



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

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**BÖBREK TRANSPLANTASYONU
YAPILAN HASTALARDA İDRARDA
BK VİRÜS KANTİTASYONUNUN
ÖNEMİ VE KLİNİK İLE İLİŞKİSİ**

SELİN YİĞİT

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KASIM 2019



**BÖBREK TRANSPLANTASYONU YAPILAN HASTALARDA İDRARDA
BK VİRÜS KANTİTASYONUNUN ÖNEMİ VE KLİNİK İLE İLİŞKİSİ**

Selin YİĞİT

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

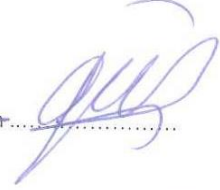
KASIM 2019

Selin YİĞİT tarafından hazırlanan “BÖBREK TRANSPLANTASYONU YAPILAN HASTALARDA İDRARDA BK VİRÜS KANTİTASYONUNUN ÖNEMİ VE KLİNİK İLE İLİŞKİSİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Gülendam BOZDAYI

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

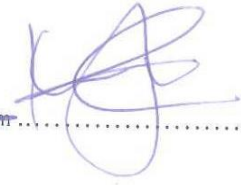
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~.....



Başkan: Prof. Dr. Kayhan Çağlar

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~.....



Üye: Prof. Dr. Koray ERGÜNAY

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~.....



Tez Savunma Tarihi: 29/11/2019

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Selin YİĞİT

29/11/2019



BÖBREK TRANSPLANTASYONU YAPILAN HASTALARDA İDRARDA BK VİRÜS KANTİTASYONUNUN ÖNEMİ VE KLİNİK İLE İLİŞKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Selin YİĞİT

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kasım 2019

ÖZET

Bu çalışmada BK virüsün böbrek nakli hastalarında, kantitasyonunun klinik ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmaktadır. Çalışmamızda Ocak 2018- Ocak 2019 tarihleri arasında, Gazi Üniversitesi Araştırma Hastanesi Pediatrik Nefroloji ve Erişkin Nefroloji kliniklerinden, böbrek transplantasyonu yapılmış 41 hastanın BK virüs kantitasyonu verileri geriye dönük olarak incelenmiştir. Hastaların idrar örnekleri, Real-Time PCR yöntemiyle artus® BK Virus RG PCR (Qiagen, Hilden, Almanya) ticari kiti kullanılarak çalışılmıştır. Çalışma grubuna dahil edilen tüm hastalar böbrek transplantasyonu sonrası idrar örneklerinde BK viral yükü tespit edilmiş olan hastalardır. Çalışmamızda BK virüs kantitasyonu incelenen 41 hastadan 2'sinde, idrar örneklerinde yüksek miktarda BKV saptandığı için kan örneklerinden de BKV araştırıldığı görülmüştür. Araştırmanın sonunda her iki hastanın da kan örneklerinde BKV saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen 41 hastadan 5'inde (%12,2) BK virüs nefropatisi gelişimi saptanmıştır. Bu hastaların 2'si kan örneklerinde BK virüs tespit edilen hastalardır. BK virüs nefropatisi görülen hastaların tamamı erkek hastadır. Çalışmamızda BK virüs nefropatisi gelişimi erkek cinsiyette anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Bilim Kodu : 1039

Anahtar Kelimeler : BK Virüs, Böbrek Transplantasyonu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Sayfa Adedi : 68

Danışman : Prof. Dr. Güldam BOZDAYI

THE IMPORTANCE OF BK VIRUS QUANTITATION IN URINARY SAMPLES OF
RENAL TRANSPLANTATION PATIENTS AND RELATIONSHIP WITH CLINIC

(M. Sc. Thesis)

Selin YİĞİT

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

November 2019

ABSTRACT

In this study, we aimed to investigate the relationship of clinical quantitative analysis of BK virus in kidney transplant patients. In this study, we retrospectively analyzed BK virus quantitation data of 41 patients who underwent renal transplantation from Gazi University Research Hospital Pediatric Nephrology and Adult Nephrology clinics between January 2018 and January 2019. Urine samples of the patients were studied by real-time PCR using the artus® BK Virus RG PCR Kit (Qiagen, Hilden, Germany) commercial kit. All patients included in the study group were patients with BK viral load detected in urine samples after kidney transplantation. In our study, BK viral load was investigated in blood samples in 2 of 41 patients who measured the amount of BK virüs because their urine BK viral load was high levels. At the end of the study, BK viral load was determined in the blood samples of both patients. Of the 41 patients included in the study, 5 (12.2%) developed BK virus nephropathy. Two of these patients had BK virus detected in their blood samples. All patients with BK virus nephropathy were male. In our study, the development of BK virus nephropathy was significantly higher in male sex.

Science Code : 1039

Key words : BK Virus, Kidney Transplant, Polymerase Chain Reaction

Page Number : 68

Advisor : Prof. Dr. Gülendir BOZDAYI

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim hayatımda, bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, daima bir anne sıcaklığı ile her adımda yanımda olan çok sevgili tez danışmanım Prof. Dr. Gülendam BOZDAYI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın çok değerli hocalarına teşekkür ederim.

Destekleri ile her zaman yanımda olan sevgili Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Eğitim sürecimin baştan sona her anında, manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, daima yanımda olan aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Virüsün Genel Özellikleri ve Genom Yapısı	5
2.2.1. Kapsid proteinleri	5
2.2.2. BK Virüsün genom yapısı.....	7
2.3. Virüsün Sınıflandırılması ve Epidemiyolojisi.....	8
2.4. Hücreye Giriş Mekanizması ve Viral Replikasyon.....	13
2.5. Virüsün Patogenezi	15
2.6. Risk Faktörleri.....	19
2.6.1. BK virüs’den etkilenen hasta grupları	19
2.6.2. Donör ve alıcı kaynaklı risk faktörleri	20
2.6.3. Transplantasyon sonrası risk faktörleri.....	21
2.7. İmmünoloji.....	22
2.8. Klinik Bulgu ve Belirtiler.....	23
2.9. Tanı	25

	Sayfa
2.9.1. İdrar sitopatolojisi	27
2.9.2. Elektron mikroskopisi	28
2.9.3. Polimeraz zincir reaksiyonu	29
2.9.4. Patolojik tanı	29
2.10. Tedavi	31
3. MATERİYAL VE METOT	33
3.1. Örneklerin Toplanması	33
3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	33
3.3. Örneklerden Nükleik Asit İzolasyonu	34
3.4. Amplifikasyon ve Görüntüleme	35
3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi	36
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ	57
KAYNAKLAR	59
EKLER	65
EK-1. Gazi Üniversitesi Etik Komisyon Kararı	66
ÖZGEÇMİŞ	68

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. BK virüs gen ürünlerinin fonksiyonu	8
Çizelge 2.2. BK virüs subtip I ve IV'ün alt gruplarının popülasyonlar arasındaki dağılımı	10
Çizelge 2.3. BK virüs enfeksiyonu için önerilen risk faktörlerinin özeti	21
Çizelge 2.4. BK virüs enfeksiyonunun klinik belirtileri	25
Çizelge 3.1. Hasta gruplarının yaşlara göre dağılımı.....	33
Çizelge 3.2. Amplifikasyon protokolü.....	35
Çizelge 3.3. PCR protokolü	36
Çizelge 3.4. Sonuçların yorumlanmasında kullanılan kanallar ve dalga boyları.....	36
Çizelge 4.1. İdrar sitopatolojisinde Decoy hücre negatif ve Decoy hücre pozitif saptanan örneklerin eş zamanlı PCR sonuçları.....	41
Çizelge 4.2. BK virüs nefropatisi görülen hastaların ortalama viral yükleri	45
Çizelge 4.3. Çalışma grubunun nakil sonrası kan kreatin seviyeleri	46
Çizelge 4.4. BK virüs viremisi olan 1. hastanın genel viral yük durumları.....	49
Çizelge 4.5. BK virüs viremisi olan 2. hastanın genel viral yükleri	49

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Polyomavirüslerin filogenetik olarak sınıflandırılması	4
Şekil 2.2. BK virüs subtiplerinin dağılımı	12
Şekil 2.3. BK virüsün vücutta yayılım mekanizması.....	17
Şekil 2.4. BK virüs enfeksiyonunun doğal süreci.....	18
Şekil 2.5. BK virüsün patofizyolojisi	19
Şekil 2.6. Böbrek nakli sonrası gelişen BK virüs olayları	26
Şekil 2.7. BK virüs nefropatisinin histolojik modelleri	31
Şekil 3.1. Pozitif ve negatif kontrol eğrileri.....	36
Şekil 3.2. BK virüs pozitif olarak değerlendirilen örnek eğrisi	37
Şekil 3.3. Sonuçların yorumlanması; negatif kontrol, pozitif kontrol ve hasta sonucu eğrisi	37
Şekil 4.1. Yaşların cinsiyete göre dağılımı	39
Şekil 4.2. Çalışma grubundaki hastaların kliniklere göre dağılımı.....	40
Şekil 4.3. Hasta grubunun donör şekli dağılımı.....	40
Şekil 4.4. BK virüs nefropatisi genel dağılımı.....	42
Şekil 4.5. Pediatrik nefroloji kliniği hastalarının nakil sonrası dönemlerde ortalama kan kreatin seviyeleri.....	47
Şekil 4.6. Erişkin nefroloji kliniği hastalarının nakil sonrası dönemlerde ortalama kan kreatin seviyeleri.....	47
Şekil 4.7. BK virüs viremişi olan 1. hastanın nakil sonrası kreatin seviyeleri	48
Şekil 4.8. BK virüs viremişi olan 2. hastanın nakil sonrası kreatin seviyeleri	48
Şekil 4.9. BK virüs viremişi olan 1. hastanın eş zamanlı idrar ve kan örneklerindeki viral yükler	49
Şekil 4.10. BK virüs viremişi olan 2. hastanın eş zamanlı idrar ve kan örneklerindeki viral yükler	50

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. BK virüsün viral partiküllerinin elektron mikroskopisi.....	6
Resim 2.2. BKV genomu	8
Resim 2.3. BK virüs yapısının üç boyutlu gösterimi	14
Resim 2.4. BK virüsün hayat döngüsü.....	15
Resim 2.5. BK virüs spesifik T-hücrelerinin fonksiyonel aktivitesi	23
Resim 2.6. Decoy hücrelerinin mikroskopik görünümü.....	27
Resim 2.7. İdrar sitolojisi ve elektron mikroskobu ile decoy hücrelerinin görünümü.....	29
Resim 2.8. Hematoksilen eozin boyaması, epitelyal hücrelerde karakteristik bazofilik intranükleer inklüzyon cisimleri	30
Resim 2.9. BK virüs nefropatisi sitolojisi.....	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
µl	Mikrolitre
Bp	Baz Çifti
dL	Desilitre
Kb	Kilobaz 1000 Nükleotitten Oluşan Baz Dizilimi
kg	Kilo Gram
mg	Miligram
ml	Mililitre
nm	Nanometre
Kısaltmalar	Açıklamalar
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome (Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu)
AST	American Society of Transplantation (Amerikan Transplantasyon Derneği)
BKPyV	BK Polyomavirüs
BKV	BK Virüsü
BKVN	BK Virüs Nefropatisi
cAMP	Siklik Adenozin Mono Fosfat
CRE	Siklik Adenozin Mono Fosfat Duyarlı Element
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dsDNA	Çift Sarmallı Deoksiribo Nükleik Asit
ERAD	Endoplazmik Retikulum İlişkili Protein Bozulması
ERE	Östrojen Duyarlı Element
FIAT	İnterstisyel Fibrozis/Tübüler Atrofi
GRE/PRE	Glukokortikoid/Progesteron Duyarlı Element
HIV	Human Immunodeficiency Virus (İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü)

Kısaltmalar	Açıklamalar
HLA	İnsan Lökosit Antijeni
HPyV	İnsan Polyomavirüsü
IVIg	İntravenöz İmmünoglobulin
JCV	JC Virüs
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes (Böbrek Hastalıklarının Global Sonuçlarının İyileştirilmesi)
MCV	Merkel Hücre Virüsü
miRNA	Mikro Ribo Nükleik Asit
MMF	Mikofenolat Mofetil
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit
NAT	Nükleik Asit Testi
NCCR	Kodlama Yapmayan Kontrol Bölgesi
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
ORI	Replikasyon Orjini
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PML	Progresif Multifokal Lökensefalopati
Rb	Retinoblastom
RNA	Ribo Nükleik Asit
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
SV40	Simian Virüs 40
TAg	Büyük T Antijeni
tAg	Küçük t Antijeni
TRE	Forbol Ester Duyarlı Element
truncTAg	Kesilmiş Büyük T Antijeni

1. GİRİŞ

BK virus; böbrek nakli alıcılarında, nefropati ve greft kaybı ile ilişkili önemli bir viral enfeksiyon ajanıdır. BK virüsün ilk izolasyonu Gardner ve arkadaşları tarafından 1971 yılında gerçekleştirilmiştir ancak, virüsün klinik önemi Mackenzie ve arkadaşları tarafından 1978 yılında bildirilmiştir [1]. BK virüs ile ilk karşılaşma genellikle çocukluk döneminde gerçekleşmektedir ve birincil enfeksiyon subklinik veya hafif bir solunum yolu enfeksiyonu olarak kendini göstermektedir. Birincil enfeksiyondan sonra virüs üroepitel ve renal tübüler hücrelerde latent hale geçmektedir. İmmünsüpresyon durumunda ise virüs reaktif olup çoğalmaya başlamaktadır. Tübüler hücre lizisine ve ardından da virüriye neden olmaktadır. BK virüs, interstisyumda çoğalmakta ve ardından peritübüler kılcal damarlara geçerek viremiye yol açmaktadır. Tüm bu olayların sonrasında virüs allogrefti istila ederek çeşitli tübülointerstisyel lezyonlara ve BK virüs nefropatisine yol açmaktadır [2].

Dünya popülasyonunun %90'ından fazlası BKV ile enfekte olmuş durumdadır. BKV immün sistemi baskılanmış kişiler için önemli bir patojendir. Hamilelik durumunda da BKV'nin idrarda tespit edilebildiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. BKV böbrek nakli ve kemik iliği nakli hastalarında yeniden aktive olarak, sırasıyla nefropati ve hemorajik sistite sebep olmaktadır. BKV nadiren diğer solid organ nakli alıcılarında, sistemik lupus eritematosus gibi immün yetmezlik durumlarında ve HIV/AIDS hastalarında gözlenmiştir [3]. BKV'nin HIV ile enfekte hastalarda bazı ensefalit olgularına neden olduğu bilinmektedir [4].

Son yıllarda, BK virüs enfeksiyonu böbrek nakli alıcılarında önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır. Böbrek nakli sonrası, organ rejeksiyonunu önlemek için kullanılan immünsüpresif tedaviler, viral enfeksiyonların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. BK virüsü özellikle böbrek nakli sonrası reaktif olabilir ve 3 aşamada ilerler; virüri, viremi ve viral replikasyonun devam etmesi durumunda da BK virüs nefropatisi gelişir [5].

BK virüs enfeksiyonlarının klinik bulguları; böbrek nakli alıcılarında üriner sistemdeki asemptomatik replikasyonu, böbrek fonksiyonlarının geçici olarak bozulması, viral nefropati ve geri dönüşümsüz greft yetmezliği gibi çeşitli şekillerde olabilmektedir [6]. Böbrek transplantasyonunda virüsün neden olduğu nefropati greft yetmezliğine neden olabilir [7].

Yüksek prevalans, latent enfeksiyon ve BK virüsünün asemptomatik reaktivasyonu bu virüsün patojenik rolünün açık bir biçimde anlaşılmasını engellemektedir [8].

Bu çalışmada; böbrek nakli yapılmış olan hastalarda BK virüsün kan ve idrarda kantitasyon takibi ve klinik ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Polyomavirüsler ilk olarak 1953 yılında Ludwig Gross tarafından murin lösemi virüsleri olarak keşfedilmiştir. Özellikle, lösemi dokularının hücre içermeyen ekstreleri enjekte edilen yeni doğan fareler, lösemiye ek olarak parotis bezinin adenokarsinomlarını geliştirmiştir. Bu durum bir enfeksiyöz ajanın malignitelerin sebebi olabileceğini düşündürmüştür. Bu enfeksiyöz ajan, Yunanca ‘*poly*’ yani ‘‘çoklu’’ ve onkojenik etkisi sebebiyle ‘*oma*’ yani ‘kanser’ anlamına gelen kelimelerde adlandırılmışlardır [9].

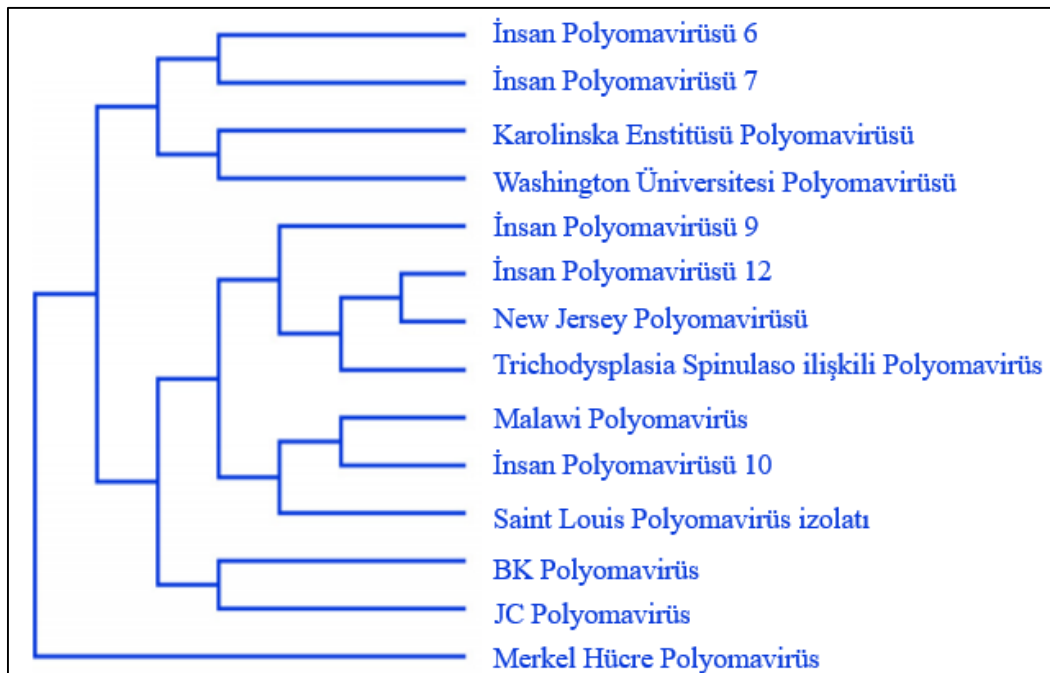
Polyomavirüsler; memelileri, kuşları ve balıkları doğal konakçı olarak kullanan; küçük, zarfsız, çift sarmallı DNA’ya sahip (dsDNA) virüslerdir. Keşfedilen ilk iki insan polyomavirüsü; BK polyomavirüs (BKPyV) ve JC polyomavirüs (JC) 40 yılı aşkın bir süre önce keşfedildikleri hastalardan sonra adlandırılmışlardır [10].

BK virüsü ilk olarak 1971 yılında Gardner ve arkadaşları tarafından kronik piyelonefrit ve ileri böbrek yetmezliği nedeniyle böbrek nakli geçirmiş, isminin baş harfleri B.K. olan 39 yaşındaki Sudanlı erkek bir hastanın idrarından izole edilmiştir [11]. Virüsün keşfi; böbrek nakli yapılmış bir hastanın idrar örneğinde, nakilden 3.5 ay sonra çok sayıda epitel hücresi gözlenmiş, Londra Merkezi Halk Sağlığı Laboratuvarında Dr. Anne Field elektron mikroskobu ile boyanan numuneyi incelemiş ve siğil virüsüne benzeyen çok sayıda viral partikül gözlemlemiştir. Beş gün sonra alınan idrar numunesinden ultra ince bir kesit elektron mikroskobu ile incelendiğinde genişletilmiş hücre çekirdeğinde bir çok viral partikül görülmüştür. İlk idrar örneği Rhesus maymunu böbrek hücreleri, Afrika maymunu böbrek hücreleri (Vero) ve insan embriyosu akciğer fibroblastlarına inoküle edilmiştir. İnokulasyon işleminden 18 gün sonra Rhesus maymunu böbrek hücrelerinde, 28 gün sonra ise Afrika maymunu böbrek hücrelerinde sitopatik bir değişiklik gözlenmiştir. İnsan embriyosu akciğer fibroblastlarında ise herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Daha sonra ise bu virüs keşfedildiği hastanın isminin baş harfleri ile adlandırılmıştır [12] Virüsün klinik önemi Mackenzie ve arkadaşları tarafından 1978 yılında bildirilmiştir [1]. BKV’e bağlı bir tübülointerstisyel nefritin ilk raporu Rosen ve arkadaşları tarafından, 1983 yılında primer immün yetmezliği olan 6 yaşındaki bir erkek çocukta (organ nakli olmadan) tespit edilerek yayınlanmıştır. Bu çocukta, BK virüs virürisi, böbreğinde geniş viral inklüzyonlar, pozitif BKV kültürü ve diyalize yol açan akut böbrek yetmezliği

bulunmaktaydı [13]. Böbrek nakli hastalarında ise 1995 yılında, akut rejeksiyonun değerlendirilmesi için yapılan bir biyopsi örneğinde görülmüştür [14, 15]. BKV yakın zamana kadar bir patojen olarak kabul görmemekteydi. Tarihsel olarak Polyomavirüsler, özellikle SV40, temel ökaryotik hücresel süreçler konusundaki anlayışları geliştirmek için kullanılmıştır. Ancak insan patojenleri olarak önemi açısından daha az çalışılmıştır [3]. İlerleyen moleküler yöntemler ve yeni nesil dizileme teknolojilerinin kullanılması ile birlikte insan polyomavirüslerinin sayısında artış olmuştur [16].

Polyomaviridae virüs ailesi, yakın zamana kadar memeli ve kuş polyomavirüslerini içeren tek bir cins olan Polyomavirüs'ten oluşmaktaydı. Sekiz yeni HPyV 2007 ve 2012 yılları arasında keşfedilmiştir. Polyomavirüslerin filogenetik olarak sınıflandırılması Şekil 2.1 de gösterilmektedir [17].

Böbrek nakli alıcılarında BKV nefropatisi (BKVN) ilk kez 1995 yılında bildirilmiştir [18]. BK ile ilişkili hastalık insidansı, artan nakil sayısı ve bu hastaları desteklemek için kullanılan immünsüpresif ilaç rejimleri nedeniyle artış göstermektedir [3]. BK virüs enfeksiyonu vakaları; takrolimus, cellcept ve mikofenolat mofetil (MMF) kullanımının artmasıyla çakışan 1990'lı yıllarda literatürlerde ortaya çıkmaya başlamıştır [19]. BKV'ye karşı etkili antiviral ajanların eksikliği veya yeterli önleme stratejilerinin olmayışı ve sıklıkla agresif bir başlangıcı olması nedeniyle klinisyenler için önemli bir zorluk teşkil etmektedir [20].



Şekil 2.1. Polyomavirüslerin filogenetik olarak sınıflandırılması [21]

İnsan polyomavirüsleri, 2 ana nedenden dolayı önemli patojenlerdir. İlk olarak, Polyomavirüs enfeksiyonları genellikle asemptomatiktir. Bazı durumlarda belirli bir patoloji ile ilişkili olabilmektedir. Örneğin beyin oligodendrositlerinde JCV enfeksiyonu ve replikasyonu PML'ye yol açarken, BKV enfeksiyonu ve böbrek epitel hücrelerinde replikasyonu BKV nefropatisine yol açabilmektedir. İkinci olarak ise; hayvanlarda hücre kültüründe bazı Polyomavirüslerin onkojenik proteinleri kodladığı gösterilmiştir. Bu durum Polyomavirüslerin insan kanserleri ile de bir ilişkisi olabileceğini düşündürmüştür. Polyomavirüslerin insan kanserleri ile ilişkisi ilk olarak nadir görülen ve agresif bir malign cilt kanseri olan Merkel hücre karsinomu hastalarından izole edilen Merkel hücre Polyomavirüsü ile gösterilmiştir [17]. BKV ile ilgili ilk çalışmalar, maymun kökenli Vero hücreleri, insan embriyonik böbrek hücreleri veya insan embriyonik fibroblastını kullanarak gerçekleştirilmiştir [22]. BK virüsün enfeksiyon kaynağı sadece insandır, hiçbir hayvanın rezervuar olduğu gösterilmemiştir [23].

2.2. Virüsün Genel Özellikleri ve Genom Yapısı

BK virüs ile ilişkili hastalıkları etkili bir şekilde yönetebilmek ve potansiyel terapötik hedefleri belirleyebilmek için viral yaşam döngüsünü ve yapısını anlamak gerekmektedir. BKV; JC virüs ve Merkel hücre virüsü (MCV) ile birlikte *Polyomaviridae* ailesinin insan Polyomavirüsleri grubunun bir üyesidir [20]. *Polyomaviridae* ailesinin üyeleri; benzer kapsid boyutları, yüksek genetik homoloji seviyeleri ve benzer genom boyutları ile yapısal benzerlik göstermektedir [21].

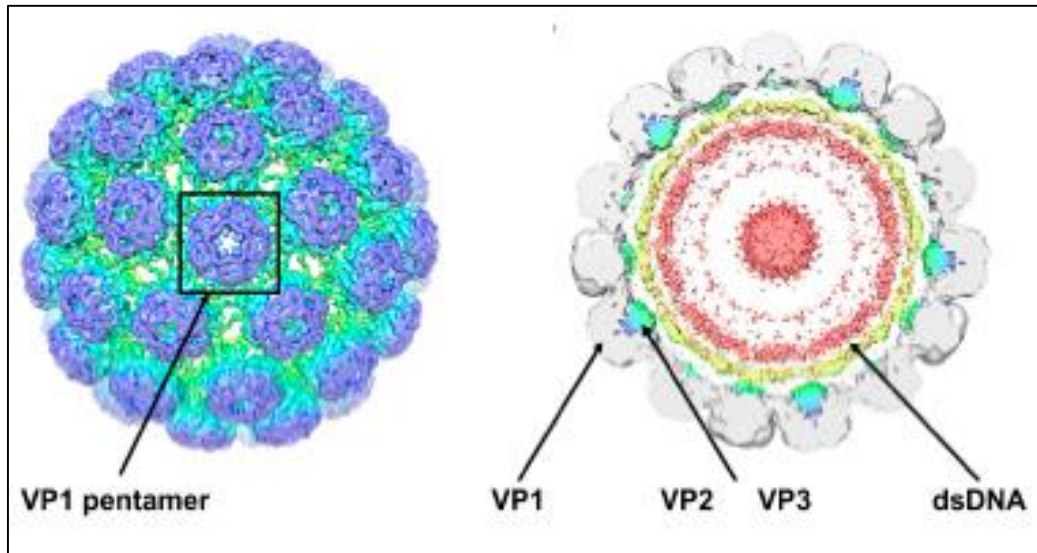
BK polyomavirüsü (BKPyV), *Polyomaviridae* (eski *Papovaviridae*) familyasında yer alan; 45-50 nm boyutlarında küçük, zarfsız ve ikozahedral simetrik bir DNA virüsüdür [24]. BKV genomu 45-50 nm virion içerisinde; H2A, H2B, H3 ve H4 histon proteinleri kullanılarak paketlenmiş, çift sarmallı, kovalent kapalı dairesel bir DNA olarak bulunur [20]. BKV; JCV ve SV40 gibi diğer polyomavirüslere %70 ile %75 oranında dizi homolojisi göstermektedir [25].

2.2.1. Kapsid proteinleri

BK virüsün kapsidi VP1, VP2 ve VP3 yapısal proteinlerinden ve viral genomu kapside bağlayan 72 kapsomerden oluşmaktadır. Her üç yapısal protein de DNA bağlayıcı motifler içermektedir. Viral kapsid aynı zamanda minikromozom da barındırmaktadır [12, 25].

