

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**COVID-19 HASTALIĞINDA FERROPTOZİS MEKANİZMASININ
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Ezgi DENİZLİ KARAKAŞ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Dursun ÇADIRCI

ŞANLIURFA
2022

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**COVID-19 HASTALIĞINDA FERROPTOZİS MEKANİZMASININ
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Ezgi DENİZLİ KARAKAŞ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Dursun ÇADIRCI

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü tarafından 05.11.2021 tarih ve 21246 protokol numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2022

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca hayattaki ve meslek hayatındaki tecrübelerini bize aktaran, tez çalışmam süresince gece gündüz desteğini asla esirgemeyen ve kliniğe ilk geldiğim günden beri gösterdiği yakınlığı ile ailem gibi gördüğüm kıymetli hocam ve tez danışmanım Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Dursun ÇADIRCI'ya,

Eğitimim boyunca büyük katkı sağlayan, her konuda anlayışlı, samimi ve yardımsever olan, beni çalışmak için her zaman hayat dolu enerjisiyle motive eden, yapabileceğime inandıran, bu yolda deneyimleri ile farklı bakış açıları kazandıran değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Şenay KOÇAKOĞLU'na,

Tez yazım sürecinde bilimsel katkı ve önerileriyle bana çok büyük desteği olan Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı hocalarımızdan Doç. Dr. İsmail KOYUNCU'ya,

3 yıllık asistanlık hayatım süresince hastaneyi ve yaşadığım şehri daha da güzelleştiren, birlikte omuz omuza çalışmış olmaktan her zaman mutlu olduğum tüm asistan arkadaşlarıma,

Bugüne gelmemde şüphesiz ki en fazla emeği olan, bana daima yüreктen inanan, benden maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım annem Meliha DENİZLİ, canım babam İrfan DENİZLİ, biricik abim Oğuzhan DENİZLİ, meslektaşım ve kardeşim Ebrar DENİZLİ'ye,

Her zaman olduğu gibi bu zorlu süreçte de tüm varlığıyla yanımda olan, yükümü hafifleten; sevgisini, desteğini her zaman hissettiğim değerli eşim Muhammed Emin KARAKAŞ'a, 2 yıldır benimle olan ve bu süreçte günlerimin daha keyifli geçmesini sağlayan minik patili dostum canım kedim Vani'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ezgi DENİZLİ KARAKAŞ

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
GRAFİKLER DİZİNİ	VI
KISALTMALAR	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Koronavirüs	3
2.1.1. Coronaviridae yapısı	3
2.1.2. Epidemiyoloji	4
2.1.3. Bulaş Yolları	5
2.1.4. Klinik Seyir	5
2.1.5. Laboratuvar Bulguları	6
2.1.6. Radyolojik Bulguları	7
2.1.7. Covid-19 Tanısı	8
2.1.8. Covid-19 Tedavisi	9
2.2. Programlı Hücre Ölümü	9
2.2.1. Hücre Ölüm Mekanizmaları	10
2.2.1.1. Apoptoz	10
2.2.1.2. Otofaji	10
2.2.1.3. Nekroz	11
2.3. Ferroptozis	11
2.3.1. Ferroptoz İndükleyicileri	13
2.3.2. Ferroptoz İnhibitörleri	14
2.3.3. Ferroptozun Moleküler Temelleri	16
2.3.3.1. Lipid peroksidasyonu	16
2.3.3.2. Demir Metabolizması	16
2.4. Covid-19 ve Çoklu Organ Hasarı	18
2.5. Covid-19 ve Ferroptoz	20

2.5.1. Covid-19 Enfeksiyonunda Demir Metabolizması	20
2.5.2. Covid-19 Enfeksiyonunda GSH-GPX4 Ekseni	21
2.5.3. SARS-CoV-2 Enfeksiyonu Sırasında ROS Üretimi	21
2.5.4. Potansiyel Terapötik Müdahaleler	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Etik Kurul İzni	26
3.2. Çalışma grubunun oluşturulması	26
3.3. Örneklerin Hazırlanması	26
3.4. Kullanılan Araç ve Gereçler	26
3.5. Glutathione Peroxidase 4 Analizi	27
3.6. Lipit Hidroperoksit Düzeyi Ölçümü (LOOH)	28
3.7. GSH/GSSG Analizi	28
3.8. İstatistiksel Yöntem	30
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ	54
7. KAYNAKLAR	55
8. EKLER	67
Ek-1: Etik Kurul Kararı	67
Ek-2: Turnittin Raporu	68

Tablo-1: Katılımcıların Tanımlayıcı Özelliklerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	31
Tablo-2: Katılımcıların biyokimya, hemogram ve ferroptozis belirteci parametre değerleri	32
Tablo-3: Araştırma Grubunun Biyokimyasal Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	33
Tablo-4: Araştırma Grubunun Hemogram Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	39
Tablo-5: Çalışma Grubunun Ferroptozis Belirteçlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	40
Tablo-6: Ferroptozis Belirteci Değerlerinin Biyokimya Parametreleriyle Korelasyonu	42
Tablo-7: Ferroptozis Belirteci Değerlerinin Hemogram Parametreleriyle Korelasyonu	43
Tablo-8: Ferroptozis Belirteçlerinin Hastalığı Öngörmede Tanısal Karar Verdiriciliği	44



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA NO

Şekil-1: Koronavirüsün şematik yapısı	3
Şekil-2: Buzlu cam opasiteleri	8
Şekil-3: Temel ferroptoz mekanizmaları	12
Şekil-4: Ferroptozun indüklenme mekanizması	15
Şekil-5: Hücresel demir metabolizması	17
Şekil-6: Covid-19 enfeksiyonunda hücre içi demir metabolizmasının düzensizliği	21
Şekil-7: SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında ROS oluşturma şeması	24



Grafik-1: Araştırma Gruplarının Demir Seviyeleri	34
Grafik-2: Araştırma Gruplarının Transferrin Seviyeleri	34
Grafik-3: Araştırma Gruplarının Ferritin Seviyeleri	35
Grafik-4: Araştırma Gruplarının CRP Seviyeleri	35
Grafik-5: Araştırma Gruplarının D-Dimer Seviyeleri	36
Grafik-6: Araştırma Gruplarının Fibrinojen Seviyeleri	36
Grafik-7: Araştırma Gruplarının ALT Seviyeleri	37
Grafik-8: Araştırma Gruplarının AST Seviyeleri	37
Grafik-9: Araştırma Gruplarının Albümin Seviyeleri	38
Grafik-10: Araştırma Gruplarının LDH Seviyeleri	38
Grafik-11: GPX-4 belirtecinin ROC analizi eğrisi	44
Grafik-12: LOOH belirtecinin ROC analizi eğrisi	45
Grafik-13: Reduced GSH belirtecinin ROC analizi eğrisi	45
Grafik-14: GSSG belirtecinin ROC analizi eğrisi	46
Grafik-15: Total (GSH+GSSG) belirtecinin ROC analizi eğrisi	46
Grafik-16: GSH/GSSG belirtecinin ROC analizi eğrisi	47

KISALTMALAR LİSTESİ

ACE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim
ACSL4	: Açıl-CoA sentetaz uzun zincirli aile üyesi 4
ALT	: Alanin aminotransferaz
Ang II	: Anjiyotensin II
APTT	: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
ARDS	: Akut solunum sıkıntısı sendromu
AST	: Aspartat aminotransferaz
AT1R	: Anjiyotensin 1 reseptörü
BT	: Bilgisayarlı tomografi
CRP	: C reaktif protein
DFO	: Desferrioksiamin
DMT1	: İki değerlikli metal taşıyıcı 1
Fe	: Demir
FPN	: Ferroportin
FTH1	: Ferritin ağır zinciri 1
FTL	: Ferritin hafif zinciri
GPX-4	: Glutasyon peroksidaz 4
GSH	: Redükte glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
IREB2	: Demir yanıt elemanı bağlayıcı protein 2
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LDH	: Laktat dehidrojenaz
L-OOH	: Sitotoksik lipid peroksitler
LOX	: Lipooksijenaz
LOX	: Lipooksijenaz
LPCAT3	: Lizofosfatidilkolin açıl transferaz 3
PT	: Protrombin zamanı
PUFA-PL	: Çoklu doymamış yağ açıl fosfolipid
RAS	: Renin-anjiotensin sistemi
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RSL-3	: RAS selective lethal
RTA	: Radikal tutucu antioksidanlar

SARS- CoV-2: Şiddetli akut solunum yolu sendromu ile ilişkili koronavirüsü

Sistem Xc- : Sistein/glutamat taşıyıcı reseptörü

SLC3A2 : Solute Carrier Family 3 Member 2

SLC7A11 : Solute Carrier Family 7 Member 11

TF : Transferrin

TFR1 : Transferrin reseptörü 1

TFR1 : Transferrin reseptörü 1

VDAC : Voltaj bağımlı anyon kanalları

WBC : Beyaz küre sayısı



ÖZET

Covid-19 Hastalığında Ferroptozis Mekanizmasının İncelenmesi

Dr. Ezgi DENİZLİ KARAKAŞ

Aile Hekimliği Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Covid-19 hastalığı ilk olarak Çin'in Hubei bölgesine bağlı Wuhan kasabasında ortaya çıkan bir akut solunum yolu enfeksiyonudur. Dünyanın dört bir tarafına yayılan bu virüs yaşamı tehdit edici özellikleriyle kısa zamanda bütün dünyayı kasıp kavurmuştur. Hastalığın temel olarak ateş, kuru öksürük, yorgunluk ve pnömoniye yol açan akciğer tutulumu ile karakterize olan bir kliniği mevcuttur.

Ferroptoz, özellikle son yıllarda daha çok araştırılan bir düzenlenmiş hücre ölümü biçimidir. Fosfolipid glutatyon peroksidaz (GPX4) ile alakalı yollar tarafından kontrol edilen ferroptoz demir-bağımlı bir oksidatif hücre yıkım çeşidi olarak bilinmektedir. Ferroptozun biyokimyasal işaretçileri, hücre içi serbest demir miktarındaki yükseliş ve lipid peroksidasyonudur. GPX4, lipid hidroperoksitlerinin detoksifikasyonu yönünde temel bir konumdadır. Glutatyon (GSH) lipid peroksidasyonu inhibitörü olarak görev yapan bir antioksidandır. Ayrıca glutatyon peroksidaz enzimleri tarafından hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda rolü vardır. Hidroperoksitlerin, GPX enzimleri tarafından GSH kullanılarak indirgenmesi sonucunda GSSG (okside glutatyon) meydana gelmektedir. GSH'ın, hücreleri oksidatif stresten korumada son derece önemli bir rolü bulunmaktadır. Özet olarak ferroptozis; GPX4 aktivitesinde azalma, GSH azalması, GSSG ve LOOH artması ile karşımıza çıkan bir hücre ölüm şeklidir.

Bu çalışmada; Covid Pozitif grup, Covid Şüpheli grup ve Covid Negatif grup şeklinde üç grup karşılaştırıldı. Hastaların kanlarında GPX4, GSH, GSSG, LOOH seviyeleri bakılarak ferroptozis mekanizmasının covid-19 hastalığı ile ilişkisi incelendi.

Çalışmada Covid Pozitif grubunun GPX4 düzeyi, Covid Negatif grubuna göre anlamlı şekilde düşük çıkarken ($p<0,001$), Covid Şüpheli grubuna göre de düşüktü fakat daha az düzeyde anlamlıydı ($p=0,005$). Reduced GSH ve GSH/GSSG değerleri Covid Pozitif grubunda en düşük, Covid Negatif grubunda en yüksek olarak bulunmuştur ($p<0,001$). Covid Pozitif grubunda GSSG değeri diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek saptanmıştır ($p<0,001$). LOOH değerleri

Covid Pozitif grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Bu çalışma neticesinde oksidatif stresin ve ferroptozis mekanizmasının covid-19 hastalığı ile alakalı olduğu tespit edildi. Literatürdeki araştırmaları tarama sonucunda yeni keşfedilen, eşi benzeri olmayan bir mekanizmaya sahip olan bir hücre ölümü şekli olan ferroptozisin anlaşılması ve covid-19 hakkındaki net tesirini ortaya koyabilmek için hasta sayısının daha çok olduğu ek çalışmalara gereksinim olduğunu değerlendirdik.

Anahtar kelimeler: Ferroptoz, SARS-CoV-2, Glutasyon peroksidaz, Lipid Peroksidasyonu, Glutasyon



ABSTRACT

Investigation Of Ferroptosis Mechanism İn Covid 19 Disease

Ezgi DENİZLİ KARAKAŞ, MD
Specialty Thesis, Department Of Family Medicine

Covid-19 disease is an acute respiratory infection that first appeared in the town of Wuhan in the Hubei region of China. This virus, which has spread all over the world, has taken the whole world by storm in a short time with its life-threatening features. The disease basically has a clinic characterized by fever, dry cough, fatigue and lung involvement leading to pneumonia.

Ferroptosis is a form of regulated cell death that has been studied more and more in recent years. Ferroptosis, which is controlled by pathways related to the phospholipid glutathione peroxidase (GPX4), is known as an iron-dependent type of oxidative cell destruction. Biochemical markers of ferroptosis are increased intracellular free iron and lipid peroxidation. GPX4 is in a fundamental position towards the detoxification of lipid hydroperoxides. Glutathione (GSH) is an antioxidant that acts as an inhibitor of lipid peroxidation. It also has a role in the detoxification of hydrogen peroxide by glutathione peroxidase enzymes. GSSG (oxidized glutathione) is formed as a result of the reduction of hydroperoxides by GPX enzymes using GSH. GSH has an extremely important role in protecting cells from oxidative stress. In summary, ferroptosis; It is a form of cell death that occurs with a decrease in GPX4 activity, decrease in GSH, and increase in GSSG and LOOH.

In this study; Three groups, namely the Covid Positive group, the Covid Suspicious group, and the Covid Negative group, were compared. GPX4, GSH, GSSG, LOOH levels in the blood of the patients were examined, and the relationship between the mechanism of ferroptosis and covid-19 disease was examined.

In the study, while the GPX4 level of the Covid Positive group was significantly lower than the Covid Negative group ($p < 0.001$), it was also lower than the Covid Suspect group, but less significant ($p = 0.005$). Reduced GSH and GSH/GSSG values were found to be the lowest in the Covid Positive group and the highest in the Covid Negative group ($p < 0.001$). The GSSG value in the Covid Positive group was found to be statistically higher than the other groups ($p < 0.001$). LOOH values were found to be statistically higher in the Covid Positive group than in the other groups ($p < 0.001$).

As a result of this study, it was determined that oxidative stress and ferroptosis mechanism are related to covid-19 disease. As a result of reviewing the studies in the literature, we evaluated that there is a need for additional studies with a larger number of patients in order to understand the newly discovered ferroptosis, a form of cell death with a unique mechanism, and to reveal its net effect on covid-19.

Keywords: Ferroptosis, SARS-CoV-2, Glutathione Peroxidase, Lipid Peroxidation, Glutathione



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çin'in Wuhan kasabasından kaynaklanan Coronaviridae ailesine ait bir virüsün neden olduğu covid-19 hastalığı, halen dünyanın her tarafında saptanmaktadır. Covid-19 hastalığı temel olarak ateş, kuru öksürük, yorgunluk ve pnömoniye yol açan akciğer tutulumu ile karakterizedir (1).

Vakaların %5'inde yaşamı tehdit edici olabilir (solunum sıkıntısı, septik şok ve/veya çoklu organ işlev bozukluğu ya da yetmezliği) (2). Covid-19 hastasıyla yapılan birçok çalışmada covid-19'lu bireylerin artmış serum ferritin seviyesi sergilediği gözlenmiştir (3). Yüksek bir ferritin seviyesi, covid-19'da kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (1). Covid-19'un sadece ACE2 reseptörü ile sınırlı olmadığı, yüzey proteini CD147 yoluyla hücre girişine aracılık edebileceğine dair yeni kanıtlar vardır. CD147 yüzey proteini, çok sayıda insan hücre tipi üzerinde eksprese edilebilen bir glikoproteindir (4). Kırmızı kan hücreleri yüzey proteini CD147'yi daha fazla eksprese eder. Bu nedenle covid-19 için önemli bir hedef kan dolaşımındaki eritrositlerdir. Eritrositlere viral girişin demirin hemoglobinden ayrılmasına izin verdiğini, belki de eritrositlerin oksijen taşıma yeteneğini bozduğunu öne süren bazı sunumlar vardır (5).

Bu teoriler giderek artan sayıda literatürde yer almaktadır. Covid-19'un bir şekilde oksijen taşınması üzerinde bir etkisi olabilir ve etkileri ciddi hipoksik sorunlara yol açabilir. Vücut demirinin yaklaşık %70'i eritrositlerde bulunur. Organizmalar için, demiri kanda taşıyan transferinin demir bağlama kapasitesini aşan demir miktarlarında fazla demir birikimi meydana gelir. Kandaki bağlı olmayan serbest demir tehlikeli olabilir. Bu durumda, bir paradoksla karşı karşıyayız. Vücut hücrenin dışında demir eksikliğinden muzdaripken, tam tersine hücrenin içinde fazla demirden muzdarip olmak gerçekten paradoksaldir. Belki de bu paradoksal durumdan yararlanan fırsatçı bir RNA virüsü covid-19'dur. Çünkü RNA virüsleri milyonlarca yıldır hiç durmayan tutkuyla demire ihtiyaç duyuyor (6).

Sonunda hücrelerin içinde demir birikimi bir kısır döngü haline gelir. Demirin bu aşırı yüklenmesi, ferroptozis adı verilen belirli bir hücre ölümüne yol açabilir (7). Bu araştırmalar sonucu covid-19 hastalığının son yıllarda keşfedilen yeni bir hücre ölümü şekli olan demir birikimiyle seyreden ferroptozis ile ilişkili olabileceği düşüncesini oluşturmuştur (8).

Ferroptozis; nekroz, apoptoz ve otofajiden oldukça farklı olan, genellikle hücre ölümü sırasında büyük miktarda demir birikimi ve lipid peroksidasyonu mevcut olan bir hücre ölümü türüdür (8). Ferroptozis oluşumu demire bağlıdır. Demir katalizli lipid hasarı, ferroptoz üzerinde

doğrudan bir nedensel etki gösterir (9). Ferroptozu indükleyen faktörler, glutasyon peroksidazı farklı yollardan doğrudan veya dolaylı olarak etkileyebilir, bu da antioksidan kapasitede bir azalmaya ve hücrelerde lipid reaktif oksijen türlerinin birikmesine neden olarak sonuçta oksidatif hücre ölümüne yol açar. Son çalışmalarda, ferroptozun birçok hastalığın ortaya çıkmasında önemli bir rol aldığı ve ilgili hastalıkların tedavisi ve prognozunun iyileştirilmesine yönelik araştırmaların odak noktası haline geldiğini görmekteyiz (10).

Bu çalışmada covid-19 hastalığının ferroptozis ile ilişkili olabileceğini düşünüp glutasyon peroksidaz aktivasyonu, lipid peroksidasyonu araştırması ve laboratuvarında demir, ferritin ve transferrin bakılması sonucu covid PCR pozitif ve BT covid şüpheli olan hastalar ile PCR negatif ve BT covid şüpheli olmayan hastalarda karşılaştırmayı amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

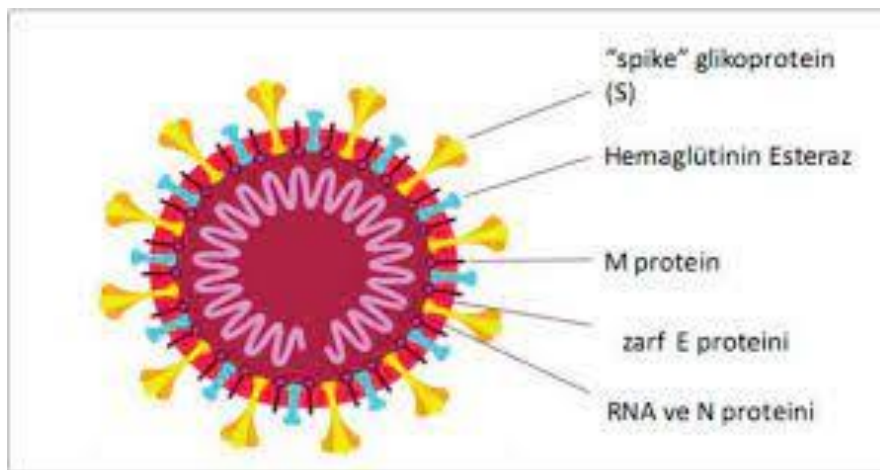
2.1. Koronavirüs

Covid-19 ilk başta Çin Halk Cumhuriyeti'nin Hubei bölgesine bağlı Wuhan kasabasında ortaya çıkan bir akut solunum yolu enfeksiyonudur. Bulaşıcılık özelliği son derece yüksek olan Koronavirüs ailesinden Koronavirüs-2 (SARS- CoV-2) adlı virüs neden olmaktadır. Bu hastalığın 2019 senesi içinde hızla yayılması ve çok kısa bir zaman içinde neredeyse bütün ülkeleri etkilemesi sonucu, Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2020 mart ayında pandemi olarak ilan edilmiştir (11).

2.1.1. Coronaviridae yapısı

Coronaviridae ailesi, tek zincirli RNA'ya sahip ve pozitif polariteli, hayvanda ve insanda enfeksiyona neden olabilen nidovirüsler sınıfına ait bir grup zarflı virüstür. Çapları 80-120 nm arasında değişmekte olup sferik veya pleomorfik şekilli olabilirler (12).

Bazı çalışmalarda bu virüsün 55 milyon yıl öncesine kadar uzanan bir tarihi olduğu, yarasalarda ve kanatlı türlerde fazla tespit edildiği bildirilmiştir. Yarasalar, Coronavirus gen havuzu olarak iyi bir doğal rezervuardır. Betakoronavirus ve alfakoronavirus için daha çok yarasalar rezervuar iken, avian türler deltakoronavirus ve gammakorona virüsler için rezervuardır. Yarasa ve kanatlı türlerin çeşitlerinin fazla olması ve yaygın olması koronavirüslere yayılma ve kendini değiştirme imkânı vermiştir (13).



Şekil 1. SARS-CoV-2 ve yapısal proteinleri (Vectorstock'dan alınarak düzenlenmiştir).

Şekil-1: Koronavirüsün şematik yapısı

Koronavirüs (CoV) yapısal olarak Spike (S) proteini, Transmembran (M) proteini, Zarf (E) proteini ve Nükleokapsid (N) proteini olmak üzere dört proteinden oluşur. Birçok koronavirüs çeşidi enfeksiyöz bir virion meydana getirmek için bu dört proteine de gereksinim duyar fakat bazı türlerde de farklı yapıda proteinlere rastlanabilmektedir (14).

S proteini koronavirüse taç yapısını kazandıran sivri uçları meydana getirir. Glikoprotein yapıdadır. S1 ve S2 olmak üzere iki alt birimi vardır. Virüsün hedef hücreyi enfekte edebilmesi için S proteininin hücre üzerindeki hedef reseptörlere bağlanması gerekmektedir (15).

M proteini öteki yapısal proteinlerden sayıca daha fazla miktardadır. Viral zarfın şekli diğer yapısal proteinlerle M proteininin etkileşimi ile meydana gelmektedir. Bir diğer tarafta M proteini, E proteiniyle birlikte virüs benzeri partiküllerin (VLPs) salınımında rol almaktadır.

E proteini koronavirüs genomunun kodladığı en küçük yapısal proteindir. Virüsün konak hücreye girişi ile çok miktarda E proteini oluşmaktadır. Bu proteinin küçük bir bölümü viral zarfa dahil edilmekte, büyük bir bölümü de hücre içi membran trafiğine katılmaktadır. Virionların salınımını membranın içinde kalan kısmı sağlar (16).

N proteini koronavirüs familyasının bütün üyelerinde benzer yapıdadır ve nükleokapsidi meydana getiren ana proteindir. Konağın viral enfeksiyona hücresel cevabında ve viral RNA'nın replikasyonunda rol oynar (15, 17).

2.1.2. Epidemiyoloji

2019'da aralık ayı içerisinde Çin'in Wuhan adlı kasabasında ortaya çıkan salgına bir Coronavirus çeşidinin sebep olduğu bulunmuş, 2019-nCoV olarak bildirilen bu virüsün ismi daha sonra uluslararası virüs taksonomi komitesi tarafından SARS-CoV-2 şeklinde isimlendirilmiştir (18). İlk olgu 1 Aralık 2019'da kayda geçmiştir (19). İnsanlarda eskiden hastalık yaratmayan bu etken 2020 Ocak ayında yeni koronavirüs (nCoV) diye tanımlanmıştır. WHO tarafından bu virüsün meydana getirdiği hastalığın adı ise covid-19 şeklinde ilan edilmiştir.

2.1.3. Bulaş Yolları

SARS-CoV-2 virüsünün ilk olarak Çin hayvan pazarında ortaya çıkması sonucu hayvandan bulaş olasılığı üstünde durulmuştur. Fakat damlacık yolu ile insandan insana bulaştığı kabul edilmiştir. SARS-CoV-2 partiküllerinin havada üç saate kadar kalabildiği iddia edilmiştir (20).

Covid-19 enfeksiyonu bulunan bir kişiden yayılma riski birçok etkene bağlıdır. Bu etkenler: maruziyetin çeşidi, maruziyetin süresi, engelleyici önlemlerin kullanımı ve olası kişisel faktörlerdir (örn: Solunum salgılarındaki virüs miktarı). Sekonder enfeksiyonların büyük bir bölümüne kişisel koruyucu ekipman (maske, gözlük, siperlik) kullanılmadan ev halkı temasları esnasında rastlanmıştır (21).

2.1.4. Klinik Seyir

Koronavirüs: asemptomatik hastalıktan, pnömoni ve ARDS tablosuna kadar ilerleyen geniş bir spektrumdadır. Hastalığın şiddeti klinik olarak: hafif, orta, ciddi ve kritik şeklinde sıralanabilir (22).

Covid-19 virüsün bulaştığı hastalar ortalama 47-56 yaşındadır ve bu gurubun yaklaşık yarısını erkekler meydana getirmektedir. Ortalama inkübasyon süresi yaklaşık 4 gündür ve hastalığa yakalananların hemen hemen %98'inde 11,5 gün içinde bulgular ortaya çıkmaktadır (23). Başlangıçta en çok oluşan bulgular öksürük, ateş ve halsizlik iken daha az sayıda hastada gastrointestinal sistem bulguları ile karşılaşmıştır (22).

