

NURAY ÖZTÜRK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2019

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**BÖBREK TRANSPLANTASYONU YAPILAN
HASTALARDA BKV DNA' NIN ARAŞTIRILMASI VE
SONUÇLARIN RETROSPEKTİF OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

NURAY ÖZTÜRK

**DANIŞMAN
PROF. DR. ALİ AĞAÇFIDAN**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI**16.10.2019****YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Mikrobiyoloji Programında Yüksek Lisans öğrencisi Nuray Öztürk tarafından Prof. Dr. Ali Ağaçfıdan'ın danışmanlığında hazırlanan "*Böbrek Transplantasyonu Yapılan Hastalarda BKV DNA'nın Araştırılması ve Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi*" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 16 /10 /2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

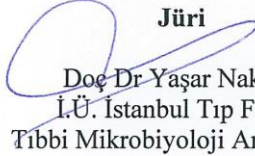
Prof. Dr. Emel Bozkaya
Haliç Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi
Moleküler Biyoloji ve Gen. Bölümü

**Jüri (Danışman)**

Prof Dr Ali Ağaçfıdan
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri**

Doç Dr Yaşar Nakipoğlu
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



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 çalışmasıyla 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.


Nuray ÖZTÜRK

İTHAF



Aileme...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve desteklerini esirgemeyen İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve danışmanım Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN başta olmak üzere, yüksek lisans eğitimim süresince yetişmemde emek harcayan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri, Prof. Dr. Betigül ÖNGEN, Prof. Dr. Meltem UZUN, Prof. Dr. Zayre ERTURAN, Prof. Dr. Özden BÜYÜKBABA BORAL, Prof. Dr. Zerrin AKTAŞ, Prof. Dr. Dilek ŞATANA, Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU, Doç. Dr. Gülseren AKTAŞ, Doç. Dr. Lütfiye ÖKSÜZ, Doç. Dr. Hayriye KIRKOYUN UYSAL, Doç. Dr. Sevim MEŞE'ye, benden desteklerini esirgemeyen tüm laboratuvar çalışanlarına, Dr. Mustafa ÖNEL ve Bilim uzmanı Derya ÖNEL'e, tez çalışmam boyunca her zaman yanımda olan Bilim uzmanı Cansu Nur DEMİRCİ'ye, istatistik kısmında yardımcı olan Emre YÜREKLİ'ye ve beni her daim destekleyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Viroloji.....	4
2.2.1. Sınıflandırma.....	4
2.2.3. Genom Yapısı	5
2.2.4. Yaşam Siklusu.....	7
2.3. Patogenez	8
2.4. İmmün Yanıt	9
2.5. Epidemiyoloji.....	10
2.6. Klinik	10
2.6.1. BKVN	10
2.6.2. Hemorajik Sistit	11
2.6.3. Kanser	12
2.7. Tanı	12
2.7.1. Serolojik Tanı.....	12
2.7.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	13
2.7.3. Sitolojik Tanı.....	13
2.7.4. Biyopsi	14
2.8. Tedavi ve Korunma.....	14

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
3.1. BKV DNA Viral Yük Belirlenmesi.....	15
3.1.1. Kullanılan Malzemeler.....	15
3.1.4. Değerlendirme.....	17
4. BULGULAR.....	19
5. TARTIŞMA	22
KAYNAKLAR	25
ETİK KURUL KARARI	30
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	31
ÖZGEÇMİŞ	32



TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: BKV DNA izolasyon mix miktar tablosu.....	16
Tablo 2: BKV DNA viral yük karışım miktarları.....	16
Tablo 3: Rotor Gene cihazında denatürasyon ve amplifikasyon döngü ve ısı tablosu..	17
Tablo 4: BKV DNA idrar sonuçları ve cinsiyet karşılaştırması.....	19
Tablo 5: BKV DNA idrar sonuçları ve yaş karşılaştırması.....	19
Tablo 6: BKV DNA kan sonuçları ve cinsiyet karşılaştırması.....	20
Tablo 7: BKV DNA kan sonuçları ve yaş karşılaştırması.....	20
Tablo 8: BKV DNA (+) idrar ve kan sonuçlarının karşılaştırması.....	20

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 : ICVT tarafından oluşturulan Polyomaviridae ailesi filogenetik ağacı.....	4
Şekil 2 : Polyomavirus virion yapısı.....	5
Şekil 3 : BKV genomunun şematik yapısı.....	6
Şekil 4 : BKV'nun hücre yüzeyine tutunması.....	7
Şekil 5 : Polyomavirus ilişkili nefropati. Böbrek transplantasyonu sonrası viral inklüzyonlar.....	11
Şekil 6 : Decoy hücreleri.....	14
Şekil 7 : BKV DNA viral yük sonuçlarının değerlendirilmesi.....	17
Şekil 8 : Nefropati gelişen hasta oranları.....	21

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

BKV: BK Polyomavirusu

BKVN: BKV nefropatisi

RT-PZR: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

MPyV: Murine polyomavirus

SV40: Simian virus 40

JCPyV: JC virus

PML: Progresif multifokal lökoensefalopati

WUPyV: Washington Üniversitesi polyomavirusu

KIPyV: Karolinska Enstitüsü Polyomavirusu

MCPyV: Merkel hücreli polyomavirusu

dsDNA: Çift sarmallı DNA

MWPyV: Malawi polyomavirusu

MXPyV: Mexico polyomavirusları

WHIM: Warts, Hypogammaglobulinemia, Infections and Myelokathexis

HPyV10: İnsan polyomavirusu 10

STLPyV: Saint Louis polyomavirusu

HPyV12: İnsan polyomavirusu 12

DNA: Deoksiribonükleik asit

ICTV: International Committee on Taxonomy of Viruses

NCCR: Kodlama yapmayan kontrol bölgesi

HVRR: Aşırı değişken düzenleyici bölge

LTA: Büyük T antijeni

STA: Küçük T antijeni

ER: Endoplazmik retikulum

RPA: Replikasyon proteini A

DH: Decoy hücreleri

AITEVECFL: 44–52 peptidi

LLMWEAVTV: 108-116 peptidi

AIDS: Acquired Immune Deficiency Syndrome

KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes

ATD: Amerikan Transplantasyon Derneği

HLA: İnsan lökosit antijeni

MAP: Mitojenle aktive olan protein

ELISA: Enzyme linked immunosorbent assay

IgG: İmmunoglobulin G

IgM: İmmunoglobulin M

HIV: İnsan İmmün Yetmezlik Virusu

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

CNI: Kalsinörin inhibitörü

EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit

ATL çözeltisi: Doku liziz çözeltisi

Mg: Magnezyum

QS: Kantitatif standart

ÖZET

Öztürk N. Böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda BKV DNA' nın araştırılması ve sonuçların retrospektif olarak değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2019.

BK polyomavirusu (BKV) toplumlarda yaygın olarak bulunan ve latent enfeksiyon oluşturan DNA viruslarıdır. Dünyadaki erişkin popülasyonunda BKV seroprevalansının %90'a kadar ulaşabildiği görülmektedir. Primer enfeksiyondan sonra virus ürogenital sistemde latent olarak kalabilmektedir. Böbrek transplantasyonu olmuş hastalarda, BKV'nun neden olduğu primer enfeksiyonlar ve reaktivasyonlar, hastaların yaklaşık %10'unu etkilemekte ve önlem alınmadığı takdirde bu hastaların yarısından fazlası BKV nefropatisi (BKVN) nedeniyle böbreklerini kaybetmektedir. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Transplantasyon Polikliniğinde böbrek transplantasyonu yapılmış 61 hastadan alınan kan ve idrar örneklerinde Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) yöntemi ile BKV-DNA viral yükü kantitatif olarak incelenmiştir. BKV DNA viral yükü belirlenirken BKV DNA izolasyonu için QIAGEN EZ1 VİRUS MİNİ KİT V2 (Almanya) kiti, RT-PZR çalışması için Artus BK Virus QS-RGQ kit 24, V1 (Almanya) kiti kullanılmıştır. Araştırmaya katılan toplam 61 hastanın % 54,1'i (33 kişi) erkek; % 45,9' u (28 kişi) kadındır. BKV DNA pozitif idrar ve kan örnekleri incelendiğinde cinsiyet ile bağlantılı anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ancak BKV DNA idrar örnekleri sonuçları ile yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. BKV DNA pozitif kan ve idrar örneklerine ait ortalama kantitatif değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. 61 hastanın 1 tanesinde BK'ya bağlı nefropati görülürken 1 hastada ise BK'ya bağlı olmayan nefropati görülmüştür. Böbrek transplantasyonu sonrası immünsüpresif tedavinin uzun süreler uygulanması ve BKV DNA pozitifliğinin saptanması BKVN açısından risk taşımaktadır. Bu nedenle transplantasyon sonrası idrar ve kan örneklerinde BKV DNA kantitatif viral yük takibinin rutin olarak yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler : BKV, Nefropati, Böbrek transplantasyonu, BKV DNA, RT-PZR

ABSTRACT

Ozturk, N. Investigation of BKV DNA in renal transplant patients and to retrospective evaluation of results. Istanbul University, Institute of Health Science, Microbiology Department Master's Thesis. Istanbul. 2019.