Ana kapsid proteini olan VP1, kapsidin yüzeyinde bulunmaktadır ve virüsün hücrelere bağlanmasından sorumludur. VP1; polipeptidin farklı ipliklerini birbirine bağlayan; BC, DE, EF, GH ve HI olarak bilinen ve beş döngüye bölünen 362 aminoasitlik bir proteindir (42 kDa). VP1 immünojenitesi oldukça yüksek bir proteindir. Nötralize edici antikorun hedefidir ve virion tutunması, kırmızı kan hücrelerinin hemaglutinasyonu için gereklidir [26]. VP1; antijenik çeşitlilikten sorumlu olan nükleotidleri içermektedir [11, 27].

Minör kapsid proteinleri VP2 ve VP3 üzerinde bulunan nükleer lokalizasyon sinyalleri, virüsün hücre çekirdeğine geçişini kolaylaştırmaktadır [9]. VP2 ve VP3 proteinleri aynı geç mRNA transkriptinden ifade edilmektedir ve bir C-terminal aminoasit dizisini paylaşmaktadırlar. Ancak VP2, varsayımsal bir çeşit biyokimyasal işlem alanı içeren benzersiz bir N-terminal aminoasit dizisine sahiptir. VP2 ve VP3 minör kapsid proteinlerinin ölçüsü eşit değildir ve bu oranın fonksiyonel etkisi bilinmemektedir. Ancak bu kapsid proteinlerinin her birinin virüsün hücreye girişi ve tutunmasında hayati bir rolü olduğuna inanılmaktadır. Minör kapsid proteinlerinin özellikleri; virüsün hücre dışında stabilize edilmesi ve virüsün hücreye girişinin kolaylaştırılmasıdır [3]. Hurdiss ve arkadaşlarının, elektron mikroskobu kullanarak yapmış oldukları çalışmada; minör kapsid proteinleri VP2 ve VP3'ün histonlar ve genomik DNA ile ayrı temas noktalarına sahip oldukları gösterilmiştir [21].



Resim 2.1. BK virüsün viral partiküllerinin elektron mikroskobisi [11]

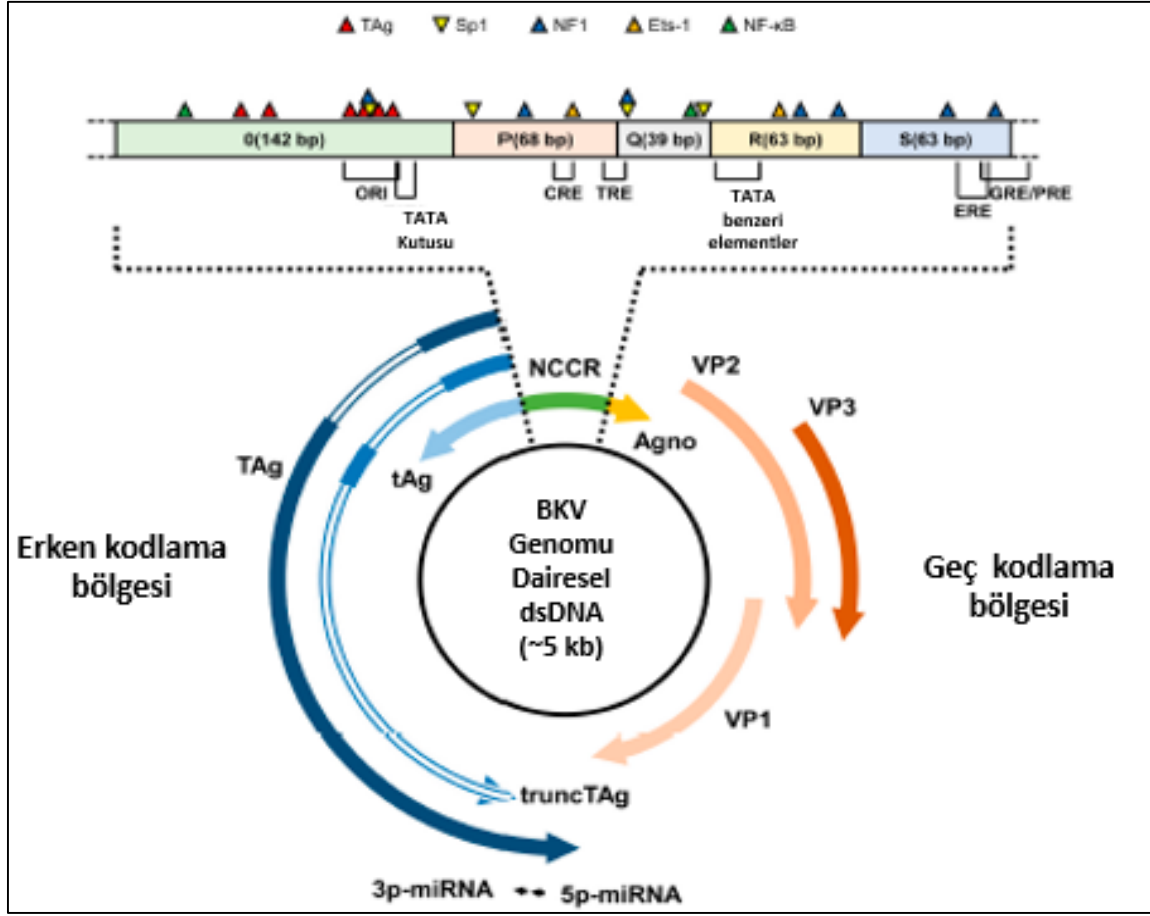
2.2.2. BK Virüsün genom yapısı

BK virüsün yaklaşık 5.2-kb'lık genomu; erken bölge, geç bölge ve kodlama yapmayan bölge olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Sarmal üzerindeki erken bölge yapısal olmayan T proteinlerini, diğer sarmal üzerindeki geç bölge ise üç viral kapsid proteinini kodlamaktadır. Kodlama yapmayan bölge ise DNA replikasyon orijinini ve hem erken hem de geç genler için transkripsiyonel kontrol bölgelerini içermektedir [20, 28]. Ayrıca erken bölge; iki fonksiyonel miRNA üreten bir pre-miRNA kodlamaktadır [12].

BK virüsün; büyük T antijeni, SV40'ınki ile %76 aminoasit homolojisi gösterdiği için aynı fonksiyonların çoğunun benzer şekilde uygulandığı düşünülmektedir [12]. Büyük T-antijeni; BKV replikasyonunun aktivasyonu, hücrel bağışıklık tanıma ve onkojenite de önemlidir [13].

Düzenleyici bölge veya transkripsiyon kontrol bölgesi olarak da bilinen kodlama yapmayan kontrol bölgesi (NCCR), erken ve geç bölgeyi ayıran, nükleozom içermeyen bir bölgedir [12]. Kodlama yapmayan bölgedeki farklılıklar; arketip ve yeniden düzenlenmiş BKV olarak adlandırılan BKV genomunun iki biçimini ayırt eder. Arketip virüsün; kalıcı, asemptomatik enfeksiyon oluşturabilen bulaşıcı form olduğu düşünülmektedir. Yeniden düzenlenmiş varyant kodlama yapmayan bölge ise içinde silinmeler veya kopyalar içerir ve BKV'nin hastalıkla ilişkili formudur [20]. Kodlama yapmayan bölge, konakçı hücrel düzenleyici faktörler için çeşitli bağlama bölgeleri içeren, yüksek değişken bir bölgedir. Bu nedenle de ayrıca yüksek değişken (hipervariable) düzenleyici bölge olarak da adlandırılır[21]. Kodlama yapmayan bölgedeki farklılıklara yol açan moleküler mekanizmaların doğası hala belirsizliğini korumaktadır [12].

BK virüs arketiplerinin kodlama yapmayan bölgesi, TATA kutusu ve TATA benzeri elementleri de içeren O(142 bp), P(68 bp), Q(39 bp), R(68 bp), S(63 bp) beş bölgeye ayrılmaktadır. Bethge ve arkadaşları birçok transkripsiyon faktörü ve bağlanma bölgelerini detaylı bir şekilde incelemiştir ve Sp1'in önemli bir rolü olduğunu kanıtlamışlardır. Ayrıca NF1, Ets-1 ve NF- κ B gibi diğer transkripsiyon faktörlerinin de fonksiyonları çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Moens ve arkadaşları ise transkripsiyon ve replikasyonda rol oynayan cAMP, forbol ester, glukokortikoid/progesteron ve östrojen duyarlı elementleri tanımlamışlardır [11].



Resim 2.2. BKV genomu [11] ORI; replikasyon orijini, NCCR; kodlama yapmayan kontrol bölgesi, CRE; cAMP duyarlı-element, TRE; forbol ester duyarlı element, GRE/PRE; glukokortikoid/progesteron duyarlı element, ERE; östrojen duyarlı element, Sp1, NF1,Ets-1,NF- κB; transkripsiyon faktörleri

Çizelge 2.1. BK virüs gen ürünlerinin fonksiyonu [29]

	BKV Ekspresyon ürünleri	Fonksiyonları
Erken	Büyük tümör antijeni (TAg)	Hücre döngüsünün ilerlemesi, apoptozisin inhibisyonu, viral replikasyon
	Kesilmiş büyük T antijeni (truncTAg)	Hücre döngüsünün ilerlemesi, viral replikasyon
	Küçük T antijeni (tAg)	Hücre döngüsünün ilerlemesi
	3p-miRNA	Viral kalıcılık
	5p-miRNA	Viral kalıcılık
Geç	VP1	Dış kapsid yapısı, viral tutunma ve giriş
	VP2	İç kapsid yapısı, viral enfeksiyon
	VP3	İç kapsid yapısı, viral enfeksiyon
	Agno protein	Hayat döngüsü (tutunma, olgunlaşma, salınma)

2.3. Virüsün Sınıflandırılması ve Epidemiyolojisi

BK virüs için popülasyona dayalı analizler 1 ile 4 yaş arasındaki çocukların %64'ünde, 5 ile 9 yaş arasındaki çocukların ise %91'inde BKV antikorlarının varlığının tespit edildiğini göstermektedir [14].

Dünyada BK virüs, serolojik yöntemler ve genotiplendirme yöntemleri kullanılarak dört subtipo ayrılmaktadır (I-IV) [30]. BKV'nin evrimindeki antijenik çeşitliliğinin rolü belirsizliğini hala korumaktadır. Son yıllarda ayrıntılı filogenetik yöntemler kullanılarak BKV evriminde antijenik değişikliklerin rolü açığa kavuşturulmaya çalışılmıştır. Sonuçlar BKV evrimine antijenik değişikliklerin de katkıda bulunduğunu göstermesine rağmen tüm genom üzerindeki nükleotidlerin BKV'nin evriminden sorumlu olduğu gösterilmiştir [31].

Dünyadaki BK virüs suşları 1993 yılından önce, serolojik bir yöntem kullanılarak 4 alt tipe sınıflandırılmıştır. Kullanılan bu yöntem duyarlı hücrelerin kullanılması ile virüslerin geri kazanılmasına dayandığı için zahmetli ve uzun zaman gerektirmekteydi. Daha sonra 1993 yılında Jin ve arkadaşları PCR yöntemi ile alt tipler arasında serolojik bir farklılıktan sorumlu olası bir epitop bölgesini içeren BKV genomunun 287-bp VP1 kısmını çoğaltarak dizilemişlerdir. Dizilemeler alt tiplere özgü tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP'ler) tespit etmek için kullanılmışlardır. Subtiplerin sınıflandırılması, tam genomun ve büyük T antijeninin gen sekanslarına dayanan filogenetik analizler kullanılarak gerçekleştirilmiştir [32]. Son yıllarda sıklıkla kullanılmakta olan PCR testleri ile birlikte BKV genomik çeşitliliği hakkındaki bilgiler artış göstermiştir [33].

Subtip I dünyada %46-82 oranı ile en yaygın görülen subtiptir. Subtip I her biri belirli bir coğrafi dağılım modeli sunan 4 alt gruba ayrılmaktadır (Ia, Ib-1, Ib-2 ve Ic). Altgrup Ia; Afrika'da daha yaygın görülmektedir. Altgrup Ib-1; Amerika, Avrupa, Japonya, Çin ve Güneydoğu Asya'da görülür. Ib-2 ise Avrupa ve Kuzeydoğu Asya'da görülmektedir. Subtip II ve subtip III sırasıyla %0.6 ve %0.9 frekansları ile nadiren tespit edilebilmektedirler. Subtip IV ise IVa-1, IVa-2, IVb-1, IVb-2, IVc-1 ve IVc-2 olmak üzere 6 alt gruba ayrılmaktadır. Bu alt grupların çoğu Kuzeydoğu Asya ve Avrupa'da görülen IVc-2 hariç Doğu Asya bölgelerinde bulunmaktadır [33, 34]. Subtip IV esas olarak Doğu Asya'da yaygın bir şekilde tespit edildiği için bu subtipin Doğu Asya'dan geldiği düşünülmektedir [32].

BK virüs subtip I ve subtip IV'ün alt gruplarının popülasyonlar arasındaki dağılımı Çizelge 2.2. de gösterilmektedir. BKV genotipleri ile ilgili rapor edilen prevalans yüzdeleri genellikle immün sistemi baskılanmış bireylerden rapor edilen bilgilere dayanmaktadır. Bu sebeple genel popülasyondaki BKV genotip dağılımını net olarak açıklayamamaktadır. Ayrıca spesifik BKV genotiplerinin böbrek transplantasyonu sonrası görülen BKV ilişkili

enfeksiyonun riski, klinik seyri ve şiddeti arasındaki ilişki hakkında çok az bilgi bulunmaktadır [35].

Çizelge 2.2. BK virüs subtip I ve IV'ün alt gruplarının popülasyonlar arasındaki dağılımı [32]

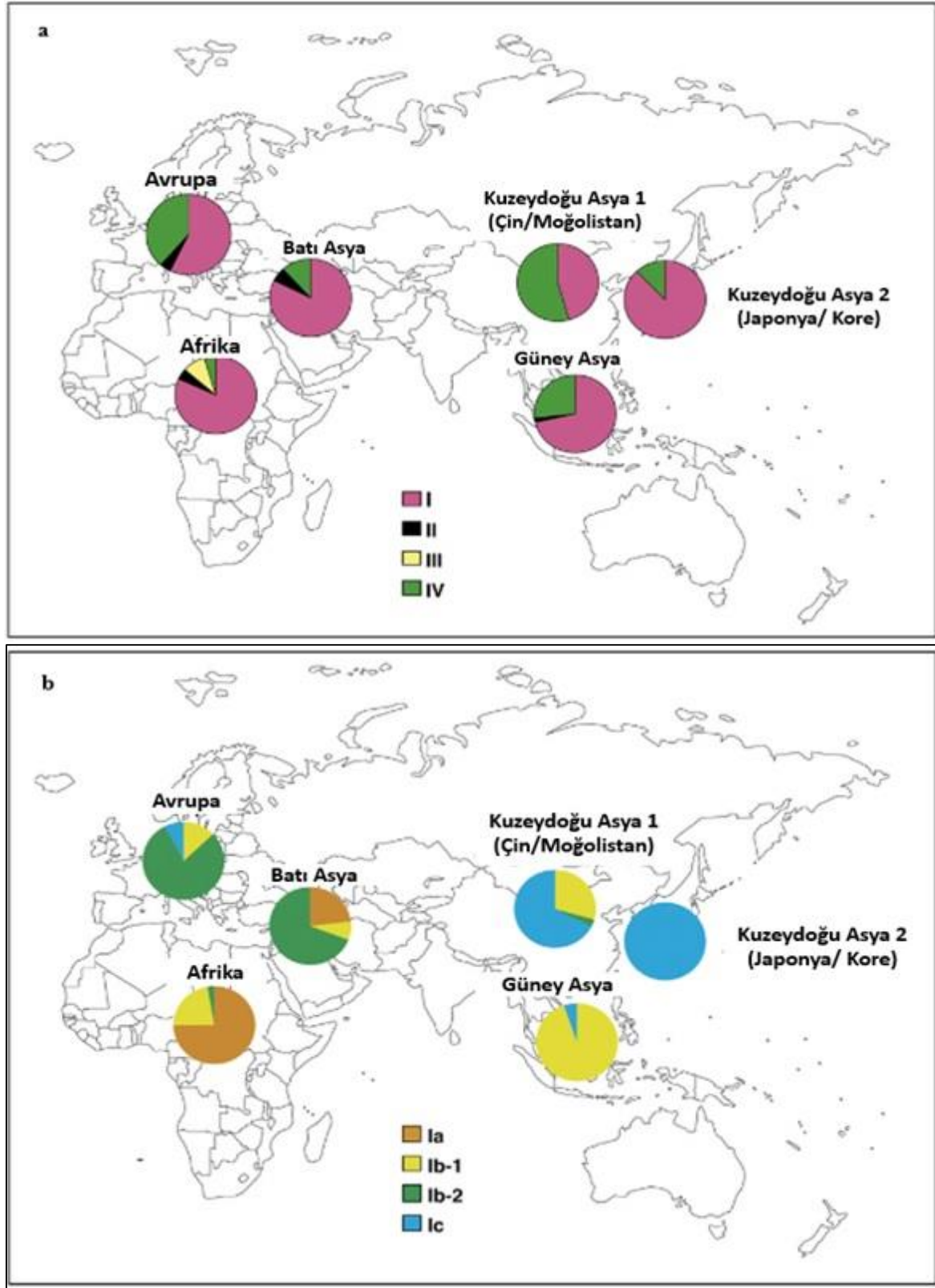
Subtip	Subgrup	Birincil derecede yaygın olduğu insan popülasyonları
I	Ia	Afrika (Batı Asya)
	Ib1	Güneydoğu Asya (Güney Çin)
	Ib2	Avrupa, Batı Asya
	Ic	Kuzeydoğu Asya
IV	IVa1	Güneydoğu Asya (Güney Çin)
	IVa2	Güneydoğu Asya (Güney Çin)
	IVb1	Japonlar
	IVb2	Koreliler, Japonlar
	IVc1	Çin (Moğolistan, Güneydoğu Asya)
	IVc2	Avrupa, Moğolistan

Zheng ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada; çeşitli coğrafik bölgelerden immunokompetan bireylerden aldıkları idrar örneklerini analiz etmişlerdir. BKV subtip I'in tüm insan popülasyonlarında daha yaygın, subtip IV Avrupa ve Asya'da daha yaygın ancak Afrika'da yaygın olarak bulunmadığını göstermişlerdir. BKV subtip II ve subtip III ise tüm coğrafi bölgelerde nadir olarak görüldüğünü göstermişlerdir. Bu dengesiz coğrafik dağılımın nasıl oluştuğu açık değildir. Ancak subtip IV'ün, önce insan türünün Afrika atalarına bulaşmış ve daha sonrada Afrika dışı göçler ile birlikte dünyaya yayılmış olabileceği düşünülmektedir. Afrika, Avrupa ve Asya'nın bazı bölgelerinde subtip IV oranında konakçıların virüse duyarlılığındaki olası bir değişiklik nedeniyle azalmış olabileceği tahmin edilmektedir. Bir diğer alternatif ise subtip IV bir primattan atalara mensup Asyalılara aktarılmış ve daha sonrada Avrupa kıtasına yayılmış olabileceği tahmin edilmektedir [31]. BK virüs subtiplerinin ve subtip I'in dünya geneli dağılımı Harita 2.1. da gösterilmektedir.

BKV subtip I ve subtip IV'ün her bir alt grubu ile insan popülasyonu arasında yakın bir korelasyon bulunmaktadır. Bu gözlem BKV'nin insan nüfusu ile birlikte göç ettiğini göstermektedir. Avrupalıların, Christopher Columbus'un keşfinden sonra Yeni Dünya'ya göçü bu tahminin doğruluğu için uygun bir görüş sağlamaktadır. Zhong ve arkadaşları Kuzeydoğu ABD ve Güney Kaliforniya'daki iki Amerikan popülasyonunda BKV alt tip profillerini, Finlandiya ve İrlanda'daki iki Avrupa popülasyonunda ve Japonya ile Çin'deki iki Asya popülasyonunda karşılaştırmışlardır. Alt türlerin sıklığı tüm popülasyonlarda yüksek bulunmuştur. Ancak subtip IV popülasyonlar arasında değişkenlikler göstermekteydi. Subtip I'in Ib2 alt grubu çoğunlukla Avrupa ve Amerikan

popölasyonlarında tespit edilirken, Ic alt grubu istatistiksel olarak anlamlı bir farkla Asya popölasyonlarında baskın olarak bulunmuştur. Bunlara ek olarak Amerikan ve Avrupa popölasyonlarından subtip IV izolatlarının tamamı IVc2 alt grubuna ait iken, Asya popölasyonlarında tüm subtip IV izolatları diğér alt gruplara ait olarak bulunmuştur. Bu bulgular BKV ve insan popölasyonlarının birlikte göçünü desteklemektedir [32]. Avrupa ve Amerika popölasyonlarındaki subtip I alt gruplarının dağılımının oldukça benzer olması birlikte göç hipotezini destekleyen en önemli örnektir [30].

Ikegaya ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada çeşitli klinik durumlarda ve farklı etnik kökenlere sahip dört hasta popölasyonu incelenmiştir. İlk grup 27 Finlandiyalı renal transplant hastası, ikinci grup 35 İrlandalı/İngiliz hematopoietik kök hücre nakli yapılmış ve hemorajik sistiti olan hastalar, üçüncü grup 29 Japon renal transplant hastası ve dördüncü grup ise 31 Japon kemik iliğı transplantasyonu yapılmış hastadan oluşmaktaydı. Tüm hasta gruplarında BKV subtip I baskın olarak, subtip IV düşük oranlarda ve subtip II ve subtip III nadir olarak bulunmuştur. Subtip IV hasta grupları arasında belirgin bir değışiklik göstermektedir. Birinci, üçüncü ve dördüncü popölasyonlarda daha yüksek (%13-30) ve ikinci popölasyonda daha düşük (%3) bulunmuştur. Bu sonuçlar ile subtip IV insidansındaki farklılığın sebebinin etnik kökene mi yoksa klinik duruma mı bağılı olduğunu belirlemek mümkün değildir [36].

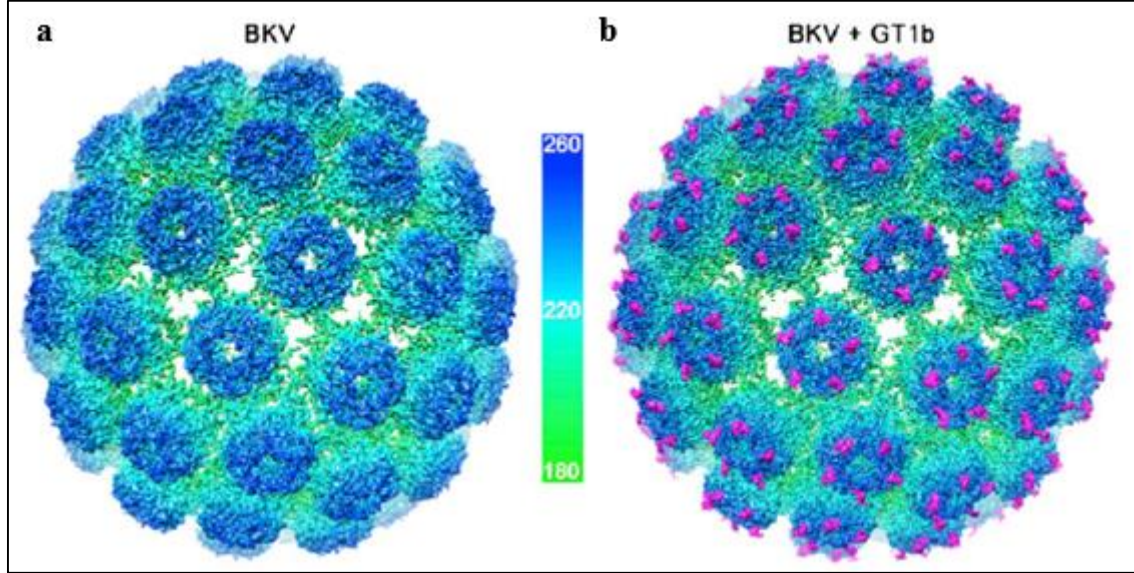


Şekil 2.2. BK virüs subtiplerinin dağılımı a) BK virüs subtiplerinin dünya üzerinde dağılımı b) BK virüs subtip I'in alt gruplarının dağılımı [31]

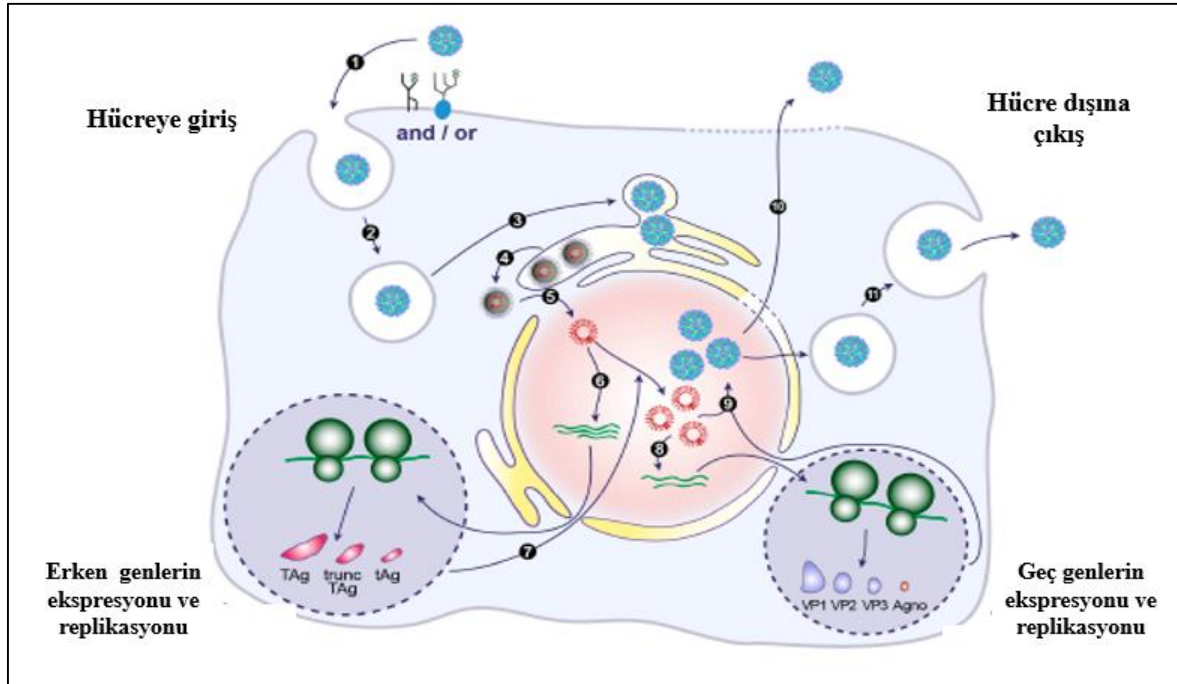
2.4. Hücreye Giriş Mekanizması ve Viral Replikasyon

Bir hücrenin virüs tarafından enfekte olabilmesi için; virüs partikülünün hücre yüzeyine bağlanması ve reseptör(ler) ile etkileşime girmesi gerekmektedir. DNA virüsleri için bu, viral genomun çekirdeğe taşınması gerektiği anlamına gelmektedir[11]. BKV'nin konak hücrelere girişi, tipik olarak klatrin aracılı girişi kullanan diğer Polyomavirüslerin aksine caveol aracılı olarak gerçekleşmektedir [21]. BK virüs gangliosid reseptörleri, GT1b ve GD1b ile etkileşim yaparak hedef hücrelere bağlanmakta ve daha sonra endoplazmik retikuluma caveola aracılı endositoz ile ulaşmaktadır [9]. Ayrıca α 2-3 sialik asit ile N-bağlı bir glikoproteinin BKV için bir reseptör olarak işlev görebileceği bildirilmiştir [37]. BK virüsünün, hedef hücrelere caveola aracılı endositoz yolu ile girebileceğinin ilk belirtisi, bir Afrika yeşil maymununun böbreğinden elde edilen Vero hücrelerinin BK enfeksiyonu çalışmalarından gelmiştir [38]. BK virüsün hücreye giriş mekanizmasını anlamak için yapılan çalışmalarda yaygın olarak böbrek epitel kökenli primer hücreler kullanılmaktadır [3]. Virüsün 72 kapsomerinin çoğunluğunu içeren kapsid proteini VP1 virüs ve hücre yüzeyi arasındaki etkileşimlerden sorumludur [39]. Caveolae aracılı endositozdan sonra BKV mikrotübüller boyunca taşınmaktadır. Bu işlem, mikrotübüllerin dinamikliğinin sağlam olmasını gerektirmektedir [38]. Virüs hücre içine girdikten sonra çoğalmak için çekirdeğe geçiş yapmak zorundadır [29]. BKV, hücre çekirdeğine girerken endoplazmik retikulumdan geçmektedir [38]. Endoplazmik retikulum protein disülfid izomeraz veya diğer disülfid izomeraz benzeri proteinler, VP1 moleküllerinde konformasyonel değişikliklere neden olabilir ve bu durum daha fazla membran penetrasyonuna veya virion demontajına yol açabilmektedir [37]. VP2 ve VP3 kapsid proteinlerinde bulunan nükleer lokalizasyon sinyalleri; VP1 kapsid proteininin soyulmasından sonra BKV'nin çekirdeğe importin- α/β yolu ile girmesini yönlendirmektedir [21, 29]. BKV, hücre içi taşınması için sağlam bir aktin hücre iskeleti gerekli değildir [11]. Virüs çekirdeğe girer girmez ilk olarak erken kodlama bölgeleri kopyalamaya başlamaktadır, bu da geç kodlama bölgelerinin transkripsiyonunu düzenlemektedir [12, 20, 21]. LTag; enfekte hücreyi, retinoblastoma (Rb) tümör baskılayıcı protein ailesinin (pRb, p107, p130) üyelerine bağlanarak viral replikasyon için hazırlamaktadır. Böylece G0 veya G1'den replikatif S fazına döngüsünün ilerlemesini uyarmaktadır. Ayrıca LTag tümör baskılayıcı p53'e bağlanarak da apoptozu önlemektedir [12].

