

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**COVID-19 PNÖMONİSİ OLAN HASTALARDA
T HÜCRE ALT GRUPLARININ ROLÜ**

Hülya ÖZDEMİR

DOKTORA TEZİ

İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hasibe ARTAÇ

KONYA-2024

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**COVID-19 PNÖMONİSİ OLAN HASTALARDA
T HÜCRE ALT GRUPLARININ ROLÜ**

Hülya ÖZDEMİR

DOKTORA TEZİ

İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hasibe ARTAÇ

“Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 19102036 proje numarası ile desteklenmiştir.”

KONYA-2024

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, bizleri daima okumaya ve araştırmaya teşvik eden, bizim eğitimimiz için bizden daha fazla çaba gösteren, yetişmemde büyük emeği olan tez danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr. Hasibe ARTAÇ'a,

COVID-19'lu hastalara ulaşmamda yardımcı olan, bilgisini ve sabrını esirgemeyen Göğüs Hastalıkları öğretim üyesi Doç. Dr. Dilek ERGÜN ve Arş. Gör. Dr. Ecem NARİN ÇOPUR'a,

Tezimin istatistiklerini yapan, her zaman desteğini hissettiğim arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Neriman AKDAM'a,

Doktora süresince birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum, destek ve yardımları ile her zaman yanımda olan Dr. Ayça CEYLAN'a,

Doktora tezimi maddi olarak destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

Zorlu doktora eğitimi sürecinde desteklerini esirgemeyen bu günlere gelmemi sağlayan canım anneme ve babama, uzun laboratuvar deneyleri süresince yalnız bıraktığım hayatımın anlamı sevgili kızım Belinay'a,

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vii
SUMMARY	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. SARS-CoV-2 Virüsünün Özellikleri.....	1
1.1.1. Sınıflama.....	1
1.1.2. Virüsün Yapısı.....	3
1.1.3. SARS-CoV-2'nin Hücre İçine Girişi.....	4
1.2. COVID-19 İmmünolojisi.....	6
1.2.1. Doğal İmmünite.....	6
1.2.2 Edinsel İmmünite.....	11
1.3. Klinik Özellikler.....	14
1.4. Laboratuvar Bulguları	14
2. GEREÇ VE YÖNTEM	16
2.1. Hasta Seçimi.....	16
2.2. Akım Sitometri Analizi	17
2.2.1. Yüzey Boyama	18
2.2.2. Periferik Kan Mononükleer Hücrelerin Ayrılması ve Uyarılması	21
2.2.3. Sitometrik Boncuk Yöntemi (CBA) Analizi	26
2.3. İstatistiksel Analiz	29
3. BULGULAR	30
3.1. Hasta Özellikleri.....	30
3.2. Laboratuvar Bulguları.....	31
3.3. Yardımcı T Hücre Alt Grupları	33
3.4. Hücre İçi Sitokin Düzeylerine Göre T Hücre Alt Grupları	36
3.5. CBA Yöntemi İle Serumda Belirlenen Sitokinler	38
3.6. Laboratuvar Bulguları ve T Hücre Alt Grupları Arasındaki Korelasyon.....	38
4. TARTIŞMA	50
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
6. KAYNAKLAR	54

7. EKLER	62
EK-A: Etik Kurul Kararı	62
EK-B: Tezden Üretilmiş Yayınlar	63
8. TURNİTİN RAPORU	64
9. ÖZGEÇMİŞ	73



SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE2	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2
ADE	: Antikor bağımlı güçlendirme
ALT	: Alanin transaminaz
APC	: Allphyocyanin
APTT	: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
ARDS	: Akut solunum sıkıntısı sendromu
ASH	: Antijen sunucu hücre
AST	: Aspartat transaminaz
BKH	: Beyaz kan hücresi
CD	: Cluster of differantiation
CK	: Kreatin kinaz
CoV	: Korona virüs
COVID-19	: Koronavirüs hastalık-19
CRP	: C reaktif protein
DH	: Dendritik hücre
dk	: Dakika
dl	: Desilitre
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FITC	: Flourescein isothiocyanate
γ	: Gama
HCoV	: İnsan koronavirüs
HIV	: İnsan immün yetmezlik virüsü
ICTV	: 10. Virüs taksonomisi komitesi
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
LDH	: Laktat dehidrojenaz
INR	: International normalized ratio
MAS	: Makrofaj aktivasyon sendromu
MDSC	: Miyeloid türevli baskılayıcı hücreler
MERS	: Ortadoğu solunum sendromu
mg	: Miligram
ml	: Mililitre

μl	: Mikro litre
NK	: Doğal öldürücü hücre
ORF	: Açık okuma çerçevesi
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PD-1	: Programlanmış hücre ölüm proteini-1
PE	: Phycoerythrin
PercP	: Perdinin chlorophyhill protein
PT	: Protrombin zamanı
RAS	: Renin anjiotensin sistemi
SARS	: Şiddetli akut solunum sendromu
SARS-CoV-2	: Şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
SS	: Standart Sapma
Tc	: Sitotoksik T hücre
Th	: Yardımcı T hücre
Tfh	: Foliküler yardımcı T hücre
TMPRSS2	: Serin proteaz transmembran proteaz serin 2

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

COVID-19 Pnömonisi Olan Hastalarda T Hücre Alt Gruplarının Rolü

Hülya ÖZDEMİR

İmmünoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2024

SARS-CoV-2, küresel bir pandemiye yol açan ve milyonlarca vaka ile yüz binlerce ölüme neden olan yüksek derecede bulaşıcı bir virüstür. İnsan SARS-CoV-2 enfeksiyonu, hafiften orta düzeye kadar olan ve kendiliğinden sınırlı seyir gösteren hastaların %80'den fazlasında klasik bir solunum virüsü benzeri klinik seyre sahiptir. Bu durum, doğal bağışıklık yanıtının ve T- ve B-hücre bağışıklığının ve antiviral nötralize edici antikor yanıtının tüm iyi bilinen yönlerini içerir. Viral enfeksiyon sırasında, yardımcı T hücreleri (Th) edinsel immünitede önemli bir rol oynar. Bu çalışmada COVID-19 pnömonisi olan hastalarda T hücre alt gruplarının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya 60 COVID-19 hastası ve 29 sağlıklı kontrol dahil edildi. CD4⁺ T hücre alt grupları (Th1, Th2, Th17, Th22, CD4⁺Treg, CD4⁺Tfh ve CD4⁺Tph) ve CD8⁺ T hücre alt grupları (Tc1, Tc2, Tc17, Tc22, CD8⁺Treg, CD8⁺Tfh ve CD8⁺Tph) eksprese ettikleri yüzey reseptörlerine ve/veya hücre içi sitokin düzeylerine göre akım sitometri yöntemi ile çalışıldı. Sitometrik boncuk yöntemi (CBA-Cytometric Bead Array), serumda İnterlökin-2 (IL-2), IL-4, IL-6, IL-10, Tümör Nekroz Faktörü (TNF), İnterferon-gama (IFN- γ) ve IL-17A protein seviyelerini akımsitometrik olarak ölçmek için kullanıldı.

Ağır ve hafif seyirli pnömonili hastalarda Th1, Th17.1, Th1/Th17 oranı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü. Ağır pnömonili hastalarda bellek CD4⁺ T hücreler kontrol grubuna göre düşüktü. T hücre kültüründe; IL-22⁺ salgılayan T hücre alt grupları ise ağır pnömonili hastalarda kontrole kıyasla yüksek olduğu saptandı. CBA yöntemi ile; IL-17 sitokini, ağır pnömonili hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (p=0,036), hafif seyirli hastalarda ise fark yoktu (p>0,005). TNF, IL-10 ve IL-6 sitokinleri, hafif seyirli ve ağır pnömonili grupta kontrole göre yüksekti (TNF: hafif seyirli ile kontrol: p=0,001, ağır ve kontrol: p=0,015. IL-10: hafif seyirli ile kontrol: p=0,001, ağır ve kontrol: p=0,001. IL-6: hafif seyirli ile kontrol: p=0,027, ağır ve kontrol: p=0,012). IL-4 sitokini, ağır pnömonili grupta hafif seyirli ve kontrole göre daha yüksekti (sırasıyla, p=0,030 ve p=0,012). IFN- γ ve IL-2 sitokinlerinde ise hasta ve kontrol grubu arasında fark yoktu (p>0,005).

Ağır ve hafif seyirli pnömonili hastalarda Th1 hücre oranının düşüklüğü ve ağır pnömonili hastalarda bellek CD4⁺ T hücrelerin düşük olması hastalığın seyrinde Th1 ve bellek T hücre yanıtının önemli olabileceğini göstermektedir. IL-22⁺ salgılayan T hücre alt gruplarının ağır pnömonili hastalarda yüksek olması IL-22'nin hastalığın kontrol altına alınmasındaki önemini göstermektedir. Gelecekte hastaların başlangıç ve iyileştikten sonraki T hücre alt grupları ve sitokinlerinin karşılaştırıldığı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: COVID-19, T hücre alt grupları, Foliküler T hücre

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

The Role of T Cell Subsets In Patients With COVID-19 Pneumonia

Hülya ÖZDEMİR

Department of Immunology

PhD THESIS / KONYA-2024

SARS-CoV-2 is a highly contagious virus that has led to a global pandemic, causing millions of cases and hundreds of thousands of deaths. Human infection with SARS-CoV-2 exhibits a clinical course resembling a classic respiratory virus in more than 80% of patients, ranging from mild to moderate severity and showing a self-limiting course. This condition includes all well-known aspects of natural immune response, T-cell and B-cell immunity, and antiviral neutralizing antibody response. During viral infection, helper T cells (Th) play a significant role in acquired immunity. This study aims to investigate T cell subsets in patients with COVID-19 pneumonia.

In patients with severe and nonsevere pneumonia, the Th1, Th17.1, Th1/Th17 ratio was statistically significantly lower compared to the control group. Memory CD4+ T cells were lower in patients with severe pneumonia compared to the control group. In T cell culture; IL-22+ secreting T cell subsets were found to be higher in patients with severe pneumonia compared to the control group. Using the CBA method; the IL-17 cytokine was found to be higher in patients with severe pneumonia compared to the control group ($p=0.036$), while there was no difference in patients with nonsevere pneumonia ($p>0.005$). TNF, IL-10, and IL-6 cytokines were higher in both nonsevere and severe pneumonia groups compared to the control group (TNF: nonsevere vs. control: $p=0.001$, severe vs. control: $p=0.015$. IL-10: nonsevere vs. control: $p=0.001$, severe vs. control: $p=0.001$. IL-6: nonsevere vs. control: $p=0.027$, severe vs. control: $p=0.012$). The IL-4 cytokine was higher in the severe pneumonia group compared to both nonsevere pneumonia and control groups (respectively, $p=0.030$ and $p=0.012$). However, there was no difference between patient and control groups in IFN- γ and IL-2 cytokines ($p>0.005$).

The low ratio of Th1 cells in patients with severe and nonsevere pneumonia and the low memory CD4+ T cells in patients with severe pneumonia indicate the potential importance of Th1 and memory T cell responses in the course of the disease. The high levels of IL-22+ secreting T cell subsets in patients with severe pneumonia indicate the importance of IL-22 in controlling the disease. Future studies comparing T cell subsets and cytokines at the onset and after recovery of patients are needed.

Keywords: COVID-19, Follicular T cell, T cell subgroups

1. GİRİŞ

Şiddetli akut solunum sendromu korona virüsü 2 (SARS-CoV-2) ilk kez Aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinde ortaya çıktı. SARS-CoV-2, zoonotik hastalıklara neden olan ve halk sağlığı için büyük bir tehdit oluşturan, oldukça patojenik bir insan koronavirüsü (HCoV) türüdür. SARS-CoV-2'nin, Çin dışında tüm dünyaya yayılması nedeniyle, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 11 Mart 2020'de küresel salgın (pandemi) olarak ilan etmiştir. Türkiye'de ise ilk vaka 11 Mart 2020 tarihinde duyurulmuştur. Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) olan hastaların çoğunluğu iyi bir prognoza sahip olmasına rağmen, kritik derecede hasta kişiler ve hatta ölümler gözlenmiştir. Yüksek enfeksiyon oranı ve ciddi hastalık seyri, dünya çapında büyük güvenlik ve sosyal kısıtlama önlemlerine yol açmıştır.