Dünya genelinde çok sayıda kişiye yayılan bu hastalığın, özellikle yaşlı hastalar ile bilinen diyabet, hipertansiyon ve obezitesi ($VKİ > 40$) olan hastalarda daha fazla komplikasyon, morbidite ve mortaliteye sebep olduğu görülmektedir (22). Aynı olay daha evvel SARS ve MERS virüslerinde de meydana gelmiş, diyabeti olan kişilerde ve yaşlılarda daha yüksek bir hastaneye yatış oranına ve ölüm oranının fazla olmasına sebep olmuştur. Yapılan araştırmalarda bilhassa ek hastalığı olan yaşlı hastalarda daha şiddetli hastalık görüldüğü ve daha fazla yoğun bakım yatışı meydana geldiği tespit edilmiştir (24).

2.1.5. Laboratuvar Bulguları

Covid-19 tanılı kişiler ile yapılan araştırmalar sonucunda bazı laboratuvar değerlerinin kötü prognoz veya mortalite ile alakalı olduğu tespit edilmiştir. Hastaneye yatırılan Covid-19'lu bireyler incelendiğinde bazı laboratuvar bulgularına sıklıkla rastlanılmaktadır. Bu laboratuvar bulguları; aminotransaminaz yüksekliği, laktat dehidrojenaz yüksekliği, lenfosit sayısının dūřüklüęü ve artmış enfeksiyöz parametrelerdir (örn. C-reaktif protein, eritrosit sedimantasyon hızı ve Ferritin). Lenfopeni kötü prognozu ile en fazla gösteren laboratuvar bulgusudur (23).

SARS- CoV-2'li hastalarda akciğerlere çok miktarda nötrofilin göç etmesi, dolaşan nötrofil sayısının fazlalığı ve lenfosit sayısının dūřüklüęü oldukça aşıkardır. Bundan dolayı "nötrofil-lenfosit oranı (NLO) covid-19'un gidişatını belirlemede mühim bir parametre durumundadır. Nötrofil-lenfosit oranının yükselmesi çoęu araştırmada kötü prognozla bağdaştırılmıştır (25).

Koronavirüs hastalığının trombofili ile bağlantısının olabileceği varsayılmaktadır. D-dimer düzeylerinin yüksek olmasının, ölüm oranının artmasıyla ve kötü prognoz ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (26). Vefat eden bireylerde d-dimer, fibrin yıkım ürünleri ve protrombin zamanı (PT) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTT) yüksekliği tespit edilmiştir. Yüksek mortalitenin dissemine intravasküler koagölasyon ve koagölopati ile bağlantılı olduğu gözükmemektedir.

Yüksek serum ferritin ve laktat dehidrojenaz (LDH) düzeyleri kötü prognozun diğer bir belirteçidir. şiddetli gidişat gösteren koronavirüs hastalarında sekonder hemofagositik lenfositik sendrom(sHLH) ve sitokin fırtınasından dolayı artmış ferritin düzeyleri izlenmiştir.

Artmış troponin I düzeyleri kalp hasarını ortaya koyan bir parametredir ve kritik hastalarda mortalite belirteci olarak düşünülebilir (27).

Enfeksiyöz parametrelerden C-reaktif protein (CRP) ve prokalsitonin düzeylerinin yüksek olması da hastanın covid-19'u şiddetli geçirdiğini ve prognozunu kötü olduğunu göstermektedir. Çin'de bakılan 140 hastadan oluşan bir araştırmada, başvuru esnasında bireylerin %5,7'sinde prokalsitonin yüksekliği ve %65'inde CRP yüksekliği tespit edilmiştir. İki parametre de şiddetli sebat eden covid-19'lu bireylerde daha fazla saptanmıştır (28).

2.1.6. Radyolojik Bulguları

Boğaz sürüntüsünden elde edilen materyalin gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) testi ile bakılması koronavirüs tanısı için altın standarttır. RT-PCR'nin duyarlılığı hastalığın ilk zamanlarında %71 olarak tespit edilmiştir. Fakat buna rağmen akciğer grafisinin ve BT'nin hastalığın tanı, izlem ve evrelemesinde önemli bir görevi vardır (29).

Koronavirüs hastalığı için görüntüleme en çok faydalanılan radyolojik tetkikler akciğer grafisi ve toraks BT'dir. Toraks ultrasonografisinden de bazı birimlerde tanı ve takip için faydalanılmıştır.

Akciğer grafisinin tanı değeri, akciğer tutulumunun ortaya çıkarılmasında %30–60 bandında seyretmektedir (30). Duyarlılığı düşük olması sebebiyle akciğer grafisinin anormal olmaması SARS- CoV-2 pnömonisini ekarte ettirmez. Bunun sebebi bilhassa hastalığın ilk evresinde akciğerde oluşan buzlu cam görünümünün sınırlı bir şekilde olması ve akciğer grafisinde görülemeyebilmesidir (31). Akciğer grafisinin BT'den daha fazla tercih edilebildiği hasta grubu çocuk ve genç yaş grubundaki bireylerdir. Akciğer grafisinde çoğunlukla periferik yerleşen, bilateral, alt ve orta bölgeleri kapsayan, düzensiz sınırlara sahip nonhomojen opasite artışları görülür.

Bilgisayarlı tomografi kontrastsız ve yüksek çözünürlüklü ince kesit şeklinde çekilmelidir. Tipik BT görüntüleri yoğun bakım hastalarında multilober ve subsegmental konsolidasyon şeklindeyken, yoğun bakım ihtiyacı olmayan bireylerde buzlu cam opasiteleri ve subsegmental konsolidasyon tipik görüntülerdir. Vakaların büyük bir kısmında bilateral tutulum mevcuttur (32). En sık radyolojik bulgunun buzlu cam opasiteleri olduğu ve 919 hastanın %88'inde tespit edilmesi yayınlanan bir meta-analizde karşımıza çıkmıştır (33).

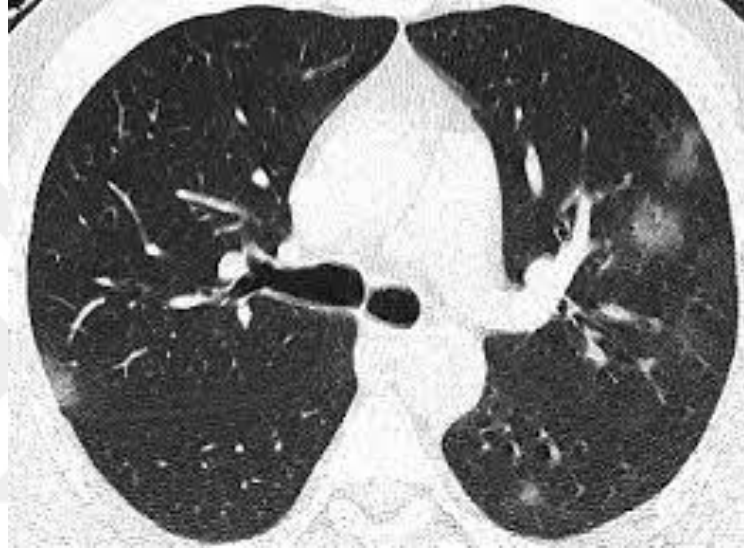
Covid-19 pnömonisinin BT'de gözlemlenen tipik bulguları (34):

1. Buzlu cam görünümü
2. Konsolidasyon
3. Retiküler Patern
4. Arnavut Kaldırımı (Crazy Paving) Görünümü
5. Hava Bronkogramı
6. Havayolu Değişiklikleri

7. Nodüller

Atipik Bulgular:

1. Lenfadenopati
2. Kaviteasyon
3. Plevral efüzyon
4. Perikardial efüzyon



Şekil-2: Buzlu cam opasiteleri (35)

2.1.7. Covid-19 Tanısı

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) tekniği sayesinde viral RNA'nın tespit edilmesi koronavirüs için kabul edilen güncel altın standart tanı metodudur.

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığının koronavirüs ile alakalı yayınladığı ayrıntılı bir tanı ve tedavi kılavuzu bulunmaktadır. Bu kılavuza göre, alt veya üst solunum yolu örnekleri tanıya ulaşmak için RT-PCR ile çalışılmaktadır. Alt solunum yollarından bronkoskopi veya trakeal aspirat ile materyal alınamadığı zamanlarda, üst solunum yollarından nazofaringeal yıkama ile veya orofaringeal ve nazal sürüntü ile materyal alınmalıdır. RT-PCR yöntemi altın standart tanı metodudur fakat buna rağmen duyarlılığı %50-62 bandında değişmektedir (36).

Olası vakayı düşündüren ve enfeksiyonu işaret eden semptomları ağırlaştırarak sebat eden hastalardan bakılan ilk RT-PCR testinin üst solunum yolu numunesiyle elde edilmesi ve testin negatif olarak sonuçlanması; koronavirüs şüphesini ekarte ettirmez. 1014 hasta ile Çin’de bir araştırma yapılmıştır. 1014 hastanın 601’inin (%59) RT-PCR testleri pozitif, 888’inin (%88) toraks tomografileri pozitif olarak bulunmuştur. Bireylerde PCR testi ile karşılaştırıldığında BT görüntüleri değerlendirilerek BT’nin duyarlılığı %97 şeklinde sonuçlanmıştır. 413 hastanın 308’inde toraks tomografisinde tipik görüntülerle karşılaşılmasına rağmen PCR testi negatif gelmiştir. İlk aşamada BT görüntülemeye Covid-19 mevcut olup PCR testi negatif gelen hastaların 15’inde, arka arkaya bakılan PCR testlerinde pozitifleşme tespit edilmiştir (37).

2.1.8. Covid-19 Tedavisi

SARS- CoV-2’nin toplumda yayılmamasını sağlayacak en etkili önlemler sosyal mesafe, maske, el hijyeni ve karantinedir. Ek olarak daha yaygın hale gelmesini önleyebilmek için erken tarama, tanı, tedavi ve izolasyon şarttır. SARS- CoV-2’li bir hastanın tanısı, izolasyonu ve klinikte bakımının yapılması sırasında uygulanması gereken önlemler dahil olmak üzere özenli bir şekilde enfeksiyon kontrolü yapmak gibi önleyici stratejiler planlanmalıdır (38).

Tedavi etmenin ve virüsün yayılmasını engellemenin dışında hızlı bir biçimde aşı çalışmaları da yapılmıştır (39). 2020 senesinin sonlarında 13 tanesi Faz 3 klinik araştırmalarda olan 60’tan fazla aşı klinik denemelere girmiştir. mRNA aşular (Moderna, Pfizer-BioNTech), rekombinant adenovirüs vektörlü aşular (Johnson Pharm, AstraZeneca, Gamaleya, Cansino) ve inaktive aşular (Sinovac, Sinopharm) en hızlı gelişmelere sahip olan dikkat çeken aşılardır (40).

2.2. Programlı Hücre Ölümü

Hücre ölümleri, yapısal olarak ele alındığında üç gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar günümüze kadar geçen süreçte, apoptoz (tip I), otofaji (tip II) ve nekroz (tip III ya da programsız hücre ölümü) şeklinde tanımlanmaktaydı. Apoptoz ve otofaji programlı hücre yıkımı olarak nitelendirilirken, nekroz ise programsız bir hücre yıkım biçimi olarak nitelendirilmiştir. Daha farklı hücre yıkım mekanizmalarının bulunması ile günümüz zamanında bu tanımlar gelişmektedir. Programlı hücre yıkımlarının en önemli örneği apoptoz olarak bilinmektedir. Biyolojik sürecin başlamasının ardından hücre içinde çeşitli moleküler mekanizmaların aktive olmasıyla karakterizedir. Apoptoz esnasında, hücre proinflatuvar ajanların çevreye salınımı engellemek amacıyla komponentlerine ayrışır. Nekroz daha evvel programsız hücre yıkım çeşidi olarak

bilinmekte ve birçok düzenleyici araçlar ile gerçekleştiği saptanmıştır. Şu an birçok değişik özellikte programlı hücre tipleri mevcuttur. Oksitoz, nekrotoz, ve ferroptoz bu programlı hücre ölüm şekilleri olarak sayılabilir.

2.2.1. Hücre Ölüm Mekanizmaları

2.2.1.1. Apoptoz

Apoptoz kaspaz-bağımlı bir programlı hücre yıkım çeşididir (41). Nükleer fragmentasyon, kromatin kondenzasyonu, sitoplazma azalması ve apoptotik cisim meydana gelmesi apoptozun karakteristik yapısal özellikleri olarak bilinmektedir (42).

Apoptozun meydana gelmesinde, hücre içindeki ve dışındaki uyarılar yardımcı olmaktadır (43). Hücre dışı etken olarak hücre yıkımını tetikleyen sitokinlerden Fas Ligand (FasL) sayılabilir. Fas reseptörü tarafından fark edilen sinyal, death-inducing signaling complex (DISC) oluşumuna neden olup; DISC ve Fas-associated Death Domain (FADD) ile birlikte kaspaz-8'i olaya eklemektedir (44). Kaspaz-8'in aktive hale gelmesi, kaspaz-3, -6 ve -7'nin de aktive olmasına sebep olarak apoptozun devamını sağlamaktadır (41). Hücre içi uyarılar ile başlayan apoptoz oluşumunun, mitokondri dışı membran geçirgenliğine bağlı olduğu gösterilmiştir. Öte taraftan pro ve anti-apoptotik BCL-2 protein aile üyeleri arasında bir etkileşim mevcuttur ve bu etkileşimin membran üstündeki por oluşumunu kontrol etmesi sebebiyle bu süreçte kritik bir konuma sahiptir (45).

2.2.1.2. Otofaji

Otofaji, bir hücrenin işlevini yitiren gereksiz hücresel yapılarını ve makromolekülleri parçaladığı ve geri dönüştürdüğü hücre yıkım biçimi şeklinde tanımlanmaktadır. Otofaji üç ana şekilde meydana gelmektedir. Bunlar mikrootofaji, makrootofaji ve şaperon aracılı otofajidir. Otofaji parçalanacak olan makromolekül ya da hücre bileşeninin bir vezikül içerisine geçmesiyle meydana gelir. Sonrasında bu vezikülün lizozom ile birleşmesi ile bileşen parçalanmaktadır. Ardından, parçalanmış yapıların kullanımı meydana gelmektedir (46). Otofajinin; açlık adaptasyonu, hücre içi protein ve organel temizlenmesi, gelişme, antiaging, hücre yıkımı, mikroorganizmaların ortadan kaldırılması ve tümör baskılanması gibi çok önemli bir fizyolojik ve patofizyolojik rollerinin bulunduğu birçok çalışmaya dahil edilmiştir.

2.2.1.3. Nekroz

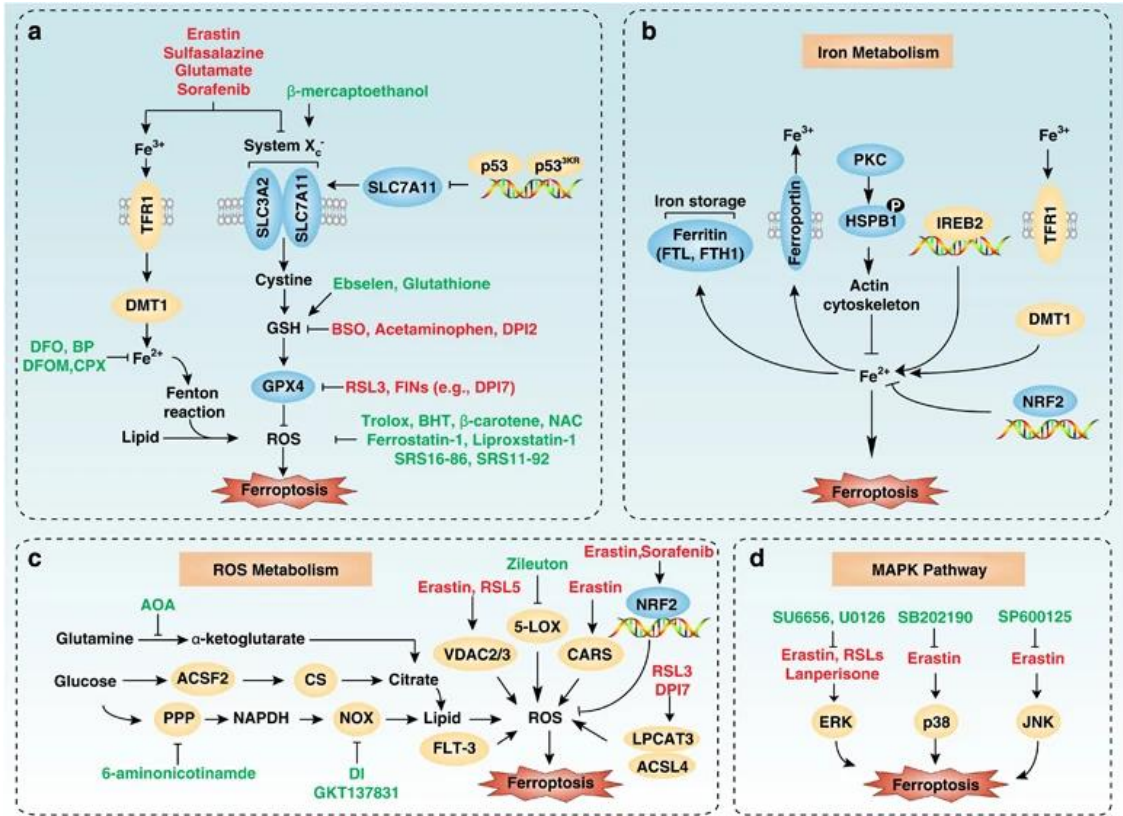
Nekroz çoğunlukla, ekstrem pH, yüksek sıcaklık veya hücre membranının yırtılmasına sebebiyet veren fiziksel durumlar gibi fizyokimyasal olaylar ile meydana gelmektedir. Nekroz tip III hücre ölümüdür ve tip I ve II gibi diğer mekanizmaların eşlik ettiği ölüm biçimlerine göre daha hızlı olarak ilerlemektedir (47). Nekrozda hücrelerde otofaji ve apoptozda gözlemlenen morfolojik olaylar görülemezken, bazen yüksek oksidatif stres ve hücre haciminde artış görülebilmektedir. Katepsinler gibi proteazlar nekrozun hücre parçalanmasında görev almaktayken, kaspaz aktivasyonu ise apoptoz belirteci olarak karşımıza çıkmaktadır (48).

Biyokimyasal seviyede nekrozu daha iyi anlamak için yapılan araştırmalarda, regülasyon içeren özellikleri mevcut olan çok sayıda nekrotik ölüm biçimi ile karşılaşılmıştır. Bu hücre yıkımı çeşitleri otofajik ya da apoptotik faktörlere sahip olmamasına karşın nekrotik nitelikler sergilemektedir (47, 49, 50).

Nekroptoz regüle nekroza en güzel örnek olarak bilinmektedir. Apoptoz yapma yetisi hasarlı olan hücrelerin, dışarıdaki apoptoz uyaranları ile karşılaşıldığında meydana gelen bir hücre yıkım çeşididir (50-53).

2.3. Ferroptozis

Ferroptoz, son yıllarda daha çok araştırılan bir düzenlenmiş hücre ölümü biçimidir (54). Fosfolipid glutasyon peroksidaz (GPX4) ile alakalı yollar tarafından kontrol edilen ferroptoz demir-bağımlı bir oksidatif hücre yıkım çeşidi olarak bilinmektedir (55-58). Ferroptoz olayı ile meydana gelen hücre yıkımında, otofajide gözlemlenen sitoplazmik vakuolizasyon, apoptozda gözlemlenen kromatin kondenzasyonu ve nekroziste gözlemlenen hidrojen peroksit ile indüklenen morfolojik nitelikler ile karşılaşılmamaktadır. Ayrıca, ferroptoz yolu ile oluşan hücre yıkımı, apoptoz ve otofaji inhibitörleri ile engellenmemektedir (55, 59). Mitokondride gözlenen küçülme ve membran yoğunluğu ferroptoz esnasında gözlemlenen en önemli morfolojik nitelikler arasındadır (55). Ferroptozun biyokimyasal işaretçileri, hücre içi serbest demir miktarındaki yükseliş ve lipid peroksidasyonudur (55, 60).



Şekil-3: Temel ferroptoz mekanizmaları

(a) Temel ferroptoz regülatörleri ve mekanizmaları. Erastin sınıfı indükleyiciler (sulfasalazin, glutamat, sorafenib) sistem Xc- 'yi inhibe eder ve hücre içi Fe³⁺ miktarı daha yoğun bir hale gelmektedir. BP, DFO, CPX ve DFOM gibi demir şelatörleri aksi takdirde fenton reaksiyonlarına neden olabilecek hücre içi Fe²⁺ yoğunluğunu azaltmaktadır. Glutasyon ve ebselen GPX4'ün aktive ederken RSL3 sınıfı indükleyiciler GPX4'ün inhibisyonuna sebep olmaktadır. Trolox, β-karoten, NAC, liproxstatin-1 ve ferrostatin-1 gibi inhibitörler ile ROS azaltılmaz ise ferroptoz oluşmaktadır.

(b) Demir metabolizması. Hücre içi Fe²⁺ yoğunluğunun şekildeki mekanizmalar ile artmasıyla ferroptoz meydana gelmektedir.

(c) ROS metabolizması. ROS'un hücre içi artması ferroptozu sebep olmaktadır. RSL3 sınıfı indükleyiciler ACSL4 ve LPCAT3 üzerinden, erastin CARS üzerinden ROS oluşumunu arttırmaktadır. Yine erastin ve RSL5, VDAC2/3 üzerinden ROS'u oluşturmaktadır. Zileuton 5-LOX'u inhibisyonuna sebep olarak ve Nrf2 hedefinde bulunan genlerin transkripsiyonunu revize ederek ferroptozu önlemektedir.

(d) MAPK yolağı. ERK, p38 ve JNK'yı, erastin ve RSL sınıfı indükleyicilerin aktive etmesiyle ferroptozu arttırmaktadır (54).

Ferroptozun demir şelatörleri ve lipofilik antioksidanlar vasıtası ile inhibe olduğu bilinmektedir. Bu spesifik modülatör profilinin, yalnızca oksidatif olmayan hücre yıkım modelleri içinde değil, bununla birlikte oksidatif hücre yıkım modelleri arasında da ferroptozu özel olduğu gözlenmiştir (60). Bu özgünlüğün sebebi, ROS meydana gelirken diğer oksidatif hücre yıkımlarından değişik olmasından ve reaktif demirin lokalizasyonu ve kaynağından kaynaklanmaktadır. Çoğunlukla ROS'un meydana gelmesini sağlayan etkenler, mitokondriyal ROS oluşumuna neden olurken ferroptoz esnasında bu olay mitokondriden bağımsız ve lipidlerde lokalize şekilde gözlemlenmektedir (55, 61). Ferroptotik olmayan ROS'u aktive eden etkenler, lipofilik antioksidanlar aracılığı ile baskılanamaz fakat hidrofilik antioksidanlar aracılığı ile baskılanabilmektedir (55). Ferroptozun diğer oksidatif hücre yıkımlarından farklı olmasının sebebi lipofilik antioksidanlar ve demir şelatörleri ile baskılanabiliyor olmasıdır ve ferroptozu ifade eden en önemli özelliğidir (62).

2.3.1. Ferroptoz İndükleyicileri

Ferroptoz, ilk zamanlarda erastin isminde bir molekül aracılığı ile indüklenebilen bir hücre ölüm şekli olarak bilinmektedir. Erastin molekülü keşfedildikten sonra yapılan sentetik lethal kimyasal taraması sonucu RSL3, DPI10, DPI7 gibi aynı mekanizmaya sahip diğer küçük moleküller keşfedilerek diğer ferroptoz indükleyicileri bulunmuştur (63-65). Voltaj-bağımlı anyon kanallarının bu indükleyicilerin amaçlarından biri olarak gösterilmesi, bu moleküller hakkında yapılan proteomik araştırmalar neticesinde oluşmuştur (60). Sonrasında da bu moleküllerin ayrıca hücre içi glutasyon ve sistin mekanizmasını farklı aşamalarda hedef aldığı farkedilmiştir. Bu indükleyiciler sınıf I ve sınıf II olmak üzere iki grupta incelenmiştir. Sınıf I glutasyonun meydana gelişini azaltır ve sınıf II GPX4 fonksiyonuna engel olur.

Hücre içi sistein seviyesinin ve bir sistein metaboliti olan glutasyon düzeyinin birincil regülatörü olan sistin glutamat antiporteri, sınıf I ya da erastin sınıfı ferroptoz uyarıcılarının sistem Xc- 'yi inhibe etmesine neden olmaktadır. Glutamat ile uyarılan eksitotoksitede, artmış ekstrasellüler glutamat seviyesi sistem Xc- 'nin inhibisyonuna, glutasyon oranında azalmaya ve ferroptozu has lipofilik bir antioksidan olan ferrostatin ile önlenebilen demir bağımlı oksidatif hücre yıkımına neden olmaktadır (55). Buna ilave olarak, hücrelerin erastin aracılı ferroptozdan kurtulduğu, fazla miktarda glutamat bulunan ortamda β -merkaptotanol gibi indirgen maddelerin varlığında sistinin sisteine indirgenmesi neticesinde görülmüştür. Ayrıca erastin aracılı ferroptozda bu indüklenme biçiminin ayırıcı özelliği, hücre içindeki glutasyon seviyesindeki azalmanın meydana gelmesidir (58). Bütün bu veriler ile sistem Xc- 'nin ferroptozun meydana gelmesinde

önemli bir katkısının olduğu ve erastinin bu yolağa etki ettiği gözler önüne serilmiştir. Sorafenib ve sulfasalazin maddeleri de sistem Xc- üstündeki etkileri dikkate alınarak erastin grubu indükleyiciler şeklinde nitelendirilmiştir (55, 58).

Bununla birlikte RSL3 grubu şeklinde nitelendirilen sınıf II indükleyiciler ise fosfolipid glutasyon peroksidazın (GPX4) inhibe olmasına neden olmaktadır. RSL3, GPX4'e bağlanırken, diğer RSL3 grubu indükleyiciler enzimatik tepkimeyi önlemektedir (66). RSL3 grubu indükleyicilerin alfa-kloroamid yapılarına sahip olması, GPX4 gibi katalitik selenosistein rezidüleri ihtiva eden yüksek reaktiviteye sahip selenoproteinlere bağlanmalarını sağladığı düşünülmektedir (67).