Virüsün replikasyon kapasitesine temel olarak kodlama yapmayan bölge tarafından karar verilmektedir. Ancak erken ve geç bölgelerdeki polimorfizmler de bunu hücre kültüründe ve muhtemelen *in vivo* olarak da etkileyebilmektedir [12]. BK virüsün yapısı Resim 2.3. da gösterilmektedir.



Resim 2.3. BK virüs yapısının üç boyutlu gösterimi [20] a) BK virüs yapısının üç boyutlu gösterimi b) GT1b (eflatun) reseptörü ile BKV yapısının üç boyutlu gösterimi



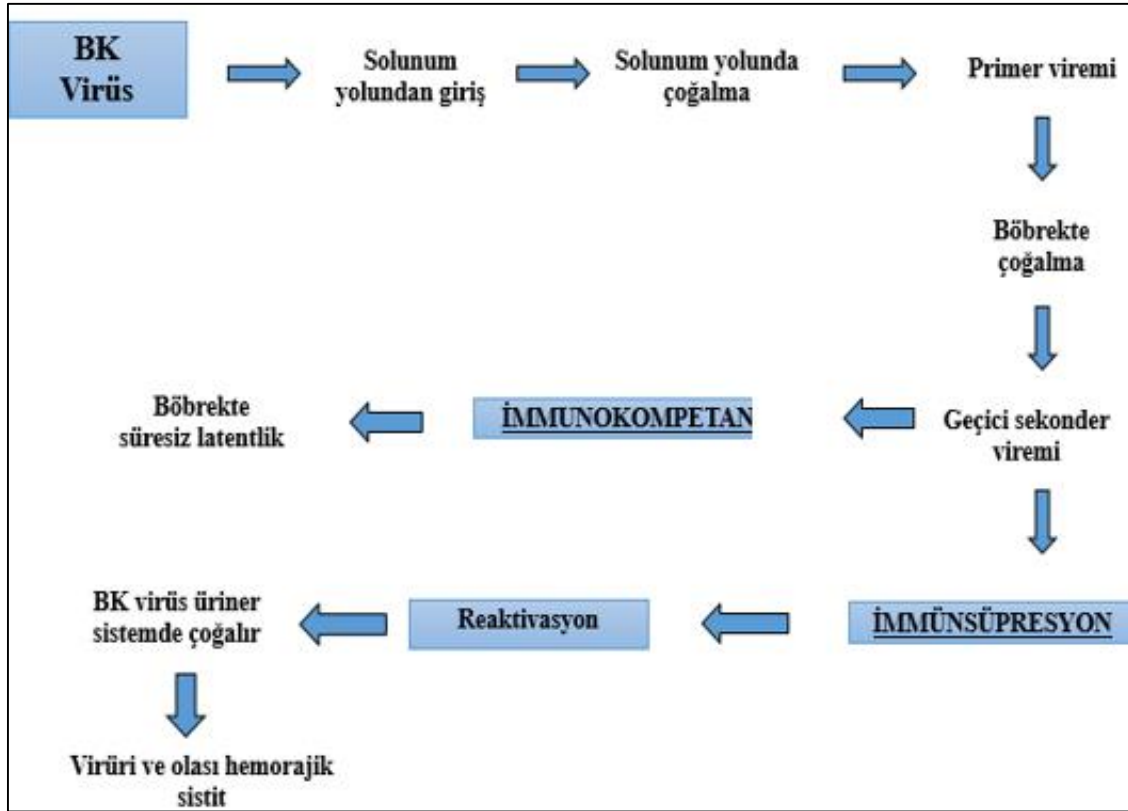
Resim 2.4. BK virüsün hayat döngüsü [11] 1) BKV enfeksiyonu, viriyonların gangliosid reseptörlerine (özellikle GT1b ve GD1b) ve/veya hücre yüzeyinde $\alpha(2,3)$ bağlı sialik asit içeren bir N-bağlı glikoproteine bağlanmasıyla başlamaktadır. 2) Bunu, absorpsiyondan sonraki ilk 4 saat içinde kaveola aracılı endositoz aşaması izlemektedir. 3) Virüs daha sonra geç endozomlardan endoplazmik retikuluma, enfeksiyondan yaklaşık 10 saat sonra geçmektedir. 4) Endoplazmik retikulumda virionlar, kapsid soyulmasını kolaylaştırmak için; şaperon, disülfid izomeraazlar ve redüktazlardan yararlanırlar. Bu, endoplazmik retikulum membranına bağlanan ve entegre olan VP2/VP3'ü açığa çıkartan hidrofobik bir yüzey oluşturmaktadır. Kısmen soyulmuş virüsün sitozole salınmasına yol açar. Bu da endoplazmik retikulum ile ilişkili protein bozulması (ERAD) mekanizmalarını da içermektedir. 5) Viral genom daha sonra VP2/VP3 NLS ve importin $\alpha/\beta 1$ yolu ile nükleer por kompleksleri aracılığı ile çekirdeğe taşınmaktadır. 6) Erken genlerin ekspresyonu, enfeksiyondan yaklaşık 24 saat sonra meydana gelmektedir. 7) Erken proteinler, viral DNA replikasyonunu başlatma görevi yaptıkları için çekirdeğe transloke edilirler. 8) Geç genler daha sonra eksprese edilirler. 9) VP1, VP2 ve VP3; yeni sentezlenmiş çift sarmallı DNA'nın paketlenildiği kapsidler oluşturmak üzere çekirdeğe aktarılırlar. 10) Öncül (progen) virionları; temel olarak hücre lizisinden sonra, enfekte olmuş hücrelerden salınırlar. 11) Bununla birlikte, öncül (progen) virionlarının bir kısmı, hücresel sekresyon yoluna bağlı, litik olmayan bir çıkış yolu ile de hücre dışına salınabilirler

2.5. Virüsün Patogenezi

Genel popülasyonun %90'ından fazlası BKV ile enfekte olmuş durumdadır [8]. Bununla birlikte virüsün bulaş yolları hala belirsizliğini korumaktadır. Ancak BKV'nin çevresel inaktivasyona karşı direnci ve kanalizasyon ile diğer su kaynaklarındaki yüksek konsantrasyonlardaki varlığı fekal-oral iletimi göstermektedir [29]. BK virüs

transmisyonunun diğ er potensiyel yolları arasında transplasental geçiş, idrar ile bulaş, semen, kan ürünlerinin transfüzyonu ve organ transplantasyonu bulunmaktadır [14]. Primer enfeksiyondan sonra BKV immunitesi sağlam bireylerde latent kalmaktadır ve herhangi bir hastalığa neden olmamaktadır. Sağlıklı bireylerin yaklaşık %5’inde asemptomatik düşük düzeyli virüri görülebilmektedir. Latent BKV’nin klinik olarak anlamlı reaktivasyonu HIV enfeksiyonu veya transplantasyon gibi bağışıklığı bastırılmış bireylerde ortaya çıkmaktadır. İmm nokompetan bireylerde, BKV üroepitelyal hücrelerde ve tübüler epitelde herhangi bir komplikasyon olmadan latent olarak kalmaktadır [16, 21].

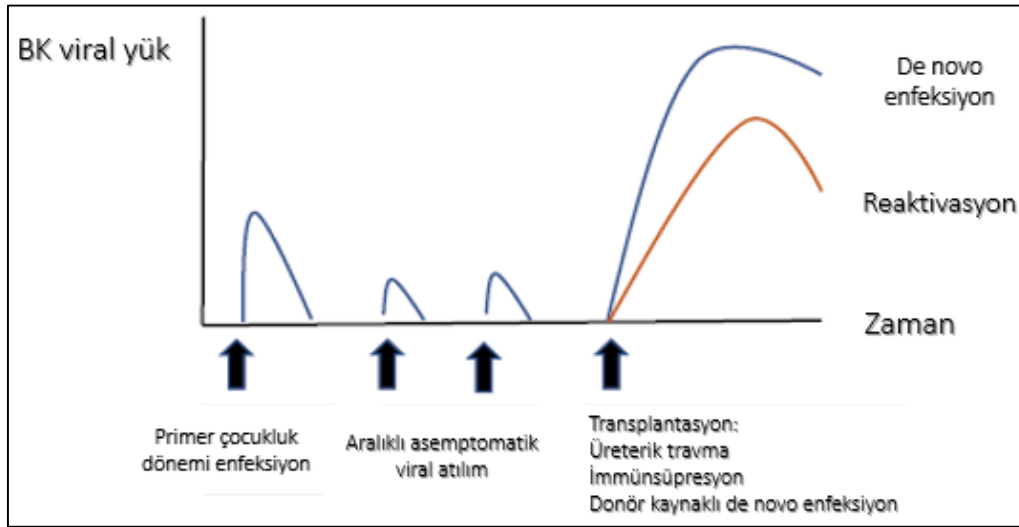
Virüs solunum yollarında çoğalmakta ve daha sonra kan dolaşımı yolu ile diğ er organlara yayılmaktadır. BK virüsün latent enfeksiyonu, renal epitelde ve lenfoid hücrelerde bulunur ve genellikle önemli bir klinik etki göstermemektedir. BK virüs genellikle immünokompetan konaklarda böbrekte latent olarak kalır. İmmünsüpresyon durumlarında ise yeniden aktive olur [16, 28]. BKV ayrıca virüsün DNA’sı; lökositlerde, beyinde ve lenf düğümlerinde, karaciğer, mide, akciğer, paratiroid bezleri, periferik kan mononükleer hücreleri, mesane, rahim ağzı, vulva, prostat, dudaklar ve dil gibi geniş bir yelpazede normal dokularda da tespit edilmiştir [21, 29]. BK virüsün vücutta yayılım mekanizması şekil 2.3’ de gösterilmektedir. İmmünsüpresyon, BKV’nin reaktivasyonuna tek başına sebep olmamaktadır. Ayrıca reaktivasyon için seçici durumlar mevcuttur. Böbrek dışı solid organ nakli alıcılarında BKV reaktivasyonu oranı oldukça düşükken böbrek nakli alıcılarında virüri, viremi ve nefropati çok daha yaygın oranlara sahiptir [14]. BKV’nin konak hücrede latent kalması veya düşük bir gen ekspresyonu düzeyi sağlayıp sağlayamadığı hala belirsizliğini korumaktadır. Virüslerin latent kalma mekanizmaları en iyi, viral litik replikasyonu kontrol eden çeşitli genlerin düzenlenmesini araştıran Herpes virüslerde çalışılmıştır [21].



Şekil 2.3. BK virüsün vücutta yayılım mekanizması [40]

İmmünsüpresyonla bağlantılı BKV enfeksiyonlarının klinik sunumları; solunum yolu hastalıkları, idrar kesesi, böbrek, merkezi sinir sistemi, göz, sindirim sistemi ve endoteldir. BKV'nin primer enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir ve 5 ila 9 yaş arasındaki çocuklarda %65-90 seroprevalans ile yaşamın erken dönemlerinde ortaya çıkmaktadır [4]. Yeni doğanlarda 6 ayda nadir görülen maternal antikörler vardır. BKV seroprevalansı yaş ile birlikte azalmaktadır. Reaktivasyonun ilk kanıtını temsil edebilen virüri, hem sağlıklı hem de immün sistemi baskılanmış kişilerde tespit edilebilmektedir. Bununla birlikte hamile kadınlarda asemptomatik virüri, (hormonların etkisiyle çoğunlukla glukokortikoid ve östrojen-progesteron kombinasyonu) ve çocuklarda aralıklı asemptomatik viral atılım görülebilmektedir. Bu durum herhangi olumsuz bir sonuçla ilişkilendirilmemiştir [9, 20]. BK virüs enfeksiyonunun doğal süreci Şekil 2.4'de gösterilmektedir. Renal transplant alıcılarında, BKV reaktivasyonu ve replikasyonunun izlendiği çeşitli prospektif çalışmalar hem virüri hem viremi için en yüksek insidansın nakil sonrası ilk 1-3 ay içinde ortaya çıktığını göstermektedir. Bu durumun sebebinin ise aşırı immünsüpresyon olduğu düşünülmektedir [41].

Hastalar BKV'nin erken reaktivasyonu sırasında virüsün sadece idrarda bulunduğu BK virürisi geliştirmektedir. Enfeksiyon böbrek greft korteksine ulaştığında, BK viremi ve nihayetinde BKV nefropatisine yol açmaktadır. BK virürisi 6 ila 12 hafta içerisinde BK viremisine yol açan bir öncül olarak bilinmektedir. Viremi ise 2 ila 6 hafta içerisinde BKV nefropatisine yol açan bir öncüdür. Bununla birlikte, birkaç ay boyunca BKV nefropatisine ilerlemeden sadece BK virürisi veya BK viremi gelişen bazı hastalarda spontan remisyon meydana gelmiştir [18].



Şekil 2.4. BK virüs enfeksiyonunun doğal süreci [20]

Böbrek nakli alıcılarında, virüs başlangıçta distal epitel hücrelerinde çoğalır; nekroz, lokal hasar ve iltihabın başlamasına yol açmaktadır [9]. Bu durum, tübüler bazal membranın açılması ile sonuçlanmakta ve intratübüler boşluğa ve peritübüler kılcal damarlara viral yayılım olmasına sebep olmaktadır [15].

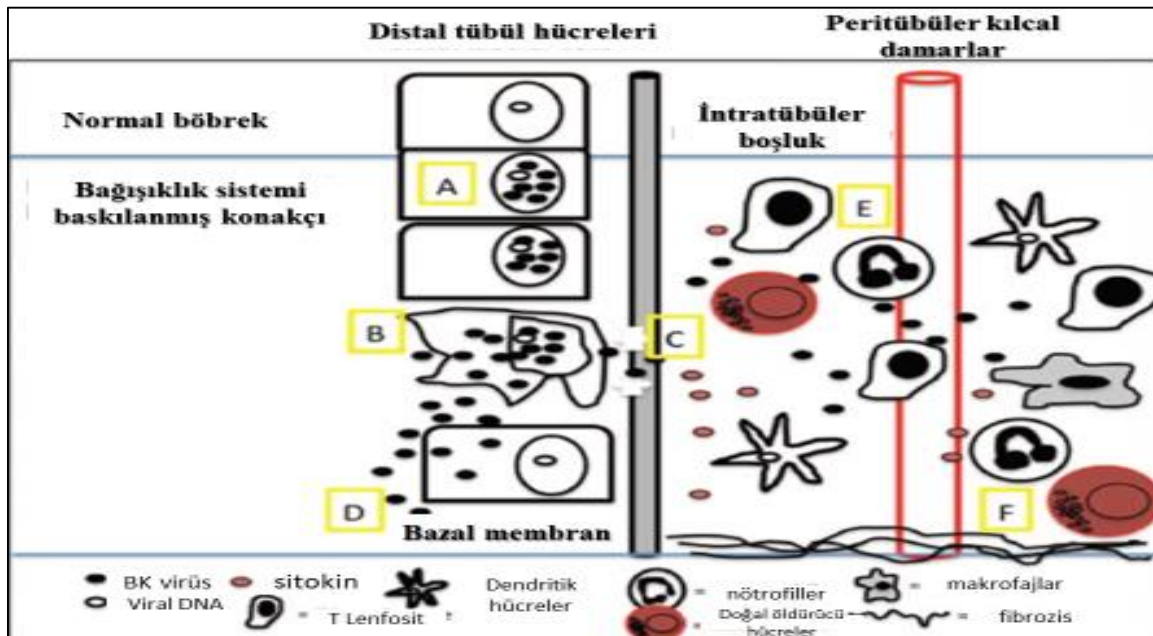
BK virüsün ürotelyal epitele afinitesi, kolektif kanalların epitel astarlarının enfeksiyonu, renal kaliks geçiş epitel hücreleri, Bowman kapsülünün parietal epiteli, renal pelvisin geçiş epiteli ve idrar yolu ile karakterizedir [42]. İdrar kesesinden üroepitelyum boyunca artan enfeksiyon, üreteral stenoza ve daha sonra allogreft obstrüksiyonuna neden olmaktadır [38]. Aktif enfeksiyonun klinik bulguları ise nefropati ve üreterik stenoz şeklinde görülmektedir [15]. Hastalığın ilerleyişi Şekil 2.5' de gösterilmektedir.

Nefropati genellikle idrar veya plazmada virüs varlığı görüldükten sonra başlamaktadır. Belirtileri ise asemptomatik yüksek serum kreatini seviyesi, ateş veya hematüri ile değişmektedir [43].

BKV ile ilişkili nefropati; hemorajik ve hemorajik olmayan sistit, asemptomatik hematüri, üreteral stenoz ve interstisyel nefrit içermektedir [43].

BKV nefropatisi gelişen hastaların yaklaşık %50-80'i, CXCL10 gibi proinflamatuvar sitokinlerin neden olduğu glomerüler iltihaplanma derecesine bağlı olarak ve inflamasyonun ciddiyetine, renal tübül hücrelerin ve renal fibrozun yıkımına bağlı olarak greft yetmezliği geliştirebilmektedir [4, 43].

BKV'e bağlı hemorajik sistit, böbrek nakli popülasyonunda nadiren görülmektedir. Ancak literatürlerde bildirilen birkaç vaka bulunmaktadır [44].



Şekil 2.5. BK virüsün patofizyolojisi, BK virüs nefropatisinin gelişimi [15] İmmün sistemi baskılanmış konakçılarda virüsün reaktivasyonu (A). Hücre nekrozu (B) ve lokal hasar ve iltihabın başlaması. Bazal membran yapısının bozulması (C) intratübüler boşluğun ve ardından peritübüler kılcal damarların enfeksiyonu virüsü ile sonuçlanır. Devam eden viral dağılım (D) viremi ve nefropatiye (E) neden olan sitokin salınımı, iltihaplanma ve hücre hasarı döngüsüne yol açar. Tekrarlayan hücre hasarı, fibroze yol açabilir (F)

2.6. Risk Faktörleri

2.6.1. BK virüs'den etkilenen hasta grupları

BK virüs, böbrek nakli sonrası greft yetmezliği ve kaybının önemli bir etkenidir. Enfeksiyonun takibi için evrensel olarak kabul edilmiş bir yöntem olmamasına rağmen tanısında idrar ve/veya

kan örneklerinden virüsün erken teşhisi, BKV ile ilişkili nefropatinin ve greft kaybının önlenmesi için izlenen temel yöntemdir. Virüsün replikasyonu, transplantasyondan hemen sonra başlar, ardından idrar ve plazmada saptanabilir. BKV bazı durumlarda nefropatiye ilerler [45]. BKV ile ilişkili nefropati en sık böbrek nakli sonrası ortaya çıkar, ancak böbrek dışı diğer solid organ nakli hastalarında ve kemik iliği nakli alıcılarında da nadiren rapor edilmektedir [1]. Bu nedenle, BKV titresinin, nakil sonrası bir yıl boyunca, azalan böbrek fonksiyonu görülen renal olmayan solid organ nakli alıcılarında da değerlendirilmesi önerilmektedir [15]. BKV; hemorajik malignite, konjenital immün yetmezlik ve Wiskott-Aldrich sendromu gibi durumlarda genitoüriner sistemlerde enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Ancak BKV'den etkilenen en önemli hasta grubu, renal ve kemik iliği nakli alıcılarıdır [46].

Virüri; hamilelik, kanser, HIV enfeksiyonu, diyabet ve transplantasyonda ortaya çıkar. Viremi ve BKV nefropatisi ise böbrek nakli dışında nadiren görülmektedir. BK virüs için risk faktörleri; bağışıklık durumu, yaşlılık, erkek cinsiyet, beyaz etnik köken, diyabet, BKV seronegatifliği gibi diğer değişkenler ve transplantasyon sırasında iskemik lezyon ve immünsüpresif ilaç rejimleridir [24]. Geçici BK virüsü tüm allojenik hematopoetik kök hücre nakli alıcılarında görülebilmektedir. Bu hastaların %4 ila %25'inde ise sürekli virüri görülebilmektedir [46].

Özellikle edinilmiş immün yetmezlik sendromlu hastalarda nadir görülen BK dissemine hastalık (tubulointerstitial nefrit, deskuamatif pnömoni, meningoensefalit ve retinit) vakaları da tanımlanmıştır [9]. İmmünsüpresyonun genel derecesi, böbrek nakli alıcılarında BK virüs viremisi gelişimi için tanımlanmış olan en tutarlı risk faktörüdür [44].

BKV nefropatisi için en önemli risk faktörü; alıcının genel immünsüpresyon durumunun yanı sıra hastaya özel uygulanan immünsüpresif rejimlerdir. BKV nefropatisi için diğer olası risk faktörleri ise BKV seropozitif donör ve BKV seronegatif alıcı kombinasyonu, yaşlı bir donör (>65 yaş), erkek alıcı ve yüksek derecede HLA uyumsuzluğudur [47].

2.6.2. Donör ve alıcı kaynaklı risk faktörleri

BKV nefropatisi gelişimi için belirli bir risk faktörü kategorisi, donör ve alıcı arasındaki HLA uyumluluğunun seviyesidir. HLA-A2, HLA-B44 ve HLA-DR15'de donör-alıcı eşleşmesi, böbrek nakli hastalarında BKV viremisi riskinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. HLA uyumsuzluklarının sayısındaki bir artış ile BKN riski de artmaktadır. HLA ve ABO

uyumsuz nakillerde daha yoğun immünsüpresyon durumu ile greft reddi daha belirgin şekilde görülmektedir. HLA uyumsuz nakiller ile karşılaştırıldığında, ABO uyumsuz prosedürlerin BKNV'ye neden olma olasılığı neredeyse üç kat daha yüksektir ve ABO uyumsuzluğu BKNV gelişiminin önemli bir etkeni olarak görülmektedir [28].

Donörde veya alıcıda HLA C7 allelinin yokluğu alıcıda en az 3 kat BKN enfeksiyonu riskini artırmaktadır [2].

BKN için donör ve alıcıların transplantasyon öncesi taranması klinik uygulamada rutin olarak yapılmamaktadır. Ancak donör böbreğinin belki de nakil sonrası BKN viremi ve nefropatisinin kaynağı olabileceği ve donörlerin nakil öncesi taranmalarının BKN enfeksiyonu geliştirme riskinin belirlenebileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır [44].

2.6.3. Transplantasyon sonrası risk faktörleri

Transplantasyon sonrası risk faktörleri arasında, üreteral travma, diyabet, renal transplantta gecikmiş greft fonksiyonu, CMV enfeksiyonu, akut red tedavisi, kümülatif steroid maruziyeti, lenfosit tüketen antikorlar ve takrolimus kombinasyonu immünsüpresyon sayılabilmektedir [41]. Randomize ve çok merkezli olarak, van Doesum ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada mikofenolatın, artmış BK virüs virüsü insidansı ile ilişkili olduğu bulunmuştur [15].

Deneyisel hayvan modelleri, kayıt analizleri, tek merkezli retrospektif çalışmalar ve prospektif randomize klinik çalışmalar, Takrolimusun Siklosporine göre daha yüksek BKN reaktivasyonu riskine sahip olduğunu ileri sürmektedir [48].

Çizelge 2.3. BK virüs enfeksiyonu için önerilen risk faktörlerinin özeti [2]

Donör risk faktörleri	– BKN seropozitif donör – HLA uyumsuzluk derecesi – HLA C7
Alıcı risk faktörleri	– İleri yaşta alıcı – Erkek alıcı – Diyabet
Nakil risk faktörleri	– Akut reddi olayları – Soğuk iskemi zamanı – Gecikmiş greft fonksiyonları – Üreteral stent yerleşimi – Anti-timosit globülin indüksiyonu – Takrolimus veya MMF tabanlı immünsüpresif tedavi

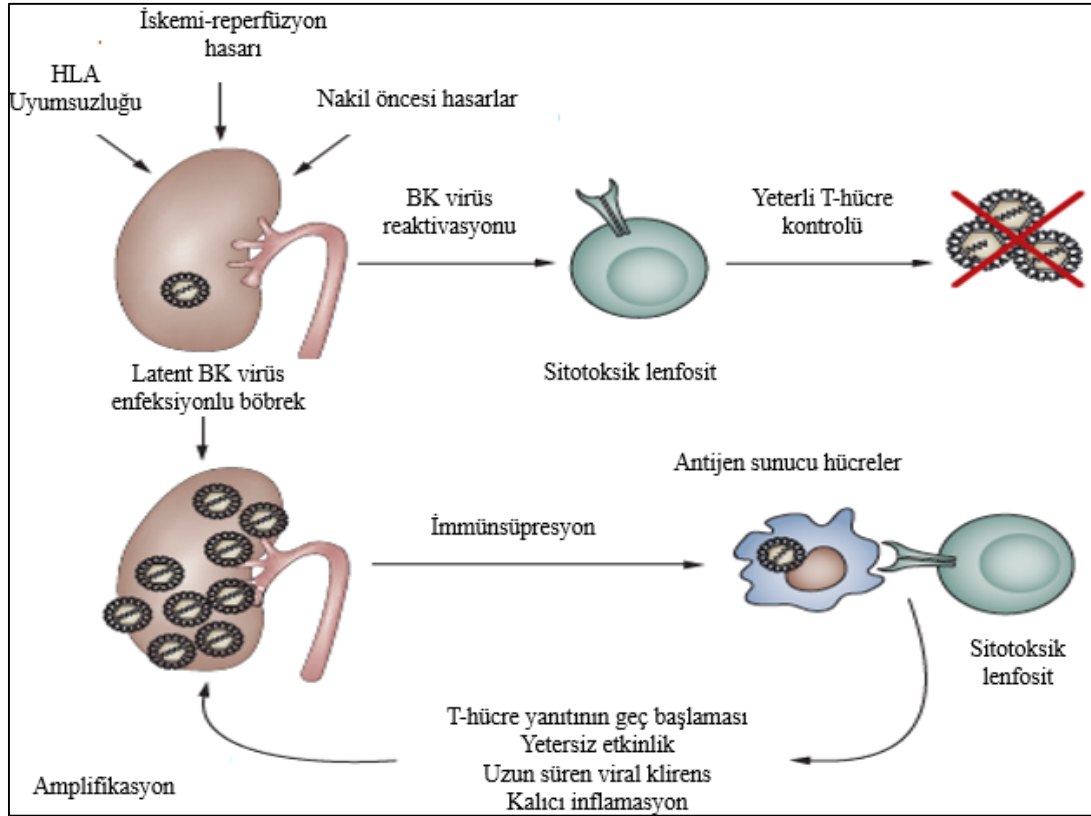
2.7. İmmünoloji

BKV enfeksiyonunda, humoral bağışıklığın koruyucu işlevi ile ilgili ciddi tartışmalar sürmektedir, ancak BKV aktivitesinin düzenlenmesinde humoral bağışıklığın rol oynadığı düşünülmektedir. BKV enfeksiyonunda humoral bağışıklığın rolü ile ilgili ilk çalışmalar 1980'li yıllarda yayınlanmasına rağmen, BKV reaktivasyonu o dönemde böbrek nakli hastaları için klinik bir sorun olarak görülmemekteydi [49]. Spesifik bağışıklığın izlenmesi, bağışıklık sistemi baskılanmış konakçıda viral enfeksiyonların yönetiminde yararlı bir araç olarak değerlendirilmektedir. Viral yük tayini ile birlikte belirli bir bağışıklık yanıtının takibi, yüksek riskli hastalar ve antiviral tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde faydalı olmaktadır [50]. BKV'ye özgü antikorlar yetişkinlerin %80'inden fazlasında mevcuttur. Ancak pediatrik nakil alıcılarındaki çalışmalar BKV antikor titrelerinin çok düşük veya hiç olmadığını göstermektedir [51].