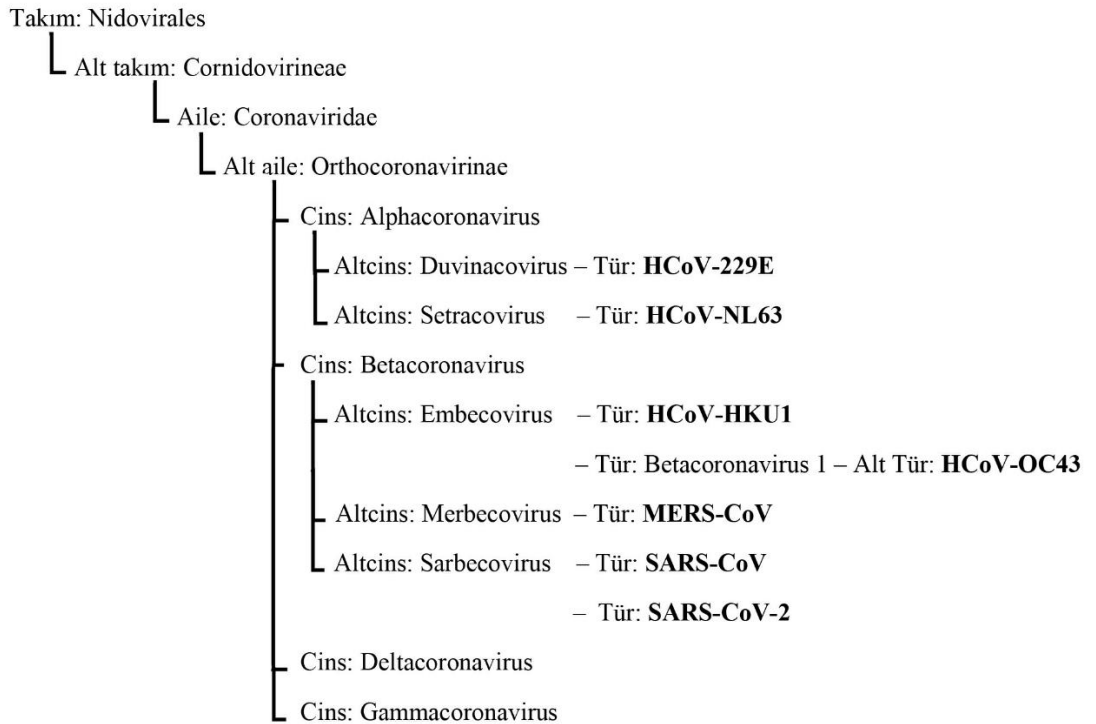
Hastalığın etkeni olan SARS-CoV-2 virüsü ile bireyin immün sistemi arasındaki etkileşim, COVID-19 hastalığının çeşitli klinik görünümleri ile sonuçlanır. Asemptomatik vakalardan, yoğun bakım gerektiren ağır pnömonili vakalara kadar değişen farklı klinik oluşumların altında yatan immünolojik mekanizmalar henüz yeterince aydınlatılabilmemiş olmadığından hastalığa karşı etkin tedavilerin belirlenmesi için immün sistem yanıtlarını incelemek ve hastalığın patogenezi yeterince anlamak önem taşımaktadır. Çalışmamızda, COVID-19 pnömonisi ile yatan hastalarda yardımcı T hücre (Th) ve sitotoksik T hücre (Tc)'lerinin alt gruplarına ve ilişkili sitokinlere çalışılarak klinik, laboratuvar ve radyolojik bulgularla olan korelasyonu değerlendirilmiştir.

1.1. SARS-CoV-2 Virüsünün Özellikleri

1.1.1. Sınıflama

Genel olarak binlerce koronavirüs türü bilinmektedir. 10. Uluslararası Virus Taksonomisi Komitesi (ICTV) raporuna dayanarak, Koronavirüsler Nidovirales takımı, Coronavirineae alt takımı, Coronaviridae ailesi, Orthocoronavirinae alt ailesi (Şekil 1.1) altında sınıflandırılmaktadır. Orthocoronavirinae ise, dört cinse ayrılmıştır: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus ve Deltacoronavirus (Liu ve ark 2021). İnsanlarda enfeksiyona neden olan türler Alphacoronavirus ve Betacoronavirus cinsleri içerisinde yer almaktadır. İnsanlarda enfeksiyona neden olan yedi tip CoV türü bulunmaktadır. Bunlardan dördü hafif hastalıklara neden olur (CoV-

229E, CoV-NL63, CoV-OC43 ve CoV-HKU1) ve küresel olarak endemiktir ve şiddetli olmayan akut solunum sendromu (SARS) benzeri CoV'ler olarak adlandırılırlar. Alphacoronavirus cinsi içerisinde HCoV-229E ve HCoV-NL63 bulunurken, Betacoronavirus cinsi içerisinde yer alan HCoV-OC43 ve HCoV-HKU1 virüsleri 2002 yılına kadar insanlarda enfeksiyona neden olmuştur. Son 20 yılda, salgınlara ve ölümcül insan hastalıklarına neden olabilecek yüksek derecede patojenik, Betacoronavirus cinsi içerisinde yer alan yeni zootonik CoV ortaya çıkmıştır. Kasım 2002'de Ciddi Akut Solunum Sendromuna (Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)) neden olan SARS-CoV salgını ortaya çıkmış ve virüsün hayvanlardan insanlara geçtiği gösterilmiştir. Haziran 2012'de ise Orta Doğu Solunum Sendromuna (Middle East Respiratory Syndrome (MERS)) neden olan MERS-CoV tanımlanmıştır. İnsanlarda hastalığa neden olan son üye ise Aralık 2019'da Çin'de ortaya çıkan, Ciddi Akut Solunum Sendromuna (Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)) neden olan SARS-CoV-2'dir. (Tablo 1.1). SARS-CoV-2'nin neden olduğu hastalığa koronavirüs hastalığı-2019 (COVID-19) adı verilmiştir (Song ve ark 2019, Huang ve ark 2020a, Felsenstein ve ark 2020).



Şekil 1.1. Koronavirüslerin sınıflaması (Liu ve ark 2021).

Tablo 1.1. İnsanlarda enfeksiyona neden olan Koronavirüs türleri (Alipoor ve ark 2021).

İsim	Yıl	Grup	Konak	Reseptör	Hastalık
HCoV-229E	1966	α	İnsan	Aminopeptidaz N (hAPN, CD13)	Hafif solunum yolu enfeksiyonu
HCoV-OC43	1967	β	İnsan	9-O-asetillenmiş sialik asit	Hafif solunum yolu enfeksiyonu
SARS-CoV	2003 Çin	β	İnsan	ACE2/CD209L	Ciddi akut solunum sistemi sendromu
HCoV-NL63	2004 Hollanda	α	İnsan	ACE2	Hafif solunum yolu enfeksiyonu
HCoV-HKU1	2005 Hong Kong	β	İnsan	9-O-asetillenmiş sialik asit	Üst solunum yolu enfeksiyonu ve pnömoni
MERS-CoV	2012 Orta Doğu	β	İnsan	DPP4	Ciddi akut solunum sistemi sendromu
SARS-CoV-2	2019 Çin	β	İnsan	ACE2	Ciddi akut solunum sistemi sendromu

1.1.2. Virüsün Yapısı

Koronavirüsler (CoV'ler), memelileri ve diğer birçok hayvanı enfekte edebilen, zarflı, tek iplikli, pozitif polariteli RNA virüsleridir. 90-120 nm çapındadırlar. Dış yüzeylerinde bulunan glikoprotein yapıdaki çıkıntılar nedeniyle taç anlamına gelen corona adı verilmiştir. Elektron mikroskobu altında, virüs partikülleri pürüzlü küresel veya çok yüzlü kristal şekline sahiptir. Virüslerin yüzeyinde, diken (spike) proteininden oluşan belirgin çıkıntılar bulunmaktadır (Ye ve ark 2020). Virüs partikülünün içinde nükleokapsid proteini içine sarılmış viral genom bulunmaktadır. Viral genom yaklaşık olarak 26,000 ila 32,000 baz çifti içerir. CoV'lar bilinen en büyük RNA virüsleridir. Pozitif iplikli viral RNA, 5' ucunda bir kep yapısını ve 3' ucunda çoklu poli(A) kuyruklarını içerir. Bu, mesajcı RNA (mRNA) olarak işlev görerek replikaz/transkriptaz ve viral yapısal proteinlerin translasyonuna izin verir. Replikaz/transkriptaz genleri, 5'-ucun RNA dizisinin yaklaşık 2/3'ünü oluşturur ve iki

örtüşen açık okuma çerçevesinden (ORF) oluşur (ORF1a ve ORF1b). ORF'ler, 16 yapısal olmayan proteini kodlar. RNA dizisinin geri kalan 1/3'ü, dört klasik viral yapısal protein olan diken (spike (S)) protein, zarf (envelope (E)) protein, membran (M) protein ve nükleokapsid (N) proteinini kodlar. Ayrıca, bazı viral yardımcı proteinleri kodlayan genler, viral yapısal proteinlerin kodlama bölgelerine yayılmıştır (Tablo 1.2). Bu yardımcı protein genlerinin kodlama bölgeleri ve sayısı, CoV sınıflandırması için önemli bir temel oluşturur. CoV'lar; kuşlar, insanlar ve bazı diğer omurgalıları içeren çeşitli konak türlerini enfekte edebilirler. Bu virüsler genellikle solunum ve bağırsak enfeksiyonlarına neden olur ve çeşitli klinik belirtilere yol açarlar (Brian ve Baric 2005, Peck ve ark 2015, Su ve ark 2016).

Tablo 1.2. Koronavirüslerin yapısal proteinleri ve özellikleri (Ursavaş ve Akalın 2021).

Protein	Özellik
S proteini	Konak hücrede reseptöre bağlanma, membran füzyonu, konak hücre tropizminin belirlenmesi, ACE-2 reseptörüne bağlanma
M proteini	Viriyonun şekillenmesi, virüs salınımı, nükleokapsid proteininin stabilizasyonu, nükleokapsid-RNA kompleksi oluşumu, interferon-beta aktivasyonu
E proteini	Viral parçaların bir araya getirilmesi, virüs salınımı
N proteini	Viriyonun şekillenmesi, virüs salınımı
HE proteini	Sialik asit içeren reseptörlere tutunma

1.1.3. SARS-CoV-2'nin Hücre İçine Girişi

SARS-CoV-2 öksürme ve hapşırma sırasında solunum damlacıkları aracılığıyla bulaşır ve inhalasyonla nazal sistemden girer ve replikasyona başlar. Birçok farklı mekanizma ile hücre içine girebilir. Bu mekanizmalardan en önemlisi, anjiotensin dönüştürücü enzim 2 (angiotenin-converting enzyme 2 (ACE2)) reseptörü aracılığı ile direk membran difüzyonudur (Wang ve ark 2020e). Virüsteki S proteini ACE2 reseptörüne bağlanır. Konak hücredeki serin proteaz transmembran proteaz serin 2 (TMPRSS2) enzimi virüste bulunan S proteinini S1 ve S2 alt birimine parçalayıp, hücresel membranla birleşmeyi, endositoz ile hücreye girişi ve replikasyon sürecinin başlamasını sağlar. S1, konak reseptörüne viral bağlanmayı kolaylaştırırken, S2 ise virüs-hücre membran füzyonunu sağlar (Hoffman ve ark 2020). TMPRSS2'ye ek olarak, furin, katepsin L (CTSL) ve katepsin B (CTSB) S proteinini parçalayan

diğer proteazlardır (Zhou ve ark 2015). ACE2 reseptörleri akciğer, bağırsak, kalp, böbrek gibi pek çok dokuda bulunmaktadır. Fakat doğal ve edinsel immün hücrelerde eksprese edilmemektedir. Virüs ve konakçı hücre arasındaki membran füzyonundan sonra viral genom RNA'sı sitoplazmaya ulaşır, ardından aksesuar ve yapısal proteinlerin translasyonu gerçekleşir. Yeni oluşturulan genomik RNA, nükleokapsid proteinleri ve zar glikoproteinleri bir araya gelir ve viral partikül tomurcuklarını oluşturur. Son olarak, viryon içeren veziküller plazma zarı ile birleşir ve virüsü serbest bırakır (Shang ve ark 2020). ACE2'nin virüs girişi sırasında hücre içerisine alınması ve parçalanması renin-anjiyotensin sistemini (RAS) de etkileyerek, anjiyotensin-2 artışına sebep olmaktadır. Endotel hücresinin enfeksiyonu neticesinde oluşan endotelyitis, apoptoz ve RAS dengesindeki bozulma; iskemi, ödem, hiperkoagülabilite ve benzeri birçok duruma yol açar (Magro 2020, Varga 2020).

