi etmek amacıyla immun sistemin daha güçlü bir şekilde baskılanması da diğer bir reaktivasyon sebebi olabilir. Bunlara ek olarak HLA'ya özgü etkin antiviral immünitinin gelişimine HLA uyumsuzluklarının engel olabileceği de tartışılmıştır. Bu verilere karşın, daha yeni çalışmalarda HLA uyumsuzluklarının benzer etkisi gösterilememiştir [10, 94]. Bizim çalışmamızda BKV viremisi için HLA alel uyum ya da uyumsuzluklarının önemli bir risk faktörü teşkil etmediği görüldü (Tablo 4-2). Ancak HLA-A uyumsuzluğunun virüsü için bir risk faktörü olduğu ve artan uyumla virüsü sıklığında azalma olduğu görüldü (Tablo 4-5). Bu iki dönemde yapılmış çalışmalar arasındaki farkın bir sebebi son 10 yılda gelişen takip ve tanı metotları ile daha erken dönemde BKV virüsünün saptanması ve viremi olmadan hastaların tedavilerinin düzenlenmesi olabilir. Bir diğer etken ise gelişen

teknoloji ile anti-HLA antikorların erken tespiti ve takibi ile rejeksiyonlara klinik bulgu vermeden müdahale imkânı olabilir.

Literatürde belli bazı HLA alellerinin BKV enfeksiyonu ile ilişkisini gösteren çok sayıda çalışma bulunmamakla beraber bu amaçla yapılan ilk çalışmalardan birinde HLA- A30 ve HLA-DRw6 taşıyıcılarında virüsün T antijenine karşı yüksek titrede antikor bulunduğu ancak HLA-A1 ve HLA-DR3 taşıyan hastalarda ise daha düşük titrelerde anti T antijeni antikorunun bulunduğu bildirilmiştir [89]. Bir başka çalışmada ise alıcıda veya vericide HLA-C7 molekülünün bulunmamasının BKV enfeksiyonu ile ciddi ölçüde ilişkisi olduğu ifade edilmiştir [94]. Çalışmada HLA-C7 bulunmayışının inatçı viremi ile özellikle birlikte olduğu vurgulanmıştır. Titre ve BKV seropozitivitesi ile ilişki saptanmamıştır [94]. Ancak HLA-C7'nin etkisini inceleyen takip eden ikinci bir çalışmada HLA-C7'nin koruyucu etkisi gösterilememiştir [95]. BKV enfeksiyonundan korumada hücrel immünitenin yeri tartışılmazdır. MHC restriksiyonunun burada altta yatan koruyucu mekanizma olduğu birçok araştırmacı tarafından tartışılmıştır [10, 96]. Belli bazı HLA alellerinin VP1 antijeninin ve BKV'e ait T Antijeni kaynaklı kısa peptit zincirlerini daha yüksek afinite ile bağlayabildiği gösterilmiştir [96-98]. HLA-A*01, HLA-A*03, HLA-A*24, HLA-B*07, HLA-B*08, HLA-DRB1*01, HLA-DRB1*03, HLA-DR*01, HLA-DR*07, HLA-DR*10 ve HLA-DR*15 bu çalışmalarda saptanan HLA tipleri olarak karşımıza çıkmaktadırlar [96-98]. Ancak bu verilere göre hangi HLA antijeninin böbrek nakli hastalarında koruyucu özellikte olduğu tartışmalıdır. Masutani ve ark.'ları [10] alıcı ve vericide HLA-A2, B44, C6, DR7, DR15 ve DR5 uyumu olan böbrek nakli hastalarında viremi sıklığının önemli ölçüde az olduğunu ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamızda çalışma grubunun içerisinde alıcı ve verici arasında uyum olan herhangi bir HLA aleli ile böyle bir koruyucu etki gösterilememiştir (Tablo 4-9). HLA antijenlerinin popülasyonlardaki dağılımı, BKV enfeksiyonu sıklığındaki farklılıklar ve çalışma popülasyonunun çok büyük olmaması bu sonucun sebeplerinden birkaçı olabilir. Doğan ve ark.'ları tarafından yapılan daha yeni bir çalışmada, alıcı ve vericideki HLA-A24 uyumu viremi için risk faktörü olarak saptanmıştır [99]. Yine aynı çalışmada alıcı ve vericide HLA-A3 uyumu olan hastalarda ise vireminin daha az sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir [99]. Ülkemiz hasta popülasyonunu içeren bu çalışma göz önünde bulundurulduğunda kendi hasta grubumuzda, bahsedilen HLA alelleri için istatistiksel anlam ifade eden herhangi bir sonuç elde edilmemiştir.

Yukarıda bahsedilen çalışmaların ışığında bizim çalışmamızda BKV enfeksiyon riski ile ilişkili HLA antijenleri araştırılmıştır. Alıcıda HLA-A*01 ve HLA-B*15, vericide HLA-

DRB1*12 bulunmasının viremi ile ilişkili olduğu, yine vericide HLA-DRB1*01 bulunmasının ise virüri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bunun aksine alıcıda HLA-A*29 viremi için, vericide HLA- B*39 bulunmasının virüri için koruyucu etkisinin olabileceği çalışmamızda saptanmıştır. Poliyomavirüs ailesinden bir virüs olan Simian Virüs 40'ın hücre içine girişte HLA moleküllerinden faydalandıklarını bildiren yayınlar olduğu göz önünden bulundurulduğunda benzer bir durumun BKV için de söz konusu olabileceği düşünülebilir [34, 35]. Ancak literatürde BKV ve HLA molekülleri arasında böyle bir ilişkinin olduğuna dair daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamaktadır. Belli HLA alellerinin BKV partiküllerini sunmada yüksek afinite göstermesi hastalıktan korunmada altta yatan mekanizma olabilir. Bütün bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda daha fazla hasta sayısı içeren ve diğer HLA lokuslarının da analiz edildiği geniş seriler ile HLA ve BKV enfeksiyonu ilişkisini ortaya koyan önemli verilerin elde edilebileceği düşünülmektedir.

Böbrek nakli sırasında üretere stent yerleştirilmesinin postoperatif dönemde üreter kaynaklı komplikasyonları azaltmakla beraber böbrek nakli hastalarında BKV viremisi sıklığını arttırdığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir [100-102]. Hashim ve ark. stent kullanılan grupla kullanılmayan hasta grubunu karşılaştırdıklarında, stentli grupta viremi oranının %22 olduğu, stentsiz grupta ise % 16 olduğunu ve aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir [102]. Günümüzde üreteral stent kullanımı birçok merkezde standart hale geldiği için stent kalım süresinin önemi gündeme gelmiştir [103]. Wingate ve ark.'ları üreteral stent kalım süresinin 3 haftanın altında olduğu vakalarda BKV viremisinin stentsiz hastalara benzer oranda olduğunu ve stentin 3 haftadan daha fazla kaldığı hastalarda riskin göreceli olarak arttığını bildirmişlerdir. Bizim kendi serimizden elde ettiğimiz sonuçlar da stent kalım süresinin önemini doğrular niteliktedir. Sonuçlarımıza göre stent kalım süresinin 44 günün altında olduğu hastalarda BKV viremisi görülme sıklığı %7,9 iken, 44 günden daha uzun stent kalan hastada BKV viremisi görülme sıklığı %20,7'e yükselmektedir ($p=0,036$).

