T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İNSAN BAĞIŞIKLIK EKSİKLİĞİ VİRUSU (HIV) İLE İNFEKTE KİŞİLERDE İNSAN PEGİVİRUSLARININ (HPGV) SIKLIĞININ VE GENOTİP ÇEŞİTLİLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

EBRU YÜCEBAĞ

DANIŞMAN
PROF. DR. KENAN MİDİLLİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
TEZ SAVUNMA SINAV TUTANAĞI

ÖĞRENCİNİN

Numarası	: 2701160160
Adı Soyadı	: Ebru YÜCEBAĞ
Anabilim Dalı	: Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Programı	: Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı
Tez Savunma Sınav Tarihi	: 10.01.2020
Tez Savunma Sınav Saati	: 10.00
Öğretim Yılı/Dönemi	: 2019-2020 Güz

MEVCUT TEZİN

Tez Adı	İnsan Bağışıklık Eksikliği Virusu (HIV) ile İnfekte Kişilerde İnsan Pegiviruslarının (HPGV) Sıklığının ve Genotip Çeşitliliğinin Araştırılması
Yabancı Dilde Tez Adı	Investigation of the Frequency and Genotype Diversity of Human Pegiviruses (HPGV) in People Infected with Human Immunodeficiency Virus (HIV)

Yukarıda bilgileri sunulan öğrencinin tez savunma sınavı "İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'ne uygun olarak yapılmış ve jüri OY BİRLİĞİ ile tezin KABULÜNE karar vermiştir.

Prof. Dr. Kenan MİDİLLİ
Danışman

Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Sevim MEŞE
Jüri Üyesi

BEYAN

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

Ebru YÜCEBAĞ



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim sürecim boyunca bilgisini, mesleki tecrübesini, desteğini ve en önemlisi güvenini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI'ya teşekkür ederim.

Bu süreçte bana ilk günden beri destek olan ve tezimin tamamlanması için gerekli her aşamada bilgisi ve deneyimlerinden yararlandığım, hem akademik hem de manevi olarak hayatıma büyük katkısı bulunan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kenan MİDİLLİ'ye teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca bilgi, deneyimlerinden yararlandığım ayrıca çalışmanın gerçekleşmesi için gerekli kontrol grubu örneklerinin toplanmasında yardımı bulunan Sayın Prof. Dr. Bekir S. KOCAZEYBEK'e, yüksek lisans eğitim sürecim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, üzerimde emeği bulunan Anabilim Dalı öğretim üyelerimiz, Sayın Prof. Dr. ARİF KAYGUSUZ, Prof. Dr. Gökhan AYGÜN, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ, Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN, Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR, Prof. Dr. Sevgi ERGİN, Doç.Dr. ERDAL POLAT'a teşekkür ederim.

Tezimin tüm basamaklarında yanımda bulunan ve manevi desteğini, güvenini, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Dr. Mert Ahmet KUŞKUCU'ya, laboratuvar kısmının tamamında bana büyük katkısı olan Muhammet AYDIN'a, Erol GÜNDÜZ'e ve Hatice DEMİR'e teşekkür ederim.

Bu dönemde hem iyi hem de zor zamanlarında bana desteklerini hiç esirgemeyen sevgili arkadaşlarım MSc. Yağmur Eylül DOĞANTÜRK, MSc. Aylin DAĞ, MSc. Zeynep GÜNGÖRGÜ DALAR, MSc. Zeynep TANER, MSc. Harika Öykü DİNÇ'e ve sevgili yüksek lisans arkadaşlarım Doğukan ÖZBEY, Edip TOKUÇ, Seçil İSKENDER, Özge AKSU, Nigar FERMİRALİZADEH, Merve EĞRİBEL, Metin YALÇIN, Burcu Nur AYDIN, ayrıca Aysun UYANIK ÖCAL'a ve süreç boyunca yardımı dokunan Anabilim dalımızın tüm çalışanları ve mikrobiyoloji laboratuvarımızın tüm personeline teşekkür ederim.

Son olarak da yanımda bulunup ilgi, destek ve güvenlerini esirgemeyen tüm arkadaşlarıma ve sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ X
ÖZET ..... Xİİ
ABSTRACT ..... Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Human Pegivirus (HPgV) 4
2.1.1. Tarihçe 4
2.1.2. Sınıflandırma 5
2.1.3. Virusun Genel Yapısı 6
2.1.3.1. Kapsid 7
2.1.3.2. Zarf 8
2.2. Viral Genom 8
2.3. Viral Replikasyon Mekanizması 9
2.4. Epidemiyoloji ve Bulaşma Yolları 12
2.5. Patogenez ve İmmünite 13
2.6. HPgV'de Genotip Çeşitliliği 19
2.7. HPgV Tanısı 20
2.8. Tedavi ve Korunma 21
3. GEREÇ VE YÖNTEM 22
3.1. Gereçler 22
3.1.1. Kulanılan Cihazlar ve Aletler 22
3.1.2. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeleri 22
3.1.3. Kullanılan Yazılımlar 23

3.2. Örneklerin Toplanması 23
3.3. Örneklerden Viral RNA eldesi ve cDNA sentezi 24
3.4. PCR Yöntemi ile HPgV'un Çoğaltılması 25
3.5. DNA Dizi Analizi 27
3.6. İstatistiksel analiz: 30
4. BULGULAR 31
5. TARTIŞMA 36
KAYNAKLAR 45
ETİK KURUL KARARI 55
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 56
ÖZGEÇMİŞ 57

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1 HPgV-1 genotiplerinin dünya genelinde yaygın olan dağılımları 19
Tablo 3-1 5'UTR bölgesinden hazırlanan primer dizileri (100 µM) 24
Tablo 3-2 Revers Transkriptaz aşaması için gerekli olan malzemeler ve PCR protokolü 25
Tablo 3-3 Birinci aşama PCR için gerekli olan malzemeler 26
Tablo 3-4 İkinci aşama PCR için gerekli olan malzemeler 26
Tablo 3-5 Realtime-PCR protokolü 26
Tablo 4-1 Kontrol/çalışma grubuna ait demografik veriler 31
Tablo 4-2 Pozitif saptanan örnek dağılımları 32
Tablo 4-3 Çalışmada elde edilen DNA dizilerinin genetik uzaklıkları 35

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 Flaviviridae ailesine ait üyelerin replikasyon basamakları.....11
Şekil 2-2 HPgV infeksiyonunun HIV üzerine etkisi-1 17
Şekil 2-3 HPgV infeksiyonunun HIV üzerine etkisi-2 18
Şekil 3-1 Sequencing Analysis v5.2.0 yazılımı kullanılarak analizi yapılmış bir örneğe ait ileri ve geri okumasının elektroferogram görüntüsü 28
Şekil 3-2 SeqManPro programı ile eşleştirilen ve tek bir dizi haline getirilen bir örneğe ait görüntü.....29
Şekil 3-3 BLAST programı ile yapılan dizi analizi sonucunun öğrenilmesi.....30
Şekil 4-1 RT-PCR ile elde edilen (2. aşama PCR ürünü) HPgV-1 RNA'ya ait jel elektroforezi görüntüsü.....32
Şekil 4-2 Hastalar-kontroller ve gen bankasından indirilen standart dizilere ait filogenetik ağaç 34

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
ALT	: Alanin aminotransferaz
ART	: Antiretroviral Tedavi
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
cDNA	: Complementary DNA
CI	: Güven aralığı (Confidence intervals)
E	: Envelop
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
GAG	: Glikozaminoglikan reseptör
GBV-C	: GB virus C
GP	: Glikoprotein
HAART	: Highly Active Antiretroviral Treatment
HAV	: Hepatit A Virus
HBsAg	: Hepatit B yüzey antijeni
HBV	: Hepatit B Virus
HCV	: Hepatit C Virus
HGV	: Hepatit G Virus
HHPgV-1	: Human Hepegivirus-1
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HPgV	: Human Pegivirus
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
IRES	: Internal Ribosome Entry Site
Kb	: Kilobaz
LDLr	: Low-density lipoprotein receptor
MIP	: Macrophage inflammatory protein
NCR	: Non-coding region
NK	: Natural killer

NS	: Non-structural
OR	: Odds Ratio
ORF	: Open Reading Frame
PCR	: Polymerase chain reaction
pDH	: Plazmositoid dendridik hücre
PKMH	: Periferik Kan Mononüklear Hücre
RANTES	: Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted
RbRp	: RNA bağımlı RNA polimeraz
RNA	: Ribonükleik asit
RT-PCR	: Reverse transcription polymerase chain reaction
SDF	: Stromal cell-derived factor
Th	: T helper
TNF	: Tümör nekrozis faktör
UTR	: Untranslated Region

ÖZET

YÜCEBAĞ, E. (2020). İnsan Bağışıklık Eksikliği Virusu (HIV) ile infekte kişilerde İnsan Pegiviruslarının (HPgV) sıklığının ve genotip çeşitliliğinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Flaviviridae ailesi içinde yer alan insan pegivirusları (HPgV) başlangıçta A, B, C dışı hepatiti olan insanlarda tanımlanmasına bağlı olarak hepatotropik olarak düşünülmüş ancak sonraki yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, akut ya da kronik hepatitle ilişkisi bulunamamıştır. Çeşitli prevalans çalışmalarının sonuçlarına göre sağlıklı kişilerde HPgV-1 sıklığı % 1-20 arasındadır. Bu çalışmada pek çok farklı çalışmada HIV infeksiyonunun gidişatı ve immünolojik yanıtı etkilemesinin belirtilmesi nedeni ile HIV ile infekte kişilerde HPgV sıklığının ve genotip çeşitliliğinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmaya HIV ile infekte, ART deneyimsiz 117 hastanın plazma örnekleri ile 100 kontrol serum örneği dahil edildi. HPgV RNA 5'UTR bölgesinden tasarlanan primerler kullanılarak RT-nested PCR yöntemiyle, genotip tayini ise Sanger Dizi analizi yöntemiyle yapıldı.

Hasta grubuna ait örneklerin % 24,78'inde (29/117) ve kontrol grubuna ait örneklerin % 18'inde (18/100) HPgV-1 RNA saptandı aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,0148). HPgV-2 RNA ne hasta ne de kontrol grubuna ait örneklerde saptanmadı. Filogenetik analiz sonucu HPgV-1 izole edilen kökenlerinin hepsinin genotip 2, alt grubun yaygın olarak 2a olduğu saptandı. 29'unun sadece 2'si subtip 2b idi. HIV ile infekte grup daha fazla genetik çeşitlilik gösterirken kontrol grubu daha homojen bir yapı sergilemekte idi. HPgV-1 pozitif HIV infekte bireylerde viral yük ortalaması bakımından istatistiksel anlamlı fark yoktu. HPgV-1 pozitifliği 40 yaş altı bireylerde (32/124, % 25,80), 40 yaş üstü bireylere (15/93, % 16,12) göre daha yüksekti (p= 0,00044).

Elde edilen sonuçlar dünyada HIV ile infekte hastalardaki HPgV sıklığı ile yapılan çalışmalar ile benzer çıkmıştır. HPgV-1'in baskın genotipinin 2a bulunması Türkiye ve yakın coğrafyamızdaki diğer çalışmalar ile uyumludur. HPgV-1'in HIV üzerindeki olumlu etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için ileriye dönük çalışmalar gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: HIV, HPgV-1, HPgV-2, GBV-C/HGV, genotiplendirme

ABSTRACT

YÜCEBAĞ, E. (2020). Investigatgion of frequency and genotype diversity of Human Pegiviruses (HPgV) in people infected with Human Immune Deficiency Vırus (HIV). İstanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Department of Medical Microbiology. Master Thesis. İstanbul.

Since human pegiviruses (HPgV) belonging to the Flaviviridae family had been originally identified in people with non-A-non-B and non-C hepatitis, they were initially considered as hepatotropic viruses, but later epidemiological studies showed no connection with acute or chronic hepatitis. According to the results of various studies, in general the prevalence of HPV-1 viremia in healthy people varies between 1% and 20%. The aim of this study was to investigate the frequency and genotype diversity of HPgV in HIV-infected individuals, since several effects of the virus on the course and immunological parameters of HIV infections has been described by numereous studies.

The study included plasma samples of 117 HIV-infected, ARTnaïve, patients and 100 control serum samples. HPgV RNA was invetigated by RT-nested PCR method and primer sets designed from 5'UTR region were used for amplification and genotyping by Sanger Sequence analysis.

HPgV-1 RNA was detected in 24.78% (29/117) of the patient group and in 18% (18/100) of the control group, and the difference was statistically significant ($p = 0.0148$). HPgV-2 RNA was detected neither in patients nor in control group. The results of the phylogenetic analysis showed that all HPgV-1 isolates were genotype 2 and the majority of them were assigned to subgroup 2a. Only 2 out of 29 belonged to subtype 2b. The HIV infected group exhibited more genetic diversity compared to the control group. There was no statistically significant difference between HPgV-1 infected and uninfected HIV-1 positive subjects regarding the HIV-1 viral loads. In both groups HPgV-1 positivity rates were higher in those aged < 40 years (32/124, 25,80%) than those aged >40 years (15/93), 16.12% ($p = 0.00044$).

We obtained results similar to the studies that looked at the frequency of HPgV in HIV-infected patients worldwide. Genotype 2a was identified as the dominant genotype, and this finding is consistent with previous studies reported from Turkey and other countries in the same geographic region. Further studies are needed to better understand the effects of the HPgV-1 virus on HIV infection.

Key Words: HIV, HPgV-1, HPgV-2, GBV- C/ HGV, genotyping

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan pegivirusları (HPgV-1 ve HPgV-2) *Flaviviridae* ailesi içerisinde, *Pegivirus* cinsi içinde yer alırlar. HPgV-1 (eski adı HGV/GBV-C) *Pegivirus C* türü olarak sınıflandırılmaktadır[1]. Pegiviruslar bir diğer *Flaviviridae* ailesi üyesi olan Hepaciviruslar gibi pozitif anlamlı tek sarmallı RNA genomuna sahiptirler. HPgV-1 genom organizasyonu olarak Hepatit C virusu (HCV) ile % 30 oranında benzerlik gösterir[2].

Pegivirus cinsinin bir diğer üyesi ve *Pegivirus H* türüne ait olan HPgV-2, 2015 yılında iki farklı araştırmacı tarafından tanımlanmıştır[1]. Bu yeni virus *Hepacivirus* ve *Pegivirus* genomları ile benzer özellikler paylaşır. Berg ve arkadaşları bu virusa HPgV-2, Kapoor ve arkadaşları ise aynı virusa İnsan Hepegivirus-1 (HHPgV-1) adını vermiştir[3,4].

Başlangıçta A, B, C dışı hepatiti olan insanlarda tanımlanmasına bağlı olarak HPgV-1'nin hepatotropik bir virus olduğu düşünülmüş; ancak sonraki yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, akut ya da kronik hepatitle ilişkisi bulunamamıştır. Kemik iliği, dalak, beyin omurilik sıvısı, T ve B lenfositlerinde, periferik kan mononüklear hücrelerinde (PKMH) virus saptanmıştır[5,6]. Virusların daha çok dolaşımdaki lenfositlerde saptanmış olması lenfotropik olduğu görüşünü desteklemektedir.

HPgV-1 dünya genelindeki en yaygın flavivirustur[7]. HPgV-1 viremisinin sıklığı üzerine yapılan kesitsel çalışmalara göre gelişmiş ülkelerde sağlıklı kan donörlerinde viremi % 1-5 oranında bulunurken gelişmekte olan ülkelerde bu oran % 20'lere kadar yükselmektedir, dünya geneline bakıldığında ise prevalans % 3,1'dir[2,8]. Virusun dünya genelinde yaklaşık 750 milyon insanı infekte ettiği tahmin edilmektedir[9].

Başlıca infekte kan ve kan ürünleri ile tamas, cinsel temas, anneden bebeğe geçiş ile bulaşan HPgV-1, bulaşma yolları bakımından temel olarak insan bağışıklık eksikliği virusuna (HIV) benzerdir[10–13]. Nitekim HIV ile infekte kişilerde HPgV-1 prevalansı daha yüksek olup % 20-41 arasında değişmektedir[14–18].

HPgV-2'nin sıklığı kan yolu ile bulaşan viruslara göre daha düşüktür. Çin'de yapılan bir araştırmada tekli HIV infeksiyonu olan kişilerde HPgV-2 RNA'sı bulunmazken; HIV/HCV koinfeksiyonlu kişilerde HPgV-2 RNA'sı % 3,47 oranında bulunmuştur[19].

Yine Çin'de HIV/HCV koinfeksiyonlu uyuşturucu kullanıcılarıyla yapılan çalışmada HPgV-2 RNA'sı % 5,7 oranında bulunmuştur[20].

Pegiviruslar genellikle sağlıklı kişilerde persistan, asemptomatik infeksiyonlara neden oldukları halde şu ana kadar insanlarda herhangi bir hastalıkla ilişkisi olduğu gösterilememiştir. HPgV-1'in neden olduğu infeksiyonların % 75'i yaklaşık 2 yılda temizlenirken kalan % 25'i ise kalıcı infeksiyonlar haline gelmektedir[21]. 2019 tarihli bir derlemede 19 çalışmanın sonucuna göre sağlıklı kan donörlerinde HPgV-1 E2 antikor prevalansı % 9 olarak yayınlanmıştır[8].

HPgV-1'nin farklı coğrafi dağılım özellikleri gösteren başlıca 6 genotipi bulunmakla birlikte 7. genotipinin de var olduğunu gösteren birkaç yayın mevcuttur. Virusun dünyadaki coğrafi yayılımına bakıldığında Batı Afrika'da genotip 1, Amerika ve Avrupa'da genotip 2, Doğu Asya'da genotip 3, Myanmar ve Vietnam'da genotip 4, Güney Afrika'da genotip 5, Endonezya'da genotip 6, Çin'de genotip 7 yaygın olarak gözlenmektedir[22,23].

HPgV'ların özellikle HPgV-1'in, HIV ile infekte hastalarda sağkalım üzerine olumlu etkisi olduğuna ve HIV replikasyonunu inhibe ederek hastalığın seyrini ve ilerleyişini yavaşlattığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Birçok çalışma ve bir meta analizde HPgV-1 viremisi olmayan HIV infekte bireylerle HPgV-1/HIV koinfeksiyonu olan kişiler karşılaştırıldığında koinfeksiyonlu bireylerin yaşam sürelerinin daha uzun olduğu saptanmıştır[21,24–27].

Birkaç çalışmada genotip 2 ve genotip 5'in AIDS'in ilerlemesini geciktirebileceği gösterilmiştir[7,22,28,29]. Ayrıca Çin'de yapılan bir çalışmada genotip 7'nin de HIV replikasyonunu azaltabileceği ve AIDS'in ilerlemesini geciktirebileceği gösterilmiştir [16]. HPgV-1 koinfeksiyonunun antiretroviral tedavi (ART) alan hastalarda tedaviye yanıtı arttırdığını gösteren çalışmalar da vardır[30,31]. Kombine antiretroviral tedavi (HAART) döneminde yapılan bazı çalışmalarda, kesin olmamakla birlikte HPgV-1 ile koinfekte kişilerde, CD4 hücre sayısından ve HIV RNA düzeylerinden bağımsız olarak tam virolojik yanıt oranının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir[30,32,33].

Yapılan literatür araştırmalarında Türkiye'de geçmiş dönemde kan donörleri, hemodiyaliz hastaları, kronik hepatit B ve C hastalarında yapılmış çalışmalar bulunmakla birlikte, HIV ile infekte kişilerle ilgili çalışmaya rastlanmadı. Son yıllarda

yeni tiplerinin tanımlanmış olması ve sınıflandırmasındaki gelişmelere ek olarak virusun biyolojik ve epidemiyolojik özelliklerinin de daha iyi anlaşılmış olması nedeniyle bu çalışmada HIV ile infekte, ART deneyimsiz kişilerde HPgV sıklığının ve genotip çeşitliliğinin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Human Pegivirus (HPgV)

İnsan pegivirusları (HPgV), *Flaviviridae* ailesinin bir üyesi olup, genellikle genç yaştaki bireylerde daha sık görülen ve dünya genelinde yaygın olan infeksiyon etkenlerinden bir tanesidir. Genellikle sağlıklı kişilerde asemptomatik infeksiyonlara sebep olur. İlk çalışmalarda hepatit ile bir ilişkisi olabileceği düşünülmesine rağmen herhangi bir insan hastalığına neden olduğu kesin olarak kanıtlanmamıştır.