2.3.2. Ferroptoz İnhibitörleri

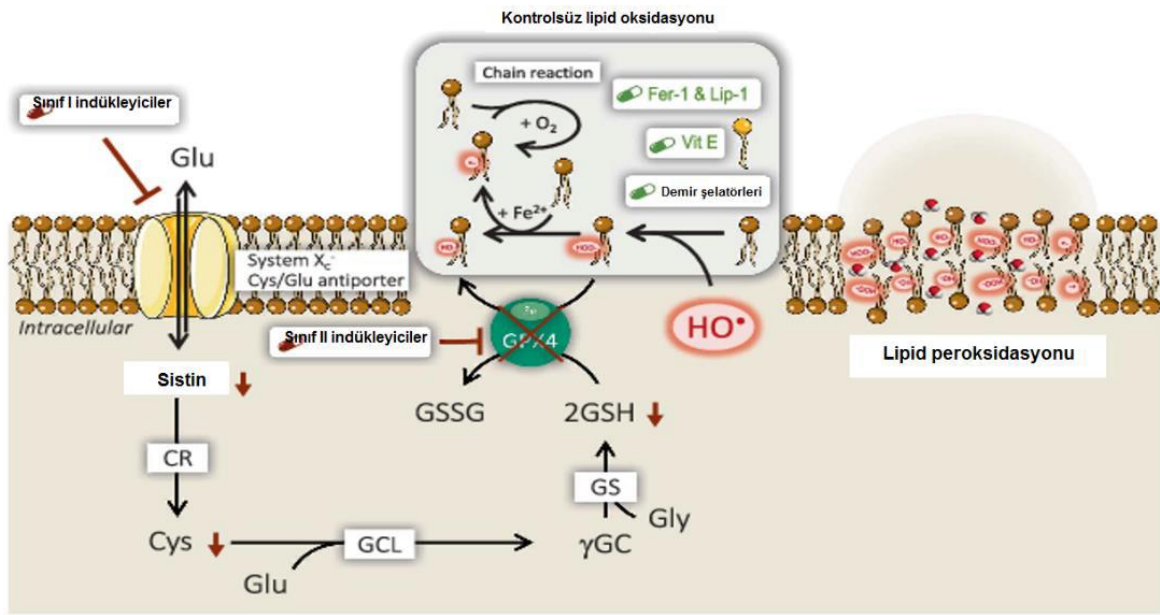
Lipid peroksidasyonuna sebebiyet veren substratlar olan çoklu doymamış yağ açıl fosfolipidlerin (PUFA-PL) azalması, demir şelatörleri, lipofilik antioksidanlar ve lipid peroksidasyon inhibitörleri, ferroptoz inhibitörleri olarak bilinmektedir. Lipid peroksidasyonunun, ferroptotik hücre yıkımındaki rolüne bakıldığında enzimatik ve non-enzimatik olan lipid peroksidasyonunun engellenmesinin ferroptoz inhibisyonunda önemli bir yeri vardır. Lipid peroksidasyon inhibitörleri iki grupta sınıflandırılmaktadır, bunlar radikal tutucu antioksidanlar (RTA) ve lipooksijenaz inhibitörleridir (68).

Lipooksijenaz inhibitörleri işleyiş biçimlerine bakılarak beş ana grupta incelenmektedir. Bunlar; aktif bölge demir atomunu inaktif şekilde tutan redoks inhibitörleri, aktif bölge demirinin ortadan kaldırılmasıyla enzimi inaktive eden demir şelatörleri, substratın bağlanmasını önleyen, aktif bölgeyi kaplayan rekabetçi inhibitörler, enzimi geri dönüşümsüz şekilde inaktive eden substratlar ve substrat bağlama cebinden farklı bir yere bağlanarak enzim aktivitesini değiştiren allosterik inhibitörlerdir (69).

Bununla birlikte zincir kıran antioksidanlar şeklinde de tanımlanan radikal tutucu antioksidanlar (RTA), otooksidasyon zincir reaksiyonunu engellemektedir. Uzun süre petrol türevi ürünlerde otooksidasyonu engellemek için faydalanan bu antioksidanların lipidler gibi biyolojik hidrokarbonlar üstündeki koruyucu tesiri yeni bulunmuştur. Ferroptozun etkili bir biçimde inhibisyonunu yapabilen bileşikler tanımlamak adına yapılan yüksek çıktılı tarama (high-throughput screening) çalışmaları neticesinde, liproksatinler ve ferrostatinler keşfedilmiştir. Bunlar RTA sınıfı inhibitörler başlığında sayılmaktadır. İlk zamanlarda işleyişleri konusunda çok az şey

bilinmesine karşın Ferrostatin-1'in (Fer-1) bir RTA olarak tesir ettiği ispat edilmiştir (57). Birinci kuşak ferrostatin şeklinde bilinen Fer-1'in, HT1080 hücrelerinde erastin ve RSL3 kökenli ferroptozu inhibe ettiği bilinmektedir (55). Liprostatin-1'in (Lip-1), GPX4^{-/-} hücrelerde ROS birikimini ve hücre yıkımını önlediği keşfedilmiştir. Buna ilaveten, ferroptoz indükleyiciler (örn: RSL3 ve erastin) ile uyarılan ferroptozu engellediği in vitro ortamda kanıtlanmıştır (70).

Desferrioksiamin (DFO) gibi demir şelatörlerinin, serbest haldeki Fe²⁺'ye bağlanarak fenton tepkimelerinin meydana gelmesini engellediği bulunmuştur.



Şekil-4: Ferroptozun indüklenme mekanizması

Sınıf I indükleyiciler SLC3A2 ve SLC7A11'den oluşan sistem Xc-'nin inhibisyonunu yaparak, glutatyon oluşması için lazım olan sisteine indirgenecek sistinin hücre içine girişini önlemektedir.

Sınıf II ferroptoz indükleyiciler, glutatyonu kofaktör olarak kullanan GPX4'ün çalışmasını engelleyerek organik hidroperoksitler, hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerin detoksifikasyonunu inhibe etmektedir. GPX4 aktivitesinin engellenmesi ile membrandaki lipidlerin kontrolsüz peroksidasyonu ferroptotik hücre yıkımına neden olmaktadır.

Vit E, Lip-1, Fer-1 ve demir şelatörleri peroksidasyonu önlemektedir (71).

2.3.3. Ferroptozun Moleküler Temelleri

2.3.3.1. Lipid peroksidasyonu

GPX4'ün ferroptoz aracılı hücre ölümünün önemli morfolojik hadisesi olan lipid peroksidasyonu üzerinde önemli bir rolü bulunmaktadır. GPX4, lipid hidroperoksitlerinin detoksifikasyonu yönünde temel bir konumdadır. RSL3 sınıfı indükleyicilerin direkt hedefi ve erastin sınıfı indükleyicilerin indirekt hedefi GPX4'tür (55, 66, 72).

Lipid peroksidasyon döngüsü doymamış yağlardan hidrojenin kopmasıyla meydana gelen lipid radikallerini ihtiva etmektedir (73). Bu lipid radikalleri peroksida olup lipid peroksil radikallerini meydana getirerek diğer doymamış yağlardan hidrojenin kopmasına sebebiyet vermektedir. Bu döngünün diğerlerine oranla daha stabil olan son ürünleri bile hala son derece reaktif durumdadır. Sonrasında lipid peroksitler, lipid oksidatif radikalleri ve hidroksi radikallerine parçalanabilmektedir (74).

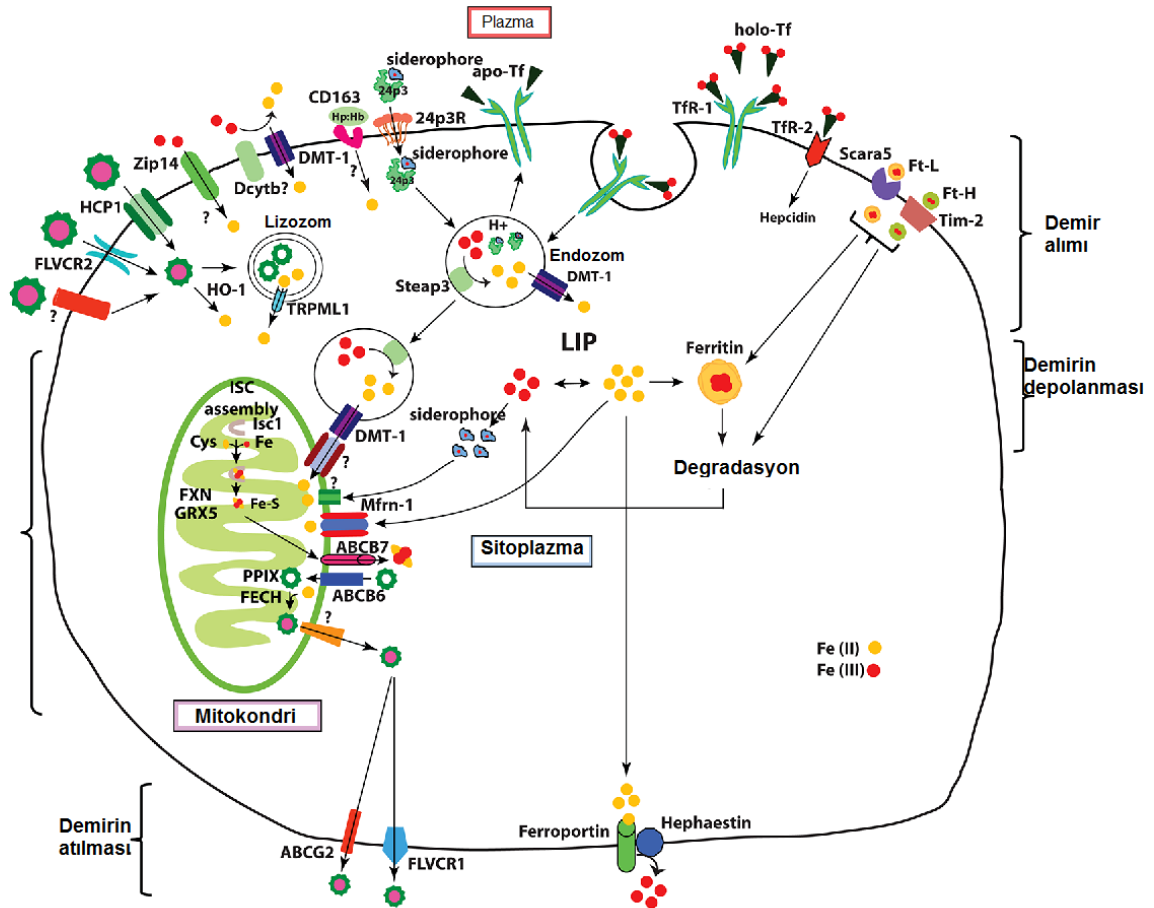
Lipid peroksidasyonu non-enzimatik ya da enzim bağımlı olarak meydana gelebilmektedir (75). Ferroptoz esnasında lipid peroksidasyonun nasıl bir şekilde oluştuğu henüz net olarak bilinmemektedir. Lipofilik antioksidanlar, lipid radikal ara ürünlerini baskılayarak ve lipid peroksitlerini direkt olarak hidrojen atom transferi ile lipid alkollerine indirgeyerek ferroptotik hücre ölümünü engellemektedir. Bu antioksidanların, GPX4'ün lipid peroksitlerini su ve lipid alkollerine çevirerek detoksifiye etmelerine benzeyen bir işleyişe sahip oldukları kanıtlanmıştır (57).

2.3.3.2. Demir Metabolizması

Ferroptotik hücre ölümü demire ihtiyaç duyan bir hücre yıkım biçimi olarak bilinmektedir. Vücutta demir düzeyleri, diyetten alınan demir alımı ile sabit kalmaktadır. Ancak vücutta biriken demirin vücut dışına atılması için spesifik bir fizyolojik mekanizma mevcut değildir. Bu sebeple yaş ilerledikçe belli başlı bölgelerde demir birikimi oluşmaktadır. Biriken fazla demir, Fenton reaksiyonuna sebebiyet vererek ROS oluşumu meydana gelmekte ve ferroptotik hücre ölümünde rolü bulunmaktadır (76).

Vücutta dolaşımdaki transferrine bağlı biçimde bulunan ferrik demir (Fe³⁺), transferrin reseptörü 1 (TFR1) yolu ile hücrelere alınmaktadır. TFR1 bir membran proteindir. Endozomda

bulunan Fe³⁺, STEAP3'ün ferriredüktaz etkinliği ile ferröz demir (Fe²⁺) haline gelmektedir. Ferröz demir sonrasında, SLC11A2 şeklinde de isimlendirilen DMT1 vasıtasıyla, endozomun içinden sitoplazmadaki bir kararsız demir havuzuna (LIP) aktarılmaktadır. Artan demir, ferritin ağır zinciri 1 (FTH1) ve ferritin hafif zinciri (FTL) bulunan bir demir depolama proteini kompleksi olan ferritin içerisinde depo edilmektedir. Demirin dışarı atılması, SLC11A3 şeklinde de isimlendirilen bir demir akış pompası olan ferroportin vasıtası ile meydana gelmektedir (Şekil 2-7) (77).



Şekil-5: Hüresel demir metabolizması

Ras mutasyonlu ferroptozaya duyarlı hücreler, ferroptozaya dirençli hücreler ile kıyaslandığında; TFR1'in arttığı, FTL ve FTH1 ekspresyonunun azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, artan demir alımının ve düşük demir depolamasının ferroptoz esnasında fazla miktarda demir birikmesine yardım edebileceğini gözler önüne sermektedir. Demir şelatörleri (örneğin, siklopiroks olamin,, desferrioksamin mesilat, deferoxamin) aracılığı ile fazla miktardaki demir birikiminin azaltılması, erastin ile indüklenen ferroptozun inhibisyonunu gerçekleştirmektedir (55).

IREB2 demir metabolizmasının en önemli transkripsiyon faktörü konumunda bulunmaktadır. IREB2'nin RNA interferans metodu ile baskılanması neticesinde demir metabolizmasıyla alakalı gen ekspresyonunun büyük miktarda arttığı ve bu olayın erastin kaynaklı ferroptozu engellediği kanıtlanmıştır. Bu veriler, hücrede ferroptozun uyarılması için demirin alınması ve yararlanılmasına gereksinim duyulduğunu ispat etmektedir (65).

2.4. Covid-19 ve Çoklu Organ Hasarı

Solunum yolu enfeksiyonu ve ardından gelen pulmoner bozulma, covid-19'un ana özellikleri olsa da şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında sıklıkla akciğer dışı belirtiler de ortaya çıkmaktadır (78). Kalbin, büyük ölçüde bu organda bulunan ACE2 reseptörü yoluyla SARS-CoV-2 girişinden en çok etkilenen ikinci ana organ olduğu kanıtlanmıştır (79). SARS-CoV-2, perisitler yoluyla miyokard hücrelerini istila ederek makrofaj infiltrasyonunun artmasına, kapiller endotel hücre işlev bozukluğuna ve ACE2 ekspresyonunun azalmasına neden olur (80). Şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonunda göğüs ağrısı, nefes darlığı, senkop ve taşikardi gibi tipik semptomlarla artan bir kardiyovasküler komplikasyon oluşumu tespit edilmiştir (19, 81, 82). Covid-19'un kardiyak tutulumunun hafif yükselmiş kardiyak biyobelirteçlerden akut kardiyojenik şok ve ani kardiyak ölüme kadar değişken olduğu bilinmektedir. SARS-CoV-2 enfeksiyonunun neden olduğu trombüs, akut koroner sendromlara neden olabilir (83). Kardiyojenik şokun eşlik ettiği veya etmediği sistolik sağ ve sol ventrikül fonksiyon bozukluğu (84) ve miyoperikardit (85) de yaygındır ve bu durum miyokardın SARS-CoV-2 tarafından istila edilmesinden veya artmış bir inflamatuvar reaksiyondan (81) kaynaklanabildiği bilinmektedir. Ek olarak, pulmoner disfonksiyondan kaynaklanan hipoksik durumla birlikte inflamatuvar sitokinlerin sürekli amplifikasyonu, ciddi miyokardiyal hasara ve yetmezliğe yol açabilen koroner kan akışında düşüşe neden olabilir (81). Bazı çalışmalar sonucunda, miyokard hasarının yaygın olduğu ve covid-19 hastalarının ölümcül sonuçlarıyla büyük ölçüde ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Semptom başlangıcından veya hastaneye yatış anından itibaren daha yüksek bir mortalite riski yarattığı ortaya konulmuştur (81, 86, 87). Ayrıca, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun kardiyak doku hasarına ve fonksiyon bozukluğuna sebep olduğu gösterildiğinden, önceden var olan kardiyovasküler hastalıklar da kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (23, 81, 88).

Solunum yolu ve kardiyovasküler komplikasyonlara ek olarak, böbrekler de SARS-CoV-2'nin en yaygın hedefleri arasında sayılmaktadır. Her ne kadar SARS-CoV-2 viral yük oranı en fazla miktarda solunum yollarında tespit edilse de farklı böbrek kompartmanlarında, özellikle böbrek parankiminde, glomerüler epitelyal, endotelial ve tübüler hücrelerde de virüs saptanmıştır

(89). Klinik olarak, en sık görülen böbrek hasarı akut böbrek hasarıdır, ancak diğer klinik çalışmalar reversibl böbrek hasarı ve akut tübüler nekrozu da içermektedir. Akut böbrek hasarının patogenezi çok faktörlü olarak kabul edilir. SARS-CoV-2'nin böbreğin farklı alanlarında yaygın olarak bulunan ACE2 yoluyla doğrudan etkilerinin yanı sıra (90), ikincil böbrek hasarı ile ilişkili birçok dolaylı etkisi de bulunmaktadır (91). Eskiden var olan kronik böbrek hastalığı, özellikle böbrek nakli yapılmış olan yaşlı hastalarda ciddi covid-19 ve mortalite riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir (91-93).

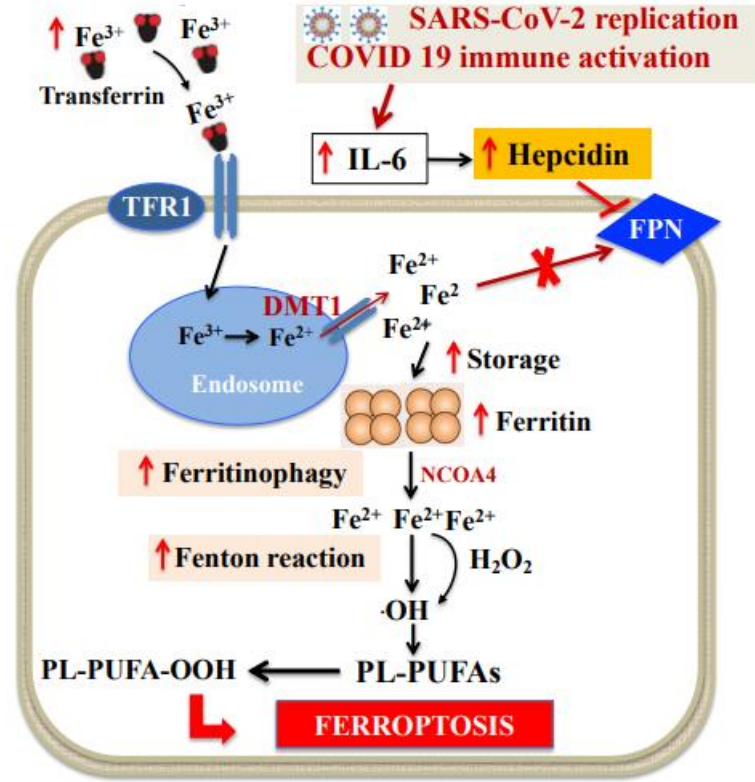
SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan hastalarda farklı derecelerde karaciğer hasarı da bildirilmiştir. Genel olarak, özellikle şiddetli covid-19'lu hastalarda ve hastaneye yatırılan covid-19 hastalarının %2-11'inde, altta yatan bir kronik karaciğer hastalığı saptanmıştır (94, 95). Karaciğer hücrelerinde ortalama bir ACE2 reseptörü ekspresyonu bulunsa da (96), karaciğer hasarının, SARS-CoV-2 enfeksiyonu için verilen ilaçlardan mı kaynaklandığı, yoksa multifaktöriyel mi olduğu açık değildir. Bununla birlikte, safra kanallarındaki kolanjiyositlerin, viral bağlanmayı ve uzun süreli hepatik morbidite potansiyeli olan şiddetli covid-19 sonrası kolanjiyopati gelişimini destekleyebilecek çok sayıda ACE2 reseptörü (97) eksprese ettiği bildirilmiştir (98). Karaciğerdeki sitotoksik T hücrelerine ve Kupffer hücrelerine yönelik immün tutulum veya kollateral hasar tarafından aktive edilen viral enfeksiyonun immün yanıtları, karaciğer hücrelerinde viral varlığa bakılmaksızın karaciğer hasarını indükleyebilmektedir (99). Bu bağlamda, sürekli nötrofil sayısı ve nötrofil/lenfosit oranı, koagülasyon ve uzun süreli inflamasyona bağlı fibrinoliz yolu aktivasyonu gibi spesifik olmayan inflamatuvar göstergeler, yüksek ferritin konsantrasyonları hepatik hücrelerin tutulumunu göstermektedir (100). Bununla birlikte, karaciğer fonksiyonuna zarar vermeden aminotransferazların ve sitokinlerin artması, sistemik viral enfeksiyonlar sırasında genel immün stimülasyon veya inflamasyonu düşündürmektedir (101). Ayrıca kronik karaciğer hastalığı olan hastalarda covid-19, akut karaciğer yetmezliğini hızlandırabilmektedir (102).

Sonuç olarak, gözlemsel çalışmalar sonucunda, SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında organ hasarlarının ölümle ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (86, 88, 92, 102, 103). Genel olarak, organ hasarlarının insidansı, hayatta kalmayan hastalarda hayatta kalanlara göre önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (104-106) ve covid-19'dan bağımsız bir mortalite için risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır (86, 92).

2.5. Covid-19 ve Ferroptoz

2.5.1. Covid-19 Enfeksiyonunda Demir Metabolizması

Demir metabolizmasının düzensizliği (yani, artan plazma ferritin seviyeleri ve azalan demir ve transferrin doygunluk seviyeleri) ve anemi ile covid-19 hastalarında sıklıkla karşılaşılmaktadır ve çoklu organ hastalıklarında ana rol oynadığı öne sürülmektedir (105, 107-109). Özellikle, büyük bir meta-analizde doğrulanmış olan gözlemsel çalışmalardan elde edilen veriler, özellikle yaşlı hastalarda hemoglobinin seviyesinin düştüğünü ve hastalığın eşlik eden hastalıkları ve şiddeti ile ters orantılı olduğunu göstermiştir (108, 110, 111). Ek olarak, covid-19'lu hastalarda hayatta kalmayanlarla hayatta kalanlar arasında farklı ferritin seviyeleri rapor edilmiştir, bu da mortalitenin viral kaynaklı hiperinflamasyondan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir (111, 112). İlginç bir şekilde, covid-19 hastalarının değişmez özellikleri olan anemi, hipoferremi ve hiperferritinemi, inflamasyon anemisine benzemektedir (113). Bu bağlamda yapılan çalışmalarda covid-19'un, bu sendromların temel özelliklerinden biri olan sitokin salınımı ve hiperferritinemi ile karakterize edilen daha geniş hiperinflamatuvar sendrom spektrumunun bir parçası olabileceği öne sürülmüştür. Sistemik immün aktivasyonun, hücrel demir tutulmasına ve diyetle demir emiliminin azalmasına neden olduğu iyi bilinmektedir (114). Mikrobiyal veya viral moleküllere yanıt olarak, çoklu inflamatuvar sitokinler ve özellikle interlökin-6 (IL-6) bağışıklık sistemi hücreleri tarafından salınır ve sistemik demir metabolizmasını değiştirmektedir (115). Viral replikasyon için, gelişmiş hücrel metabolizma ve konakçı hücrelerde optimal demir seviyeleri gereklidir (116). IL-6, demir homeostazının ana düzenleyicisi olan karaciğer hepsidin ekspresyonunu doğrudan regüle eder, bu da demirin ferroportin (FPN) yoluyla dışa aktarılmasını engellemektedir ve böylelikle hücrel demir sekestrasyonuna neden olmaktadır (115). IL-6 ayrıca demir birikimi ile membran transferrin reseptörü 1 (TFR1)'i uyarmaktadır (117). Ayrıca, IL-6 hücre içi ferritini artırır, böylece hücrelerden demir akışının azalmasına katkıda bulunmaktadır (112). Son kanıtlar, bu senaryonun, sitokin fırtınası ve özellikle IL-6 olarak adlandırılan sitokinlerde bir artış ile karakterize edilen ciddi SARS-CoV-2 enfeksiyonu için de geçerli olabileceğini göstermektedir (118, 119). Bu bağlamda klinik çalışmalar, covid-19 hastalarında ferritinden başka dolaşımdaki hepsidin düzeylerinin de arttığını ve hastalık şiddeti ile ilişkili olduğunu göstermektedir (120, 121). Bu nedenle, covid-19'daki hücrel demir tutulması (108, 110) fenton reaksiyonu yoluyla fosfolipid LOOH'yi hidroksil radikallerine dönüştüren kararsız demir havuzundaki artışı tetiklemektedir ve ferroptozu teşvik etmektedir (55) (Şekil 6).



Şekil-6: Covid-19 enfeksiyonunda hücre içi demir metabolizmasının düzensizliği

Covid-19 tarafından indüklenen sistemik bağışıklık aktivasyonu, demir kaçakçılığında derin değişikliklere yol açarak hücrel demir tutulmasına neden olmaktadır. TF'ye bağlı Fe³⁺, hücrelere membran TFR1 yoluyla giren ve prostat 3'ün altı transmembran epitelyal antijeninin ferreredüktaz aktivitesinin Fe³⁺'yü Fe²⁺'ya indirmediği endozomlarda lokalize olan dolaşımdaki demirin başlıca şeklidir. Son olarak, iki değerlikli metal iyon taşıyıcısı (DMT) 1, endozomlardan Fe²⁺ salarak kararsız demir havuzunun konsantrasyonunu artırırken, fazla demir ferritinde depolanmaktadır. SARS-CoV-2 ile ilişkili sitokinlerdeki ve özellikle IL-6'daki büyük artış, hepsidini uyarır ve bu da ferroportini bloke ederek hücre içi demir ve ferritin artışına neden olmaktadır. Bu demir tutulması fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalini (·OH) indükleyen kararsız demir havuzundaki artışı tetikler ve nihayetinde fosfolipid çoklu doymamış yağ asidi (PL-PUFA) peroksidasyonu yoluyla ferroptozu teşvik etmektedir.