Bazı hastalarda BKV viremisi saptanması ve sebat etmesine rağmen uzun süre nefropati gelişmediği, bir kısım hastada ise kısa süre içerisinde hastalığın ilerlediği viremi nedeni ile yapılan biyopsilerde görülmektedir. Bu bireysel farklılıklar için altta yatan sebebin ne olduğu bilinmemektedir. Poliyomavirüslerin hücre içerisine taşınmasında birçok molekülün reseptör görevi yaptığı ve kaveolar endositozis veya klatrin aracılı taşınma ile viral partiküllerin hücre içine girdiği yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir [4-6, 37, 88, 104]. Poliyomavirüslerin türüne göre değişmekle birlikte, BKV için GD1b ve GT1b gangliozitlerinin reseptör vazifesi

gördüğü ve BKV'lerin hücre içine taşınmasının kaveolar sistem üzerinden olduğu ileri sürülmüştür [4, 6]. Ancak Zhao ve ark.'ları [88], BKV'lerin kaveolin ve klatrinden bağımsız olarak hücre içine girebileceğini göstermişlerdir.

Kaveolalar hücre zarında yer alan kolesterol, fosfolipid ve sfingolipidlerden zengin 50-100 nm. çapında küçük invajinasyonlardır. Değişik hücre tiplerinde farklı yoğunlukta bulunabilirler. Kompartmanlara ayrılmış hücresel işlevlerde iskele vazifesi yaptıkları ve endositoz, transitozis, kolesterol transportu, hücresel dönüşümün baskılanması, sinyal iletiminde ve viral enfeksiyonlarda rol aldıkların bilinmektedir [105-107]. Kaveola ve kaveolaların yapısında yer alan kaveolinlerdeki değişikliklerin koroner arter hastalığı, sinir sistemi hastalıkları ve malign hastalıklarda önem arz ettikleri gösterilmiştir [108, 109]. Ayrıca hücre çoğalması, farklılaşması, migrasyonu ve apoptozda önemli roller oynadıkları düşünülmektedir [110]. Kaveolin-1'in anormal ekspresyonunun tümörlerin ilerlemesiyle ve metastazla ilişkili olduğu gözlenmiştir [110-112].

Bazı virüslerin hücreyi enfekte etmesinde veya hastalığın ilerlemesinde kaveolin-1 molekülünün engelleyici etkisi olabileceği bildirilmiştir. Bohm ve ark.'ları [113], fare embriyo fibroblast hücre kültüründe, kaveolin-1 ekspresyonunun engellediğinde insan influenza A (H1N1) virüsünün hücrelerden 250 kat daha fazla salındığını göstermişlerdir. Araştırmada hücrelerdeki stres/toksisite yanıtının abartılı olması sonucunda reaktif oksijen türlerinin aşırı miktarda üretilmesi ve interferon-I yanıtının yetersiz olmasının virüs üretimine önemli katkıda bulunduğu vurgulanmıştır [113]. Bu yönden kaveolin-1 molekülünün hücre yüzeyindeki ekspresyonunun viral enfeksiyondan korunmada önemli olabileceğinin altı çizilmiştir [113].

Kaveolin-1 ile viral enfeksiyonlar arasındaki ilişki başka araştırmalarda da gösterilmiştir. Bunların en çarpıcı örnekleri Kaveolin-1'in HIV replikasyonunu inhibe ettiği çalışmalardır [114-116]. Wang ve ark.'ları [114] insan embriyonik böbrek hücre kültürü kullanarak yaptıkları araştırmada kaveolin-1'in NF- κ B yolağı üzerinden HIV'nin gen ekspresyonunu engelleyebildiğini bildirmişlerdir.

Kaveolin-1 geninde tek nükleotid polimorfizimleri (TNP) tanımlanmıştır [117]. Bu polimorfizimlere bağlı olarak farklı kanser türleri ile kaveolin-1 geninin ekspresyon profilleri arasında ilişki olabileceği bildirilmiştir [118, 119]. Zhang ve ark.'ları [119] kaveolin-1'in normal mide dokusundaki ekspresyonunun mide kanserli dokuya göre önemli ölçüde fazla olduğunu göstermişlerdir. Buna ek olarak, başka bir araştırmada hepatit B virüsü ile ilişkili hepatoselüler karsinomda CAV1 rs1049334 polimorfiziminin sık görüldüğü ve hastalığın

ilerleyişinde bu TNP'in kaveolin-1 molekülünün ekspresyon seviyesindeki etkisinin sorumlu olabileceği ifade edilmiştir [120].

Yukarıdaki bilgiler ışığında kaveolin-1 ve kaveolaların viral enfeksiyonlardaki önemi göz önünde bulundurulduğunda benzer etkinin BKV'ler için geçerli olup olmadığı merak uyandırmaktadır. Öte yandan kaveolar sistemin BKV'lerin hücre içine taşınmasındaki rolünün insanlarda böbrek nakli sonrasında ne kadar önem arz ettiği diğer önemli bir soru olarak karşımıza çıkmaktadır. Yaptığımız immünohistokimyasal boyamada viremi olan böbrek nakli hastaları transplante böbrek tutulumuna göre iki gruba ayrılarak incelenmiştir. Grup I (BKV nefropatisi/SV 40 boyası ile immün reaktivite saptanan grup) ve Grup II (BKV nefropatisi/SV 40 boyası ile immün reaktivite saptanmayan grup) arasındaki anti-kaveolin-1 immün boyamanın istatistiksel olarak farklı olması, kaveolin-1'in viral enfeksiyona dirençte önemini gösteren dolaylı bir bulgu olarak değerlendirilebilir. Ancak immünolojik hadiseler dahil birçok faktörün kaveolin-1 ekspresyonunu etkileyebilmesi, immün histokimyasal boyamanın dinamik olan bir süreçten ziyade sadece statik bir kesiti yansıtmaması, çalışmanın prospektif ve kontrollü olmayışı ve nispeten az örnek sayısının bulunması nedeniyle elde edilen verilere dikkatle yaklaşılmalıdır.

Bütün bu çekincelere rağmen hücre kültürü tabanlı ve kaveolin-1 gen ekspresyonunun kontrolünün yapılabileceği prospektif çalışmalara zemin hazırlaması ve daha önce literatürde benzer bir çalışmanın bulunmayışı yönünden elde edilen sonuçların önem arz ettiği kanaatindeyiz.