2.1.1. Tarihçe

İlk kez Deinhardt ve arkadaşları, A ve B olmayan hepatitler üzerinde çalışmaları sürecinde, akut hepatitinin 3. gününde olan bir cerrahtan (G. Barker) serum alıp, bu serumu bir çeşit marmoset olan, Yeni Dünya maymunu türü (*Saguinus labiatus*) tamarinlere inoküle ettiklerinde, hepatite yol açtığını gözlemlediler. İnoküle edilen hayvanlardan alınan serum hem başka tamarinlere hem de diğer Yeni Dünya maymun türlerine verildiğinde benzer hepatit tablosunun oluşması üzerine cerrahın adının baş harflerine dayanarak, bu bulaştırılabilir etkene "GB ajanı" adı verildi ve bu ajanın, A ve B dışı hepatitin olası etkenlerinden biri olabileceği düşünüldü[34,35].

1995 yılında Abbott Laboratuvarı'ndan bir grup araştırmacı, GB ajanın 11. pasajı ile inoküle edilen tamarinlerin serum ve karaciğerinde iki ayrı virus tespit etti. İnfeksiyöz serum kökeninden dolayı bu viruslara GB virusu A ve GB virusu B (GBV-A ve GBV-B) adı verildi[36,37]. Yine 1995 yılında insan serumu örneklerinde GBV-A ve GBV-B ile sınırlı sekans benzerliği gösteren yeni bir virus keşfedildi. Bu virusa GBV-C adı verildi[38].

Aynı zaman diliminde (1995), Genelabs Laboratuvarları'ndan bir araştırma grubu, A ve B dışı hepatitli insanların serumunda yeni RNA virus dizileri tespit etti ve bu virus hepatit G virusu **(**HGV) olarak adlandırdı[39]. Daha sonra HGV ve GBV-C genomlarının aynı virus türünün varyantları olduğu ortaya çıktı.

''GB'' viruslarının tümü HCV ile uzaktan ilişkilidir[37–39]. Ayrıca öngörülen genom yapısı ve nükleotid dizisi ilişkilerine dayanılarak üç ''GB'' virusu *Flaviviridae* ailesinin üyeleri olarak sınıflandırıldı. Daha sonraki çalışmalarda GBV-C ya da HGV'nun hepatite yol açmadığı belirlendi ve bahsi geçen cerrahın da (G.B.) virus ile

infekte olduğuna dair direkt bir kanıt bulunamadı. GBV-C/HGV, benzer bazı primat ve yarasa virusları ile birlikte *Flaviviridae* ailesi çatısı altında, yeni bir cins içerisinde tanımlandı. 2012 yılında cins adı ingilizcede kalıcı ya da inatçı anlamına gelen ‘’persistent’’ kelimesinin ilk iki harfi olan ‘‘Pe’’ ve GB virusları ya da HGV’yi temsilen “G” harfinin birleştirilmesi ile oluşan “*Pegivirus*” cinsi tanımlanmıştır. HGV ya da GBV-C de bu cins altında yeniden adlandırılarak Human Pegivirus-1 (HPgV-1) olarak düzenlendi[40,41].

HPgV-2 ise 2015 yılının farklı zaman dilimlerinde iki farklı araştırmacı tarafından keşfedildi. Kapoor ve arkadaşları tarafından 2015 yılı, Eylül ayında yayınlanan çalışmada, kan transfüzyonu yapılan alıcılarda, genetik özellikleri bakımından HCV ve HPgV-1 ile ortak özellikler gösteren yeni bir insan virusu bulundu. Bulunan virusa, *Flaviviridae* ailesi üyesi olan *Hepacivirus* ve *Pegivirus*’a ithafen cinslerin ilk iki harfinin birleşmesiyle oluşan ‘*Human Hepegivirus*’ ismi verildi[3]. Yine 2015 yılının Aralık ayında ise Berg ve arkadaşları HCV ile infekte bir hastanın plazmasında, yeni nesil dizi analizi ile yaptıkları çalışma sonucu ikinci bir insan pegivirusu keşfettiler ve virusu HPgV-2 olarak isimlendirdiler. Günümüzde bu virus HPgV-2 olarak sınıflandırılmaktadır[4].

2.1.2. Sınıflandırma

HPgV, 40-60 nm çapında, zarflı, pozitif anlamlı, tek sarmallı RNA içeren küresel yapılı virusların bulunduğu *Flaviviridae* ailesinde yer almaktadır. Ailenin en önemli özelliklerinden biri persistan infeksiyon yapma yetenekleridir. Diğer bir özellikleri ise genel olarak kan yolu ile bulaşmalarıdır. *Flaviviridae* ailesi 4 cins ve yaklaşık 60 türden oluşmaktadır[42]. Bunlar;

Flaviviruslar; 50’den fazla üyesi artropodların (sivrisinek, kene) vektörlüğü sonucu bulaşırlar. Memeliler ve kuşlar ana konaktır. Sivrisinek ile bulaşan önemli insan patojeni flaviviruslara Sarı humma virusu, Dengue ateşi virusu, Batı Nil virusu, St.Louis ensefalit virusu, Japon ensefalit virusu örnek olarak verilebilir. Kene ile bulaşan önemli insan patojeni flaviviruslara ise kene ensefaliti virusu, Kyasanur Forest virusu, Louping ill virus, Powassan virus, Omsk hemorajik ateşi virusu örnektir [43]. Ailenin üyeleri

insanlarda asemptomatik infeksiyonlardan hemorajik ateş ve nörolojik hastalıklar gibi ciddi infeksiyonlara neden olurlar[42].

Pestiviruslar; genelde besi hayvanlarını infekte eden önemli hayvan patojenleri bu cins içerisinde yer alır bu nedenle ekonomik açıdan önemlidirler. Persistan infeksiyonlar oluştururlar. İnfekte sekresyonlara temas yolu ile bulaşırlar. Sığır viral diyare virusu, klasik domuz nezlesi virusunu içerirler, hayvanlarda hemorajik ateş, diyareye neden olurlar[42,44].

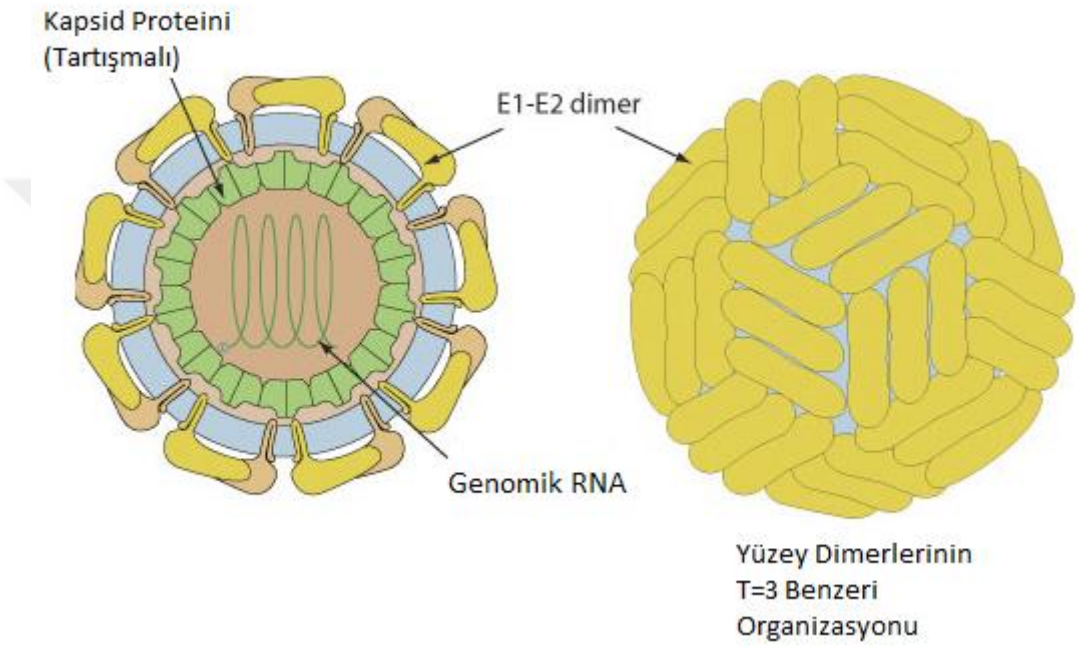
Hepasiviruslar; bu cins içerisinde en çok bilinen virus, karaciğeri hedef alıp, persistan infeksiyon oluşturan HCV'dir. Bu cinsin patojenitesi henüz bilinmeyen diğer üyeleri ise atlar, kemiriciler, yarasalar, inekler ve primatlar gibi çok çeşitli hayvan gruplarını infekte ederler[45].

Pegiviruslar; kemirici, yarasa ve at gibi memeli hayvanlarda persistan infeksiyon yapabilirler. Bu cinse ait virusların, eski çalışmalarda hepatit gibi hastalıklarla ilişkisinin olduğu düşünülmüş fakat bu zamana kadar herhangi bir hastalığa neden olduğuna dair kesin kanıt bulunamamıştır. Pegivirus cinsi içerisinde A'dan K'ye kadar olmak üzere 11 tane tür bulunur. *Pegivirus A* yeni dünya primatlarını ve eski dünya yarasalarını, *Pegivirus B* eski dünya yarasalarını, *Pegivirus C* insan ve eski dünya primatlarını, *Pegivirus D* ve *E* atları, *Pegivirus F* yeni dünya yarasalarını, *Pegivirus G* eski dünya yarasalarını, *Pegivirus H* insanları, *Pegivirus I* yeni dünya yarasalarını, *Pegivirus J* yeni ve eski dünya kemirgenlerini son olarak da *Pegivirus K* ise domuzları infekte eder[46].

2.1.3. Virusun Genel Yapısı

HPgV, *Flaviviridae* ailesi, *Pegivirus* cinsi içerisinde yer alan zarflı, tek sarmallı pozitif anlamlı bir RNA virusudur. HPgV-1 yaklaşık 9,4 kb, HPgV-2 ise 9,5-9,9 kb büyüklüğünde genoma sahiptir[3,4,6]. Pegivirusların geniş bir memeli konak çeşitliliği vardır. Farklı konak türleri arasındaki geçiş olup olmadığı hakkındaki bilgiler yetersizdir. Pegivirusların bilinen omurgasız bir vektörü yoktur. *In vitro* şartlarda üremeleri oldukça zordur bundan dolayı hücre kültürleri şimdiye dek başarılı olamamıştır [6] ve virus şimdiye kadar görüntülenememiştir. Por filtrasyon metodu sonucunda virionun büyüklüğünün 50-100 nm arasında olduğu tahmin edilmektedir.

Tek sarmallı RNA genomunun kapsid proteinleri ile çevrelendiği düşünülmektedir. Kapsid ile zarf arasında tegument adlı bir tabaka bulunur. En dışta ise lipid tabakasından oluşan bir zarf yer alır. Zarfını diğer *Flaviviridae* üyeleri gibi infekte ettiği hücrelerden alındığı düşünülmektedir. Zarfa gömülü olarak E1 ve E2 zarf glikoproteinleri bulunur (Şekil 2-1)[47].



Şekil 2-1 Pegivirus'un morfolojik yapısı

(https://viralzone.expasy.org/4860?outline=all_by_species'den değiştirilerek alınmıştır.)

2.1.3.1. Kapsid

Pegivirusların nükleokapsidlerinin olup olmadığı hakkında kesin bir bilgi olmamakla birlikte nükleokapsid içerdiğini gösteren çalışmalar da vardır fakat nüklekapsidi oluşturan proteinlerin kökeni henüz bilinmemektedir[48,49]. Pegivirusların çoğunun diğer *Flaviviridae* ailesi üyelerinden farklı olarak kor (=nükleokapsid) proteinlerinden eksik olduğu düşünülmektedir[47]. Çünkü HPgV genomunda kor (=nükleokapsid) proteinini kodlayan gen bölgesinin varlığı belirsizdir. Fakat HPgV ile infekte olan kişilerde E1 gen bölgesinin yukarısında bulunan bölgeden türetilen sentetik bir peptid ile reaksiyona giren antikor (HPgV kor proteinine karşı geliştiği düşünülen) saptamıştır[48,49].

2.1.3.2. Zarf

Flaviviridae ailesinin diğer üyelerinde olduğu gibi zarfı infekte ettiği hücreden çıkmadan önce tomurcuklanma yolu ile aldığı düşünülmektedir. Çift tabakalı lipid zarf üzerinde gömülü olan, E1 ve E2 olarak adlandırılan iki adet zarf glikoproteini bulunmaktadır. Bu proteinler konak hücreye bağlanmada görev yapmaktadır[42,47].

2.2. Viral Genom

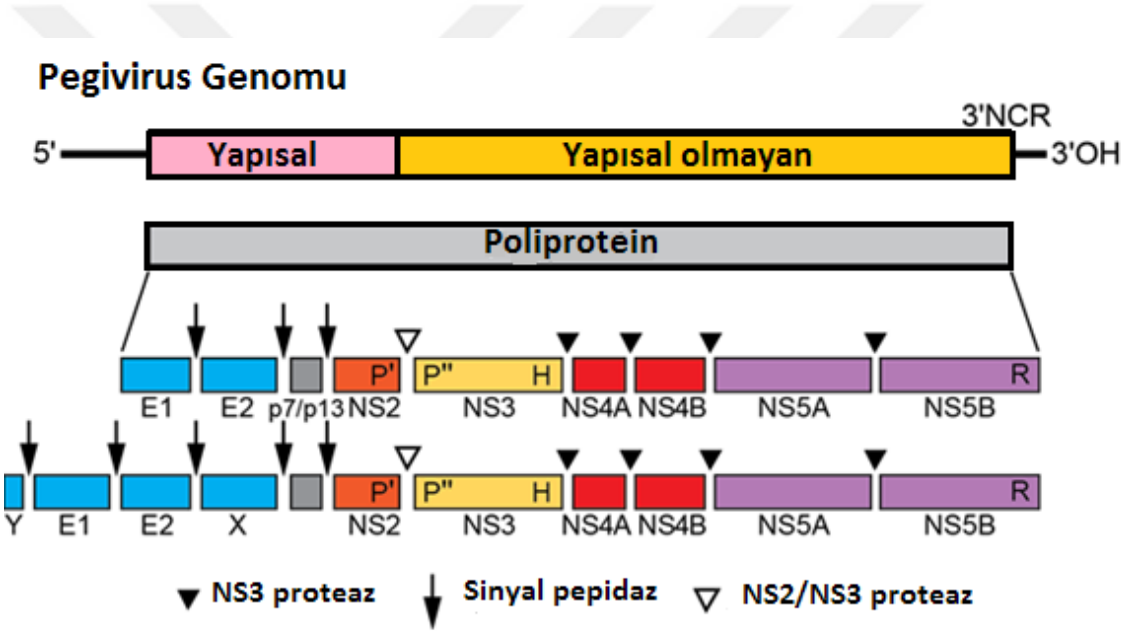
Pegivirus genomu yaklaşık olarak 8,9-11,3 kb uzunluğunda, tek sarmallı ve pozitif anlamlı lineer RNA'dan oluşmaktadır. Genomun 5' kodlayıcı olmayan bölgesinde (5'UTR) yaklaşık 300-550 nükleotit uzunluğuna sahip, ''internal ribosomal entry site'' (IRES) özelliği gösteren bölge bulunur. Bu bölgenin ardından 2900 aminoasitlik tek bir poliprotein kodlayan açık okuma çerçevesi (ORF) ve yaklaşık 300 nükleotit uzunluğuna sahip 3' UTR gelir. Tek ve uzun olan poliproteinin proteaz ile kesilmesi sonucunda yapısal ve yapısal olmayan çeşitli proteinler oluşmaktadır. Yapısal proteinleri kodlayan bölgenin, virion için karakteristik olan zarf glikoproteinlerini (E1 ve E2) kodladığı düşünülmektedir, yapısal olmayan proteinleri kodlayan bölge ise NS2 ile NS5B gen bölgesi arasında uzanır ve NS2 bölgesi proteazı, NS3 bölgesi helikazı, NS3-4A bölgesi proteolitik enzimleri, NS4B ve NS5A bölgeleri membran değişikliğini indükleyen ve çeşitli hücresel yolaklara karışan çok fonksiyonlu fosfoproteini, NS5B bölgesi ise RNA bağımlı RNA polimerazı kodladığı düşünülmektedir (Şekil 2-2)[16,47].

Tüm pegiviruslarda IRES özelliği gösterdiği öngörülen 5'UTR'a sahiptir. Çoğu Pegivirusda bu IRES elementi, *Picornavirus*'lardaki tip 1 IRES elementi ile büyük ölçüde benzerlik gösterirken *Pegivirus H* (HPgV-2), *Pegivirus F* ve *Pegivirus J* türlerinin üyeleri *Hepacivirus* ve *Pestivirus*'ların tip 4 IRES elementi ile benzerlik gösterir[3,46,47].

E1 ve E2 yapısal proteinleri ile NS2-NS5B yapısal olmayan proteinler tüm pegiviruslarda ortak olan proteinlerdir. Özellikle HPgV-2 genomunda yapısal proteinlere ek olarak iki bölge daha gösterilmiştir. Pegivirusların diğer *Flaviviridae* üyelerinden farklı olarak kor proteine sahip olmadığı düşünülse bile HPgV-2'nin E1 bölgesinin yukarısında yer alan (65-79 aminoasit içeren) ve işlevi henüz bilinmeyen 'S'

ya da ‘Y’ olarak adlandırılan proteininin kor proteinine homolog olabileceği ve bu proteinin virionun toplanması aşamasında RNA’yı paketlediği düşünülmektedir. Yine HPgV-2’nin işlevi henüz bilinmeyen ‘’X’’ proteinine de sahip olduğu düşünülmektedir (Şekil 2-2)[3,4,47].

E1 ve E2 zarf glikoproteinleri değişken sayılarda N-bağlı glikozilasyon bölgelerine sahiptir. Bu daha çok hepasiviruslarda görülen bir özelliktir ama bu bölgelere daha fazla sayıda sahip olan *Pegivirus F*, *Pegivirus H* (HPgV-2) ve *Pegivirus J* türlerinin üyeleri bulunmuştur[3]. HPgV-1’in genotiplendirilmesinde hem tüm genom analizi hem de 5’UTR ve E2 zarf glikoproteinini kodlayan gen bölgesinden yararlanılır.



Şekil 2-2 HPgV RNA genomunun organizasyonu

(https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/flaviviridae/363/genus-pegivirus sitesinden değiştirilerek alınmıştır.)

2.3. Viral Replikasyon Mekanizması

HPgV ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda virusun A, B, C dışı hepatiti olan insanlarda infeksiyon etkeni olduğu düşünülmüş olmasının bir sonucu olarak hepatotropik olduğu varsayılmıştır. Ancak daha sonraki zamanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda

akut ya da kronik hepatitle ilişkisi kurulamamış ayrıca karaciğerde viral replikasyonun göstergesi olarak görülen, negatif anlamlı tek sarmallı RNA bulunamamıştır ve bu çalışmalardan çıkan sonuçlara göre virusa dalak, kemik iliği, serebrospinal sıvı, PKMH'lerde rastlanmış ve lenfotropik olduğu kanıtlanmıştır[50–52]. Chivero ve arkadaşlarının 2014'de yaptığı bir çalışmaya göre HPgV RNA, T ve B hücresi, NK hücresi, monositlerde saptanmış ayrıca sırasıyla naif $CD4^+$ ve $CD8^+$ hücrelerde, B hücrelerinde virus diğerlerine oranla daha fazla bulunmuştur[53]. Bu durum HPgV'lerin hematopoietik kök hücreleri farklılaşma yaşamadan önce infekte edip etmediği sorusuna neden olmuştur. Bununla ilgili kesin bir bilgi söz konusu değildir.