BK polyomavirusu (BKV) are DNA viruses that are commonly found in societies and cause latent infection. In adult populations around the world, it is seen that BKV seroprevalence can reach up to 90%. After primary infection, the virus can remain latent in the urogenital system. In patients with renal transplantation, primary infections and reactivations caused by BKV affect about 10% of patients, and if no precautions are taken, more than half of these patients lose their kidneys due to BKV nephropathy (BKVN). BKV-DNA viral load was quantitatively examined by RT-PCR method in blood and urine samples taken from 61 patients who underwent kidney transplantation at Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine transplantation clinic. BKV DNA viral load was determined and Qiagen EZ1 VIRUS Mini KIT V2 (Germany) kit was used for BKV DNA isolation, Artus BK Virus QS-RGQ kit 24, V1 (Germany) kit was used for RT-PCR. Of a total of 61 patients surveyed, 54.1% (33 people) were male and 45.9% (28 people) were female. When BKV DNA positive urine and blood samples were examined, there was no significant relationship associated with gender. However, a significant relationship was observed between BKV DNA urine samples results and age. No significant correlation was found between the mean quantitative values of BKV DNA positive blood and urine samples. 1 out of 61 patients showed BK-related nephropathy, while 1 patient had non-BK-related nephropathy. Long-term administration of immunosuppressive therapy after kidney transplantation and detection of BKV DNA positivity is at risk for BKVN. Therefore, we think that after transplantation, BKV DNA quantitative viral load follow-up should be performed routinely in urine and blood samples.

Key Words: BKV, Nephropathy, Renal transplantation, BKV DNA, RT-PCR

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Polyomavirusa bağılı gelişebilen nefropatinin en önemli nedeni insan BK polyomavirusu (BKV)'dur. Virus, üriner sistemde latent olarak uzun yıllar kalabilme özelliğı gösterir. BKV toplumlarda yaygın olarak bulunan ve latent enfeksiyon oluşturan küçük DNA viruslarıdır. Hayatın erken dönemlerinde kazanılmış olan primer BKV enfeksiyonları genellikle asemptomatik özellik göstermektedir. Ancak kemik iliğı ve solid organ transplantasyonu yapılan ya da kanserli hastalar gibi immünsüpresif hastalarda bu virusların reaktivasyonu ciddi klinik tablolara yol açabilmektedir (1).

Primer BKV enfeksiyonları genellikle erken çocukluk döneminde kazanılmakta ve asemptomatik olarak geçirilmektedir. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde dünyadaki erişkin popülasyonda BKV seroprevalansının % 90'a kadar ulaşabildiğı görülmektedir. Primer enfeksiyondan sonra virus ürogenital sistemde latent olarak kalabilmektedir. Böbrek transplantasyonu olmuş hastalarda, BKV'nin neden olduğı primer enfeksiyonlar ve reaktivasyonlar, hastaların yaklaşık % 10'unu etkilemekte ve önlem alınmadığı takdirde bu hastaların yarısından fazlası BKV nefropatisi (BKVN) nedeniyle böbreklerini kaybetmektedir. BKVN'ye bağılı greft kaybını engellemenin tek yolu, transplantasyon sonrasında BKV enfeksiyonlarının takibi ve BKVN tablosu gelişen hastaların erken dönemde tanınıp etkin bir biçimde tedavi edilmeleridir (2).

BKV, özellikle solid organ nakli sonrası ve immünsüpresif hastalarda aktive olmaktadır. BKVN böbrek transplantasyonu sonrası % 1-10 oranında bir sıklıkta görülmekte ve % 30-80 greft kaybına neden olabilmektedir. BKVN'nin patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte; viral replikasyon ve immünsüpresyonun çoğunlukla bu duruma neden olduğı üzerinde ortak bir görüş vardır. İmmünsüpresif protokollere ait olan farklılıkların da BKVN gelişimi üzerinde etkili olduğı düşünülmektedir. Hastalık, böbrek transplantasyonu sonrası erken dönemde greft kaybına yol açabilmektedir. Bu nedenle, nakil sonrası ilk bir yıl içinde BKV'nun idrar ve kan örneklerinde replikasyonunun kantitatif olarak izlenmesi hastalığın seyrinin takibi açısından önemlidir. Erken tanı; geriye dönüşümsüz hasarların, greft kaybının ve tedavi direncinin oluşmasının engellemesinde önemli rol oynar. Bunun yanında immünsüpresif tedavinin

değiştirilmesi ve antiviral tedaviler de, hastalarda virusa karşı oluşan hücresel yanıtı arttırmakta ve virusun çoğalmasını azaltıcı etki göstermektedir (3).

Böbrek transplantasyonu olmuş hastalarda BKV enfeksiyonlarının erken dönemde tanınmasının BKVN'ye ilerleyişin engellenebilmesi, transplantasyon sonrasında enfeksiyonların saptanmasına yönelik rutin takip ve tarama programlarının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Transplantasyon Polikliniğinde böbrek transplantasyonu yapılmış hastalarda BKV DNA varlığının RT-PZR yöntemi ile araştırılması, klinik ve viral yük ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

İlk kez Stewart ve arkadaşları tarafından fare embriyonu hücrelerinde üretilen virus, araştırmacılar tarafından, tümör oluşumu ile olan ilişkisi nedeniyle “polyomavirus” (Yunanca kaynaklı poly-, çoklu; -oma, tümörler anlamındadır) olarak adlandırılmıştır. Polyomavirus ile ilgili araştırmaların başlangıcı, 1950'lerde Ludwig Gross'un farelere bir fare lösemi virusu verdiğinde, alıcıların zaman zaman lösemiden ziyade tükürük ve parotis bezi tümörleri geliştirdiğini belirlemesi ile başlamıştır. Bu çalışma ile birlikte ilk polyomavirusu olan Murine polyomavirus (MPyV) tanımlanmıştır. Polyomavirus ailesinin ikinci üyesi Simian virus 40 (SV40), Sweet ve Hilleman tarafından kontamine edici virusların varlığı için rhesus maymun böbrek hücrelerinde üretilen poliovirus aşı lotlarından tarama örneklerinin çalışılması sırasında bulunmuştur (4).

İlk iki insan polyomavirusu, JC (JCPyV) ve BKV, 1971 yılında immünsüpresif hastalardan izole edilmiştir ve hastaların ad ve soyadlarının baş harfleri ile adlandırılmışlardır. Padgett ve arkadaşları tarafından, progresif multifokal lökoensefalopati (PML) bir Hodgkin lenfoma hastasının beyin dokusu örneğinden insan fetusu beyin hücreleri ile hazırlanan kültürden JC izole edilmiştir (4,5). BKV tarafından böbrek transplantasyonu olan bir hastadan alınan idrar örneğinin Afrika yeşil maymun böbrek hücrelerine inoküle edilmesi ile izole edilmiştir (4).

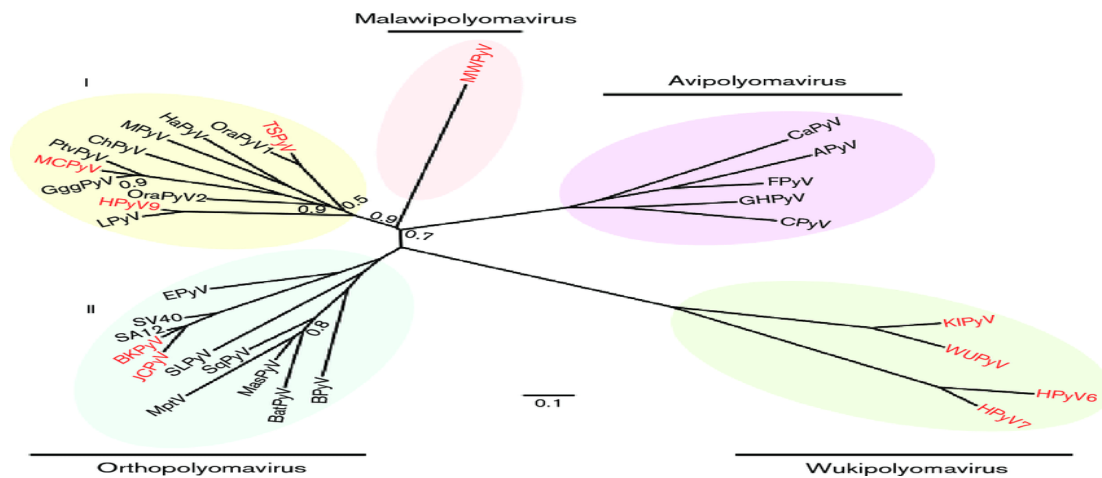
Washington Üniversitesi polyomavirusu (WUPyV) ve Karolinska Enstitüsü Polyomavirusu (KIPyV), sırasıyla Washington Üniversitesi ve Karolinska Enstitüsü'ndeki araştırmacılar tarafından küçük çocuklardan alınan solunum sekresyonları örneklerinden klonlanmıştır. Merkel hücreli polyomavirusun (MCPyV) ilk olarak saptanması, nadir görülen bir cilt kanseri tablosu olan Merkel hücreli karsinomun görülme sıklığının, bulaşıcı bir etkene işaret eden, ciddi derecede immünsüpresyonu olan hastalarda daha sık görülmesi ile olmuştur. Buna ilave olarak iki ek polyomavirus, HPyV6 ve HPyV7, sağlıklı yetişkinlerin cilt veya saç foliküllerinden, polyomavirus dsDNA genomunun klonlanması ile bulunmuştur (4). Polyomavirus ailesinin bir başka üyesi olan trikodisplaziye ilişkili polyomavirus (TSPyV) ise kalp transplantasyonu yapılmış olan bir trikodisplazi spinulosa hastasının yüzündeki

lezyonlardan alınan örneklerde saptanmıştır (6). HPyV9, böbrek transplantasyonu olmuş bir hastanın serumunda ve diğer bir Merkel hücreli karsinomalı hastanın cildinde tanımlanmıştır (4). Malawi polyomavirusu (MWPYV) ve Mexico polyomavirusları (MXPYV) dışkı örneklerinden izole edilmiştir. (7, 8). Warts, Hypogammaglobulinemia, Infections and Myelokathexis (WHIM) sendromlu hastanın siğil örneğinden insan polyomavirusu 10 (HPyV10) izole edilmiştir. Bu virusların genom dizileri incelenmiş ve birbirlerinin varyantı oldukları bildirilerek MWPYV adı altında toplanmışlardır (5). İnsan bağırsak viromu çalışmaları sırasında dışkı örneklerinden izole edilen bir diğer polyomavirus ise Saint Louis polyomavirusu (STLPyV) olarak adlandırılmıştır (9). Son olarak, insan polyomavirusu 12 (HPyV12) verici karaciğer örneğinden izole edilerek saptanmıştır (5).