Latent BKV reaktivasyonu muhtemelen immünsüpresyon durumu ile T hücrelerinin viral replikasyonu kontrol edemeyişi ile gerçekleşmektedir [21].

Konağın immün yanıtı, primer viral enfeksiyonun sınırlandırılmasında ve durumun kontrolünde merkezi bir öneme sahiptir. Doğal bağışıklık ve spesifik olmayan efektörler, spesifik humoral ve hücreli bağışıklığın gelişmesine kadar, enfeksiyona karşı ilk savunma hattını temsil etmektedir [50]. BK virüse özgü T hücrelerinin BKV replikasyonunu kontrol etmede ve reaktivasyon süresinde önemli bir rolü bulunmaktadır [49].

Sağlıklı bireyler ile benzer anti-BKV antikor seviyeleri olan hastalarda BKV nefropatisi gelişimi görülebildiği için, tek başına humoral bağışıklık tepkisinin BKV nefropatisine ilerlemenin önlenmesinde önemli bir rol oynamaması muhtemeldir. Ayrıca BKV nefropatili hastalarda yüksek antikor seviyeleri; yüksek viremi düzeyi ve düşük CD8-pozitif T hücre yanıtları ile koreledir [16]. Pediatrik böbrek nakli alıcılarında, BKV'ye özgü antikorların yokluğu, akut BKV enfeksiyonunun artmış oranı ile ilişkilendirilmektedir [49]. BKV kapsid proteini VP-1 koruyucu bir humoral bağışıklık tepkisi ortaya çıkarabilmektedir. Alıcılardaki düşük veya yok BK antikor titreleri ve donördeki yüksek BKV antikor titreleri transplantasyon sonrası BKV enfeksiyonu ile ilişkilidir [51].



Resim 2.5. BK virüs spesifik T-hücrelerinin fonksiyonel aktivitesi [49]. BKV'e karşı yetersiz veya sadece kısmi T hücre aracılı cevaplar, uzun süreli virüs eliminasyonuna ve kalıcı intragraft enflamasyonuna yol açar. Sonuç olarak aktiviteye özgü veya alloantijene spesifik sitotoksik T hücreleri iltihaplı bölgeye göç eder ve BKV peptitlerini veya donör MHC antijenlerini eksprese eden greft hücrelerine saldırır. Bu doku hasarı, BKV proliferasyonunu hızlandırabilen daha fazla aktif sitotoksik T hücrelerinin toplanmasına neden olan ve sonuçta BKVN'ye ilerleyen intragraft inflamasyonunu daha da artırır

2.8. Klinik Bulgu ve Belirtiler

BK virüs; böbrek, üreter ve idrar kesesi epitel dokusunu etkileyen ürotelyotropik bir virüsdür. Bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde BKV enfeksiyonu farklı hasta gruplarında farklı patolojilere yol açmaktadır. Böbrek nakli alıcılarında nefropati ve üreteral stenoz ile ilişkili iken, hematopoietik kök hücre nakli alıcılarında ise hemorajik sistit ile ilişkilidir. BKV ile ilişkili hemorajik sistit, idrar kesesi mukozasında inflamasyonun neden olduğu ağrılı hematüri ile karakterizedir. Hemorajik sistit böbrek nakli alıcılarında nadiren görülmektedir [24, 41, 46]. Hemorajik sistit, diüretikler kullanılarak artan idrar çıkışı, mesane irrigasyonu, ağrı yönetimi ile indüklenmektedir [43].

Polyomavirüs bağlı hemorajik sistitin patogenezi tam olarak açıklanamamaktadır. Ancak; kök hücre nakli öncesi kullanılan siklofosfamidin toksik metaboliti nedeni ile mesane

mukozası hasar görmektedir. Daha sonra aplastik fazda immün hücreler tarafından kontrol edilemeyen yüksek seviyeli BKV replikasyonu, hasar görmüş olan mesane mukozasında denüdayona sebep olmaktadır. Son olarak da allojenik kök hücre greftinin engraftmanı üzerinde iltihap oluşturduğu ön görülen patogenezdır [12]. Kemik iliğı nakli hastalarında hemorajik sistit genellikle transplantasyondan yaklaşık 2 ay sonra gelişmektedir. Hematüri, dizüri, sık idrar çıkışı ve suprapubik ağrı yapabilmektedir. Ayrıca şiddetli kanama ve pıhtı oluşumu ile idrar yolu tıkanıklığı ve böbrek yetmezliği komplikasyonları da görülebilmektedir [52]. BKV; tubulointerstisyel nefrit, üreteral stenoz, vaskülopatiler, pnömoni, hepatit, ensefalit, retinit ve çoklu organ yetmezliği, otoimmün hastalık ve kanser gibi diğer patolojilerle ilişkilendirilmiştir [8]. Üreteral stenoz, böbrek nakli alıcılarının yaklaşık %3'ünde (%2-6 aralığında) ortaya çıkmaktadır ve genellikle nakil sonrası birkaç ay içinde gelişmektedir. İlerleyen cerrahi teknikler ve üreteral stentlerin kullanımındaki düşüş nedeni ile üreterik stenoz daha az sıklıkla bildirilmektedir [12, 24]. BKV ayrıca, DNA ve histonlara karşı antikorlar indükleyerek neoplazmalar ile ilişkili olduğu öne sürülen sistemik lupus eritematozus (SLE) ile de ilişkilendirilmiştir [41].

En sık görülen bulgulardan birisi de renal allogreft fonksiyonunun azalmasıdır. Hasta, serum kreatininde progresif bir yükselme vardır. Bu durum asemptomatiktir [38]. BKV ile ilişkili nefritin tipik renal histolojik bulgusu; interstisyel inflamatuvar hücre infiltrasyonu, lizis, atrofi, tübüler epitelin nekrozu ve interstisyumun fibrozu şeklinde olmaktadır. Piyüri, hematüri gibi üriner anormallikler de bildirilmiştir ancak spesifik değildir [41, 53]. BKV ayrıca; hidronefroz, sistit, vaskülopati, meningoensefalopati, hemofagositik sendrom ve Polyomavirüs ile ilişkili multifokal lökoensefalopati nedeni olarak da nadiren bildirilmiştir [41].

BKV'nin onkojenik özellikleri de in vitro ve in vivo deney modellerinde gösterilmiştir [29]. İmmün yetmezliği olan hastaların merkezi sinir sistemi ile ilgili klinik durumlarda, BK virüs tutulumu ile ilgili bazı vaka raporları bulunmaktadır. İlk bildirilen olgu; hemofili tip 2 ve AIDS'li, subakut meningoensefalit gelişen ve daha sonra ölen bir erkek hastadır. Santral sinir sistemi ve beyin omurilik sıvısı örneklerinde BKV DNA'sı, böbrek ve akciğerlerinde ise BK virüsü düşündüren hücreler bulunmuştur [12].

Çizelge 2.4. BK virüs enfeksiyonunun klinik belirtileri [41]

BKV Enfeksiyonunun Klinik Belirtileri
- Asemptomatik - İnterstisyel nefrit - Hemorajik sistit * - Üreteral stenozis - Hidronefroz - Sistit - Vaskülopati - Meningoensefalopati - Retinitis - Pnömoni - Hemofagositik sendrom - Multifokal lökoensefalopati - Sistemik lupus eritematozus
* Genellikle allojenik hematopoetik kök hücre nakli alıcılarında gerçekleşmektedir.

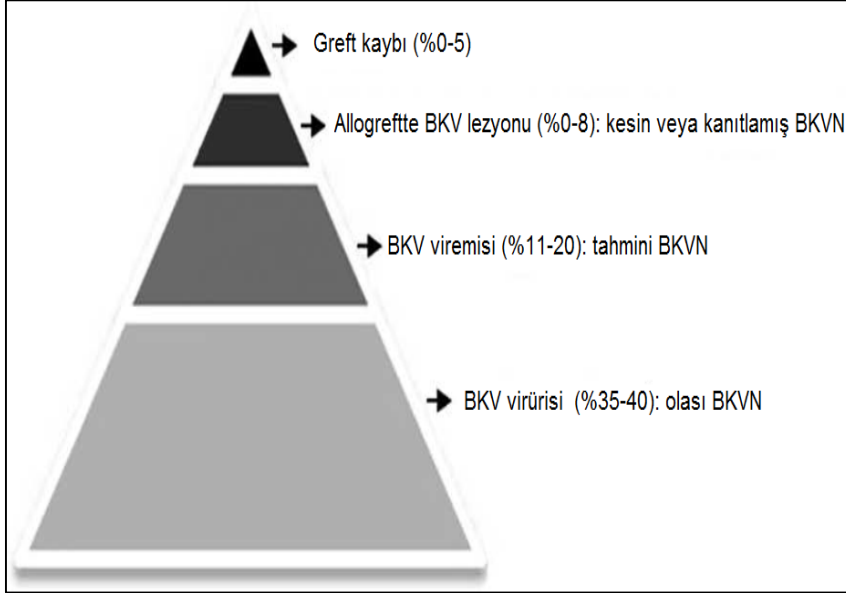
2.9. Tanı

BK virüs nefropatisi riski taşıyan renal transplant alıcılarında erken tanı, doğru değerlendirmeyi ve tedavinin başlatılmasını sağlamaktadır [54]. BKV reaktivasyonunu tespit etmek için kullanılan testlerde en önemli zorluk, risk altındaki renal allograft alıcılarının allograftlerinin zarar görmesini önleyecek tedavinin başlatılmasını sağlayacak kadar erken bir aşamada tespit edebilmektir [49]. Böbrek nakli son evre böbrek hastalığı durumlarında tercih edilen bir tedavi yöntemidir. Başarılı bir böbrek nakli hastanın yaşam kalitesini artırır ve diyaliz ile karşılaştırıldığında çoğu hasta için mortalite riskini azaltır. Bununla birlikte hastalar; enfeksiyon, malignite ve kardiyovasküler hastalıklara duyarlı hale getiren karmaşık immünosüpresif tedavi altında oldukları için nakilden sonra yakından takipleri gerekmektedir [55]. BKV tedavisinde, etkin profilaktik ve iyileştirici tedavilerin mevcut olmaması, klinisyenlerin virüs reaktivasyonunu mümkün olduğu kadar erken saptamak amacıyla klinik ve laboratuvar parametrelerini takip etmelerini zorunlu kılmaktadır [5].

Yakın zamanlarda tanı araçlarının gelişimindeki ilerlemeler ile böbrek fonksiyonlarının bozulmasından önceki aşamalarda virüsün tedavisine olanak sağlamaktadır [50].

BK virüsü tespit etmek ve ölçmek için kullanılan yöntemler enfeksiyonun patogeneziine dayanmaktadır. Viral replikasyon transplantasyondan hemen sonra başlar ve saptanabilir aşamalardan geçmektedir. İlk olarak virüri, daha sonra viremiye ilerlemekte ve daha sonra da şekilde gösterildiği gibi nefropatiye ilerlemektedir. Her olayın başlangıcı değişkendir:

virüri genellikle transplantasyondan 5 hafta sonra bildirilir, ardından 4-5 hafta sonra viremi takip eder ve bu da 8-12 hafta içinde BKV nefropatisine ilerlemektedir [24].



Şekil 2.6. Böbrek nakli sonrası gelişen BK virüs olayları [24]

Böbrek Hastalıklarının Global Sonuçlarının İyileştirilmesi (KDIGO) ve Amerikan Transplantasyon Derneği (AST) kılavuzları, tüm böbrek nakli alıcılarının kantitatif nükleik asit testi (NAT) ile taranmasını tavsiye etmektedir. Bununla birlikte, KDIGO plazma taramasını önerirken AST; idrar veya plazma taraması olup olmayacağını belirtmemektedir [56].

Uluslararası kurallar; BK virüsü replikasyonu için nakil sonrası ilk 2 yıl boyunca en az 3 ayda bir idrar veya plazma taraması, daha sonra 5 yıl boyunca yılda 1 kez ve akut rejeksiyon için tedaviden sonra açıklanamayan bir serum kreatinin artışı varsa BKV taramasını önermektedir [57].

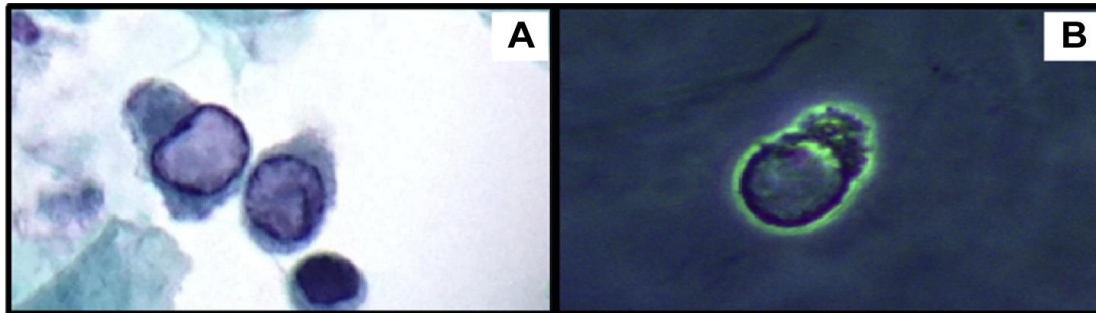
İdrar veya plazmada BKV için, prospektif tarama, erken viral replikasyonu tanımlamak; müdahaleye izin vermek ve nefropati veya allograft kaybına ilerlemeyi önlemek için önerilmektedir. Ancak optimal frekans ve tarama metodolojisi tanımlanmamıştır. Bununla birlikte böbrek fonksiyonu bozukluğu olduğu durumlarda ve transplantasyon sonrası ilk yıl daha sık tarama yapılması önerilmektedir [58]. BKV için etkili bir antiviral tedavi olmadığı için BKV replikasyonu altındaki hastaların erken tanımlanması gerekmektedir. Çünkü immünsüpresyon azaltma stratejisi virüsün neden olduğu enfeksiyonun ilerlemesinin durdurulmasına veya yavaşlamasına izin vermektedir [57].

Polimeraz zincir reaksiyonu ile idrarda viral DNA'nın kantitatif tahmini en sık kullanılan tarama testidir. Ancak virüsün üroepitelyumda bulunması dışında herhangi bir ek bilgi sağlamamaktadır [16]. BKV nefropatisinin klinik seyrinde virüs, serumda görülmeden önce idrarda görünmektedir. Bu nedenle idrar viral yükünün ölçülmesi, nefropatinin gelişme riskinin daha erken bir aşamada değerlendirilmesini sağlamaktadır [59]. Sadece plazma örneğinden viremi taramasını öneren merkezler de olmasına rağmen viremi başlangıcı ve BKV nefropatisi arasındaki kısa zaman aralığı (2 ila 6 hafta arası) immün baskılayıcı tedavinin düzenlenmesi için kısıtlayıcı olmaktadır [56].

BK virüs için mevcut tarama testleri şunlardır; idrar sitolojisi (decoy hücrelerin tespiti), idrar veya kan örneklerinden polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile nükleik asit amplifikasyon testi (NAT) ve virüsün üç boyutlu yapısına dayanan elektron mikroskopisi yöntemleridir (Haufen yöntemi). BK virüs taramasında yaygın olarak idrar ve kan örneklerinden nükleik asit bazlı kantitatif viral yük ölçümü yapılmaktadır. Bununla birlikte; BKV nefropatisi için tarama metodları nefropati gelişimini öngörmek için sınırlıdır. Çünkü kesin tanı sitopatik değişikliklere ve immünohistokimya veya in situ hibridizasyona dayanan histolojik onay gerektirmektedir. Decoy hücreleri, virüri ve viremi, nefropati varlığını kesin olarak göstermemektedir. Bu bulgular sadece viral replikasyonun varlığını göstermektedir [23, 55, 57].

2.9.1. İdrar sitopatolojisi

BK virüsüyle enfekte olmuş tübüler epitel hücreleri idrar ile dökülmektedir ve 'decoy hücreleri' olarak adlandırılmaktadırlar. Decoy hücreleri BKV replikasyonunun morfolojik belirleyicileridir. Viral inklüzyonları olan; büyük, bazofilik çekirdekleri vardır ve üroepitelyal kanserde görünenlerle benzer bir görünüme sahiptirler [2, 52]. Decoy hücreleri standart Papanicolaou boyalı sitoloji preparatlarından tespit edilebilmektedirler [24].



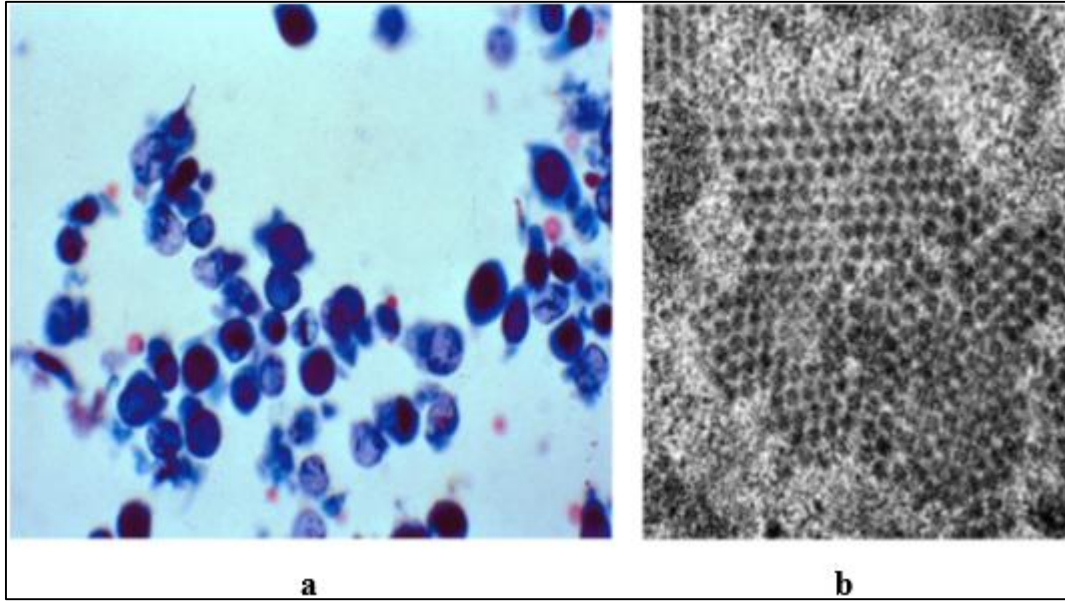
Resim 2.6. Decoy hücrelerinin mikroskopik görünümü [45] a) Papanicolaou boyalı preparat x400 büyütme b) Faz-kontrast mikroskobu ile x400 büyütme

BKV nefropatisi olan hastaların idrar sitolojilerinde decoy hücreleri gözlenmektedir. Bu hücreler, viral inklüzyonlarla değiştirilen çekirdekleri olan enfekte böbrek tübül hücrelerinden kaynaklanmaktadır. Decoy hücrelerinin varlığı hassas bir ölçüdür (%100) aynı zamanda ucuz bir maliyeti vardır. Ancak, BKV nefropatisi tanısı için %29 oranıyla düşük pozitif prediktif değere sahiptir [38, 57]. İdrar sitolojisi yöntemi aynı zamanda eğitimli bir sitolog da gerektirmektedir [24]. Decoy hücrelerinin varlığı ayrıca JC virüs ve Adenovirüs enfeksiyonlarında da görülmektedir [43]. Bu yöntem ile farklı tür Polyomavirüslerin ayrımı yapılamamaktadır. Böbrek nakli alıcılarında idrar sitolojisi ile BKV reaktivasyonu tespiti için prospektif tarama ilk kez 2002 yılında uygulamaya konmuştur; ancak BKV nefropatisi hastaların idrarlarında Decoy hücrelerinin tespiti bazı vaka raporlarında ve retrospektif çalışmalarda daha önce açıklanmıştır [49]. BK virüs taramasında idrar sitopatolojisi yöntemi kullanılıyorsa; hastalarda yalnızca decoy hücrelerinin varlığına bağlı olarak tedavi değiştirilmeden önce ek olarak doğrulayıcı bir test de yapmak gerekmektedir [57].

2.9.2. Elektron mikroskopisi

BK virüs virüsünün tespiti için bir başka yöntem de elektron mikroskopik idrar incelemesidir. İlk kez Singh ve arkadaşları silindirik benzeri üç boyutlu Polyomavirüs agregalarının, Haufen cisimlerinin tespitini gerçekleştirmişlerdir [28]. Elektron mikroskobisi yöntemi viral partiküllerin veya 'Haufen' ın üç boyutlu yapısının saptanmasına dayanmaktadır. Bu yöntemin BKV nefropatisi için pozitif ve negatif prediktif değeri oldukça yüksektir (>90'a ulaşmaktadır). Ayrıca bu yöntem ile BKV nefropatisi non-invaziv olarak tespit edilebilmektedir. Ancak oldukça yüksek maliyeti rutin olarak kullanılmasını kısıtlamaktadır [24]. Şu anda, bu yöntemin en büyük yararı BKV nefropatisi ve asemptomatik BKV replikasyonu arasındaki ayırma görünmektedir. Ancak, bu tekniğin önemi daha ileri çalışmalar ile onaylanmalıdır [28]. Elektron mikroskopisinin ek bir avantajı, diğer virüslerin, örneğin Adenovirüs, tübül hücrelerde benzer sitopatik değişikliklere yol açabilmelerine rağmen, BKV morfolojik olarak kolayca ayırt edilebilmektedir [60].

Haufen tekniği BKV nefropatisinin varlığını %99 oranında doğrulamaktadır. Ayrıca pozitif prediktif değeri %97 ve negatif prediktif değeri ise %100'dür. Ancak, elektron mikroskobisi yaygın olarak bulunmamaktadır ve tekrarlanabilir ek çalışmalar yapılması gerekmektedir [57]. Rutin elektron mikroskobisi, farklı Polyomavirüs suşlarını ayırt edememektedir. Örneğin; morfolojisi aynı olduğu için BK virüsü, JC virüsü veya SV-40 virüslerinden ayırt edememektedir [60].



Resim 2.7. İdrar sitolojisi ve elektron mikroskobu ile decoy hücrelerinin görünümü [60] a) Papanicolaou boyası x250 b) transmisyon elektron mikroskobu, urenil asetat ve kurşun sitrat x25000

2.9.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

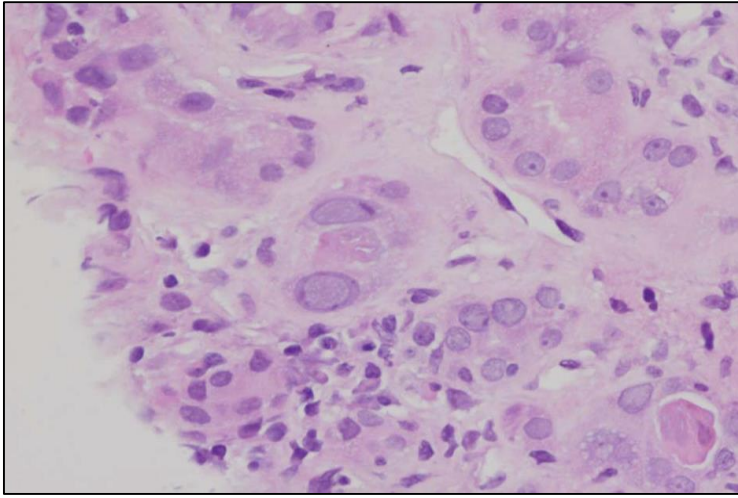
Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile idrarda viral DNA'nın kantitatif tahmini en sık kullanılan tarama yöntemidir [16]. BKV viral yükü negatif idrar, yaklaşık %100 negatif prediktif değere sahiptir [57]. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi, BKV viral yük ölçümü için kullanılan temel teknolojidir. Bu yöntem hızlı geri dönüş süresi, kısa uygulama zamanı ve düşük kontaminasyon nedeni ile tercih edilmektedir. BK viral yükünün idrarda tespit edilmesinin klinik olarak daha faydalı olduğuna dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır. BK virüsü, virüs replikasyonunun ilk işaretidir. BKV replikasyonunun immünolojik kontrolünün başarı oranı erken tespit ile artmaktadır. Bu nedenle önleme ve erken tanı amacıyla BK viral yükünün idrarda izlenmesi gerekmektedir [61].

2.9.4. Patolojik tanı

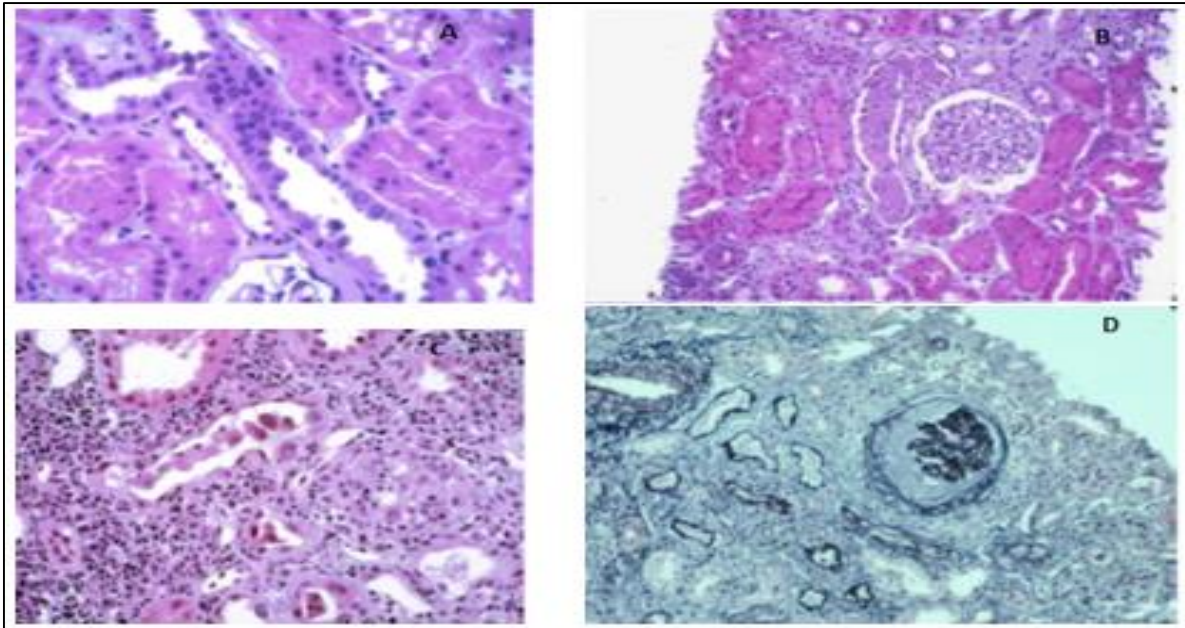
BKV nefropatisi tanısı için tarama stratejileri ve invaziv olmayan testler geliştirilmiş olsa da nefropati tanısını doğrulamak için altın standart allogreft biyopsisidir [62]. BKV nefropatisi için tarama metotları sadece sınırlı öngörü değerine sahiptir. BKV nefropatisinin kesin tanısı doku biyopsisi ile yapılmaktadır. BKV nefropatisi tanısı için böbrek biyopsisi yöntemi invaziv bir yöntem olması ve pratik olmayışı nedeniyle yaygın kullanılamamaktadır [19, 57]. Öte yandan bu yöntemin negatif prediktif değeri %99'dan yüksektir [57]. Böbrekte, ışık mikroskobu ile ilgili

karakteristik bulgular; hücresel genişleme, tübüler bazal membranların denudasyonu ve geçiş hücreleri de dahil olmak üzere epitel hücrelerinde farklı bazofilik intranükleer inklüzyon cisimcikleri ile tübüler hasarlar şeklinde görülmektedir [14]. Resim 2.8’de gösterilmektedir.