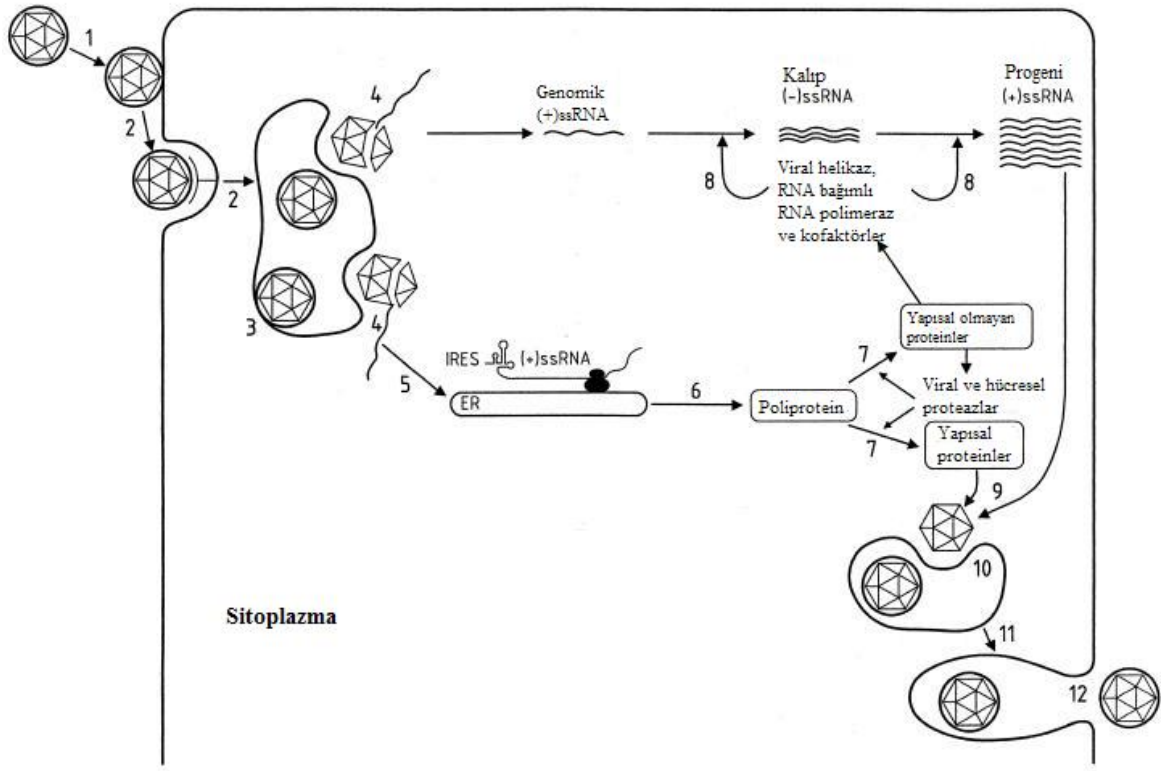
HPgV'nin *in vitro* replikasyonunu gerçekleştirmek zordur, kültür için üretiminde lenfositler kullanılabilir fakat T hücre aktivasyonu ile üremenin azaldığı görülmüştür[54,55]. Chivero ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayla uyumlu olarak virusun naif T hücrelerinde ve non-proliferatif hücrelerde diğer hücrelere oranla daha yüksek konsantrasyonda bulunduğu görülmüştür[53]. Yani HPgV infeksiyonu, lenfositlerin aktivasyonunu, çoğalmasını olumsuz yönde etkilemektedir ve hücre kültürü sisteminde konak hücrelerin sayısının azalması nedeniyle virusun saptanmasında zorluklara neden olmaktadır.

Tüm bu nedenlerden dolayı HPgV'nin *in vitro* replikasyonu ile ilgili bilgiler sınırlıdır fakat HCV ile çok benzer genom yapısına ve aminoasit dizilimine sahiptir, bu bilgilerden yola çıkarak HPgV'nin hücreye girişi ve replikasyonu hakkında çeşitli hipotezler öne sürülmüştür.

HCV hücreye girişte çoklu bağlanma ve giriş reseptörlerini (düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü (LDLr), glikozaminoglikan reseptör (GAG) tetraspanin protein (CD81), klaudin-1, okludin) kullanır. HCV'ye benzer özelliklerinden dolayı HPgV'nin de bu yola benzer bir giriş yolu izlediği düşünülmektedir. HPgV'nin hücre içerisine girişi hakkında bilinenlerin az olmasına rağmen bu zamana kadar yapılan çalışmalar LDLr'nin HPgV ve HCV girişi ile ilişkili olduğunu desteklemektedir[48,56]. HPgV'nin ve *Pegivirus* cinsine ait diğer üyelerin nükleokapsid proteini kodlayıp kodlamadığı belirsiz bir durumdur. Diğer bir olası giriş mekanizmasına göre HPgV RNA plazmada mikroveziküller ile yakın ilişkili olması ve nükleokapside sahip olup olmadığının belirsiz olması nedeniyle mikroveziküllerin virus salınımı ve hücresel infeksiyonda rol oynadığı düşünülmektedir[53]. Yine HCV ile ilgili bilgilere dayanarak viral ve hücresel

membranların füzyonu ile endozomal vezikülün girişi, sonrasında endozomal asidifikasyonun virionda üç boyutlu yapı değişikliğine yol açtığı tahmin edilmektedir. Bunun sonucunda tahminen HCV de olduğu gibi zarf proteinlerinin yapısı değişir ve endozomal membran füzyonu sonucu viral RNA sitoplazmada serbestleşir ve (+) RNA genomunun doğrudan mRNA olarak görev alması sonucu IRES aracılı poliproteinin translasyonu gerçekleşir ve böylece viral proteinler oluşur.

HCV genomu sinyal peptidaz ile kesildiğinde E1 ve E2 zarf glikoproteinleri oluşur ve endoplazmik retikulum lümenine salınır, burada membrana bağlı ve glikozillenmiş şekilde bulunur. Yine HCV genomunun E2 karboksi ucundan sinyal peptidaz aracılığıyla kesilmesi gerçekleştiğinde p7 denilen protein oluşur. p7 ve NS2 proteinleri tam virion oluşumu ve hücreden çıkışta rol alır. NS3 ve NS5 bölgeleri arasından oluşan proteinlerin ise infekte hücre sitoplazmasında birleşerek replikaz kompleksi oluşturduğu bilinmektedir. Bu kompleks yapının genomik RNA'nın 3'ucundaki özelleşmiş yapı ve dizileri tanıyarak genomun negatif kopyasını sentezlediği ve oluşan çift zincirli yapının (+) RNA için kalıp olarak kullanıldığı bilinmektedir.



Şekil 2-1 Flaviviridae ailesine ait üyelerin replikasyon basamakları

1- Reseptöre bağlanma aşaması, 2- Reseptör aracılı endositoz/füzyon aşaması, 3- Endozomal asidifikasyon sonrası virionun üç boyutlu yapısında değişiklik meydana gelmesi, 4- Kapsidin soyulması aşaması, 5- IRES aracılı translasyon süreci, 6- Tek ve uzun bir poliprotein sentezi basamağı, 7- Posttranslason süreci (viral ve hücresel proteazlar yardımı ile poliproteinin parçalanması), 8- RbRp ile (-) ss kalıp RNA sentezi ve bu kalıp RNA'dan (+) ss RNA sentezi, 9- Kapsidin toparlanması aşaması, 10- ER'de virionun tomurcuklanması aşaması, 11- ER'den Golgi aygıtına taşınmış olan virionun olgunlaşması aşaması, 12- Virionun hücre dışına salınması aşaması [57]

Oluşan yeni (progeni) (+) ss RNA, virion RNA'sı olarak görev yapar ve nükleokaspid proteinleri ile birleşir. Endoplazmik retikulum lümenine geçer daha sonra buradan tomurcuklanır ve Golgi aygıtına ilerler, burada olgunlaşır (glikozillenmiş zarf proteinleri yapıya eklenir). Olgun virionu içeren vesikülün hücre zarı ile füzyonu sonucu olgun virionun salınımı gerçekleşir[57]. HPgV'de tam olarak bilinmemesine karşın replikasyonunda bu basamakları gerçekleştirdiğini tahmin edilmektedir (Şekil 2-1).

2.4. Epidemiyoloji ve Bulaşma Yolları

HPgV-1; Dünya genelindeki en yaygın flaviviruslardır[7] ve HPgV-1 viremisinin prevalansı üzerine yapılan kesitsel çalışmalardan çıkan sonuçlara göre gelişmiş ülkelerdeki sağlıklı kan donörlerinde viremi % 1-5 oranında bulunurken, gelişmekte olan ülkelerde yaklaşık % 20 oranına kadar yükselmektedir[2]. Bir meta-analiz çalışmasına göre sağlıklı kan donörlerindeki HPgV prevalansı Kuzey Amerika'da % 3,1, Güney Amerika'da % 9,1, Avrupa'da % 2,3, Asya'da % 2,4'dür. Dünya genelinde ise prevalans %3,1'dir[8] ve yaklaşık olarak 750 milyon insanın virus ile infekte olduğu hesaplanmaktadır[9]. İnfeksiyon genç yetişkinlerde daha fazla görülürken yaşın artması ile birlikte HPgV-1 infeksiyon riski de azalmaktadır, bu durumun genç yetişkinlerdeki cinsel aktivitenin daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir[16].

HPgV infekte kana maruz kalma, cinsel temas, anneden bebeğe geçiş gibi yollarla bulaşabilen bir etkendir[10–12,14]. Parenteral yolla bulaşması nedeniyle transplantasyon hastaları, hemodiyaliz hastaları, kan transfüzyonu alan hastalar ve damar içi uyuşturucu kullananlar risk altındaki kişilerdir.

Ülkemizde yapılan kısıtlı sayıdaki çalışmada (çalışmalardaki hasta sayıları; n=100, n=85, n=42) hemodiyaliz hastalarının ortalama % 12-24'ünde HPgV-1 RNA'sı tespit edilirken bu oran sağlıklı kan donörlerinde % 1-4 arasında bulunmuştur[58–60]. Yine çeşitli risk grupları üzerinde yapılan bir araştırmaya göre % 6,3 oranında HPgV-1 RNA pozitifliği bulunmuştur[61].

Cinsel temas gibi HIV ile ortak bulaşma yollarına sahip olduğu için bu bireylerdeki (HIV/HPgV-1 ile koinfekte kişilerde) sıklığı % 20-41 oranına kadar yükselmektedir[14–18].

HPgV-2'de kan yolu ile bulaşan bir virustur[3,4] fakat HPgV-2'nin sıklığı kan yolu ile bulaşan viruslara göre çok daha düşüktür. Çin'de yapılan bir araştırmada HIV ile monoinfekte kişilerde HPgV-2 RNA saptanmamışken, HIV/HCV koinfeksiyonu olan kişilerde HPgV-2 RNA % 3,47 oranında saptanmıştır[19]. Yine Çin'de damar içi uyuşturucu kullanan HIV/HCV koinfekte bireyler ile yapılan çalışmada HPgV-2 RNA % 5,7 oranında saptanmıştır[20].

2.5. Patogenez ve İmmünite

HPgV sağlıklı ya da immun sistemi baskılanmış hastalarda şu an için kanıtlanmış herhangi bir hastalık veya semptom göstermez bu nedenle virusun patojenik olmadğı varsayılmaktadır fakat konakta persistan infeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir[62]. Lenfotropik bir virus olmasından dolayı lenfoma ile ilişkisi araştırılmaktadır [63,64]. Yine HPgV'nin serebrospinal sıvıda saptanan bir infesiyon etkeni olması nedeniyle ayrıca *Flaviviridae* ailesi içerisinde ensefalite neden olan başka virusların bulunmasından dolayı ensefalitle de ilişkisi araştırılmaktadır[65,66].

Virusun ilk tanımlandığı yıllarda HPgV-1 ile ilgili yapılan çalışmalar akut veya kronik hepatit üzerine etkilerini araştıran çalışmalardır. Bu başlangıç çalışmalarında HCV ile infekte kişilerin yaklaşık % 10 ila % 20 arasında bir oranla HPgV-1 ile de infekte olduğu belirtilirken, bu çalışmalarda HPgV-1'in tek başına ve HCV ile birlikte yaptığı infeksiyonlar karaciğer hastalıkları yönünden karşılaştırılmıştır [67–71]. Buna göre transfüzyondan sonra gelişen infeksiyonlarda, virusun tek başına ve HCV ile birliktelikleri durumunda yaptığı infeksiyonlarda karaciğer hastalıklarında ortaya çıkan alanin aminotransferaz (ALT) seviyesi yüksekliği, bilirübin seviyesi yüksekliği,

interferon yanıtı gibi durumlar bakımından her iki infeksiyon da benzerdir[67]. Ayrıca HCV infeksiyonunda görülenden farklı olarak, kan donörlerinde, hemodiyaliz hastalarında, hemofili hastalarında ve damar içi uyuşturucu kullanıcılarında HPgV-1 RNA varlığı ile ALT seviyesi arasında zayıf bir ilişki vardır[67]. Yine karaciğer transplantasyonu yapılan hastalardaki HPgV-1 viremisinin varlığını araştıran çalışmalarda, transplantasyon sonrası alınan örneklerde HPgV-1 viremisi yaklaşık olarak % 67'ye yükselmiştir. Fakat bu artışın sebebine bakıldığında, transplantasyondan sonraki dönemde virusun transfüzyon aracılığıyla kazanılması ile açıklanmaktadır[67,72].

2019'da yayınlanan ve karaciğer transplant alıcılarında yapılan çalışmada toplam 313 alıcının 40'ında HPgV infeksiyonu pozitif, 246'sında ise negatiftir. HPgV infeksiyonu ile transplantasyonun klinik faktörleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır fakat alıcılarda görülen HPgV infeksiyonunun PKMH'lerde interferon uyarıcı genin ifade edilmesini indüklediği sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca HPgV pozitif ve negatif transplantasyon alıcıları, içeriğinde IFN bulunan ve bulunmayan HCV tedavisi bakımından karşılaştırıldığında hem IFN tedavisinin hem de IFN içermeyen tedavinin HPgV infeksiyonuna etkisinin olmadığı görülmüştür[73].

İlk dönemde yapılan çalışmalarda hepatite ek olarak, virusun aplastik anemi ile ilişkili hepatite yol açabileceği de düşünülmüştür[74,75]. Kontrollü bir çalışmada HPgV-1 viremisinin yüksek olmasının aplazinin başlangıç döneminden sonra yapılan transfüzyonlar ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Transfüzyon yapılmadan önce hastalardan alınan örneklerde HPgV-1 RNA bulunamamıştır ve de transfüzyon alan aplastik anemili hastalar ile birden fazla transfüzyon alan hastalar arasında anlamlı bir fark bulunamıştır ($p=0,78$)[76]. Yapılan çalışmalardan çıkan sonuca göre HPgV-1 ile hepatit, karaciğer kanseri vb. karaciğer hastalıkları arasında herhangi bir bağlantı bulunamamıştır.

HPgV-1 gibi HPgV-2'nin de patojen olmayan bir virus olduğu varsayılmaktadır. Parenteral yol ile bulaşma söz konusudur ayrıca damar içi uyuşturucu kullanıcılarında daha sık görülen bir virustur[20,77]. İlk kez, nedeni bilinmeyen sepsis sonucu hayatını kaybeden, çoklu organ yetmezliği bulunan ve HCV ile infekte olan bir hastadan izole edilmiş olması nedeniyle, ayrıca genomik özellikleri bakımından bir diğer *Flaviviridae* üyesi olan HCV'ye çok yakın olması nedeniyle karaciğer hasarına neden olup olmadığı araştırılmıştır[4]. Yapılan bir çalışmada HCV infekte kişilerde yüksek ALT düzeyi

gözlemlenirken, HCV/HPgV-2 birlikte infeksiyonu sonucunda ALT seviyesinde çok az da olsa bir düşüş söz konusudur. Fakat bu düşüş HPgV-2 RNA pozitif ve negatif olan kişiler bakımından anlamlı değildir (p=0,298). Çalışmanın sonucuna göre virusun infeksiyonunun ve antikor titrelerinin HCV replikasyonunu etkilemediği gibi karaciğer hastalıklarına da neden olmadığı bulunmuştur[19].

HPgV-1 ile ilişkilendirilen bir başka hastalık ise HCV'nin de ilişkilendirildiği non-Hodgkin lenfomadır. Vireminin hastalık riskini arttırdığı düşünülmektedir[6,64,78]. HPgV'ler lenfotropik viruslardır ve PKMH'lerde, T ($CD4^+$ ve $CD8^+$) ve B lenfositlerinde çoğalmaktadırlar[5,6]. HPgV-1 infeksiyonu sırasında T lenfositlerinin apoptozu azalmakta ve T lenfositlerinin proliferasyon süreçlerinde bozukluk meydana gelmektedir[6,18]. Bağışıklık yanıtında meydana gelen bu değişim lenfositlerin oluşumuna katkı sağlar.

Bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada olgu grubunda (n=12) HPgV-1 prevalansı % 1,8, kontrol grubunda (n=7) ise % 0,5 bulunmuştur fakat E2 antikorları bakımından gruplarda anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (p=0,694)[78]. Bir başka olgu-kontrol çalışmasında (HCV seropozitifliği olanlar, damar içi uyuşturucu kullanıcıları ve transfüzyon öyküsü bulunanlar dışlanmıştır) olgu grubunda (n=553, non-Hodgkin lenfoma hastası olan) % 4,5 olan HPgV-1 RNA kontrol grubunda (n=438) % 1,8 olarak tespit edilmiştir ve çalışma HPgV-1 viremisinin non-Hodgkin lenfoma için bir risk unsuru olabileceğini sunmaktadır[64].

HPgV ile lenfoma arasındaki ilişkiyi araştıran bir meta-analizde; taranan 15 çalışmada 4.416 olguda HPgV pozitifliği % 7,6 ve 5.502 kontrolden HPgV pozitifliği % 4,6'dır. Bu çalışmaların ortalama OR (Odds Ratio) oranı 2,85'dir (% 95 CI, 1,98-4,11) ve bu oran çalışmaların yarısında istatistiksel bakımdan anlamlı derecede yüksektir. Çalışmaların coğrafi dağılıma göre lenfoma ile en güçlü ilişki Güney Avrupa (OR: 5,68 [% 95 CI, 1,98-13,6]), en zayıf ilişki ise Kuzey Amerika (OR=2,24 [% 95 CI, 1,76-2,85])'dan bildirilmiştir. Lenfoma alt tipleri bakımından incelendiğinde; 3 çalışmaya göre foliküler lenfoma, 3 çalışmaya göre B hücre lenfoması, 2 çalışmaya göre marjinal zon lenfoma, 2 çalışmaya göre T hücre lenfoması, 2 çalışmaya göre kronik lenfositik lösemi ve 2 çalışmaya göre non-Hodgkin lenfoma riski HPgV viremili kişilerde yüksektir. Fakat T hücre lenfoması ve non-Hodgkin lenfoma riski yüksek olsa dahi istatistiksel olarak anlamlı olmasını sağlayan $p<0,05$ değerine ulaşamamıştır[63].

HPgV infeksiyonlarının insanda bilinen herhangi bir hastalığa neden olmaması virusun insan ile kommensal ya da simbiyotik ilişki içerisinde olma olasılığını arttırmakta, mikrobiyomun bir parçası olabileceğini düşündürmektedir[6]. Bu durumun özellikle virusun HIV ile ilişkisi bakımından, insanlara fayda sağlayabileceği öngörülmektedir.

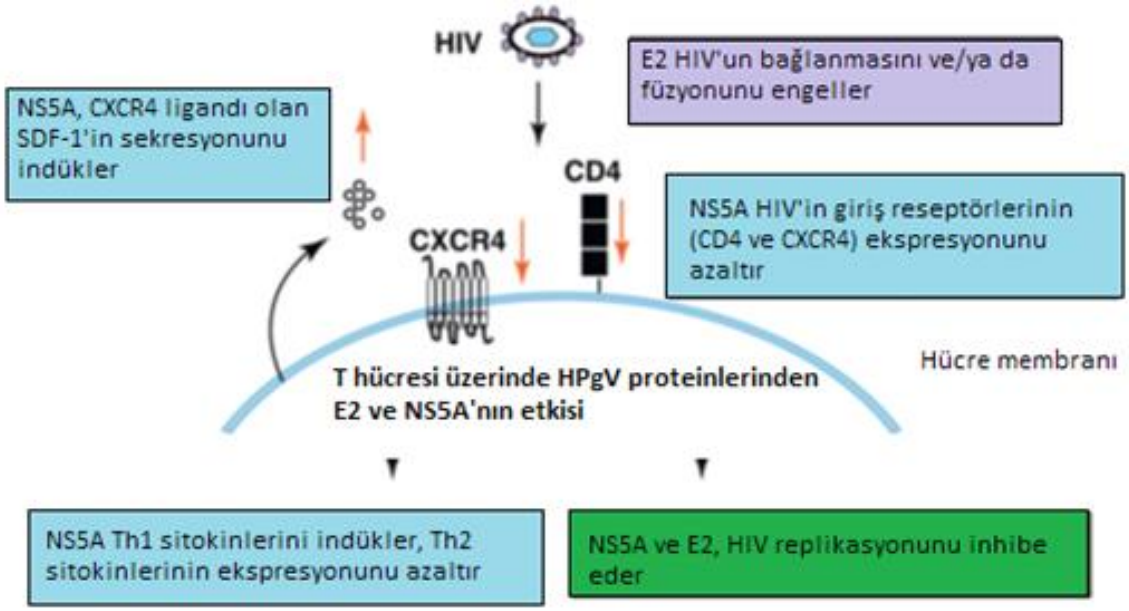
Greenhalgh ve arkadaşlarının matematiksel bir model oluşturarak yaptıkları bir çalışmada HIV tedavisinde HPgV aşılamasının HIV'in AIDS'e ilerlemesinde etkili olacağını göstermiştir. Buna göre yıllık % 12,5 ila %50 arasındaki aşılama ile hem AIDS'in gelişmesinde azalma hem de AIDS'e bağlı ölüm oranlarında azalma öngörülen sonuçlardır. Fakat bir diğer öngörülen sonuca göre HPgV ile infekte kişilerin % 1,82'sinde non-Hodgkin lenfoma gelişme riski vardır[79].