2.2. Viroloji

2.2.1. Sınıflandırma

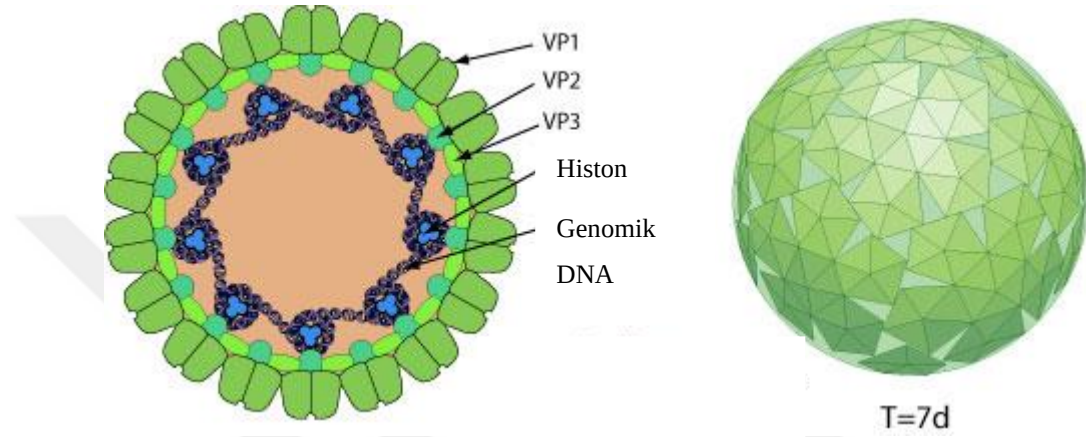
Polyomaviridae familyası, çift sarmallı DNA genomları içerdikleri için Baltimore sınıflandırma şemasında Grup 1 virusları olarak sınıflandırılmaktadır (10). Daha önceden Papovaviridae ailesi içinde sınıflandırılan BKV, 2000 yılından itibaren Polyomaviridae ailesi içinde yer alan Polyomavirus cinsi içinde sınıflandırılmıştır. 2010 yılında International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) tarafından Polyomaviridae ailesi; Orthopolyomavirus, Wukipolyomavirus ve Avipolyomavirus olarak üç cinse ayrılmıştır. Buna göre BKV, JC ile birlikte insan, primat, kemirici ve diğer memelileri enfekte eden Orthopolyomavirus cinsi içinde yer almaktadır (11).



Şekil 1 : ICVT tarafından oluşturulan Polyomaviridae ailesi filogenetik ağacı (11)

2.2.2. Fiziksel Özellikleri

BKV, virus kapsid proteinleri VP1, VP2 ve VP3'ten oluşan, 40 ila 44 nm çaplı küçük, zarfsız, ikosahedral kapsit simetrisine sahip bir virustur. Kapsid proteinleri, kromatin zincirleri formunda histon proteinleri ile kompleks oluşturmuş çift iplikli DNA molekülünü çevrelemektedir. Kapsid proteinleri, 72 pentamer halinde düzenlenmiş 360 VP1 molekülü içeren bir T=7 ikosahedral yapıda düzenlenmiştir (12).

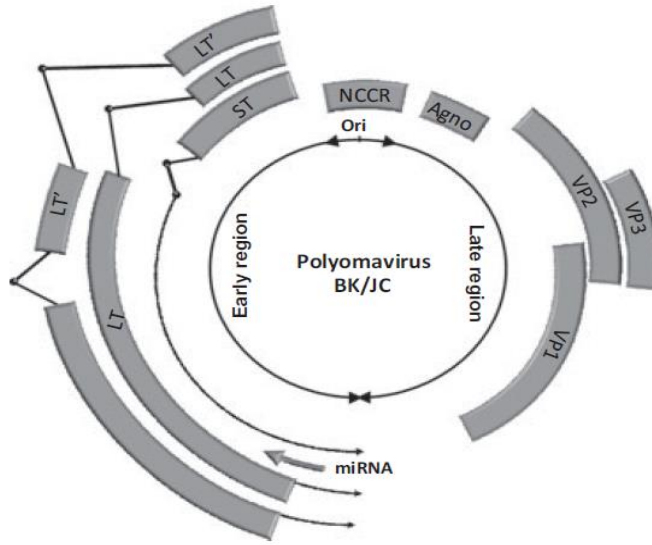


Şekil 2 : Polyomavirus virion yapısı (13)

Polyomaviruslar ısıya ve formalin inaktivasyonuna karşı dirençlidir. Polyomaviruslar zarfsız olduğundan, lipid çözücülere karşı dirençlidirler. Polyomavirus kapsidi, her biri 5 molekül VP1 ve 1 molekül VP2 veya VP3 içeren 72 pentamer veya kapsomer içerisinde düzenlenmiş 360 molekül VP1 içerir (4).

2.2.3. Genom Yapısı

BKV ve JC, Polyomaviridae ailesinde yer alır ve zarfsız küçük dairesel çift sarmallı DNA viruslarıdır. Viral genom, kodlama yapmayan kontrol bölgesi (NCCR), erken kodlama bölgesi ve geç kodlama bölgesi olmak üzere üç bölgeye bölünmüş olarak yaklaşık 5000 baz çiftinden oluşmaktadır (14).



Şekil 3 : BKV genomunun şematik yapısı (14)

NCCR, konak hücresel düzenleyici faktörler için çeşitli bağlanma bölgeleri içeren aşırı değişken özelliği olan bir bölgedir ve bu nedenle ayrıca aşırı değişken düzenleyici bölge (HVRR) olarak da adlandırılmaktadır. Açık okuma çerçevesi, genomun ortasında yer almaktadır ve böylece çoğaltma iki yönlü olarak ilerleyebilme özelliği göstermektedir. Erken kodlama bölgeleri, büyük T antijeni (LTA) ve küçük T antijeninin (STA) ekspresyonunu uyararak replikasyon başlamadan önce kopyalanır (12). LTA, kendi transkripsiyonunu kontrol edebilme yeteğine sahip 695 aminoasit içeren bir fosfoproteindir (15). Sistein bakımından zengindir ve enfekte hücrede hem nükleusta hem de sitoplazmada yer almaktadır. STA yaklaşık 17 kDa'dır ve 172 aminoasit içermektedir. LTA ve STA farklı karboksi terminal bölümlere sahip olmasına rağmen, amino terminal kısımlarında 82 ortak aminoasit taşır (16). Bu antijenler çekirdekte toplanarak viral DNA'nın replikasyonuna yardımcı olur. LTA, viral DNA'nın replikasyonu sırasında LTA, replikasyonun başlangıç bölgesine bağlanan ve geç kodlama bölgelerinin transkripsiyonunu kolaylaştırmak için bir helikaz gibi davranan multimerik bir yapı oluşturur. Ayrıca LTA, tümör baskılayıcı proteinlere (Rb, p107, p130 ve p53) bağlanarak konak hücreyi hücre döngüsünün S fazına yönlendiren önemli bir düzenleyici moleküldür. Geç kodlama bölgeleri, yalnızca viral DNA replikasyonunun başlamasından sonra eksprese edilmekte ve bunlar viral paketlemede yer alan yapısal proteinleri ve agnoproteinleri kodlamaktadır. Viral kapsid proteinleri, VP1, VP2 ve VP3, sitoplazmada sentez edilir ve proteinlere bağlı nükleer lokalizasyon

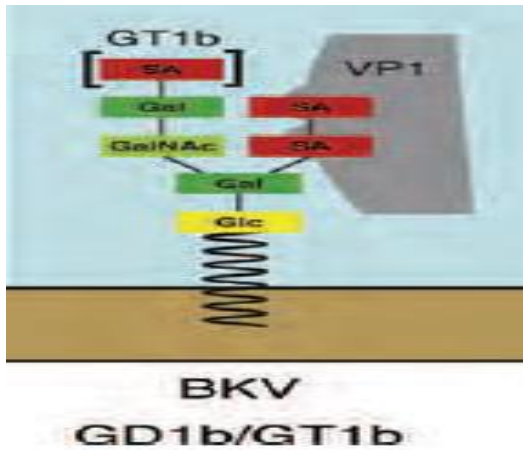
sinyalleri kullanılarak çekirdeğe alınır. Kapsid proteinleri çekirdeğe girdikten sonra, viral birleşme oluşur ve viral progeniler çekirdekte birikir (12).

BKV, VP1'in genomik bölgesindeki dizi varyasyonlarına bağlı olarak dört genotip şeklinde sınıflandırılır. Serolojik çalışmalar, insan popülasyonunda en yüksek prevalansa BKV genotip I'in ardından genotip IV'ün sahip olduğunu göstermektedir. Genotip II ve III'ün sadece yetişkinlerin çok az bir kısmında enfeksiyona neden olduğu saptanmıştır. BKV genotip 1 ayrıca dört alt gruba ayrılır: Ia, Ib1, Ib2 ve Ic. BKV genotip IV ayrıca IVa1, IVa2, IVb1, IVb2, IVc1 ve IVc2 alt gruplarına ayrılmaktadır (12).

2.2.4. Yaşam Siklusu

BKV latent veya litik enfeksiyon oluşturabilmek ve çoğalabilmek için uygun bir konak hücrelerine bağlanmalıdır. BKV vücutta farklı doku veya organlarda bulunan çeşitli hücrelere girebilir, ancak virusun replikasyonu ve reaktivasyonu böbrek ve üriner sistemde gerçekleşmektedir (6).

BKV, hücreye girmek için gangliositleri kullanır. Bu dallanmış gangliositler, BKV'nun normal olarak enfekte ettiği renal tübüler epitel hücrelerinde bulunur. Başka bir çalışmada ise, sialile oligosakaritler içeren bir N-bağlı glikoprotein de BKV bağlanmasına aracılık edebileceğini göstermiştir. Hem glikolipid hem de glikoprotein, sialik asit içerir, BKV'nun insan kırmızı kan hücrelerini hemaglutine edebilir ve bu aktivite nörominidaza duyarlıdır (4).