SARS-CoV-2'nin hücre içine girişi için öne sürülen bir diğer mekanizma antikor bağımlı güçlendirme (antibody-dependent enhancement (ADE))'dir. Virüs anti-S antikorlarının varlığında yüzeyinde Fc- γ -2 (CD32) reseptörü bulunan hücrelere antikor-virüs kompleksi şeklinde girer. ADE ile monosit-makrofaj hücrelerine giren SARS-CoV'un, sitokin/kemokin salınımı ve hücre apoptozu üzerine etkileri olabileceği düşünülmektedir. Virüs bu yolla hücreye girebilmesine rağmen, hücre içinde çoğalabildiği ve sonrasında hücreden dışarıya salındığı ispatlanamamıştır (Takada ve Kawaoka 2003, Fu ve ark 2020).

SARS-CoV-2 virüsünün, konak hücreleri enfekte etmek için kullandığı bir başka mekanizma ise CD147 proteindir. T lenfositlerin yüzeyinde bulunan CD147 proteini, SARS-CoV-2'nin S proteini ile etkileşim yeteneğine sahiptir (Wang ve ark 2020d, Su ve ark 2021). Ancak hücreler, CD147'yi ACE2'ye kıyasla daha az ifade ederler. Bu nedenle virüs, bu tür hücreleri enfekte etmek için bu proteini alternatif bir reseptör olarak kullanabilir (Radzikowska ve ark 2020, Wang ve ark 2020d). CD147, Basigin olarak da bilinen bir transmembran glikoprotein proteindir ve bağışıklık sistemini düzenleme, kanser, bulaşıcı hastalıklar ve inflamasyon gibi çeşitli patolojileri kontrol etme konusunda çoklu işlevlere sahiptir (Xin ve ark 2016 Guindolet ve ark 2020). Genellikle dendritik hücrelerde (DH) ifade edilen CD209 (DC-SIGN) ve akciğer, karaciğer ve böbrek hücrelerinde ifade edilen CD209L (L-SIGN), SARS-

CoV-2 virüsünü tanıyabilen ve hücrelere girişini kolaylaştırabilen C tipi lektin ailesinin reseptörleridir (Brufsky ve ark 2020, Rahimi ve ark 2020).

1.2. COVID-19 İmmünolojisi

1.2.1. Doğal İmmünite

Toll-benzeri reseptörler

Toll-benzeri reseptörler (TLR'ler) bakterilerin, virüslerin ve fungusların parçacıklarını tanıyan germline-kodlu hücre yüzeyi veya sitoplazmik proteinlerin bir ailesidir. Makrofajlar, myeloid ve plazmasitoid dendritik hücreler ve bazı epitelyal hücrelerin üzerinde bulunur. Sadece patojenlerin varlığında sinyal verme değil aynı zamanda edinsel bağışıklık cevapların gelişmesi için önemli olan yardımcı uyarıcı moleküllerin ve efektör sitokinlerin ekspresyonunu da tetikler (Lydyard ve ark 2011) TLR'ler virüsün lipid, protein ve nükleik asit yapısındaki patojen ilişkili moleküler kalıp (PAMP)'ları tanırlar. TLR'ler tarafından PAMP'ların tanınması, hücre zarlarında, endozomlarda, lizozomlarda, endositolizozomlarda ve hücredeki diğer yerlerde de gerçekleşir (Akira ve ark 2006). Koronavirüslere ait E proteinlerinin TLR2, S proteinlerinin TLR4, ssRNA'nın TLR7/8 ve replikasyon sırasında ortaya çıkan dsRNA'nın ise TLR3 tarafından tanındığı düşünülmektedir. SARS-CoV-2 S proteininin TLR4 ile güçlü etkileşime girmesinin konakçının akciğerlerinde yoğun immün yanıtı neden olduğu, oluşan sitokin fırtınasıyla, sekresyonların birikmesi ve kan oksijenasyonunun engellenmesini gerçekleştirdiği öngörülmektedir (Moremo-Eutimio ve ark 2020, Brandao ve ark 2021).

Dendritik hücreler (DH)

Dendritik hücreler (DH), doğal bağışıklık ve edinsel bağışıklık yanıtlarında önemli bir rol oynar. Organizmanın en güçlü antijen sunan hücreleri olarak, etkili bir şekilde T-lenfositlerin ve B-lenfositlerin aktivasyonunu uyarmak suretiyle doğal ve edinsel bağışıklığı birleştirirler. Olgunlaşmamış DH'ler güçlü göç yeteneğine sahiptir. Olgun DH'ler, bağışıklık yanıtlarının başlatılması, düzenlenmesi ve sürdürülmesinin merkezi halkasında etkili bir şekilde T hücrelerini aktive edebilir. Bu nedenle, DH'lerin olgunlaşma süreci engellendiğinde, bunun doğrudan sonraki edinsel bağışıklık yanıtlarının başlatılmasını etkilediği gözlenir (Li ve ark 2020a). Kan dolaşımındaki iki

ana DH grubu vardır: plazmasitoid dendritik hücreler (pDH'ler) ve konvansiyonel dendritik hücreler (cDH'ler). Her DH grubu, konumları bakımından farklılık gösterir ve çeşitli özel fonksiyonlara sahiptir (Li ve ark 2020a).

SARS-CoV-2 enfeksiyonu olgunlaşmamış DH'lerde olgunlaşma sürecini bozarak Tip 1 IFN sinyalizasyonu ve T hücre yanıtının azalmasına neden olabilir. Olgun DH'lerin SARS-CoV-2 enfeksiyonu, CD209 ve furin ekspresyonlarını artırarak, bu hücrelerin enfekte olmasını daha çok artırır (Ursavaş ve Akalın 2021). DH'lerin antijen sunma yeteneğinin SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında azaldığından, yardımcı T lenfosit aktivasyonu için önemli olan CD80 ve CD86 yardımcı uyarıcı proteinler de benzer şekilde etkilenir (Zhou ve ark 2020b, Buttenschön ve Mattner 2021). Apoptoz gelişimi ile DH'lerde antijen sunumu aynı zamanda değiştirilebilir çünkü SARS-CoV-2, bir metabolik stres durumu oluşturabilir ve hücre ölümünü indükleyebilir (Kumar 2021). SARS-CoV-2, bağışıklık yanıtından kaçma stratejisi olarak, DH'lerin IFN-I üretme yeteneğini, STAT1 fosforilasyonunu inhibe ederek değiştirir (Yang ve ark 2020a). Onodi ve arkadaşları, DH'lerin SARS-CoV-2 enfeksiyonuna dirençli olduğunu ve bu nedenle IFN-I ifadesini yapabildiğini, DH'lerin SARS-CoV-2 tarafından aktive edilmesinin IRAK4 ve UNC93B1 moleküllerine bağlı olduğunu göstermiştir. Bunlar DH'lerde ifade edilen TLR7 ve 9 gibi TLR sinyallemede rol oynayan moleküllerdir (Onodi ve ark 2021). DH'ler, dolaşan çözünebilir IL-6 reseptörü (sIL-6R) ifadesinin güçlü indükleyicileridir. Bu da kanda serbest IL-6'yi düzenleyebilir. DH'ler, sIL-6R'nin inhibitörü olan çözünebilir glikoprotein 130 (sgp130) üzerine aşırı miktarda katkıda bulunabilir. Bu dengesizlik trans IL-6 sinyali gelişmesine izin verir ve bu da COVID-19'daki inflamatuvar durumu destekleyebilir (Yousif ve ark 2021).

Monosit/Makrofajlar

Myeloid öncü hücrelerden farklılaşan mononükleer hücreler, dolaşımda monositler olarak, dolaşım sistemini terk edip dokulara girdikleri zaman ise makrofaj olarak bilinirler. Makrofajlar, antimikrobiyal moleküller üreterek, fagositoz yaparak ve antijen sunan hücreler (ASH) olarak işlev görerek organizmanın bir patojene karşı savunmasında önemli bir rol oynar (Abbas ve ark 2015, Ursavaş ve Akalın 2021). Şiddetli COVID-19'lu hastalarda, inflamatuvar monosit kökenli makrofaj sayısı akciğerlerde geniş ölçüde artar (Gomez-rial ve ark 2020, Merad ve ark 2020, Wauters

ve ark 290), anti-enflamatuar yanıtlar üreten alveoler makrofajların popülasyonu ise azalır (Wauters ve ark 2020). Akciğer enfeksiyonu gerçekleştiğinde veya inflamatuvar koşullar nedeniyle makrofaj sayısında artış, monositlerin akciğere çekilmesiyle tetiklenir ve burada makrofajlara farklılaşır (Meidaninikjeh 2021). COVID-19'da yaygın olarak ifade edilen IL-6 ve GM-CSF, monositlerin makrofajlara farklılaşmasında önemli bir rol oynar (Gomez-rial ve ark 2020). Ayrıca, analizler, COVID-19'lu hastalarda, artmış sayıda inflamatuvar monosit çeken birkaç kemokin kodlayan genin aşırı ifadesini göstermektedir (Gustine ve ark 2021, Rabaan ve ark 2021). Kontrolsüz makrofaj aktivasyonu ve proinflamatuvar sitokinlerin yüksek ifadesini oluşturan proliferasyon, makrofaj aktivasyon sendromu (MAS) olarak bilinir (McGonagle ve ark 2020, Moore ve ark 2020). Bazı çalışmalar, şiddetli COVID-19'lu hastalarda MAS'ın abartılı proinflamatuvar sitokin üretiminin pıhtılaşma anormallikleri ile ilişkili olabileceğini öne sürmüştür (Meidaninikjeh 2021, Wauters ve ark 2021). MAS'ta genellikle üretilen proinflamatuvar sitokinler GM-CSF, TNF-a, IL-6 ve IL-1b'dir. Bunlar COVID-19'da yaygın olarak tespit edilen sitokinlerdir. Ayrıca SARS-CoV2 ile enfekte olan hastalarda ferritin, dimer D ve C-reaktif protein (CRP) seviyelerinin arttığını gösteren diğer faktörler de, MAS'ın SARS-CoV2 ile enfekte olan hastalarda etkisinin olduğunu düşündürmektedir (Mehta ve ark 2020, Otsuka ve Seino 2020 Gustine ve ark 2021). Makrofajlar ve monositler ayrıca doğrudan SARS-CoV-2 tarafından enfekte olabilir; COVID-19 nedeniyle ölen hastaların alveollerinde ve akciğer lenfoid dokusunda yapılan analizler, bu hücre tipinde ACE2 reseptörünü ve viral partikülleri tespit etmiştir (Wang ve ark 2020a). Son çalışmalar, SARS-CoV-2'nin ACE2 aracılığıyla monosit kökenli makrofajları enfekte edebileceğini ancak etkisiz replikasyona rağmen SARS-CoV-2'nin bu hücrelerde yüksek düzeyde sitokin ve kemokin ifadesini uyardığını gözlemlemiştir. Bu da üretken bir enfeksiyon olmasa da, makrofajların COVID-19 patogenezinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Monositler ve makrofajlar geniş bir işlev yelpazesine sahiptir. Makrofajlar iki fenotipte bulunabilir: iltihaplı yanıtları tetikleyen M1 makrofajlar ve anti-enflamatuar yanıtları tetikleyen M2 makrofajlar. Bu iki tip arasındaki dengeyi bozmak ciddi komplikasyonlara yol açabilir (Gracia-Hernandez ve ark 2019). Yüksek SARS-CoV-2 viral yüküne sahip hastalarda, virüsün patojenezini destekleyen M1 makrofajların baskın infiltrasyonu vardır (Desai ve ark 2020). Monositler, patojen kontrolü ve IL-6 gibi sitokinlerin üretimi açısından önemlidir. SARS-CoV-2, kan monositlerinin

aktivitesini ve miktarını artırır (Lucas ve ark 2020, Meidaninikjeh 2021, Wauters ve ark 2021, Çizmecioğlu ve ark 2022). Şiddetli COVID-19'da dolaşımdaki monositler, hem iltihap hem de doku onarımına katkıda bulunabilen karışık bir M1/M2 fenotipi sergiler. Ancak bu durum COVID-19'da pulmoner komplikasyonlara neden olabilir (Matic ve ark 2020). Genel olarak SARS-CoV-2, monosit trafiğini akciğerlere teşvik eder ve kontrolsüz makrofaj birikimini tetikler. Bu da enfekte hastaların şiddet seviyesi ile ilişkilidir (Pence 2020). Makrofajlar, COVID-19 ile ilişkili pnömoni ve ARDS'nin gelişiminde önemli bir rol oynayabilir (McGonagle ve ark 2020, Otsuka ve Seino 2020).