HPgV'lerin özellikle HPgV-1'in, HIV ile infekte hastalarda sağkalım üzerine olumlu etkisini ve HIV replikasyonuna etki ederek hem hastalığın seyrini hem de ilerleyişini yavaşlattığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Çok sayıda çalışma ve bir meta analiz çalışmasının sonucuna göre HPgV-1 viremisi olmayan HIV infekte bireylerle HPgV-1/HIV koinfeksiyonu olan bireyler karşılaştırıldığında koinfeksiyonlu bireylerin yaşam sürelerinin uzadığı gösterilmiştir[21,24–26].

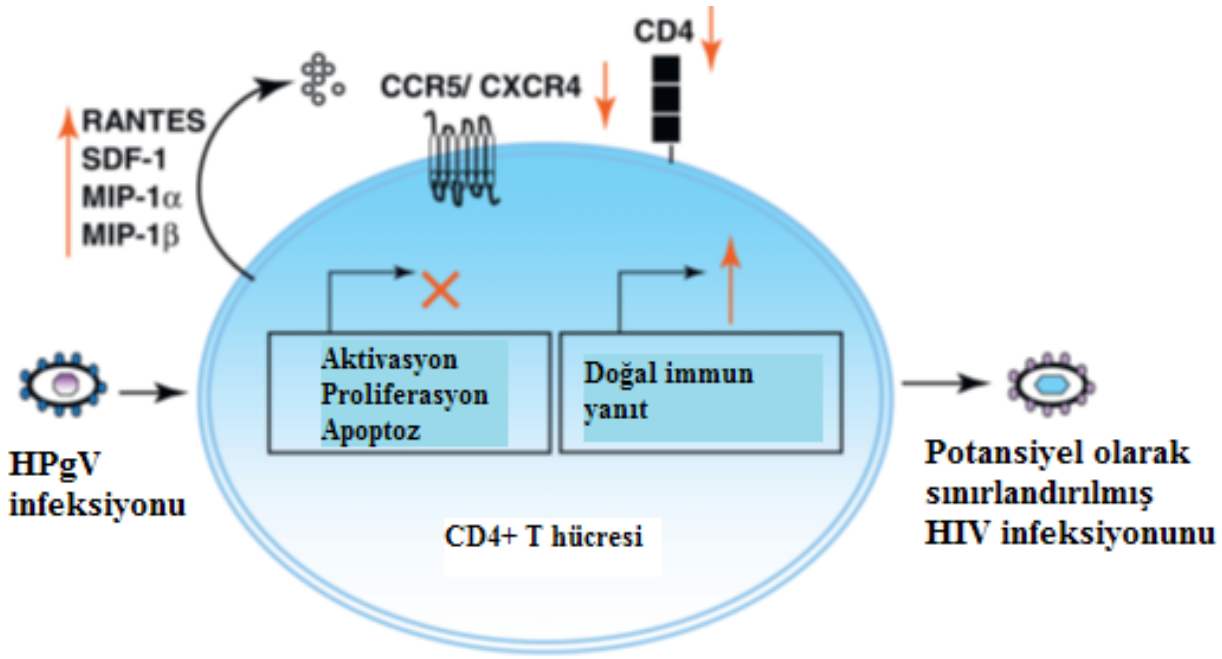
Birkaç çalışmada HPgV-1 genotip 2 ve genotip 5'in AIDS'in ilerlemesini geciktirebileceği gösterilmiştir[7,22,28,29]. Ayrıca Çin'de yapılan bir çalışmada genotip 7'nin de HIV replikasyonunu azaltabileceği ve AIDS'in ilerlemesini geciktirebileceği gösterilmiştir[16]. HPgV-1 koinfeksiyonunun ayrıca ART alan hastalarda tedaviye yanıtı olumlu etkilediğini gösteren çalışmalar vardır[30,31]. HAART döneminde yapılan bazı çalışmalarda, kesin olmamakla birlikte, HPgV-1 ile birlikte HIV koinfeksiyonu olan hastalarda, CD4 hücre sayısından ve HIV RNA seviyesinden bağımsız olarak tam virolojik yanıt oranının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir[30,32,33].

HIV'in ilerleyişini yavaşlattığı öne sürülen mekanizmaya göre; HIV infeksiyonu üzerindeki bu olumlu etkilerde HPgV-1 viral proteinlerinden E2 glikoproteini ve genomun NS5A bölgesinden üretilen fosfoprotein rol oynamaktadır. NS5A fosfoproteini HIV için koreseptör olan, CCR5 ve CXCR4 kemokin reseptörlerinin yüzey ekspresyonlarını azaltır. Ayrıca T hücreleri yüzeyinde bulunan ve HIV için koreseptör olan CD4 molekülünün yüzey ekspresyonunu da azaltır bunu hücre içinde hazır halde bulunan CD4 mRNA seviyesini azaltarak yapmaktadır[80]. CCR5'in çözülebilir ligandları olan RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed

and secreted), MIP-1α (Macrophage inflammatory protein, CCL3), MIP-1β (CCL4) ve CXCR4 için ligand olan SDF-1 (stromal cell-derived factor) salınımlarını arttırır. Ayrıca $CD4^+$ T hücresine etki ederek infekte hücrenin çoğalma ve aktivasyonunu azaltır. NS5A fosfoproteini dentritik hücrelerin aktivasyonunu sağlayarak interferonların ekspresyonlarını arttırır, Th1 sitokinlerini indükleyerek doğal bağışıklık yanıtı güçlendirir. E2 zarf glikoproteini ise HIV gp41 ile benzerliğinden dolayı T hücresine bağlanmasını ya da füzyonunu engellemektedir[21]. E2 proteinin yanı sıra benzer bir sonuca E1 glikoproteininden türetilen sentetik bir peptid ile de ulaşılmıştır[81,82].



Şekil 2-2 HPgV infeksiyonunun HIV üzerine etkisi-1 [21]'den değiştirilerek alınmıştır)



Şekil 2-3 HPgV infeksiyonunun HIV üzerine etkisi-2 [21]'den değiştirilerek alınmıştır)

Böylece HIV konağı olan T hücresine bağlanmaz hale gelir ve HPgV konak hücrenin protein sentezi ile çoğalma gibi önemli fonksiyonlarını sekteye uğratarak HIV infeksiyonunu kısıtlayabilir.

İnsan pegivirusları HIV üzerinde yarattığı pozitif etkiye benzer bir etkiyi Ebola virus üzerinde de göstermektedir. Lauck ve arkadaşlarının 2015 yılında yayınladıkları çalışmaya göre toplam 49 Ebola virus hastalığına sahip kişi içerisinde HPgV-1 pozitifliği saptanan hastaların ölüm oranları % 46 (6/13) iken HPgV-1 negatif hastaların ölüm oranı ise % 78'e (28/36) yükselmiştir. Bu durumu şu şekilde açıklamak mümkün olabilir; HIV ile koinfeksiyonunda olduğu gibi HPgV, T hücre aktivasyonunun ve proinflamatuvar sitokinlerin (IL-2 gibi) üretiminin azalmasına neden olmaktadır[83,84]. Ebola virus patogenezinde ise bunun tam tersi durum olan yoğun bir şekilde T hücresi ölümü ve proinflamatuvar sitokinlerin üretiminin artması söz konusudur[85]. Bu süreçlerin gelişmesini engelleyerek mortaliteyi azalttığı düşünülmektedir.

2014 yılında yayımlanan bir derlemeye göre dünya genelindeki HPgV-1 viremisi olanların sayısı yaklaşık 750 milyon kişidir[9]. HPgV'lar bağışıklık sorunu olmayan sağlıklı bireylerde de infeksiyonlara neden olmaktadır. Bu infeksiyonların yaklaşık %

25'ini persistan infeksiyonlar oluştururken geriye kalan % 75'lik kısımda ise infeksiyonun 2 yılı içerisinde temizlendiği gözlemlenmektedir. E2 zarf glikoproteinine karşı antikor gelişir fakat bu antikorların saptanması virusun konaktan temizlenmesinden sonraki süreçte olmakta ve zamanla antikor titrelerinde azalma meydana gelmektedir. E2 antikorları, konağa daha sonra gelişecek viremiye karşı kısmi koruma sağlamaktadır[70,86,87].

2.6. HPgV'de Genotip Çeşitliliği

HPgV-1'in genotipleri coğrafi farklılık göstermektedir ve dünya geneline dağılmış 7 farklı genotipi bulunmaktadır. 1. genotip özellikle Batı Afrika'da, 2. genotip Amerika ve Avrupa'da, 3. genotip Doğu Asya'da, 4. genotip Myanmar ve Vietnam'da, 5. genotip Güney Afrika'da ve 6. genotip Endonezya'da görülen çeşitleridir (Tablo 2-1). Genotip 2'nin a ve b olmak üzere iki alt tipi tanımlanmıştır, genotip 7 sadece Çin ile sınırlıdır ve 2017 yılında Çin'de yapılan bir çalışmada E2 geni hedeflenerek yapılan dizi analizi sonucuna göre HPgV-1 genotip 7 ve sınıflandırılamayan bir grubun varlığından da söz edilmiştir[16,22,23,88,89].

Virusun genotiplendirilmesinde genelde 5'UTR bölgesi ve daha az olarak E2 gen bölgesi kullanılmaktadır[16,22,23,88,90–92]. Türkiye'de yapılan az sayıdaki genotip araştırmalarında ise 5'UTR bölgesi kullanılmış ve sonuç olarak yaygın bulunan genotip 2 olmuştur[59,60,93–95].

Bazı genotiplerin HIV üzerinde daha fazla etkisi olabileceği düşünülmektedir. Yapılan birkaç çalışmada genotip 2 ve genotip 5'in AIDS'in ilerlemesini geciktirebileceği gösterilmiştir[7,22,28,29]. Ayrıca Miao ve arkadaşlarının Çin'de yaptığı bir çalışmada genotip 7'nin de HIV replikasyonunu azaltabileceği ve AIDS'in ilerlemesini geciktirebileceği gösterilmiştir[16].

Tablo 2-1 HPgV-1 genotiplerinin dünya genelinde yaygın olan dağılımları

Genotip 1	Batı Afrika'da
Genotip 2	Amerika ve Avrupa'da

Genotip 3	Doğu Asya'da
Genotip 4	Myanmar ve Vietnam'da
Genotip 5	Güney Afrika'da
Genotip 6	Endonezya'da
Genotip 7	Çin'de

2.7. HPgV Tanısı

Tanıda en yaygın kullanılan yöntemler; 1- Aktif infeksiyon tespiti için viral RNA'nın saptanması, 2- geçirilmiş infeksiyonu belirlemek için antikor varlığının gösterilmesidir.

RT-PCR yöntemi ile genetik materyali RNA olan virus öncelikle ters transkriptaz (RT) enzimi kullanılarak cDNA'ya dönüştürülür ve ardından standart prosedüre uygun bir PCR aşaması uygulanan nested ya da semi-nested PCR yöntemi ile hedef bölgeler çoğaltılır. Günümüzde genellikle 5'UTR bölgesi ve E2 gen bölgesinden dizayn edilen primer çiftleri kullanılarak amplifikasyon sağlanır[16,48,91,92,96,97].

HPgV-1 ve 2'nin birlikte saptanması için çoklu RT-PCR işlemi gerekmektedir. Her iki virus için benzer gen bölgelerini (5'UTR ve NS2/NS3) çoğaltacak olan primer çiftleri ile PCR işlemi gerçekleştirilir[98].

Hücre kültürü yöntemi tam olarak oturmuş bir yöntem olmamakla birlikte virusun üretimi birkaç çalışmada yapılmıştır. Özellikle çalışmada lenfotropik bir virus olduğu için PKMH kullanılmıştır. Üretimi 30-35 gün sürmüştür. Günümüzde bu yöntem rutin olarak değil daha çok araştırma amaçlı kullanılmaktadır [54,99,100].

Viremisi olan kişilerde genellikle viral proteinlere karşı gelişen antikorlar saptanmaz. Virusa karşı antikorlar ancak viral temizlenmeyi takiben ortaya çıkar bu nedenle genellikle geçirilmiş infeksiyonun göstergesidir[25,86,87]. HPgV-1 için E2 zarf glikoproteinine karşı oluşan antikorlara bakılırken HPgV-2'de durum farklıdır. E2 zarf glikoproteini haricinde serolojik belirteç olarak 3 peptid aranmaktadır. Bu peptidler genomun yapısal olmayan gen bölgelerinde (sırasıyla NS3, NS5A, NS4A/B) ifade edilen P4, P9, P16'dır. Yine HPgV 1'den farklı olarak HPgV-2 RNA varlığında

bulunurlar. Serolojik testlerde bu 3 peptitden en az birine karşı reaksiyon oluşması pozitif, 2 veya daha fazla peptide karşı reaksiyon oluşması güçlü pozitif kabul edilir[4,98].

E2 antikorlarının varlığını göstermek için ELISA yöntemi kullanılır[86]. Piyasada ticari olarak satın alınabilecek herhangi bir antikor testi bulunmamaktadır[101].

2.8. Tedavi ve Korunma

Genellikle asemptomatik seyreden HPgV infeksiyonlarının günümüze kadar herhangi bir hastalık ile ilişkisi bulunamamıştır ayrıca vireminin kendi kendine sınırlanan bir karaktere sahip olmasından dolayı infeksiyona karşı özel bir tedavi yöntemi yoktur[21,86,87,102]. Konak vücudunda viral RNA temizlendikten sonra virusun E2 zarf glikoproteinine karşı oluşan antikorlar geçirilmiş infeksiyonu gösterir ve reinfeksiyona karşı konağa kısmen koruma sağlar[70]. Parenteral yolla bulaşabildiği[10–12,14] için en etkili korunma HBV, HCV gibi diğer kan yoluyla bulaşan viral etkenler ile benzer olarak kan ürünlerinin güvenliğini sağlamak adına rutin taramaların yapılması, damar içi uyuşturucu kullanımı, cinsel temas gibi riskli davranışlardan uzak durmaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kulanılan Cihazlar ve Aletler

- Mikrosantrifüj (Biofuge Stratos, Heraeus, Almanya)
- - 20 °C, +4 °C (Arçelik Türkiye)
- Pipet Seti (10-100-100 µL) (Eppendorf, Almanya)
- Vorteks Combispin (Biosan, Litvanya)
- PCR Cihazı T100 (BioRad, A.B.D.)
- Genetik Analiz Cihazı ABI 3130GA (Applied Biosystems, Foster City, A.B.D.)
- Jel Elektroforez Sistemi Wide Mini-Sub Cell GT Cell (BioRad, A.B.D.)
- Jel Görüntüleme Sistemi Gel Doc XR+ (BioRad, A.B.D.)
- Mikrodalga MD1560 (Beko,Türkiye)
- Hassas Terazi AEG-220 (Shimadzu, Japonya)
- Real Time PCR cihazı Rotor-Gene Q (Qiagen, Almanya)
- Tam Otomatik Ekstraksiyon Cihazı QIAsymphony (Qiagen, Almanya)

3.1.2. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeleri

- DNA izolsyon kiti DSP Virus/Pathogen Midi Kit (Qiagen, Almanya)
- DNAz-RNAz İçermeyen Su Multicell (Wisent, Inc., Kanada)
- dNTP karışımı (İnvitrogen, A.B.D)
- Primerler (Oligomer, Türkiye)
- Prona Biomax Agarose (IBI Scientific, A.B.D. lot:134527PR)
- Sephadex G-50 Fine (Santa Cruz Biotechnology, Inc. A.B.D lot:K0917)

- ExoSAP-IT (Thermo Scientific, A.B.D.)
- Big Dye Terminator v3.1 Kit (Applied Biosystems, Foster City, A.B.D.)
- POP7 (Applied Biosystems, Foster City, A.B.D.)
- Kapiler (Applied Biosystems, Foster City, A.B.D.)
- Pipet uçları (Vertex SSIBio, A.B.D.)
- 1500 µl, 500 µl tüp (UltraFlux, SSIBio, A.B.D.)
- 200 µl PCR Tüpü (UltraFlux, SSIBio, A.B.D.)
- GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Thermo Scientific, A.B.D.)
- Ters Transkripkaz Enzimi (PrimeScript Takara Bio. Inc., Japonya)
- SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (BioRad, A.B.D.)

3.1.3. Kullanılan Yazılımlar

- DNA Star SeqManPro (DNASTAR, Inc., A.B.D.)
- Sequencing Analysis 5.2.0 software (AppliedBiosystems, Foster City, A.B.D.)
- BioEdit 7.2.5 (http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html)
- Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software (http://www.megasoftware.net/)
- Basic Local Alignment Search Tool (National Center for Biotechnology Information, A.B.D) (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)

3.2. Örneklerin Toplanması

Bu çalışmaya 2019 Ocak–Eylül ayları arasında İ.Ü.-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi, Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na rutin olarak HIV RNA saptanması ve HIV ilaç direnci analizi için gelen, HIV pozitif, ART deneyimsiz 117 hastanın dondurulup, saklanmış plazma örnekleri dahil edildi. Kontrol grubu olarak kurumumuzun seroloji/ELISA birimine başvurmuş ve Anti-HCV, Anti-HIV1/2 reaktifliği ve HBsAg saptanmamış örnekler kullanıldı. Hasta grubu ile yaş ve cinsiyet

bakımından eşleştirme yapılarak, 88 erkek ve 12 kadın olmak üzere toplamda 100 örnek (serum) ile çalışıldı. Çalışmanın hiç bir koluna gebeler ve 18 yaşından küçük bireylere ait örnekler dahil edilmedi.

3.3. Örneklerden Viral RNA eldesi ve cDNA sentezi

Çalışma öncesinde saklanmış plazma örnekleri prosedüre uygun olarak dondurucularda çıkartılarak oda ısısında eritildi ve bu örneklerden viral RNA izolasyonu için DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIAGEN, Hilden, Almanya) kullanıldı. Üreticinin talimatları doğrultusunda 500 µl plazma kullanıldı. Tam otomatik olan QIAGEN QIAsymphony® SP cihazı kullanılarak RNA izolasyon işlemi tamamlandı. İzolasyon işleminin ardından revers transkripsiyon işlemi gerçekleştirildi. Reaksiyonda cDNA sentezi için Tablo 3-1'de belirtilen primerlerden HPgV-1/1-R ve HPgV-2/1-R, revers transkripsiyon işlemi için kullanıldı.

Tablo 3-1- 5'UTR bölgesinden hazırlanan primer dizileri (100 µM)

Nested PCR ve DNA dizi analizi için kullanılan primerler		
Primerin ismi	Yönü	Dizisi
HPgV-1/ 1-F	İleri	TAGCCACTATAGGTGGGTCT
HPgV-1/ 1-R	Ters	TCTTGGGCTACCCCGGCT
HPgV-1/ 2-F	İleri	CGCACGGTCCRCAGGTG
HPgV-1/ 2-R	Ters	CTGGGTGGCCCCATGCAT
HPgV-2 /1-F	İleri	CCTAGTAGGACGTGTGACAATG
HPgV-2 /1-R	Ters	CCACCCTATCAGGCTGTACG
HPgV-2 /2-R	Ters	GACCCATCCCTTTGCACGATC

cDNA sentezi için kullanılan tüm bileşenler Tablo 3-2'de sunulmuştur. Sentez için öncelikle dNTP, primerlerden oluşan karşım hazırlandı. PCR tüpünün içerisine bu karışım dağıtıldı daha sonra örnekten elde edilen RNA eklendi, son hacim 6 µl oldu ve ısı döngü cihazında örnek 65˚C'de 5 dakika bekletildi. Süre sonunda tüpler ısı dögü cihazından çıkarılıp -20 decerede bekletilen soğuk blok üzerine alındı. Tablo 3-2'de yer alan diğer reaktiflerden karışım hazırlandı ve her bir örnek için 4 µl olacak şekilde örneklere dağıtıldı. Son hacmi 10 µl olan PCR tüpü tekrar ısı döngü cihazına alındı ve 30 ˚C'de 10 dakika, 50 ˚C'de 60 dakika inkübasyon ile cDNA sentezi gerçekleştirildi.