Şekil 4 : BKV'nun hücre yüzeyine tutunması (4)

BKV hücre yüzeyindeki gangliositlere bağlandıktan sonra, kaveolin içeren bir yol kullanarak hücreye girer. Hücre içine alınan BKV endoplazmik retikulumu (ER) taşınır. Viral kapsid ER’de soyulmaya başlar (4). ER yoluyla taşınma kapsidin soyulmasını kolaylaştıran şaperonları, disülfid izomerazları ve redüktazları içermektedir. Ayrıca virionun nükleusa yolculuğuna devamı için gerekli olan etkileşimler ve konformasyonel değişiklikler de ER’de gerçekleşmektedir (17). Dış kapsidin soyulması ile VP2 ve VP3 açığa çıkar ve importinler aracılığı ile nükleusa taşınmaları sağlanır. Virusun replikasyonu nükleusta başlar (18).

LTA viral yaşam döngüsünü düzenler. LTA doğrudan viral replikasyon orijinine bağlanır ve replikasyonu başlatmak için viral dsDNA'ya ait bağların açılması için bir helikaz olarak işlev görür. LTA ayrıca, viral genom replikasyonunu kolaylaştırmak için replikasyon proteini A (RPA), DNA polimeraz / primaz ve topoizomerazlar I ve II'yi içeren hücresel proteinlerin alınmasına yardımcı olur. LTA çekirdeğin içindeki viral replikasyon merkezlerinin veya odaklarının oluşumu dahil olmak üzere viral replikasyonu kolaylaştırmak için hücrede değişiklikler meydana getirir (4). Yapısal proteinler olan kapsid proteinleri VP1, VP2 ve VP3’ün translasyonu sitoplazmada gerçekleşir ve agnoproteini aracılığı ile nükleusa taşınırlar daha sonra virion nükleusta oluşmaya başlar (19, 20, 21). Bu evrede viral partiküller nükleusta ışık mikroskobu ile nükleer inklüzyon cisimcikleri şeklinde görünürler ve idrar ile atılan bu cisimciklere “decoy hücreleri” (DH) adı verilir (22, 23, 24). Daha sonra hücre membranı parçalanarak virionlar ortama salınır (24).

2.3. Patogenez

Primer BKV enfeksiyonu, çocukluk döneminde, çoğunlukla solunum sekresyonları veya idrardan kişiden kişiye temas ile bulaşır; genellikle hafif solunum yolu enfeksiyonu veya ateş gibi belirtiler ile kendini gösterir. Virus, solunum yolunda çoğalır ve daha sonra kan dolaşımı yolu ile diğer organlara yayılır (25).

Enfeksiyon cinsel temas ile de bulaşabilmektedir. Monini ve ark. BKV’nu genital doku örneklerinin % 57'sinde ve sperm örneklerinin % 95'inde saptamışlardır. BKV ile bulaş genellikle cinsel aktivite yaşından önce olduğundan bu hipotez, BKV enfeksiyonunun reaktivasyonu için cinsel temas ile bulaşan bir uyarıcı olduğunu düşündürmektedir (26).

Polyomaviruslar bazı deney hayvanlarında malign tümörler oluşturabilir, ancak doğal konaklarında oluşturamazlar. Örneğin SV40, bebek hamsterlerde lenfositik lösemi ve çeşitli retiküloendotelyal hücre sarkomları oluşturabilir, ancak maymunlarda onkojenik değildir. SV40 bazı insan hücrelerinde in vitro olarak tümör oluşturmakta fakat insanlarda hastalık meydana getirememektedir. Bu durum canlı SV40 ile kontamine olmuş maymun böbrek hücre kültürlerinde üretilen poliomyelit aşı alıcılarının takibinde belirgin hale gelmiştir (27).

Polyomavirusların doğal konaklarında tümör oluşturmamasının nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte virusun hücreleri öldürücü etkisi ile açıklanabilir. Biyolojik açıdan bakıldığında polyomaviruslar, onkojenik model olarak tanımlanabilirler. Çünkü bu özellikleri in vitro olarak kolaylıkla gösterilebilir ve genellikle hücrelerle farklı yollarla etkileşime girerler. Bazı polyomaviruslar virion üretimi ile litik enfeksiyonlara ve hücre ölümüne neden olabilirler. Diğer polyomaviruslar, hücre genomuna entegre olup viral genlerin bir veya daha fazlasının ekspresyonu ile transformasyona neden olurlar. JC veya BKV gibi polyomaviruslarla hiçbir insan tümörünün ilişkili olduğu gösterilmemiştir (27).

BKV, immünokompetan kişilerin böbreklerinde latent olarak kalır. Genellikle immünsüpresif kişilerde reaktivasyon görülmektedir. Hücre aracılı immün yanıtın bozulması, greftte aktif viral replikasyon ile başlayan reaktivasyonla, ardından idrarda viral salınım ve sonunda viremi ile ilişkilendirilmiştir. Virusun hedeflediği bölge tübüler epitel hücreleridir ve bu durum tübulointerstisyel nefrit ile sonuçlanmaktadır. Genel olarak toplumun % 80'inde, yaşamın erken döneminde edinilen ve yaşam boyu devam eden BKV'na karşı oluşmuş antikorlar mevcuttur (25).

2.4. İmmün Yanıt

Özgül T hücre yanıtı, BKV enfeksiyonunun kontrolünde önemli bir yer tutmaktadır. T hücre yanıtı, VP1, VP2 ve VP3'ün etkisi ile LTA'ne spesifik olarak meydana gelir. Ayrıca sitotoksik T lenfositleri, VP1 üzerinde yer alan AITEVECFL (44-52 peptidi) ve LLMWEAVTV (108-116 peptidi) dizilerini taşıyan iki epitop bölgesini tanır (28, 29). Böbrek transplantasyonu olmuş hastalarda erken dönemde gelişen, özellikle LTA'ne özgül sitotoksik T hücre yanıtının BKV virüsü ve viremisinin oluşumunu engellediği bildirilmiştir. Hümorale immün yanıt açısından değerlendirildiğinde, VP1 proteinine karşı oluşmuş nötralizan antikorların primer

enfeksiyonda virusun yayılımını engellediği belirlenmiştir (30,31). Transplantasyon öncesinde belirlenen BKV seropozitifliğinin, reaktivasyona ve daha sonra gelişen hastalıklara karşı koruma sağlamadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte transplantasyon öncesi saptanan alıcıya ait seronegatiflik durumunun BKV viremisi ve BKVN gelişimi açısından bir risk faktörü olduğu bildirilmektedir (31,32).

2.5. Epidemiyoloji

Polyomaviridae ailesinin üyeleri tüm dünyada kuş, kemirgen, insan dışı primatlarda ve insan topluluklarında bulunmaktadır (4). BKV ile primer enfeksiyon, erken çocukluk döneminde ortaya çıkar ve çocukların % 70'i 10 yaşına kadar BKV ile enfekte olur (13).

Viruslar idrar, dışkı ve aerosoller yolu ile yayılmaktadır. Latent enfeksiyon, Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), organ nakli veya hamilelik nedeniyle immünsüpresif kişilerde reaktif olabilir (33). BKV'nin, böbrek transplantasyonu olmuş hastaların % 2 ila % 5'inde greft yetmezliği dahil olmak üzere böbrek hastalığına neden olduğu bilinmektedir (27).

BKV, dış ortam şartlarına oldukça dirençli bir virustur. İnsan atıklarıyla kirlenmiş sularda saptanmıştır ve toprakta bulunan kirli sular BKV'nun en önemli rezervuarlarından biridir. Bu nedenle fekal-oral ve ürino-oral yolla bulaşın olası olduğu düşünülmektedir (23,33,34).

2.6. Klinik

2.6.1. BKVN

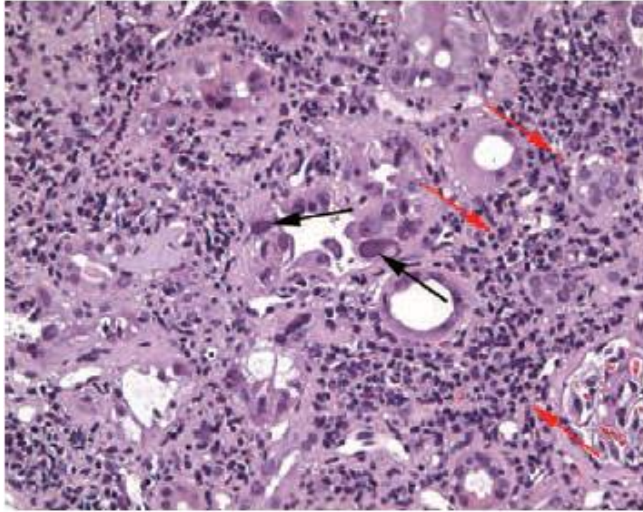
BKVN böbrek transplantasyonu olan hastalarda % 1-10 oranında saptanmaktadır ve transplantasyon sonrası 2 yıl içinde % 95 oranında gelişen ve nakil edilen organın yüksek oranda (%30-80) kaybına neden olan bir klinik tablo olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle laboratuvar tanı yöntemleri ile böbrek transplantasyonu olan hastaların BKV enfeksiyonları açısından izlenmesi önem taşımaktadır (35).

BKVN, böbrek transplantasyonu olan hastalarda görülen ciddi bir komplikasyondur. BKVN, enfekte olmuş hücrelerde BKV'nin litik replikasyonu ile karakterizedir ve bu da interstisyel inflamasyon, tübüler fibroz, atrofi ve potansiyel greft kaybı ile fonksiyonel bozulma ile sonuçlanmaktadır. Böbrek transplantasyonu olan

hastaların yaklaşık % 30-50'si nakilden sonraki ilk 3 ayda virüri görülmekte, bu hastaların % 10-15'inde viremi tablosu oluşmakta ve sonuç olarak hastaların % 1-10'unda greft kaybına yol açan BKVN tablosu saptanmaktadır (36).