Myeloid türevli baskılayıcı hücreler (MDSC), immature myeloid hücrelerinin dendritik hücrelere ve makrofajlara diferansiyasyonunu engelleyerek, T hücrelerine antijen sunumunu önler (Goh ve ark 2013). MDSC'ler, IL-10 ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) gibi sitokinleri üreterek T hücrelerinden interferon-gama (IFN- γ) salınımını ve antijen-spesifik T hücrelerinin proliferasyonunu baskırlar. MDSC'ler ayrıca CD4⁺ T hücrelerinin regülatör T hücrelere farklılaşmasını indükleyerek bağışıklık yanıtının baskılanmasına katkıda bulunurlar (O'Connor ve ark 2017). Birkaç çalışma, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ve hepatit C virüsü de dahil olmak üzere kronik viral hastalıklardaki MDSC'lerin, bu hastalıkların patogenez ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (Vollbrecht ve ark 2012, Cai ve ark 2013). MDSC'lerin ve alt gruplarının hastalık şiddeti üzerindeki rolü, COVID-19 üzerine yapılan bazı fonksiyonel çalışmalar tarafından gösterilmiştir. Bu çalışmalarda COVID-19'lu hastalarda MDSC hücrelerinin arttığı bildirilmiştir (Agrati ve ark 2020, Sacci ve ark 2020, Kvedaraite ve ark 2021, Emsen ve ark 2022).

Nötrofiller

Nötrofiller, şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonunda baskın akciğer infiltrasyonu yapan lökositlerden biridir (Wang ve ark 2020c). COVID-19'lu hastaların akciğer örneklerinin otopsi analizinde, akciğer kapillerlerinde nötrofil infiltrasyonu tespit edilmiştir (Barnes ve ark 2020, Fox ve ark 2020). Nötrofiller ayrıca mikroorganizmaları öldürürken DNA ve granül içeriklerini dışarıya çıkararak, bakteri ve mantarların tuzağa düşürüldüğü ve öldürüldüğü nötrofil ekstraselüler tuzaklar (neutrophil extracellular trap, NET) adı verilen ekstraselüler iplikler oluşturur. Uygun düzenlenemediklerinde NET'ler inflamasyonu, trombozu başlatır ve yayar. Nötrofiller

tarafından salınan NET'ler COVID-19 hastalarında organ hasarına ve mortaliteye neden olabilmektedir. Kontrolsüz ilerleyen şiddetli COVID-19 durumlarında, nötrofillerden gelen NET'ler ve makrofajlardan salınan IL-1 β arasında yoğun bir etkileşim olduğu düşünülmektedir (Barnes ve ark 2020).

Eozinofiller

Eozinofillerin farklı viral enfeksiyonlarda koruyucu etkileri olmasına rağmen, eozinofil yanıtının SARS-CoV-2'ye karşı tam olarak anlaşılmadığı bir gerçektir (Jesenak ve ark 2020). COVID-19 hastalarının önemli bir kısmında eozinofil düşüklüğü görülmektedir (Du ve ark 2020, Zhang ve ark 2020b). Ancak bu tüm kohortlarda rapor edilmemiştir (Lippi ve ark 2020). COVID-19 hastalarında eozinofil düşüklüğünün patofizyolojik mekanizması net değildir. Ancak artmış apoptoz, azalmış eozinofilopoez ve kemik iliğinden azalan eozinofil çıkışı ile ilişkili olabilir (Lindsley ve ark 2020). Doku içi göç artışı olasılığı düşüktür. Çünkü COVID-19 hastalarının pulmoner dokusunda eozinofillerin infiltrasyonu bulunmamıştır (Barton ve ark 2020).

Doğal öldürücü (NK) hücreler

COVID-19 hastalarındaki NK hücre sayılarıyla ilgili veriler çeşitlidir. Bazı çalışmalar, COVID-19 hastalarında NK hücre sayılarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında fark bulunmadığını rapor etmiştir (Liu ve ark 2020a, Wang ve ark 2020c). Ancak bir çalışma, NK hücre sayılarında artış göstermiş ve NK hücrelerinin sitokin salınım sendromunda (cytokine release syndrome (CRS)) rol oynayabileceğini öne sürmüştür (Leng ve ark 2020). Bununla birlikte, diğer çalışmalar COVID-19 hastalarında NK hücre sayılarında düşüklük veya belirgin bir azalma bildirmiştir (Thevarajan ve ark 2020, Giamarellos-Bourboulis 2020).

Kompleman sistemi

Kompleman sistemi bakteri ve virüslere karşı korumaya aracılık eden ardışık/sıralı aktivasyon yapan birbirine bağlı 20'den fazla proteinlerden oluşmaktadır. Hem doğal hem de edinsel bağışıklıkta mikroorganizmalara karşı savunma görevleri yapar. Kompleman etkinleşmesi klasik, lektin ve alternatif yolak olmak üzere başlıca üç yolak ile olur. Üç yolağın amacı, membran atak kompleksi (MAC veya C5b-9) oluşturmak ve konakçı savunmada önemli işlevlere sahip C3a, C3b ve C5a gibi birçok

proteinin oluşumudur (Java ve ark 2020, Ng ve Powell 2021). MAC, hücre ölümüne yol açan porların oluşumunu tetikleyerek hücre zarını değiştirebilir. C3a ve C5a, iltihabi süreçlere katkıda bulunan nötrofilleri ve makrofajları çekebilen iki güçlü anafilatoksinlerdir. C3b, enfekte hücreleri opsonize etme yeteneğine sahiptir ve patojenlerin fagositoz yoluyla temizlemesi için mikrobun yüzeyinde birikir (Stenmark ve ark 2021). SARS-CoV-2 enfekte olmuş hastalarda C1q, MASP-2, C3, C3c, C3d, C4d ve C5b-9 gibi biyobelirteçlerin varlığı, enfeksiyon sırasında alternatif yol ve lektin yolunun güçlü aktivasyonunu gösterir (Magro ve ark 2020, Ma ve ark 2021). Ma ve ark, COVID-19 sırasında koagülasyon proteinleri ve endotel hasarı ile ilişkilendirilen alternatif yolun bileşenlerinde artış gözlemledi (Ma ve ark 2021). SARS-CoV-2 S proteini, hücre yüzeyinde kompleman sisteminin alternatif yolunu doğrudan aktive edebilir (Yu ve ark 2020). SARS-CoV-2 N proteini, mannoz bağlayıcı lektin ile ilişkili serin proteaz 2 (MASP2) ile yoğun etkileşimde bulunur ve lektin yolunu kullanarak kompleman sistemi aktivasyonunu indükler (Flude ve ark 2021, Bosmann 2021). Klasik yol, COVID-19'un geç evrelerinde SARS-CoV-2'ye karşı üretilen antikorlar tarafından aktive edilebilir (Bosmann 2021). C5b-9 kompleksinin önemli ölçüde artmış düzeyleri, artmış C3a ile birlikte hastalığın şiddeti ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. C5a, reseptörü C5aR1 aracılığıyla proinflamatuvar sitokinlerin üretimini uyararak monositler ve nötrofiller gibi bağışıklık hücrelerinin toplanmasını ve aktivasyonunu indükler (Carvelli ve ark 2020). Yüksek C3 seviyeleri ile kompleman sistemin aşırı aktivasyonu, şiddetli COVID-19 ve ölüm olasılığının artması ile ilişkilidir (Cheng ve ark 2021, Sinkovits ve ark 2021).

1.2.2. Edinsel İmmünite

T hücresi

T hücreleri, solunum sisteminin birçok viral enfeksiyonunun erken kontrolü ve klirensinin sağlanmasında çok önemlidir. CD4⁺ yardımcı T hücreleri antikor üretimi için B hücrelerine yardım eder ve diğer immün hücrelerin cevabını yönetir, CD8⁺ sitotoksik T hücreleri viral yükü azaltmak için enfekte hücreleri öldürür. CD8⁺ sitotoksik T hücreleri doğrudan enfekte hücreleri nötralize ederken, CD4⁺ T hücreleri B hücrelerine humoral yanıtları başlatmada yardımcı olur (Retaman-Diaz ve ark 2019). T hücreleri, immünolojik hafızanın gelişiminde virus-spesifik CD8⁺ ve CD4⁺ T hücreleri şeklinde önemli bir role sahiptir (Murali-Krishna ve ark 1998, Libraty ve

ark 2007, Ng ve ark 2016). Aslında, SARS-CoV spesifik CD8⁺ T hücreleri, insanlarda enfeksiyondan sonraki 11 yıla kadar tespit edilmiştir. Bu da spesifik antikorlardan daha uzun bir süredir (Ng ve ark 2016). SARS-CoV-2 spesifik CD8⁺ ve CD4⁺ T hücreleri, sırasıyla COVID-19 iyileşen hastaların yaklaşık %70 ve %100'ünde tanımlanmıştır. CD4⁺ T hücreleri, S proteinine yanıt vermiş ve anti-SARS-CoV-2 IgG ve IgA titrelerinin büyüklüğü ile korelasyon göstermiştir. SARS-CoV-2 enfeksiyonunda lenfopeninin ardından T hücre alt gruplarının kompozisyonundaki değişiklikler SARS-CoV ve diğer bazı virüslerle benzer şekilde bildirilmiştir (Wang ve ark 2020b, Thevarajan ve ark 2020, Xu ve ark 2020). CD4⁺ T hücreleri ve CD8⁺ T hücrelerinin toplam sayıları, çoğu COVID-19 hastasında normal seviyelerin altında, en şiddetli vakalarda en düşük seviyelerde bildirilmiştir. Ayrıca, Treg hücrelerinin sayısı da azalırken, son zamanlarda bildirilen bir hafif seyirli COVID-19 vakasında dolaşımdaki foliküler yardımcı T (Tfh) hücrelerinin CD4⁺CXCR5⁺ICOS⁺PD-1⁺ oranında bir artış görülmüştür (Thevarajan ve ark 2020, Uçaryılmaz ve ark 2022). SARS-CoV-2 ile enfekte hamile kadınlarda yapılan bir çalışmada CD3⁺ T hücresi (p = 0.001), CD4⁺ T hücresi (p = 0.011), Treg (p = 0.001) ve Treg/Th17 oranı (p = 0.001) kontrole kıyasla daha düşük bulunmuştur (Kulhan ve ark 2023). Edinsel yanıtların gecikmiş gelişimi, uzamış virüs temizlenmesi ile birlikte, şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonu vakalarında rapor edilmiştir (Cameron ve ark 2008). SARS-CoV ve SARS-CoV-2 hastalarında lenfopeni mekanizmaları hala bilinmemektedir. T hücreleri, CD147 veya muhtemelen CD26 aracılığıyla enfekte olabilir, çünkü lenfositlerdeki ACE2 ifadesi (bazı dokü-türevli T hücreleri hariç) çok düşüktür (Xiong ve ark 2020). Bu tür bir enfeksiyonun enfekte T hücrelerinin ölüm nedeni olup olmadığı henüz belirsizdir. CD4⁺ T hücrelerinin azalması, lenfositlerin azalmış pulmoner toplanması ve nötralize edici antikor ve sitokin üretimi ile ilişkilidir ve bu da güçlü bir immün-aracılı interstisyel pnömoni ve SARS-CoV'un akciğerlerden gecikmiş temizlenmesine neden olur (Chen ve ark 2010). Ayrıca, yardımcı T hücreleri, NF-kB sinyal yolunu kullanarak proinflamatuvar sitokinler üretir (Manni ve ark 2014). IL-17 sitokinleri, monositleri ve nötrofilleri enfeksiyon alanına çeker, inflamasyonu aktive eder ve IL-1, IL-6, IL-8, IL-21, TNF-β ve MCP-1 gibi diğer aşağı akış sitokin ve kemokin kaskadlarını aktive eder (Bunte ve ark 2019, Dutzan ve ark 2019).