Sonrasında 70 ˚C'de 15 dakika inkübasyon ile revers transkriptaz enzimi inaktive edildi. Protokol sonucunda RNA'dan cDNA elde edildi.

Tablo 3-2- Revers Transkriptaz aşaması için gerekli olan malzemeler ve PCR protokolü

RT Aşaması	
Reaktifler	Miktar (µl)*
dNTPs	1
25 mM Primer HPgV-1/ 1-R	0,5
25 mM Primer HPgV-2 /1-R	0,5
Örnek RNA'sı	4
RT enzim (PrimeScript Takara Bio. Inc., Japonya)	0,25
5X PrimeScript Buffer	2
DNAz-RNAz İçermeyen Su	1,75
Son Hacim	10
*Bir örnek için gereken miktar	
RT PCR Döngüsü	
1) 65˚C / 5 dk.	
2) 30˚C / 10 dk.	
3) 50˚C / 60 dk.	
4) 70˚C / 15 dk.	
5) 10˚C / 5 dk.	
6) 10˚C / ∞	

3.4. PCR Yöntemi ile HPgV'un Çoğaltılması

Örneklerden viral RNA elde edilip revers transkripsiyon işlemi sonrasında elde edilen cDNA kullanılarak PCR yapıldı. Birinci aşama PCR için Tablo 3-3'de gösterilen reaktifler kullanıldı. İki aşamalı PCR yöntemi ile revers transkripsiyon sonrası örneklerde HPgV RNA'sı arandı. Bu amaçla HPgV'in referans kökenlerine ait diziler (KP710598, U36380, KM670099, KM670101, KM670108, KM670106, KM670096, KC618399, KP710600, AF104403, LT009494, D90600, U45966, AY196904, LT009485, LT009487, LT009489, AF309966, D87255, LT009483, F031827, U44402, F121950, AB003289, U63715, D87713, AB018667, AY949771, AB008336, KX528230, KY971607, KY971606, KX528231, AB013500, U59522, U59519, U59527, U59528, U59526, U59524, U59527) gen bankasından indirilerek BioEdit programı içinde yer alan ClustalW programı ile hizalandılar ve Tablo 3-1'de dizileri bulunan ve 5'UTR bölgesini tanıyan primerler bu çalışma için o bölgeden tasarlandı. Birinci aşama PCR işlemi hem HPgV-1 hem de HPgV-2'yi ön çoğaltma işlemi için tek

bir tüp içerisinde her iki virusa ait primerler (Tablo 3-1'de dizileri bulunan ve 5'UTR bölgesini tanıyan) ile çoklu test formatında Tablo 3-5'de verilen ısı döngüsü ile gerçekleştirildi.

Tablo 3-3- Birinci aşama PCR için gerekli olan malzemeler

1.aşama	
Reaktifler	Miktar (µl)*
25 mM Primer HPgV-1/ 1-F	0,5
25 mM Primer HPgV-1/ 1-R	0,5
25 mM Primer HPgV-2 /1-F	0,5
25 mM Primer HPgV-2 /1-R	0,5
SYBR Green Supermix	10
Örnek cDNA'sı	5
DNAz-RNAz İçermeyen Su	3
Son Hacim	20
*Bir örnek için gereken miktar	

İkinci aşamada ise her bir virusa ait ikinci aşama primerleri kullanılarak ayrı ayrı tüplerde PCR işlemi gerçekleştirildi. HPgV-1'i saptamak için 5'UTR bölgesinden tüm genotipleri kapsayacak ikinci aşama primerleri tasarlanabildi, buna karşın HPgV-2'nin çoğaltılması için semi-nested PCR yöntemi kullanıldı. Kullanılan reaktifler Tablo 3-4'de gösterilmiştir. Birinci ve ikinci aşama için kullanılan real time-PCR programı da Tablo 3-5'de gösterilmiştir.

Tablo 3-4- İkinci aşama PCR için gerekli olan malzemeler

HPgV-1/2.aşama	
Reaktifler	Miktar (µl)*
25 mM Primer HPgV-1/ 2-F	0,5
25 mM Primer HPgV-1/ 2-R	0,5
SYBR Green Supermix	10
1.aşama PCR ürünü	1
DNAz-RNAz İçermeyen Su	7
Son Hacim	20
*Bir örnek için gereken miktar	

HPgV-2/2.aşama	
Reaktifler	Miktar (µl)*
25 mM Primer HPgV-2 /1-F	0,5
25 mM Primer HPgV-2 /2-R	0,5
SYBR Green Supermix	10
1.aşama PCR ürünü	1
DNAz-RNAz İçermeyen Su	7
Son Hacim	20
*Bir örnek için gereken miktar	

Tablo 3-5-Realtime-PCR protokolü

Polimeraz aktivasyonu ve DNA Denatürasyonu		98˚C/1dk.	
Amplifikasyon	Denatürasyon	95˚C/15sn.	40 döngü
	Bağlanma/Uzama	60˚C/60sn.	

Erime Eğrisi Analizi	60˚C-95˚C arasındaki her bir adım için 1˚C artır
	İlk adımda 90 sn. beklet/Diğer adımlarda 5 sn. Beklet

İkinci aşama PCR sonrasında % 1'lik konsantrasyonda hazırlanan agaroz ile elektroforez işlemi yapıldı. Her jel elektroforezinde GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder kullanıldı. Sonuçlar Jel Görüntüleme Sistemi Gel Doc XR+ cihazı ile görüntüleme yapılarak ve DNA ladder baz alınarak hedeflenen baz çifti uzunluğuna ait bant varlığı (HPgV-1 için ~300 bp, HPgV-2 için ~150 bp,) pozitif kabul edildi. Pozitif örnekler bir sonraki aşama olan Sanger dizi analizine alındı.

3.5. DNA Dizi Analizi

Sanger dizi analizi yöntemi için başlıca 3 aşama gerçekleştirildi. İlk aşama olarak PCR ürünleri ExoSAP-IT (Thermo Scientific, A.B.D.) ile saflaştırdı.

Bu amaçla ExoSAP-IT 1:2 oranında sulandırıldı, yeni tüpe aktarılan 7 µl PCR ürünün üzerine 3 µl ExoSAP-IT soğuk blok üzerinde eklendi. Pipetleme ve santrifüjleme işlemi yapıldı. Daha sonra örnekler ısı döngü cihazına alındı. Örnekler 37˚C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra enzim deaktivasyonu için sırası ile 70˚C'de 5 dakika, 85˚C'de 2 dakika ve 95˚C'de 2 dakika inkübasyon uygulandı. Sonrasında örnekler bir sonraki aşamaya kadar 10˚C'de bekletildi. Dizileme işleminden önce örnekler 10 µl DNaz RNaz içermeyen su ile 1:1 oranında dilüe edildi.

İkinci aşama olan ''cycle sequencing aşamasında'' her bir örnek çift yönlü dizilendi, bu amaçla yeni bir PCR tüpünün içerisine her bir hasta için 3 µl "Big Dye reaksiyon mix" (Thermo Scientific, A.B.D.) (1:2 oranında kitin içeriğindeki buffer ile sulandırılmış), 1,5 µl primer (forward ya da revers PCR 2. aşama primerleri) ve 8 µl bir önceki aşamada hazırlanan PCR ürünü eklenip santrifüj edildi. Tüpler ısı döngü cihazına alındı. Örnekler ilk olarak 95˚C'de 8 dakika inkübasyon ile denatüre edildi, sonrasında 30 döngü olacak şekilde 95˚C'de 25 sn, 50˚C'de 30 sn., 60˚C'de 1 dakika ve 68˚C'de 2 dakikalık inkübasyonlar ile "cycle sequencing" reaksiyonu gerçekleştirildi. Sonrasında örnekler bir sonraki aşamaya kadar 10˚C'de bekletildi.

Son olarak "sephadex" ile kolon oluşturma ve saflaştırma aşaması gerçekleştirildi. Kolon oluşturmak için 2 gram toz "sephadex" tartıldı ve üzerine 24 ml DNaz-RNaz

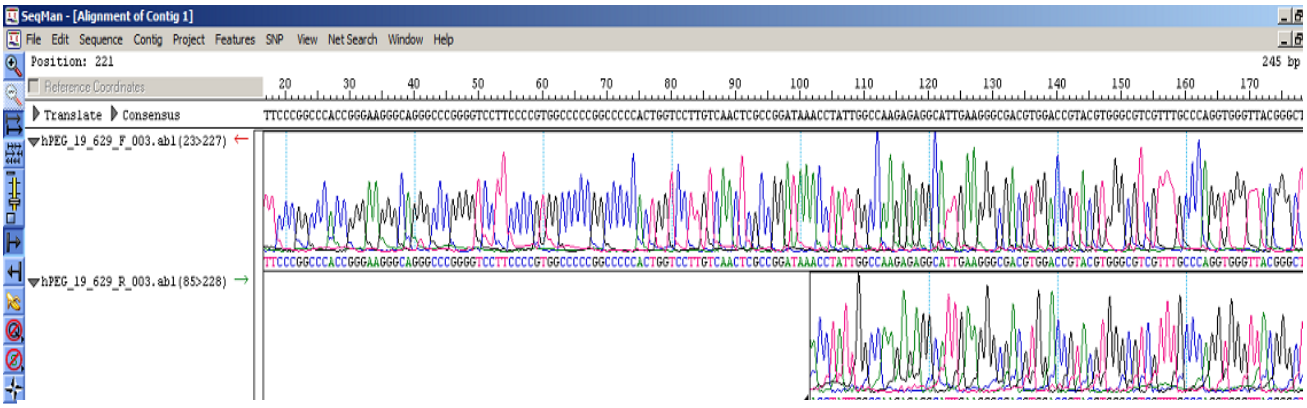
içermeyen su eklendi. Daha sonra içerisinde filtre bulunan tüplere 600-750 µl olacak şekilde dağıtıldı. 3600 rpm'de 2 dk. santrifüj edildi. Altta kalan sıvı döküldü ve ısı döngü cihazından çıkan PCR ürünün (''cycle sequencing aşaması'' sonucunda amplifiye olan) tamamı, oluşan kolonun tam ortasına denk gelecek şekilde yüklendi. 4800 rpm'de 2 dk. santrifüj edildi. Tüpün dibinde kalan sıvı boş 96 kuyucuklu plak içerisine alındı. Genetik analiz cihazına (ABI 3130GA) yüklendi.

Dizi analizi cihazında işlem bittikten sonra, oluşan ham verileri işlemek için "Sequencing Analysis v5.2.0" yazılımı kullanıldı. Bu yazılım ile dizilere ait elektroferogramların sinyal gücünün, veri kalitesinin değerlendirmesi yapılıp, "base



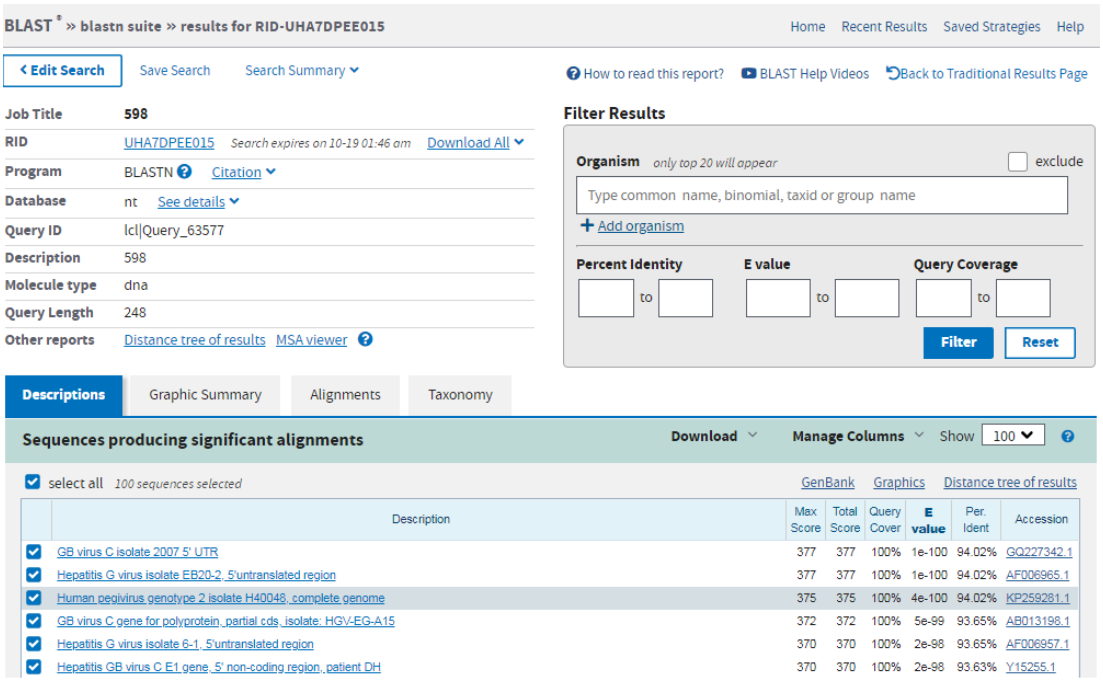
Şekil 3-1 Sequencing Analysis v5.2.0 yazılımı kullanılarak analizi yapılmış bir örneğe ait ileri ve geri okumasının elektroferogram görüntüsü

calling" olarak adlandırılan baz isimlendirme işlemi yapıldı (Şekil 3-1).



Şekil 3-2 SeqManPro programı ile eşleştirilen ve tek bir dizi haline getirilen bir örneğe ait görüntü

Çift yönlü okuması yapılan DNA dizilerin edisyon işlemi DNAStar SeqManPro programı ile yapıldı ve her iki ipliğe ait veriler (Analyzed ABI files (.ab1) uzantılı) eşleştirilip hizalanarak her bir örnek için tek bir konsensus dizi oluşturuldu (Şekil 3-2). Oluşan diziler fasta formatı halinde kaydedildi. Elde edilen dizilerin kontolü öncelikle web üzerinden BLAST (National Center for Biotechnology Information, A.B.D) programı kullanılarak yapıldı (Şekil 3-3). Daha sonra hastalara ve kontrollere ait veriler ile gen bankasından indirilen referans diziler (KM670101, KP710600, genotip 1, U59522, U59519, U59527, U59528, U59526, U59524, U44402 genotip 2a, U63715, LT009489, U59527, genotip 2b, D87713, genotip 3, AB018667, genotip 4, AY949771, genotip 5, AB008336, genotip 6) BioEdit programı içinde yer alan ClustalW programı ile birleştirilerek hizalandı ve "aligment" dosyası oluşturuldu. Elde edilen "aligment" dosyasının filogenetik analizi MEGA-X yazılımı ile "Neighbor-Joining" yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. İlişkili taksonların bir araya getirilmesi ve filogenetik ağacın sınanması için "bootstrap" testi (1000 tekrar olacak şekilde) kullanıldı. Ağaç, filogenetik ağacın çıkarımında kullanılan evrimsel mesafelerle aynı birimdeki dal uzunlukları ile ölçeklendirildi. Evrimsel mesafeler, "Maximum Composite Likelihood" yöntemi kullanılarak hesaplandı[103].



Şekil 3-3 BLAST programı ile yapılan dizi analizi sonucunun öğrenilmesi

3.6. İstatistiksel analiz:

Çalışmada kullanılan örneklere ait bilgiler kodlanarak SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) programında Student's t testi ile değerlendirildi.

4. BULGULAR

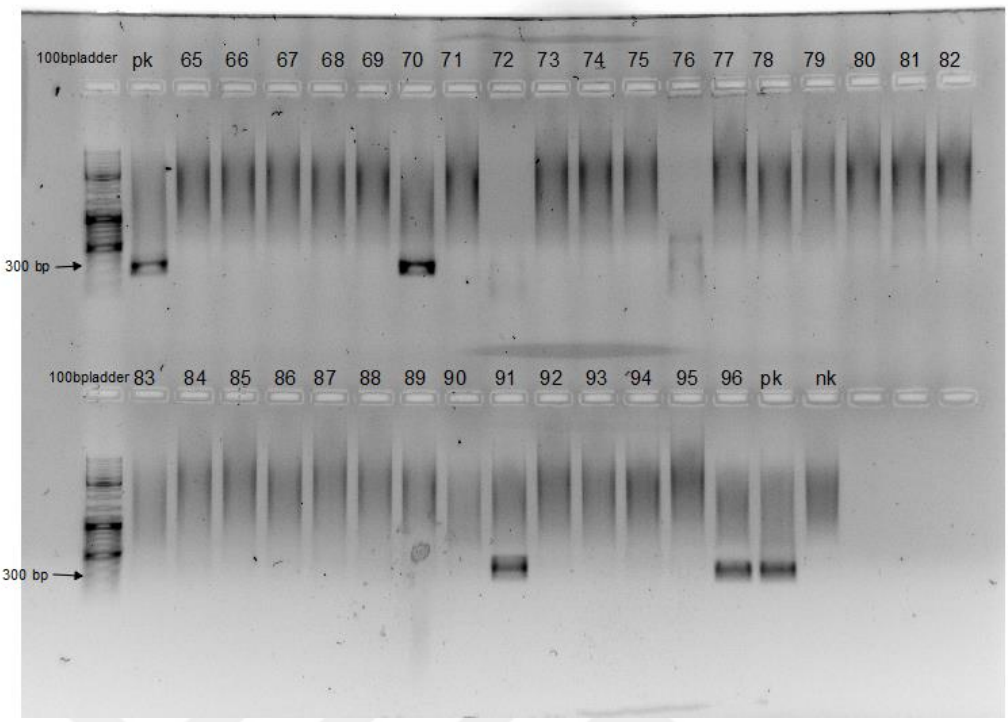
Çalışmaya dahil edilen HIV pozitif, ART deneyimsiz 117 hastanın 104'ü (% 88,88) erkek, 13'ü (% 11,12) kadındı. Hasta grubunun genel yaş aralığı 20-74, yaş ortalaması ise 37,86±12,96'ydı. Kadınların yaş aralığı 23-48, yaş ortalaması ise 36,15±8,87, erkeklerin yaş aralığı 20-74, yaş ortalaması ise 38,08±13,40 idi. Örneklerin HIV viral yükleri ise 640 - $10x10^6$ kopya/ml arasında değişmekteydi. Kontrol grubu hasta grubu ile benzer demografik verilere sahip olanlar arasından seçildi ve bu gruba 88 erkek (% 88) ve 12 (% 12) kadın olmak üzere toplam 100 kişi dahil edildi. Kontrol grubunun genel yaş aralığı 18-72, yaş ortalaması ise 42,10±15,35'di. Kadınların yaş aralığı 21-61, yaş ortalaması ise 33,92±12,59, erkeklerin yaş aralığı 18-72, yaş ortalaması ise 43,22±15,42 idi.

Kontrol ve hasta örneklerine ait ait veriler Tablo 4-1'de verilmiştir.

Tablo 4-1- Kontrol/çalışma grubuna ait demografik veriler

		Kadın	**Erkek**	**Toplam**
ÇALIŞMA GRUBU	**Hasta sayısı**	13	104	117
	Yaş aralığı	23-48	20-74	20-74
	Yaş ortalaması	36,15±8,87	38,08±13,40	37,86±12,96
	HIV viral yükü aralığı (kopya/ml)	2,056 - 10×10^6	640 - 10×10^6	640 - $>10\times10^6$
KONTROL GRUBU	**Sağlıklı kan donörü sayısı**	12	88	100
	Yaş aralığı	21-61	18-72	18-72
	Yaş ortalaması	33,92±12,59	43,22±15,42	42,10±15,35

Her iki grupta HPgV RNA varlığı araştırılmıştır. Çalışma grubunda pozitif bulunan örnekler DNA dizi analizi yapılarak HPgV genotip açısından incelenmiştir. Çalışma sonucunda hasta grubundaki 117 HIV pozitif, ART deneyimsiz hastaya ait örnek içinden 29 tanesi (% 24,78) HPgV-1 RNA pozitif bulundu. Kontrol gubuna ait 100 örneğin 18'inde (% 18) HPgV-1 RNA pozitif bulundu. Hasta grubunda kontrol grubuna göre daha fazla bir oranda HPgV-1 RNA saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p= 0,0148). Kontrol grubu ya da hasta grubunda HPgV-2 RNA saptanmadı.