Günümüzde, klinik açıdan değerlendirildiğinde kan örneklerinde $> 10^4$ kopya / ml BKV viral yükü, BKVN oluşumu açısından riskli bir sınır değer olarak kabul edilmektedir. BKVN'nin ilk oluşumu hastalarda belirti vermediğinden, Böbrek Hastalığı, Global Sonuçların İyileştirilmesi (KDIGO) ve Amerikan Transplantasyon Derneği (ATD) kılavuzlarına göre BKV replikasyonunun erken saptanmasını sağlamak için nakil hastalarının rutin olarak taranmasının gerekliliği vurgulanmıştır (36).

BKV replikasyonu, farklı kombinasyonlarda uygulanan immünosüpresif tedavi gören hastaların tamamında tanımlanmıştır. İmmünsüpresif tedaviye ek olarak, verici veya alıcı özellikleri de dahil olmak üzere BKV replikasyonu ve BKVN için bir dizi başka değiştirilebilir ve değiştirilemez risk faktörü bildirilmiştir; İnsan lökosit antijeni (HLA) uyumsuzluğu, verici BKV seropozitifliği/alıcı BKV seronegatifliği, verici ve alıcı yaşı, erkek alıcı cinsiyet, uzun süreli soğuk iskemik süresi, gecikmiş greft fonksiyonu ve üreteral stentin varlığı gibi (36).



Şekil 5 : Polyomavirus ilişkili nefropati. Böbrek Transplantasyonu Sonrası Viral İnklüzyonlar (4)

2.6.2. Hemorajik Sistit

Primer BKV enfeksiyonu, immünokompetan ve immünsüpresif hastalarda hemorajik ve hemorajik olmayan sistit dahil olmak üzere çeşitli böbrek hastalıklarının nedeni olarak gösterilmektedir. Hastalık tablosu, kemik iliği nakli ve böbrek allogreft

nakli alıcılarında asemptomatik hematüriden hemorajik sistite kadar değişiklik gösterebilmektedir. Akut, geç başlangıçlı, uzun süreli hemorajik sistitin, ikincil olan erken başlangıçlı sistite göre BKV ile daha ilişkili olduğu gösterilmiştir (26).

2.6.3. Kanser

BKV, prostat kanseri ve ürotelyal tümörler dahil olmak üzere çeşitli kanserlerle ilişkilendirilmiştir, bununla birlikte BKV'nun kanser gelişimindeki rolü tartışmalıdır. BKV'nin, neoplastik transformasyona yol açabilen veya başlatabilen erken kodlama bölgesinde bulunan LTA ve STA'nın ekspresyonunun onkojenik olabileceği öne sürülmüştür. LTA ve STA'nın, hücre çoğalmasına neden olan, p53 ve pRb gibi tümör baskılayıcı proteinleri inaktive edebilme kabiliyetleri nedeniyle proonkojenik oldukları bilinmektedir. Bu nedenle, polyomavirusa ait LTA'nın enfekte olmuş hücrelerde vahşi tip p53'e bağlanması, hücre döngüsü ile etkileşime neden olabilir ve malign transformasyon riskini artırabilir. Prostat kanseri dokusunun sitoplazmasında BKV LTA-p53 protein komplekslerinin tespit edilmesi bu hipotezi desteklemektedir. Ancak BKV LTA-p53 komplekslerinin varlığı, LTA'nın onkojenik olduğunu kanıtlamak için yeterli değildir, fakat BKV'nun prostat kanseri gelişimi için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte STA'nın, hücre proliferasyonunu ve dönüşümünü artırabilen mitojenle aktive olan protein (MAP) kinaz yolunun aktivasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. (12).

Kanser öncesi ve erken evre kanser dokularında, sağlıklı kontrol dokularından daha yüksek oranda BKV DNA'nın saptandığı, muhtemelen BKV tarafından “vur ve kaç” olarak adlandırılan bir karsinogenez mekanizması veya BKV enfeksiyonunun, tümör gelişiminin erken evrelerinin oluşmasında rol aldığı bildirilmiştir (12).

2.7. Tanı

2.7.1. Serolojik Tanı

Polyomavirus enfeksiyonlarının serolojik tanısında hemagglütinasyon inhibisyon, immunfloresan antikor ve Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin duyarlı ve özgül olmalarına rağmen IgG ve IgM değerlendirmeleri oldukça zordur. Hastalardan alınan klinik örneklerde IgG'nin değerlendirme aşamasında virusun latent dönemde olması veya diğer polyomaviruslarla çapraz-reaksiyon vermesi, IgM'in değerlendirilmesinde oluşan reaktivasyon sonuçların

yorumlanmasını zorlaştırmaktadır. Bununla birlikte immünsüpresif hastalarda ve İnsan İmmün Yetmezlik Virusu (HIV) hastalarında BKV spesifik antikorların düşük düzeyde bulunması ya da yaşa bağlı olarak azalması da sonuçların yorumlanmasını güçleştirmektedir (37).

2.7.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

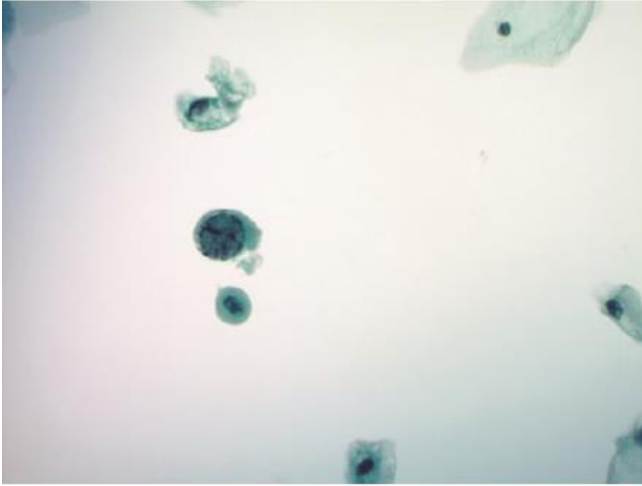
BKV DNA viral yükü RT-PZR yöntemi ile kantitatif olarak saptanmaktadır; BKV'ya özgü diziler, flüoresan probu ile çoğaltılır ve üretilen ampliconların sayısı bilinen bir BKV DNA konsantrasyonunun seri dilüsyonlarıyla oluşan eğri ile standart olarak karşılaştırılır. Çoğu kantitatif PZR analizi, primerlerin ve problemlerin tasarlandığı referans sekans olarak genotip I türünü kullanmaktadır (38).

BKV hem kanda hem de idrarda tespit edilebilir. Kan örneklerinde BKV DNA'nın kantitatif olarak belirlenmesi BKVN gelişiminin değerlendirilmesi açısından oldukça duyarlı ve özgüldür. Genel olarak BKV DNA kantitatif testlerinin duyarlılığı % 100'e, özgüllüğü ~90 %'a yaklaşmaktadır. İdrar örneklerinde BKV atılımı oldukça yaygındır ve böbrek transplantasyonu olan hastaların % 30'unda görülmektedir (38).

2.7.3. Sitolojik Tanı

Sitolojik tanıda, idrar örneğinde, virusun sitopatik etkisi nedeni ile farklılaşmış böbrek epitel hücrelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Farklılaşmış hücreler “Decoy” hücreleri olarak adlandırılmakta ve böbrek tübül hücreleri ve ürotelyum kökenli olup genişlemiş bir nükleus ile nükleer inklüzyon cisimcikleri içermektedir. Decoy hücreleri, hastalardan alınan idrar örneklerinde Papanicolaou (Pap) boyama yöntemi ile hazırlanmış preparatlarda gösterilmektedir (5).

İdrarın sitolojik açıdan incelenmesi, uygulama açısından kolay, hızlı ve ucuz bir yöntem olduğu için BKVN tanısında uygun bir seçenek olarak değerlendirilmektedir. Ancak bu yöntemin negatif prediktif değeri yüksek (>%99) ve pozitif prediktif değeri düşüktür (<%6). BKV'nun böbrek epitel hücrelerinde oluşturduğu sitopatik etki, sitomegalovirus ve adenovirusların sitopatik etkisi ile karıştırılabilmektedir (5).



Şekil 6 : Decoy hücreleri (38)

2.7.4. Biyopsi

Böbrekten alınan biyopsi örneği, BKVN tanısı için altın standart olarak değerlendirilmektedir. Serum kreatinininde yükselme olan veya olmayan yüksek BKV DNA viral yük değerine sahip ($> 4 \log$ kopya / mL) hastalarda önerilmektedir. Pozitif boyanan intranükleer BKV inklüzyon cisimciklerinin varlığı BKVN tablosu için karakteristiktir (38).

Biyopsi bulguları fokal olabilir ve yalancı negatif biyopsi sonucuna neden olabilmesi dolayısı ile tanıda zorluk yaratabilmektedir. Bu nedenle, negatif sonuç elde edilen bir biyopsi örneğinde erken BKVN ekarte edemez (38).

2.8. Tedavi ve Korunma

Cidofovir, polyomavirus enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Polyomavirus enfeksiyonlarında görülen reaktivasyonun önlenmesinde uygulanan immünosüpresif tedavinin de azaltılması uygundur. Polyomavirusların doğada her yerde bulunması bulaşma şeklinin tam olarak anlaşılamaması oluşacak primer enfeksiyonun önlenmesini olanaksız kılar (32).