2.5.2. Covid-19 Enfeksiyonunda GSH-GPX4 Ekseni

GSH, hücreleri oksidatif hasardan korumak için serbest radikallere bağlanabilen bir tripeptittir. Glisin, sistein ve glutamattan oluşmaktadır. GPX4, aktif bölgeleri selenosisteinden oluşan selenoprotein ailesine ait olan bir enzimdir. GPX4, GSH'yi GSSG'ye dönüştüren ve

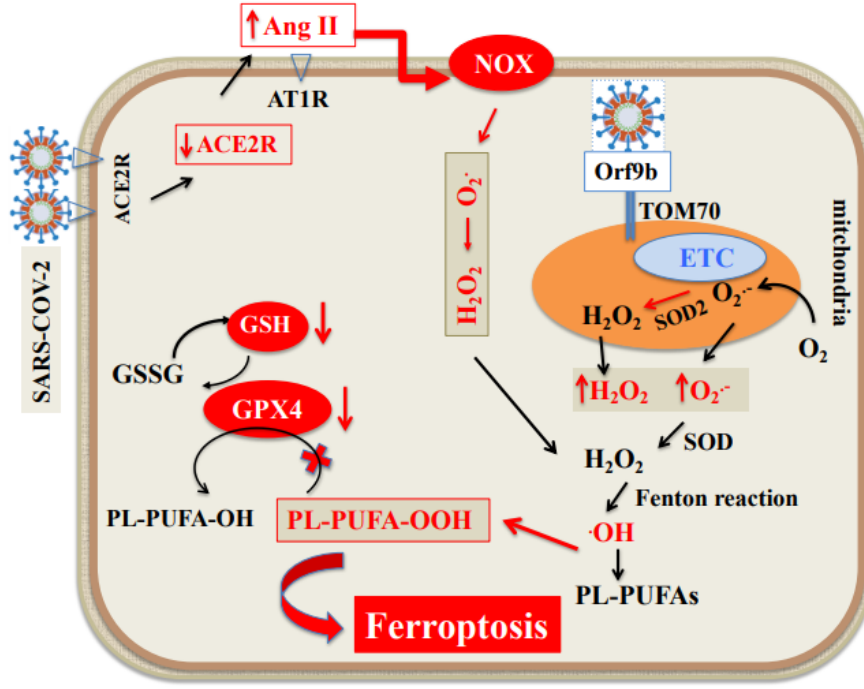
sitotoksik LOOH'yi alkole dönüştüren önemli bir antioksidan enzim konumundadır. Ferroptoz esnasında, redoks-aktif demir birikimi GSH havuzunu tüketmektedir, daha sonra GPX4'ün aktivitesini baskılamaktadır ve başarısız bir antioksidan tepkiye yol açmaktadır (66, 122). GSH eksikliğinin, başta HIV/AIDS olmak üzere birçok viral enfeksiyonda ve son olarak da covid-19'da önemli bir rol oynadığı zaten bildirilmiştir (123, 124). Yapılan bir çalışmada, azalmış GSH'nin artan ROS ve daha şiddetli semptomlarla ilişkili olduğu gösterilirken, daha yüksek GSH seviyelerine sahip hastalarda ROS'ta bir azalma ve covid-19'da daha hızlı bir iyileşmenin olduğu gösterilmiştir (124). Bu sonuçlar, GSH takviyesinin covid-19'da yararlı bir yardımcı tedavi olabileceğini göstermektedir (125). Ayrıca başka bir çalışmada, SARS-CoV-2'nin, aynı insan selenoproteinini eksprese eden African Green Monkey türünün böbrek hücrelerinde belirli bir selenoprotein setinin ekspresyonu üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Özellikle, SARS-CoV-2'nin ferroptozla ilişkili GPX4, DNA senteziyle ilişkili tioredoksin redüktaz ve endoplazmik retikulumda yerleşik selenoproteinlerin mRNA ekspresyonunu önemli ölçüde baskıladığı bulunmuştur (126). Özetle, şimdiye kadarki mevcut veriler, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun, her ikisi de ferroptozu kolaylaştıran azalmış GSH havuzu ve GPX4 gen ekspresyonunun aşağı regülasyonu ile karakterize olduğunu göstermektedir (55).

2.5.3. SARS-CoV-2 Enfeksiyonu Sırasında ROS Üretimi

ROS, ferroptozda anahtar sinyaller olarak kabul edilen redoks reaksiyonlarından kaynaklanan oksidanlardır (127). Aerobik metabolizmanın bir yan ürünü olarak süperoksit anyonu, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve tek oksijen içermektedir. ROS'un ana hücrel kaynakları, hücre zarındaki mitokondriyal metabolizma ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidazlarıdır (NOX). Süperoksit anyonu, mitokondrinin iç zarı üzerindeki elektron taşıma zinciri tarafından üretilir ve üretim oranı, mitokondriyal iç transmembran potansiyeline dayanmaktadır. Daha sonra, mitokondriyal süperoksit dismutaz (SOD) tarafından üretilen süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit, mitokondriden sitozole yayılmaktadır (128, 129). Göç eden süperoksit anyonu, SOD tarafından daha fazla hidrojen peroksit'e dönüştürülür ve sonunda fenton reaksiyonu ile hidroksil radikaline dönüştürülerek PUFA'lardan LOOH oluşumunu tetiklemektedir (128-130). Genel olarak virüsler, başarılı bir şekilde çoğalabilmeleri için mitokondriyal dinamiklerini net bir şekilde değiştirebilmektedir (131). Mitokondriyal DNA hasarı, mitokondriyal iç zar potansiyelinin modifikasyonu, mitokondri sayısı ve dağılımındaki değişiklikler, antioksidan savunmayı bozma ve oksidatif stres artışı gibi farklı mekanizmalar suçlanabilmektedir (131, 132). Mitokondrinin konak hücrelerinin SARS-CoV-2 virüsünden korumak için kullandığı mekanizmalar yakın zamanda bildirilmiş olsa da, virüsün mitokondri ROS oluşumunu nasıl etkilediğine dair mevcut bilgiler

sınırlıdır (133). Virüsün yardımcı proteinlerinden biri (134) olan open reading frame-9b (Orf9b)'nin hücre mitokondri morfolojisini değiştirdiğini, mitokondriyal antiviral sinyal sistemine müdahale ettiğini, interferon (IFN) üretimini baskıladığını ve ROS tarafından aktive edilen hücresel bir makine olan otofajiyi artırdığını ortaya konulmuştur. SARS-CoV-2 Orf9b ve mitokondriyal dış zar translokasyonu (TOM70) arasında yüksek güvenilirlikli bir protein-protein etkileşiminin varlığı tespit edilmiştir (135). Daha sonra SARS-CoV-2 Orf9b'nin mitokondri zarının yüzeyinde TOM70'e bağlandığı ve tip I IFN yanıtını inhibe ettiği gösterilmiştir (136). Ek olarak, mitokondriye kalsiyum transferini azaltarak TOM70'in modifiye edilmiş aktivitesinin mitokondriyal solunumu azalttığı, hücre biyoenerjisini etkilediği ve ROS oluşumunu indüklediği kanıtlanmıştır (137) (Şekil 7).

Birçok çalışma, solunum yolu virüslerinin neden olduğu aşırı ROS üretiminin kısmen NOX (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz) aktivitesinin aracılık ettiğini göstermiştir (138). NOX2'nin covid-19'da aktive olduğu ve ciddi klinik sonuçlar ve trombotik olaylarla bağlantılı olduğu da gösterilmektedir (139). Mevcut kanıtlar, anjiyotensin 1 reseptörüne (AT1R) bağlanan anjiyotensin II'nin (Ang II) NOX aktivasyonunu kontrol ettiğini göstermektedir (140, 141). Bu nedenle, SARS-CoV-2'nin neden olduğu ACE2 reseptör sayısının azalması, dolaşımdaki Ang II'yi ve bunun NOX'i tetikleyerek covid-19 şiddetine göre oksidatif strese ve iltihaplanmaya neden olan anjiyotensin 1 reseptörüne (AT1R) bağlanmasını artırmaktadır (142) (Şekil 7). SARS-CoV-2 enfeksiyonu, hücre içi demir tutulumu, yetersiz GSH-GPX4 eksenini ve aşırı ROS üretimi ile karakterizedir. Tüm koşullar fenton reaksiyonu yoluyla LOOH ve hidroksil radikali oluşumunu ve nihayetinde ferroptozu teşvik etmektedir (55). Bu nedenle, bu kanıta ve şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonundaki (143) ve diğer multi sistem hastalıklarındaki (144) kanıtlara dayanarak, ferroptozisin organ hasarının önemli bir nedeni olabileceği düşünülmektedir.



Şekil-7: SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında ROS oluşturma şeması (145)

ROS'un ana hücresel kaynakları, hücre zarındaki mitokondri ve NOX'dir. O₂ mitokondrinin iç zarında ETC tarafından üretilir. Daha sonra mitokondriyal SOD2 tarafından üretilen O₂ ve H₂O₂ mitokondriden sitozole yayılabilir. Taşınan O₂, SOD tarafından daha fazla H₂O₂'ye dönüştürülür ve sonunda fenton reaksiyonu ile OH'ye dönüştürülerek PUFA'lardan LOOH oluşumunu tetikler. Ayrıca SARS-CoV-2'nin yardımcı proteinlerinden biri olan Orf9b, mitokondri zarının yüzeyinde TOM70'e bağlanarak ROS oluşumunu artırır. NOX'e gelince, SARS-CoV-2, ACE2 reseptörlerini azaltarak dolaşımdaki Ang II'yi ve bunun NOX'i tetikleyerek ROS oluşumunu artıran AT1R'ye bağlanmasını artırır (Şekil 7).

2.5.4. Potansiyel Terapötik Müdahaleler

Ferroptoz, farmakolojik olarak modüle edilebilen hücresel mekanizmalar tarafından kontrol edilen düzenlenmiş bir hücre ölümü olduğundan [106], birçok çalışma ferroptozu birçok farklı hastalıkta ve son zamanlarda da covid-19'da organ hasarını önlemek için yeni bir hedef olarak vurgulamıştır (68,122,143,146,147). Ancak şimdiye kadar, ferroptoz inhibisyonunun SARS-CoV-2'nin neden olduğu organ hasarını önlemede yardımcı olup olmayacağı henüz belirlenmemiştir. Bununla birlikte, lipid peroksidasyonunun hem SARS-CoV-2 enfeksiyonunda hem de ferroptozdaki anahtar rolünün giderek daha fazla kabul görmesi göz önüne alındığında (55,122), klinik ortamda lipid peroksidasyonunu önlemeye yönelik yaklaşımlar için güçlü bir potansiyel gerekeceği düşünülmüştür.

(68, 148). Potansiyel adaylar şu bileşikler olabilir: GPX4-GSH eksenini güçlendiren bileşikler; radikal tutucu antioksidan (RTA) aktivitesini indkleyen ve/veya lipoksijenazları (LOX'lar) ve ACSL4 aktivitesini inhibe eden bileşikler; hresel kararsız demir havuzunun tkenmesine neden olan bileşikler.

Son olarak, çoklu organ hasarı sıklıkla SARS-CoV-2 enfeksiyonunun alevlenmeleri sırasında ortaya çıkar (78) Son yıllarda birkaç çalışma, organ hasarını önlemek için farklı hastalıklarda ve muhtemelen covid-19'da yeni bir terapötik hedef olarak ferroptozu vurgulamıştır (8, 10). şimdiye kadar, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun neden olduğu organ hasarının tedavisinde ferroptoz inhibisyonunun yardımcı olup olmayacağı henüz belirlenmemiştir.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Kurul İzni

Bu çalışmanın Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 05.07.2021 tarihli, 13 nolu oturumda ve 18 sayılı, saat 13.30 kararı ile onayı alınmıştır. Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü tarafından 05.11.2021 tarih ve 21246 protokol numarası ile desteklenmiştir.

3.2. Çalışma grubunun oluşturulması

Bu çalışmadaki hasta grubu, 2019 ve 2021 senesi arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Covid Polikliniğine başvuran covid-19 hastalarından meydana gelmektedir. 30 adet pozitif, 28 adet şüpheli ve 30 adet kontrol grubu olmak üzere 3 grup oluşturuldu. Covid Pozitif grup PCR testi pozitif sonuçlanan hastalardan, Covid Şüpheli grup PCR testi negatif olarak sonuçlanan fakat Toraks BT görüntülemesinde covid bulguları mevcut olan hastalardan oluşmaktadır. Covid Negatif grup olarak adlandırılan kontrol grubuna ise ek hastalığı olmayan sağlıklı bireyler dahil edilmiştir.

3.3. Örneklerin Hazırlanması

Kan örnekleri Covid-19 Şüpheli, Pozitif ve Kontrol kanları olarak toplandı. Aldığımız kanların jelli (biyokimya tüpü) tüplere aktarılmasının ardından, kanlara 4000 rpm'de 10 dk santrifüj işlemi yapılarak serumları elde edildi. Elde edilen serumlar, GPX4, LOOH ve GSH-GSSG parametreleri çalışılmak üzere -80 oC'de muhafaza edildi.

3.4. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmamızda Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya AR-GE Laboratuvarındaki cihazlar kullanılmıştır.

- 1-Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)
- 2-Spektroflorometre (Thermo Fisher Scientific, Finland)
- 3- Derin dondurucu -80 oC (Thermo)
- 4- Vorteks (Nüve, NM 110 model, Türkiye)

- 5- Otomatik biyokimya analizörü (Aeroset, USA)
- 6-Mikroplate Washer (BIORAD, Fransa)
- 7-Mıcrı santfirüj (ISOLAB)
- 8-Etüv (Memmert, Germany)
- 9-1000, 100, 10 µl'lik pipet makinesi (Brand marka)
- 10-300 ve 50 µl'lik çoklu pipet makinesi (Brand marka)

3.5. Glutathione Peroxidase 4 Analizi

Human Glutathione Peroxidase 4 Bioassay Technology Laboratory (BT Lab) markalı bir kitle çalışılmıştır (Catalog no: E6887Hu).

Reaktif Hazırlama:

1. Bütün reaktifler kullanılmadan evvel oda sıcaklığında olmalıdır.
2. Standart 24ng/ml standart stok solüsyonu elde etmek için 120µl standardı (24 ng/ml) 120µl standart diluent ile dilüe edilmelidir. Dilüe edilmeden evvel hafif bir şekilde karıştırılarak standardın 15 dk oturmasına izin verilmelidir. Standart stok solüsyonunu (24ng/ml) 1: 2 standart seyreltici ile 12 ng/ml, 6 ng/ml, 3 ng/ml ve 1,5 ng/ml, 0,75 ng/ml solüsyonlar elde etmek için seri olarak dilüe ederek çift standart noktalar hazırlanmalıdır. Standart seyreltici, sıfır standart (0 ng/ml) şeklinde fonksiyon görmektedir. Artan diğer çözeltiler -20 ° C'de dondurularak saklanmalı ve sonrasında 30 gün içerisinde kullanılmalıdır.
3. 500 ml 1x yıkama tamponu oluşturmak için, 20 ml kadar yıkama tamponu konsantresi 25x damıtılmış ya da deiyonize suyla dilüe edilmelidir. Konsantrede kristaller meydana gelmişse kristaller komple çözülene dek yavaş yavaş karıştırılmalıdır.

Testin Prensibi

1. Bütün standart solüsyonları, reaktifler ve örnekler yönergelere bakarak düzenledik. Kullanmadan evvel bütün reaktifleri oda sıcaklığında muhafaza ettik. Tahlili de oda sıcaklığında yaptık.
2. Test için yeterli miktarda şerit tayin ettik. Şeritleri kullanmak amacıyla çerçevelere koyduk ve kullanılmayacağımız şeritleri 2-8 ° C'de muhafaza ettik.
3. Standart kuyucuğa 50 µl kadar standart ilave ettik. Standart kuyucuğa antikor eklemedik zira standart çözeltide biyotinlenmiş antikor mevcuttur.

4. Numune kuyucuklarına 40 µl kadar numune ilave edilmesinden sonra numune kuyucuklarına 10 µl kadar anti-GPX4 antikoru ilave ettik, ardından da numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP ilave ettik (boş kontrol kuyusu değildir). Güzelce birbirleriyle karıştırdık ve plakayı bir mühürleyici ile örttük. 37 ° C sıcaklıkla 60 dk kadar inkübe ettik.
5. Sızdırmazlık maddesini çıkardık ve plakayı beş kere yıkama tamponu aracılığıyla yıkadık. Kuyucukları her bir yıkama için 30 sn ile 60 sn süre aralığında en az 0,35 ml yıkama tamponu ile ıslattık. Otomatik yıkama için, bütün kuyuları aspire ettik ve beş kere yıkama tamponu ile yıkadık, sonrasında da kuyuları yıkama tamponu ile doldurduk. Plakayı bir kâğıt havlu ya da farklı bir emici materyal üstünde kuruttuk.
6. Her bir kuyucuğa 50 µl kadar substrat solüsyonu A ilave ettik ve sonrasında her bir kuyucuğa 50 µl kadar substrat solüsyonu B ekledik. Başka bir kapatıcı ile kaplanmış olan plağı karanlık ortamda 37 ° C sıcaklıkta on dk inkübe ettik.
7. Her bir kuyuya 50µl kadar durdurma solüsyonu ekledik. Ardından solüsyonun renginin maviliği anında sarıya dönmüştür.
8. Durdurma solüsyonunun ilave edilmesinin ardından on dk içerisinde 450 nm'ye ayarlanan bir mikrolpaka okuyucu vasıtasıyla her bir kuyucuğun optik yoğunluğunu (OD değeri) bir an önce belirledik.

3.6. Lipit Hidroperoksit Düzeyi Ölçümü (LOOH)

Lipit hidroperoksit düzeyi, modifiye FOX2 Assay metodu vasıtasıyla saptanmıştır. Bu metotta, reaksiyon ortamında bulunmakta olan ferröz iyonları lipid hidroperoksitler aracılığıyla ferrik iyonla oksitlenmektedirler. Meydana gelen ferrik iyon kromojenleri xlenol orange, ferrik iyonla renkli mega kompleks molekül oluşturmakta ve sonrasında oluşan bu renkli molekülün absorbansı 560 nm'de end point modda ölçülmektedir. Bu ölçüm esnasında kalibratör olarak taze hazırlanmış bir t-butylhydroperoxide standardı kullanılmıştır. Sonuçlar µmol/gr protein şeklinde ifade edilmiştir.

3.7. GSH/GSSG Analizi

Serum azaltılmış ve oksitlenmiş glutatyon seviyesi (GSH ve GSSG), üreticinin protokolüne göre BioVision'dan (Cat. K264, BioVision, Inc, CA, ABD) bir kit kullanılarak ölçülmüştür.

Glutasyon, dokularda ve hücrelerde oksidatif strese karşı hücrel savunmada kritik bir rol oynayan, hücre içi düşük moleküler ağırlıklı tiyoldür. DTNB-enzim döngülü glutasyon deney kiti veya Monoklorobiman bazlı deney kiti gibi ticari olarak temin edilebilen glutasyon saptama kitleri, indirgenmiş glutasyon (GSH; FW: 307) ve oksitlenmiş glutasyon (GSSG; FW: 612) arasında neredeyse hiç ayırım yapmaz. BioVision'ın Glutasyon Saptama Kiti, GSH, GSSG ve toplam glutasyonu ayrı ayrı saptamak için benzersiz, kullanışlı bir araç sağlar. Testte OPA, GSH (GSSG değil) ile reaksiyona girerek floresan üretir, böylece GSH spesifik olarak ölçülebilir. İndirgeyici bir ajanın eklenmesi GSSG'yi GSH'ye dönüştürür, böylece (GSH + GSSG) belirlenebilir. GSSG'yi spesifik olarak ölçmek için, GSH'yi çıkarmak için bir GSH Söndürücü eklenir ve OPA ile reaksiyonu önler (GSSG etkilenmezken). Daha sonra fazla söndürücüyü yok etmek ve GSSG'yi GSH'ye dönüştürmek için indirgeyici ajan eklenir. Böylece, GSSG spesifik olarak ölçülebilir. Kit, protein tiyol girişimini ortadan kaldırmak ve çözeltideki GSH ve GSSG'yi stabilize etmek için benzersiz bir prosedür ve tampon formülü sağlar.

Test Protokolü:

1. Standart Eğri: 990 µl Test Tamponuna 20 µg/µl standart GSH stokundan 10 µl ekledik. 0,2 µg/µl çalışan standart bir çözüm oluşturduk. 96 oyuklu bir plakaya 0, 2, 4, 6, 8, 10 ul ekledik. 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 µg/kuyucuk GSH üretir. Assay Buffer ile hacmi 90 µl'ye getirdik.
2. Testler için Numunelerin Hazırlanması: PCA'yı çökeltmek ve numuneleri nötralize etmek için 40 µl PCA korunmuş numuneye 20 µl buz gibi soğuk 6N KOH ekleyin (pH 5-10 olmalıdır). 5 dakika buz üzerinde tutun, ardından 40C'de 13.000 G'de 2 dakika döndürdük. 10 µl nötralize numuneleri 96 oyuklu bir plakaya aktardık. Okumaların standart eğri aralığında olduğundan emin olmak için numunelerinize birkaç dilüsyon (örneğin 1-10 µl) eklemeyi seçtik.
 - A. GSH'yi Saptamak İçin: Örnek hacmini Assay Buffer ile 90 µl'ye getirdik.
 - B. Total Glutasyonu Tespit Etmek için: Numune kuyusunu Assay Buffer ile 80 µl'ye getirdik. Örnek olmadan bir arka plan kontrolü yaptık. Kuyulara 10 µl İndirgeyici Ajan Karışımı ekleyin, iyice karıştırıp, GSSG'yi GSH'ye dönüştürmek için oda sıcaklığında 10 dakika inkübe ettik.
 - C. GSSG'yi Saptamak için: Örnek kuyu hacmini Assay Buffer ile 70 µl'ye getirdik. Örnek olmadan bir arka plan kontrolü yaptık. 10 µl GSH Quencher ekleyip, iyice karıştırıp ve GSH'yi söndürmek için oda sıcaklığında 10 dakika inkübe ettik. Daha sonra fazla GSH Söndürücüyü yok etmek ve GSSG'yi GSH'ye dönüştürmek için 10 µl İndirgeyici Ajan Karışımı ekledik.

3. Standart ve numune kuyularına 10 µl OPA Probu ekledik, iyice karıştırıp, oda sıcaklığında 40 dakika inkübe ettik. Ex/Em = 340/420 nm ile donatılmış bir floresan plaka okuyucusunda örnekleri ve standartları okuduk. Plaka okuyucu ayarlarını, glutasyon olmadan arka plan okuması yaklaşık 50-150 RFU olacak şekilde ayarlamamızı öneririz.
4. Örnek okumalardan arka plan okumasını çıkardık. RFU ve GSH standardının grafiğini çizdik. Her numunede glutasyon miktarını elde etmek için numune okumalarını standart eğriye uyguladık.

3.8. İstatistiksel Yöntem

Verilerin analizi esnasında SPSS 22,0 istatistik paket programı kullanılmıştır. Değerlendirme sonuçlarının tanımlayıcı istatistikleri; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum şeklinde verilmiştir. Grupların normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi aracılığıyla belirlenmiştir. Bağımsız 2 grup arasında sayısal değişkenler karşılaştırılırken; normal dağılım koşulu sağlanmadığında Mann Whitney U testinden yararlanılmıştır. Bağımsız 3 ya da daha fazla sayıda grup karşılaştırılırken normal dağılım koşulu olduğunda ANOVA testinden, oluşmadığında ise Kruskal Wallis testinden yararlanılmıştır. ANOVA testinde önemli farklılıkların görülmesi durumunda varyansların homojenliğine bakılmış; homojen olması halinde Tukey, homojen olmaması halinde Tamhane testi kullanılmıştır. Kruskal Wallis Testinde önemli farklılıkların görülmesi durumunda Post hoc karşılaştırmalar ise Bonferroni ile test edilmiştir. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanılmıştır. Korelasyon testi olarak normal dağılım şartı geldiğinde Pearson, normal dağılım şartı meydana gelmediğinde Spearman testinden faydalanılmıştır. Ferroptosis belirteçlerinin hastalığı öngörmede tanısal karar verdiriciliği ROC eğrisi analizi ile incelenmiştir. İstatistiki alfa anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ şeklinde kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya katılan 88 kişinin 50'si (%56,8) kadın, 38'i (%43,2) erkektir. Katılımcıların yaş ortalaması 51,2±16,7'dir (Min: 19-Maks: 88). Sigara kullanımı sorgulanan 73 kişinin 20'si (%27,4) sigara kullanmaktadır. Çalışmadaki katılımcıların 30'u (%34,1) covid PCR testi pozitif olan hasta; 28'i (%31,8) covid PCR testi negatif fakat toraks BT görüntülemesi covid ile uyumlu olan şüpheli hasta ve 30'u (%34,1) covid negatif olan sağlıklı bireylerden oluşmaktadır.

Katılımcıların tanımlayıcı özelliklerinin gruplar arası karşılaştırılması Tablo 1'de gösterilmiştir. Covid Pozitif grubundaki hastalar ile Covid Şüpheli grubundaki hastaların yaş ortalamaları; Covid Negatif grubundaki kişilerden istatistiki olarak önemli ölçüde yüksektir (sırasıyla p=0,027; p<0,001). Cinsiyet ve sigara kullanımı açısından gruplar karşılaştırıldığında önemli bir fark saptanmamıştır (p>0,05).