Şekil 4-1 RT-PCR ile elde edilen (2. aşama PCR ürünü) HPgV-1 RNA'ya ait jel elektroforezi görüntüsü

"Ladder": 100 bp-10.000 bp moleküler ağırlığındaki DNA'yı ölçmek için kullanılan standart, pk: Pozitif kontrol, nk: Negatif kontrol

Tablo 4-2 Pozitif saptanan örnek dağılımları

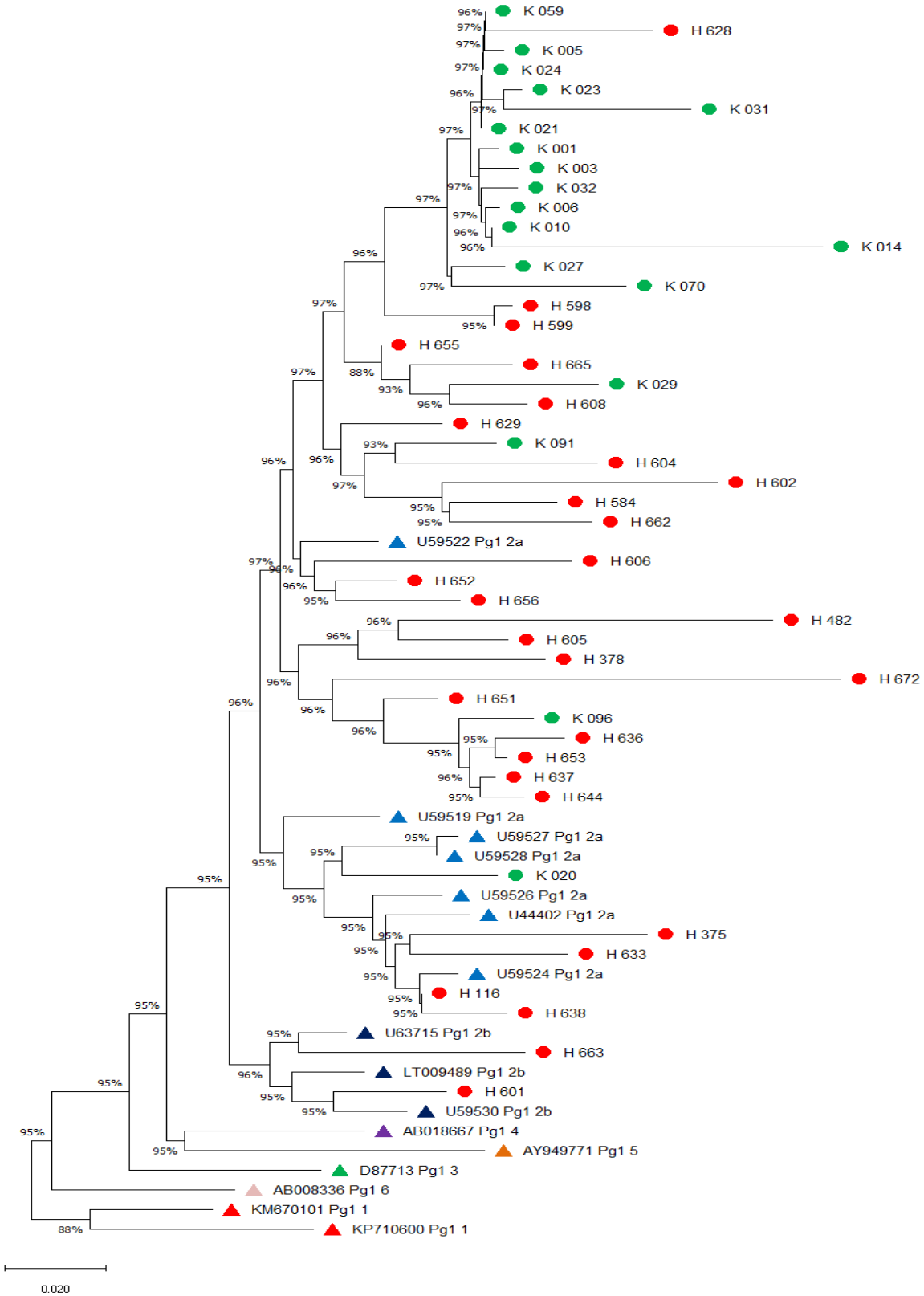
	Örnek Sayısı	HPgV-1 Pozitif Örnek Sayısı	%	P
Çalışma grubu	117	29	24,78	0,0148
Kontrol grubu	100	18	18	

HIV pozitif grupta HPgV-1 saptanan 29 örneğin HIV viral yük ortalaması 247.808,41±784.088,362 kopya/ml iken HPgV-1 saptanmayan grupta HIV viral yük ortalaması 427.111,25±1.511.994,736 kopya/ml idi (p=0,319).

Örneklem büyüklüğü nedeni ile HPgV-1 pozitiflik oranları istatistiksel olarak yaş ve cinsiyet temelinde değerlendirilirken HIV pozitif, ART deneyimsiz hastalara ait örnek verileri ile kontrol gubuna ait verilerle birleştirildi. HPgV-1 pozitif bulunan toplam 47 örneğe ait kişilerin yaş ortalamaları 38,66±12,11 iken HPgV-1 saptanmayan 170 kişinin yaş ortalamaları 40,14±14,79 idi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

bulunmakta idi (p=0,0121). Gruplar 40 yaş altı ve 40 yaş üstü olarak ayrıldıklarında 40 yaş altı 124 bireyin 32'inde (% 25,80) HPgV-1 pozitif bulunurken 40 yaş üstü 93 bireyin 15'sinde (% 16,12) HPgV-1 pozitif bulundu. Yaş grupları değerlendirildiğinde de genç grupta HPgV-1 pozitiflik oranı yaşlı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (p= 0,00044). Cinsiyete göre değerlendirildiğinde 25 kadın hastanın 5'inde (% 20) HPgV-1 pozitif bulunurken 192 erkek hastanın 42'sinde (% 21,87) HPgV-1 pozitif bulundu. Cinsiyetler arasında HPgV-1 pozitifliği için istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0,662).

HPgV-1 pozitif bulunan örneklerin filogenetik analizi yapıldığında, gerek HIV ile infekte bireylerden elde edilen gerekse sağlıklı kontrol grubundan elde edilen dizilerin tümü HPgV-1 genotip 2 olarak sınıflandırıldı. Bunlardan kontrol grubuna ait tüm örnekler genotip 2a'da yer alırken hasta grubuna ait 29 örneğin 27'si 2a'da, 2'si 2b'de yer aldı. HIV ile infekte bireylerden elde edilen diziler, kontrol grubundan elde edilen diziler ve gen bankasından indirilen diziler ile çizilen filogenetik ağaç Şekil 4-2'de sunulmuştur.



Şekil 4-2 Hastalar-kontroller ve gen bankasından indirilen standart dizilere ait filogenetik ağaç. ("Neighbor-Joining" yöntemi kullanılarak çizildi, ağacın sınanması için "bootstrap" testi (1000 tekrar olacak şekilde) kullanıldı, evrimsel mesafeler, "Maximum Composite Likelihood" yöntemi kullanılarak hesaplandı, toplam dal uzunluğu = 1.74559562. Üçgenler gen bankasından indirilen standart dizileri, kırmızı yuvarlaklar hasta grubu örneklerini ve yeşil yuvarlaklar da kontrol grubu örneklerini göstermektedir.)

HPgV-1 pozitif bulunan örneklere ait DNA dizilerinin uzaklıkları hesaplandığında tüm örneklerin nükleotid uzaklıkları 0,0918±0,0110 idi. HIV ile infekte bireylerde bu uzaklık 0,0980±0,0121 idi ve kontrol grubunda bu uzaklık 0,0405±0,0131 idi. Kontrol grubu ile hasta grubu arasında nükleotid uzaklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,0001$). Bu da HPgV-1'in HIV infekte bireylerde daha heterojen bir dağılım gösterdiğini, HIV ile infekte olmayan bireylerde ise görece olarak daha homojen bir yayılıma sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Nitekim kontrol grubuna ait kökenler filogenetik ağaçta topografik olarak hemen hemen monofiletik bir yerleşim sergilemişlerdir. Ayrıca saptanmış olan 2 adet genotip 2b kökeni de hastalara aitti. Tablo 4-3'de örneklere ait nükleotid uzaklık farkları sunulmuştur.

Tablo 4-3 Çalışmada elde edilen DNA dizilerinin genetik uzaklıkları

	Uzaklık	Standart Sapma
Tüm Gruplar	0,0918	0,0110
Hasta Grubu	0,0980	0,0121
Kontrol Grubu	0,0405	0,0131

5. TARTIŞMA

Pegiviruslar, özellikle HPgV-1 ilk tanımlandığı dönemlerde A, B, C dışı hepatiti olan insanlarda tanımlanmasına bağlı olarak hepatotropik olarak düşünülmüş ancak sonraki yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, akut ya da kronik hepatitle ilişkisi bulunamamıştır. Kemik iliği, dalak, beyin omurilik sıvısı, T ve B lenfositlerinde, PKMH'lerde virusun saptanması bu virusun lenfotropik bir virus olduğunu düşündürmüştür[5,6].

HPgV-1 dünya genelinde en yaygın flaviviruslardır[7]. HPgV-1 viremisinin sıklığı üzerine yapılan kesitsel çalışmalara göre gelişmiş ülkelerde sağlıklı kan donörlerinde viremi % 1-5 oranında bulunurken gelişmekte olan ülkelerde bu oran % 20'lere kadar yükselmektedir[102]. Virusun dünya genelinde yaklaşık 750 milyon insanı infekte ettiği tamin edilmektedir[9].

Bizim çalışmamızda hasta grubundaki 117 HIV pozitif, ART deneyimsiz hastaya ait örnek içinden 29 tanesi (% 24,78) HPgV-1 RNA pozitif bulundu. Kontrol gubuna ait 100 örneğin 18'inde (% 18) HPgV-1 RNA pozitif bulundu. Hasta grubunda kontrol grubuna göre daha fazla bir oranda HPgV-1 RNA saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p= 0,0148). Bu da ülkemizde sağlıklı kontrol örneklerinde yapılan çalışmalara göre yüksek bir sonuç gibi görülse de çevremiz ve dünyadan bildirilmiş diğer veriler ile uyumludur.

Yine çalışmamızda yaş ve cinsiyet arasındaki HPgV-1 pozitiflik oranları değerlendirilirken HIV pozitif, ART deneyimsiz hastaya ait örnek verileri ile kontrol grubu verileri örneklem boyutunun küçük olmasından dolayı birleştirildi. HPgV-1 pozitif bulunan toplam 47 kişinin yaş ortalamaları 38,66+12,11 iken HPgV-1 saptanmayan 170 kişinin yaş ortalamaları 40,14±14,79 idi ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,0121). Gruplar 40 yaş altı ve 40 yaş üstü olarak ayrıldıklarında 40 yaş altı 124 bireyin 32'inde (% 25,80) HPgV-1 pozitif bulunurken 40 yaş üstü 93 bireyin 15'sinde (% 16,12) HPgV-1 pozitif bulundu. Yaş grupları karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde genç grupta HPgV-1 pozitiflik oranı yaşlı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (p= 0,00044). Cinsiyet

temelinde karşılaştımalı olarak değerlendirildiğinde 25 kadın hastanın 5'inde (% 20) HPgV-1 pozitif bulunurken 192 erkek hastanın 42'sinde (% 21,87) HPgV-1 pozitif bulundu. Cinsiyetler açısından HPgV-1 pozitifliği bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0,662).

Ülkemizde HPgV üzerine yapılan az sayıda çalışma mevcuttur ve bu çalışmaların en yenisi 11 yıl öncesine ait veri içermektedir. Bu çalışmalar arasında; Pamukkale Üniversitesi'nde yapılan uzmanlık tezinde hemodiyaliz hastalarında HPgV sıklığı araştırılmıştır. 100 hasta ve 100 kontrolden oluşan iki grup oluşturulmuş ve HPgV RNA hasta grubunda % 14 pozitif olarak bulunmuştur, kontrol grubunda ise % 2 pozitiflik saptanmıştır ve iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0,05$). Yine aynı çalışmada HPgV E2 antikor varlığı da araştırılmış hastalarda % 14, kontrollerde % 5 oranında tespit edilmiştir ($p<0,05$)[58]. İzmir'de hemodiyaliz hastalarında yapılan bir başka çalışmaya göre hasta grubunda (5/42) % 12, kontrol grubunda (2/158) % 1,2 HPgV RNA saptanmış, 5'UTR bölgesinden yapılan DNA dizi analizine göre hasta gubundaki 5 kişide genotip 2, kontrol gubundaki 1 kişide ise genotip 4 saptanmıştır[59]. Ülkemizde çeşitli risk grupları üzerinde yapılan başka bir çalışmanın sonucuna göre kronik HBV'li hastalarda (23/80) % 29, hemodiyaliz hastalarında (21/85) % 25, kronik HCV'li hastalarda (5/75) % 7, sağlıklı kişilerde (3/70) % 4 oranında HPgV RNA tespit edilmiştir[60].

Doğu Anadolu bölgesinde yapılan bir araştırmada 410 serum örneği taranmış ve HPgV RNA pozitifliğinin % 4,1 (n=17) olduğu gözlenmiştir. HPgV RNA saptanması ve dizileme için RT-nested PCR yapılmış ve hedef olarak 5'UTR bölgesi seçilmiştir. Kan donörlerinde HPgV RNA bulunmazken 51 kronik HBV'li hastanın 4'ünde (% 7,8) ve 47 kronik HCV'li hastanın 8'inde (% 17) HPgV RNA bulunmuştur. HPgV RNA pozitif örneklerin tamamında ise genotip 2 saptanmıştır[95]. Doğu Anadolu bölgesinde yapılan benzer bir çalışmada da hemodiyaliz hastalarındaki HPgV sıklığı ve genotipleri araştırılmıştır. Genotiplendirme için yine 5'UTR bölgesi kullanılmış ve % 10,2 (9/89) HPgV RNA pozitifliği tespit edilmiştir. Ayrıca tüm HPgV pozitif örneklerin genotip 2 olduğu bildirilmiştir. Sağlıklı kişilerde ise HPgV RNA tespit edilememiştir[93].

İzmir'de Ege Üniversitesi böbrek nakli ünitesindeki transplant alıcılarında yapılan bir başka çalışmada (n=69 ve serum örnekleri kullanılmıştır) HPgV RNA seropozitiflik oranı % 42'dir, 5'UTR bölgesinden yapılan DNA dizi analizi sonucuna göre;

Türkiye'deki diğer çalışmalarla uyumlu olarak tüm izolatların genotip 2 olduğu tespit edilmiştir[94].

Gaziantep Üniversitesi'nde diyabetli hastalar üzerinde yapılan bir araştırmada 60 Tip 2 diyabetli hasta ve 45 sağlıklı gönüllünün serum örnekleri incelenmiştir, kontrol grubunda % 2,2 (sadece bir kişide) HPgV RNA saptanırken hastalarda virusa ait RNA tespit edilememiştir ($p>0,05$)[104].

Yakın coğrafyamıza bakıldığında; komşu ülkelerimizden biri olan İran'da hemofili hastalarıyla (n= 436) yapılmış bir çalışmada hastaların % 4,4' ünde HPgV-1 (19/436), % 0,9'unda HHPgV-1 (diğer adı HPgV-2, 4/436) RNA pozitif bulunmuştur[105]. Bir diğer komşumuz olan Yunanistan'da çeşitli hasta gruplarının oluşturduğu toplam 512 hasta serumunda HPgV yönünden inceleme yapılmıştır, akut HBV'li 56 hastanın 18'inde (% 32,1), kronik HBV'li 58 hastanın 5'inde (% 8,6), akut HCV'li 42 hastanın 12'sinda (% 28,6), kronik HCV'li 68 hastanın 18'inde (%26,5), non-A-E hepatitli 55 hastanın 16'sında (% 29,1), 133 hemodiyaliz hastasının 50'sinde (% 37,6) ve son olarak 100 sağlıklı gönüllünün 10'unda (%10) HPgV RNA saptanmıştır. Ayrıca yapılan serolojik test sonucunda HPgV-E2 antikor pozitifliği ve HPgV RNA pozitifliği genç yaş ile ilişkili bulunmuştur ($p=0,017$). Bu çalışmada HPgV pozitif bulunan 18 örneğin genotipine bakıldığında ise tümünün genotip 2a olduğu gözlenmiştir[106].

İtalya'da 357 İtalyan asıllı sağlıklı donör, 173 hemodiyaliz hastası, 141 uyuşturucu bağımlısı ve 334 sağlıklı göçmenden oluşan 1.005 serum örneği HPgV E2 antikoru varlığı açısından taranmıştır, en yüksek pozitiflik uyuşturucu bağımlılarında saptanmıştır (n=55, % 39, $p<0,0005$) ve diğerleri sırasıyla hemodiyaliz hastaları (n=38, % 22), sağlıklı donörler (n=45, % 12,6), göçmenlerdir (n=40, % 12). Toplamına bakıldığında ise % 17,7 (178/1.005) oranında HPgV E2 antikoru varlığı tespit edilmiştir[107].

Ohba ve arkadaşları Rusya'daki Sibiryalı yerli halk arasından rastgele seçilerek oluşturulan çalışma grubu ile ülkedeki HPgV prevalansını tahmin etmek ve virusun hepatit ile ilişkisini incelemeyi amaçladıkları bir çalışmada, asemptomatik 348 kişinin serumu toplanmış ve RT-PCR ile 26 örnekte (% 7,5 oranında) HPgV RNA pozitif bulunmuştur, HPgV monoinfekte 9 hastanın sadece 2'sinde ALT seviyesi yüksek, geri kalanında ise normal seviyede gözlemlenmiştir[108].

Ukrayna'da, ameliyat ile gebeliği sonlandırılan hastaların plazma ve fetal doku örneklerindeki HPgV sıklığı ve genotip dağılımı araştırılmıştır, en yüksek oranla plazma örneklerinde (% 13,7) en düşük oranla fetal dokularda (% 5) HPgV RNA tespit edilmiştir, koryondaki pozitiflik ise % 5,4'dür. Çalışmanın sonuçlarına dayanılarak vertikal geçişin erken gelişim evrelerinde oldukça sık olduğu ayrıca pozitif örneklerin filogenetik analizi yapıldığında (5'UTR bölgesine göre) 28 plazma örneğinin 25'inde genotip 2a , 2 hastada genotip 2b, 1 hastada genotip 3 bulunmuştur; fetal örneklerde ise DNA dizi analizi işlemi başarılı olmamış, genotip belirlenememiştir[109].

Norveçli kan donörlerindeki HPgV prevalansına bakıldığında 1.001 plazma örneğinde % 2,5 oranında HPgV RNA pozitifliği tespit edilmiştir (NS5 bölgesini çoğaltan primer çiftleri kullanılmıştır), ELISA ile plazma örneklerindeki HPgV E2 antikoru tarandığında ise % 10,5 oranında pozitiflik saptanmıştır. ALT seviyelerine bakıldığında ise sadece HPgV infeksiyonu olan bir donörde yükselme gözlemlenmiştir ve virus ile hepatit arasında bir ilişki saptanamamıştır, çalışmadan çıkan şaşırtıcı bir sonuca göre antikoru pozitif ve akupunktur tedavisi alan hastalar (% 16,5) almayanlar (% 9,4) ile karşılaştırıldığında viremi daha yüksek bulunmuştur ($p< 0,001$)[110].

İsveçli kan donörlerinde yapılan bir çalışmada, HBV yüzey antijeni, HCV, HIV 1/2 antikoru negatif serum örnekleri toplanıp, çalışılmış; 458 serumun 62'sinde (% 13,5) HPgV E2 antikoru varlığı saptanmıştır. Ayrıca HPgV RNA pozitif bulunan donörün 4'ünde (% 22,0) hem RNA ve hem de antikor pozitiflikleri mevcuttur. Yaşlara göre bakıldığında en fazla HPgV E2 antikoru pozitifliği 41-50 yaş aralığında bulunan donörlerde (24/143, % 16,8, $p=0,04$), en fazla HPgV RNA pozitifliği ise 31-40 yaş aralığında bulunan donörlerde (21/163, % 12,9, $p=0,11$) gözlenmiştir[12].