B hücresi ve antikor yanıtları

B hücrelerinin başarılı bir şekilde plazma hücrelerine dönüşümü ve antikor üretme yetenekleri humoral immün yanıt için önemlidir. Başarılı bir B hücre cevabı, virüs ile ilk karşılaşmada koruma sağlamanın yanı sıra ikincil enfeksiyonu önlemede önemli rol oynar. Enfeksiyonun akut ve iyileşme aşamalarında oluşan plazma hücreleri, antikor salgılamaya devam ederek serolojik belleği oluştururlar. Primer enfeksiyon sırasında bellek B hücreleri de oluşur (Vabret ve ark 2020). İnsan SARS-CoV-2 enfeksiyonu, nötralize edici antikorların üretimine yol açan B ve T hücre bağışıklığı mekanizmalarını aktive eder (Thevarajan ve ark 2020). Başlangıçta B hücreleri, SARS-CoV-2'yi nükleokapsid protein aracılığıyla tanımış gibi görünür, bu da onların aktivasyonunu ve sonrasında uygun CD4⁺ T hücreleri ile etkileşimlerini indükler. Antikor yanıtı, COVID-19 semptomlarının başlamasından 4-8 gün sonra oluşur ve başlangıçta IgM tarafından domine edilir (Huang ve ark 2020a). Başlangıçtaki IgM yanıtını, IgA ve ardından IgG üretimi takip eder (10-18 gün). Mukozal IgA'nın gelişimi muhtemelen SARS-CoV-2 ile tekrar enfeksiyonu önlerken, dolaşımdaki IgA, sistemik SARS-CoV-2 nötralizasyonuna ve aktif enfeksiyon sırasında iltihabın azalmasına katkıda bulunabilir (Breedveld ve ark 2019). SARS-CoV-2'yi nötralize etmek için IgG yanıtının kapsamı ve kalitesi kritiktir. Önceki SARS-CoV enfeksiyonu raporlarına dayanarak, SARS-CoV-2'yi nötralize eden IgG antikorlarının, serumda enfeksiyondan 2-3 hafta sonra tespit edilebilecek şekilde S proteinine özgü olması gerektiği belirtilmiştir (Tan ve ark 2004, Temperton ve ark 2005). Bu nedenle, COVID-19 hastalarının önlenmesi ve tedavisi için insan konvalesan serum transferi önerilmiştir (Casadevall ve Pirofski 2020).

Sitokin fırtınası

SARS-CoV-2, IFN yolunu inhibe ederek bağışıklık sistemini tüketir ve lenfopeniye neden olur (Astuti ve Ysrafil 2020, Schett ve ark 2020). Şiddetli COVID-19'a sahip çoğu hastada, IL-6, IL-1 β , TNF, IL-2, IL-17, G-CSF, GM-CSF ve CXCL8, CXCL10, CCL2, CCL3 ve CCL7 gibi kemokinler de dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin serum düzeyleri önemli ölçüde yükselmiştir (Cao 2020, Yang ve ark 2020b). Bu kemokinler, enflamatuvar dokulara nötrofilleri ve monositleri çekerek doku hasarını artırır. CCL7 ve CXCL10 aşırı üretimi, hastalık şiddeti ve ölümcül sonuçlarla ilişkilidir (Yang ve ark 2020b). IL-6 bu hastalarda önemli ölçüde artar ve

zaman içinde artmaya devam eder, çoğunlukla akciğerde birikmiş makrofajlardan ve nötrofillerden türetilir ve sağ kalanlara kıyasla ölümlerde daha yüksektir (Chen ve ark 2020a, Gong ve ark 2020, Tay ve ark 2020). Bu anormal sitokin ve kemokin üretimi, kontrolsüz inflamasyona neden olan bir sitokin fırtınası profiline neden olur. Bu da ARDS, sepsis, şok ve doku hasarı nedeniyle çoklu organ yetmezliğini içerir (Cao 2020, Coomes ve ark 2020, Li ve ark 2020b, Ye ve ark 2020).

1.3. Klinik Özellikler

Guan ark, 1099 vaka üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda yaygın klinik belirtilerin ateş (%88,7), öksürük (%67,8), yorgunluk (%38,1), balgam üretimi (%33,4), nefes darlığı (%18,6), boğaz ağrısı (%13,9) ve baş ağrısı (%13,6) olduğunu bulmuştur (Guan ve ark 2020). Ayrıca, hastaların bir kısmında ishal (%3,8) ve kusma (%5,0) gibi sindirim sistemine ait belirtiler görülmüştür. Klinik belirtiler, diğer çalışmalardan elde edilen verilerle uyumlu bulunmuştur (Chen ve ark 2020c, Huang ve ark 2020b, Wang ve ark 2020b). Ateş ve öksürük baskın belirtilerdir, üst solunum yolu belirtileri ve sindirim sistemi belirtileri nadirdir. Bu da SARS-CoV (Lee ve ark 2003), MERSCoV (Assiri ve ark 2013) ve influenza (Wang ve ark 2016) ile karşılaştırıldığında viral tropizmdeki farkları göstermektedir. Yaşlılar ve eşlik eden hastalıklara sahip olanlarda (örneğin, hipertansiyon, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, diyabet, kardiyovasküler hastalık); hızla ARDS'ye, septik şoka, düzeltilmesi zor metabolik asidoza ve pıhtılaşma bozukluğuna ve hatta ölüme neden olmuştur (Huang ve ark 2020b).

1.4. Laboratuvar Bulguları

COVID-19 hastaları için laboratuvar parametrelerinin klinik önemi, hastalığın şiddeti, yoğun bakım ihtiyacının gelişmesi ve mortalite tahminlerine ilişkin genel bir bakış sağlamaktır.

Hematolojik parametre sonuçlarına göre, beyaz kan hücre sayısı hastaların çoğunda normaldir veya azalmıştır. Hastaların %72.3'ünde viral enfeksiyonun temel özellikleri ile uyumlu olarak lenfopeni gelişmiştir (Liu ve ark 2020b). Şiddetli COVID-19 hastalarının WBC sayısı, orta dereceli hastalara göre daha yüksektir (Chen ve ark 2020d). Yoğun bakım ünitesinde tedavi gören hastalarda periferik kan lökositleri ve nötrofilleri, daha yüksektir ve ölümcül vakalarda başlangıçtan itibaren

lenfositler giderek azalmaktadır (Zhou ve ark 2020a). Nötrofillerde ve nötrofil/lenfosit oranındaki (NLR) artış, kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir (Zhang ve ark 2020a). Şiddetli vakalarda monosit, eozinofil ve bazofil yüzdeleri keskin bir şekilde azalmaktadır (Zhang ve ark 2020a, Qin ve ark 2020). Eozinofil sayılarının azalması mortalite ile ilişkili olup bir diğer kötü prognoz göstergesidir (Yao ve ark 2020).

COVID-19 hastalarının %36 ila %43'ünde hafif trombositopeni, uzamış protrombin zamanı, (Giannis ve ark 2020) ve yüksek D-dimer seviyeleri gibi anormal koagülasyon parametreleri görülmektedir (Lippi ve Plebani 2020a). Bir meta-analizde, yayınlanmış 4 çalışmanın incelenmesinde, daha şiddetli COVID-19 vakalarında daha yüksek D-dimer seviyelerine rastlanmıştır. Ayrıca, trombositopeninin, daha ciddi COVID-19 ve ölüm riski artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lippi ve Plebani 2020b).

Akut faz reaktanları, insanlarda ve hayvanlarda potansiyel tanı işaretleri ve hastalık sonuçlarını öngören moleküllerdir (Perez 2019). Enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan ajanlar, akut faz reaktanlarını artıran ve enfeksiyona karşı ana savunma rolünü oynayan inflamatuvar bir yanıtı başlatabilir. Başlangıçta SARS ve MERS hastalarının takibi, şiddetli koronavirüs enfeksiyonlarında tanı ve prognozun belirlenmesinde akut faz reaktanlarının önemini gösterdi. SARS hastalığına sahip çoğu hastanın yüksek C-reaktif protein (CRP), alanin transaminaz (ALT), laktat dehidrojenaz (LDH) ve kreatin kinaz seviyelerine sahip olduğu bildirilmiştir. (Wang ve ark 2004).

CRP, iyi bilinen bir inflamasyon biyobelirteçtir ve COVID-19 hastalarının %60,7'sinde yüksek bulunmuştur. Daha yüksek CRP seviyeleri ayrıca akut solunum sıkıntısı sendromu gelişimi, daha yüksek troponin-T seviyeleri ise şiddetli COVID-19 hastalarında gözlenen miyokard hasarı ile bağlantılıdır (Bozkurt ve ark 2021).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları servisinde yatan 18-80 yaş arasında 60 COVID-19'lu hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların yaşı ile uyumlu 18-80 yaş arasında 29 sağlıklı kontrol alındı. Bu araştırma, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 2020/425 karar sayısı ile 30.09.2020 tarihinde onaylandı. Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından 19102036 proje numarası ile desteklendi.

2.1. Hasta Seçimi

Hasta grubuna, PCR testi pozitif çıkan ve COVID-19 pnömonisi ile yatan hastalar dahil edildi. Tedavi sürecinde lenfopeni yapabilecek ilaç kullanımı olan, alkol kullanımı, kronik renal hastalık, cushing sendromu, aktif malignitesi olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu, daha önce COVID-19 tanısı almamış sağlıklı yetişkinlerden oluşturuldu. İmmün yetmezliği, malignitesi, kronik böbrek ve karaciğer hastalığı ve aktif enfeksiyonu olmayan sağlıklı gönüllüler çalışmaya alındı. Hasta ve gönüllülerden Bilgilendirilmiş Onam formu imzası alındı. Hastaların ve kontrol grubunun yaşı, cinsiyeti, hastaların başvuru anındaki demografik verileri ile klinik geçmişi, laboratuvar bulguları, radyolojik bulguları ve uygulanan tedaviler tıbbi kayıtlardan kaydedildi.

COVID-19'lu hastalar, Çin Ulusal Sağlık Komisyonu tarafından yayınlanan 2019 Corona Virüs Hastalığı Rehberine (7. baskı) göre sınıflandırıldı. Sınıflandırma aşağıdaki gibidir:

1. Hafif tip: görüntülemelerde pnömoni olmaksızın hafif klinik semptomlar;
2. Yaygın tip: görüntülemelerde pnömoni ile birlikte ateş, solunum yolu ve diğer semptomlar;
3. Şiddetli tip: solunum sıkıntısı, solunum hızı ≥ 30 kez/dk; dinlenme durumunda, oksijen doygunluğu $\leq \%93$; $PaO_2/FiO_2 \leq 300$ mmHg;
4. Kritik tip: mekanik ventilasyon gerektiren solunum yetmezliği, şok ve Yoğun bakım ünitesi izleme ve tedavisini gerektiren diğer organ yetmezliği (68).