BKV nefropatisinin patolojisi dört aşamada ilerlemektedir; ilki medulla içeren sessiz viral inklüzyonlar, ikinci aşaması; akut tübüler nekroz, üçüncü aşama, tübülitli viral interstisyel nefrit, dördüncü aşama ise kronik allograft nefropatidir. Resim 2.9’da gösterilmektedir [19].

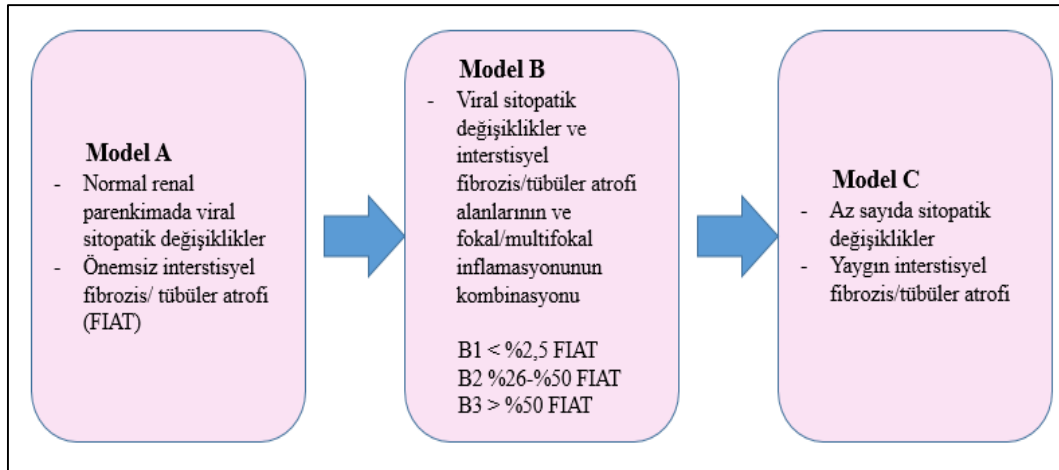


Resim 2.8. Hematoksilen eozin boyaması, epitelial hücrelerde karakteristik bazofilik intranükleer inklüzyon cisimleri [14]



Resim 2.9. BK virüs nefropatisi sitolojisi a) medullada sessiz viral inklüzyonlar, hematoksilen eozin boyama b) akut tübüler nekroz, hematoksilen eozin boyama c) tübülit ile birlikte viral interstisyel nefrit, hematoksilen eozin boyama d) Kronik allograft nefropatisi, gümüş boyama [19]

BKV nefropatisi tanısı için renal biyopsilerin değerlendirilmesi, viral partiküllerin bulunması; renal parankimin fokal bölgeleri ile sınırlı olabileceğinden kesitlerin dikkatli taranması gerekmektedir. Bu nedenle negatif bir biyopsi teşhisi dışlayamamaktadır. Hastanın kanındaki viral yük sürekli yüksek kalırsa bu testin tekrar edilmesi önerilmektedir [23, 60].



Şekil 2.7. BK virüs nefropatisinin histolojik modelleri [23]

2.10. Tedavi

BKV için etkili antiviral ilaçlar geliştirilmeden önce virüsün hücre içine girişi de dahil olmak üzere virüsün yaşam döngüsünün detaylı bir şekilde araştırılması gerekmektedir. BKV ve konak hücre arasındaki etkileşimler henüz tam olarak aydınlığa kavuşmamış durumdadır [63]. BKV enfeksiyonunun tedavisinde amaç; böbrek fonksiyonlarını korumak, akut veya kronik reddi önlemek ve virüsü ortadan kaldırmaktır [38]. BKV enfeksiyonunda; viral yükün izlenmesi ve uygun bir şekilde immün baskılanmasının azaltılması ile BKV nefropatisinin önlenildiği ve greft sağ kalımının artırıldığı gösterilmiştir [14].

BKV nefropatisi için tedavinin temelini, günümüzde spesifik bir anti-viral olmadığı için immün baskılamayı azaltmak oluşturmaktadır. Ancak virüsün temizlenmesinden sonra da akut reddetme sıklıkla görülebilmektedir [16, 43]. BK virüsün tedavisinde genel olarak mikofenolat veya azatioprin gibi antimetabolitlerin durdurulması veya azaltılması yaygın olarak görülmektedir. Bu genellikle kalsinörin inhibitörlerinin azaltılması ile birleştirilmektedir. İmmünsüpresyon sınırı indirildiğinde ve hala böbrek fonksiyonlarında düşüş olduğu durumlarda ise antiviral tedavi başlatılmaktadır [38].

BKV tedavisinde bugüne kadar, ilaç tedavisinin faydaları sadece küçük çalışmalarda gösterilmiştir. Leflunomid, cidofovir, intravenöz immünoglobulinler (IVIg) veya siprofloksasinin standart immünosüpresyon azaltımına eklenmesini değerlendiren sistematik incelemeler greft sağ kalımında genel bir iyileşme göstermemiştir. Bununla birlikte hem CMV hem de BKV'yi hedef alan bir aşı, VaxiGen tarafından üç DNA plazmidi dahil edilerek geliştirilmiştir ve şu anda faz 1 klinik çalışmasında değerlendirilmektedir [20].

Azalmış immünsüpresyon ile birlikte, diğer farmasötik tedavi yöntemleri arasında Cidofovir, Leflunomid, kinolonlar ve intravenöz immünoglobulin (IVIg) bulunmaktadır. Cidofovir, AIDS ile ilişkili CMV retinit tedavisi için onaylanmış bir viral DNA polimeraz inhibitörüdür. Polyomavirüsle ilişkili nefropatinin tedavisi için resmi olarak onaylanmamış olsa da, murine polyomavirüsüne karşı etkisi in-vitro olarak gösterilmiştir [43]. Bir sitozin analogu ve viral DNA polimeraz inhibitörü olan Cidofovir BKV replikasyonunu inhibe etmektedir [14]. Cidofovirin BKV'ye karşı etki mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır. Genellikle 1-3 haftalık aralıklarla 0.25 ila 1.0 mg/kg arasında değişen dozlarda intravenöz olarak uygulanmaktadır. Renal klerensi azaltmak için probenitin ile birlikte verilmesi toksisiteyi azaltabilmektedir [16]. Tek başına Cidofovirin BKV viral yükünü etkilediğine dair yeterli kanıtlar bulunmamaktadır. İmmünsüpresyon minimizasyonu, Cidofovir tedavisi ile kombine edildiğinde BK viral yükünde azalma görülmektedir [15].

Leflunomid, hem immünsüpresif hem de antiviral özelliklere sahip olan ve romatoid artrit tedavisi için onaylanmış olan pirimidin sentezi inhibitörüdür. BK viral enfeksiyonundaki etki mekanizması ise, hücre döngüsünün ilerlemesi için gerekli metabolitlerin üretilmesinde rol oynayan mitokondriyal enzimlerin inhibisyonu şeklindedir. Bu inhibisyon, aktif lenfositlerin genişlemesini önlemektedir [43]. Leflunomidin; hepatit, hemoliz, trombotik mikroanjyopati, kemik iliği supresyonu ve fungal pnömoni gibi önemli toksik etkileri tanımlanmıştır [16]. Leflunomidin BKV nefropatisi için kullanımının ilk raporu 2004 yılında yayınlanmıştır. Leflunomidin etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendirmek için prospektif randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır [13].

İntravenöz immünoglobulin preparasyonları, yüksek titrede BKV-nötrleştirici antikora sahiptir. Doğrudan nötralize edici aktivite ve dolaylı immünomodülatör etkiler ile hareket ederek hastalığın başarılı bir şekilde ayrışmasını sağlamaktadır [16]. İntravenöz immünoglobulin mevcut tedavi seçeneklerine bir alternatiftir [14].

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Örneklerin Toplanması

Gazi Üniversitesi Araştırma Hastanesi erişkin nefroloji ve pediatrik nefroloji kliniklerinde böbrek nakli yapılmış olan 41 hasta çalışmamıza dahil edilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen hasta grubunun tamamında böbrek naklinden sonra idrar örneklerinde BKV pozitifliği görülmüştür. Çalışmamızda Ocak 2018- Ocak 2019 tarihleri arasında bu hastaların idrar örneklerinden geriye dönük BKV kantitasyonunun takibi incelenmiştir. Çalışmamıza dahil edilen hastalar 10 yaş- 66 yaş aralığındaydı. Grubun yaş ortalaması ise; ± 34 idi. Çalışmaya dahil edilen hastaların %39,1 (16/41)'i kadın, %60,9 (25/41)'i erkektir. Çizelge 3.1. da gösterilmektedir. Hastaların %26,8 (11/41) pediatrik nefrolojiden %73,2 (30/41)'i erişkin nefroloji bölümlerindendir. Çalışmamızdaki hastaların bir kısmı canlıdan renal transplantasyon, bir kısmı ise kadavra donörden renal transplantasyon yapılmıştır. Örnekler; yaş, cinsiyet, nakil zamanı, viral yükün zamanla değişimi, nakil sonrası ilk ay, üçüncü ay, altıncı ay, dokuzuncu ve on ikinci aylardaki kreatin seviyeleri, decoy hücre aranması yöntemi ve böbrek biyopsisi sonuçları açısından değerlendirilmiştir. Hastalardan alınan idrar örnekleri 2 ml'lik 2'şer ependorf tüpüne alınmış ve çalışma gününe kadar -20°C de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. Hasta gruplarının yaşlara göre dağılımı

Yaş grupları	Erkek		Kadın		Toplam	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
10-17 yaş	7	%17	2	%4,9	9	%21,9
18-30 yaş	6	%14,6	5	%12,2	11	%26,8
31-50 yaş	7	%17	5	%12,2	12	%29,2
51 < yaş	5	%12,2	4	%9,7	9	%21,9
Toplam	25	%60,9	16	%39	41	%100

3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

- Vorteks (Velp ® Scientifica Rx³)
- Santrifüj (National Labnet Co. Mini Centrifuge)
- Örnek kutuları
- 100-1000 µl'lik otomatik pipet (HTL Lab Solutions Discovery Comfort)
- 10-100 µl'lik otomatik pipet (HTL Lab Solutions Lab Mate +)

- 0,5-10 µl'lik otomatik pipet (HTL Lab Solutions Lab Mate +)
- 1000 µl'lik steril filtreli otomatik pipet ucu (NEST NFT1000-R-NS)
- 1-100 µl'lik steril otomatik pipet ucu (KIRGEN Solutions for Science KG5431)
- 0,5-10 µl'lik steril otomatik pipet ucu (HTL Lab Solutions HTL Pipette Tips)
- 2 ml'lik ependorf tüpleri
- 1,5 ml'lik ependorf tüpleri
- EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (48) (Qiagen, Almanya)
- EZ1 Advanced (Qiagen, Almanya)
- *artus*® BK Virus RG PCR Kit (Qiagen, Hilden, Almanya)

3.3. Örneklerden Nükleik Asit İzolasyonu

Hastalara ait idrar örneklerinden nükleik asit izolasyonu EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (48) (Qiagen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (48) (Qiagen, Almanya) içeriği

- Reaktif kartuşu
- Elüsyon tüpü (1,5 ml)
- Örnek tüpü (2 ml)
- Pipet ucu
- Pipet ucu tutucusu
- Carrier RNA (Qiagen, Hilden, Almanya)
- Buffer AVE (Qiagen, Hilden, Almanya)

Örnekler -20 °C'den alınarak PCR işlemi için oda ısısında çözündürülmüştür. Ardından çözülmüş olan örnekler vortekslenmiştir. Nükleik asit izolasyonu ticari otomatize bir sistem olan EZ1 Advanced (Qiagen, Almanya) cihazı kullanılarak EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (48) (Qiagen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. Kitin belirtmiş olduğu protokole uygun olarak, hasta başına 6 µl Internal kontrol, 3,8 µl Carrier RNA ve 50,2 µl Buffer AVE ile bir karışım hazırlanmıştır. Bu karışım her hasta için 1,5 ml'lik elüsyon tüplerine 60 µl olarak ayrılmıştır. Nükleik asit izolasyonu işlemi için 2 ml'lik vidalı kapaklı tüplere 400 µl idrar örnekleri alınmıştır. Cihazın çalışma prensibine uygun şekilde; hazırlanmış olan karışım, idrar örnekleri, boş elüsyon tüpleri,

pipet uçları ve pipet tutucular yerleştirilmiştir. Cihaz izolasyon işlemi sonunda elüsyon hacmi 90 µl olacak şekilde ayarlanarak çalıştırılmıştır.

3.4. Amplifikasyon ve Görüntüleme

Amplifikasyon işlemi *artus®* BK Virus RG PCR Kit (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Malzemeler

- Soğutucu blok (Qiagen, Almanya)
- 0,5 ml'lik reaksiyon tüpleri
- 0,2 ml'lik amplifikasyon tüpleri
- BK Virus RG master
- BK Virus RG İnternal kontrol
- BK Virus RG Magnezyum solüsyonu
- BK Virus Kantitasyon standardı 1 (1×10^4 kopya/µl)
- BK Virus Kantitasyon standardı 2 (1×10^3 kopya/µl)
- BK Virus Kantitasyon standardı 3 (1×10^2 kopya/µl)
- BK Virus Kantitasyon standardı 4 (1×10^1 kopya/µl)
- Su (PCR Sınıfı)

Çizelge 3.2. Amplifikasyon protokolü

Solüsyon	Miktar
BK Virus RG Master Miks	7 µl
BK Virus RG Magnezyum solüsyonu	3 µl
Hasta izolatı	15 µl
Toplam	25 µl

Kullanılacak olan kit -20 °C de muhafaza edilmektedir. İşlem öncesinde oda sıcaklığında gerekli malzemeler çözündürülür. Çözüldükten sonra sırasıyla vorteks ve santrifüj işlemi yapılır. Her hasta için 7 µl master miks ve 3 µl magnezyum solüsyonundan oluşan karışım hazırlanır. Hazırlanmış olan bu karışımdan 10 µl amplifikasyon tüplerine alınır ve üzerine 15 µl hasta izolatından ilave edilir. BKV için kitin belirlediği internal kontrol, negatif kontrol ve pozitif kontrol kullanılmıştır. Amplifikasyon işlemi için Rotor Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazı kullanılmıştır. Hazırlanan amplifikasyon tüpleri cihaza yerleştirilip PCR döngü protokolüne göre çalışılmıştır.

Çizelge 3.3. PCR protokolü

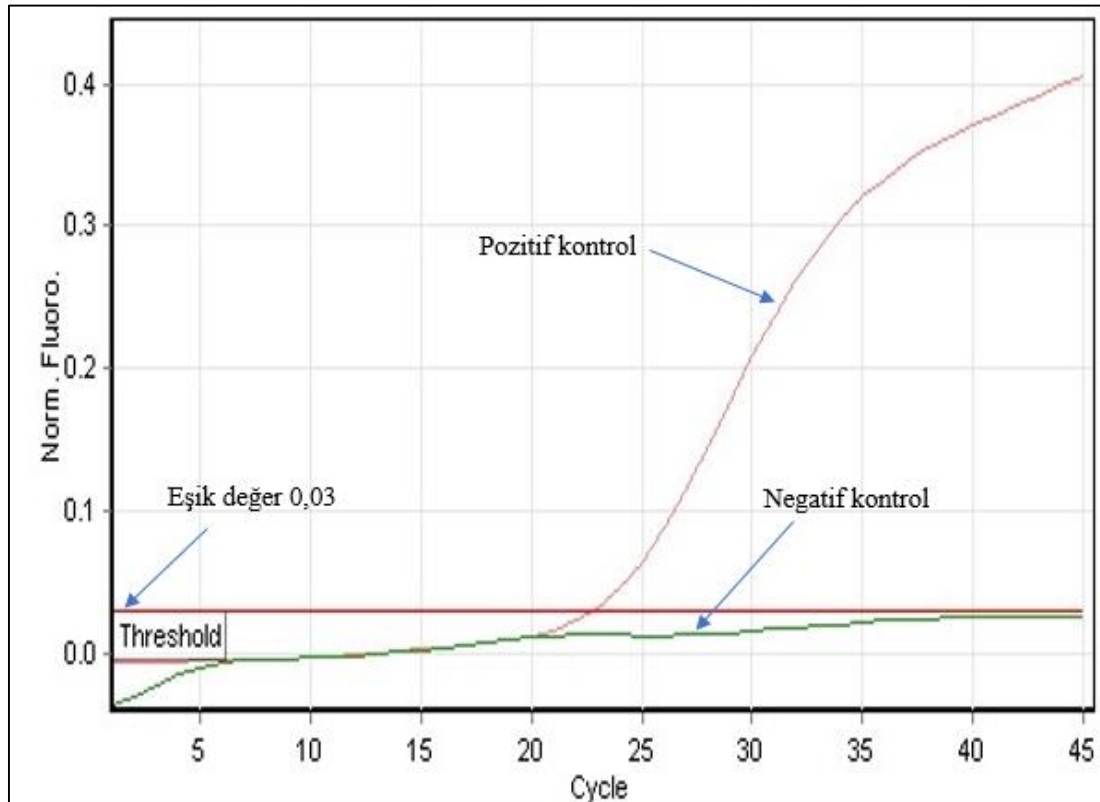
Program	Derece	Süre	Döngü
Ön denatürasyon	95 °C	10 dakika	1
Denatürasyon	95 °C	15 saniye	45
Bağlanma	65 °C	30 saniye	
Uzama	72 °C	20 saniye	

3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

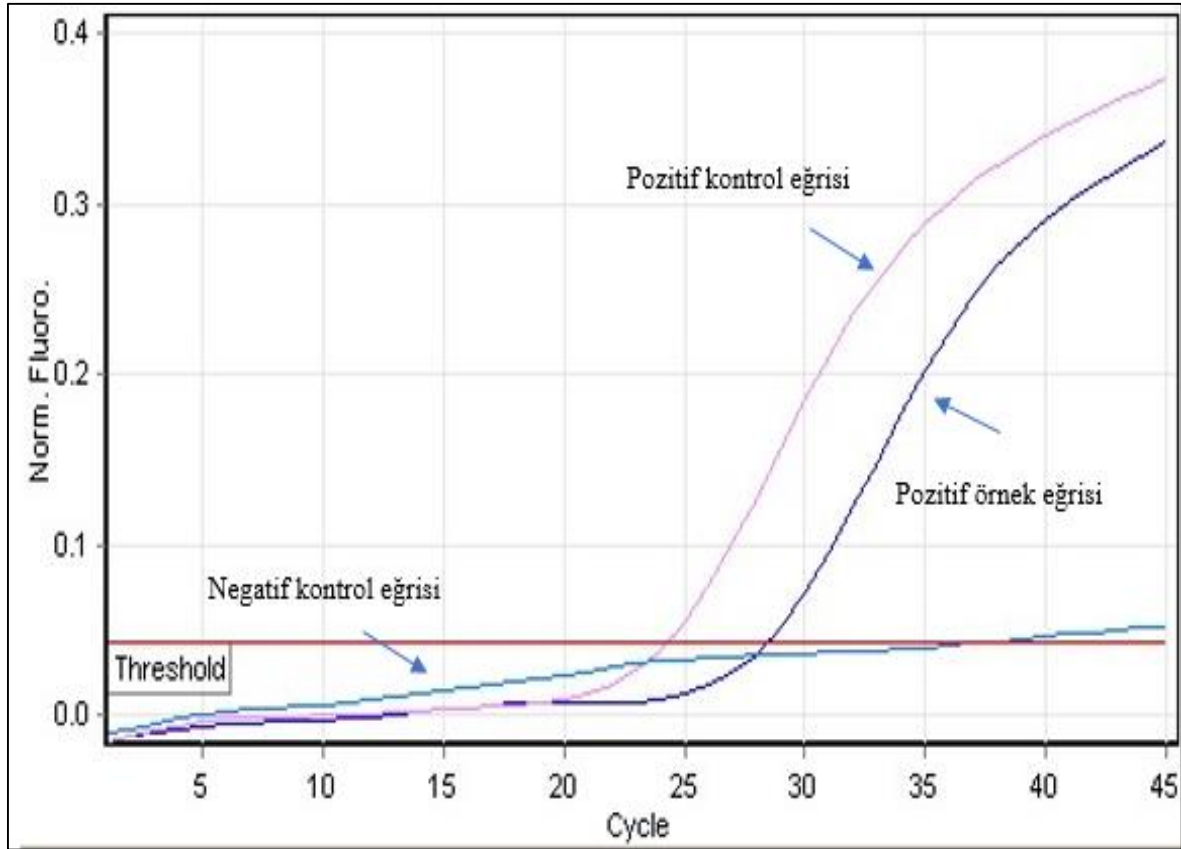
PCR işleminin sonuçları Green ve Orange kanallarından aşağıda belirtilen dalga boylarına göre değerlendirilmiştir. PCR eğrileri; pozitif ve negatif kontroller göz önüne alınarak sonuçlar yorumlanmıştır. (Çizelge 3.4.) Green kanalında bir sinyal algılandığı durumda örnek, BK virüs DNA'sı içeriyor şeklinde yorumlanmaktadır. Orange kanalında ise testin internal kontrolünün tespiti ve eş zamanlı olarak kantitatif standartların (BK Virüs RG QS 1-4) amplifikasyonu yorumlanmaktadır.

Çizelge 3.4. Sonuçların yorumlanmasında kullanılan kanallar ve dalga boyları

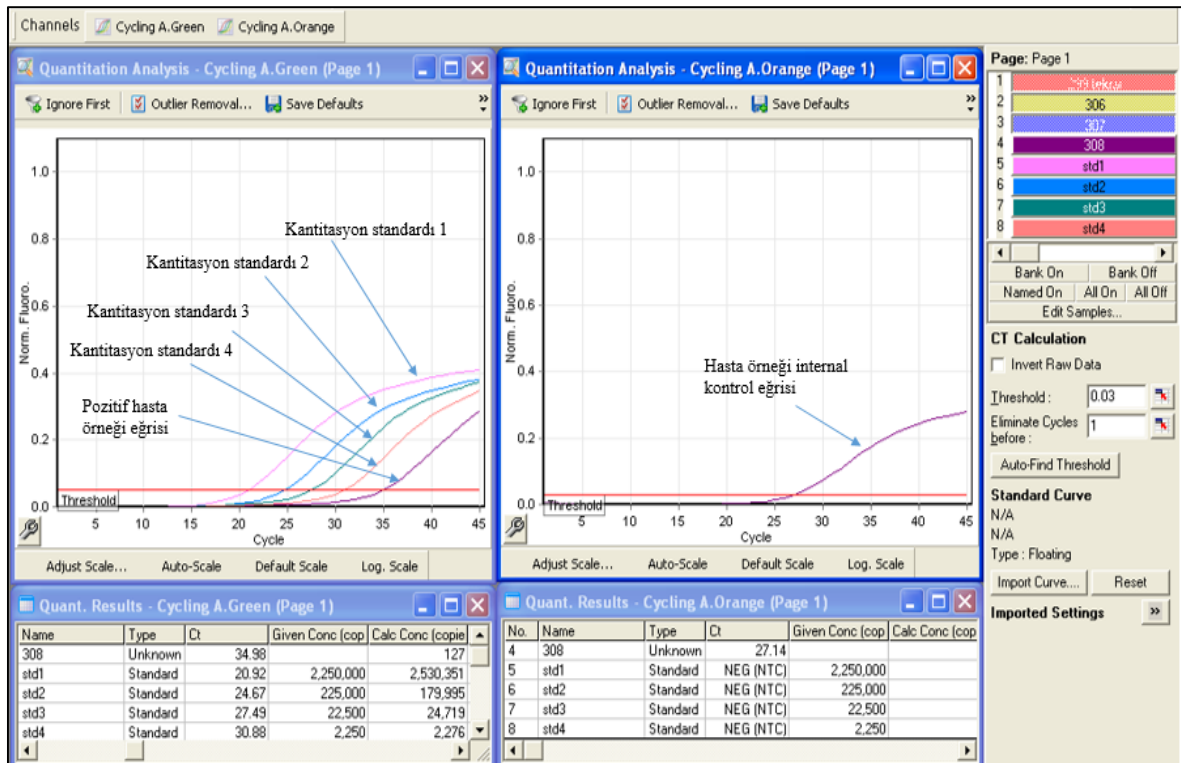
Kanal	Dalga Boyu
Green	470-510 nm
Orange	585-610 nm



Şekil 3.1. Pozitif ve negatif kontrol eğrileri



Şekil 3.2. BK virüs pozitif olarak değerlendirilen örnek eğrisi

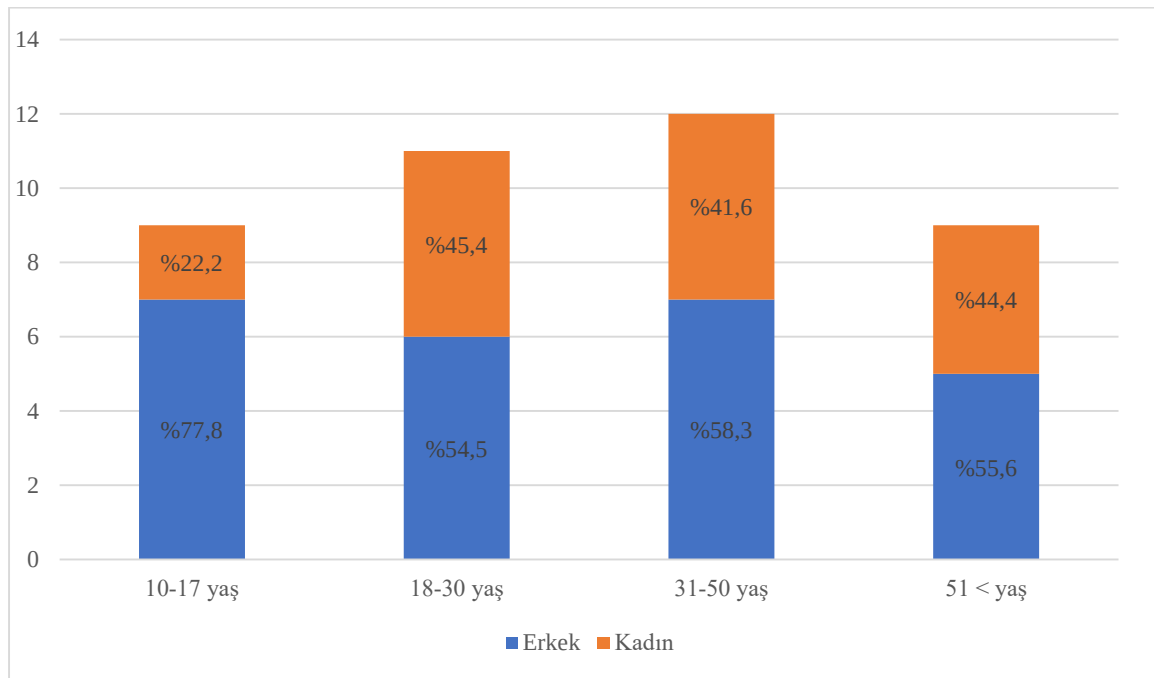


Şekil 3.3. Sonuçların yorumlanması; negatif kontrol, pozitif kontrol ve hasta sonucu eğrisi

4. BULGULAR

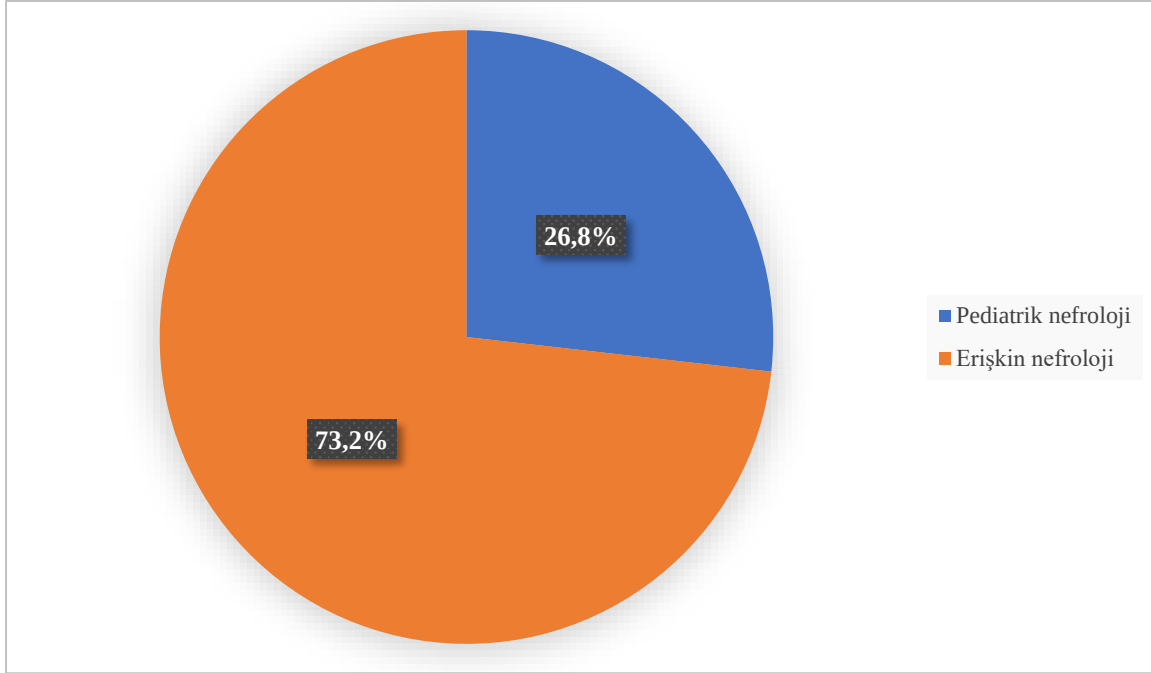
Çalışmamızda böbrek nakli öyküsü olan, 41 hastanın Ocak 2018- Ocak 2019 tarihleri arasında idrar örneklerinden BK virüs pozitifliği kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Hasta grubumuzun idrar örneklerinden polimeraz zincir reaksiyonu yanında idrar sitolojileri de retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca nakil sonrası dönemde nefropati şüpheli hastaların böbrek biyopsileri de BKV nefropatisi açısından incelenmiştir.