Danimarka'da çeşitli risk grupları (9 ve 15 yaşındaki çocuklar, kan donörleri, hastane çalışanları, mahkum ve damar içi uyuşturucu kullanıcıları) üzerinde yapılan bir çalışmada, PCR sonuçlarına göre en yüksek risk grubu damar içi uyuşturucu kullanıcıları (% 34,9 $p<0,00001$), en düşük risk grubu ise çocuklardı (% 1,4 $p=0,026$). HPgV-RNA kan donörlerinde % 2,2, hastane çalışanlarında % 2,2 ve mahkumlarda %12,5 düzeylerinde pozitif bulunmuştur. ELISA ile elde edilen sonuçlar da bu sonuçlarla uyum içersindeydi (çocuklarda % 0,3, hastane çalışanlarında % 12,1, mahkumlarda % 24, damar içi uyuşturucu kullanıcılarında ise % 39,6)[111].

Macaristan'da HPgV prevalansı ile ilgili bir araştırmada 60 yaş üzeri ve altı sağlıklı gönüllüler olmak üzere iki grup oluşturulmuş, 60 yaşın üstündeki sağlıklı kişilerde (113/408) % 28, 60 yaşın altındaki sağlıklı kişilerde (8/71) % 11,26 ve nedeni bilinmeyen hepatit hastalarında (20/51) % 39 oranlarında HPgV E2 antikoru varlığı saptanmıştır. Sağlıklı kişilerde (10/124) % 8,0 ve hepatitli hastaların (36/247) % 14,6'sında HPgV RNA pozitif saptanmıştır. HPgV'a ait en yüksek prevalans 40-49 yaş aralığında görülürken 50 yaşın üstündeki altgrupta virus saptanmamıştır. Çocuklardan oluşan bir diğer altgrupta ise HPgV prevalansı diğer yaş gruplarına göre daha düşük bulunmuştur[112].

Bizim çalışmamız sonucunda hasta grubunda % 24,78, kontrol grubunda % 18 HPgV-1 RNA pozitif bulundu (p= 0,0148). Bu da ülkemizde sağlıklı kontrol örneklerinde yapılan çalışmalara göre yüksek bir sonuç gibi görülse de çevremiz ve dünyadan bildirilmiş diğer veriler ile uyumludur. İzmir'de yapılan çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde yüksek bir HPgV RNA (HPgV RNA seropozitiflik oranı % 42'dir) prevalansına sahiptir. Yine İzmir'de yapılan bir başka çalışmada (HPgV RNA % 12) göreceli olarak yüksek bir sonuç bulunmuştur. Bu yüksek sonuçlar ile daha düşük prevalansa sahip Doğu Anadolu'da yapılan çalışmalar arasındaki farkın kullanılan yöntem ve teknik açıdan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir[93–95].Yine çalışmamızda saptanan genotiplerin tümünün genotip 2 olması da literatür ve virusun coğrafi yayılımını destekler veri oluşturmaktadır. Bununla birlikte, Anastassopoulou ve arkadaşarının Yunanistan'da, Vitrenko ve arkadaşlarının Ukrayna'da, Jogeda ve arkadaşlarının Doğu Avrupa'da yaptığı yayınlarda da bölgemiz için baskın genotipin 2, alt tipin de 2a olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda da HPgV-1 RNA pozitifliği saptanan 47 olgudan 45'i (% 95,56) genotip 2a'da yer alırken sadece 2 örnek genotip 2b'de (% 4,44) yer almıştır[106,109,113]. Çalışmamızda HPgV-1 pozitif bulunan örneklere ait DNA dizilerinin uzaklıkları hesaplandığında tüm örneklerin nükleotid uzaklıkları 0,0918±0,0110 idi. HIV ile infekte bireylerde bu uzaklık 0,0980±0,0121; kontrol grubunda ise 0,0405±0,0131 idi. Kontrol grubu ile hasta grubu arasında nükleotid uzaklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p < 0.0001$). Bu da HPgV-1'in HIV infekte bireylerde daha heterojen bir dağılım gösterdiğini, HIV ile infekte olmayan bireylerde ise görece olarak daha homojen bir yayılıma sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Nitekim kontrol grubuna ait kökenler filogenetik ağaçta topografik olarak

hemen hemen monofiletik bir yerleşim sergilemişlerdir Ayrıca saptanmış olan 2 adet genotip 2b kökeni de hastalara aitti.

HPgV'ler, son yıllarda HIV infeksiyonları üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı araştırmacıların ilgisini çekmektedir. HPgV-1 koinfeksiyonunun ART alan hastalarda tedaviye yanıtı arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur[30,31]. HAART döneminde yapılan bazı çalışmalarda, tam olarak kanıtlanamamış olmasına rağmen, HIV/HPgV-1 koinfeksiyonu olan hastalarda, CD4 hücre sayısından ve HIV RNA seviyesinden bağımsız olarak tam virolojik yanıt oranının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir[30,32,33].

Bir meta analiz çalışması ve çok sayıdaki çalışmaların sonuçları HPgV-1 viremisi olmayan HIV infekte kişilerle HPgV-1/HIV koinfeksiyonu olan kişiler karşılaştırıldığında koinfeksiyonlu bireylerin yaşam sürelerinin ve AIDS'e ilerleme süresinin uzadığına işaret etmektedir[21,24–27]. Nitekim son dönemde matematiksel bir model oluşturarak yapılan bir çalışmada HIV tedavisinde HPgV aşılamasının HIV'in AIDS'e ilerlemesinde etkili olabileceğine işaret edilmiştir. Bu çalışmaya göre yıllık % 12,5 ila % 50 arasındaki aşılama ile eşcincel erkeklerde hem AIDS'in gelişmesinde hem de AIDS'e bağlı ölüm oranlarında azalma görülmüştür[79].

Bizim çalışmamızda HIV pozitif grupta HPgV-1 saptanan 29 örneğin HIV viral yük ortalaması 247.808,41±784.088,362 kopya/ml iken HPgV-1 saptanmayan grupta HIV viral yük ortalaması 427.111,25±1.511.994,736 kopya/ml idi. Her iki grup ortalamaları arasında iki kata yakın fark saptanmasına karşın HPgV-1 saptanan gruptaki viral yüklerin heterojen dağılımı nedeni ile iki grup ortalamaları arası istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0,319).

Çalışmamızda, Türkiye'de HIV ile infekte hasta popülasyonundaki HPgV sıklığı üzerine yapılan bir çalışmaya rastlayamadık. Dünyada yapılan bazı çalışmaların sonuçlarına göre HIV/HPgV-1 koinfeksiyonu olan kişilerde HPgV-1 sıklığı % 20-41 arasında bildirilmektedir[14–18]. Nitekim çalışmamızda HIV pozitif kişilerde HPgV viremisi sıklığı % 24,78 olarak bulunmuş olup bu oran dünyanın çeşitli bölgelerinden benzer hasta grupları için bildirilmiş olan yukardaki aralık içersinde yer almaktadr. Aynı şekilde elde ettiğimiz genotip dağılımı da hem daha önce ülkemizde farklı gruplar üzerinde gerçekleştirilmiş çalışmaların sonuçları hem de aynı coğrafyayı paylaştığımız diğer ülkelere ait sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Almanya'da yapılan araştırmada HIV pozitif hastaların % 23,8'inde (97/408) HPgV RNA'sı tespit edilmiştir. Genotip analizi için çoğu çalışmada olduğu gibi 5'UTR bölgesi kullanılmış ve elde edilen veriler incelendiğinde virusun pozitif bulunduğu örneklerin % 83,5'i genotip 2, % 8,2'si genotip 1, % 2,1'i genotip 3 olarak tespit edilmiştir[114].

Stapleton ve arkadaşlarının ABD'de yaptığı çalışmaya göre HIV pozitif örneklerin % 41 (24/59)'inde HPgV viremisi saptanmıştır. Kombine ART tedavi alan hastalarda HPgV viremisi olan ve olmayanlar karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamamıştır (p= 0,63) fakat kombine ART tedavi alan ve HPgV viremili hastalarda $CD4^+$ T hücre sayılarının daha yüksek olduğu gözlenmişitir ($p<0,01$)[18].

Meksika'da yapılan prevalans ve genotip araştırmasında 6.484 sağlıklı gönüllüye ait serum, 1.406 HIV pozitif hastaya (bunların 770'i ART naif, 616'sı ise HAART alan hastalar) ait serum örnekleri taranmıştır. 5'UTR bölgesi kısmi olarak amplifiye edilmiş ve gönüllülerde % 2,94 (n=191), ART deneyimli ve deneyimsiz olan HIV hastalarında ise % 33,6 (n=473) oranlarında HPgV RNA bulunmuştur, genotiplendirme sonucuna göre % 58,6 oranla genotip 3 en baskın genotip olmuş ve bunu % 33,7 ile genotip 2 izlemiştir. Bu iki genotip arasında HIV viral yükü, $CD4^+$ T hücre sayısı, $CD4^+$/ $CD8^+$ oranı ve HPgV viral yükü açısından anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$)[17].

Bir Güney Afrika ülkesi olan Bostwana'da HIV/HPgV koinfekte kişilerin % 30,8'inde HPgV RNA tespit edilmiş, yine HPgV RNA ile HIV viral yükü arasında ilişki tespit edilememiştir. Buna karşılık $CD4^+$ T hücre sayısı HPgV pozitif örneklerde daha yüksek bulunmuştur ($p = 0,0173$) ve genotip 5'in genotip 1'e göre daha yüksek $CD4^+$ T hücre sayıları ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir ($p= 0,0084$)[15].

Çin'in Yunnan şehrinde yapılan araştırmaya göre 1.062 HIV pozitif hastaya ait plazma örnekleri RT-nested PCR yöntemiyle incelenmiştir. Bunlardan 460 HIV ile infekte damar içi uyuşturucu kullanıcısı olanlarının % 28,5'i (n=131) ve HIV ile infekte 602 heteroseksüel kişinin % 19,4'ünde (n=117) HPgV RNA saptanmıştır. HPgV viremisi sıklığı uyuşturucu kullanıcılarında istatistiki bakımdan anlamlı derece daha yüksekti ($p<0,05$). Genotip çeşitliliğini belirleyebilmek için E2 gen bölgesi hedeflenip dizilenmiş; sonuç olarak en yüksek oranda genotip 7 (% 55,7), ardından sırası ile genotip 3 (% 34,9), genotip 4 (% 4,7), genotip 2 (% 3,3) saptanmıştır. Ayrıca damar içi uyuşturucu kullanıcıları arasında heteroseksüellerden daha fazla sayıda genotip 7 (%

73,3, p<0,05) ve de heteroseksüel kişilerde damar içi uyuşturucu kullanıcılarından daha fazla sayıda genotip 3 (% 19, p<0,05) saptanmıştır[16].

Brezilya'daki yapılan çalışmada ART deneyimsiz HIV ile infekte kişilerde (n=175) HPgV'nin E2 bölgesine ait primerler ile amplifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir, % 24 oranında HPgV RNA tespit edilmiştir. ART alan ve HPgV pozitif olan hastalarda HIV viral yükü bakımından daha etkili bir azalma gözlemlenmiştir (p=0,009)[31].

Farklı HPgV-1 genotiplerinin HIV üzerinde değişik sonuçları olabileceğini düşündüren çalışmalar mevcuttur. Birkaç çalışmada genotip 2 ve genotip 5'in AIDS'in ilerlemesini geciktirebileceği gösterilmiştir[7,22,28,29]. Dahası çalışmalarda subtipler arasında da farklılıklar bulunabilmektedir. Brezilya'da Mota ve arkadaşlarının ART naif hastalarda yaptıkları bir çalışmaya göre (n=70) HIV infekte hastalarda % 57,1 oranında HPgV-1 pozitifliği bulunmuştur ve bu pozitif hastaların genotiplerine bakıldığında sırasıyla genotip 2, genotip 3 ve genotip 1 saptanmıştır. Genotip 2'nin subtipleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelendiğinde ise subtip 2b, subtip 2a'ya kıyasla daha düşük HIV viral yükü ve daha yüksek $CD4^+$ T hücre sayısı ile ilişkilendirilmiştir[115]. Daha önceden yapılmış bir başka çalışmanın sonucu da bu duruma benzer bir duruma işaret etmektedir; $CD4^+$ T hücre sayısı subtip 2b olan hastalarda 2a'ya göre yine daha yüksek bulunmuştur[29].

Genotipler arası kıyaslama yapılan bir başka çalışmada, HPgV-1'in E2 glikoproteininden türetilen sentetik peptidlerin HIV infeksiyonu üzerindeki etkisi araştırılmış ve çalışmadan genotip 2 türevli peptidlerin genotip 1'den türetilenlere göre HIV infeksiyonunu sınırlama açısından daha etkili olduğu sonucu çıkartılmıştır (p=0,05). Bu çalışmada ayrıca 10 HIV CXCR4 tropik izolatın ve 2 CXCR4/CCR5 tropik izolatın hepsi, 8 CCR5 tropik izolatın 4'ü genotip 2 kökenli sentetik peptid ile inhibisyona uğramıştır (p=0,014) yani koreseptör seçimi sentetik peptidin inhibisyonunu etkilemiştir. Ayrıca HIV subtipleri, sentetik peptidin inhibe edici etkisi üzerinde belirleyici olmamaktadır[116].

Çalışmamızda HPgV-2, RNA HIV pozitif hasta grubunda ve kontrol grubunda negatif olarak bulunmuştur. HIV ile monoinfekte kişilerde HPgV-2'nin araştırıldığı çalışmaların çoğunda da aynı sonuçla karşılaşılmıştır. Çeşitli gruplarda HPgV-2 antikorlarının araştırıldığı bir çalışmada HIV (n=434), HBV (n=456) monoinfekte kişilerde ve kontrol grubunda (n=416) HPgV-2 RNA saptanamamıştır[117]. Çin'de 8198

örnekle yapılan çalışmanın sonucuna göre; HIV (n=539), HBV (n=1.000) monoinfekte kişilerde ve sağlıklı kan donörlerinde (n=4.017) HPgV-2 RNA saptanmamıştır. Ayrıca HIV monoinfekte kişilerde HPgV-2 antikorları da saptanmamışır[19]. Vietnam'da yapılan çalışmada da benzer bir durum söz konusudur. HIV monoinfekte (n=78) ve sağlıklı kişilerde (n=80) HPgV-2 RNA tespit edilememiştir, 79 HIV/HCV koinfekte hastanın sadece 5'inde HPgV-2 RNA pozitifliği vardır[77].

Yapılan çalışmaların sonucu; sıklığı kan yolu ile bulaşan viruslara göre daha düşük olan HPgV-2'nin tek başına saptanmasının HPgV-1'e kıyasla daha zor olduğunu ve başka bir virusla beraber infeksiyon yapma olasılığının daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmada HPgV-1 sıklığının ülkemizde HIV ile infekte kişilerde daha fazla olduğu, HPgV-1'in genç bireylerde daha sık saptandığı, yaygın genotipin 2a olduğu ve bunun HIV ile infekte grupta daha heterojen bir dağılım gösterdiği gözlendi.

KAYNAKLAR

1. Smith, D. B. *vd.* Proposed update to the taxonomy of the genera Hepacivirus and Pegivirus within the Flaviviridae family. *J. Gen. Virol.* **97**, 2894–2907 (2016).
2. Mohr, E. L. & Stapleton, J. T. GB virus type C interactions with HIV: the role of envelope glycoproteins. *J. Viral Hepat.* **16**, 757–68 (2009).
3. Kapoor, A. *vd.* Virome Analysis of Transfusion Recipients Reveals a Novel Human Virus That Shares Genomic Features with Hepaciviruses and Pegiviruses. *Financ. Times* **6**, 1–12 (2015).
4. Berg, M. G. *vd.* Discovery of a Novel Human Pegivirus in Blood Associated with Hepatitis C Virus Co-Infection. *PLoS Pathog* **11**, e1005325 (2015).
5. Radkowski, M. *vd.* Detection of active hepatitis C virus and hepatitis G virus/GB virus C replication in bone marrow in human subjects. *Blood* **95**, 3986–9 (2000).
6. Chivero, E. T. & Stapleton, J. T. Tropism of human pegivirus (Formerly known as GB virus C/hepatitis G virus) and host immunomodulation: Insights into a highly successful viral infection. *J. Gen. Virol.* **96**, 1521–1532 (2015).
7. Stapleton, J. T., Foung, S., Muerhoff, A. S., Bukh, J. & Simmonds, P. The GB viruses: A review and proposed classification of GBV-A, GBV-C (HGV), and GBV-D in genus Pegivirus within the family Flaviviridae. *J. Gen. Virol.* **92**, 233–246 (2011).
8. Yang, N. Global prevalence of human pegivirus-1 in healthy volunteer blood donors : a systematic review and meta-analysis. 1–13 (2019). doi:10.1111/vox.12876
9. Stapleton, J. T. *vd.* A novel T cell evasion mechanism in persistent RNA virus infection. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* **125**, 14–24; discussion 24-6 (2014).
10. Zanetti, A. R. *vd.* Multicenter trial on mother-to-infant transmission of GBV-C virus. *J. Med. Virol.* **54**, 107–112 (1998).
11. Sentjens, R., Basaras, M., Simmonds, P., Vrielink, H. & Reesink, H. HGV/GB virus C transmission by blood components in patients undergoing open-heart surgery. *Transfusion* **43**, 1558–1562 (2003).
12. Björkman, P., Nauclér, A., Winqvist, N., Mushahwar, I. & Widell, A. A case-control study of transmission routes for GB virus C/hepatitis G virus in Swedish

blood donors lacking markers for hepatitis C virus infection. *Vox Sang.* **81**, 148–153 (2001).

13. Yilmaz, G. *vd.* Genetic subtypes of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) in Istanbul, Turkey. *Int. J. Infect. Dis.* **10**, 286–290 (2006).
14. Santos, L. M. *vd.* Prevalence and vertical transmission of human pegivirus among pregnant women infected with HIV. *Int. J. Gynecol. Obstet.* **138**, 113–118 (2017).
15. N'Guessan, K. F. *vd.* The Impact of Human Pegivirus on CD4 Cell Count in HIV-Positive Persons in Botswana. *Open Forum Infect. Dis.* **4**, 1–6 (2017).
16. Miao, Z. *vd.* Prevalence and clinical impact of human pegivirus-1 infection in HIV-1-infected individuals in Yunnan, China. *Viruses* **9**, 1–13 (2017).
17. Horemheb-Rubio, G. *vd.* High HPgV replication is associated with improved surrogate markers of HIV progression. *PLoS One* **12**, 1–17 (2017).
18. Stapleton, J. T. *vd.* GB virus C infection is associated with altered lymphocyte subset distribution and reduced T cell activation and proliferation in HIV-infected individuals. *PLoS One* **7**, e50563 (2012).
19. Wang, H. *vd.* A Novel Human Pegivirus, HPgV-2 (HHpgV-1), Is Tightly Associated with Hepatitis C Virus (HCV) Infection and HCV/Human Immunodeficiency Virus Type 1 Coinfection. *Clin. Infect. Dis.* **66**, 29–35 (2018).
20. Wang, H. *vd.* Second human pegivirus in hepatitis C virus–infected and hepatitis C virus/HIV-1– co-infected persons who inject drugs, China. *Emerg. Infect. Dis.* **24**, 908–911 (2018).
21. Bhattarai N, S. J. GB virus C: the good boy virus? **20**, 124–130 (2013).
22. Feng, Y. *vd.* A Novel Genotype of GB Virus C: Its Identification and Predominance among Injecting Drug Users in Yunnan, China. *PLoS One* **6**, e21151 (2011).
23. Muerhoff, A. S., Dawson, G. J. & Desai, S. M. A previously unrecognized sixth genotype of GB virus C revealed by analysis of 5′-untranslated region sequences. *J. Med. Virol.* **78**, 105–111 (2006).
24. Mehrishi, J. & Bakács, T. HIV and hepatitis G virus/GB virus C co-infection: beneficial or not? *Lancet Infect. Dis.* **5**, 464–465 (2005).
25. Stapleton, J. T. & Williams, C. F. GB Virus Type C : a Beneficial Infection ? **42**, 3915–3919 (2004).