Tablo-1: Katılımcıların Tanımlayıcı Özelliklerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

	Covid Pozitif Grup	Covid Şüpheli Grup	Covid Negatif Grup	p
Yaş, Ort±SS Medyan (Min-Maks)	52,53±16,99 56 (19-88)	60,32±15,70 64,5 (20-80)	41,3±11,67 44,5 (20-60)	<0,001* P ¹⁻³ =0,027 P ²⁻³ =<0,001
Cinsiyet, n (%) Kadın Erkek	16 (53,3) 14 (46,7)	14 (50,0) 14 (50,0)	20 (66,7) 10 (33,3)	0,394**
Sigara, n (%) Evet Hayır	6 (20,0) 24 (80,0)	9 (32,1) 19 (67,9)	5 (33,3) 10 (66,7)	0,495**

* Kruskal Wallis Testi, **Ki-kare testi

Çalışmaya katılan 88 kişinin biyokimya, hemogram ve ferroptozis belirteci parametrelerinin değerleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo-2: Katılımcıların biyokimya, hemogram ve ferroptozis belirteci parametre değerleri

Parametre	Ort±SS	Medyan (Min-Maks)
Biyokimya		
Demir	43,05±35,93	33,5 (1-142)
Transferrin	205,19±56,69	199,5 (108-399)
Ferritin	245,11±357,48	136,65 (1,8-2664,7)
CRP	4,71±5,67	2,57 (0,05-22,8)
D-Dimer	1,14±2,01	0,40 (0,12-13,73)
Fibrinojen	402,15±168,16	338,75 (187-802)
AST	58,25±75,38	36,5 (12-503)
ALT	32,33±38,41	22 (9-334)
Albümin	4,03±0,44	4,10 (2,60-5,20)
LDH	317,68±202,90	257,50 (114-1427)
Hemogram		
WBC	7,48±3,41	6,93 (1,53-27,80)
WVF	0,98±0,02	0,98 (0,86-1,00)
NEU	5,12±3,32	4,49 (0,53-26,3)
LYM	1,64±0,92	1,51 (0,36-6,63)
MONO	0,54±0,23	0,51 (0,11-1,22)
EOS	0,10±0,15	0,05 (0-1,06)
BASO	0,02±0,02	0,01 (0-0,09)
PLT	254,97±85,08	242 (19,40-513)
Ferroptozis Belirteçleri		
GPX-4	2,38±1,49	1,96 (0,62-10,56)
LOOH (µmol/g)	2,27±0,97	2,34 (0,11-3,86)
REDUCED GSH (ng/mg)	39,54±15,11	39,55 (1,35-72,80)
GSSG	5,67±1,82	5,26 (1,83-11,11)
Total (GSH+GSSG)	45,21±14,08	44,27 (7,77-76,14)
GSH/GSSG	8,49±6,03	7,35 (0,21-39,55)

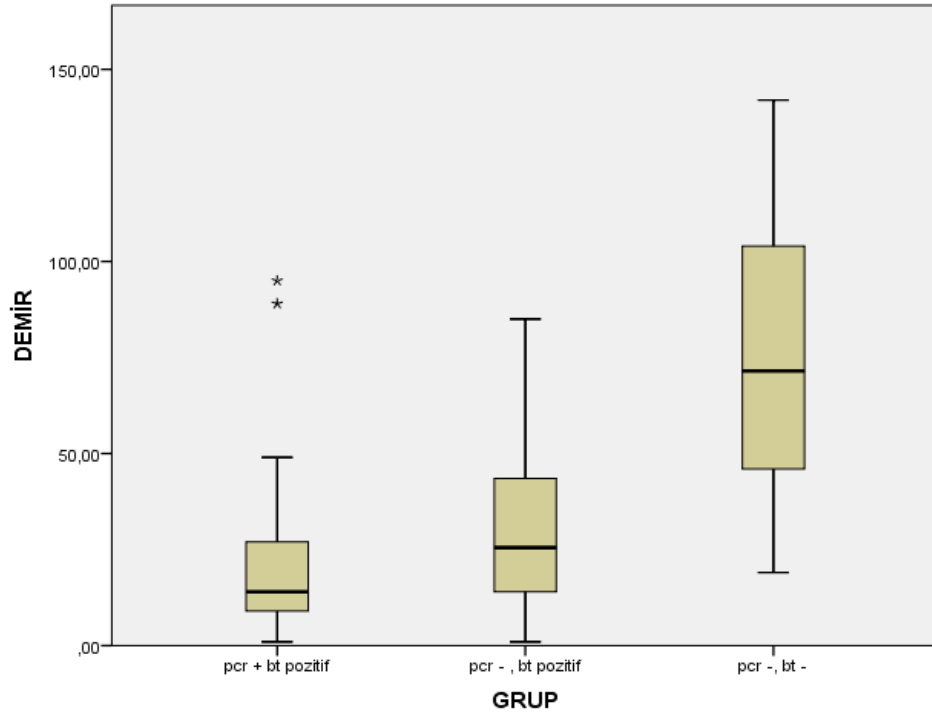
Araştırma grubunun biyokimyasal değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması Tablo 3'te gösterilmiştir. Covid Pozitif ile Covid Şüpheli grubundaki hastalarda demir, transferrin, albümin parametreleri Covid Negatif grubundaki kişilere göre istatistiksel olarak önemli düzeyde düşüktür; ferritin, CRP, D-dimer, fibrinojen, ALT ve LDH parametreleri önemli düzeyde yüksektir ($p<0,05$). AST değerleri Covid Negatif grubundaki kişilerde ölçülmemiş olup, diğer 2 grup arasında istatistiksel fark bulunamamıştır ($p=0,463$).

Tablo-3: Araştırma Grubunun Biyokimyasal Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

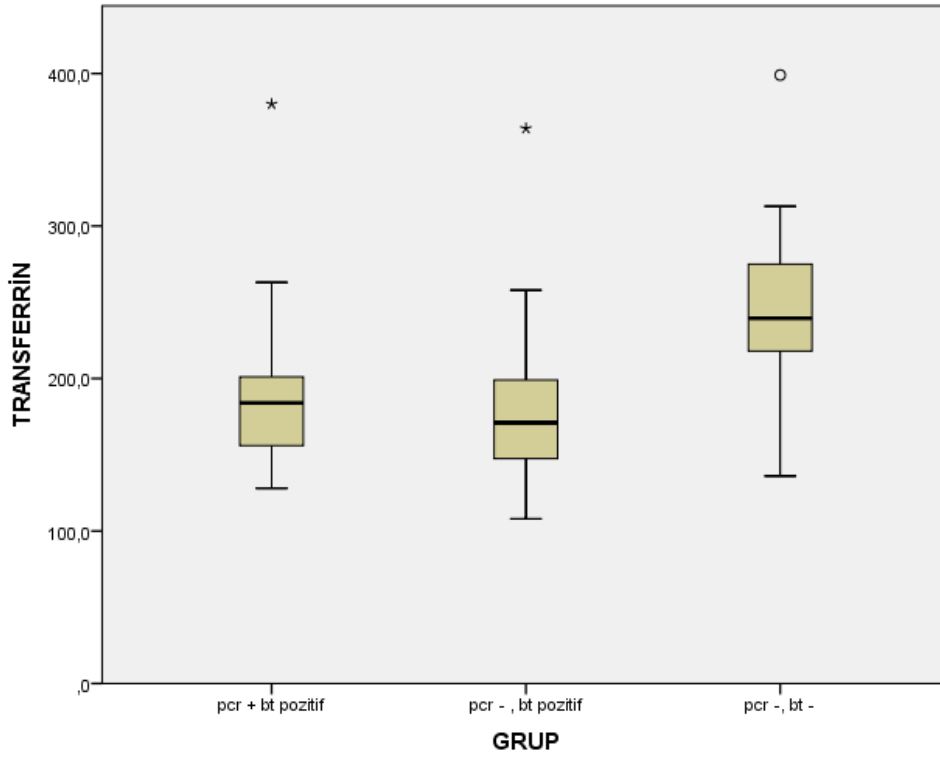
	Covid Pozitif Grup (n=30) Ort±SS Medyan (Min-Maks)	Covid Şüpheli Grup (n=28) Ort±SS Medyan (Min-Maks)	Covid Negatif Grup (n=30) Ort±SS Medyan (Min-Maks)	p
Demir	21,83±23,16 14 (1-95)	30,86±23,57 25,5 (1-85)	75,63±33,34 71,5 (19-142)	<0,001* P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
Transferrin	187,93±48,31 184 (128-380)	179,39±49,70 171 (108-364)	246,53±47,85 239,5 (136-399)	<0,001* P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
Ferritin	260,77±201,53 220,15 (11,7-795,5)	419,64±543,68 223,95 (2,6-2664,7)	66,56±70,13 31 (1,8-231)	<0,001* P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
CRP	7,51±5,54 6,57 (0,12-20,81)	6,19±6,26 3,71 (0,05-22,8)	0,52±0,89 0,29 (0,05-3,94)	<0,001* P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
D-Dimer	1,09±0,95 0,74 (0,25-4,08)	2,26±3,26 0,99 (0,19-13,73)	0,26±0,09 0,24 (0,12-0,42)	<0,001* P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
Fibrinojen	484,28±149,67 483,46 (228,6-746,53)	478,56±172,51 474 (207-802)	261,83±50,60 259 (187-361)	<0,001** P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
AST	51,93±45,37 41 (12-235)	68,32±105,05 32 (15-503)		0,463***
ALT	35,33±23,21 27 (9-96)	39,46±59,91 26 (9-334)	21,96±17,37 16,5 (9-78)	0,004* P ¹⁻³ =0,004 P ²⁻³ =0,043
Albümin	3,91±0,46 3,9 (2,6-4,7)	3,86±0,38 3,9 (2,9-4,6)	4,37±0,26 4,4 (3,9-5,2)	<0,001** P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
LDH	382,97±184,50 387 (167-1167)	361,85±248,44 302 (170-1427)	191,64±82,92 172 (114-554)	<0,001* P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001

* Kruskal Wallis Testi, **ANOVA testi, ***Mann-Whitney U testi

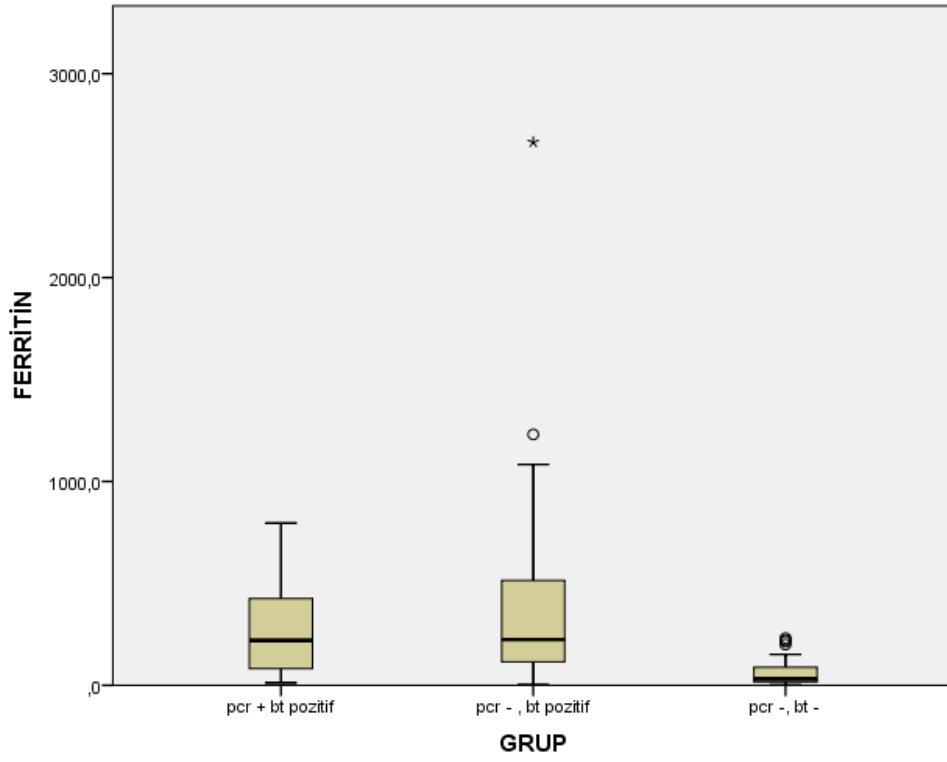
Araştırma grubunun biyokimyasal parametrelerinin grafiksel gösterimi Grafik 1-10 olarak sunulmuştur.



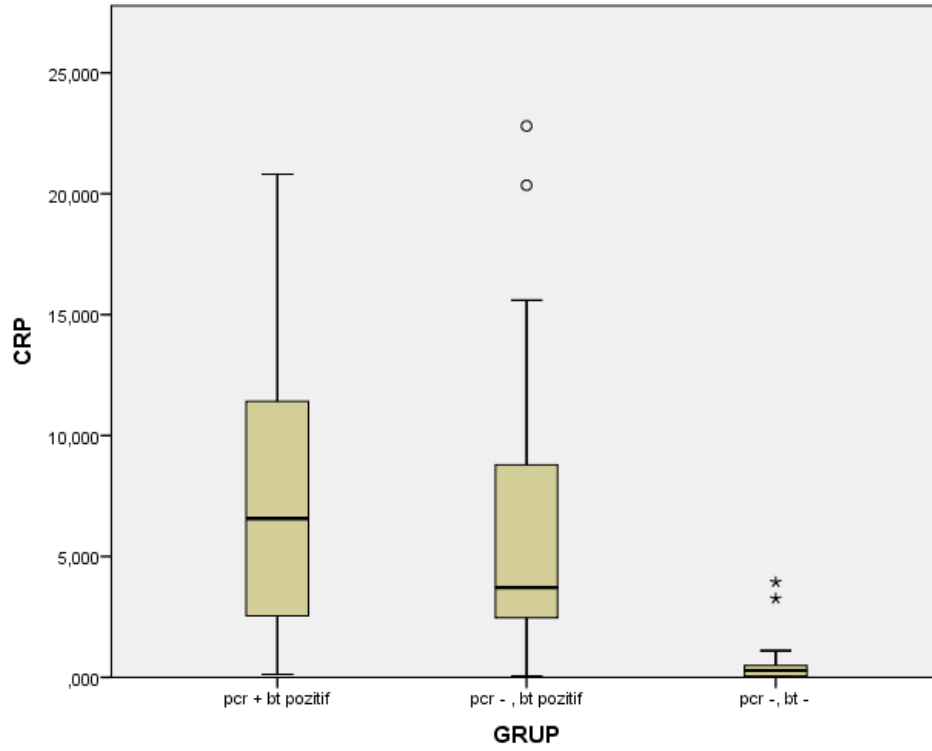
Grafik-1: Araştırma Gruplarının Demir Seviyeleri



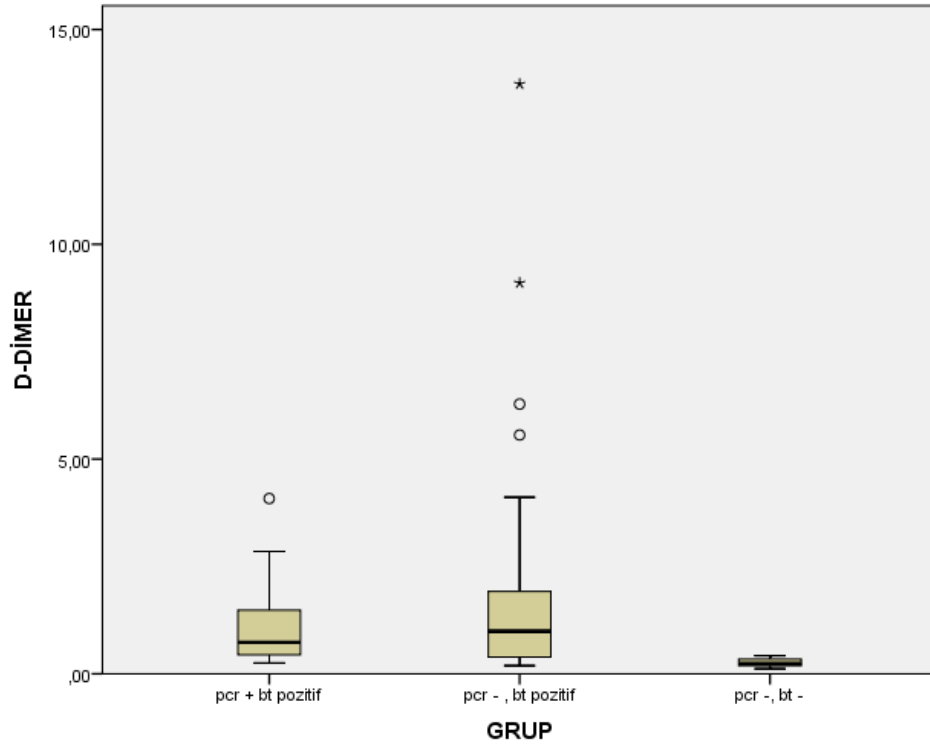
Grafik-2: Araştırma Gruplarının Transferrin Seviyeleri



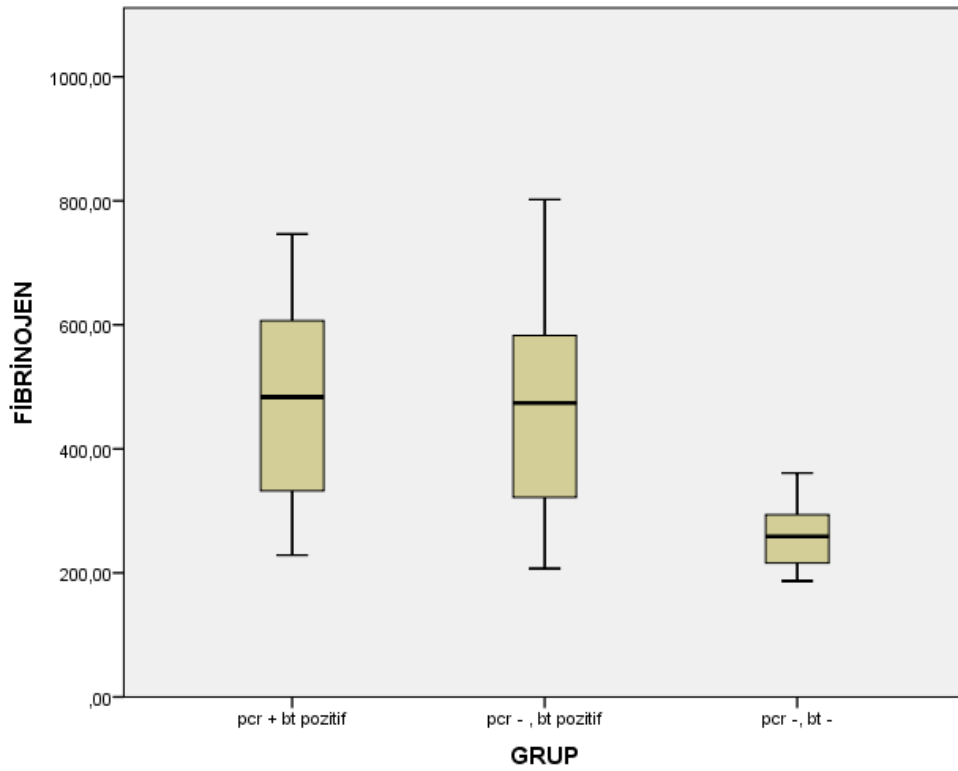
Grafik-3: Araştırma Gruplarının Ferritin Seviyeleri



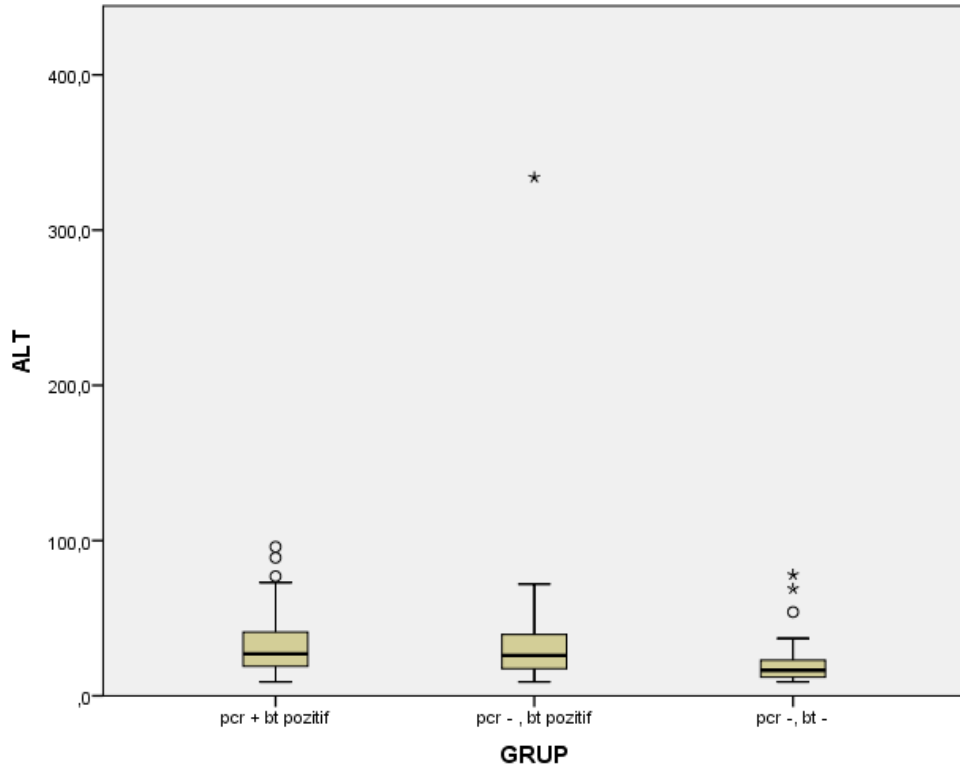
Grafik-4: Araştırma Gruplarının CRP Seviyeleri



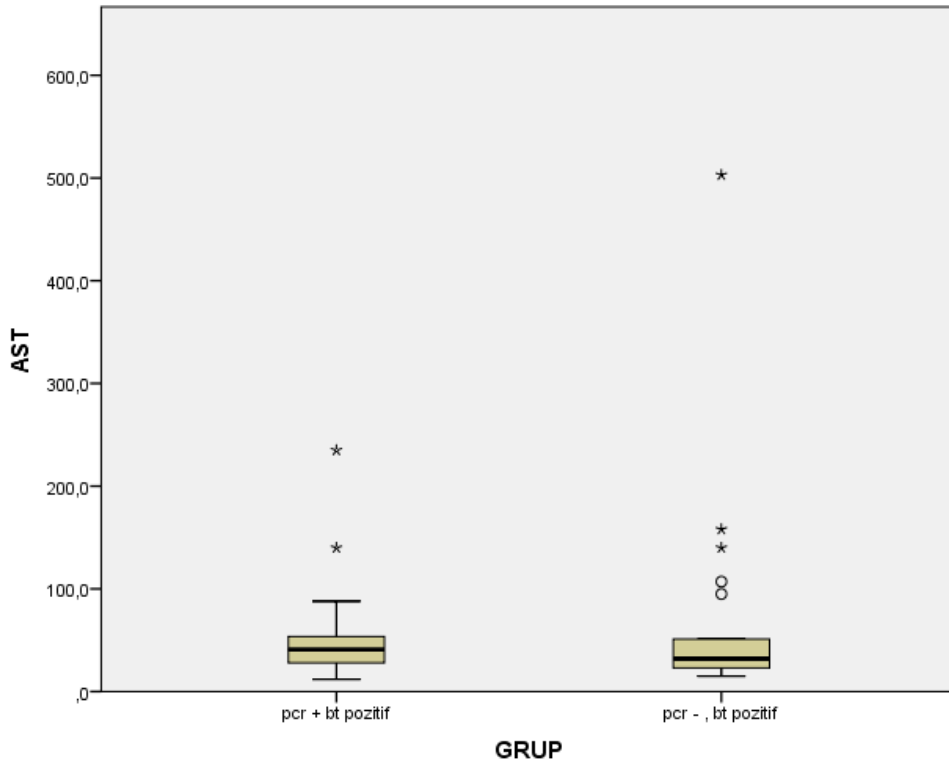
Grafik-5: Araştırma Gruplarının D-Dimer Seviyeleri



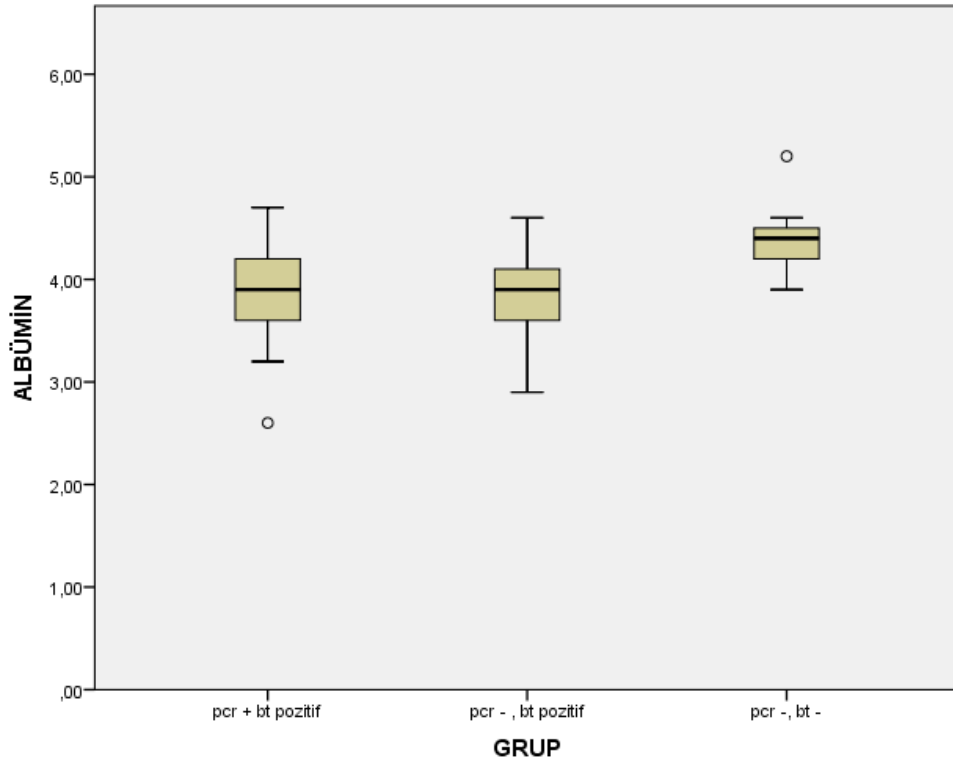
Grafik-6: Araştırma Gruplarının Fibrinojen Seviyeleri



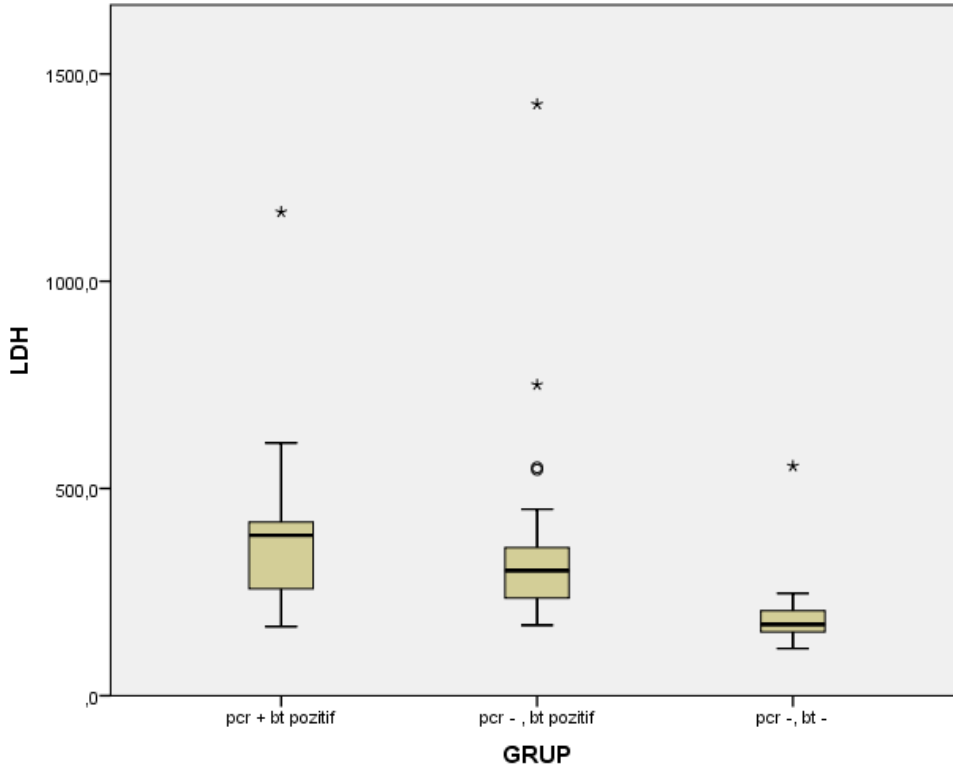
Grafik-7: Araştırma Gruplarının ALT Seviyeleri



Grafik-8: Araştırma Gruplarının AST Seviyeleri



Grafik-9: Araştırma Gruplarının Albümin Seviyeleri



Grafik-10: Araştırma Gruplarının LDH Seviyeleri

Araştırma grubunun hemogram değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması Tablo 4'te gösterilmiştir. Üç grup arasında lökosit, WVF, nötrofil ve trombosit açısından istatistiki olarak önemli bir farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$). Lenfosit ve bazofil değerleri Covid Negatif grubunda

diğer gruplara göre istatistiksel olarak önemli bir düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Monosit değerleri, Covid Pozitif grubundaki hastalarda Covid Negatif grubundaki kişilere göre daha düşüktür ($p=0,043$). Eozinofil değerleri ise Covid Pozitif grubundaki hastalarda en düşük; Covid Negatif grubundaki kişilerde en yüksek saptanmıştır ($p<0,001$).