Çalışma grubumuzun genel cinsiyet dağılımı %39 kadın, %60,9 erkek şeklindedir. Çalışma grubumuz yaşlara göre 10-17 yaş, 18-30 yaş, 31-50 yaş ve 51 < yaş olarak gruplandırılmıştır. 10-17 yaş grubunun %22,2'si kadın, %77,8' i erkektir. 18-30 yaş grubunun %45,4'ü kadın, %54,5'i erkektir. 31-50 yaş grubunun %41,6'sı kadın, %58,3'ü erkektir. 51< yaş grubunun ise %44,4'ü kadın, %55,6'sı erkektir. Grupların cinsiyet dağılımı şekil 4.1'de gösterilmektedir.



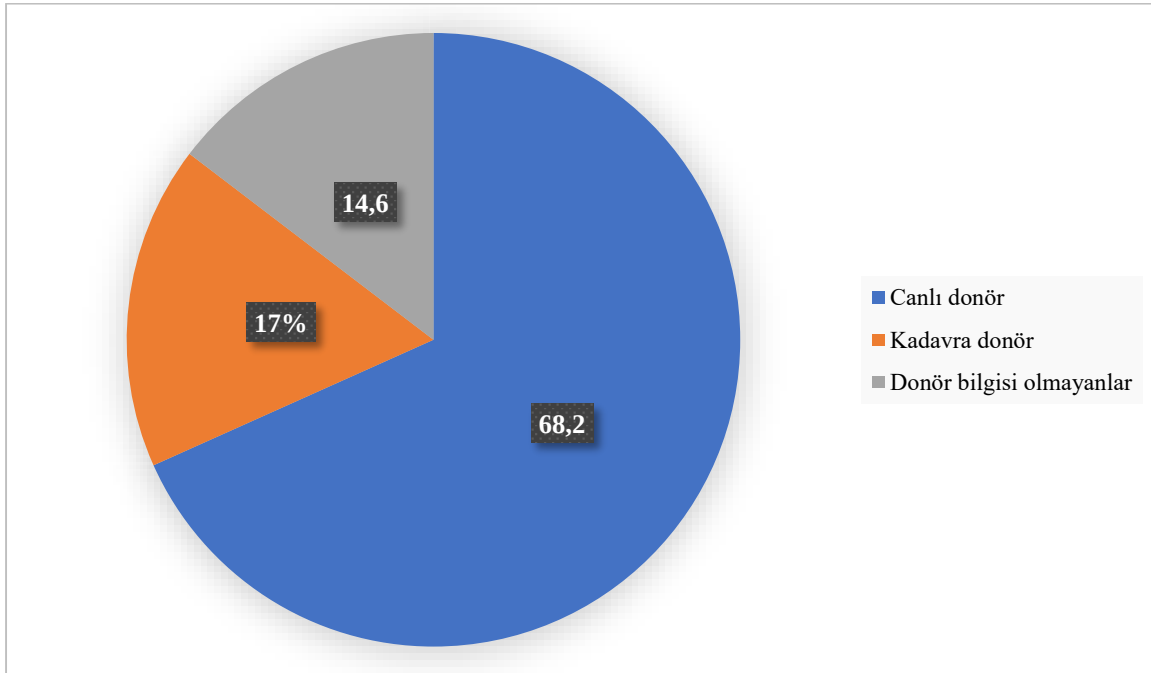
Şekil 4.1. Yaşların cinsiyete göre dağılımı

Çalışmamıza dahil edilen hastalar; pediatrik nefroloji (%26,8) ve erişkin nefroloji (%73,2) kliniklerinden oluşmaktadır. Çalışma grubundaki hastaların klinik dağılımları Şekil 4.2 de gösterilmektedir.



Şekil 4.2. Çalışma grubundaki hastaların kliniklere göre dağılımı

Çalışmamıza dahil edilen hastalardan 28'i (%68,2) canlı donörden, 7 (%17) hasta da ise kadavradan nakil işlemi gerçekleşmiştir. Altı hastanın ise (%14,6) mevcut kayıtlardan donör bilgilerine ulaşılamamıştır. Şekil 4.2 de gösterilmektedir.



Şekil 4.3. Hasta grubunun donör şekli dağılımı

Çalışma grubumuzdan 14 hastada (%34) idrar örneklerinden PCR yöntemi ile BKV varlığı araştırılırken eş zamanlı olarak idrar sitopatolojisi de klinisyenler tarafından istenmiştir. Bu

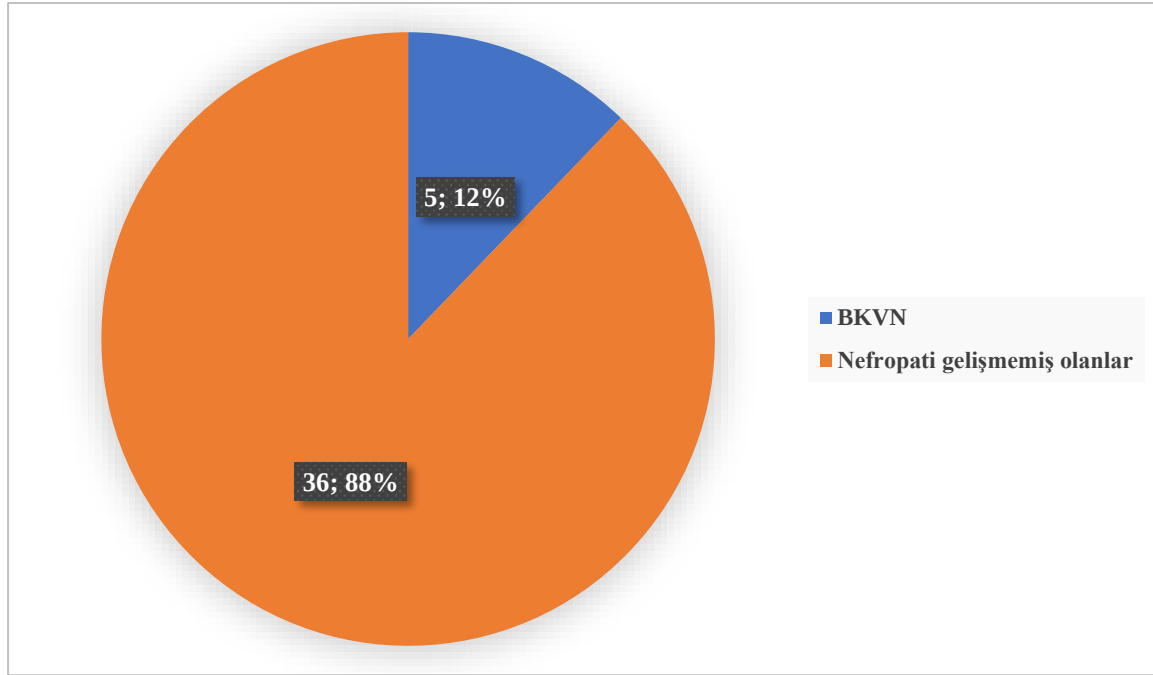
hastalardan 5'inde (%35,7) idrar sitopatolojisinde decoy hücreler pozitif olarak rapor edilmiştir. Bu hastaların decoy hücre pozitif raporlandığı tarihlerdeki BKV PCR sonuçları da pozitif idi. İdrar sitopatolojisi değerlendirilen hastalardan 9'u ise (%64,3) decoy hücre negatif olarak rapor edilmiştir. Bu hastaların BKV PCR sonuçları ise tamamında pozitif olarak tespit edilmiştir. BKV tespitinde kullanılan yöntemlerden olan idrar sitopatolojisinde decoy hücre aranması ve PCR yöntemi bu hastalardan 5'inde aynı anda BKV pozitifliğini tespit etmiştir. Çizelge 4.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.1. İdrar sitopatolojisinde Decoy hücre negatif ve Decoy hücre pozitif saptanan örneklerin eş zamanlı PCR sonuçları

	İdrar sitopatolojisi	PCR Yöntemi ile Saptanan BKV Yüğü (idrara)
1.	Decoy hücre pozitif	11x10 ² kopya/ml
2.		8x10 ⁷ kopya/ml
3.		13x10 ⁵ kopya/ml
4.		16x10 ⁶ kopya/ml
5.		650 kopya/ml
	İdrar sitopatolojisi	PCR Yöntemi ile Saptanan BKV Yüğü (idrara)
6.	Decoy hücre negatif	11x10 ² kopya/ml
7.		<100 kopya/ml
8.		<100 kopya/ml
9.		5x10 ² kopya/ml
10.		32x10 ⁴ kopya/ml
11.		24x10 ⁴ kopya/ml
12.		6x10 ³ kopya/ml
13.		1x10 ² kopya/ml
14.		6x10 ² kopya/ml

Çalışma grubumuzdan 20 hastaya (%48,7) yüksek seyreden kreatin seviyeleri nedeni ile renal allogreft biyopsisi yapılmıştır. Bu hastalardan 6'sı (%14,6) pediatrik nefrolojiden, 14'ü (%85,4) erişkin nefroloji birimlerinden oluşmaktadır. Renal allogreft biyopsisi sonucunda 17 hastada (%85) viral nefropati lehine bulgulara rastlanmamıştır, 3 hastada (%15) ise BKV nefropatisi rapor edilmiştir. Bu hastalardan 2'si (%66,6) erişkin nefroloji 1'i de (33,3) pediatrik nefroloji kliniklerinden oluşmaktadır. Renal allogreft biyopsisi yapılan hastalardan 1'inde (%5) ise hafif-orta derecede kronik tübülointerstisyel zedelenmelerin mevcut olduğu, ayrıca 1 hastada (%5) antikor aracılı rejeksiyon tespit edilmiştir.

Çalışma grubumuzda ayrıca 2 hastada da BKV nefropatisi ile takip edilmiştir ancak biyopsi sonuçlarına var olan kayıtlardan ulaşılammıştır. BKV nefropatisi genel dağılımı Şekil 4.4'de gösterilmektedir. BK virüs nefropatisi görülen 5 hastanın tamamını erkek hastalar oluşturmaktadır.



Şekil 4.4. BK virüs nefropatisi genel dağılımı

Nefropati gelişimi görülen hastaların viral yük takipleri şu şekildedir;

1. Hasta

Nakil zamanı: 08.09.2017

- Negatif 20.09.2017 (idrar)
- Negatif 17.10.2017 (idrar)
- 4×10^9 kopya/ml 20.02.2018 (idrar)
- $6,2 \times 10^9$ kopya/ml 28.02.2018 (idrar)
- $2,4 \times 10^4$ kopya/ml 06.03.2018 (kan)
- $2,4 \times 10^4$ kopya/ml 11.03.2018 (kan)
- $1,4 \times 10^8$ kopya/ml 11.03.2018 (idrar)
- $5,3 \times 10^4$ kopya/ml 19.03.2018 (kan)
- $4,3 \times 10^8$ kopya/ml 19.03.2018 (idrar)
- $2,8 \times 10^5$ kopya/ml 25.03.2018 (kan)
- $2,6 \times 10^8$ kopya/ml 25.03.2018 (idrar)
- $7,9 \times 10^8$ kopya/ml 01.04.2018 (idrar)

- $1,6 \times 10^6$ kopya/ml 08.04.2018 (kan)
- $1,2 \times 10^6$ kopya/ml 16.04.2018 (idrar)
- $3,7 \times 10^5$ kopya/ml 16.04.2018 (kan)
- 1×10^9 kopya/ml 24.04.2018 (idrar)
- $3,68 \times 10^5$ kopya/ml 24.04.2018 (idrar)
- $1,4 \times 10^6$ kopya/ml 06.05.2018 (kan)
- $1,13 \times 10^9$ kopya/ml 06.05.2018 (idrar)
- $9,09 \times 10^5$ kopya/ml 13.05.2018 (kan)
- 4×10^9 kopya/ml 13.05.2018 (idrar)
- $3,21 \times 10^9$ kopya/ml 20.05.2018 (idrar)
- $1,8 \times 10^{10}$ kopya/ml 30.05.2018 (idrar)
- $2,64 \times 10^8$ kopya/ml 10.06.2018 (idrar)
- $7,1 \times 10^4$ kopya/ml 20.06.2018 (kan)
- $7,1 \times 10^4$ kopya/ml 09.07.2018 (kan)
- $4,2 \times 10^4$ kopya/ml 30.07.2018 (kan)
- $9,45 \times 10^4$ kopya/ml 15.08.2018 (kan)
- $1,8 \times 10^5$ kopya/ml 03.09.2018 (kan)

2. Hasta

Nakil zamanı: 01.12.2017

- Negatif 30.01.2018 (idrar)
- $6,4 \times 10^4$ kopya/ml 14.03.2018 (idrar)
- 5×10^3 kopya/ml 22.03.2018 (idrar)
- Negatif 22.03.2018 (kan)
- 2×10^6 kopya/ml 03.04.2018 (idrar)
- $1,4 \times 10^7$ kopya/ml 17. 04.2018 (idrar)
- $1,2 \times 10^6$ kopya/ml 03.05.2018 (idrar)
- $3,7 \times 10^4$ kopya/ml 14.05.2018 (kan)
- $2,9 \times 10^4$ kopya/ml 24.05.2018 (kan)
- $1,41 \times 10^4$ kopya/ml 10.06.2018 (kan)

- $4,25 \times 10^4$ kopya/ml 02.07.2018 (kan)
- $6,87 \times 10^3$ kopya/ml 16.07.2018 (kan)
- $3,7 \times 10^4$ kopya/ml 05.08.2018 (kan)
- $1,26 \times 10^5$ kopya/ml 03.09.2018 (kan)
- $3,45 \times 10^9$ kopya/ml 10.09.2018 (idrar)
- $2,6 \times 10^5$ kopya/ml 24.09.2018 (kan)

3. Hasta

Nakil zamanı: 20.08.2008

- 07.02.2018 2200 kopya/ml (idrar)
- 09.05.2018 negatif (idrar)

4. Hasta

Nakil zamanı: Kasım 2017

- 4×10^6 kopya/ml 29.06.2018 (idrar)
- $1,7 \times 10^4$ kopya/ml 13.07.2018 (idrar)
- $3,5 \times 10^6$ kopya/ml 30.07.2018 (idrar)
- 8×10^3 kopya/ml 06.08.2018 (idrar)
- $2,5 \times 10^3$ kopya/ml 27.08.2018 (idrar)
- $3,5 \times 10^2$ kopya/ml 07.09.2018 (idrar)
- <100 kopya/ml 21.09.2018 (idrar)
- <100 kopya/ml 16.10.2018 (idrar)
- <100 kopya/ml 13.11.2018 (idrar)

5. Hasta

Nakil zamanı: Ocak 2014

- $4,5 \times 10^6$ kopya/ml 24.10.2018 (idrar)
- $2,5 \times 10^6$ kopya/ml 03.12.2018 (idrar)
- $2,2 \times 10^6$ kopya/ml 07.01.2018 (idrar)
- 1×10^6 kopya/ml 30.01.2019 (idrar)

Nefropati gelişimi görülen hastalardan 1'inin (%20) mevcut kayıtlardan BKV viral yükü PCR yöntemi ile idrar örneğinden bir kez çalışılmış ve 2200 kopya/ml olarak tespit edilmiştir. BKV nefropatisi gelişimi gösteren hastaların, idrar örneklerinde, ortalama viral yükü Çizelge 4.2 de gösterilmektedir.

Çizelge 4.2. BK virüs nefropatisi görülen hastaların ortalama viral yükleri

	BKV Nefropatisi Görülen Hastaların Ortalama Viral yükleri (kopya/ml)
1.	2200 kopya/ml
2.	836 500 kopya/ml
3.	2 550 000 kopya/ml
4.	$2,5 \times 10^9$ kopya/ml
5.	577×10^6 kopya/ml

Çalışma grubumuzdaki hastaların böbrek nakli sonrasında ilk ay, üçüncü ay, altıncı ay, dokuzuncu ve on ikinci aylarda kan kreatin seviyeleri incelenmiştir. Referans aralığı erişkin hastalarda 0,51-0,95 mg/dL, çocuk hastalarda ise 0,26-0,77 mg/dL olarak belirlenmiştir. Erişkin nefroloji biriminden kreatin seviyelerine ulaştığımız hastalardan 2 hastanın nakil sonrası 9. Ay verilerine, 3 hastanın ise nakil sonrası 12. Ay verilerine ulaşamamıştır. Ayrıca mevcut kayıtlardan 9 hastanın (%21,9) nakil sonrası aylardaki kreatin seviyelerine, nakiller dış merkezli olduğu için, ulaşamamıştır. Bu hastalardan 8'i (88,8) erişkin nefroloji, 1'i (11,2) de pediatrik nefrolojidendir. Her iki kliniğinde, nakil sonrası dönemlerdeki kan kreatin seviyelerinin ortalaması Şekil 4.5. ve Şekil 4.6. da gösterilmektedir. Pediatrik nefroloji hastalarının en yüksek kan kreatin seviyelerine nakil sonrası 12. Ayda ortalama 0,95 mg/dL değeri ile rastlanmaktadır. En düşük ise nakil sonrası ilk ay içinde ortalama 0,68 mg/dL değeri ile rastlanmaktadır. Erişkin nefroloji hastalarının en yüksek kan kreatin seviyelerine nakil sonrası ilk ay içinde ortalama 1,56 mg/dL değeri ile rastlanmaktadır. En

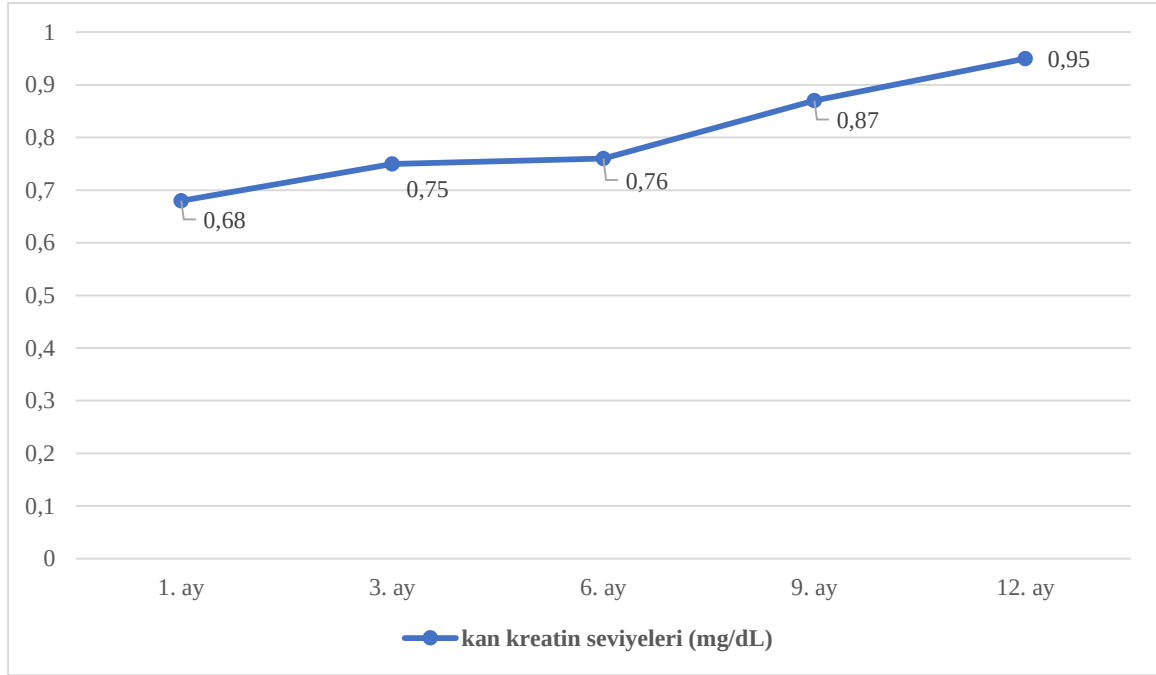
düşük ise nakil sonrası 12. ay içinde ortalama 1,17 mg/dL değeri ile rastlanmaktadır. Çalışma grubumuzun nakil sonrası kan kreatin seviyeleri Çizelge 4.3’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.3. Çalışma grubunun nakil sonrası kan kreatin seviyeleri

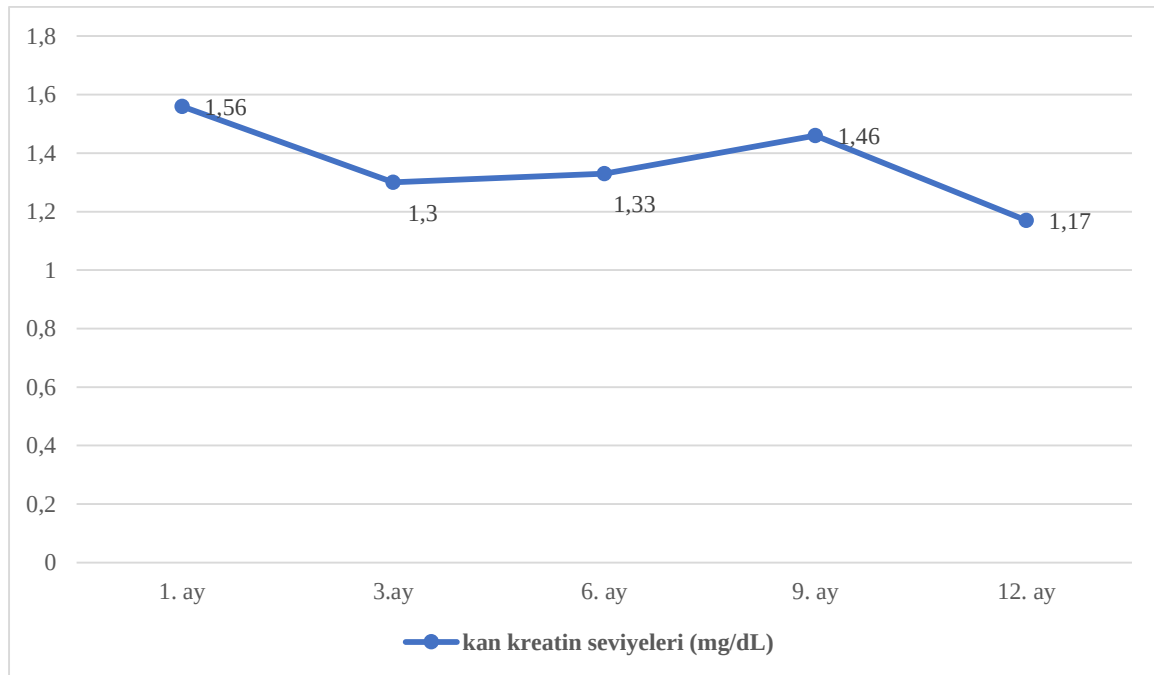
Hasta numarası	Nakil Tarihi	İlk Ay	Üçüncü Ay	Altıncı Ay	Dokuzuncu Ay	12.Ay
1.	02.01.2017	4,93 mg/dL	5,23 mg/dL	5,62 mg/dL	6,38 mg/dL	1,09 mg/dL
2.	27.10.2017	1,07 mg/dL	0,97 mg/dL	1,32 mg/dL	1,47 mg/dL	1,77 mg/dL
3.	02.02.2018	0,45 mg/dL	0,56 mg/dL	0,58 mg/dL	0,61 mg/dL	0,84 mg/dL
* 4.	20.08.2008	0,55 mg/dL	0,57 mg/dL	0,62 mg/dL	0,64 mg/dL	0,59 mg/dL
5.	15.03.2017	0,9 mg/dL	0,89 mg/dL	0,77 mg/dL	0,71 mg/dL	0,59 mg/dL
6.	15.06.2014	0,87 mg/dL	0,99 mg/dL	0,87 mg/dL	0,87 mg/dL	0,95 mg/dL
7.	2001	X	X	X	X	X
8.	20.04.2010	0,54 mg/dL	0,52 mg/dL	0,52 mg/dL	0,55 mg/dL	0,71 mg/dL
9.	03.03.2011	0,89 mg/dL	0,69 mg/dL	0,71 mg/dL	0,75 mg/dL	0,58 mg/dL
10.	2011	X	X	X	X	X
11.	27.09.2011	1,46 mg/dL	1,48 mg/dL	1,43 mg/dL	EGFR – 58	EGFR- 59
12.	24.03.2011	0,82 mg/dL	1,17 mg/dL	1,02 mg/dL	1,17 mg/dL	0,99 mg/dL
13.	20.03.2015	0,59 mg/dL	0,59 mg/dL	0,65 mg/dL	0,73 mg/dL	0,7 mg/dL
14.	28.12.2016	2,02 mg/dL	1,03 mg/dL	1,51 mg/dL	1,99 mg/dL	1,44 mg/dL
15.	09.02.2011	1,43 mg/dL	0,98 mg/dL	1,07 mg/dL	1,13 mg/dL	1,18 mg/dL
16.	2011	X	X	X	X	X
17.	2001	X	X	X	X	X
18.	30.09.2014	0,48 mg/dL	0,52 mg/dL	0,59 mg/dL	0,7 mg/dL	0,85 mg/dL
19.	07.04.2016	0,57 mg/dL	0,7 mg/dL	0,62 mg/dL	0,77 mg/dL	0,59 mg/dL
* 20.	2017 Kasım	5,49 mg/dL	0,92 mg/dL	1,12 mg/dL	1,32 mg/dL	1,18 mg/dL
21.	2013	X	X	X	X	X
22.	08.11.2016	1,08 mg/dL	1,11 mg/dL	1,01 mg/dL	0,98 mg/dL	1,0 mg/dL
23.	2013	X	X	X	X	X
24.	07.09.2008	1,13 mg/dL	1,14 mg/dL	1,17 mg/dL	1,16 mg/dL	1,05 mg/dL
25.	07.03.2017	1,56 mg/dL	1,56 mg/dL	1,59 mg/dL	1,58 mg/dL	1,60 mg/dL
26.	19.11.2013	0,6 mg/dL	0,84 mg/dL	0,84 mg/dL	0,95 mg/dL	1,03 mg/dL
27.	2011	X	X	X	X	X
28.	02.06.2015	1,02 mg/dL	1,0 mg/dL	0,85 mg/dL	0,92 mg/dL	0,88 mg/dL
29.	17.07.2014	0,88 mg/dL	1,04 mg/dL	1,1 mg/dL	1,25 mg/dL	1,38 mg/dL
* 30.	01.2014	X	X	X	X	X
31.	17.03.2015	1,45 mg/dL	1,67 mg/dL	1,25 mg/dL	1,35 mg/dL	X
32.	11.04.2011	X	X	X	X	X
33.	15.10.2011	0,77 mg/dL	0,53 mg/dL	0,68 mg/dL	X	X
34.	26.12.2008	1,27 mg/dL	1,47 mg/dL	1,53 mg/dL	1,59 mg/dL	2,21 mg/dL
35.	02.01.2018	1,85 mg/dL	1,48 mg/dL	1,50 mg/dL	1,59 mg/dL	X
36.	26.09.2008	1,28 mg/dL	1,26 mg/dL	1,50 mg/dL	1,13 mg/dL	1,14 mg/dL
37.	11.2018	1,12 mg/dL	0,96 mg/dL	0,96 mg/dL	0,86 mg/dL	X
38.	21.06.2014	1,40 mg/dL	1,25 mg/dL	1,13 mg/dL	1,25 mg/dL	1,14 mg/dL
39.	02.02.2015	1,08 mg/dL	1,15 mg/dL	1,08 mg/dL	1,23 mg/dL	1,49 mg/dL
* 40.	08.09.2018	1,08 mg/dL	1,06 mg/dL	1,19 mg/dL	1,66 mg/dL	1,61 mg/dL
* 41.	01.12.2018	0,63 mg/dL	0,45 mg/dL	0,60 mg/dL	0,67 mg/dL	0,65 mg/dL

* nefropati gelişimi görülen hastalar

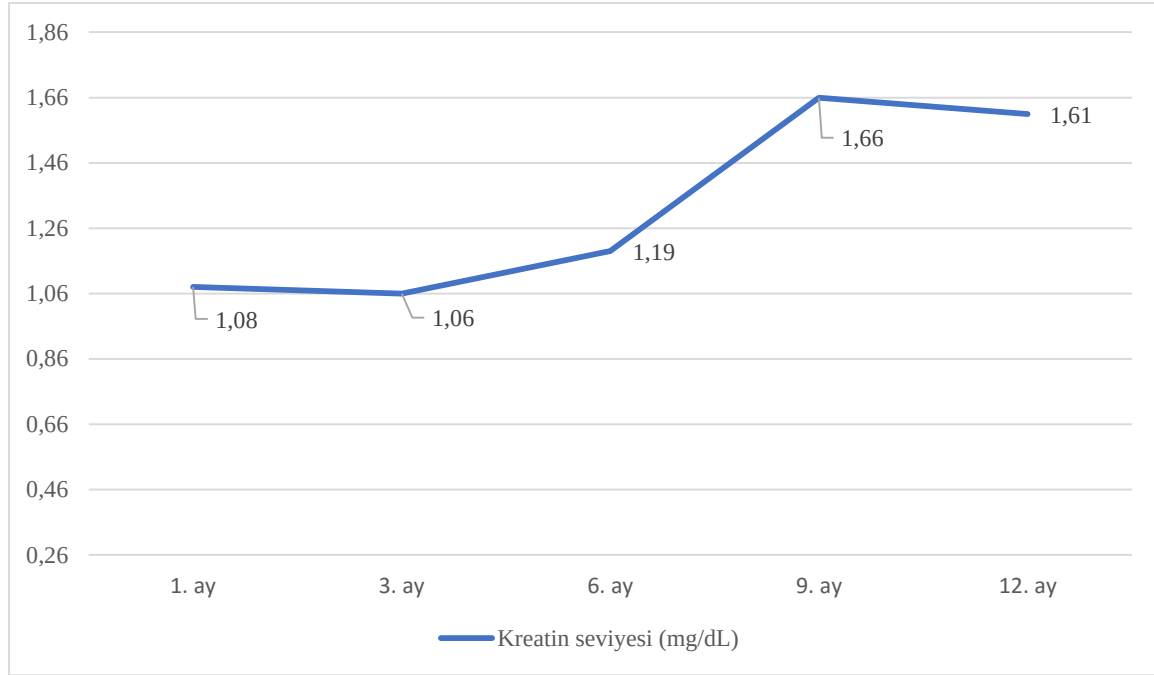
Çalışma grubumuzdan viremi gelişimi görülen 2 pediatrik nefroloji hastasının nakil sonrası 1,3,6,9 ve 12. aylarda kreatin seviyeleri Şekil 4.7 ve Şekil 4.8 de gösterilmektedir.