Bir takım virüs türlerinin klatriin aracılı endositozla hücre içine taşınmasının söz konusu olabileceği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [121, 122]. Biyopsi örneklerinde SV 40 boyası ile immün reaktivite saptanan (Grup I) ve saptanmayan (Grup II), BKV viremili hastalara ait örneklerle yapılan immünohistokimyasal değerlendirmede her iki grup arasında klatriin ekspresyonları yönünden istatistiksel farklılık görülmemesi, böbrek dokusunun BKV ile enfeksiyonunda klatriinin öneminin göz ardı edilebilir nitelikte olduğu düşündürmektedir. Ancak kaveolin-1 için tartışılan bazı endişelerin klatriin içinde geçerli olabileceği de akılda bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Binet, I., et al., *Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss*. Transplantation, 1999. **67**(6): p. 918-22.
2. Randhawa, P.S., et al., *Human polyoma virus-associated interstitial nephritis in the allograft kidney*. Transplantation, 1999. **67**(1): p. 103-9.
3. Wadei, H.M., et al., *Kidney transplant function and histological clearance of virus following diagnosis of polyomavirus-associated nephropathy (PVAN)*. Am J Transplant, 2006. **6**(5 Pt 1): p. 1025-32.
4. Moriyama, T., et al., *Caveolar endocytosis is critical for BK virus infection of human renal proximal tubular epithelial cells*. J Virol, 2007. **81**(16): p. 8552-62.
5. Eash, S. and W.J. Atwood, *Involvement of cytoskeletal components in BK virus infectious entry*. J Virol, 2005. **79**(18): p. 11734-41.
6. Eash, S., W. Querbes, and W.J. Atwood, *Infection of vero cells by BK virus is dependent on caveolae*. J Virol, 2004. **78**(21): p. 11583-90.
7. van Deurs, B., et al., *Caveolae: anchored, multifunctional platforms in the lipid ocean*. Trends Cell Biol, 2003. **13**(2): p. 92-100.
8. Parton, R.G. and A.A. Richards, *Lipid rafts and caveolae as portals for endocytosis: new insights and common mechanisms*. Traffic, 2003. **4**(11): p. 724-38.
9. Smart, E.J., et al., *Caveolins, liquid-ordered domains, and signal transduction*. Mol Cell Biol, 1999. **19**(11): p. 7289-304.
10. Masutani, K., T. Ninomiya, and P. Randhawa, *HLA-A2, HLA-B44 and HLA-DR15 are associated with lower risk of BK viremia*. Nephrol Dial Transplant, 2013. **28**(12): p. 3119-26.
11. *Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. The MHC sequencing consortium*. Nature, 1999. **401**(6756): p. 921-3.
12. Li, X.C. and M. Raghavan, *Structure and function of major histocompatibility complex class I antigens*. Curr Opin Organ Transplant, 2010. **15**(4): p. 499-504.
13. Horton, R., et al., *Gene map of the extended human MHC*. Nat Rev Genet, 2004. **5**(12): p. 889-99.
14. Goldberg, A.C. and L.V. Rizzo, *MHC structure and function - antigen presentation. Part 1*. Einstein (Sao Paulo), 2015. **13**(1): p. 153-6.
15. Deshpande, A., *The human leukocyte antigen system … simplified*. Global Journal of Transfusion Medicine, 2017. **2**(2): p. 77-88.
16. Goldberg, A.C. and L.V. Rizzo, *MHC structure and function - antigen presentation. Part 2*. Einstein (Sao Paulo), 2015. **13**(1): p. 157-62.
17. Yaneva, R., et al., *Peptide binding to MHC class I and II proteins: new avenues from new methods*. Mol Immunol, 2010. **47**(4): p. 649-57.
18. Rock, K.L., I.A. York, and A.L. Goldberg, *Post-proteasomal antigen processing for major histocompatibility complex class I presentation*. Nat Immunol, 2004. **5**(7): p. 670-7.
19. Trivedi, V.B., et al., *Human leukocyte antigen and its role in transplantation biology*. Transplant Proc, 2007. **39**(3): p. 688-93.
20. Dausset, J., *[The HL-A complex considered as an immunological unit]*. Rev Fr Transfus Immunohematol, 1977. **20**(1): p. 15-8.
21. Kissmeyer-Nielsen, F., et al., *Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells*. Lancet, 1966. **2**(7465): p. 662-5.

22. Montgomery, R.A., A. Loupy, and D.L. Segev, *Antibody-mediated rejection: New approaches in prevention and management*. Am J Transplant, 2018. **18 Suppl 3**: p. 3-17.
23. Terasaki, P.I. and J.D. McClelland, *MICRODROPLET ASSAY OF HUMAN SERUM CYTOTOXINS*. Nature, 1964. **204**: p. 998-1000.
24. Calvignac-Spencer, S., et al., *A taxonomy update for the family Polyomaviridae*. Archives of Virology, 2016. **161**(6): p. 1739-1750.
25. Gross, L., *A filterable agent, recovered from Ak leukemic extracts, causing salivary gland carcinomas in C3H mice*. Proc Soc Exp Biol Med, 1953. **83**(2): p. 414-21.
26. Dalianis, T. and H.H. Hirsch, *Human polyomaviruses in disease and cancer*. Virology, 2013. **437**(2): p. 63-72.
27. Dela Cruz, F.N., Jr., et al., *Novel polyomavirus associated with brain tumors in free-ranging raccoons, western United States*. Emerg Infect Dis, 2013. **19**(1): p. 77-84.
28. Delbue, S., P. Ferrante, and M. Provenzano, *Polyomavirus BK and prostate cancer: an unworthy scientific effort?* Oncoscience, 2014. **1**(4): p. 296-303.
29. DeCaprio, J.A. and R.L. Garcea, *A cornucopia of human polyomaviruses*. Nat Rev Microbiol, 2013. **11**(4): p. 264-76.
30. Ben-nun-Shaul, O., et al., *The SV40 capsid is stabilized by a conserved pentapeptide hinge of the major capsid protein VP1*. J Mol Biol, 2009. **386**(5): p. 1382-91.
31. Haynes, J.I., 2nd, D. Chang, and R.A. Consigli, *Mutations in the putative calcium-binding domain of polyomavirus VP1 affect capsid assembly*. J Virol, 1993. **67**(5): p. 2486-95.
32. Walter, G. and W. Deppert, *Intermolecular disulfide bonds: an important structural feature of the polyoma virus capsid*. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 1975. **39 Pt 1**: p. 255-7.
33. Hurdiss, D.L., et al., *New Structural Insights into the Genome and Minor Capsid Proteins of BK Polyomavirus using Cryo-Electron Microscopy*. Structure, 2016. **24**(4): p. 528-536.
34. Atwood, W.J. and L.C. Norkin, *Class I major histocompatibility proteins as cell surface receptors for simian virus 40*. J Virol, 1989. **63**(10): p. 4474-7.
35. Campanero-Rhodes, M.A., et al., *N-glycolyl GM1 ganglioside as a receptor for simian virus 40*. J Virol, 2007. **81**(23): p. 12846-58.
36. O'Hara, S.D., T. Stehle, and R. Garcea, *Glycan receptors of the Polyomaviridae: structure, function, and pathogenesis*. Curr Opin Virol, 2014. **7**: p. 73-8.
37. Engel, S., et al., *Role of endosomes in simian virus 40 entry and infection*. J Virol, 2011. **85**(9): p. 4198-211.
38. Kuksin, D. and L.C. Norkin, *Disassembly of simian virus 40 during passage through the endoplasmic reticulum and in the cytoplasm*. J Virol, 2012. **86**(3): p. 1555-62.
39. Moens, U., et al., *Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: An update*. Infect Genet Evol, 2017. **54**: p. 18-38.
40. Gardner, S.D., et al., *New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation*. Lancet, 1971. **1**(7712): p. 1253-7.
41. Chatterjee, M., T.B. Weyandt, and R.J. Frisque, *Identification of archetype and rearranged forms of BK virus in leukocytes from healthy individuals*. J Med Virol, 2000. **60**(3): p. 353-62.
42. Morel, V., et al., *A Simple and Reliable Strategy for BK Virus Subtyping and Subgrouping*. J Clin Microbiol, 2017. **55**(4): p. 1177-1185.
43. Zhong, S., et al., *Distribution patterns of BK polyomavirus (BKV) subtypes and subgroups in American, European and Asian populations suggest co-migration of BKV and the human race*. J Gen Virol, 2009. **90**(Pt 1): p. 144-52.
44. Nishimoto, Y., et al., *An Asian origin for subtype IV BK virus based on phylogenetic analysis*. J Mol Evol, 2007. **65**(1): p. 103-11.