Tablo-4: Araştırma Grubunun Hemogram Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

	Covid Pozitif Grup (n=30) Ort±SS Medyan (Min-Maks)	Covid Şüpheli Grup (n=28) Ort±SS Medyan (Min-Maks)	Covid Negatif Grup (n=30) Ort±SS Medyan (Min-Maks)	p
WBC	6,92±2,83 6,53 (1,53-13,10)	8,45±4,91 7,57 (3,32-27,80)	7,11±1,48 6,86 (4,07-9,35)	0,582*
WVF	0,98±0,01 0,98 (0,94-1,00)	0,98±0,03 0,99 (0,86-1,00)	---	0,096**
NEU	5,02±2,58 4,70 (0,53-9,66)	6,29±4,80 5,53 (1,81-26,3)	4,03±1,25 4,04 (1,27-6,23)	0,115*
LYM	1,36±1,17 1,17 (0,36-6,63)	1,36±0,67 1,30 (0,39-3,49)	2,23±0,45 2,18 (1,05-3,10)	<0,001* P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
MONO	0,45±0,21 0,41 (0,17-0,97)	0,57±0,28 0,49 (0,11-1,22)	0,60±0,17 0,56 (0,31-0,97)	0,043*** P ¹⁻³ =0,021
EOS	0,04±0,07 0,01 (0-0,33)	0,10±0,20 0,06 (0-1,06)	0,18±0,12 0,17 (0-0,44)	<0,001* P ¹⁻² =0,043 P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =0,008
BASO	0,01±0,01 0,01 (0-0,07)	0,01±0,02 0 (0-0,09)	0,04±0,03 0,04 (0-0,09)	<0,001* P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
PLT	227,79±83,07 219 (19,40-480)	227,61±105,29 251,5 (110-513)	261,67±52,20 257 (176-380)	<0,072***

* Kruskal Wallis Testi, **Mann Whitney U testi, ***ANOVA testi

Çalışma grubunun ferroptozis belirteçlerinin gruplar arası karşılaştırması Tablo 5'te gösterilmiştir. Covid Pozitif grubundaki hastalarda GPX-4 değeri diğer gruplara oranla istatistiki olarak daha düşük, GSSG değeri diğer gruplara oranla istatistiksel olarak daha yüksek saptanmıştır ($p<0,001$). Reduced GSH ve GSH/GSSG değerleri Covid Pozitif grubundaki hastalarda en düşük,

Covid Negatif grubundaki hastalarda en yüksek olarak tespit edilmiştir ($p<0,001$). LOOH değerleri Covid Pozitif grubundaki hastalarda diğer gruplara göre istatistiki olarak daha yüksek tespit edilmiştir ($p<0,001$). Total (GSH+GSSG) değerleri ise Covid Pozitif grubundaki hastalarda diğer gruplara oranla istatistiki olarak daha düşük tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Tablo-5: Çalışma Grubunun Ferroptozis Belirteçlerinin Gruplar Arası Karşılaştırması

	Covid Pozitif Grup (n=30) Ort±SS Medyan (Min-Maks)	Covid Şüpheli Grup (n=28) Ort±SS Medyan (Min-Maks)	Covid Negatif Grup (n=30) Ort±SS Medyan (Min-Maks)	p
GPX-4	1,63±0,55 1,54 (0,62-3,11)	2,25±0,78 1,98 (1,27-4,48)	3,25±2,11 2,50 (1,22-10,56)	<0,001* P ¹⁻² = 0,005 P ¹⁻³ = <0,001
LOOH (µmol/g)	3,23±0,40 3,24 (2,20-3,86)	2,20±0,71 2,31 (1,12-3,34)	1,38±0,66 1,19 (0,11-2,54)	<0,001** P ¹⁻² =<0,001 P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
REDUCED GSH (ng/mg)	24,78±5,54 25,30 (7,58-35,39)	39,90±4,70 40,70 (26,99-47,46)	53,96±13,91 55,42 (1,35-72,80)	<0,001* P ¹⁻² =<0,001 P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =0,004
GSSG	7,31±1,45 7,35 (2,99-11,11)	5,15±1,43 5,00 (3,04-8,18)	4,52±1,24 4,64 (1,83-7,01)	<0,001* P ¹⁻² =<0,001 P ¹⁻³ =<0,001
Total (GSH+GSSG)	32,09±5,79 32,16 (15,88-42,76)	45,05±4,78 45,77 (31,98-52,38)	58,47±13,40 59,88 (7,77-76,15)	<0,001** P ¹⁻² =<0,001 P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =<0,001
GSH/GSSG	3,55±1,19 3,39 (0,91-7,35)	8,37±2,68 8,06 (4,35-13,88)	13,55±7,03 12,29 (0,21-39,55)	<0,001* P ¹⁻² =<0,001 P ¹⁻³ =<0,001 P ²⁻³ =0,040

*Kruskal Wallis Testi, **ANOVA testi

Çalışma gruplarının Ferroptozis belirteci değerlerinin biyokimya parametreleri ile korelasyon düzeyleri Tablo 6’da verilmiştir. GPX-4 demir ile pozitif yönde, orta düzeyde; transferin ile pozitif yönde, zayıf düzeyde; CRP, D-dimer, fibrinojen, LDH ile negatif yönde, orta düzeyde koreledir. LOOH demir ve transferrin ile negatif yönde, orta düzeyde; albümin ile negatif düzeyde, zayıf düzeyde; ferritin, CRP, D-dimer, fibrinojen, ALT ve LDH ile pozitif yönde, orta düzeyde koreledir. Reduced GSH demir ve transferrin ile pozitif yönde, orta düzeyde; albümin ile pozitif düzeyde, zayıf düzeyde; ferritin, CRP, D-dimer, fibrinojen ve LDH ile negatif yönde, orta düzeyde; ALT ile negatif yönde, zayıf düzeyde koreledir. GSSG demir ve transferrin ile negatif yönde, orta düzeyde; albümin ile negatif düzeyde, zayıf düzeyde; ferritin, CRP, D-dimer, fibrinojen ve LDH ile

pozitif yönde, orta düzeyde; ALT ile pozitif yönde, zayıf düzeyde koreledir. Total (GSH+GSSG) demir ve transferrin ile pozitif yönde, orta düzeyde; albümin ile pozitif düzeyde, zayıf düzeyde; ferritin, CRP, D-dimer, fibrinojen ve LDH ile negatif yönde, orta düzeyde; ALT ile negatif yönde, zayıf düzeyde koreledir. GSH/GSSG demir, transferrin ve albümin ile pozitif yönde, orta düzeyde; ferritin, CRP, D-dimer, fibrinojen, ALT ve LDH ile negatif yönde, orta düzeyde koreledir.

Ferroptosis belirteci değerlerinin hemogram parametreleriyle korelasyonları Tablo 7’de gösterilmiştir. GPX-4 lenfosit ve eozinofil ile pozitif yönde, zayıf düzeyde koreledir. LOOH lenfosit, eozinofil ve bazofil ile negatif yönde, orta düzeyde koreledir. Reduced GSH lenfosit, eozinofil, bazofil ve trombosit ile pozitif yönde, orta düzeyde koreledir. GSSG WVF, bazofil ve trombosit ile negatif yönde, zayıf düzeyde; lenfosit, monosit ve eozinofil ile negatif yönde, orta düzeyde koreledir. Total (GSH+GSSG) lenfosit, eozinofil ve bazofil ile pozitif yönde, orta düzeyde; trombosit ile pozitif yönde, zayıf düzeyde koreledir. GSH/GSSG lenfosit, eozinofil ve bazofil ile pozitif yönde, orta düzeyde; WVF ve trombosit ile pozitif yönde, zayıf düzeyde koreledir.

Tablo-6: Ferroptozis Belirteci Değerlerinin Biyokimya Parametreleriyle Korelasyonu

	Demir	Transferrin	Ferritin	CRP	D-Dimer	Fibrinojen	AST	ALT	Albümin	LDH
GPX4	r= 0,390 p= <0,001	r= 0,281 p= 0,008	r= -0,205 p= 0,056	r= -0,356 p= 0,001	r= -0,400 p= <0,001	r= -0,371 p= 0,001	r= -0,112 p= 0,431	r= -0,171 p= 0,115	r= 0,156 p= 0,156	r= -0,335 p= 0,002
LOOH (μ mol/g)	r= -0,532 p= <0,001	r= -0,338 p= 0,001	r= 0,372 p= <0,001	r= 0,527 p= <0,001	r= 0,372 p= 0,001	r= 0,451 p= <0,001	r= 0,006 p= 0,966	r= 0,309 p= 0,004	r= -0,291 p= 0,007	r= 0,413 p= <0,001
REDUCED GSH (ng/mg)	r= 0,526 p= <0,001	r= 0,386 p= <0,001	r= -0,350 p= <0,001	r= -0,553 p= <0,001	r= -0,462 p= <0,001	r= -0,420 p= <0,001	r= -0,135 p= 0,339	r= -0,296 p= 0,006	r= 0,286 p= 0,008	r= -0,559 p= <0,001
GSSG	r= -0,394 p= <0,001	r= -0,324 p= 0,002	r= 0,322 p= 0,002	r= 0,491 p= <0,001	r= 0,331 p= 0,002	r= 0,383 p= <0,001	r= 0,036 p= 0,798	r= 0,274 p= 0,011	r= -0,278 p= 0,010	r= 0,434 p= <0,001
Total (GSH+GSSG)	r= 0,515 p= <0,001	r= 0,383 p= <0,001	r= -0,347 p= 0,001	r= -0,534 p= <0,001	r= -0,449 p= <0,001	r= -0,402 p= <0,001	r= -0,132 p= 0,353	r= -0,296 p= 0,006	r= 0,271 p= 0,013	r= -0,562 p= <0,001
GSH/GSSG	r= 0,477 p= <0,001	r= 0,398 p= <0,001	r= -0,374 p= <0,001	r= -0,576 p= <0,001	r= -0,426 p= <0,001	r= -0,442 p= <0,001	r= -0,101 p= 0,478	r= -0,325 p= <0,001	r= 0,334 p= 0,002	r= -0,518 p= <0,001

Tablo-7: Ferroptozis Belirteci Değerlerinin Hemogram Parametreleriyle Korelasyonu

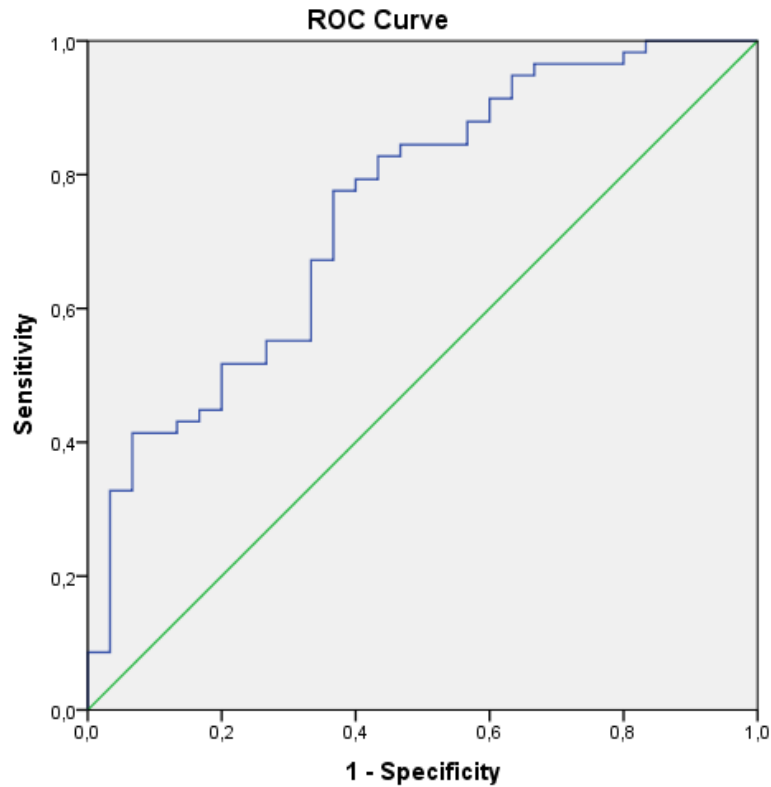
	WBC	WVF	NEU	LYM	MONO	EOS	BASO	PLT
GPX-4	r= -0,059 p= 0,590	r= 0,167 p= 0,232	r= -0,152 p= 0,164	r= 0,233 p= 0,032	r= 0,159 p= 0,145	r= 0,280 p= 0,010	r= 0,097 p= 0,377	r= 0,078 p= 0,478
LOOH ($\mu\text{mol/g}$)	r= -0,033 p= 0,763	r= -0,232 p= 0,094	r= 0,116 p= 0,292	r= -0,377 p= <0,001	r= -0,207 p= 0,057	r= -0,454 p= <0,001	r= -0,299 p= 0,005	r= -0,068 p= 0,533
REDUCED GSH (ng/mg)	r= 0,108 p= 0,327	r= 0,229 p= 0,099	r= -0,039 p= 0,725	r= 0,444 p= <0,001	r= 0,187 p= 0,086	r= 0,510 p= <0,001	r= 0,360 p= 0,001	r= 0,287 p= 0,008
GSSG	r= -0,016 p= 0,887	r= -0,273 p= 0,048	r= 0,095 p= 0,386	r= -0,388 p= <0,001	r= -0,359 p= 0,001	r= -0,515 p= <0,001	r= -0,225 p= 0,039	r= -0,221 p= 0,042
Total (GSH+GSSG)	r= 0,098 p= 0,371	r= 0,170 p= 0,223	r= -0,044 p= 0,688	r= 0,427 p= <0,001	r= 0,153 p= 0,163	r= 0,489 p= <0,001	r= 0,350 p= 0,001	r= 0,278 p= 0,010
GSH/GSSG	r= 0,068 p= 0,537	r= 0,288 p= 0,037	r= -0,065 p= 0,554	r= 0,434 p= <0,001	r= 0,295 p= 0,006	r= 0,533 p= <0,001	r= 0,305 p= 0,004	r= 0,270 p= 0,012

Ferroptozis belirteçlerinin hastalığı öngörmeye tanısal karar verdiriciliği ROC eğrisi analizi ile incelenmiş ve Tablo 8’de sunulmuştur. Tüm belirteçler için eğri altında kalan alan (AUC) istatistiksel olarak önemlidir. GPX-4 için belirlenen cut-off 2,18; looh için belirlenen cut-off 2,02; reduced GSH için belirlenen cut-off 41,62; GSSG için belirlenen cut-off 5,09; total (GSH+GSSG) için belirlenen cut-off 52,40 ve GSH/GSSG için belirlenen cut-off 9,66 olmuştur.

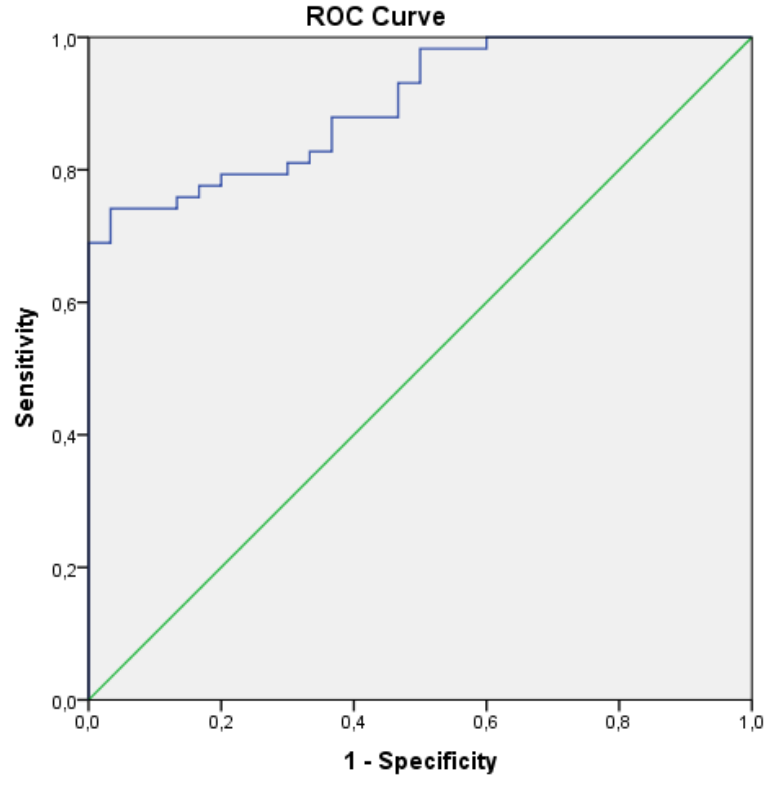
Tablo-8: Ferroptozis Belirteçlerinin Hastalığı Öngörmeye Tanısal Karar Verdiriciliği

	AUC	%95 Güven Aralığı	p	Belirlenen Cut-off	Spesifisite	Sensitivite
GPX-4	0,748	0,640-0,856	<0,001	2,18	%79,3	%60,0
LOOH ($\mu\text{mol/g}$)	0,899	0,838-0,960	<0,001	2,02	%79,3	%80,0
REDUCED GSH (ng/mg)	0,922	0,846-0,999	<0,001	41,62	%84,5	%86,7
GSSG	0,784	0,690-0,878	<0,001	5,09	%70,7	%76,7
Total (GSH+GSSG)	0,920	0,843-0,997	<0,001	52,40	%100,0	%83,3
GSH/GSSG	0,882	0,799-0,964	<0,001	9,66	%89,7	%83,3

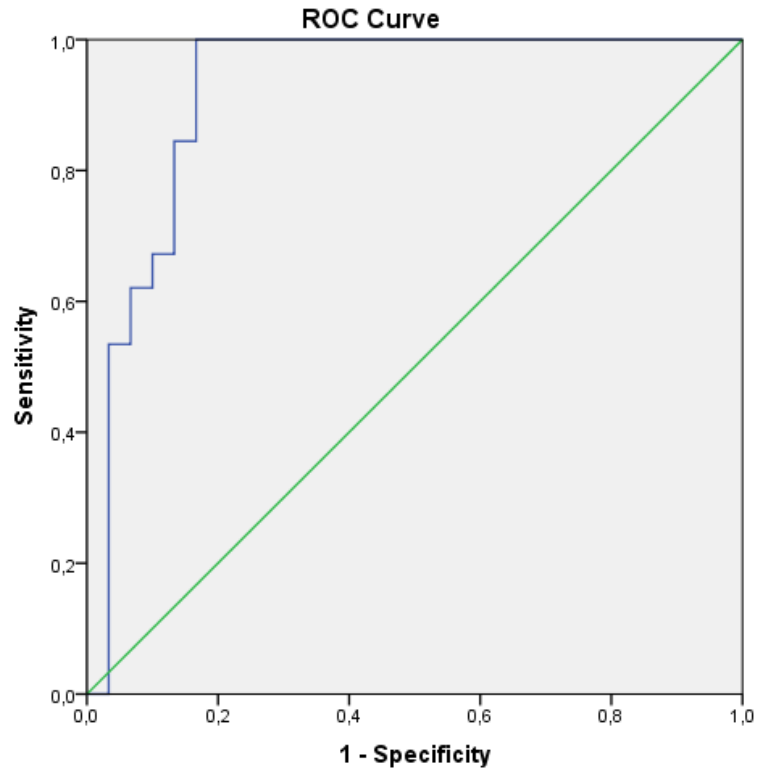
Ferroptozis belirteçlerinin ROC analizi grafikleri Şekil 11-16 olarak özetlenmiştir.



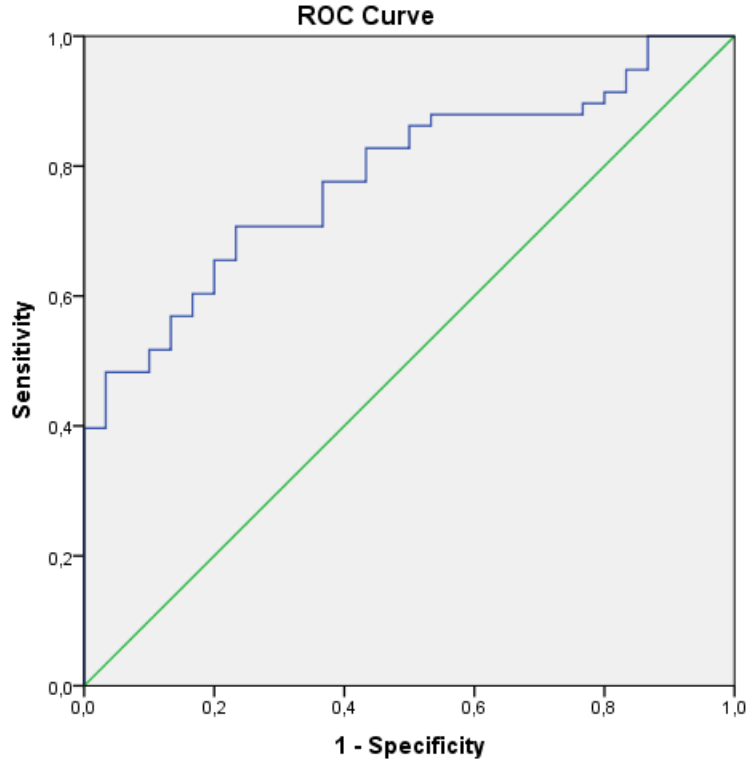
Grafik-11: GPX-4 belirtecinin ROC analizi eğrisi



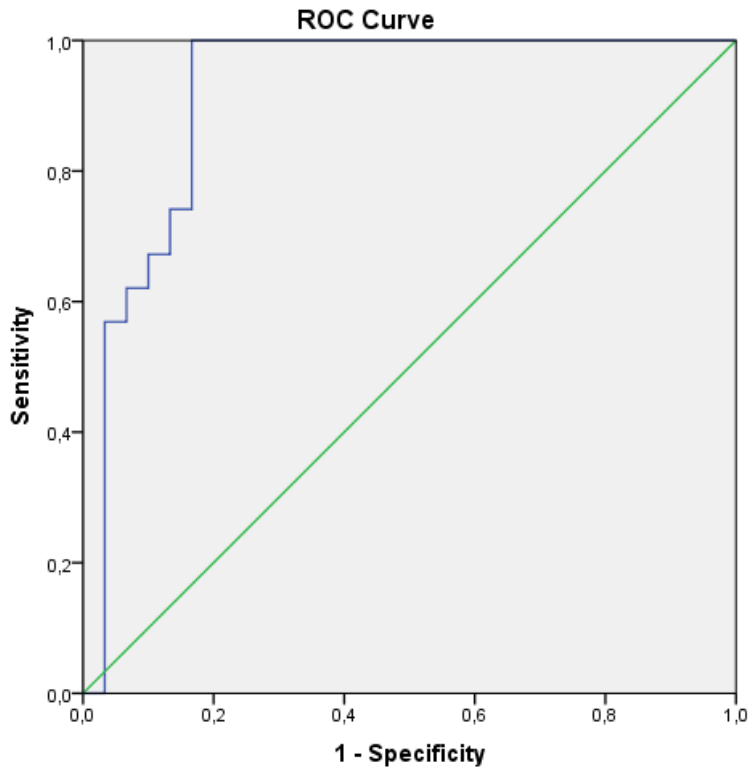
Grafik-12: LOOH belirtecini ROC analizi eğrisi



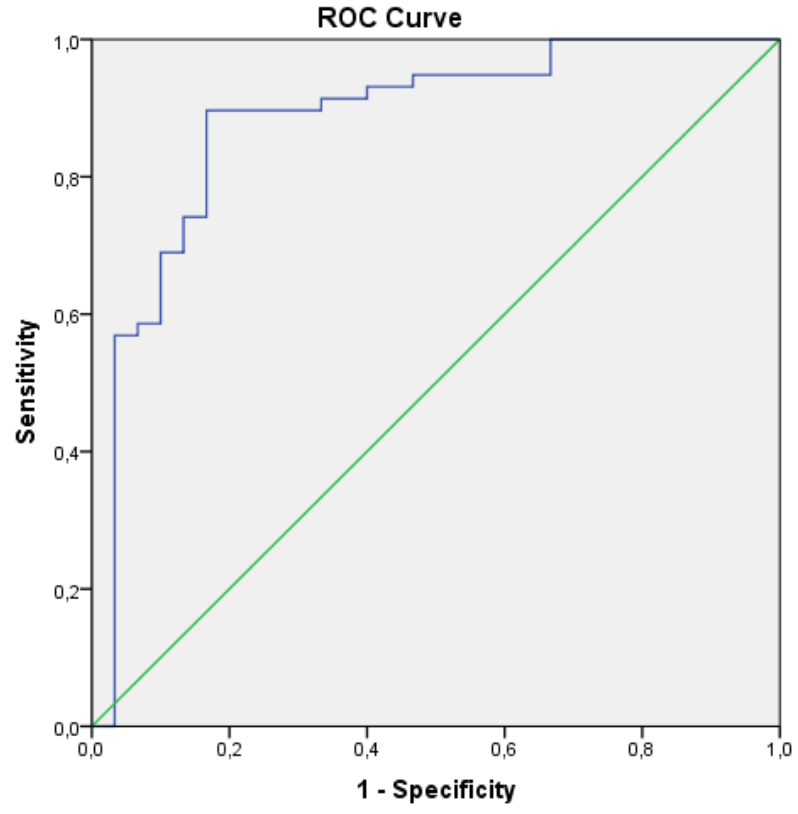
Grafik-13: Reduced GSH belirtecini ROC analizi eğrisi



Grafik-14: GSSG belirtecinin ROC analizi eğrisi



Grafik-15: Total (GSH+GSSG) belirtecinin ROC analizi eğrisi



Grafik-16: GSH/GSSG belirtecinin ROC analizi eğrisi

5. TARTIŞMA

Çin'in Wuhan kasabasından kaynaklanan Coronaviridae ailesine ait bir virüsün neden olduğu ve halen dünyanın her tarafında saptanan covid-19 hastalığının bir şekilde oksijen taşınması üzerinde bir etkisi olabilmekte ve etkileri ciddi hipoksik sorunlara yol açabilmektedir. Vücut demirinin yaklaşık %70'i eritrositlerde bulunmaktadır. Organizmalar için, demiri kanda taşıyan transferinin demir bağlama kapasitesini aşan demir miktarlarında fazla demir birikimi meydana gelmektedir. Kandaki bağlı olmayan serbest demir tehlikeli olabilmektedir. Bu durumda, bir paradoksla karşı karşıya bulunmaktayız. Vücut hücrenin dışında demir eksikliğinden muzdaripken, tam tersine hücrenin içinde fazla demirden muzdarip olmak gerçekten paradoksaldır. Belki de bu paradoksal durumdan yararlanan fırsatçı bir RNA virüsü covid-19'dur. Çünkü RNA virüsleri milyonlarca yıldır hiç durmayan tutkuyla demire ihtiyaç duymaktadır (6). Sonunda hücrelerin içinde demir birikimi bir kısır döngü haline gelmektedir. Demirin bu aşırı yüklenmesi, ferroptosis adı verilen belirli bir hücre ölümüne yol açabilmektedir (7). Araştırmalar sonucu covid-19 hastalığının son yıllarda keşfedilen yeni bir hücre ölümü şekli olan demir birikimiyle seyreden ferroptosis ile ilişkili olabileceği düşüncesi oluşmaktadır (8).