Böbrek transplantasyonu olan hastalarda uygulanan immünsüpresif tedavide yönetim yaklaşımları farklıdır ve anti-metabolitin kesilmesini, kalsinörin inhibitörünün (CNI) dozunun % 25-50 oranında düşürülmesini, daha düşük seviyeleri hedefleyerek veya takrolimustan siklosporine geçmeyi içerebilir. Diğer tedavi alternatifleri arasında ise leflunomid, cidofovir, siprofloksasin, rapamisin veya intravenöz immünoglobulin kullanımını yer almaktadır (38).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 24/02/2017 tarihinde onanmıştır. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Transplantasyon Polikliniğinde böbrek transplantasyonu yapılmış 61 hastadan alınan kan ve idrar örneklerinde RT-PZR yöntemi ile BKV-DNA viral yükü kantitatif olarak incelenmiştir. Çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı PCR Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Hastalardan EDTA'lı tüplerde gelen kan örnekleri 4000 rpm de 5 dk santrifüj edilmiş ve plazma örnekleri 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine alınmıştır. İdrar örnekleri 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine alınmıştır. Eppendorf tüplerine alınan plazma ve idrar örnekleri numaralandırılarak etiketlenmiş ve çalışma zamanına kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.1. BKV DNA Viral Yük Belirlenmesi

BKV DNA viral yükü belirlenirken BKV DNA izolasyonu için QIAGEN EZ1 VİRUS MİNİ KİT V2 (Almanya) kiti, RT-PZR çalışması için Artus BK Virus QS-RGQ kit 24, V1 (Almanya) kiti kullanılmıştır.

3.1.1. Kullanılan Malzemeler

- Derin dondurucu (Uğur, Türkiye)
- Buzdolabı (Bosch, Almanya)
- QIAGEN EZ1 DNA ekstraksiyon cihazı
- RT-PCR cihazı (Rotor Gene Q Cihazı, Almanya)
- QIAGEN EZ1 VİRUS MİNİ KİT V2 (Qiagen, Almanya)
- Artus BK Virus QS-RGQ kit 24, V1 (Qiagen, Almanya)
- EDTA'lı tüp
- Santrifüj (Rotuna38)
- Eppendorf tüpü (1.5 mL)
- Pipet ucu (20, 200, 1000 µl)

3.1.2. BKV DNA İzolasyon Test Prosedürü

Tablo 1: BKV DNA İzolasyon Miks miktar tablosu

MİKS	
Carrier	3,2 µl
Internal Kontrol	6 µl
AVE Elution Buffer	50,8 µl
TOPLAM	60 µl

Yukarıda prospektüs içerisinde bulunan miks hazırlama tablosu kullanılarak her bir hasta için miks hazırlanmıştır.

Her bir örnek için bir tüp olacak şekilde 1,5 ml'lik tüplere 60 µl miks dağıtılmıştır. Cihaza konulacak 2ml'lik tüpler numaralandırılarak plazma örneklerinden 400 µl, idrar örneklerinden 300 µl tüplere konulmuştur. İdrar örneklerinin üzerine 100 µl ATL çözeltisi eklenmiştir. Cihazda 1 nolu sıraya 1.5 ml'lik tüpler numaralandırılarak konulmuştur. 2 nolu sıraya uçların kapları ve içlerine uçlar yerleştirilmiştir. 3 nolu sıraya hazırlanan ve tüplere dağıtılan miks yerleştirilmiştir. 4 nolu sıraya hasta örnekleri konulmuştur. Cihaz çalıştırılmış ve 45 dk sonra klinik materyallere ait ekstraksiyon ürünleri elde edilmiştir.

3.1.3. BKV DNA Viral Yük Belirlenmesi Test Prosedürü

Tablo 2: BKV DNA Viral Yük Karışım Miktarları

Mastermiks	7 µl
Mg	3 µl
Toplam	10 µl

Yukarıda ki PZR için gerekli olan karışım miktarları propektüs içerisinde belirtilmiş ve her bir hasta için hazırlanmıştır. Bu karışıma ek olarak 15 µl hasta örnekleri eklenmiş ve PZR tüpleri cihaza yüklenerek standart değerleri girilip Rotor Gene Q cihazın prospektüse uygun olarak başlatılmıştır.

Standartlar

Standart 1: 1.500.000 kopya/ μ l

Standart 2: 150.000 kopya/ μ l

Standart 3: 15.000 kopya/ μ l

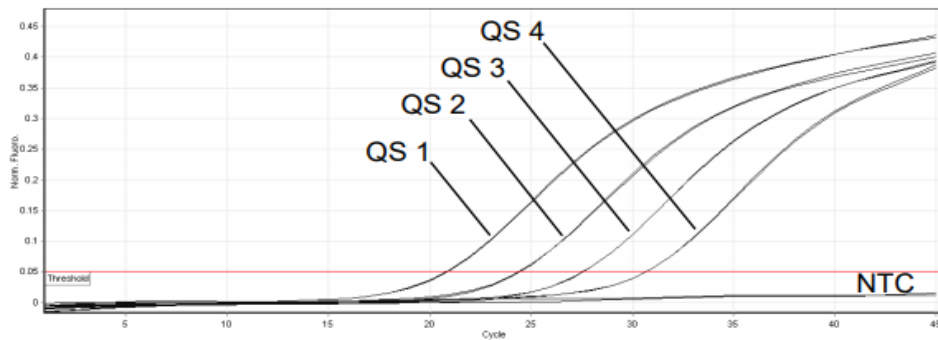
Standart 4: 1.500 kopya/ μ l

Tablo 3: Rotor Gene cihazında denatürasyon ve amplifikasyon döngü ve ısı tablosu

Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Döngü sayısı
İlk Denatürasyon	95	10:00	1
Denatürasyon	95	00:15	45
Primer Bağlanma ve Sentez	65	00:30	
Uzama	72	00:20	

3.1.4. Değerlendirme

Çalışmamızda kullanılan standart eğriler Şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 7 : BKV DNA viral yük sonuçlarının değerlendirilmesi

Floresans kanalı Cycling Green içinde bir sinyal saptandığında analizin sonucu pozitifdir: klinik örnek BKV DNA içermektedir. Floresans kanalı Cycling Green içinde

sinyal saptanmadığında ve aynı zamanda Cycling Orange kanalında internal kontrolden bir sinyal belirdiğinde klinik örnek BKV DNA içermemektedir.

Bu çalışmanın istatistiki değerlendirmelerinde ki-kare testi kullanılmıştır.

Ki kare bağımsızlık testi 2*2 ya da r*c tipindeki çapraz tablolar da uygulanmaktadır. İki ve daha fazla kategoriye sahip x ve y değişkelerinin kategorilerinin birbirleri ile bağımlı bağımsız olup olmadıklarını test etmektedir. Yapılan analizlerin değerlendirilmesinde $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir (39).



4. BULGULAR

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Transplantasyon Polikliniğinde böbrek transplantasyonu yapılmış 61 hastadan alınan kan ve idrar örneklerinde RT-PZR yöntemi ile BKV-DNA viral yükü kantitatif olarak incelenmiştir. Araştırmaya katılan toplam 61 hastanın % 54,1'i (33 kişi) erkek; % 45,9'u (28 kişi) kadındır.

Tablo 4: BKV DNA idrar sonuçları ve cinsiyet karşılaştırması

Cinsiyet	BKV-DNA İdrar		Toplam	P
	Pozitif	Negatif		
Erkek	13	20	33	0,0594
Kadın	14	14	28	
Toplam	27	34	61	

Bu sonuçlara göre BKV DNA idrar sonuçları ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Tablo 5: BKV DNA idrar sonuçları ve yaş karşılaştırması

Yaş	BKV-DNA İdrar		Toplam	P
	Pozitif	Negatif		
0-20	5	3	8	0,040271
21-31	8	10	18	
31-40	5	7	12	
41-50	5	7	12	
51+	4	7	11	
Toplam	27	34	61	

Bu sonuçlara göre BKV DNA idrar örnekleri sonuçları ile yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde 0-20 yaş grubunda BKV DNA pozitifliği % 62.5, 21-31 yaş grubunda % 44.4, 31-40 yaş grubunda % 41.6, 41-50 yaş grubunda % 41.6 ve 51 ve üzeri yaş grubunda ise % 36.4 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak bakıldığında ise yaş ile birlikte BKV DNA pozitiflik oranının azaldığı görülmektedir.

Tablo 6: BKV DNA kan sonuçları ve cinsiyet karşılaştırması

Cinsiyet	BKV-DNA Kan		Toplam	P
	Pozitif	Negatif		
Erkek	25	8	33	0,087
Kadın	20	8	28	
Toplam	45	16	61	

Bu sonuçlara göre BKV DNA kan örnekleri sonuçları ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Tablo 7: BKV DNA kan sonuçları ve yaş karşılaştırması

Yaş	BKV-DNA Kan		Toplam	P
	Pozitif	Negatif		
0-20	4	4	8	0,064417
21-31	13	5	18	
31-40	10	2	12	
41-50	9	3	12	
51+	9	2	11	
Toplam	45	16	61	

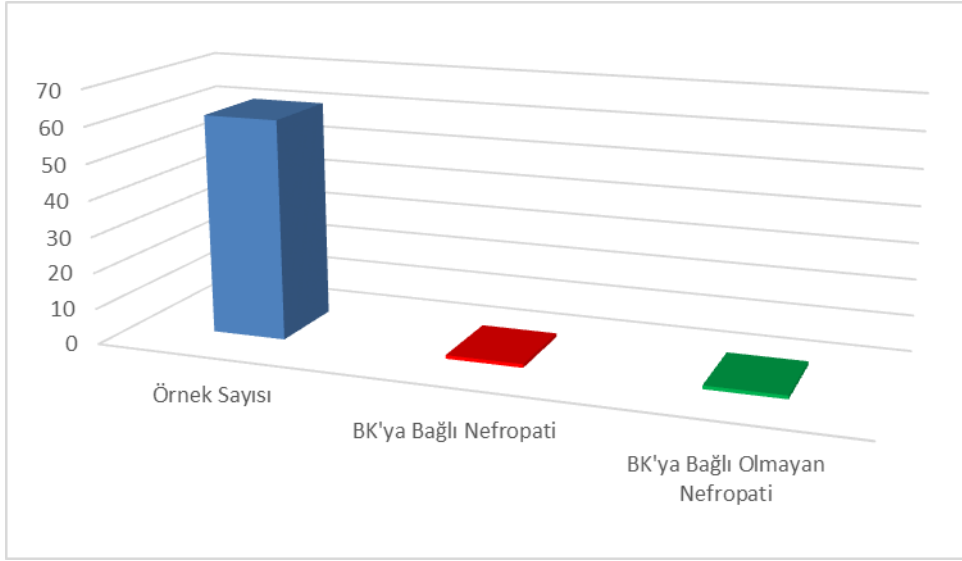
Bu sonuçlara göre BKV DNA kan örnekleri sonuçları ile yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Hastaların kan ve idrar örneklerine ait BKV DNA ortalama kantitatif (kopya/mL) sonuçları Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8: BKV DNA (+) idrar ve kan sonuçlarının karşılaştırması

	İdrar(kopya/mL)	Kan(kopya/mL)	P
BKV-PCR (+)	60 018 682	6201,366	0,100

Bu sonuçlara göre BKV DNA saptanan idrar ile kan örnekleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.