45. Goudsmit, J., et al., *The role of BK virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils*. J Med Virol, 1982. **10**(2): p. 91-9.
46. Patel, R., *Infections in recipients of kidney transplants*. Infect Dis Clin North Am, 2001. **15**(3): p. 901-52, xi.
47. Leung, A.Y., et al., *Real-time quantitative analysis of polyoma BK viremia and viruria in renal allograft recipients*. J Virol Methods, 2002. **103**(1): p. 51-6.
48. Antonsson, A., et al., *Prevalence and stability of antibodies to the BK and JC polyomaviruses: a long-term longitudinal study of Australians*. J Gen Virol, 2010. **91**(Pt 7): p. 1849-53.
49. Sroller, V., et al., *Seroprevalence rates of BKV, JCV, and MCPyV polyomaviruses in the general Czech Republic population*. J Med Virol, 2014. **86**(9): p. 1560-8.
50. Stolt, A., et al., *Seroepidemiology of the human polyomaviruses*. J Gen Virol, 2003. **84**(Pt 6): p. 1499-504.
51. Balba, G.P., B. Javaid, and J.G. Timpone, Jr., *BK polyomavirus infection in the renal transplant recipient*. Infect Dis Clin North Am, 2013. **27**(2): p. 271-83.
52. Jiang, M., et al., *The role of polyomaviruses in human disease*. Virology, 2009. **384**(2): p. 266-73.
53. Bratt, G., et al., *BK virus as the cause of meningoencephalitis, retinitis and nephritis in a patient with AIDS*. Aids, 1999. **13**(9): p. 1071-5.
54. Basara, N., et al., *Hydronephrosis Resulting from Bilateral Ureteral Stenosis: A Late Complication of Polyoma BK Virus Cystitis?* J Transplant, 2010. **2010**.
55. Hedquist, B.G., et al., *Identification of BK virus in a patient with acquired immune deficiency syndrome and bilateral atypical retinitis*. Ophthalmology, 1999. **106**(1): p. 129-32.
56. Petrogiannis-Haliotis, T., et al., *BK-related polyomavirus vasculopathy in a renal-transplant recipient*. N Engl J Med, 2001. **345**(17): p. 1250-5.
57. Esposito, L., et al., *BK virus-related hemophagocytic syndrome in a renal transplant patient*. Transplantation, 2007. **83**(3): p. 365.
58. Akazawa, Y., et al., *Fatal BK virus pneumonia following stem cell transplantation*. Transpl Infect Dis, 2012. **14**(6): p. E142-6.
59. Hirsch, H.H., et al., *Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations*. Transplantation, 2005. **79**(10): p. 1277-86.
60. Dharnidharka, V.R., W.S. Cherikh, and K.C. Abbott, *An OPTN analysis of national registry data on treatment of BK virus allograft nephropathy in the United States*. Transplantation, 2009. **87**(7): p. 1019-26.
61. Hirsch, H.H. and P. Randhawa, *BK virus in solid organ transplant recipients*. Am J Transplant, 2009. **9 Suppl 4**: p. S136-46.
62. Kusne, S., et al., *Polyomavirus JC urinary shedding in kidney and liver transplant recipients associated with reduced creatinine clearance*. J Infect Dis, 2012. **206**(6): p. 875-80.
63. Helantera, I., et al., *Simultaneous BK Polyomavirus (BKPyV)-associated nephropathy and hemorrhagic cystitis after living donor kidney transplantation*. J Clin Virol, 2016. **76**: p. 4-7.
64. Kuypers, D.R., *Management of polyomavirus-associated nephropathy in renal transplant recipients*. Nat Rev Nephrol, 2012. **8**(7): p. 390-402.
65. Babel, N., et al., *Sustained BK viruria as an early marker for the development of BKV-associated nephropathy: analysis of 4128 urine and serum samples*. Transplantation, 2009. **88**(1): p. 89-95.
66. Drachenberg, C.B., et al., *Histological patterns of polyomavirus nephropathy: correlation with graft outcome and viral load*. Am J Transplant, 2004. **4**(12): p. 2082-92.

67. Trofe-Clark, J. and D. Sawinski, *BK and Other Polyomaviruses in Kidney Transplantation*. Semin Nephrol, 2016. **36**(5): p. 372-385.
68. Lo, H.P., et al., *The caveolin-cavin system plays a conserved and critical role in mechanoprotection of skeletal muscle*. J Cell Biol, 2015. **210**(5): p. 833-49.
69. Ariotti, N., et al., *Molecular Characterization of Caveolin-induced Membrane Curvature*. J Biol Chem, 2015. **290**(41): p. 24875-90.
70. Walser, P.J., et al., *Constitutive formation of caveolae in a bacterium*. Cell, 2012. **150**(4): p. 752-63.
71. Hill, M.M., et al., *PTRF-Cavin, a conserved cytoplasmic protein required for caveola formation and function*. Cell, 2008. **132**(1): p. 113-24.
72. Kovtun, O., et al., *Cavin family proteins and the assembly of caveolae*. J Cell Sci, 2015. **128**(7): p. 1269-78.
73. Yeow, I., et al., *EHD Proteins Cooperate to Generate Caveolar Clusters and to Maintain Caveolae during Repeated Mechanical Stress*. Curr Biol, 2017. **27**(19): p. 2951-2962.e5.
74. Hansen, C.G., G. Howard, and B.J. Nichols, *Pacsin 2 is recruited to caveolae and functions in caveolar biogenesis*. J Cell Sci, 2011. **124**(Pt 16): p. 2777-85.
75. Yamaguchi, T., et al., *ROR1 sustains caveolae and survival signalling as a scaffold of cavin-1 and caveolin-1*. Nat Commun, 2016. **7**: p. 10060.
76. Parton, R.G., *Caveolae: Structure, Function, and Relationship to Disease*. Annu Rev Cell Dev Biol, 2018. **34**: p. 111-136.
77. Ortegren, U., et al., *Lipids and glycosphingolipids in caveolae and surrounding plasma membrane of primary rat adipocytes*. Eur J Biochem, 2004. **271**(10): p. 2028-36.
78. Murata, M., et al., *VIP21/caveolin is a cholesterol-binding protein*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(22): p. 10339-43.
79. Wanaski, S.P., B.K. Ng, and M. Glaser, *Caveolin scaffolding region and the membrane binding region of SRC form lateral membrane domains*. Biochemistry, 2003. **42**(1): p. 42-56.
80. Kirchhausen, T. and S.C. Harrison, *Protein organization in clathrin trimers*. Cell, 1981. **23**(3): p. 755-61.
81. Ungewickell, E. and D. Branton, *Assembly units of clathrin coats*. Nature, 1981. **289**(5796): p. 420-2.
82. Traub, L.M. and J.S. Bonifacio, *Cargo recognition in clathrin-mediated endocytosis*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2013. **5**(11): p. a016790.
83. Fotin, A., et al., *Structure determination of clathrin coats to subnanometer resolution by single particle cryo-electron microscopy*. J Struct Biol, 2006. **156**(3): p. 453-60.
84. Robinson, M.S., *Forty Years of Clathrin-coated Vesicles*. Traffic, 2015. **16**(12): p. 1210-38.
85. Anderson, H.A., Y. Chen, and L.C. Norkin, *Bound simian virus 40 translocates to caveolin-enriched membrane domains, and its entry is inhibited by drugs that selectively disrupt caveolae*. Mol Biol Cell, 1996. **7**(11): p. 1825-34.
86. Pelkmans, L. and A. Helenius, *Insider information: what viruses tell us about endocytosis*. Curr Opin Cell Biol, 2003. **15**(4): p. 414-22.
87. Bhattacharjee, S. and S. Chattaraj, *Entry, infection, replication, and egress of human polyomaviruses: an update*. Can J Microbiol, 2017. **63**(3): p. 193-211.
88. Zhao, L., et al., *Caveolin- and clathrin-independent entry of BKPyV into primary human proximal tubule epithelial cells*. Virology, 2016. **492**: p. 66-72.
89. Noss, G., *Human polyoma virus type BK infection and T antibody response in renal transplant recipients*. Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg A, 1987. **266**(3-4): p. 567-74.