Çalışmamıza sadece pnömonisi olan hastaları dahil ettik. Hastalığı hafif geçirenler (yaygın tip) hafif seyirli grup, belirgin solunum semptomları olan, şiddetli klinik tabloya sahip hastalar (şiddetli tip) ağır grup olarak isimlendirildi. Pnömonisi olmayan (hafif tip) ve yoğun bakım takibi gereken (kritik tip) kritik hastalar çalışma dışı bırakıldı.

2.2. Akım Sitometri Analizi

Yardımcı T hücre alt grupları (Th1, Th2, Th17, Th22) iki farklı yöntem ile analiz edildi. Birinci yöntemde kemokin reseptörlerine göre değerlendirildi. İkinci yöntemde eksprese ettikleri yüzey reseptörlerine ve hücre içi sitokin düzeylerine göre floresanla işaretli monoklonal antikorlarla belirlendi. Sitotoksik T hücre alt grupları (Tc1, Tc2, Tc17, Tc22) eksprese ettikleri yüzey reseptörlerine ve hücre içi sitokin düzeylerine göre floresanla işaretli monoklonal antikorlarla belirlendi. Foliküler T hücreler ise taşıdıkları yüzey reseptörlerine göre belirlendi. Kullanılan monoklonal antikorların boya Tablo 2.1’de, T hücre alt gruplarının hücre yüzey reseptörlerine göre sınıflandırılması Tablo 2.2’de gösterilmiştir. Hücreler 10 renkli BD FACS Aria III akım sitometri cihazında (BD Biosciences, Pharmingen, San Jose, USA) okutuldu ve FACS Diva version 6.1.3 yazılım programında analiz edildi.

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan monoklonal antikorlar ve boya listesinin listesi.

Monoklonal Antikor	Boya
CD45RA	APC-Cy7 (Allphycocyanin-Cy7)
CD3	FITC (Flourescein isothiocyanate)
CD4	PE (Phycoerythrin)
CD3/CD4/CD8 kombine kit	PE-Cy5/PE/FITC
CXCR3	APC
CCR4	PE-Cy7
CCR6	PercP (Perdinin chlorophyhill protein)
CXCR5	FITC
PD-1	PE-Cy7
IL-4	PE-Cy7
IL-17	APC
IFN- γ	APC

Tablo 2.2. T hücre alt gruplarının hücre yüzey reseptörlerine veya sitokin düzeylerine göre değerlendirilmesi.

T hücre alt grupları	Monoklonal antikorlar
Total T hücre	CD3 ⁺
IFN- γ ⁺ Total T hücre	CD3 ⁺ IFN- γ ⁺
IL-4 ⁺ Total T hücre	CD3 ⁺ IL-4 ⁺
IL-17 ⁺ Total T hücre	CD3 ⁺ IL-17 ⁺
IL-22 ⁺ Total T hücre	CD3 ⁺ IL-22 ⁺
Yardımcı T hücre	CD3 ⁺ CD4 ⁺
Yardımcı T hücre 1 (Th1)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ IFN- γ ⁺
Yardımcı T hücre 1 (Th1)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR4 ⁻ CCR6 ⁻
Yardımcı T hücre 2 (Th2)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ IL-4 ⁺
Yardımcı T hücre 2 (Th2)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR4 ⁺ CCR6 ⁻
Yardımcı T hücre 9 (Th9)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CCR4 ⁻ CCR6 ⁺
Yardımcı T hücre 17 (Th17)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ IL-17A ⁺
Yardımcı T hücre 17 (Th17)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR4 ⁺ CCR6 ⁺
Yardımcı T hücre 17.1 (Th17.1)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR4 ⁻ CCR6 ⁺
Yardımcı T hücre 22 (Th22)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ IL-22 ⁺
CD4 ⁺ T foliküler hücre (Tfh)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ PD1 ⁺ CXCR5 ⁺
CD4 ⁺ T periferel hücre (Tph)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ PD1 ^{high} CXCR5 ⁻
Sitotoksik T hücre	CD3 ⁺ CD8 ⁺
Sitotoksik T hücre 1 (Tc1)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ IFN- γ ⁺
Sitotoksik T hücre 2 (Tc2)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ IL-4 ⁺
Sitotoksik T hücre 17	CD3 ⁺ CD8 ⁺ IL-17A ⁺
Sitotoksik T hücre 22	CD3 ⁺ CD8 ⁺ IL-22 ⁺
CD8 ⁺ T foliküler hücre (Tfh)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ PD1 ⁺ CXCR5 ⁺
CD8 ⁺ T periferel hücre (Tph)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ PD1 ^{high} CXCR5 ⁻

2.2.1. Yüzey Boyama

Yardımcı T hücre alt grupları (Şekil 2.1) ve foliküler T hücreler (Şekil 2.2) taşıdıkları yüzey reseptörlerine göre monoklonal antikorlarla yüzey boyama yapılarak belirlendi. Yüzey boyama için gerekli bütün malzemeler Biolegend'dan temin edildi.

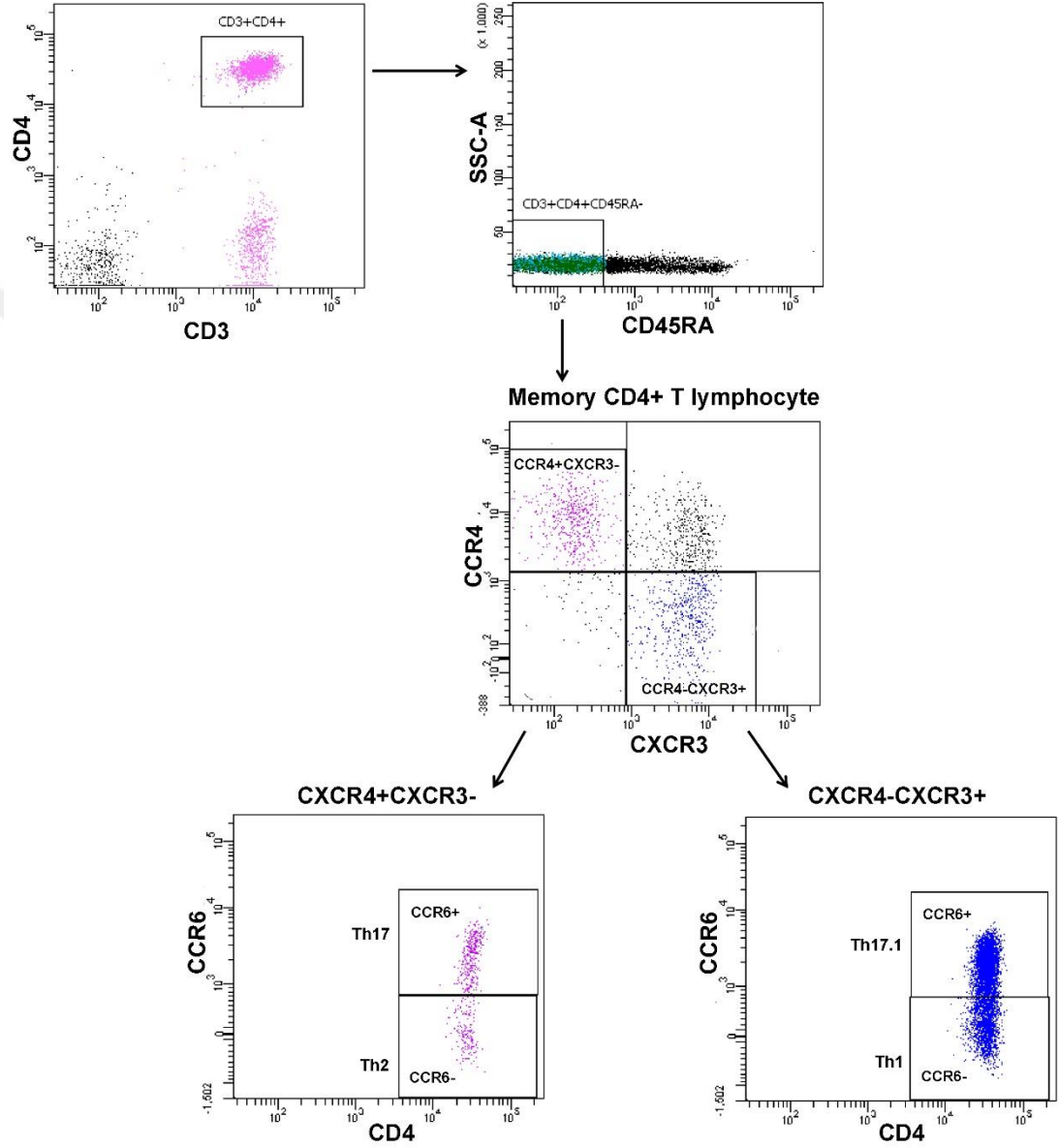
Malzemeler

Lysing solüsyonu 10x: dH₂O ile 1x hazırlandı.

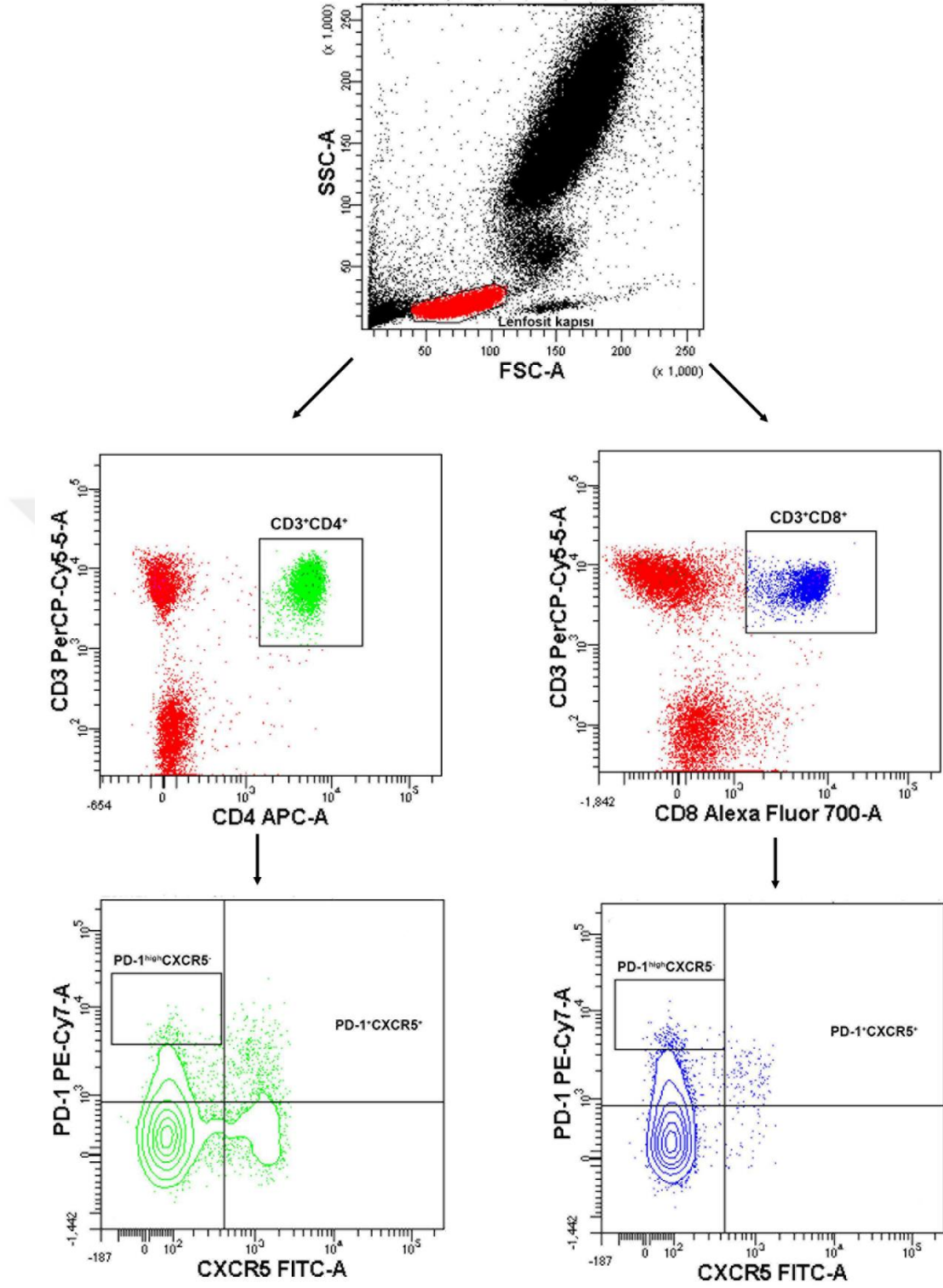
Cell staining buffer: Kullanıma hazır.