Şekil 8 : Nefropati gelişen hasta oranları

Klinik tablo ve laboratuvar verilerinin birlikte değerlendirilmesi sonucunda 1 hastada BKV'ye bağlı nefropati, 1 hastada ise BKV'ye bağlı olmayan nefropati görülmüştür. Bu 2 hastada böbrek transplantasyonu sonrası organ reddi gerçekleşmiştir.

5. TARTIŞMA

İlk olarak 1971'de izole edilmiş olan BKV, böbrek transplantasyonunda meydana gelebilecek disfonksiyon ve allogreft kaybı için önemli bir risk faktörüdür. BKV enfeksiyonu için tedavi seçenekleri sınırlıdır ve etkili bir profilaksi yoktur. İmmünsüpresif tedavi, transplantasyon sonrası BKV enfeksiyonu için birincil risk faktörü olmaya devam etmesine rağmen, erkek cinsiyeti, daha yaşlı alıcı yaşı, HLA uyumsuzluğu derecesi, uzun süreli soğuk iskemik süresi, BKV serolojisi ve üreteral stent yerleşimi risk faktörleri olarak gösterilmiştir (38).

BKV suşları serolojik ve genotipleme yöntemleri kullanılarak dört alt tipte sınıflandırılmaktadır. BKV ile asemptomatik enfeksiyon, erken çocukluk döneminde, daha sonra böbreklerde yaşam boyu süren kalıcılık ile ortaya çıkar. Böbreklerde meydana gelen BKV enfeksiyonu genellikle subklinik olarak seyretmekte ve BKV'nun neden olduğu hastalıklar hastanın immünsüpresyon durumuna bağlıdır. BKV, immünosüpresif tedavi alan böbrek transplantasyonu olmuş hastalarda greft fonksiyon bozukluğuna ve kaybına neden olabilir ve bu tablo BKVN olarak adlandırılmaktadır (40).

Böbrek transplantasyonunda BKV'ye bağlı hastalık çalışmalarındaki son gelişmeler, BKV'ye özgü hücre aracılı immün yanıtın ve hastalığın ilerlemesini ve çözülmesini öngörmeyi; reddetme ve BKV enfeksiyonu arasında ayrım yapmayı; aşı gelişimini öngörmeyi ve bir tedavi için rehber olmayı amaçlamaktadır. (25).

Ramos ve ark. (41) böbrek transplantasyonu olan 1512 hastadan aldıkları böbrek biyopsi örnekleri sonuçlarına göre 67 (% 4.4) hastada BKVN tanısı koymuşlar ve alıcı/verici için daha ileri tarama testlerinin önemini vurgulayarak bu dönemde daha etkili immünsüpresif tedavi yaklaşımlarının uygun olduğunu belirtmişlerdir.

Mutlu ve ark. (2) 142 pediatrik böbrek transplantasyonu hastası ile yaptıkları çalışmada hastaların % 80.3'ünün idrar/kan örneklerinde BKV DNA pozitifliği saptamışlar ve virüsü ile sık karşılaşılması ve geçici olması sebebi ile taramada kan örneklerinin kullanılmasının tanıda daha uygun olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da böbrek transplantasyonu olmuş 61 hastanın kan ve idrar örnekleri BKV DNA açısından değerlendirmeye alınmış, plazma örneklerinde %73.77 oranında

pozitiflik ve idrar örneklerinde %55.73 pozitiflik elde edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında tanıda idrar ve kan örneklerinin eş zamanlı alınıp çalışılmasının klinik açıdan uygun olduğu düşüncesindeyiz.

Hirsch ve ark (42) 117 böbrek transplantasyonu olmuş nefropatili hastalarda yaptıkları çalışmada, BKV replikasyonunun noninvaziv bir yöntem olan BKV DNA'nın kullanılmasının hastalara ait uygun immünsüpresif tedavi protokollerinin belirlenmesinde belirteç olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızda da hastalara ait idrar ve kan örneklerine ait BKV DNA kantitatif sonuçları klinik tarafından değerlendirilerek uygun tedavi protokollerinin belirlenmesinde yol gösterici olmuştur.

Vergese ve ark (43) yaptıkları çalışmada vericilerin idrar örneklerinde BKV DNA'nın saptanmasının BKV viremisinin insidansının artışı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca hastalarda BKVN'nin ortaya çıkmasının verici organdan kaynaklandığını, ancak bunun iyi tanımlanmadığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 1 hastada BKV'na bağlı nefropati görülmüştür ancak verilerin yetersizliğinden dolayı nefropatinin verici kaynaklı olup olmadığı belirlenememiştir.

Jha ve ark (44) böbrek transplantasyonu olmuş 152 immünsüpresif tedavi gören hastada yaptıkları çalışmalarında 12 hastada BKV viremisini saptamışlardır. Bu hastaların 4'ünde organ reddi belirtileri ortaya çıkmış fakat tedavileri organ kaybı olmadan sonuçlanmıştır. İmmünsüpresif tedavinin böbrek transplantasyonu sonrası BKVN gelişimi açısından bir risk faktörü olduğunu vurgulamışlardır. Çoklu çalışmaların sonuçlarına göre dozu azaltılmış immünsüpresif tedavinin hastalarda oluşan BKV replikasyon düzeyinin azaltılmasında önemli olduğunu belirtmişlerdir. Günümüzde birçok transplantasyon merkezinde hastaların BKV DNA açısından incelenmesinde kan ve idrar örneklerinin rutin olarak incelenmeye başladığını vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde ise eş zamanlı olarak çalışılmasının immünsüpresif tedavi protokolünün belirlenmesinde klinik açıdan önemli olduğu düşüncesindeyiz.

Kim ve ark (45) çalışmalarında böbrek allograft alıcılarında BKVN sıklığını diğer yapılan çalışmalardaki sonuçlara benzer olarak % 2.8 oranında saptamışlardır. Transplantasyon sonrası BKVN gelişen hastaların tamamına böbrek biyopsisi yapılmış

ve sadece 1 hastaya ait kan ve idrar örneğinde BKV DNA saptanmamasının moleküler yöntemlerin tanıda sınırlı olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Sonuç olarak böbrek transplantasyonu olan hastalara işlem sonrası uygulanan immünsüpresif tedavilere gerektiğinde uzun süreler devam edilmesi BKV enfeksiyonlarının bu hastalarda sorun oluşturmada önemli bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. BKV DNA'nın rutin tanısında virüri ile daha sıklıkla karşılaşıldığı için özellikle kan örneklerinin de tanıda kullanılması gerekliliği hastalar açısından oldukça önem taşımaktadır. Özellikle günümüzde, kan örneklerinde $> 10^4$ kopya / mL BKV viral yükü, BKVN oluşumu açısından riskli bir değer olması sebebi ile Böbrek Hastalığı, Global Sonuçların İyileştirilmesi (KDIGO) ve Amerikan Transplantasyon Derneği (ATD) kılavuzlarına göre BKV DNA'nın varlığının erken dönemde belirlenmesi için nakil hastalarının rutin olarak taranmasının hastalara ait tedavi protokollerinin belirlenmesi ve oluşabilecek organ reddinin engellenmesi açısından uygun olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1) Rota S, Fidan K, Bozdayı G, Dalgıç A, Fidanç I, Sucak G ve ark. Yüksek risk altındaki hastaların klinik örneklerinde BK Virüs DNA pozitifliğinin gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(2): 280-287.
- 2) Mutlu D, Sağlık İ, Koyun M, Çomak E, Mutlu E, Uslu Gökçeoğlu A ve ark. Pediatrik renal transplant alıcılarda BK Virüs enfeksiyonları. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47(3): 461-471.
- 3) Ayar Y, Ersoy A, Muti A. Böbrek nakilli hastalarda BK nefropatisi. *Türkiye Klinikleri J Nephrol* 2014; 9(2): 38- 48.
- 4) DeCaprio JA, Imperiale MJ, Major EO. *Polyomaviridae*. İçinde Knipe DM, Howley PM, editörler. *Fields Virology*. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins Press; 2013. pp. 1633-1657.
- 5) Güven Ö. Böbrek Transplantasyonu Yapılan Hastalarda Polyomavirüs BK Alt Tiplerinin Saptanması (Doktora Tezi). İstanbul: İstanbul Üniversitesi. 2013.
- 6) van der Meijden E, Janssens RWA, Lauber C, Bouwes Bavinck JN, Gorbelenya AE, Feltkamp MCW. Discovery of a New Human Polyomavirus Associated with Trichodysplasia Spinulosa in an Immunocompromized Patient. *PLoS Pathog* 2010; 6(7): e1001024.
- 7) Siebrasse EA, Reyes A, Lim ES, Zhao G, Mkakosya RS, Manary MJ ve ark. Identification of MW Polyomavirus, a Novel Polyomavirus in Human Stool. *J Virol* 2012; 86(19): 10321–10326.
- 8) Yu G, Greninger AL, Isa P, Phan TG, Martínez MA, de la Luz Sanchez M, C ve ark. Discovery of a Novel Polyomavirus in Acute Diarrheal Samples from Children. *PLoS ONE* (2012); 7(11): e49449.
- 9) Lim ES, Reyes A, Antonio M, Saha D, Ikumapayi UN, Adeyemi M ve ark. Discovery of STL polyomavirus, a polyomavirus of ancestral recombinant origin that encodes a unique T antigen by alternative splicing. *Virology* 2013; 436(2): 295–303.