90. Ramos-Vara, J.A., *Principles and Methods of Immunohistochemistry*. Methods Mol Biol, 2017. **1641**: p. 115-128.
91. Hirsch, H.H. and P. Randhawa, *BK polyomavirus in solid organ transplantation*. Am J Transplant, 2013. **13 Suppl 4**: p. 179-88.
92. Awadalla, Y., et al., *HLA mismatching increases the risk of BK virus nephropathy in renal transplant recipients*. Am J Transplant, 2004. **4**(10): p. 1691-6.
93. Hirsch, H.H., et al., *Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients*. N Engl J Med, 2002. **347**(7): p. 488-96.
94. Bohl, D.L., et al., *Donor origin of BK virus in renal transplantation and role of HLA C7 in susceptibility to sustained BK viremia*. Am J Transplant, 2005. **5**(9): p. 2213-21.
95. Awadallah, Y., et al., *HLA susceptibility to BKV infection*. Am J Transplant, 2006. **6**(3): p. 640; author reply 641.
96. Ramaswami, B., et al., *HLA-A01-, -A03-, and -A024-binding nanomeric epitopes in polyomavirus BK large T antigen*. Human immunology, 2009. **70**(9): p. 722-728.
97. Li, J., et al., *T-cell responses to peptide fragments of the BK virus T antigen: implications for cross-reactivity of immune response to JC virus*. J Gen Virol, 2006. **87**(Pt 10): p. 2951-60.
98. Ramaswami, B., et al., *The polyomavirus BK large T-antigen-derived peptide elicits an HLA-DR promiscuous and polyfunctional CD4+ T-cell response*. Clin Vaccine Immunol, 2011. **18**(5): p. 815-24.
99. Dogan, S.E., et al., *Prevalence and Risk Factors of BK Viremia in Patients With Kidney Transplantation: A Single-Center Experience From Turkey*. Transplant Proc, 2017. **49**(3): p. 532-536.
100. Thomas, A., et al., *Ureteral stents: a novel risk factor for polyomavirus nephropathy*. Transplantation, 2007. **84**(3): p. 433-6.
101. Kayler, L., et al., *Ureteral stent placement and BK viremia in kidney transplant recipients*. Transpl Infect Dis, 2013. **15**(2): p. 202-7.
102. Hashim, F., et al., *Ureteral Stent Placement Increases the Risk for Developing BK Viremia after Kidney Transplantation*. J Transplant, 2014. **2014**: p. 459747.
103. Wingate, J.T., et al., *Ureteral stent duration and the risk of BK polyomavirus viremia or bacteriuria after kidney transplantation*. Transpl Infect Dis, 2017. **19**(1).
104. Cerqueira, C. and M. Schelhaas, *Principles of polyoma- and papillomavirus uncoating*. Med Microbiol Immunol, 2012. **201**(4): p. 427-36.
105. Liu, P., M. Rudick, and R.G. Anderson, *Multiple functions of caveolin-1*. J Biol Chem, 2002. **277**(44): p. 41295-8.
106. Parton, R.G. and K. Simons, *The multiple faces of caveolae*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007. **8**(3): p. 185-94.
107. Williams, T.M. and M.P. Lisanti, *Caveolin-1 in oncogenic transformation, cancer, and metastasis*. Am J Physiol Cell Physiol, 2005. **288**(3): p. C494-506.
108. Fridolfsson, H.N. and H.H. Patel, *Caveolin and caveolae in age associated cardiovascular disease*. J Geriatr Cardiol, 2013. **10**(1): p. 66-74.
109. Yin, H., et al., *Caveolin proteins: a molecular insight into disease*. Front Med, 2016. **10**(4): p. 397-404.
110. Diaz-Valdivia, N., et al., *Enhanced caveolin-1 expression increases migration, anchorage-independent growth and invasion of endometrial adenocarcinoma cells*. BMC Cancer, 2015. **15**: p. 463.
111. Erdemli, H.K., et al., *Is Serum Caveolin-1 a Useful Biomarker for Progression in Patients with Colorectal Cancer?* Clin Lab, 2016. **62**(3): p. 401-8.

112. Zhao, R., et al., *Genetic Variants in Caveolin-1 and RhoA/ROCK1 Are Associated with Clear Cell Renal Cell Carcinoma Risk in a Chinese Population*. PLoS One, 2015. **10**(6): p. e0128771.
113. Bohm, K., et al., *Caveolin-1 limits human influenza A virus (H1N1) propagation in mouse embryo-derived fibroblasts*. Virology, 2014. **462-463**: p. 241-53.
114. Wang, X.M., et al., *Caveolin 1 inhibits HIV replication by transcriptional repression mediated through NF-kappaB*. J Virol, 2011. **85**(11): p. 5483-93.
115. Lin, S., et al., *HIV infection upregulates caveolin 1 expression to restrict virus production*. J Virol, 2010. **84**(18): p. 9487-96.
116. Llano, M., et al., *Blockade of human immunodeficiency virus type 1 expression by caveolin-1*. J Virol, 2002. **76**(18): p. 9152-64.
117. Hsu, C.M., et al., *The contribution of caveolin-1 genotype and phenotype to hepatocellular carcinoma*. Anticancer Res, 2013. **33**(2): p. 671-7.
118. Ning, B., et al., *Identification of pathway-related modules in high-grade osteosarcoma based on topological centrality of network strategy*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016. **20**(11): p. 2209-20.
119. Zhang, K., et al., *Decreased Expression of Caveolin-1 and E-Cadherin Correlates with the Clinicopathologic Features of Gastric Cancer and the EMT Process*. Recent Pat Anticancer Drug Discov, 2016. **11**(2): p. 236-44.
120. Zhang, J., et al., *The influence of caveolin-1 gene polymorphisms on hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma susceptibility in Chinese Han population: A case-control study*. Medicine (Baltimore), 2017. **96**(42): p. e7359.
121. Fan, B., et al., *Mortalin restricts porcine epidemic diarrhea virus entry by downregulating clathrin-mediated endocytosis*. Vet Microbiol, 2019. **239**: p. 108455.
122. Gao, J., et al., *Entry of Challenge Virus Standard (CVS) -11 into N2a cells via a clathrin-mediated, cholesterol-, dynamin-, pH-dependent endocytic pathway*. Virol J, 2019. **16**(1): p. 80.