Corrado Lodigiani ve ekibinin covid-19'lu hastalarla yaptığı bir araştırmada sigara kullanımı yoğun bakım ünitesinde yatan 61 hastanın 3'ünde (%4,9), yoğun bakım ünitesinde yatmayan diğer 327 hastanın 42'sinde (%12,8) ve toplam 388 hastanın 45'inde (%11,6) mevcuttu (149). Bu araştırmada ise sigara kullanımı sorgulanan 88 hastanın yaklaşık üçte biri sigara kullanmakta idi. Sigara kullanımı açısından çalışma grupları arasında istatistik açıdan anlamlı bir farklılık yoktu ($p=0.495$).

Chaolin Huang ve ekibinin yaptığı bir araştırmada hastaların başvuru sırasındaki kan sayımlarında 40 hastanın 10 tanesinde (%25) lökopeni ve 41 hastanın 26'sında (%63) lenfopeni saptanmıştır (19). Nanshan Chen ve ekibinin yaptığı bir araştırmada başvuru sırasında, lökositler dokuz (%9) hastada normal aralığın altında ve 24 (%24) hastada normal aralığın üzerindedir. 38 (%38) hastada normal aralığın üzerinde nötrofil vardı. Lenfositler birçok hastada normal aralığın altındaydı (23). Wei Jie Guan ve ekibinin yaptığı bir araştırmada başvuru esnasında hastaların %83,2'sinde lenfositopeni ve %33,7'sinde lökopeni saptanmıştır (150). Chaomin Wu ve ekibinin araştırmasında ise hastaların yarısından fazlasında (64.0%) lenfositopeni vardı. Hastaların yaklaşık üçte birinde (%34,5) nötrofil vardı. Hastaların yaklaşık dörtte birinde (%23,4%) lökositoz vardı (151). Bu araştırmada ise her 3 grubun lökosit düzeyleri incelenmiş olup üç grup arasında lökosit ve nötrofil açısından istatistik açıdan anlamlı bulunan bir farklılık yoktu ($p>0,05$). Covid Negatif

Grubun lenfosit değerleri, Covid Pozitif ve Covid Şüpheli Grubun lenfosit değerlerine göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştu. Ortalama lökosit, lenfosit ve nötrofil düzeyleri normal aralıktaydı.

Nanshan Chen ve ekibinin yaptığı araştırmada başvuru sırasında trombositler 12 (%12) hastada normal aralığın altında ve dördünde (%4) normal aralığın üzerindeydi (23). Wei Jie Guan ve ekibinin yaptığı araştırmada %36,2'sinde trombositopeni saptanmıştır (150). Bu çalışmada ise ortalama trombosit düzeyleri normal sınırlardaydı ve her üç grup arasında trombosit düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0,05$).

Wei Jie Guan ve ekibinin araştırmasında hastaların çoğunda yüksek C-reaktif protein seviyeleri vardı (150). Chaomin Wu ve ekibinin araştırmasında 194 hastanın 166'sı (%85,6) yüksek hassasiyetli C-reaktif protein artışı mevcut bulunmuştur (151). Qiurong Ruan ve ekibinin yürüttüğü 68 ölüm vakası (68/150, %45) ve 82 taburcu vakası (82/150, %55) zerinde geriye dönük çok merkezli bir çalışmada C-reaktif protein (CRP) değerlerinde önemli farklılıklar olduğunu göstermiŐlerdir (112). Benzer Şekilde bu çalışmada da Covid Pozitif gruptaki hastalar ile Covid Şüpheli gruptaki hastalarda CRP düzeyleri Covid Negatif gruptaki bireylere kıyasla önemli oranda yüksek tespit edilmişti ($p<0,05$).

Chaolin Huang ve ekibinin yaptığı araştırmada yoğun bakım hastalarında başvuru sırasında D-dimer düzeyi (medyan D-dimer düzeyi 2,4 mg/L) yoğun bakım ünitesinde olmayan hastalardan (medyan D-dimer düzeyi 0,5 mg/L], $p=0,0042$) daha yüksek saptanmıştır (19). Wei Jie Guan ve ekibinin araştırmasında hastaların çoğunda yüksek C-reaktif protein seviyeleri tespit edilmiş olmasına rağmen d -dimer düzeylerinde yükselme daha az yaygındı (150). Fei Zhou ve ekibinin covid-19 hastalarının mortalitesi için klinik seyir ve risk faktörlerini belirlemek amacıyla yaptığı retrospektif bir kohort çalıŐmasında D-dimer değeri 172 hastanın 55'inde (%32) $\leq 0,5$, 45'inde (%26) $>0,5$ ila ≤ 1 arasında, 72'si (%42) >1 Şeklinde saptanmıştır (88). Corrado Lodigiani ve ekibinin İtalya'nın Milano kentinde bir akademik hastaneye başvuran covid-19 hastalarında venöz ve arteriyel tromboembolik komplikasyonları inceleyen bir araştırmasında covid-19'un inflamatuvar ve prokoagülan durumunu yansıtan, hayatta kalmayanlarda hızla artan D-dimer seviyeleri gözlenmiştir (149). Bu çalışmada ise Covid Pozitif ve Covid Şüpheli grubun D-dimer düzeyleri Covid Negatif Gruba göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştu ($p<0,05$).

Nanshan Chen ve ekibinin 99 hasta ile yaptığı bir araştırmada alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri hastaların %28'inde normal aralığın üzerinde, aspartat aminotransferaz (AST)

düzeyleri ise hastaların %35'inde normal aralığın üzerinde saptanmıştır. Çalışmada laktat dehidrojenaz (LDH) düzeyleri de hastaların %75'inde normal aralığın üstündedir (23). Chaomin Wu ve ekibinin araştırmasında bazı hastalarda yüksek aspartat aminotransferaz (AST; 59/198 [29.8%]) ve alanin aminotransferaz (ALT; 43/198 [21.7%]) ile karaciğer hasarı görülmüştür. Hastaların çoğunda yüksek miyokardiyal indeksler mevcuttu: 198 hastanın 135'inde (%68,2) yükselmiş laktat dehidrojenaz (LDH) vardı (151). Zhenyu Fan ve ekibinin yaptığı bir çalışmada covid-19'lu hastalarda yüksek ALT (n = 27; 41-115 U/L), AST (n = 32; 37-107 U/L) dahil olmak üzere başvuru sırasında anormal karaciğer fonksiyon testleri olan 55 hasta (%37,2) vardı. Başlangıç karaciğer fonksiyon testleri normal olan 45 hastanın %48,4'ünde, kabulden ortalama 7 gün sonra karaciğer fonksiyonel anormalliği geliştiği saptanmıştır. Çalışmada LDH düzeyleri total hasta grubunda 224.5 (193–283.8), karaciğer fonksiyon testleri bozuk olan hastalarda 257 (227–369), karaciğer fonksiyon testleri normal olan hastalarda 207 (186–243) olarak saptanmıştır (p<0.0001). Anormal karaciğer fonksiyonu olan hastalarda, normal karaciğer fonksiyonu olan hastalara göre LDH'nin daha yüksek olduğunu belirtmekte fayda vardır. Ayrıca çalışmada solunum yetmezliğinden ölen hastada yüksek LDH düzeyi saptanmış olup ARDS için bağımsız bir risk faktörü olarak görülebilir. LDH'nin covid-19 için erken alarm özelliği olarak kullanılıp kullanılmayacağı için daha fazla analiz gerekmektedir (152). Heshui Shi ve ekibinin covid-19 pnömonisi olan 81 hastadan alınan radyolojik bulguları tanımlayan bir çalışmada alanin aminotransferaz düzeyleri 46.2 U/L (SS 29.5), aspartat aminotransferaz düzeyleri 40.8 U/L (SS 17.9) şeklinde saptanmıştır (153). Bu çalışmada Covid Pozitif grup ile Covid Şüpheli grubun ALT ve LDH parametreleri Covid Negatif grubuna göre istatistiki olarak önemli oranda yüksek saptanmıştı (p<0,05). AST değerleri Covid Negatif grubundaki ALT düzeylerinin normal sonuçlanmasından dolayı ölçülmemiş olup, diğer 2 grup arasında istatistiki fark yoktu (p=0,463).

Qiurong Ruan ve ekibinin covid-19'lu hastalarla yürüttüğü 68 ölüm vakası (68/150, %45) ve 82 taburcu vakası (82/150, %55) üzerinde geriye dönük çok merkezli bir çalışmada laboratuvar sonuçlarına bakıldığında albümin değerlerinde önemli farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir (112). Bu çalışmada ise albümin parametreleri Covid Pozitif ile Covid Şüpheli grubunda; Covid Negatif grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük saptanmıştı.

Heshui Shi ve ekibinin yaptığı bir çalışmada fibrinojen düzeyleri 1.5 g/L olarak saptanmıştır (153). Bu çalışmada ise Covid Pozitif ile Covid Şüpheli grubunda fibrinojen parametresi Covid Negatif grubuna göre istatistik açısından önemli oranda yüksek tespit edilmişti (p<0,05).

Rosa Bellmann-Weiler ve ekibinin yaptığı covid-19 enfeksiyonu olan hastaneye yatırılan 259 hastadan oluşan araştırmada, 64 hastada (%24,7) başvuru sırasında anemi vardı. Özellikle, serum demir konsantrasyonu ve transferrin (Tf), anemik deneklerde önemli ölçüde daha düşükken, ferritin seviyelerinin farklı olmadığı saptanmıştır. Anemisi olan hastaların yüzdesinin hastanede yatış sırasında giderek arttığı tespit edilmiştir (yatışın 7. gününde %68.8) (108). Kang Zhao ve ekibinin serum demirinin covid-19'un ciddiyetini ve mortalitesini tahmin etmedeki rolünü değerlendirdiği bir araştırmada 50 hastanın 45'inde (%90) anormal derecede düşük serum demir seviyeleri (<7.8 µmol/L) vardı. Azalan serum demir seviyesi, covid-19'un hafiften şiddetli ve kritik hastalığa geçişini öngörebilmektedir. Kritik grupta tedaviden sonra serum demir düzeyi daha düşük olan yedi (%53,8) hastanın öldüğü saptanmıştır. Covid-19'dan kurtulanlar ve hayatta kalmayanlar arasında tedavi sonrası serum demir seviyelerinde önemli bir farklılık mevcuttur (110). Benzer şekilde bu araştırmada da Covid Pozitif ile Covid Şüpheli grubunda demir ve transferrin parametreleri Covid Negatif grubuyla kıyaslandığında istatistiki açıdan önemli oranda düşük tespit edilmişti (p<0,001).

Çin'in Vuhan kentinde doğrulanmış 150 covid-19 vakasının yer aldığı çok merkezli, retrospektif bir çalışmadan ölümle ilgili tahminler, yüksek ferritini içeriyordu (hayatta kalmayanlarda ortalama 1297.6 ng/ml ve hayatta kalanlarda 614.0 ng/ml; p<0,0001) (112). Nanshan Chen ve ekibinin covid-19'lu hastalarla yaptığı araştırmada çoğu hastada serum ferritini normal aralığın üzerinde saptanmıştır (23). Bu çalışmada da ferritin düzeyleri Covid Pozitif ile Covid Şüpheli grubunda Covid Negatif grubuna kıyasla istatistiki olarak önemli oranda yüksekti (p<0,05).

Son çalışmalarda, ferroptozun birçok hastalığın ortaya çıkmasında önemli bir rol aldığı ve ilgili hastalıkların tedavisi ve prognozunun iyileştirilmesine yönelik araştırmaların odak noktası haline geldiğini görmekteyiz. Alexander Seiler ve ekibinin yaptığı bir çalışmada farelerin embriyonik fibroblast hücrelerinde GPX4'ün indüklenmesinin inhibisyonu sonucunda apoptoz indükleyici faktör ve Alox15 içeren nekroz benzeri özelliklere sahip bir hücre ölümünün ortaya çıktığı saptanmıştır (154). Friedmann ve ekibinin fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada GPX4'ün indüklenmesi sonucunda lipid oksidasyonunun neden olduğu akut böbrek yetmezliği tablosunun ve renal tübüler nekrozun önlendiği saptanmıştır (70). Sha W ve ekibinin ferroptozis mekanizmasını ve tip 2 DM üzerindeki rolünü incelediği bir çalışmada ferroptozun hücre içi demir birikimine ve demire bağımlı olarak lipid peroksitlerin birikimine yol açtığı saptanmıştır. GPX4 aktivitesinin baskılanması, lipid peroksitlerin birikimine yol açan ana sebeptir. Yapılan çalışmalarda pankreas β hücrelerinin süperoksit dismutaz, GSH peroksidaz ve katalaz gibi antioksidan enzimleri düşük düzeyde içerdiği ve bu yüzden ROS birikimine ve oksidatif strese daha duyarlı oldukları

saptanmıştır. ROS birikiminin, ferroptozu tetikleyebileceği düşünülmektedir (155). Afrika yeşil maymun böbrek (Vero) hücrelerini enfekte etmek için hastadan türetilen SARS-CoV2'yi kullanan temel bir çalışma ve GPX4 ekspresyonunun mRNA seviyelerinde önemli ölçüde azaldığını bulmuştur, bu da SARS-CoV-2 ile ferroptoz arasındaki ilişkiyi düşündürmektedir (126). Bu çalışmaları destekler şekilde Covid Pozitif grubunda GPX4 değeri diğer gruplarla kıyaslandığında istatistik olarak daha düşük saptanmıştı. Covid Şüpheli grubunun GPX4 değeri ise Covid Negatif grubuna göre daha düşük, Covid Pozitif grubuna göre daha yüksek bulunmuştu. LOOH değerleri Covid Pozitif grubunda diğer gruplarla kıyaslandığında istatistik açısından daha yüksek saptanmıştı ($p<0,001$). Covid-19'lu hastalarda GPX4 aktivitesinin düşüklüğü ve LOOH düzeyi yüksekliğinin, oksidatif stres sonucu meydana gelen ferroptozis mekanizmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Glutasyon (GSH); vücut sıvılarında ve dokularda bulunan, serbest radikal temizleyici ve lipid peroksidasyonu inhibitörü olarak görev yapan bir antioksidandır. Ayrıca glutasyon peroksidaz enzimleri tarafından hidrojen peroksitin detoksifikasyonunda rolü vardır. Hidroperoksitlerin, GPX enzimleri tarafından GSH kullanılarak indirgenmesi sonucunda GSSG (okside glutasyon) meydana gelmektedir. Özet olarak GSH'ın, hücreleri oksidatif stresten korumada son derece önemli bir rolü bulunmaktadır (156). Parkinson hastalarında glutasyon sisteminin araştırıldığı bir çalışmada; redoks fonksiyon bozukluğu ve nöro-oksidatif stresin hastalığın oluşumunda önemli olduğu, oksidatif stres varlığında GSH düzeyi ve GSH/GSSG oranının azalarak mitokondriyal disfonksiyona ve nihayetinde Parkinson hastalığında görülen nörodejeneratif süreçlere sebep olduğu saptanmıştır (157). Kanser hücrelerinde glutasyon sentezinin araştırıldığı bir çalışmada; GSH'ın yalnızca redoks tepkimeleri değil proliferasyon, hücre farklılaşması ve hücre ölümü ile de ilgili olduğu tespit edilmiştir. Birçok araştırmada, GSH ve GSH/GSSG oranındaki değişikliklerin tümör gelişimini ve tümör hücrelerinde canlılığı düzenlediği ve bu mekanizmaların ferroptozis ile alakalı olduğu karşımıza çıkmaktadır (158). Owen JB ve ekibinin okside glutasyon/ redükte glutasyon oranına baktığı bir araştırmada GSH/GSSG oranının hücre sel sağlıkla bir ilişkisi olduğu, Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklarda GSH/GSSG oranının azaldığı tespit edilmiştir. Patolojik dokularda GSH/GSSG oranının ölçülmesinin, hücre sel redoks potansiyelini belirlemede ve terapötik etkinliğin değerlendirilmesinde oldukça önemli olduğu saptanmıştır (156). Paolisso ve ekibinin plazma GSH/GSSG oranının, tip 2 DM tanılı hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda glukoz homeostazı üzerine etkisini incelediği bir çalışmada hastalara GSH infüzyonu yapılmış ve infüzyon sonrası insülin sekresyonu değişikliği ile GSH/GSSG oranı incelenmiştir. Her iki grupta GSH infüzyonu sonrası; glukozu karşı β hücre yanıtının, insülin sekresyonunun, GSH/GSSG oranının ve glukoz atılımının arttığı tespit edilmiştir. Yapılan korelasyon analizi sonucunda plazma GSH/GSSG oranı ile özellikle diyabetik hastalarda glukoz homeostazı arasında ilişki olduğu tespit

edilmiştir ($p<0,01$) (159). Richard I. Horowitz ve ekibi tarafından yapılan, 2020 yılında covid-19 pnömonisi sonucu meydana gelen nefes darlığı mevcut iki hastada yüksek doz oral ve/veya IV glutatyon tedavisinin etkilerininin araştırıldığı bir çalışma mevcuttur. Yazarlar covid-19 pnömonisi ile ilişkili nefes darlığının giderilmesinde glutatyon tedavisinin etkinliğini bildirmektedirler (124). Biz de çalışmamızda covid-19 oluşumunda ferroptosis mekanizmasının etkisini inceledik.

Bu çalışmada gruplar arasında en düşük redükte GSH değerlerini, Covid Pozitif grup oluşturmaktaydı. Covid Negatif grubunda ise redükte GSH en yüksek olarak saptanmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştu ($p<0,001$). Covid-19'lu hastalarda GSH düzeyi düşüklüğünün, lipid peroksitlerin birikimine yanıt olarak GPX4 tarafından tüketildiğini ve oksidatif strese bağlı olduğunu düşündürmektedir. Daha önceki çalışmaları destekler nitelikte olan bu bulguların covid-19 hastalarında glutatyon tedavisinin başarılı olabileceği ve daha sonra yapılacak olan farklı çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz. Çalışmada Covid Pozitif grubunun GSSG düzeyi ortalaması diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel açıdan daha yüksek saptanmıştı ($p<0,001$). Covid-19'lu hastalarda GSSG düzeyi yüksekliğinin, GPX4' ün redükte glutatyonu okside glutatyon indirgeme reaksiyonu sonucunda meydana geldiğini ve bu mekanizmanın ferroptosis ile alakalı olduğunu düşündük. Covid Pozitif grubunun total GSH+GSSG düzeyi ortalaması diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak daha düşük tespit edilmişti ($p<0,001$). Aynı şekilde covid-19'lu hastalarda total GSH+GSSG düzeyi düşüklüğünü, oksidatif strese ve bu oksidatif stres sonucunda ferroptosisin harekete geçerek hücre ölümüne sebep olabileceğini düşündük. Bu çalışmada Covid Pozitif grubunun GSH/GSSG oranı ortalaması, Covid Şüpheli ve Covid Negatif grubuna göre belirgin düşüktü ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). Covid Şüpheli grubunun GSH/GSSG oranı ortalaması, Covid Negatif grubuna kıyasla düşüktü ve istatistiksel açıdan daha az anlamlıydı ($p=0,040$).

Bu çalışmanın bir sınırlaması vardı. Covid Pozitif ile Covid Şüpheli grubun yaş ortalamaları; Covid Negatif grubundan istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksekti (sırasıyla $p=0,027$; $p<0,001$). Çalışmada Covid Negatif grubuna dahil edilen ek hastalığı olmayan sağlıklı bireylerin yaş olarak covid-19'lu hastalardan daha düşük olması, sağlıklı ve ek hastalığı olmayan yüksek yaşta bireylere ulaşmakta güçlük çektiğimizden kaynaklanmaktadır.

6. SONUÇ

Son yıllarda birçok araştırmacı tarafından incelenen, dñzenlenmiř bir hñcre ۆlñmñ olan ferroptosis mekanizmasını ve oksidatif stres dñzeylerini Covid Pozitif, Covid řñpheli ve Covid Negatif gruplarında incelediğimiz çalışmamızda; covid-19 hastalığı ile GPX4 aktivitesi, GSH/GSSG ve LOOH dñzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulundu. Covid-19'lu hastalarda GPX4 aktivitesi ve GSH dñzeyinde azalma, GSSG ve lipid peroksitlerin birikimi gۆzlendi. Tñmۆrlñ hñcrelerin gelişimi ve nۆrodejeneratif hastalıklar hakkındaki tesirleri ispat edilmiş olan, antineoplastik ilaçların ۆretiminde ۆstñnde durulan ferroptosis mekanizmasının covid-19 hastalığının gelişiminde de etkili olduğu saptandı. Literatñrde covid-19 ve ferroptosis ilişkisini kapsayan az sayıda çalışma mevcuttur. Bizim alışmamızda ferroptosis ile ilgili unsurların covid-19 hastalığının tedavisinde ۆmit verici olduğunu dñřñnmekteyiz. Yeni keşfedilen, eři olmayan bir mekanizmaya sahip olan, non-apoptotik ve programlı bir hñcre ۆlñmñ şekli olan ferroptosisin anlaşılması ve covid-19 ۆstñndeki net tesirini ortaya koyabilmek için hasta sayısının daha çok olduğu ek çalışmalara gereksinim vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Perricone C, Bartoloni E, Bursi R, Cafaro G, Guidelli GM, Shoenfeld Y, et al. COVID-19 as part of the hyperferritinemic syndromes: the role of iron depletion therapy. *Immunologic research*. 2020;68(4):213-24.
2. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *Jama*. 2020;323(18):1843-4.
3. Slaats J, Ten Oever J, van de Veerdonk FL, Netea MG. IL-1 β /IL-6/CRP and IL-18/ferritin: distinct inflammatory programs in infections. *PLoS Pathogens*. 2016;12(12):10059-73.
4. Ulrich H, Pillat MM. CD147 as a target for COVID-19 treatment: suggested effects of azithromycin and stem cell engagement. *Stem cell reviews and reports*. 2020;16(3):434-40.
5. Muchowska KB, Varma SJ, Moran J. Synthesis and breakdown of universal metabolic precursors promoted by iron. *Nature*. 2019;569(7754):104-7.
6. Yılmaz N, Eren E, Sarkaya C. COVID-19: Demir Ferropitoz Parafibrin. 2020;
7. Yang M, Lai CL. SARS-CoV-2 infection: can ferroptosis be a potential treatment target for multiple organ involvement? *Cell death discovery*. 2020;6(1):1-6.
8. Wei, X., Yi, X., Zhu, X. H., & Jiang, D. S. (2020). Posttranslational Modifications in Ferroptosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 8832043.
9. Habib HM, Ibrahim S, Zaim A, Ibrahim WH. The role of iron in the pathogenesis of COVID-19 and possible treatment with lactoferrin and other iron chelators. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021;136:1112-28.
10. Li J, Cao F, Yin H-l, Huang Z-j, Lin Z-t, Mao N, et al. Ferroptosis: past, present and future. *Cell death & disease*. 2020;11(2):1-13.
11. WHO CO. World health organization. Responding to Community Spread of COVID-19 Reference WHO/COVID-19/Community_Transmission/20201. 2020;
12. Fung TS, Liu DX. Human coronavirus: host-pathogen interaction. *Annual review of microbiology*. 2019;73:529-57.
13. Woo PC, Lau SK, Lam CS, Lau CC, Tsang AK, Lau JH, et al. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *J Virol*. 2012;86(7):3995-4008.
14. Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(6):439-50.