Yardımcı T hücre altgrupları için kullanılan monoklonal antikorlar: CD3 (FITC), CD4 (PE), CD45RA (APC-Cy7), CCR4 (PE-Cy7), CXCR3 (APC) ve CCR6 (PERCP-Cy5.5)

Foliküler T hücreler için kullanılan monoklonal antikorlar: CD3 (PercP-Cy5), CD4 (APC), CD8 (Alexa flour 700), CD185 (CXCR5) (FITC), CD279 (PD-1) (PE-Cy7).



Şekil 2.1. CD4⁺ Th alt gruplarının akım sitometrik analizleri.



Şekil 2.2. Foliküler T hücre alt gruplarının akım sitometrik analizi.

Yöntem

1. 12x75 mm'lik tüplere monoklonal antikorlar eklendi.

2. 100 µl tam kan eklendi.
3. Karanlıkta oda sıcaklığında 20 dk. inkübe edildi.
4. 2 ml lysing solüsyonu eklenerek 15 dk. oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi.
5. Tüpler 1500 rpm'de 5 dk. santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı.
6. 2 ml cell staining buffer eklendi.
7. 1500 rpm'de 5 dk. santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı.
8. 500 µl cell staining buffer eklendi ve akım sitometri cihazında okutuldu.

2.2.2. Periferik Kan Mononükleer Hücrelerin Ayrılması Ve Uyarılması

Yardımcı T hücre alt grupları ve sitotoksik T hücre alt grupları eksprese ettikleri yüzey reseptörlerine ve hücre içi sitokin düzeylerine göre belirlendi (Şekil 2.3, Şekil 2.4, Şekil 2.5 ve Şekil 2.6). Bu yöntemde periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) kullanıldı. PBMC'ler lymphopure (BioLegend) ile gradyan santrifüjleme yoluyla elde edildi. Sitokin uyarımı için uyarıcı malzemeler eklenerek, CO₂'li inkübatörde 6 saat bekletildi ve akım sitometri cihazında okutuldu.

Malzemeler

Cell staining buffer: Kullanıma hazır.

Lymphopure: Kullanıma hazır.

Cell activation cocktail (with brefeldin A): Kullanıma hazır.

ImmunoCult-XF T cell expansion medium: Kullanıma hazır.

Cyto-Fast™ fix/perm solution (50 ml): Kullanıma hazır.

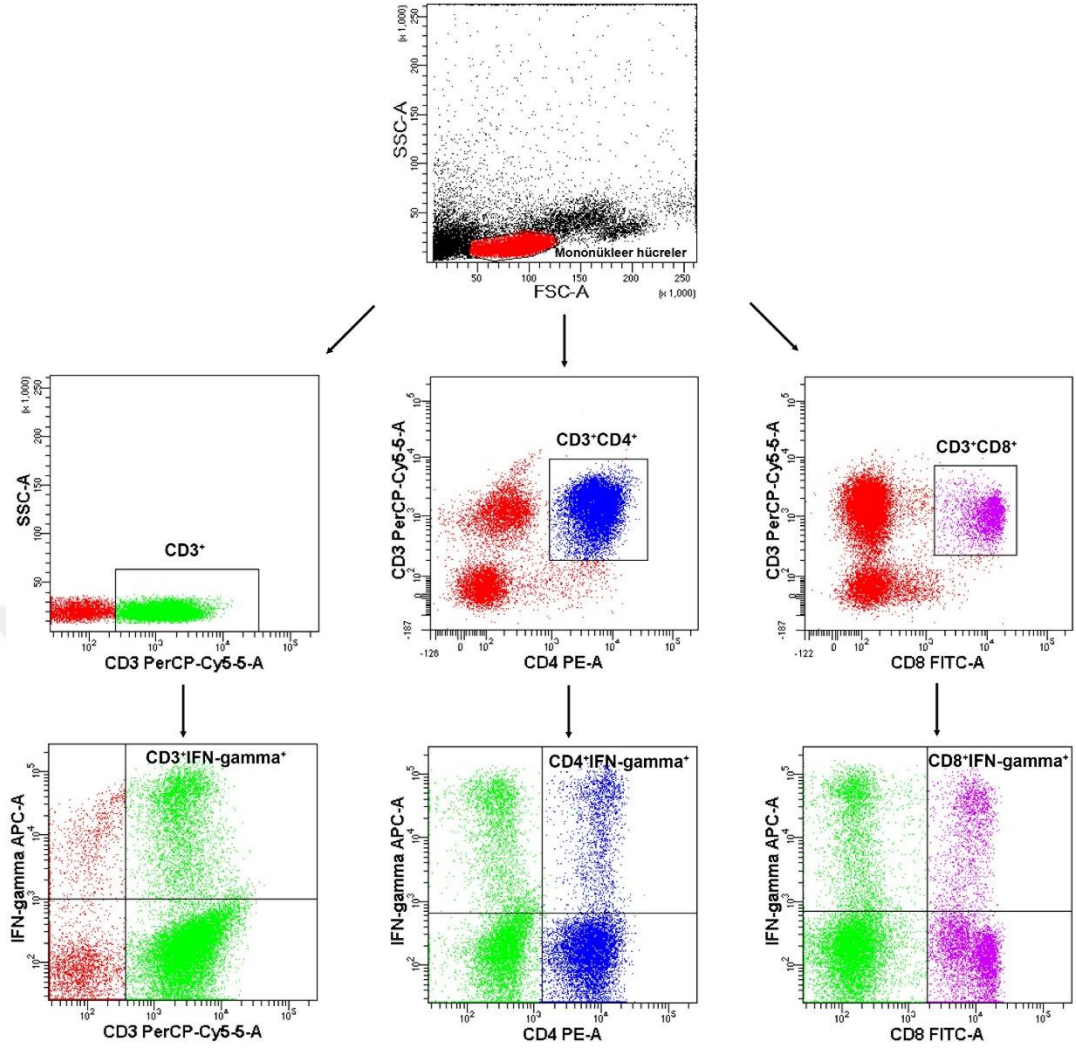
Cyto-Fast™ perm wash solution 10X (100 ml): dH₂O ile 1x hazırlandı.

Monoklonal antikorlar: CD3 (PE-Cy5) / CD4 (PE) / CD8 (FITC) kombine kit, IFN- γ (APC), IL-4 (PE/Cy7), IL-17A (APC), IL-22 (APC).

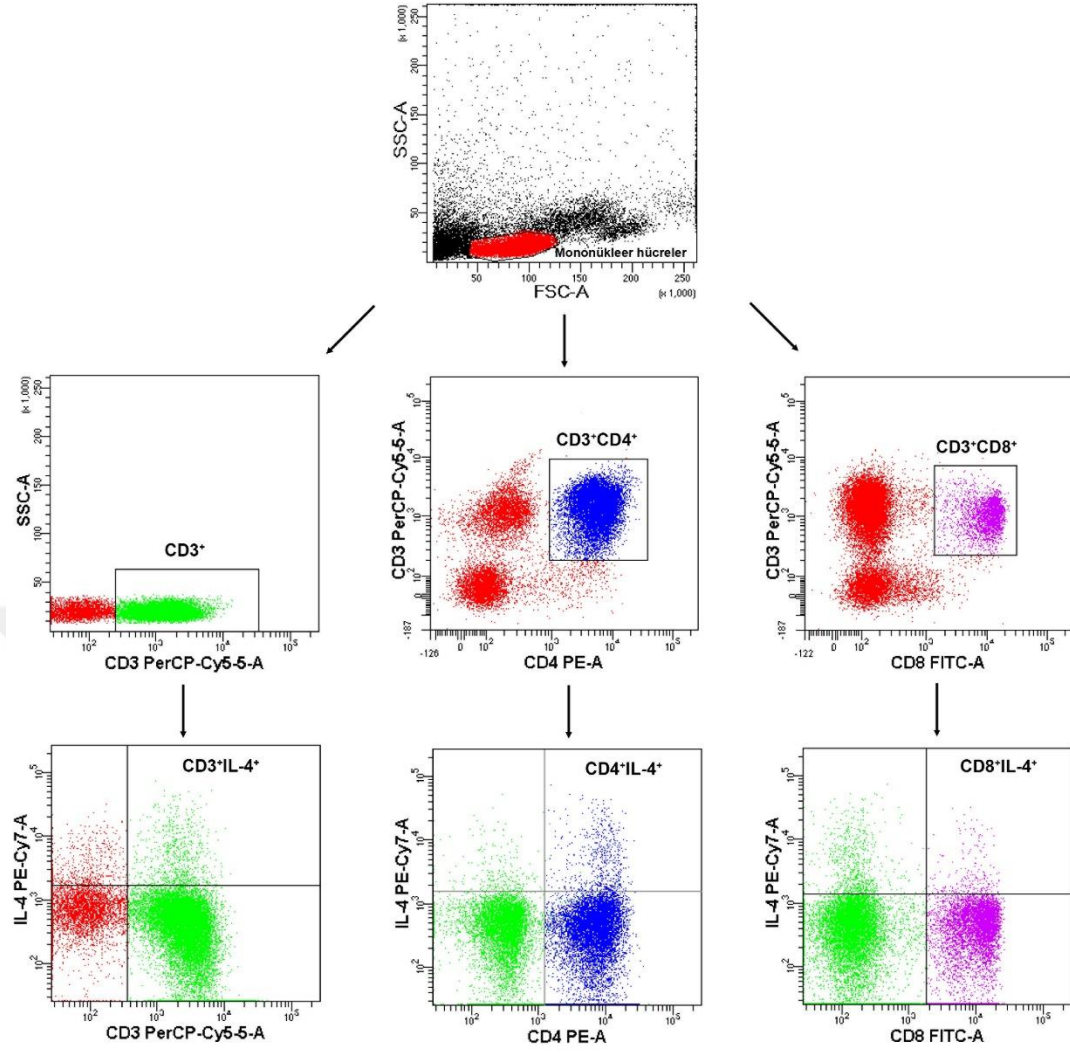
Yöntem

1. EDTA lı kan 1:1 oranında cell staining buffer ile dilue edildi.
2. Dilue edilen kana 2:1 oranında lymphopure eklendi.
3. 2000 rpm de 30 dk. santrifüj edildi.
4. PBMC'ler ayrıldı.
5. 2 ml cell staining buffer eklendi.
6. 1500 rpm de beş dk. santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.