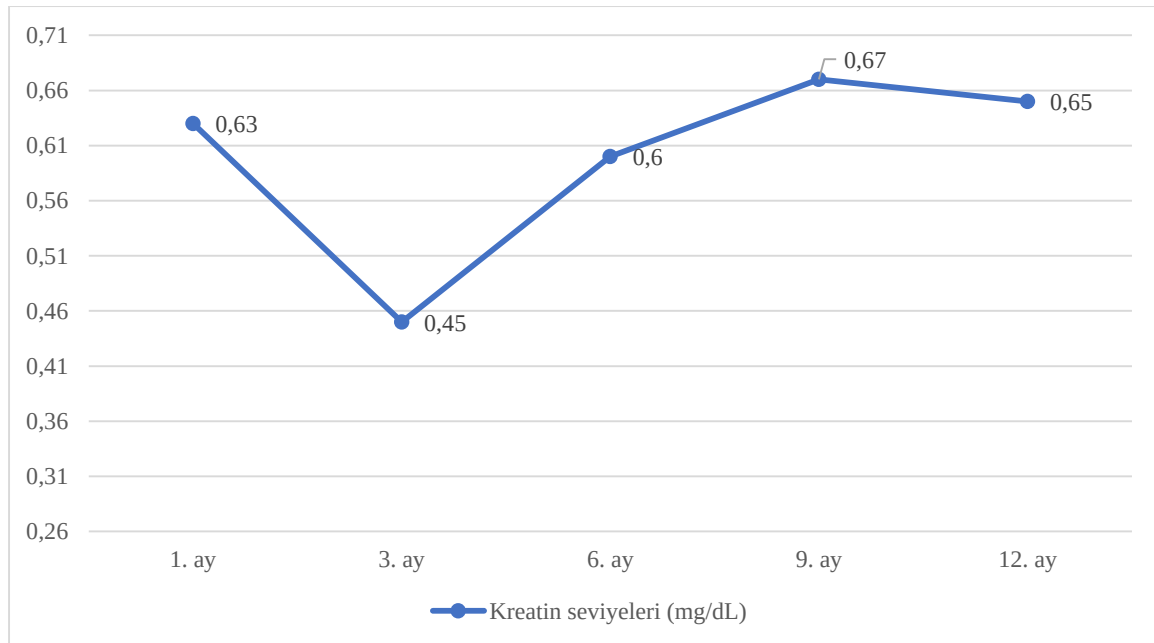
Şekil 4.5. Pediatrik nefroloji kliniği hastalarının nakil sonrası dönemlerde ortalama kan kreatin seviyeleri



Şekil 4.6. Erişkin nefroloji kliniği hastalarının nakil sonrası dönemlerde ortalama kan kreatin seviyeleri



Şekil 4.7. BK virüs viremişi olan 1. hastanın nakil sonrası kreatin seviyeleri



Şekil 4.8. BK virüs viremişi olan 2. hastanın nakil sonrası kreatin seviyeleri

Çalışma grubumuzdan 2 (%4,87) hasta da idrar örneğinde uzun süreli yüksek seviyede seyrenden BKV viral yükü tespit edilmiştir, bu sebeple hastalardan ayrıca kan örneği alınarak BKV viremişi araştırılmıştır. Hastaların her ikisine de BKV tespiti için idrar sitopatolojisi yöntemi kullanılmamıştır. Yapılan çalışma sonunda her iki hastada da BKV viremişi tespit edilmiştir. Viremi tespit edilen iki hastada erkek ve pediatrik nefroloji kliniğindendir. Ayrıca bu hastalar nefropati gelişimi de göstermiştir. Hastaların viral yükleri

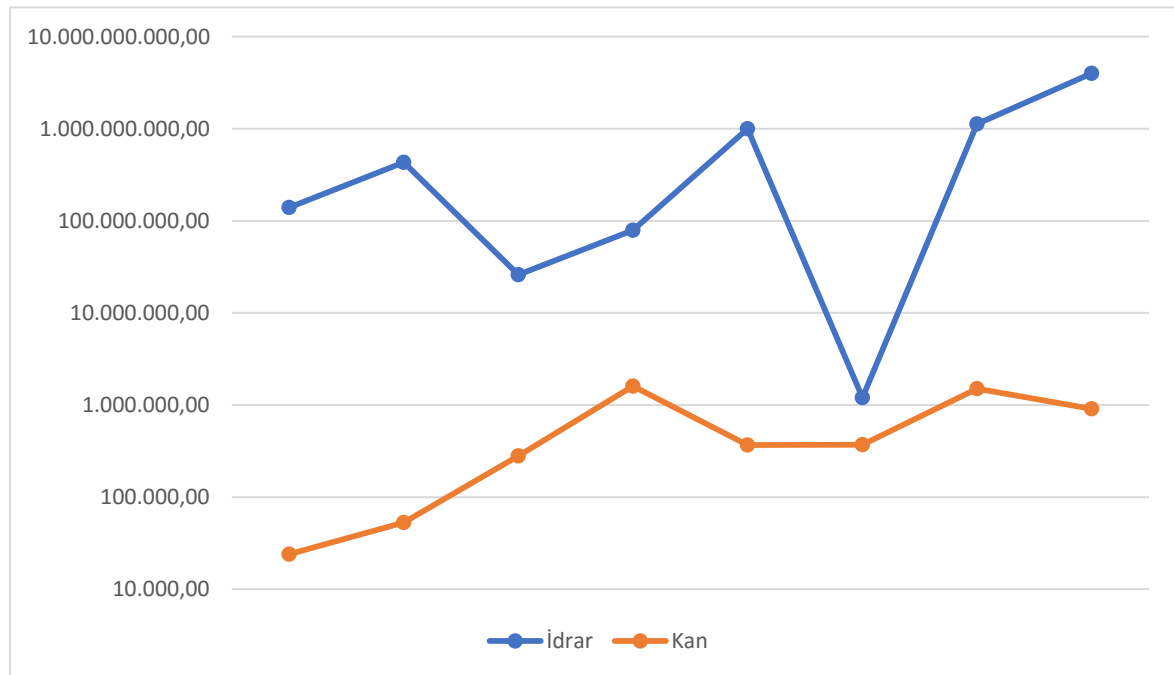
Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4’de gösterilmektedir. BK virüs viremişi olan her iki hastanın eş zamanlı idrar ve kan örneklerindeki viral yükler Şekil 4.9 ve Şekil 4.10’da gösterilmektedir.

Çizelge 4.4. BK virüs viremişi olan 1. hastanın genel viral yük durumları

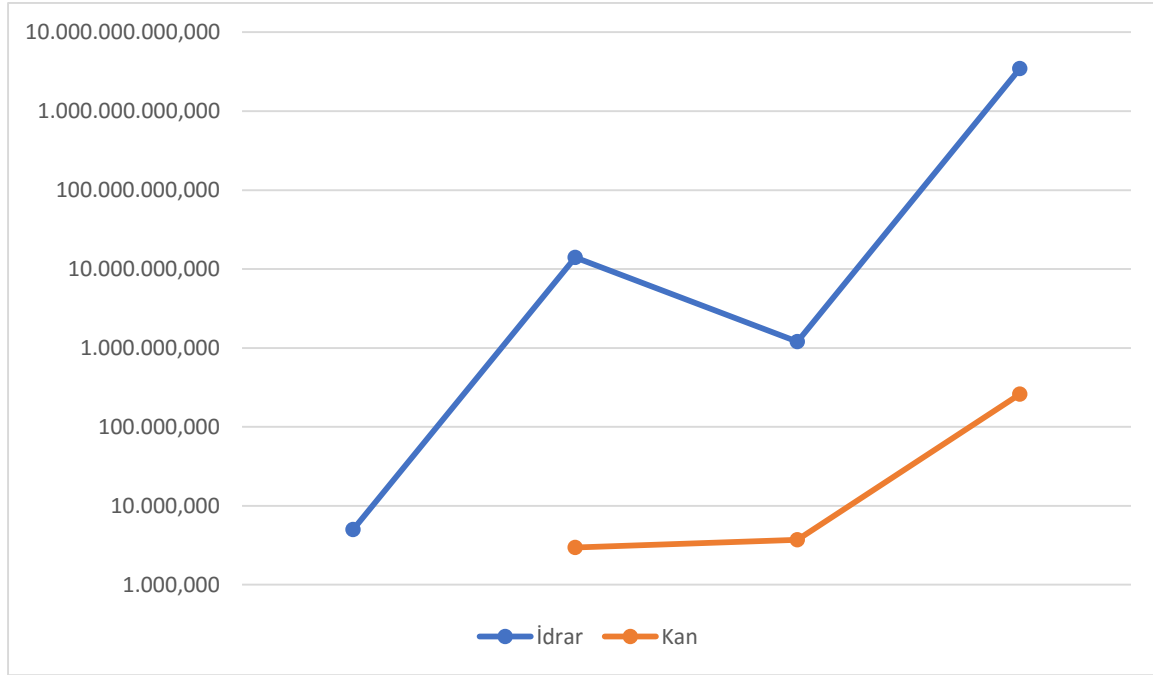
BKV viremişi olan 1. hasta	İdrar örneği	Kan örneği
İlk viremi tespiti	14×10^7 kopya/ml	24×10^3 kopya/ml
En yüksek viral yükler	18×10^9 kopya/ml	16×10^5 kopya/ml
Viral yüklerin ortalaması	25×10^8 kopya/ml	$\sim 415 \times 10^3$ kopya/ml

Çizelge 4.5. BK virüs viremişi olan 2. hastanın genel viral yükleri

BKV viremişi olan 2. hasta	İdrar örneği	Kan örneği
İlk viremi tespiti	14×10^6 kopya/ml	2966 kopya/ml
En yüksek viral yükler	345×10^7 kopya/ml	26×10^4 kopya/ml
Viral yüklerin ortalaması	577×10^6 kopya/ml	$\sim 58 \times 10^3$ kopya/ml



Şekil 4.9. BK virüs viremişi olan 1. hastanın eş zamanlı idrar ve kan örneklerindeki viral yükler



Şekil 4.10. BK virüs viremi olan 2. hastanın eş zamanlı idrar ve kan örneklerindeki viral yükler

5. TARTIŞMA

BK virüsün immün sistemi baskılanmış konakçılarda; sıklıkla hemorajik sistit ve BK virüs nefropatisi, nadir olarak ise pnömoni, retinit, karaciğer hastalığı ve meningoensefalit gibi çeşitli komplikasyonlar ile ilişkili olduğu bilinmektedir [43]. Böbrek nakli alıcılarında birçok faktörün BK virüs enfeksiyonu riskini potansiyel olarak arttırdığı 2000’li yıllardan günümüze gösterilmiştir. Etkin profilaktik ve iyileştirici tedavilerin mevcut olmaması, klinisyenlerin BK virüs reaktivasyonunu mümkün olduğu kadar erken saptamak amacıyla klinik ve laboratuvar parametrelerini izlemelerini zorunlu kılmaktadır [5].

Shenagari ve arkadaşlarının (2017) 2010-2013 yılları arasında böbrek nakli yapılan, 110 hasta ile yapmış oldukları çalışmada hastaların 44’ü (%40) kadın, 66’sı (%60) erkek hastalardan oluşmaktaydı. Çalışmada hastaların viral yükünü tespit etmek için idrar ve kan örneklerinden gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yapılmıştır. Çalışmanın sonunda 54 (%49) hastada virüri, 22 (%20) hastada ise viremi tespit edilmiştir. 34 (%31) hastanın örneğinde ise BK virüs varlığı saptanmamıştır. BK virüsü tespit edilen 54 hastanın 24’ü (%44,4) kadın, 30’u (%55,6) erkektir. BK viremi tespit edilen 22 hastanın ise 5’i (%22,7) kadın, 17’si (%77,3) erkektir [1]. Azar ve arkadaşları (2017) Polyomavirüs ilişkili nefropatinin görülme sıklığını değerlendirmek için Ocak 2009- Aralık 2012 arasında böbrek nakilli hastaların analizini yapmışlardır. Hastaların plazma örnekleri nakil sonrası 1, 3, 6, 9 ve 12. aylarda polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile taranmıştır. Plazma BK virüs yükü sürekli ≥ 4 log kopya/ml olan hastalar varsayımsal nefropati olarak tanımlanırken, kesin nefropati tanısı böbrek biyopsilerinde BK virüs immünohistokimyası ile doğrulanan sitopatolojik değişiklikler ile konulmuştur. Çalışma grubu 319 böbrek nakli alıcısından oluşmaktadır. Bu hastaların ortalama yaşı 53 (19-83 yaş arası) ve 210 (%65,8) erkek hasta, 109 (%34,2) kadın hastadan oluşmaktadır. Yapılan çalışma sonunda 47 hastada (%14,73) Polyomavirüs nefropatisine rastlanmıştır. Bu hastalardan 33’ü (%70,2) erkek, 14’ (%29,8) kadın hastadır [64]. Yooprasert ve Rotjanapan, (2018) yapmış oldukları çalışmada Ekim 2011- Eylül 2016 tarihleri arasında Tayland Ramathibodi Hastanesinde yetişkin böbrek nakli alıcıları arasında retrospektif bir analiz yapmışlardır. Hastaların demografik verileri, böbrek nakli hakkındaki bilgiler, immünsüpresif tedavileri, CMV ve BK virüs enfeksiyonları ile allograft sonuçları analiz edilmiştir. Çalışmaya 623 böbrek nakli alıcısı dahil edilmiştir ancak sadece 327 hasta (%52,49) BK virüs taramasına alınmıştır. 327 hastanın ise 39’unda (%11,93) BK virüs nefropatisi tespit edilmiştir. 39 hastanın 28’i erkek (%71,79) 11’i ise

kadın (%28,21) hastadan oluşmaktadır [65]. Yapılan tüm bu çalışmalar BK virüs nefropatisinin erkek hastalarda daha yüksek oranda tespit edilebildiğini göstermektedir. Bizim çalışmamızda, 25 erkek (%60,9) ve 16 kadın hastadan (%39) oluşmaktadır. Çalışmamızda toplam 5 hastada (%12,19) BK virüs nefropatisi gelişimi tespit edilmiştir. Nefropati tespit edilen hastaların tamamı erkek hastadır. Çalışmamızda BK virüs nefropatisi gelişimi diğer çalışmalara benzer olarak yüksek oranda erkek hastalarda tespit edilmiştir. Bu durum BK virüs nefropatisi gelişimi için bir risk faktörü olarak erkek cinsiyeti desteklemektedir. Ayrıca böbrek nakli olan hastalarda BK virüs nefropatisi gelişme sıklığı çalışmamızda diğer çalışmalara benzer oranda tespit edilmiştir.

Favi ve arkadaşlarının (2019) böbrek nakli sonrası BK virüs insidansı, risk faktörleri ve sonuçlarını araştırmak amacıyla yapmış oldukları çalışma; 2007-2013 yılları arasında böbrek nakli yapılan 629 erişkin hastayı içermektedir. Veriler prospektif olarak kaydedilmiştir ve 2016 yılına kadar yıllık olarak gözden geçirilmiştir. Hastaların kan örnekleri polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile çalışılmıştır. BK virüs yükü ≥ 1000 kopya/mL olan hastalara BK viremi tanısı konulmuştur ve nefropati varlığının araştırılması için histolojik inceleme yapılmıştır. Çalışma grubunun ortalama yaşı 47' dir. BK virüs viremi tespit edilen hastaların ortalama yaşı 48,5; BK viremi negatif olan hastaların yaş ortalaması ise 47 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca nefropati gelişimi görülmeyen hastaların yaş ortalaması 49; nefropati gelişimi görülen hastaların ise yaş ortalaması 48,5 olarak tespit edilmiştir [66]. Yapılan bu çalışmada böbrek nakli sonrası BK virüs viremi ve nefropatisi gelişiminin yaş ile arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise çalışma grubunun yaş ortalaması 34,6; nefropati gelişimi görülen hastaların yaş ortalaması 23,3 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda nefropati gelişimi görülen 5 hastanın 2'si (%40) çocuk nefroloji kliniğinden oluşmaktadır. Bu sebeple nefropati gelişimi gösteren hastaların yaş ortalaması, genel hasta grubumuzun ortalamasına kıyasla daha düşük bulunmuştur.

Funahashi ve arkadaşlarının (2014) böbrek nakli sonrası idrar ve serum örneklerinde BK virüs yükü arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla yapmış oldukları çalışmada Kasım 2008-Ağustos 2013 tarihleri arasında toplam 270 böbrek nakli hastası yer almaktadır. Hastalardan idrar ve serum örnekleri aynı anda toplanmıştır. BK virüs seviyeleri toplam 894 idrar ve serum örneğinde, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. BK virüs 178 idrar örneğinde ve 36 serum örneğinde tespit edilmiştir. Serum

viral yükü ~2-3 log ünite idrar seviyesinden düşük olarak bulunmuştur. Ayrıca idrarda BK virüs yükü $\geq 10^7$ kopya/ml seviyesinde bulunduğu, serum örneğinde daha sık tespit edilebildiğini göstermişlerdir [59]. Yapılan bu çalışma BK virüs yükünün takibinde idrar örneğinin erken taramada daha etkili bir sonuç verdiğini göstermektedir. Ji ve arkadaşlarının (2019) böbrek nakli sonrası BK viremi prevalansının taranması ve viremi ile ilişkili risk faktörlerini belirlemek amacıyla yapmış oldukları çalışmada 2015-2017 yılları arasında 91 yetişkin böbrek nakli alıcısı retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hastalar nakil sonrası 1-6 ay, 6 ay-1 yıl ve 1 yıl-5 yıl olarak 3 gruba ayrılmıştır. 1-6 ay; 31 hasta, 6 ay-1 yıl; 17 hasta ve 1 yıl-5 yıl; 43 hastadan oluşmaktadır. Hastaların idrar ve kan örnekleri polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile değerlendirilmiştir. İlk grupta yer alan 31 hastadan 13'ünde BK virüs virürisi görülürken hiçbir hastada viremi gelişimi görülmemiştir. İkinci grupta yer alan 17 hastadan 6'sında virüri, 2'sinde viremi gelişimi görülmüştür. Üçüncü grupta yer alan 43 hastadan ise 22'sinde virüri, 3'ünde ise viremi gelişimi gözlenmiştir [67]. Yapılan bu çalışmalar, BK virüsün erken tespitinde, idrar örneğinin kan örneğinden daha etkili sonuç verdiğini göstermektedir. Brennan ve arkadaşlarının (2005) yapmış oldukları çalışmada, 200 yetişkin böbrek nakli alıcısının idrar ve kan örnekleri, nakil sonrası belirli dönemlerde (16 hafta boyunca haftalık, daha sonra 5,6,9 ve 12. aylar), polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılarak BK virüs viral yükü incelenmiştir. Yapmış oldukları çalışmada nakil sonrası ilk yılsonunda 70 hastada virüri, 23 hastada ise viremi tespit etmişlerdir. Plazma örnekleri BK virüs pozitif olarak tespit edilen tüm hastalar aynı zamanlı idrar örnekleri de BK virüs pozitif tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonunda nakil sonrası ilk yıl BK virüs virürisi sıklığı %35, BK virüs viremisi sıklığı ise %11,5 olarak bulunmuştur. BK virüs viremisi, virüri yokluğunda hiçbir zaman görülmemektedir. BK virüs viremisi, her zaman BK virüs virürisini takip etmektedir [68]. Böbrek nakli alıcılarında BK virüs replikasyonunun erken tespiti hastalığın klinik seyri için oldukça önemlidir. Yapılan bu çalışmalar BK virüsün erken tespitinde idrar örneğinin kan örneğine kıyasla daha etkili sonuç verdiği görülmektedir. Yapılan çalışmalara paralel olarak, bizim çalışmamızda, çalışma grubuna dahil edilen hastaların BK virüs yükleri idrar örneklerinden incelenmiştir. Çalışmamızda yalnızca idrar BK virüs yükü yüksek düzeyde seyreden 2 hastanın ayrıca kan örneklerinden BK viral yükü miktarı mevcut kayıtlardan değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda her iki hastada da viremi tespit edilmiştir. Bu hastaların kanda BK virüs viral yükü ilk tespit edildiğinde, idrar BK virüs viral yükü sırasıyla 14×10^7 ve 14×10^6 kopya/ml seviyesindedir. Aynı tarihlerde kan viral yükleri ise sırasıyla 24 000 kopya/ml ve 2 966 kopya/ml seviyesindedir. BK virüs idrar örneğinde oldukça yüksek kopyalarda tespit edilebildiği zamanlarda, kan

örneğinde çok daha düşük seviyelerde tespit edilebilmektedir. Bu nedenle, BK virüs taraması için idrar viral yükünün miktarının belirlenmesi, serum viral yükünün miktarının belirlenmesinden daha anlamlıdır. BK virüs, klinik seyrinde serumdan önce idrarda görünmektedir. İdrarda BK virüs viral yükünün ölçülmesi, nefropati gelişme riski altındaki hastaların erken tespitini ve tedavisinin düzenlenmesi için daha etkili bir yöntemdir.

Gouvea ve arkadaşlarının (2016) yapmış oldukları çalışmada 32 böbrek nakli hastasından nakil sonrası 6 aylık takip süresi içinde toplanan idrar numunelerinden idrar sitolojisi ve polimeraz zincir reaksiyonu yöntemleri kullanılarak BK virüs varlığı incelenmiştir. İlk üç ay 2 haftada bir daha sonra ise 6. ayda örnekler değerlendirilmiştir. İkinci haftada alınan örnekler incelendiğinde; 2 örnek polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile pozitif tespit edilirken örneklerin hiç birinde decoy hücre saptanmamıştır. Dördüncü haftada toplanan örneklerden; 8'i polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile pozitif tespit edilirken örneklerin hiç birinde decoy hücre saptanmamıştır. Altıncı haftada toplanan örneklerden; 5'i polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile pozitif olarak tespit edilirken yalnızca bir örnekte decoy hücre pozitif olarak saptanmıştır. Sekizinci hafta örneklerinde ise 6 tanesi polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile pozitif tespit edilmiş, 2 tanesi ise decoy hücre pozitif olarak saptanmıştır. Onuncu hafta incelenen örneklerin 1 tanesi polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile pozitif olarak tespit edilmiş, 3 tanesi ise decoy hücre pozitif olarak saptanmıştır. On ikinci hafta örneklerinde 5 tanesi polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile pozitif olarak tespit edilmiş, 3 tanesi ise decoy hücre pozitif olarak saptanmıştır. Altıncı ay örneklerinde ise 8'i polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile pozitif olarak tespit edilmiştir, 3 tanesi ise decoy hücre pozitif olarak saptanmıştır [45]. Yapılan çalışmaya göre BK virüs replikasyonunun tespitinde polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi, idrar sitolojisi yönteminden daha etkili olarak bulunmuştur. Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile nakil sonrası ikinci haftada BK virüs varlığı tespit edilebilmişken, idrar sitolojisi yöntemi ile ilk kez altıncı haftada BK virüs varlığı tespit edilebilmiştir. Böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda BK virüs nefropatisi gelişiminin engellenebilmesi için BK virüs replikasyonunu erken tespit edebilmek oldukça önemlidir. İdrar sitolojisinin bu konuda etkinliği yeterli değildir. Buna paralel olarak bizim de yapmış olduğumuz çalışmada; çalışma grubumuzda yer alan toplam 41 hastanın 14'ünde (%34) idrar sitopatolojisi yöntemi ile decoy hücre varlığı araştırılmıştır. Bu hastaların 5'i (%35,7) decoy hücre pozitif olarak, 9'u ise (%64,3) decoy hücre negatif olarak rapor edilmiştir. Decoy hücre negatif olarak rapor edilen tüm örnekler, polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile incelendiğinde ise tamamı BK virüs pozitif

olarak saptanmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi, idrar sitopatolojisine göre çok daha etkili ve enfeksiyonun erken seyrinde fayda sağlayan bir yöntemdir.

Decoy hücreleri aynı zamanda JC ve Adenovirüs enfeksiyonlarında da görülebilmektedir. Bu nedenle, idrar sitopatolojisi yöntemi ile farklı tür virüslerin ayrımı yapılamamaktadır [49]. Bu yöntem ayrıca eğitimli bir sitolog da gerektirmektedir [24]. Zakaria ve arkadaşları (2019) yapmış oldukları yayında; polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin, asemptomatik virüriyi izlemek için idrar sitolojisinden dört kat daha hassas bir yöntem olduğunu yayınlamışlardır [55].