15. Rizzo P, Vieceli Dalla Sega F, Fortini F, Marracino L, Rapezzi C, Ferrari R. COVID-19 in the heart and the lungs: could we "Notch" the inflammatory storm? *Basic Res Cardiol.* 2020;115(3):31-2.
16. Satija N, Lal SK. The molecular biology of SARS coronavirus. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1102(1):26-38.
17. Muniyappa R, Gubbi S. COVID-19 pandemic, coronaviruses, and diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2020;318(5):736-41.
18. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric R, Groot RJD, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses—a statement of the Coronavirus Study Group. 2020;
19. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506.
20. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med.* 2020;382(16):1564-7.
21. Ghinai I, Woods S, Ritger KA, McPherson TD, Black SR, Sparrow L, et al. Community Transmission of SARS-CoV-2 at Two Family Gatherings - Chicago, Illinois, February-March 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020;69(15):446-50.
22. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *Jama.* 2020;323(13):1239-42.
23. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395(10223):507-13.
24. Wang B, Li R, Lu Z, Huang Y. Does comorbidity increase the risk of patients with COVID-19: evidence from meta-analysis. *Aging (Albany NY).* 2020;12(7):6049-57.
25. Wang Y, Ju M, Chen C, Yang D, Hou D, Tang X, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic marker in acute respiratory distress syndrome patients: a retrospective study. *J Thorac Dis.* 2018;10(1):273-82.
26. Ye W, Chen G, Li X, Lan X, Ji C, Hou M, et al. Dynamic changes of D-dimer and neutrophil-lymphocyte count ratio as prognostic biomarkers in COVID-19. *Respir Res.* 2020;21(1):169-70.
27. Lippi G, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis.* 2020;63(3):390-1.

28. Liu F, Li L, Xu M, Wu J, Luo D, Zhu Y, et al. Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19. *J Clin Virol.* 2020;127:1043-70.
29. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020;8(4):420-2.
30. Ye Z, Zhang Y, Wang Y, Huang Z, Song B. Chest CT manifestations of new coronavirus disease 2019 (COVID-19): a pictorial review. *Eur Radiol.* 2020;30(8):4381-9.
31. Kanne JP, Little BP, Chung JH, Elicker BM, Ketani LH. Essentials for Radiologists on COVID-19: An Update-Radiology Scientific Expert Panel. *Radiology.* 2020;296(2):113-4.
32. Khamis F, Al Naabi H, Al Lawati A, Ambusaidi Z, Al Sharji M, Al Barwani U, et al. Randomized controlled open label trial on the use of favipiravir combined with inhaled interferon beta-1b in hospitalized patients with moderate to severe COVID-19 pneumonia. *Int J Infect Dis.* 2021;102:538-43.
33. Ye XT, Luo YL, Xia SC, Sun QF, Ding JG, Zhou Y, et al. Clinical efficacy of lopinavir/ritonavir in the treatment of Coronavirus disease 2019. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020;24(6):3390-6.
34. Özdemir M, Taydaş O, ÖZTÜRK MH. COVID-19 Enfeksiyonunda Toraks Bilgisayarlı Tomografi Bulguları. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research.* 2020;4:91-6.
35. Pekçevik Y, Belet Ü. SARS-CoV-2 Pandemisinde Radyoloji Kliniğinde Hasta Yönetimi, Akciğer Görüntülemenin Rolü ve COVID-19 Pnömonisi ile İlişkili Toraks BT Bulguları. *The Journal of Tepecik Education and Research Hospital.* 2020;30:195-212.
36. He JL, Luo L, Luo ZD, Lyu JX, Ng MY, Shen XP, et al. Diagnostic performance between CT and initial real-time RT-PCR for clinically suspected 2019 coronavirus disease (COVID-19) patients outside Wuhan, China. *Respir Med.* 2020;168:1059-80.
37. Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, et al. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology.* 2020;296(2):32-40.
38. Türken M, Köse Ş. Covid-19 bulaş yolları ve önleme. *Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi.* 2020;30:36-42.
39. Demiray EKD, Çeviker SA. Aşı ve Toplumsal Korunma. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research.* 2020;4:37-44.
40. He Q, Mao Q, Zhang J, Bian L, Gao F, Wang J, et al. COVID-19 Vaccines: Current Understanding on Immunogenicity, Safety, and Further Considerations. *Front Immunol.* 2021;12:66933-9.

41. Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J.* 1997;326 (Pt 1)(Pt 1):1-16.
42. Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ.* 2009;16(1):3-11.
43. Galluzzi L, Aaronson SA, Abrams J, Alnemri ES, Andrews DW, Baehrecke EH, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death Differ.* 2009;16(8):1093-107.
44. Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Tewari M, Dixit VM. FADD, a novel death domain-containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis. *Cell.* 1995;81(4):505-12.
45. Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell.* 1993;74(4):609-19.
46. Su Z, Yang Z, Xu Y, Chen Y, Yu Q. Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis. *Mol Cancer.* 2015;14:48-9.
47. Golstein P, Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends Biochem Sci.* 2007;32(1):37-43.
48. Artal-Sanz M, Tavernarakis N. Proteolytic mechanisms in necrotic cell death and neurodegeneration. *FEBS Lett.* 2005;579(15):3287-96.
49. Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, et al. Essential versus accessory aspects of cell death: recommendations of the NCCD 2015. *Cell Death Differ.* 2015;22(1):58-73.
50. Galluzzi L, Kepp O, Krautwald S, Kroemer G, Linkermann A. Molecular mechanisms of regulated necrosis. *Semin Cell Dev Biol.* 2014;35:24-32.
51. Vandenabeele P, Galluzzi L, Vanden Berghe T, Kroemer G. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11(10):700-14.
52. Degtarev A, Huang Z, Boyce M, Li Y, Jagtap P, Mizushima N, et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol.* 2005;1(2):112-9.
53. Wilson CA, Browning JL. Death of HT29 adenocarcinoma cells induced by TNF family receptor activation is caspase-independent and displays features of both apoptosis and necrosis. *Cell Death Differ.* 2002;9(12):1321-33.
54. Xie Y, Hou W, Song X, Yu Y, Huang J, Sun X, et al. Ferroptosis: process and function. *Cell Death & Differentiation.* 2016;23(3):369-79.

55. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*. 2012;149(5):1060-72.
56. Dixon SJ, Stockwell BR. The role of iron and reactive oxygen species in cell death. *Nat Chem Biol*. 2014;10(1):9-17.
57. Skouta R, Dixon SJ, Wang J, Dunn DE, Orman M, Shimada K, et al. Ferrostatins inhibit oxidative lipid damage and cell death in diverse disease models. *J Am Chem Soc*. 2014;136(12):4551-6.
58. Dixon SJ, Patel DN, Welsch M, Skouta R, Lee ED, Hayano M, et al. Pharmacological inhibition of cystine-glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis. *Elife*. 2014;3: 2523-4.
59. Lemberg K. Ferroptosis: A Novel Form of Cancer Cell Death Induced by the Small Molecule Erastin: Columbia University; 2011;
60. Yagoda N, von Rechenberg M, Zaganjor E, Bauer AJ, Yang WS, Fridman DJ, et al. RAS-RAF-MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature*. 2007;447(7146):864-8.
61. Raimundo N, Song L, Shutt TE, McKay SE, Cotney J, Guan MX, et al. Mitochondrial stress engages E2F1 apoptotic signaling to cause deafness. *Cell*. 2012;148(4):716-26.
62. Hamacher-Brady A, Stein HA, Turschner S, Toegel I, Mora R, Jennewein N, et al. Artesunate activates mitochondrial apoptosis in breast cancer cells via iron-catalyzed lysosomal reactive oxygen species production. *J Biol Chem*. 2011;286(8):6587-601.
63. Probe Reports from the NIH Molecular Libraries Program. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2010;
64. Dolma S, Lessnick SL, Hahn WC, Stockwell BR. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell*. 2003;3(3):285-96.
65. Yang WS, Stockwell BR. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chem Biol*. 2008;15(3):234-45.
66. Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*. 2014;156(1-2):317-31.
67. Arnér ES. Selenoproteins-What unique properties can arise with selenocysteine in place of cysteine? *Exp Cell Res*. 2010;316(8):1296-303.
68. Angeli JPF, Shah R, Pratt DA, Conrad M. Ferroptosis Inhibition: Mechanisms and Opportunities. *Trends Pharmacol Sci*. 2017;38(5):489-98.

69. Kuhn H, Banthiya S, van Leyen K. Mammalian lipoxygenases and their biological relevance. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1851(4):308-30.
70. Friedmann Angeli JP, Schneider M, Proneth B, Tyurina YY, Tyurin VA, Hammond VJ, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nat Cell Biol*. 2014;16(12):1180-91.
71. Fearnhead HO, Vandenabeele P, Vanden Berghe T. How do we fit ferroptosis in the family of regulated cell death? *Cell Death Differ*. 2017;24(12):1991-8.
72. Savaskan NE, Ufer C, Kühn H, Borchert A. Molecular biology of glutathione peroxidase 4: from genomic structure to developmental expression and neural function. *Biol Chem*. 2007;388(10):1007-17.
73. Buettner GR. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Arch Biochem Biophys*. 1993;300(2):535-43.
74. Dalleau S, Baradat M, Guéraud F, Huc L. Cell death and diseases related to oxidative stress: 4-hydroxynonenal (HNE) in the balance. *Cell Death Differ*. 2013;20(12):1615-30.
75. Barrera G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN Oncol*. 2012; 1372-89.
76. Park E, Chung SW. ROS-mediated autophagy increases intracellular iron levels and ferroptosis by ferritin and transferrin receptor regulation. *Cell Death Dis*. 2019;10(11):822.
77. Pantopoulos K, Porwal SK, Tartakoff A, Devireddy L. Mechanisms of mammalian iron homeostasis. *Biochemistry*. 2012;51(29):5705-24.
78. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(7):1017-32.
79. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med*. 2020;14(2):185-92.
80. Chen L, Li X, Chen M, Feng Y, Xiong C. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2. *Cardiovasc Res*. 2020;116(6):1097-100.
81. Guo T, Fan Y, Chen M, Wu X, Zhang L, He T, et al. Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol*. 2020;5(7):811-8.
82. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *Jama*. 2020;323(11):1061-9.

- 83.** Chieffo A, Stefanini GG, Price S, Barbato E, Tarantini G, Karam N, et al. EAPCI Position Statement on Invasive Management of Acute Coronary Syndromes during the COVID-19 pandemic. *Eur Heart J.* 2020;41(19):1839-51.
- 84.** Hendren NS, Drazner MH, Bozkurt B, Cooper LT, Jr. Description and Proposed Management of the Acute COVID-19 Cardiovascular Syndrome. *Circulation.* 2020;141(23):1903-14.
- 85.** Dalen H, Holte E, Guldal AU, Hegvik JA, Stensaeth KH, Braaten AT, et al. Acute perimyocarditis with cardiac tamponade in COVID-19 infection without respiratory disease. *BMJ Case Rep.* 2020;13(8):
- 86.** Shi S, Qin M, Shen B, Cai Y, Liu T, Yang F, et al. Association of Cardiac Injury With Mortality in Hospitalized Patients With COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Cardiol.* 2020;5(7):802-10.
- 87.** Ni W, Yang X, Liu J, Bao J, Li R, Xu Y, et al. Acute Myocardial Injury at Hospital Admission Is Associated With All-Cause Mortality in COVID-19. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(1):124-5.
- 88.** Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020;395(10229):1054-62.
- 89.** Puelles VG, Lütgehetmann M, Lindenmeyer MT, Sperhake JP, Wong MN, Allweiss L, et al. Multiorgan and Renal Tropism of SARS-CoV-2. *N Engl J Med.* 2020;383(6):590-2.
- 90.** Gavriatopoulou M, Korompoki E, Fotiou D, Ntanasis-Stathopoulos I, Psaltopoulou T, Kastritis E, et al. Organ-specific manifestations of COVID-19 infection. *Clin Exp Med.* 2020;20(4):493-506.
- 91.** Amann K, Boor P, Wiech T, Singh J, Vonbrunn E, Knöll A, et al. COVID-19 effects on the kidney. *Der Pathologe.* 2021;42(1):76-80.
- 92.** Cheng Y, Luo R, Wang K, Zhang M, Wang Z, Dong L, et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney Int.* 2020;97(5):829-38.
- 93.** Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, Bacon S, Bates C, Morton CE, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature.* 2020;584(7821):430-6.
- 94.** Gu J, Han B, Wang J. COVID-19: Gastrointestinal Manifestations and Potential Fecal-Oral Transmission. *Gastroenterology.* 2020;158(6):1518-9.
- 95.** Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020;5(5):428-30.

96. Li MY, Li L, Zhang Y, Wang XS. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infect Dis Poverty*. 2020;9(1):45-6.
97. Zhao B, Ni C, Gao R, Wang Y, Yang L, Wei J, et al. Recapitulation of SARS-CoV-2 infection and cholangiocyte damage with human liver ductal organoids. *Protein Cell*. 2020;11(10):771-5.
98. Roth NC, Kim A, Vitkovski T, Xia J, Ramirez G, Bernstein D, et al. Post-COVID-19 Cholangiopathy: A Novel Entity. *Am J Gastroenterol*. 2021;116(5):1077-82.
99. Bangash MN, Patel J, Parekh D. COVID-19 and the liver: little cause for concern. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(6):529-30.
100. Bai Y, Yao L, Wei T, Tian F, Jin DY, Chen L, et al. Presumed Asymptomatic Carrier Transmission of COVID-19. *Jama*. 2020;323(14):1406-7.
101. Boettler T, Newsome PN, Mondelli MU, Maticic M, Cordero E, Cornberg M, et al. Care of patients with liver disease during the COVID-19 pandemic: EASL-ESCMID position paper. *JHEP Rep*. 2020;2(3):1001-13.
102. Satapathy SK, Roth NC, Kvasnovsky C, Hirsch JS, Trindade AJ, Molmenti E, et al. Risk factors and outcomes for acute-on-chronic liver failure in COVID-19: a large multi-center observational cohort study. *Hepatol Int*. 2021;15(3):766-79.
103. Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med*. 2020;8(5):475-81.
104. Chen YM, Zheng Y, Yu Y, et al. Blood molecular markers associated with COVID-19 immunopathology and multi-organ damage. *EMBO J*. 2020;39(24):e105896.
105. Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *Bmj*. 2020;368:1091-2.
106. Zou X, Li S, Fang M, Hu M, Bian Y, Ling J, et al. Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II Score as a Predictor of Hospital Mortality in Patients of Coronavirus Disease 2019. *Crit Care Med*. 2020;48(8):657-65.
107. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *Jama*. 2020;323(20):2052-9.
108. Bellmann-Weiler R, Lanser L, Barket R, Rangger L, Schapfl A, Schaber M, et al. Prevalence and Predictive Value of Anemia and Dysregulated Iron Homeostasis in Patients with COVID-19 Infection. *J Clin Med*. 2020;9(8):

109. Girelli D, Marchi G, Busti F, Vianello A. Iron metabolism in infections: Focus on COVID-19. *Semin Hematol.* 2021;58(3):182-7.
110. Zhao K, Huang J, Dai D, Feng Y, Liu L, Nie S. Serum Iron Level as a Potential Predictor of Coronavirus Disease 2019 Severity and Mortality: A Retrospective Study. *Open Forum Infect Dis.* 2020;7(7):250-1.
111. Taneri PE, Gómez-Ochoa SA, Llanaj E, Raguindin PF, Rojas LZ, Roa-Díaz ZM, et al. Anemia and iron metabolism in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol.* 2020;35(8):763-73.
112. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med.* 2020;46(5):846-8.
113. Weiss G, Ganz T, Goodnough LT. Anemia of inflammation. *Blood.* 2019;133(1):40-50.
114. Muckenthaler MU, Rivella S, Hentze MW, Galy B. A Red Carpet for Iron Metabolism. *Cell.* 2017;168(3):344-61ç
115. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest.* 2004;113(9):1271-6ç
116. Cassat JE, Skaar EP. Iron in infection and immunity. *Cell Host Microbe.* 2013;13(5):509-19ç
117. Kobune M, Kohgo Y, Kato J, Miyazaki E, Niitsu Y. Interleukin-6 enhances hepatic transferrin uptake and ferritin expression in rats. *Hepatology.* 1994;19(6):1468-75.
118. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020;395(10229):1033-4.
119. Buszko M, Nita-Lazar A, Park JH, Schwartzberg PL, Verthelyi D, Young HA, et al. Lessons learned: new insights on the role of cytokines in COVID-19. *Nat Immunol.* 2021;22(4):404-11.
120. Zhou C, Chen Y, Ji Y, He X, Xue D. Increased Serum Levels of Hepcidin and Ferritin Are Associated with Severity of COVID-19. *Med Sci Monit.* 2020;26:9261-78.
121. Nai A, Lorè NI, Pagani A, De Lorenzo R, Di Modica S, Saliu F, et al. Hepcidin levels predict Covid-19 severity and mortality in a cohort of hospitalized Italian patients. *Am J Hematol.* 2021;96(1):32-5.
122. Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, Bush AI, Conrad M, Dixon SJ, et al. Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease. *Cell.* 2017;171(2):273-85.

123. Polonikov A. Endogenous Deficiency of Glutathione as the Most Likely Cause of Serious Manifestations and Death in COVID-19 Patients. *ACS Infect Dis.* 2020;6(7):1558-62.
124. Horowitz RI, Freeman PR, Bruzzese J. Efficacy of glutathione therapy in relieving dyspnea associated with COVID-19 pneumonia: A report of 2 cases. *Respir Med Case Rep.* 2020;30:1010-63.
125. Guloyan V, Oganessian B, Baghdasaryan N, Yeh C, Singh M, Guilford F, et al. Glutathione Supplementation as an Adjunctive Therapy in COVID-19. *Antioxidants (Basel).* 2020;9(10):
126. Wang Y, Huang J, Sun Y, Stubbs D, He J, Li W, et al. SARS-CoV-2 suppresses mRNA expression of selenoproteins associated with ferroptosis, endoplasmic reticulum stress and DNA synthesis. *Food Chem Toxicol.* 2021;153:1122-86.
127. Tang D, Chen X, Kang R, Kroemer G. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications. *Cell Res.* 2021;31(2):107-25.
128. Quinlan CL, Perevoshchikova IV, Hey-Mogensen M, Orr AL, Brand MD. Sites of reactive oxygen species generation by mitochondria oxidizing different substrates. *Redox Biol.* 2013;1(1):304-12.
129. Treberg JR. Review: Using isolated mitochondria to investigate mitochondrial hydrogen peroxide metabolism. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2021;256:1106-14.
130. Ursini F, Maiorino M. Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4. *Free Radic Biol Med.* 2020;152:175-85.
131. Anand SK, Tikoo SK. Viruses as modulators of mitochondrial functions. *Adv Virol.* 2013;7387-94.
132. de Las Heras N, Martín Giménez VM, Ferder L, Manucha W, Lahera V. Implications of Oxidative Stress and Potential Role of Mitochondrial Dysfunction in COVID-19: Therapeutic Effects of Vitamin D. *Antioxidants (Basel).* 2020;9(9):
133. Burtscher J, Cappellano G, Omori A, Koshiha T, Millet GP. Mitochondria: In the Cross Fire of SARS-CoV-2 and Immunity. *iScience.* 2020;23(10):1016-31.
134. McBride R, Fielding BC. The role of severe acute respiratory syndrome (SARS)-coronavirus accessory proteins in virus pathogenesis. *Viruses.* 2012;4(11):2902-23.
135. Gordon DE, Jang GM, Bouhaddou M, Xu J, Obernier K, White KM, et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature.* 2020;583(7816):459-68.
136. Jiang HW, Zhang HN, Meng QF, Xie J, Li Y, Chen H, et al. SARS-CoV-2 Orf9b suppresses type I interferon responses by targeting TOM70. *Cell Mol Immunol.* 2020;17(9):998-1000.

137. Filadi R, Leal NS, Schreiner B, Rossi A, Dentoni G, Pinho CM, et al. TOM70 Sustains Cell Bioenergetics by Promoting IP3R3-Mediated ER to Mitochondria Ca(2+) Transfer. *Curr Biol*. 2018;28(3):369-82.
138. Khomich OA, Kochetkov SN, Bartosch B, Ivanov AV. Redox Biology of Respiratory Viral Infections. *Viruses*. 2018;10(8):
139. Violi F, Oliva A, Cangemi R, Ceccarelli G, Pignatelli P, Carnevale R, et al. Nox2 activation in Covid-19. *Redox Biol*. 2020;36:1016-55.
140. Zablocki D, Sadoshima J. Angiotensin II and oxidative stress in the failing heart. *Antioxid Redox Signal*. 2013;19(10):1095-109.
141. Dikalov SI, Nazarewicz RR. Angiotensin II-induced production of mitochondrial reactive oxygen species: potential mechanisms and relevance for cardiovascular disease. *Antioxid Redox Signal*. 2013;19(10):1085-94.
142. Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol*. 2020;16(7): 9610-1.
143. Jacobs W, Lammens M, Kerckhofs A, Voets E, Van San E, Van Coillie S, et al. Fatal lymphocytic cardiac damage in coronavirus disease 2019 (COVID-19): autopsy reveals a ferroptosis signature. *ESC Heart Fail*. 2020;7(6):3772-81.
144. Edeas M, Saleh J, Peyssonnaud C. Iron: Innocent bystander or vicious culprit in COVID-19 pathogenesis? *Int J Infect Dis*. 2020;97:303-5.
145. Fratta Pasini AM, Stranieri C, Girelli D, Busti F, Cominacini L. Is Ferroptosis a Key Component of the Process Leading to Multiorgan Damage in COVID-19? *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(11):
146. Zhang R, Sun C, Chen X, et al. COVID-19-Related Brain Injury: The Potential Role of Ferroptosis. *J Inflamm Res*. 2022;15:2181-2198.
147. Yan HF, Zou T, Tuo QZ, Xu S, Li H, Belaidi AA, et al. Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):49-50.
148. Yuan H, Pratte J, Giardina C. Ferroptosis and its potential as a therapeutic target. *Biochem Pharmacol*. 2021;186:1144-86.
149. Lodigiani C, Iapichino G, Carenzo L, Cecconi M, Ferrazzi P, Sebastian T, et al. Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. *Thromb Res*. 2020;191:9-14.
150. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708-20.

151. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 2020;180(7):934-43.
152. Fan Z, Chen L, Li J, Cheng X, Yang J, Tian C, et al. Clinical Features of COVID-19-Related Liver Functional Abnormality. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2020;18(7):1561-6.
153. Shi H, Han X, Jiang N, Cao Y, Alwalid O, Gu J, et al. Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2020;20(4):425-34.
154. Seiler A, Schneider M, Förster H, Roth S, Wirth EK, Culmsee C, et al. Glutathione peroxidase 4 senses and translates oxidative stress into 12/15-lipoxygenase dependent- and AIF-mediated cell death. *Cell Metab.* 2008;8(3):237-48.
155. Sha W, Hu F, Xi Y, Chu Y, Bu S. Mechanism of Ferroptosis and Its Role in Type 2 Diabetes Mellitus. *J Diabetes Res.* 2021;2021:9999612
156. Owen JB, Butterfield DA. Measurement of oxidized/reduced glutathione ratio. *Methods Mol Biol.* 2010;648:269-77.
157. Bjørklund G, Peana M, Maes M, Dadar M, Severin B. The glutathione system in Parkinson's disease and its progression. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021;120:470-8.
158. Kalinina EV, Gavriliuk LA. Glutathione Synthesis in Cancer Cells. *Biochemistry (Mosc).* 2020;85(8):895-907.
159. Paolisso G, Di Maro G, Pizza G, D'Amore A, Sgambato S, Tesaro P, et al. Plasma GSH/GSSG affects glucose homeostasis in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetics. *Am J Physiol.* 1992;263(3 Pt 1):435-40.

Covid-19 Hastalığında Ferroptosis Mekanizmasının İncelenmesi

ORJİNALLİK RAPORU

% **9**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **7**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **6**

YAYINLAR

% **6**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Bahcesehir University Öğrenci Ödevi	% 3
2	Submitted to Harran Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 2
3	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	% 1
4	repo.knmu.edu.ua İnternet Kaynağı	<% 1
5	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	<% 1
6	shyk2018.mu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to Ataturk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
8	Submitted to Recep Tayyip Erdogan University Öğrenci Ödevi	<% 1
9	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1

- 10 DİLEKÇİ, Erdal, ALPAYCI, Mahmut, BAYRAM, Korhan Barış, BAL, Serpil, KOÇYİĞİT, Hikmet, GÜRGAN, Alev and KAPLAN, Şeyhmus. <math>< \% 1</math>
"Lateral epikondilitli hastalarda TENS'in etkinliği: Randomize kontrollü çalışma", Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Derneği, 2016.
Yayın
- 11 Gökhan SARISOY, Dilek DURMUŞ, Ömer BÖKE, Ferhan CANTÜRK, Ahmet Rifat ŞAHİN. <math>< \% 1</math>
"Ankilozan Spondilit Hastalarında Stresle Başa Çıkma Tutumları ve Beden İmgesi", Nöro Psikiyatri Arşivi, 2014
Yayın
- 12 Harun Gülbudak, Şinasi Karvar, Gizem Soydan, Seda Tezcan Ülger et al. <math>< \% 1</math>
"Comparison of Real Time PCR Cycle Threshold Values in Symptomatic and Asymptomatic COVID-19 Patients", Mikrobiyoloji Bulteni, 2021
Yayın
- 13 tez.yok.gov.tr <math>< \% 1</math>
İnternet Kaynağı
- 14 "Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 <math>< \% 1</math>
Yayın
- 15 9lib.net <math>< \% 1</math>
İnternet Kaynağı

16	www.journaltoocs.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1
17	www.klimikdergisi.org İnternet Kaynağı	<% 1
18	acikerisim.uludag.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
19	xhwebstorage.blob.core.windows.net İnternet Kaynağı	<% 1
20	Supreet Kaur, Rashika Bansal, Sudarsan Kollimuttathuillam, Anusha Manje Gowda, Balraj Singh, Dhruv Mehta, Michael Maroules. "The looming storm: Blood and cytokines in COVID-19", Blood Reviews, 2021 Yayın	<% 1
21	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
22	www.msmsu.ru İnternet Kaynağı	<% 1
23	Toshiaki Iba, Jerrold H. Levy, Jean Marie Connors, Theodore E. Warkentin, Jecko Thachil, Marcel Levi. "The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy", Critical Care, 2020 Yayın	<% 1
24	bilgify.com İnternet Kaynağı	<% 1

25	veteriner.fusabil.org İnternet Kaynağı	<% 1
26	earsiv.atauni.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
27	www.ctf.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
28	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
29	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<% 1

Alıntıları çıkart

üzerinde

Eyleşmeleri çıkart

üzerinde

Bibliyografyayı Çıkart

üzerinde