- 10) Neu U, Stehle T, Atwood WJ. The Polyomaviridae: Contributions of virus structure to our understanding of virus receptors and infectious entry. *Virology* 2009; 384(2): 389–399.
- 11) John R, Buck CB, Allander T, Atwood WJ, Garcea RL, Imperiale MJ ve ark. Taxonomical developments in the family Polyomaviridae. *Arch of Virol* 2011; 156(9): 1627–1634.
- 12) Ambalathingal GR, Francis RS, Smyth MJ, Smith C, Khanna R. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin Microbiol Rev* 2017; 30(2): 503–528.
- 13) ViralZone. *Polyomavirus* (İnternette) 2013. Erişim 06/05/2013, http://www.viralzone.expasy.org/all_by_protein/58.html
- 14) Barth H, Solis M, Lepiller Q, Sueur C, Soulier E, Caillard S ve ark. 45 years after the discovery of human polyomaviruses BK and JC: Time to speed up the understanding of associated diseases and treatment approaches. *Crit Rev Microbiol* 2016; 43(2): 178–195.
- 15) Tognon M, Corallini A, Martini F, Negrini M, Barbanti-Brodano G. Oncogenic transformation by BK virus and association with human tumors. *Oncogene* 2003; 22(33): 5192–5200.
- 16) Moens U, Rekvig OP. Molecular Biology of BK Virus and Clinical and Basic Aspects of BK virus Renal Infection. İçinde Khalili K, Stoner GL, editörler. *Human Polyomaviruses: Molecular and Clinical Perspectives*. New York: USA; John Wiley and Sons; 2001. pp. 359-408.
- 17) Walczak CP, Tsai B. A PDI Family Network Acts Distinctly and Coordinately with ERp29 To Facilitate Polyomavirus Infection. *J Virol* 2010; 85(5): 2386–2396.
- 18) Nakanishi A, Itoh N, Li PP, Handa H, Liddington RC, Kasamatsu H. Minor Capsid Proteins of Simian Virus 40 Are Dispensable for Nucleocapsid Assembly and Cell Entry but Are Required for Nuclear Entry of the Viral Genome. *J Virol* 2007; 81(8): 3778–3785.

- 19) Clever J, Dean DA, Kasamatsu H. Identification of a DNA Binding Domain in Simian Virus 40 Capsid Proteins Vp2 and Vp3. *J Biol Chem* 1993; 268: 20877-83.
- 20) Hirsch HH, Snyderman DR. BK Virus: Opportunity Makes a Pathogen. *Clin Infect Dis* 2005; 41(3): 354–360.
- 21) Mihatsch MJ. Polyomavirus Nephropathy: a Brief Review With Special Emphasis on Clinico-Pathological Aspects. *Prilozi* 2012; 33: 5-22.
- 22) Bennet SM, Broekema NM, Imperiale MJ. BK polyomavirus: emerging pathogen. *Microbes Infect* 2012; 14(9): 672–683.
- 23) Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis* 2003; 3(10): 611–623.
- 24) Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Wali R, Cubitt CL, Ramos E. BK Polyoma Virus Allograft Nephropathy: Ultrastructural Features from Viral Cell Entry to Lysis. *Am J Transplant* 2003; 3(11): 1383–1392.
- 25) Sharma R, Tzetzio S, Patel S, Zachariah M, Sharma S, Melendy T. BK Virus in Kidney Transplant: Current Concepts, Recent Advances, and Future Directions. *Exp Clin Transplant* 2016; 14(4): 377 – 384.
- 26) Replogle MD, Storch GA, Clifford DB. BK Virus: A Clinical Review. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 191–202.
- 27) Ahmad N, Pottinger P, Drew WL, Michael Lagunoff. Papilloma and Polyoma Viruses. İçinde Ryan KJ, Ray CG, editörler. *Sherrie Medical Microbiology*. 6th ed. Mc Graw-Hill Education; 2014. pp. 339-341.
- 28) Krymskaya L, Sharma MC, Martinez J, Haq W, Huang EC, Limaye AP, ve ark. Cross-Reactivity of T Lymphocytes Recognizing a Human Cytotoxic T-Lymphocyte Epitope within BK and JC Virus VP1 Polypeptides. *J Virol* 2005;79(17): 11170–11178.
- 29) Sharma MC, Zhou W, Martinez J, Krymskaya L, Srivastava T, Haq W ve ark. Cross-reactive CTL recognizing two HLA-A*02-restricted epitopes within the BK virus and JC virus VP1 polypeptides are frequent in immunocompetent individuals. *Virology* 2006; 350(1): 128–136.

- 30) Comoli P, Hirsch HH, Ginevri F. Cellular immune responses to BK virus. *Curr Opin Organ Transplant* 2008; 13: 569-574.
- 31) van Aalderen MC, Heutinck KM, Huisman C, ten Berge IJ. BK virus infection in transplant recipients: Clinical manifestations, treatment options and the immune response. *J Med* 2012; 70: (4).
- 32) Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 8 th ed. Elsevier Health Sciences; 2015. pp.414-417
- 33) Siguier M, Sellier P, Bergmann JF. BK-virus infections: A literature review. *Méd Mal Infect* 2012; 42(5): 181–187.
- 34) Hirsch HH, Snydman DR. BK Virus: Opportunity Makes a Pathogen. *Clin Infect Dis* 2005; 41(3): 354–360.
- 35) Costa C. Polyomavirus-associated nephropathy. *World J Transplant* 2012; 2(6): 84.
- 36) Barth H, Solis M, Lepiller Q, Sueur C, Soulier E, Caillard S ve ark. 45 years after the discovery of human polyomaviruses BK and JC: Time to speed up the understanding of associated diseases and treatment approaches. *Crit Rev Microbiol* 2016; 43(2): 178–195.
- 37) Mutlu E. Renal Transplant Hastalarında BKV Spesifik İmmün Yanıtın ELISPOT Yöntemi ile Ölçülmesi (Yan Dal Uzmanlık Tezi). Antalya: Akdeniz Üniversitesi. 2014.
- 38) Sawinski D, Goral S. BK virus infection: an update on diagnosis and treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 30(2): 209–217.
- 39) Özdamar K. Paket programlar ile istatiksel veri analizi. 8.Baskı. Eskişehir: Kaan Yayın Evi; 2011. pp. 414.
- 40) Yogo Y, Sugimoto C, Zhong S, Homma Y. Evolution of the BK polyomavirus: epidemiological, anthropological and clinical implications. *Rev Med Virol* 2009; 19(4): 185–199.
- 41) Ramos E. Clinical Course of Polyoma Virus Nephropathy in 67 Renal Transplant Patients. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(8): 2145–2151.

- 42) Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ ve ark. Prospective Study of Polyomavirus Type BK Replication and Nephropathy in Renal-Transplant Recipients. *N Engl J Med* 2002; 347(7): 488–496.
- 43) Verghese PS, Schmeling DO, Knight JA, Matas AJ, Balfour HH. The Impact of Donor Viral Replication at Transplant on Recipient Infections Posttransplant. *Transplantation* 2015; 99(3): 602–608.
- 44) Jha A, Ahmed W, Pakkyara A, Shaheen F, Al Salmi I. Elimination of BK viremia in renal transplant recipients by optimization of immunosuppressive medications without precipitating acute rejection. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2018; 29(5): 1073-1081.
- 45) Kim MH, Lee YH, Seo JW, Moon H, Kim JS, Kim YG ve ark. Urinary exosomal viral microRNA as a marker of BK virus nephropathy in kidney transplant recipients. *PLoS ONE* 2017; 12(12): e0190068.

ETİK KURUL KARARI

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

**Sayı : 265****Tarih : 06.03.2017****Konu: Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN hk.**

**Sayın Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

İlgi: Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 03/02/2017 gün ve 47333 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz Yüksek Lisans Öğrencisi Nuray ÖZTÜRK' ün yürüteceği 2017/119 dosya numaralı "Böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda BKV DNA' nın araştırılması ve sonuçların retrospektif olarak değerlendirilmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 24/02/2017 gün ve 04 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**

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

BÖBREK TRANSPLANTASYONU YAPILAN HASTALARDA BKV DNA' NIN ARAŞTIRILMASI VE SONUÇLARIN RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ-2

ORJİNALLİK RAPORU

%**6**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**5**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**5**

YAYINLAR

%**1**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

www.mikrobiyolbul.org

İnternet Kaynağı

%**3**

2

www.researchgate.net

İnternet Kaynağı

%**1**

3

Submitted to Konya Necmettin Erbakan
University

Öğrenci Ödevi

<%**1**

4

Submitted to Eastern Mediterranean University

Öğrenci Ödevi

<%**1**

5

acikerisim.deu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

ÖZER, Osman Orkan and ÖZDEN, Altuğ.
"Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği'nin Tarımsal
Yayın ve Eğitim Faaliyet Çalışmalarının Analizi:
Aydın İli Örneği", Namık Kemal Üniversitesi,
2016.

Yayın

<%**1**

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Nuray	Soyadı	ÖZTÜRK
Doğ.Yeri	Kastamonu	Doğ.Tar.	24.02.1990
Email	nurayozturk2525@hotmail.com	Uyruğu	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2012
Lise	Plevne Lisesi (Y. Dil Ağırlıklı)	2008

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Biyoloji Öğretmeni	Arnavutköy Anadolu Lisesi	2016 - ...
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Orta	Orta	Orta		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Office	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Yüzme