HAM VERİLER

Viremi, virüri ve HLA Allellerinin dağılımı

VIREMIA	VIRURIA	ALICI HLA-A ALEL I	ALICI HLA ALEL II	ALICI HLA-B ALEL I	ALICI HLA-B ALEL II	ALICI HLA- DRB1 ALEL I	ALICI HLA- DRB1 ALEL II	VERICI HLA-A ALEL I	VERICI HLA-A ALEL II	VERICI HLA-B ALEL I	VERICI HLA-B ALEL II	VERICI HLA- DRB1 ALEL I	VERICI HLA- DRB1 ALEL II
X	X	2	11	35	44	11	13	2	3	35	50	11	12
X	X	3	3	7	35	1	15	26	32	44	51	7	7
	X	33	2	27	57	4	4	3	11	27	50	1	4
X	X	24	24	35	58	11	11	2	30	35	53	11	11
X	X	24	25	51	62	4	11	2	31	51	51	11	12
X	X	11	26	35	55	7	8	2	2	35	51	7	13
X	X	1	2	37	51	4	14	1	2	40	51	1	4
	X	3	33	14	39	1	4	1	24	51	57	1	4
X	X	1	2	50	15	11	7	1	23	35	44	7	11
X	X	1	2	44	57	4	11	11	26	34	44	4	11
X	X	26	33	44	49	4	7	2	32	18	52	4	15
	X	24		18	35	13	11	23	30	7	35	11	13
X	X	33	68	44	65	1	4	33	68	14	56	1	16
X	X	1	32	35	35	12	16	11	11	8	52	3	15
X	X	2	2	40	15	13	13	2	29	40	44	7	13
X	X	2	24	51	62	11	8	23	23	13	41	8	8
X	X	2	32	49	15	11	3	24	26	8	35	3	14
X	X	3	11	35	51	11	3	2	11	35	35	11	3
X	X	2	30	13	52	15	14	11	24	27	52	1	15
	X	1	29	49	49	1	15	11	24	27	52	1	15
		24	32	35	49	16	11	2	69	37	55	11	16
		23	24	27	49	13	15	3	32	35	50	13	15
		2	24	35	60	4	13	2	2	44	58	4	13
		3	24	40	44	3	4	26	26	51	55	4	15
		32	24	35	15	11	4	24	66	38	40	4	4
		11	2	35	44	11	1	1	32	8	51	1	11
		24	2	18	51	11	11	3	24	40	44	11	11
		32	1	7	35	15	15	2	11	51	56	15	15
		1	32	35	37	14	16	3	33	14	35	15	16
		2	30	18	44	4	7	24	26	44	60	1	4
		29	2	35	51	15	3	2	26	35	44	3	16
		33	11	58	18	11	11	26	26	18	58	3	11
		3	24	18	35	11	11	26	26	18	58	3	11
		30	3	35	51	11	4	2	24	49	55	4	11
		1	1	15	15	13	13	26	36	38	44	13	14
		31	3	49	35	14	1	26	36	38	44	13	14
		2	32	51	62	13	1	3	26	14	51	1	4
		31	23	50	51	4	4	1	24	35	35	4	4

		68	68	35	35	11	14	11	24	7	49	11	15
		31	3	7	35	16	3	2	31	50	51	7	16
		1	32	41	52	15	14	1	3	51	51	15	14
		2	26	7	35	11	12	2	31	51	51	11	12
		3	24	7	35	11	13	1	1	35	37	11	11
		2	2	40	51	11	14	1	1	35	37	11	11
		24	3	40	51	4	4	2	31	44	40	4	4
		3	68	44	44	4	11	2	24	44	44	4	7
		2	30	49	51	13	11	11	24	35	38	11	11
		24	3	7	55	10	15	2	2	35	51	3	15
		24	2	44	40	11	4	2	2	51	51	4	13
		2	2	15	50	7	7	30	32	13	35	1	7
		3	1	8	44	11	3	1	2	8	27	3	11
		24	1	8	15	11	3	1	32	8	51	1	11
		2	2	35	39	11	13	2	2	15	51	11	13
		2	26	35	51	4	3	3	24	8	15	3	4
		26	2	58	8	4	3	32	68	35	51	YOK	YOK
		29	3	35	51	11	4	3	26	35	35	1	11
		11	3	7	35	8	4	24	24	35	51	4	15
		24	24	35	51	4	15	24	24	35	51	4	15
		1	2	44	51	3	11	2	24	35	35	4	4
		2	2	44	41	7	3	1	3	8	8	3	7
		2	32	18	57	11	13	2	26	15	51	11	13
		1	2	37	51	13	14	29	31	7	35	13	13
		32	68	35	35	12	4	2	3	35	38	4	12
		2	2	51	44	4	1	2	3	35	38	4	12
		31	33	7	35	11	11	2	23	7	49	10	11
		2	23	49	63	4	11	2	23	7	49	10	11
X	X	1	26	40	56	14	13	3	26	35	44	12	16
		11	30	35	50	7	4	2	23	50	51	3	4
X	X	23	24	35	49	4	11	24	24	35	51	15	11
		11	11	35	51	9	14	2	33	13	58	3	14
		2	29	45	51	15	3	1	2	51	52	8	15
		3	3	7	38	7	15	1	24	35	51	1	7
		2	32	15	18	11	4	26	26	38	55	4	13
	X	2	26	38	44	4	4	26	26	38	55	4	13
		2	24	35	39	16	16	2	2	13	51	9	16
		3	3	51	51	4	15	24	30	51	52	4	15
		1	2	39	13	7	16	1	2	13	39	7	16
		3	3	35	51	4	12	24	24	35	39	4	4
		2	2	27	62	15	13	3	23	15	44	13	15
		2	32	44	62	13	11	3	23	15	44	13	15
		3	26	7	44	16	13	1	24	7	18	15	13
		2	2	44	50	7	4	24	30	44	55	4	7
		2	11	35	35	14	4	3	24	35	51	14	4
		2	11	35	51	1	16	33	68	14	50	1	16