Huang ve arkadaşlarının (2015) Çin’de yapmış oldukları tek merkezli ve 5 yıllık analizlerini içeren çalışmada; Mart 2006- Ekim 2008 tarihleri arasında böbrek nakli gerçekleştirilen 229 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Yapılan çalışmada idrar sitopatolojisi, idrar ve plazmada viral yükün tayini için kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılmıştır. Ayrıca BK virüs nefropatisi tanısı için immünohistokimyasal boyamalar yapılmıştır. Greft biyopsilerinde tübüler hücrelerin çekirdeğinde viral parçacıkları tespit etmek için elektron mikroskopu da kullanılmıştır. İdrar viral yükü; $>10^7$ kopya/ml olduğunda yüksek düzey virüri ve plazma viral yükü $>10^4$ kopya/ml olduğunda yüksek düzey viremi olarak değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma sonunda 5 yıl içinde hastalarda greft sağ kalımı oranı ve böbrek fonksiyonları iyi düzeyde bulunmuştur. BK virüs replikasyonunun erken tespit edilmesi sayesinde immünsüpresif tedavinin dozu düzenlenmiş böylece viremi ve nefropati gelişimi engellenmiştir [69]. BK virüsün, böbrek nakli alıcıları üzerindeki kötü etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak için virüs replikasyonunun erken tespiti oldukça önemlidir. Yapılan bu çalışmada bu durumu desteklemektedir. Bizim çalışmamızda BK virüs replikasyonunun tespiti için idrar sitopatolojisi, idrar ve kan örneklerinden polimeraz zincir reaksiyonu yönteminin etkinliği incelenmiştir ve en etkili yöntemin idrar örneğinden polimeraz zincir reaksiyonu olduğu gözlenmiştir. İdrar örneğinden polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile viral yük düşük seviyelerde de (<100 kopya/ml) tespit edilebilmiştir.

Sanchez ve arkadaşlarının (2019) yapmış oldukları çalışmada; 1 Şubat 2010- 31 Aralık 2014 tarihleri arasında 254 böbrek nakli hastası çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma grubundaki hastaların kan ve idrar örneklerinden polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile BK virüs kantitasyonu araştırılmıştır. Çalışma sonucunda; hastalardan 73’ünde (%28,74) virüri; 32’sinde (%12,6) viremi tespit edilmiştir. Hastalar virüri (+)/ viremi (-), virüri/viremi (-) ve

virüri/viremi (+) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Hastaların ayrıca nakil sonrası 3,6,9 ve 12. aylarda kreatin seviyeleri de takip edilmiştir. Belirlenen 3 grupta da en yüksek kreatin seviyesi virüri/viremi (+) grupta görülmüştür. En düşük kreatin seviyesi ise virüri (+)/viremi (-) olan grupta görülmüştür [70]. Ji ve arkadaşlarının (2019) yapmış oldukları retrospektif çalışmada; 2015-2017 yılları arasında 91 yetişkin böbrek nakli alıcısı takip edilmiştir. Hastaların BK virüs viremisi, plazma örneğinden, polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılarak kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Hastalar nakil sonrası 1-6 ay, 6 ay-1 yıl ve 1 yıl-5 yıl olarak 3 gruba ayrılmıştır. 1-6 ay; 31 hasta, 6 ay-1 yıl; 17 hasta ve 1 yıl-5 yıl; 43 hastadan oluşmaktadır. Çalışma grubunda yer alan hastaların ayrıca serum kreatin seviyeleri de takip edilmiştir. Yapılan çalışma sonunda serum kreatin seviyesi BK virüs viremisi görülen hastalarda anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir [67]. Yapılan çalışmalar kreatin seviyesinin BK virüs viremisi ile bir ilişkisi olabileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda ise çalışma grubumuzda yer alan tüm hastaların nakil sonrası 1,3,6,9 ve 12. aylarda kan kreatin seviyesi incelenmiştir. Kan kreatin seviyesi referans aralığı pediatrik hastalarda 0,26-0,77 mg/dL, erişkin hastalarda ise 0,51-0,95 mg/dL olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda BK virüs viremisi 2 hastada (%4,8) tespit edilmiştir. BK virüs viremisi görülen hastalardan birinin kreatin seviyeleri takip edilen tüm dönemlerde referans aralığının üzerinde gözlenmiştir. BK virüs viremisi görülen diğer hastanın kreatin seviyeleri ise takip süresince referans aralığında olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda böbrek nakli sonrası dönemlerde BK virüs viremisi ve kreatin seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

6. SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda, böbrek transplantasyonu yapılan hastaların %12,2'sinde BK virüs nefropatisi görülmüştür ve aynı zamanda çalışmamızda BK virüs nefropatisi gelişimi erkek hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu durum erkek hastaların BK virüs nefropatisi gelişimi açısından daha yüksek risk altında olabileceklerini düşündürmektedir. Çalışmamızın bu sonucu dünya çapında yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir.

BK virüs varlığı serumdan önce idrarda görülmektedir. Önceki çalışmalarda da bahsedildiği gibi BK virüsün varlığının idrar örneğinde araştırılması, virüsün erken tespiti açısından avantaj sağlamaktadır. Çalışmamızda da bu durum ile uyum göstermektedir. İdrarda BK viral yükü yüksek seviyelerde tespit edildiği durumlarda kan örneklerinden de BK virüs varlığının araştırılması önerilmektedir.

Dünya'da yapılan çalışmalar kan kreatin seviyesinin yüksekliğinin BK viremi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda ise viremi görülen 2 hastada kreatin seviyeleri ve BK viremi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu duruma hasta sayısının azlığının neden olabileceği düşünülmektedir. Daha yüksek sayılı hasta gruplarında çalışılması gerektiğini düşünmekteyiz.

BK virüs replikasyonunun tanı yöntemlerini araştıran çalışmalarda; real time PCR yönteminin en erken ve hassas ölçüm olduğu gösterilmektedir. Bizim çalışmamızın sonuçları da bu durumu desteklemektedir.

Böbrek nakli alıcıları için BK virüs nefropatisi riski son dönemde çeşitli sebeplerden dolayı artmaktadır. Günümüzde BK virüse özgü önleyici ve iyileştirici tedavilerin olmaması BK virüsün laboratuvar takibinin önemini artırmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Shenagari, M., Monfared, A., Eghtedari, H., Pourkazemi, A., Hasandokht, T., Khosravi, M. and Asharfkhani, B. (2017). BK virus replication in renal transplant recipients: Analysis of potential risk factors may contribute in reactivation. *Journal of Clinical Virology*, 96, 7-11.
2. Sawinski, D. and Goral, S. (2015). BK virus infection: An update on diagnosis and treatment. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 30(2), 209-217.
3. Bennett, S. M., Broekema, N. M. and Imperiale, M. J. (2012). BK polyomavirus: Emerging pathogen. *Microbes Infect*, 14(9), 672-683.
4. Popik, W., Khatua, A. K., Fabre, N. F., Hildreth, J. E. K. and Alcendor, D. J. (2019). BK virus replication in the glomerular vascular unit: Implications for BK virus associated nephropathy. *Viruses*, 11(7), 583.
5. Demey, B., Tinez, C., Francois, C., Helle, F., Choukroun, G., Duverlie, G. and Brochot, E.(2018). Risk factors for BK virus viremia and nephropathy after kidney transplantation: A systematic review. *Journal of Clinical Virology*, 109, 6-12.
6. Hirsch, H. H. (2002). Polyomavirus BK nephropathy: A (re-)emerging complication in renal transplantation. *American Journal of Transplantation*, 2(1), 25-30.
7. Cobos, M., Aquilia, L., Garay, E., Ochiuzzi, S., Alvarez, S., Flores, D. and Raimondi, C. (2018). Epidemiologic study and genotyping of BK virus in renal transplant recipients. *Transplantation Proceedings*, 50(2), 458-460.
8. Umbro, I., Tinti, F., Muiesan, P. and Mitterhofer, A. P. (2016). Different behaviour of BK-virus infection in liver transplant recipients. *World Journal of Gastroenterology*, 22(4), 1532-1540.
9. Lamarche, C., Tinti, F., Muiesan, P. and Mitterhofer, A. P. (2016). BK polyomavirus and the transplanted kidney: Immunopathology and therapeutic approaches. *Transplantation*, 100(11), 2276-2287.
10. Hurdiss, D. L., Morgan, E. L., Thompson, R. F., Prescott, E. L., Panou, M. M., Macdonald, A. and Ranson, N. A. (2016). New structural insights into the genome and minor capsid proteins of BK polyomavirus using cryo-electron microscopy. *Structure*, 24(4), 528-536.
11. Helle, F., Brochot, E., Handala, L., Martin, E., Castelain, S., Francois, C. and Duverlie, G. (2017). Biology of the BKPyV: An update. *Viruses*, 9(11), 327.
12. Rinaldo, C. H., Tylden, G. D. and Sharma, B. N. (2013). The human polyomavirus BK (BKPyV): Virological background and clinical implications. *APMIS*, 121(8), 728-745.
13. Dharnidharka, V. R., Abdulnour, H. A. and Araya, C. E. (2011). The BK virus in renal transplant recipients-review of pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Pediatric Nephrology*, 26(10), 1763-1774.

14. Kuppachi, S., Thomas, B. and Kokko, K. E. (2013). BK virus in the kidney transplant patient. *The American Journal of the Medical Sciences*, 345(6), 482-488.
15. Yi, S. G., Knight, R. J. and Lunsford, K. E. (2017). BK virus as a mediator of graft dysfunction following kidney transplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation*, 22(4), 320-327.
16. Sharma, R., Tzetzio, S., Patel, S., Zachariah, M., Sharma, S. and Melendy, T. (2016). BK virus in kidney transplant: Current concepts, recent advances, and future directions. *Experimental and Clinical Transplantation*, 14(4), 377-384.
17. White, M. K., Gordon, J. and Khalili, K. (2013). The rapidly expanding family of human polyomaviruses: recent developments in understanding their life cycle and role in human pathology. *PLOS Pathogens*, 9(3), 206.
18. Yamada, Y., Tsuchiya, T., Inagaki, I., Seishima, M., and Deguchi, T. (2018). Prediction of early BK virus infection in kidney transplant recipients by the number of cells with intranuclear inclusion bodies (decoy cells). *Transplant Direct*, 4(2), 340.
19. Wu, C., Randhawa, P. and McCauley, J. (2006). Transplantation: Polyomavirus nephropathy and the risk of specific immunosuppression regimens. *Scientific World Journal*, 28, 512-528.
20. Chong, S., Antoni, M., Macdonald, A., Reeves, M., Harber, M., and Magee, C.N. (2019). BK virus: Current understanding of pathogenicity and clinical disease in transplantation. *Reviews in Medical Virology*, 29(4), 44.
21. Ambalathingal, G. R., Francis, R. S., Smyth, M. J., Smith, C. and Khanna, R. (2017). BK polyomavirus: Clinical aspects, immune regulation, and emerging therapies. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(2), 503-528.
22. Low, J., Humes, H. D., Szczypka, M. and Imperiale, M. (2004). BKV and SV40 infection of human kidney tubular epithelial cells in vitro. *Virology*, 323(2), 182-188.
23. Burgos, D., Jironda, C., Martin, M., Gonzalez-Molina, M. and Hernandez, D. (2010). BK-virus-associated nephropathy. *Nefrologia*, 30(6), 613-617.
24. Varella, R. B., Almeida, J. R., Lopes Pde, F., Matos, J. P., Menezes, P. and Lugon, J. R. (2014). BK polyomavirus in kidney transplant recipients: Screening, monitoring and clinical management. *Journal Brasileiro de Nefrologia*, 36(4), 529-534.
25. van Aalderen, M. C., Heutinck, K. M., Huisman, C. and ten Berge, I. J. (2012). BK virus infection in transplant recipients: Clinical manifestations, treatment options and the immune response. *Netherlands The Journal of Medicine*, 70, 172-183.
26. Tremolada, S., Akan, S., Otte, J., Khalili, K., Ferrante, P., Chaudhury, P. R., Woodle, E. S., Trofe-Clark, J., White, M. K. and Gordon, J. (2010). Rare subtypes of BK virus are viable and frequently detected in renal transplant recipients with BK virus-associated nephropathy. *Virology*, 404(2), 312-318.

27. Ikegaya, H., Motani, H., Saukko, P., Sato, K., Akutsu, T. and Sakurada, K. (2007). BK virus genotype distribution offers information of tracing the geographical origins of unidentified cadaver. *Forensic Science International*, 173(1), 41-46.
28. Krejci, K., Tichy, T., Bednarikova, J., Zamboch, K. and Zadrazil, J. (2018). BK virus-induced renal allograft nephropathy. *Biomedical Paper Medical Faculty University Palacky Olomouc Czech Republic*, 162(3), 165-177.
29. Levican, J., Acevedo, M., Leon, O., Gaggero, A. and Auayo, F. (2018). Role of BK human polyomavirus in cancer. *Infectious Agents and Cancer*, 13, 12.
30. Zhong, S., Randhawa, P. S., Ikegaya, H., Chen, Q., Zheng, H. Y., Suzuki, M., Takeuchi, T., Shibuya, A., Kitamura, T. and Yogo, Y. (2009). Distribution patterns of BK polyomavirus (BKV) subtypes and subgroups in American, European and Asian populations suggest co-migration of BKV and the human race. *Journal of General Virology*, 90(1), 144-152.
31. Zheng, H. Y., Nishimoto, Y., Chen, Q., Hasegawa, M., Zhong, S., Ikegaya, H., Ohno, N., Sugimoto, C., Takasaka, T., Kitamura, T. and Yogo, Y. (2007). Relationships between BK virus lineages and human populations. *Microbes and Infection*, 9(2), 204-213.
32. Yogo, Y., Sugimoto, C., Zhong, S. and Homma, Y. (2009). Evolution of the BK polyomavirus: Epidemiological, anthropological and clinical implications. *Reviews in Medical Virology*, 19, 185-199.
33. Luo, C., Bueno, M., Kant, J. and Randhawa, P. (2008). Biologic diversity of polyomavirus BK genomic sequences: Implications for molecular diagnostic laboratories. *Journal of Medical Virology*, 80(10), 1850-1857.
34. Zalona, A. C., Lopes, G. S., Schrago, C. G., Gonçalves, R. T., Zalis, M. G. and Varella, R. B. (2011). Molecular characterization of BK polyomavirus subtypes in renal transplant recipients in Brazil. *Journal of Medical Virology*, 83(8), 1401-1405.
35. Wunderink, H. F., De Brouwer, C. S., Gard, L., De Fijter, J. W., Kroes, A. C. M., Rotmans, J. I. and Feltkamp, M. C. W. (2019). Source and relevance of the BK polyomavirus genotype for infection after kidney transplantation. *Open Forum Infectious Diseases*, 6(3), 680.
36. Ikegaya, H., Saukko, P. J., Terti, R., Metsärinne, K. P., Carr, M. J., Crowley, B., Sakurada, K., Zheng, H. Y., Kitamura, T. and Yogo, Y. (2006). Identification of a genomic subgroup of BK polyomavirus spread in European populations. *Journal of General Virology*, 87(11), 3201-3208.
37. Jiang, M., Abend, J. R., Tsai, B. and Imperiale, M. J. (2009). Early events during BK virus entry and disassembly. *Journal of Virology*, 83(3), 1350-1358.
38. Mbianda, C., El-Meanawy, A. and Sorokin, A. (2015). Mechanisms of BK virus infection of renal cells and therapeutic implications. *Journal of Clinical Virology*, 71, 59-62.

39. Low, J. A., Magnuson, B., Tsai, B. and Imperiale, M. J. (2006). Identification of gangliosides GD1b and GT1b as receptors for BK virus. *Journal Of Virology*, 80(3), 1361–1366.
40. Murray, P., Rosenthal, K. and Pfaller, M. (2015). *Medical microbiology*. (8th Ed.). USA: Elsevier, 415.
41. Balba, G. P., Javaid, B. and Timpone Jr., J. G. (2013). BK polyomavirus infection in the renal transplant recipient. *Infectious Disease Clinics of North America*, 27(2), 271-283.
42. Eash, S., Querbes, W. and Atwood, W. J. (2004). Infection of vero cells by BK virus is dependent on caveolae. *Journal of Virology*, 78(21), 11583-11590.
43. Pinto, M. and Dobson, S. (2014). BK and JC virus: A review. *Journal of Infection*, 68(1), 2-8.
44. Trofe-Clark, J. and Sawinski, D. (2016). BK and other polyomaviruses in kidney transplantation. *Seminars in Nephrology*, 36(5), 372-385.
45. Gouvea, A. L., Cosendey, R. I., Carvalho, F. R., Varella, R. B., de Souza, C. F., Lopes, P. F., Silva, A. A., Rochael, M. C., de Moraes, H. P., Lugon, J. R. and Almeida, J. R. (2016). Pilot study of early monitoring using urinary screening for BK polyomavirus as a strategy for prevention of BKV nephropathy in kidney transplantation. *Transplantation Proceedings*, 48(7), 2310-2314.
46. Eksi, F., Karşılıgil, T., Gündeş, I., Sağlam, M., Kırık, M. P., Büdeyri, M. S., Haydaroğlu-Şahin, H. ve Pehlivan, M. (2018). Investigation of BK virus by real-time polymerase chain reaction in patients with allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation Proceedings*, 50(5), 1510-1513.
47. Dalianis, T., Eriksson, B. M., Felldin, M., Friman, V., Hammarin, A. L., Herthelius, M., Ljungman, P., Mölne, J., Wennberg, L. and Swartling, L. (2019). Management of BK-virus infection - Swedish recommendations. *Infection Diseases*, 51(7), 479-484.
48. Pham, P. T., Schaenman, J. and Pham, P. C. (2014). BK virus infection following kidney transplantation: an overview of risk factors, screening strategies, and therapeutic interventions. *Current Opinion Organ Transplantation*, 19(4), 401-412.
49. Babel, N., Volk, H.-D. and Reinke, P. (2011). BK polyomavirus infection and nephropathy: the virus–immune system interplay. *Nature Reviews Nephrology*, 7, 399.
50. Comoli, P., Hirsch, H. H. and Ginevri, F. (2008). Cellular immune responses to BK virus. *Current Opinion Organ Transplantation*, 13(6), 569-574.
51. Wright, A. J. and Gill, J. S. (2016). Strategies to prevent BK virus infection in kidney transplant recipients. *Current Opinion Infectious Diseases*, 29(4), 353-358.
52. Gupta, N., Lawrence, R. M., Nguyen, C. and Modica, R. F. (2015). Review article: BK virus in systemic lupus erythematosus. *Pediatric Rheumatology Online Journal*, 13, 34.

53. Bhattacharjee, S. and Chattaraj, S. (2017). Entry, infection, replication, and egress of human polyomaviruses: An update. *Canadian Journal of Microbiology*, 63(3), 193-211.
54. Chon, W. J., Aggarwal, N., Kocherginsky, M., Kane, B., Sutor, J. and Josephson, M. A. (2016). High-level viruria as a screening tool for BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Kidney Research and Clinical Practice*, 35(3), 176-181.
55. Zakaria, Z. E., Elokely, A. M., Ghorab, A. A., Bakr, A. I., Halim, M. A., Gheith, O. A., Nagib, A. M., Makkeyah, Y., Balaha, M. A., Magdy, M. M. and Al-Otaibi, T. (2019). Screening for BK viremia/viruria and the impact of management of BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Experimental and Clinical Transplantation*, 17(1), 83-91.
56. Brochot, E., Descamps, V., Handala, L., Faucher, J., Choukroun, G., Helle, F., Castelain, S., François, C., Duverlie, G. and Touzé, A. (2019). BK polyomavirus in the urine for follow-up of kidney transplant recipients. *Clinical Microbiology and Infection* 25(1), 112.
57. Nihei, C. H., Pierrotti, L. C. and David-Neto, E. (2016). Analysis of diagnostic methods as a screening test to detect BK virus nephropathy in kidney transplant patients. *The Brazilian Journal of Nephrology*, 38(3), 277-279.
58. Sawinski, D. and Trofe-Clark, J. (2018). BK virus nephropathy. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 13(12), 1893-1896.
59. Funahashi, Y., Kato, M., Fujita, T., Tsuruta, K., Inoue, S. and Gotoh, M. (2014). Correlation between urine and serum BK virus levels after renal transplantation. *Transplantation Proceedings*, 46(2), 567-569.
60. Herrera, G. A., Veeramachaneni, R. and Turbat-Herrera, E. A. (2005). Electron microscopy in the diagnosis of BK-polyoma virus infection in the transplanted kidney. *Ultrastructural Pathology*, 29(6), 469-474.
61. Bechert, C. J., Schnadig, V. J., Payne, D. A. and Dong, J. (2010). Monitoring of BK viral load in renal allograft recipients by real-time PCR assays. *American Journal of Clinical Pathology*, 133(2), 242-250.
62. Masutani, K. (2014). Current problems in screening, diagnosis and treatment of polyomavirus BK nephropathy. *Nephrology (Carlton)*, 19(3), 11-16.
63. Bennett, S. M., Jiang, M. and Imperiale, M. J. (2013). Role of cell-type-specific endoplasmic reticulum-associated degradation in polyomavirus trafficking. *Journal of Virology*, 87(16), 8843-8852.
64. Azar, M. M., Assi, R., Valika, A. K., Banach, D. B., Hall, I. E., Landry, M. L. and Malinis, M. F. (2017). Graft loss among renal-transplant recipients with early reduction of immunosuppression for BK viremia. *World Journal of Transplantation*, 7(5), 269-275.
65. Yooprasert, P. and Rotjanapan, P. (2018). BK virus-associated nephropathy: Current situation in a resource-limited country. *Transplantation Proceedings*, 50(1), 130-136.

66. Favi, E., Puliatti, C., Sivaprakasam, R., Ferraresso, M., Ambrogi, F., Delbue, S., Gervasi, F., Salzillo, I., Raison, N. and Cacciola, R. (2019). Incidence, risk factors, and outcome of BK polyomavirus infection after kidney transplantation. *World Journal of Clinical Cases*, 7(3), 270-290.
67. İnternet: Ji, J., Feng, S., Jiang, Y., Wang, W. and Zhang, X. (2019). Prevalence and risk factors of BK viremia and clinical impact of BK virus surveillance on outcomes in kidney transplant recipients: A single-center cross-sectional study. *Experimental and Clinical Transplantation*. Web: <http://www.ectrx.org/detail/epub/1/1/1/0/797/0>, Son Erişim Tarihi: 18.08.2019.
68. Brennan, D. C., Agha, I., Bohl, D. L., Schnitzler, M. A., Hardinger, K. L., Lockwood, M., Torrence, S., Schuessler, R., Roby, T., Gaudreault-Keener, M. and Storch, G. A. (2005). Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *American Journal of Transplantation*, 5(3), 582-594.
69. Huang, G., Wang, C.-X., Zhang, L., Fei, J.-G., Deng, S.X., Qiu, J., Li, J., Chen, G.-D., Fu, Q. and Chen, L.-Z. (2015). Monitoring of polyomavirus BK replication and impact of preemptive immunosuppression reduction in renal-transplant recipients in China: A 5-year single-center analysis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 81(1), 21-26.
70. Manzano-Sanchez, D., Jimeno-Garcia, L., Manzano-Sanchez, D., Lopez-Jimenez, I., Saura-Lujan, I. M., Gonzalez-Soriano, M. J., Llorente-Vinas, S., Gil-Munoz, M. and Carbajo-Mateo, T. (2019). Renal function impairment in kidney transplantation: Importance of early BK virus detection. *Transplantation Proceedings*, 51(2), 350-352.

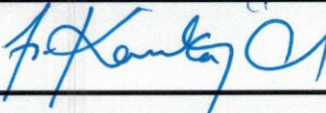
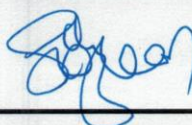
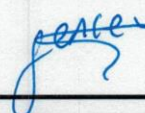
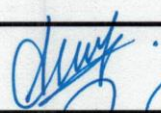
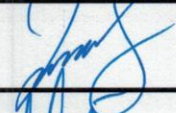
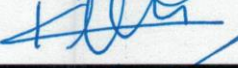
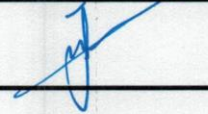
EKLER

EK-1. Gazi Üniversitesi Etik Komisyon Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 31.10.2019-E.136043		
T.C. GAZİ ÜNİVERSİTESİ Ölçme Değerlendirme Etik Alt Çalışma Grubu		
Sayı : 91610558-302.08.01- Konu : Bilimsel ve Eğitim Amaçlı		
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE		
İlgi : 09.09.2019 tarih ve E.109182 sayılı yazı		
İlgili yazınız ile göndermiş olduğunuz, Enstitünüz Mikrobiyoloji (Tıp) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Selin YİĞİT'in , Prof.Dr. Gülendam BOZDAYI 'nın danışmanlığında yürüttüğü " <i>Böbrek Transplantasyonu Yapılan Hastalarda İdrarda BK Virüs Kantitasyonunun Önemi ve Klinik ile İlişkisi</i> " adlı tez çalışması ile ilgili konu Kurulumuzun 16.10.2019 tarih ve 10 sayılı toplantısında görüşülmüş olup,		
İlgilinin çalışmasının yapılması planlanan yerlerden izin alınması koşuluyla yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmadığına oybirliği ile karar verilmiş ve karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.		
Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.		
e-imzalıdır Prof. Dr. Mehtap ÇAKAN Kurul Başkanı		
Araştırma Kod No: 2019-331		
Ek: 1 Liste		
		
Ankara Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 34 76 İnternet Adresi: http://etikkomisyon.gazi.edu.tr/		Bilgi için Evrak Çıkar Birim Evrak Sorumlusu Telefon No:0312 229 78 00
Bu belge 6070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.		

EK-1. (devam) Gazi Üniversitesi Etik Komisyon Kararı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
ÖLÇME DEĞERLENDİRME ETİK ALT ÇALIŞMA GRUBU
KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 16/10/2019		TOPLANTI SAYISI : 10	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof. Dr. Mehtap ÇAKAN Başkan			
Doç.Dr.İsmail KARAKAYA Başkan Yrd.			
Prof.Dr.Galip YÜKSEL		KATILAMADI	
Prof.Dr.İsmet YÜKSEL			
Prof.Dr.Seçil ÖZKAN			
Prof.Dr.Cevriye TEMEL GENCER			
Prof.Dr. C. Haluk BODUR		KATILAMADI	
Prof.Dr.İbrahim DOĞAN		KATILAMADI	
Prof.Dr.Aymelek GÖNENÇ			
Doç.Dr.Zehra GÖÇMEN BAYKARA			
Doç.Dr.Nihan KAFA			
Doç.Dr.İlyas OKUR			
Doç.Dr.Necdet KARASU		KATILAMADI	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : YİĞİT, Selin
 Uyruğu : T.C
 Doğum tarihi ve yeri : 26/05/1994 Ankara
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 505 682 75 73
 e-posta : selnyigt@gmail.com



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/Tıbbi Mikrobiyoloji ABD	Devam ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi /Biyoloji Bölümü	2016
Lise	İncirli Lisesi	2012
İş Deneyimi, yılı	Çalıştığı Yer	Görev
2019-devam ediyor	Gazi Üni. Tıp Fak.Hastanesi Moleküler Mikrobiyoloji Lab.	Biyolog

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar&Poster Sunumları

1. Muftah, H., Altay, A., Yigit, S., Yuce, K. ve Bozdayı, G. (2018/23-26 September). *Investigation of BK virus DNA positivities by Real-Time PCR in immunosuppressive patients* 21st Poster Presentations, European Society for Clinical Virology Athenian.
2. Yigit, S., Yuce, K., Muftah, H., Tapisiz, A. ve Bozdayi, G. (2019/11-14 September). *Investigation the prevelance and seasonal analysis of human parainfluenza viruses (HPIVs) in pediatric patients* 22st European Society for Clinical Virology, Poster Presentations, Copenhagen, Denmark.

Hobiler

Yüzmek, Seyahat Etmek, Kitap Okumak



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..



Biblioteka fakulteta