26. Zhang, W., Chaloner, K., Tillmann, H., Williams, C. & Stapleton, J. Effect of early and late GB virus C viraemia on survival of HIV-infected individuals: a meta-analysis. *HIV Med.* **7**, 173–180 (2006).
27. Tillmann, H. L. *vd.* Infection with GB Virus C and Reduced Mortality among HIV-Infected Patients. *N. Engl. J. Med.* **345**, 715–724 (2001).
28. Alcalde, R. *vd.* Prevalence and distribution of the GBV-C/HGV among HIV-1-infected patients under anti-retroviral therapy. *Virus Res.* **151**, 148–152 (2010).
29. Muerhoff, A. S., Tillmann, H. L., Manns, M. P., Dawson, G. J. & Desai, S. M. GB Virus C genotype determination in GB Virus-C/HIV co-infected individuals. *J. Med. Virol.* **70**, 141–149 (2003).
30. Rodriguez, B. *vd.* Effect of GB Virus C Coinfection on Response to Antiretroviral Treatment in Human Immunodeficiency Virus–Infected Patients. *J. Infect. Dis.* **187**, 504–507 (2003).
31. Souza, I. *vd.* Effect of GB virus C on response to antiretroviral therapy in HIV-infected Brazilians*. *HIV Med.* **7**, 25–31 (2006).
32. Brumme, Z. L. *vd.* No association between GB virus-C viremia and virological or immunological failure after starting initial antiretroviral therapy. *AIDS* **16**, 1929–33 (2002).
33. Sheng, W.-H. *vd.* Clinical Impact of GB Virus C Viremia on Patients with HIV Type 1 Infection in the Era of Highly Active Antiretroviral Therapy. *Clin. Infect. Dis.* **44**, 584–590 (2007).
34. Deinhardt, F., Holmes, A. W., Capps, R. B. & Popper, H. *STUDIES ON THE TRANSMISSION OF HUMAN VIRAL HEPATITIS TO MARMOSET MONKEYS*. (1967).
35. Beames, B., Chavez, D. & Lanford, R. E. GB virus B as a model for hepatitis C virus. *ILAR J.* **42**, 152–160 (2001).
36. Muerhoff, A. S. *vd. Genomic Organization of GB Viruses A and B: Two New Members of the Flaviviridae Associated with GB Agent Hepatitis*. *JOURNAL OF VIROLOGY* **69**, (1995).
37. Simons, J. N. *vd. Identification of two flavivirus-like genomes in the GB hepatitis agent (hepatitis C virus/representational difference analysis)*. *Medical Sciences* **92**, (1995).
38. Simons, J. N. *vd.* Isolation of novel virus-like sequences associated with human

hepatitis. *Nat. Med.* **1**, 564–569 (1995).

39. Linnen, J. *vd.* Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. *Science* **271**, 505–8 (1996).
40. Stapleton, J. T., Bukh, J., Muerhoff, A. S., Foung, S. & Simmonds., P. Assignment of human, simian and bat pegiviruses (previously described as GBV-A, GBV-C, and GBV-D) as members of a new Genus (Pegivirus) within the Flaviviridae. 1–6 (2012).
41. Adams, M. J., King, A. M. Q. & Carstens, E. B. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2013). *Arch. Virol.* **158**, 2023–2030 (2013).
42. Simmonds, P. *vd.* ICTV Virus Taxonomy Profile: Flaviviridae ICTV VIRUS TAXONOMY PROFILES. *J. Gen. Virol.* **98**, 2–3 (2017).
43. Us, D. *Genel viroloji*. (2013).
44. Tautz, N., Tews, B. A. & Meyers, G. The Molecular Biology of Pestiviruses. *Adv. Virus Res.* **93**, 47–160 (2015).
45. Scheel, T. K. H., Simmonds, P. & Kapoor, A. Surveying the global virome: Identification and characterization of HCV-related animal hepaciviruses HHS Public Access. *Antivir. Res* **115**, 83–93 (2015).
46. Smith, D. B. *vd.* Proposed update to the taxonomy of the genera Hepacivirus and Pegivirus within the Flaviviridae family. *J. Gen. Virol.* **97**, 2894–2907 (2016).
47. Genus: Pegivirus-Flaviviridae-Positive-sense RNA Viruses-International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2018). Available at: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/flaviviridae/363/genus-pegivirus. (Erişim: 4. Nisan 2019)
48. Xiang, J. *vd.* Characterization of hepatitis G virus (GB-C virus) particles: evidence for a nucleocapsid and expression of sequences upstream of the E1 protein. *J. Virol.* **72**, 2738–44 (1998).
49. Xiang, J., Wunschmann, S., Schmidt, W., Shao, J. & Stapleton, J. T. Full-Length GB Virus C (Hepatitis G Virus) RNA Transcripts Are Infectious in Primary CD4-Positive T Cells. *J. Virol.* **74**, 9125–9133 (2002).
50. Nakao, S. *vd.* Dengue virus, a flavivirus, propagates in human bone marrow progenitors and hematopoietic cell lines. *Blood* **74**, 1235–40 (1989).
51. Fan, X. *vd.* Is hepatitis G/GB virus-C virus hepatotropic? Detection of hepatitis

G/GB virus-C viral RNA in liver and serum. *J. Med. Virol.* **58**, 160–4 (1999).

52. Tucker, T. J. *vd.* Evidence that the GBV-C/hepatitis G virus is primarily a lymphotropic virus. *J. Med. Virol.* **61**, 52–8 (2000).
53. Chivero, E. T. *vd.* Human pegivirus RNA is found in multiple blood mononuclear cells in vivo and serum-derived viral RNA-containing particles are infectious in vitro. *J. Gen. Virol.* **95**, 1307–1319 (2014).
54. Rydze, R. T., Bhattarai, N. & Stapleton, J. T. GB virus C infection is associated with a reduced rate of reactivation of latent HIV and protection against activation-induced T-cell death. *Antivir. Ther.* **17**, 1271–9 (2012).
55. George, S. L., Xiang, J. & Stapleton, J. T. Clinical isolates of GB virus type C vary in their ability to persist and replicate in peripheral blood mononuclear cell cultures. *Virology* **316**, 191–201 (2003).
56. Bhattarai, N. *vd.* GB Virus C Particles Inhibit T Cell Activation via Envelope E2 Protein-Mediated Inhibition of TCR Signaling. *J. Immunol.* **190**, 6351–6359 (2013).
57. Leyssen, P., De Clercq, E. & Neyts, J. Perspectives for the treatment of infections with Flaviviridae. *Clin. Microbiol. Rev.* **13**, 67–82 (2000).
58. Hancı, S. Y. Hemodiyaliz hastalarinda gbv-c/hgv prevalansinin araştirilmasi. (2007).
59. Toklu, T. Hemodiyaliz hastalarında hepatit G virusu (HGV-GBVC) infeksiyonunun cDNA polimeraz zincir tepkimesi ile gösterilmesi ve HGV genotiplerinin belirlenmesi. (2000).
60. Akcali, S., Sanlidag, T. & Ozbakkaloglu, B. Prevalence of GBV-C/hepatitis G virus viremia among chronic hepatitis B, chronic hepatitis C and hemodialysis patients in Turkey. *Ann. Saudi Med.* **26**, 68–9 (2006).
61. Altindiş, M., Aktepe, O. C., Cetinkaya, Z. & Ozdemir, M. [TT virus and hepatitis G virus in different risk groups in Afyon]. *Mikrobiyol. Bul.* **38**, 61–7 (2004).
62. Stapleton, J. T. GB Virus Type C / Hepatitis G Virus. (2003).
63. Fama, A. *vd.* Clinical Infectious Diseases Human Pegivirus Infection and Lymphoma Risk: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* ® **55905**, 1–8 (2019).
64. Krajden, M. *vd.* GBV-C/hepatitis G virus infection and non-Hodgkin lymphoma: a case control study. *Int. J. Cancer* **126**, NA-NA (2010).

65. Tuddenham, R. *vd.* Human Pegivirus in brain tissue of a patient with encephalitis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 114898 (2019). doi:10.1016/j.diagmicrobio.2019.114898

66. Balcom, E. F. *vd.* Human pegivirus-1 associated leukoencephalitis: Clinical and molecular features. *Ann. Neurol.* **84**, 781–787 (2018).

67. Alter, H. J. G-pers creepers, where'd you get those papers? A reassessment of the literature on the hepatitis G virus. *Transfusion* **37**, 569–72 (1997).

68. Alter, H. J. *vd. The Incidence Of Transfusion-Associated Hepatitis G Virus Infection And Its Relation To Liver Disease*. (1997).

69. Tanaka, E. *vd.* Effect of Hepatitis G Virus Infection on Chronic Hepatitis C. *Ann. Intern. Med.* **125**, 740 (1996).

70. Tillmann, H. L. *vd.* Antibodies against the GB virus C envelope 2 protein before liver transplantation protect against GB virus C de novo infection. *Hepatology* **28**, 379–384 (1998).

71. Masuko, K. *vd. INFECTION WITH HEPATITIS GB VIRUS C IN PATIENTS ON MAINTENANCE HEMODIALYSIS*. **334**, (1996).

72. Fried, M. W. *vd.* Hepatitis G virus co-infection in liver transplantation recipients with chronic hepatitis C and nonviral chronic liver disease. *Hepatology* **25**, 1271–1275 (1997).

73. Izumi, T. *vd.* Characterization of human pegivirus infection in liver transplantation recipients. *J. Med. Virol.* 0–2 (2019). doi:10.1002/jmv.25555

74. Brown, K. E., Tisdale, J., Barrett, A. J., Dunbar, C. E. & Young, N. S. Hepatitis-Associated Aplastic Anemia. *N. Engl. J. Med.* **336**, 1059–1064 (1997).

75. Moriyama, K., Okamura, T. & Nakano, S. Hepatitis GB virus C genome in the serum of aplastic anaemia patients receiving frequent blood transfusions. *Br. J. Haematol.* **96**, 864–867 (1997).

76. Brown, K. E., Wong, S. & Young, N. S. Prevalence of GBV-C/HGV, a novel "hepatitis" virus, in patients with aplastic anaemia. *Br. J. Haematol.* **97**, 492–496 (1997).

77. Anh, N. T. *vd.* Detection and characterization of human pegivirus 2, Vietnam. *Emerg. Infect. Dis.* **24**, 2063–2067 (2018).

78. Chang, C. M. *vd.* GBV-C infection and risk of NHL among U.S. adults. *Cancer Res.* **74**, 5553–60 (2014).

79. Greenhalgh, S., Schmidt, R. & Day, T. Fighting the Public Health Burden of AIDS with the Human Pegivirus. *Am. J. Epidemiol.* **188**, 1586–1594 (2019).
80. Xiang, J. *vd.* Viruses within the Flaviviridae decrease CD4 expression and inhibit HIV replication in human CD4+ cells. *J. Immunol.* **183**, 7860–9 (2009).
81. Galatola, R. *vd.* Surface behavior of peptides from E1 GBV-C protein: Interaction with anionic model membranes and importance in HIV-1 FP inhibition. *Biochim. Biophys. Acta-Biomembranes* **1848**, 392–407 (2015).
82. Sánchez-Martín, M. J. *vd.* Effect of E1(64–81) hepatitis G peptide on the in vitro interaction of HIV-1 fusion peptide with membrane models. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **1808**, 2178–2188 (2011).
83. Bhattarai, N., McLinden, J. H., Xiang, J., Kaufman, T. M. & Stapleton, J. T. GB Virus C Envelope Protein E2 Inhibits TCR-Induced IL-2 Production and Alters IL-2–Signaling Pathways. *J. Immunol.* **189**, 2211–2216 (2012).
84. Bhattarai, N. *vd.* GB Virus C Particles Inhibit T Cell Activation via Envelope E2 Protein-Mediated Inhibition of TCR Signaling. *J. Immunol.* **190**, 6351–6359 (2013).
85. Lauck, M. *vd.* GB virus C coinfections in west African Ebola patients. *J. Virol.* **89**, 2425–9 (2015).
86. Tanaka, E. *vd.* Evolution of hepatitis G virus infection and antibody response to envelope protein in patients with transfusion-associated non-A, non-B hepatitis. *J. Viral Hepat.* **5**, 153–9 (1998).
87. Gutierrez, R. A. *vd.* Seroprevalence of GB virus C and persistence of RNA and antibody. *J. Med. Virol.* **53**, 167–173 (1997).
88. Luk, K.-C. C. *vd.* Utility of metagenomic next-generation sequencing for characterization of HIV and human pegivirus diversity. *PLoS One* **10**, 1–20 (2015).
89. Bonsall, D. *vd.* Evaluation of viremia frequencies of a novel human pegivirus by using bioinformatic screening and PCR. *Emerg. Infect. Dis.* **22**, 671–678 (2016).
90. Mota, L. D. Da *vd.* Molecular and Clinical Profiles of Human Pegivirus Type 1 Infection in Individuals Living with HIV-1 in the Extreme South of Brazil. *Biomed Res. Int.* **2019**, 1–11 (2019).
91. GibranRamos-, H. R. *vd.* High HPgV replication is associated with improved surrogate markers of HIV progression. *PLoS One* **12**, 1–17 (2017).

92. Jordier, F. *vd.* Human pegivirus isolates characterized by deep sequencing from hepatitis C virus-RNA and human immunodeficiency virus-RNA–positive blood donations, France. *J. Med. Virol.* **91**, 38–44 (2019).
93. Ozdarendeli, A. *vd.* Prevalence and genotypes of hepatitis G virus among hemodialysis patients in Eastern Anatolia, Turkey. *Med. Princ. Pract.* **14**, 102–106 (2005).
94. Erensoy, S. *vd.* Letter to the Editor GB virus C / hepatitis G virus infection among renal transplant recipients in İzmir , Turkey : Molecular analysis of phylogenetic groups L-l I. (2002).
95. Kalkan, A., Ozdarendeli, A., Bulut, Y. & Saral, Y. Prevalence and Genotypic Distribution of Hepatitis GB-C / HG and TT Viruses in Blood Donors , Mentally Retarded Children and Four Groups of Patients in Eastern Anatolia , Turkey. 222–227 (2005).
96. Xiang, J. *vd.* Effect of Coinfection with GB Virus C on Survival among Patients with HIV Infection. *N. Engl. J. Med.* **345**, 707–714 (2001).
97. Da Mota, L. D. *vd.* High prevalence and autochtonous transmission of human pegivirus (HPgV-1) in blood donors in the extreme southern of Brazil. *J. Med. Virol.* **91**, 31–37 (2019).
98. Frankel, M. *vd.* Development of a high-throughput multiplexed real time RT-PCR assay for detection of human pegivirus 1 and 2. *J. Virol. Methods* **241**, 34–40 (2017).
99. Fogeda, M. *vd.* In vitro infection of human peripheral blood mononuclear cells by GB virus C/Hepatitis G virus. *J. Virol.* **73**, 4052–61 (1999).
100. George, S. L., Varmaz, D. & Stapleton, J. T. GB Virus C Replicates in Primary T and B Lymphocytes. *J. Infect. Dis.* **193**, 451–454 (2006).
101. Xiang, J. Human Pegivirus (GB Virus C/hepatitis G virus). *J Infect. Dis. Antimicrob. Agents* **4**, 2017 (2002).
102. Mohr, E. L. & Stapleton, J. T. GB virus type C interactions with HIV: the role of envelope glycoproteins. *Los últimos cazadores Transform. Cult. y económicas durante el Tardiglaciar y el inicio del Holoceno en el ámbito mediterráneo* **16**, 79–117 (1995).
103. Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.*

(2018). doi:10.1093/molbev/msy096

104. Guney, C. *vd.* Frequency of hepatitis G virus and transfusion-transmitted virus infection in type II diabetes mellitus. *Int. J. Clin. Pract.* **59**, 206–209 (2005).
105. Bijvand, Y. *vd.* First detection of human hepegivirus-1 (HHpgV-1) in Iranian patients with hemophilia. *Sci. Rep.* **8**, (2018).
106. Anastassopoulou, C. G. *vd.* Molecular epidemiology of GB virus C/hepatitis G virus in Athens, Greece. *J. Med. Virol.* **61**, 319–26 (2000).
107. Villari, P., Ribera, G., Nobile, C. G. A., Torre, I. & Ricciardi, G. Antibodies to the E2 protein of GB virus C/hepatitis G virus: Prevalence and risk factors in different populations in Italy. *Infection* **29**, 17–23 (2001).
108. Ohba, K. *vd. Seroprevalence of hepatitis B virus, hepatitis C virus and GB virus-C infections in Siberia*. *Epidermiol. Infect* **122**, (Cambridge University Press, 1999).
109. Vitrenko, Y., Kostenko, I., Kulebyakina, K. & Sorochynska, K. Prevalence of human pegivirus-1 and sequence variability of its E2 glycoprotein estimated from screening donors of fetal stem cell-containing material. *Virol. J.* **14**, 167 (2017).
110. Nordbo, S. A., Krokstad, S., Winge, P., Skjeldestad, F. E. & Dalen, A. B. Prevalence of GB virus C (also called hepatitis G virus) markers in Norwegian blood donors. *J. Clin. Microbiol.* **38**, 2584–90 (2000).
111. Christensen, P. B. *vd.* GB virus C epidemiology in Denmark: Different routes of transmission in children and low- and high-risk adults. *J. Med. Virol.* **70**, 156–162 (2003).
112. Takács, M. *vd.* Prevalence of GB virus C/hepatitis G virus in Hungary. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **34**, 283–287 (2002).
113. Jõgeda, E. L. *vd.* Prevalence and genotypes of GBV-C and its associations with HIV infection among persons who inject drugs in Eastern Europe. *J. Med. Virol.* **89**, 632–638 (2017).
114. Neibecker, M., Schwarze-Zander, C., Rockstroh, J. K., Spengler, U. & Blackard, J. T. Evidence for extensive genotypic diversity and recombination of GB virus C (GBV-C) in Germany. *J. Med. Virol.* **83**, 685–694 (2011).
115. Mota, L. D. Da *vd.* Molecular and Clinical Profiles of Human Pegivirus Type 1 Infection in Individuals Living with HIV-1 in the Extreme South of Brazil. *Biomed Res. Int.* **2019**, 8048670 (2019).

116. Ruegamer, T. *vd.* Inhibition of HIV-1 infection by human pegivirus type 1-derived peptides is affected by human pegivirus type 1 genotype and HIV-1 coreceptor tropism. *Aids* **32**, 1951–1957 (2018).
117. Coller, K. E. *vd.* Antibodies to the novel human pegivirus 2 are associated with active and resolved infections. *J. Clin. Microbiol.* **54**, 2023–2030 (2016).

ETİK KURUL KARARI

İÜC Tarih ve Sayı: 10/01/2019-5431

T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Yüksek Lisans Öğrencisi Ebru Yücebağ'ın etik kurul kararı A-04

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :21.11.2018 tarih, 64414572-604.01.01-96733 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim **Prof.Dr.Kenan MİDİLLİ'nin** danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğrencisi Ebru YÜCEBAĞ'ın** yürütücülüğünde **"İnsan Bağışıklık Eksikliği Virusu (HIV) ile İnfekte Kişilerde İnsan Pegiviruslarının (HPgV) Sıklığının ve Genotip Çeşitliliğinin Araştırılması"** başlıklı Yüksek Lisans Tezi (RETROSPEKTİF) hakkında ilgi yazınız ve ekleri **08 Ocak 2019** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup;Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla; etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Emine Gülderen ŞAHİN
Bölüm Başkanı

NOT: Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun ve Bilimsel Araştırma Projeleri Desteği Onay Belgesinin Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak İçin:http://dogrulama.istanbulc.edu.tr/enVision.sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE5D0RNJ7

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Güler SOYDANER Dahili : 22300
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL
Tel : 0 (212) 414 30 00 Faks : 0 (212) 632 00 33
e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbulc.edu.tr

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

EbruTez

ORIJINALLIK RAPORU

%8	%6	%2	%6
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
2	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	%1
3	Submitted to Uludag University Öğrenci Ödevi	%1
4	talk.ictvonline.org İnternet Kaynağı	%1
5	François Jordier, Marie-Laurence Deligny, Romain Barré, Catherine Robert et al. "Human pegivirus isolates characterized by deep sequencing from hepatitis C virus-RNA and human immunodeficiency virus-RNA–positive blood donations, France", Journal of Medical Virology, 2018 Yayın	<%1
6	acikerisim.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ebru	**Soyadı**	YÜCEBAĞ
Doğ.Yeri	İSTANBUL	**Doğ.Tar.**	11.09.1993
Uyruğu	T.C	**TC Kim No**	11363736796
Email	ebruycbg@gmail.com	**Tel**	0534 269 90 66

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa/Tıbbi Mikrobiyoloji	-
Lisans	İstanbul Üniversitesi-Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2015
Lise	Orhangazi Lisesi	2011

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	İyi	Orta	Orta		YDS (2018)-61,25 YÖKDİL (2017)-68,75

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı	69,4	64,3	55,9
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
MS Word	İyi
MS PowerPoint	İyi
MS Excel	İyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):