X	X	2	33	44	38	4	4	2	24	18	44	4	4
		24	30	27	35	12	12	24	26	35	35	12	13
		2	1	15	35	14	13	24	1	15	57	13	3
		3	26	18	38	11	11	3	3	18	38	11	13
		24	2	7	15	15	15	24	68	15	18	11	12
		1	24	8	15	3	13	1	26	15	49	13	16
		1	11	51	51	4	11	11	1	49	51	4	11
		24	26	35	35	11	13	24	26	35	35	11	13
		3	24	13	18	7	16	24	32	13	44	7	15
		24	26	8	27	3	14	2	24	52	55	14	15
X	X	11	68	18	50	3	4	68	68	13	50	3	7
		23	24	35	49	11	14	3	23	8	49	4	11
		30	68	13	51	7	13	32	68	44	51	11	13
X	X	1	3	35	57	1	14	1	3	35	41	4	4
		3	26	14	51	1	13	11	26	15	51	13	16
X	X	1	3	27	51	13	15	24	24	40	50	4	9
		32	33	15	52	3	15	2	33	15	51	3	4
		11	11	51	51	11	11	11	68	35	51	11	7
		2	3	15	44	4	7	3	32	15	27	4	7
		11	32	27	49	8	11	24	68	35	49	4	11
		24	33	35	44	4	11	2	26	39	51	3	16
		24	68	35	51	7	14	11	24	35	51	4	14
		1	32	8	52	3	3	26	32	52	55	3	11
		24	30	35	49	11	13	2	24	35	50	7	11
		1	68	35	46	8	14	1	1	38	41	11	13
		2	24	40	51	11	15	3	29	7	44	4	15
		24	68	51	56	4	13	3	24	35	51	4	11
		2	3	50	51	14	14	3	23	15	49	11	13
		3	26	38	44	4	4	3	23	44	44	1	4
		24	24	35	35	13	14	2	24	35	52	14	15
		11	24	15	35	1	9	3	30	13	44	4	4
		24	29	35	58	8	15	1	11	8	27	3	4
X	X	11	11	27	27	4	4	11	68	51	51	11	15
		1	2	27	51	4	13	2	2	27	51	4	16
		1	68	35	49	11	16	23	68	65	35	11	16
		2	32	40	55	11	11	24	32	18	55	11	11
		3	68	44	51	4	7	3	69	51	51	4	4
		2	3	35	51	3	7	2	3	34	51	3	7
		11	29	7	55	7	14	3	11	35	55	13	14
		24	68	18	51	11	11	3	24	7	18	11	15
		29	32	35	51	11	11	2	32	35	51	11	11
		2	68	35	50	4	7	1	2	18	52	11	15
		3	24	51	51	8	11	3	24	51	51	8	11
		24	24	35	51	4	13	24	29	50	51	7	13
		26	68	38	57	3	4	30	68	15	57	3	15
		1	2	35	39	10	11	2	2	13	39	7	11

	X	26	30	15	35	4	10	30	68	35	35	4	10
		2	2	35	39	3	4	2	2	35	41	4	13
		24	24	13	51	11	4	2	32	18	41	7	11
		2	2	50	55	8	3	2	3	52	55	15	8
		2	3	41	51	3	4	2	3	35	51	4	4
		66	29	18	27	11	16	29	68	27	44	15	11
		2	24	13	35	7	7	2	24	18	35	7	11
		2	66	41	52	11	13	24	66	41	51	13	14
		3	3	8	8	1	3	2	3	8	55	3	16
		32	2	35	35	4	3	32	2	35	35	4	3
		1	29	44	49	11	13	1	29	44	49	11	13
		2	23	44	51	4	7	23	24	15	44	16	7
	X	2	3	50	52	3	13	2	24	50	51	7	11
		2	3	44	44	4	11	2	3	18	44	1	11
		2	24	18	44	4	1	2	2	44	51	1	11
	X	1	3	35	47	15	13	1	2	37	52	11	14
		3	11	7	35	3	11	3	3	7	7	3	3
	X	2	69	35	35	4	13	2	24	35	35	11	13
		3	26	38	44	4	14	3	30	13	44	3	11
		2	24	35	54	1	4	2	26	38	65	1	14
	X	2	24	18	58	15	8	2	24	18	58	15	8
		2	26	35	51	4	4	2	2	51	51	4	13
	X	2	24	35	51	8	10	2	3	51	51	4	8
		2	23	51	49	16	11	3	23	49	49	4	11
	X	24	24	7	40	14	3	24	68	7	44	3	11
		2	24	35	51	4	14	2	2	51	51	4	4
		1	24	27	35	11	11	24	24	18	27	11	11
	X	3	3	44	44	11	11	2	3	35	44	11	14
		3	3	13	35	4	7	3	3	7	35	4	15
		2	2	7	13	15	7	2	23	7	49	15	15
		26	29	13	35	4	7	1	29	13	18	7	7
		11	2	27	51	3	5	32	11	27	38	13	10
		2	11	15	35	1	3	2	11	35	50	1	7
		11	33	14	55	1	8	11	11	55	55	3	8
		23	24	50	50	4	7	2	23	51	50	16	4
		3	68	52	51	15	16	1	3	8	52	4	15
		2	11	55	58	4	11	11	11	55	51	4	11
		3	26	51	35	11	13	11	24	49	51	15	11
		3	24	35	44	4	4	3	3	35	44	4	11
		3	3	55	55	13	13	26	26	38	38	13	13
		3	24	7	35	7	11	2	3	35	35	11	12
		2	2	52	52	15	15	2	11	35	52	15	13
	X	1	24	51	57	11	13	1	2	35	57	1	13
		24	1	38	35	11	4	1	3	35	38	4	11
		2	68	50	52	15	7	2	24	50	52	15	7
		1	23	18	50	3	4	1	23	18	50	3	4

X	X	2	24	35	38	1	4	2	24	35	38	1	4
		3	11	35	57	16	13	2	24	35	41	1	14
		3	23	7	49	4	7	3	3	7	7	7	7
		3	24	18	50	11	13	1	26	41	51	16	13
		3	24	35	51	4	11	3	3	44	51	4	4
		3	24	18	51	15	11	2	24	18	51	16	11
		2	30	14	57	1	4	2	3	18	35	1	3
		2	3	18	51	1	11	3	24	18	51	1	4
		2	69	8	51	7	8	11	69	7	8	2	3
		2	32	51	51	8	14	2	32	52	51	8	10
		2	2	35	39	16	12	3	32	18	50	11	3
		11	11	35	55	15	16	1	24	35	37	11	14
	X	3	11	35	35	4	14	3	3	35	44	4	4
		2	31	35	51	1	11	1	2	40	51	1	11
		2	11	27	44	4	11	2	2	44	51	4	11
		2	2	39	39	5	5	2	33	14	39	1	16
		68	68	35	35	14	14	2	68	35	51	11	14
		1	3	13	51	7	11	2	3	51	51	7	11
		3	24	7	39	8	14	2	24	39	38	8	13
		2	2	13	39	16	7	2	2	50	39	3	16
		3	3	7	7	11	11	3	24	7	44	1	11
		2	26	55	57	16	7	1	24	35	52	11	11
		3	66	35	41	13	14	2	3	35	50	7	14
		3	24	44	51	4	8	3	3	44	51	4	11
	X	2	3	35	35	4	13	24	24	35	35	1	7
		2	2	35	38	3	12	2	2	15	35	3	13
		31	24	18	51	11	1	31	24	18	51	11	1
		2	24	40	57	8	13	24	24	40	40	8	9
		11	33	14	52	1	15	33	33	14	14	1	11
		11	74	37	51	4	11	26	31	35	38	1	11
		3	33	55	51	12	13	1	3	27	51	11	12
		2	2	51	48	4	9	2	33	14	51	1	4
		3	11	8	50	3	10	1	26	8	57	4	13
		11	32	52	51	16	14	11	24	27	52	11	14
		3	66	38	51	11	14	3	66	18	38	1	14
		11	24	35	52	11	15	24	24	35	35	11	11
	X	3	11	35	55	8	14	11	32	35	58	11	8
		2	11	18	50	7	12	2	24	50	51	7	8
		3	30	35	44	11	16	2	26	39	51	13	14
		1	3	35	35	5	5	11	32	13	44	15	11
24		26	51	54	13	14	3	26	44	51	11	13	
2		68	44	51	11	13	1	24	7	52	1	10	
3		68	7	57	4	15	2	32	40	40	13	16	
24		31	18	35	11	13	2	11	51	52	11	15	
2		32	35	44	3	11	2	24	35	44	4	1	
26		32	35	38	13	13	2	3	51	56	1	11	

X	X	2	24	44	51	4	10	3	24	35	51	4	11
		3	11	35	51	8	11	32	33	14	35	1	11
		24	23	18	44	15	7	24	32	18	44	15	11
		2	24	7	51	11	15	2	24	15	51	8	11
		1	2	15	41	4	13	2	68	15	50	7	13
		2	24	7	35	15	15	24	24	7	51	11	15
X	X	24	26	35	38	4	14	2	2	18	35	11	14
		1	1	49	51	4	4	2	23	18	57	3	11
		2	24	18	35	10	11	24	29	14	18	1	11
		2	23	51	49	7	11	3	23	13	49	7	11
		1	2	37	51	3	16	2	3	35	51	13	16
		1	2	8	27	13	3	31	2	15	40	9	8
	X	23	29	35	50	1	3	2	29	35	35	1	15
		2	30	8	56	8	11	32	68	51	51	4	13
		2	31	44	44	16	16	3	31	7	44	11	16
		2	24	8	35	3	13	1	24	35	49	13	15
		1	2	35	57	1	13	2	3	35	44	4	13
		11	24	35	55	7	13	11	29	13	35	7	7
		2	68	39	52	4	15	24	68	39	44	4	7
		1	31	35	51	4	4	1	30	49	51	4	13
	X	2	2	38	38	13	13	2	2	7	38	10	13
		11	11	35	35	7	7	25	68	18	35	11	15
X	X	2	68	35	51	1	13	33	68	14	35	1	13
	X	2	3	35	46	4	9	2	24	35	46	4	9
		2	24	35	50	7	16	2	24	35	35	4	16
		11	24	35	61	4	4	11	11	35	35	4	15
		2	3	44	62	11	13	3	23	15	44	13	15
		11	30	13	35	1	7	3	31	13	35	13	7
	X	3	68	38	60	11	4	3	30	13	38	4	7

Kaveolin-1 ve SV-40'nin immünohistokimyasal analizine göre örneklerin grupları

Örnek No	SV-40	Cav-1 (-)	Cav-1 (+)	Cav-1 (++)	Cav-1 (+++)
1	+	+	YOK	YOK	YOK
2	+	+	YOK	YOK	YOK
3	+	+	YOK	YOK	YOK
4	+	+	YOK	YOK	YOK
5	+	+	YOK	YOK	YOK
6	+	+	YOK	YOK	YOK
7	+	+	YOK	YOK	YOK
8	+	+	YOK	YOK	YOK
9	+	+	YOK	YOK	YOK
10	+	+	YOK	YOK	YOK
11	+	YOK	+	YOK	YOK
12	+	YOK	YOK	YOK	+
13	-	YOK	+	YOK	YOK
14	-	YOK	+	YOK	YOK
15	-	YOK	+	YOK	YOK
16	-	YOK	+	YOK	YOK
17	-	YOK	+	YOK	YOK
18	-	YOK	+	YOK	YOK
19	-	YOK	+	YOK	YOK
20	-	YOK	+	YOK	YOK
21	-	YOK	+	YOK	YOK
22	-	YOK	YOK	+	YOK
23	-	YOK	YOK	+	YOK
24	-	YOK	YOK	YOK	+
25	-	YOK	YOK	YOK	+
26	-	YOK	YOK	YOK	+
27	-	YOK	YOK	YOK	+
28	-	+	YOK	YOK	YOK
29	-	+	YOK	YOK	YOK
30	-	+	YOK	YOK	YOK
31	-	+	YOK	YOK	YOK

Klatrinin yüzey ekspresyonu ve SV-40'ın immünohistokimyasal analize göre örneklerin listelenmesi

Örnek No	SV-40	Anti-Klatrin (+)	Anti-Klatrin (-)
1	+	+	
2	+	+	
3	+	+	
4	+	+	
5	+	+	
6	+		+
7	+		+
8	+		+
9	-	+	
10	-	+	
11	-	+	
12	-	+	
13	-	+	
14	-	+	
15	-	+	
16	-	+	
17	-	+	
18	-	+	
19	-		+
20	-		+



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**



Sayı : 10

Tarih : 10.01.2018

Konu: Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ hk.

Sayın Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

İlgi : Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalının 14/11/2017 gün ve 428221 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Dr. Emre ARPALI' nın yürüteceği 2017/1485 dosya numaralı "Böbrek Nakli Sonrası Gelişen BK Virus Enfeksiyonu ile Kaveolin ve Klatrin Moleküllerinin Arasındaki İlişkinin İncelenmesi ve HLA Doku Tipi Dağılımı" başlıklı çalışma kurulumuzun 22/12/2017 tarih ve 21 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar

Etik Kurul Başkanı

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Böbrek Nakli Sonrası Gelişen BK Virus Enfeksiyonu ile Kaveolin ve Klatrin Moleküllerinin Arasındaki İlişkinin İncelenmesi ve HLA Doku Tipi Dağılımı"
-----------------------	---

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	☒	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☒		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	☐	Açıklama	
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
KARAR BELGELERİ	DİĞER:	☒	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgular Raporu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD	
	Karar No:21	Tarih: 22/12/2017		
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında görevli Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ' un sorumluluğunda Dr. Emre ARPALI' nın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU									
ÇALIŞMA ESASI			19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik						
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:			Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza	
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	İZİMLİ	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	İZİMLİ	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	İmza	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	İmza	
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyostatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyostatistik	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☒	İmza	

* :Araştırma ile ilişki

** :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığından izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.

BÖBREK NAKLİ SONRASI GELİŞEN BK VİRUS ENFEKSİYONU İLE KAVEOLİN VE KLATRİN MOLEKÜLLERİNİN ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ VE HLA DOKU TİPİ DAĞILIMI

ORJİNALLIK RAPORU

%5	%2	%1	%3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
2	Submitted to Trakya University Öğrenci Ödevi	%1
3	J. Grunewald. "Human Leukocyte Antigen Class I Alleles and the Disease Course in Sarcoidosis Patients", American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 03/15/2004 Yayın	<%1
4	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	www.nature.com İnternet Kaynağı	<%1
6	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1