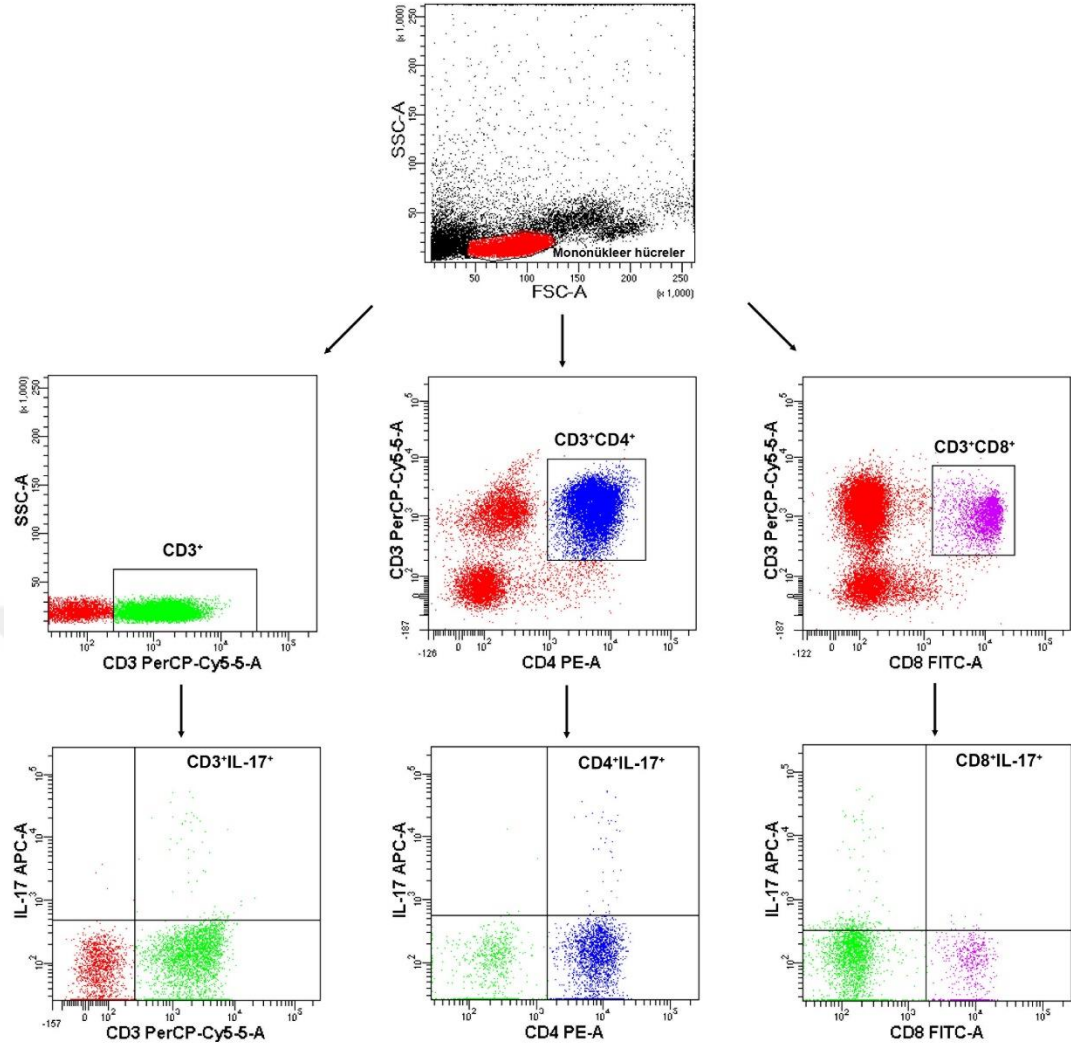
7. Tüplere 900 µl immunoCult-XF T cell expansion medium eklendi.
8. Hücre yoğunluğu Thoma lamında sayıldı.
9. 1×10^6 hücre için 2 µl cell activation cocktail (with brefeldin A) eklendi.
10. Tüpler 37°C 'de %5 CO_2 'li ortamda 6 saat inkübe edildi.
11. 1500 rpm de 5 dk. santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
12. Hücre peletine 2.5 ml cell staining buffer eklendi, vortekslendi.
13. 1500 rpm de 5 dk. santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
14. Anti-human CD3(PE-Cy5)/CD4 (PE)/CD8 (FITC) Cocktail eklendi.
15. 20 dk. karanlıkta inkübe edildi.
16. 2 ml cell staining buffer eklendi.
17. 1500 rpm de 5 dk. santrifüj edildi.
18. 150 µl cyto-fast™ fix/perm buffer eklendi.
19. 20 dk. oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi.
20. 1 ml 1X cyto-fast™ perm wash eklendi.
21. 1500 rpm de 5 dk. santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
22. 1 ml 1X cyto-fast™ perm wash eklendi.
23. 1500 rpm de 5 dk. santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
24. Çalışılacak sitokin monoklonal antikor (örn IL-4) eklendi.
25. 20 dk. oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi.
26. 1 ml 1X cyto-fast™ perm wash eklendi.
27. 1500 rpm de 5 dk. santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
28. 1 ml cell staining buffer eklendi.
29. 1500 rpm de 5 dk. santrifüj edildi
30. 300 µl cell staining buffer eklendi, cihazda okutuldu.



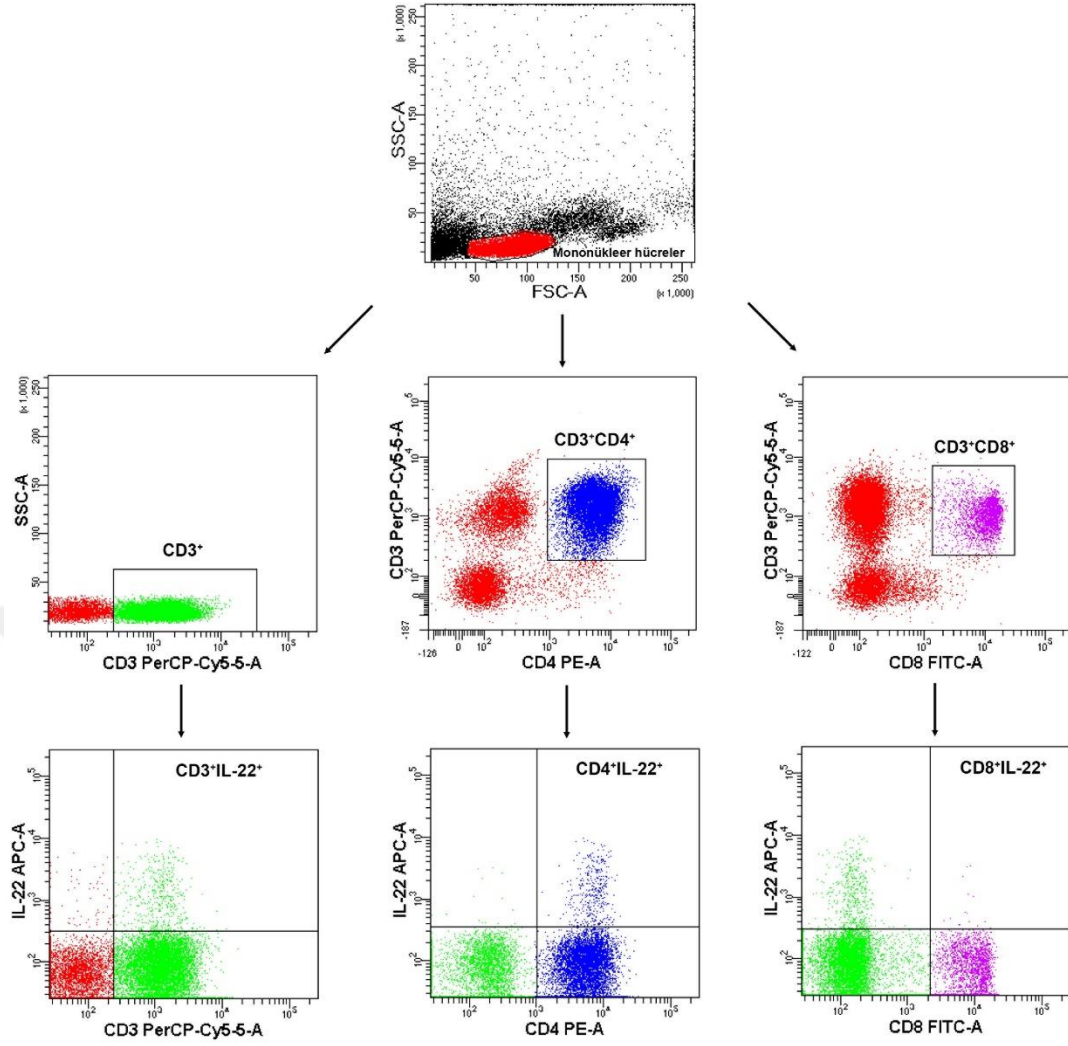
Şekil 2.3. T hücre alt gruplarının hücre içi IFN- γ ekspresyonunun akım sitometrik analizi.



Şekil 2.4. T hücre alt gruplarının hücre içi IL-4 ekspresyonunun akım sitometrik analizi.



Şekil 2.5. T hücre alt gruplarının hücre içi IL-17 ekspresyonunun akım sitometrik analizi.



Şekil 2.6. T hücre alt gruplarının hücre içi IL-22 ekspresyonunun akım sitometrik analizi.

2.2.3. Sitometrik boncuk yöntemi (CBA) Analizi

Sitometrik boncuk yöntemi (CBA), partiküle bağlı immunassay yöntemi kullanılarak, çözünebilir partiküllerin akım sitometri aracılığı ile floresans yoğunluğunun saptanması esasına dayanır. Bu metotta her bir boncuğa spesifik bir protein bağlanmakta, bunlar da ELİSA plaklarındaki kaplanmış her bir kuyucuğa karşılık gelmektedir. En önemli avantajı 25-50 µl örnek hacmiyle ELİSA'ya göre çok daha az örnekte ve daha az zamanda daha güvenilir sonuçlar veren bir metot olmasıdır.

BD™ CBA (Cytometric Bead Array) İnsan Th1/Th2/Th17 Sitokin Kiti, bir tek örnek içinde İnterlökin-2 (IL-2), İnterlökin-4 (IL-4), İnterlökin-6 (IL-6), İnterlökin-10

(IL-10), Tümör Nekroz Faktörü (TNF), İnterferon-gama (IFN- γ) ve İnterlökin-17A (IL-17A) protein seviyelerini ölçmek için kullanıldı.

CBA kitinde her bir sitokin için 20-5000 pg/mL arasında standartlar bulunmaktadır. Her bir analiz örneği sitokin boncukları ve PE işaretli deteksiyon boncukları ile birlikte inkübe edildikten 3 saat sonra akım sitometrik olarak değerlendirildi. Her bir sitokinin miktarı pg/mL cinsinden özel CBA programında (FCAP Array Software) analiz edildi.

Kit içeriği

Sitokin Yakalama Boncukları (A1–A7): Her biri belirli bir yakalama boncuğu türünü içeren 80 testlik bir şişe (A1–A7). Belirli yakalama boncukları, belirgin floresan yoğunluk özelliklerine sahip olup en parlaktan (A1) en mat (A7) olanına kadar dağılmıştır.

Th1/Th2/Th17 PE Tespit Reaktifi (B): 50 μ l/test kullanım için formüle edilmiş PE ile konjuge anti-insan IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- γ ve IL-17A antikörlerinin bulunduğu 80 testlik bir PE tespit reaktifi şişesi

Th1/Th2/Th17 Sitokin Standartları (C): İki adet liyofilize rekombinant insan sitokin proteinini içeren vial. Her vial, en üst standartı hazırlamak için 2.0 mL Assay Diluent içinde sulandırılmalıdır.

Sitometri Ayar Boncukları (D): Kompanzasyon ayarlarını yapmak için 30 testlik bir ayarlama boncuğu şişesi, Sitometri Ayarı Boncukları, 50 μ l/test kullanım için formüle edilmiştir.

PE Pozitif Kontrol Dedektörü (E1): 50 μ L/test kullanım için formüle edilmiş PE ile konjuge edilmiş antikör kontrolünü içeren 10 testlik bir PE pozitif kontrol dedektörü şişesi. Bu reaktif, kompanzasyon ayarlarını yapmak için kullanılır.

FITC Pozitif Kontrol Dedektörü (E2): 50 μ l/test kullanım için formüle edilmiş FITC ile konjuge edilmiş antikör kontrolünü içeren 10 testlik bir FITC pozitif kontrol dedektörü şişesi. Bu reaktif, kompanzasyon ayarlarını yapmak için kullanılır.

Yıkama Tamponu (F): Yıkama adımları ve analiz için yıkanmış boncukları yeniden süspansiyon için kullanılan protein ve deterjan içeren fosfat tamponlu tuzlu (PBS) çözeltisinin (1X) bulunduğu 130 ml'lik bir şişe.

Assay Dilüent (G): İnsan Th1/Th2/Th17 Sitokin Standartlarını sulandırmak ve bilinmeyen örnekleri seyreltmek için kullanılan tamponlu protein çözeltisi (1X) bulunan 30 ml'lik bir şişe.

Serum Geliştirme Tamponu (H): Serum veya plazma örneklerini test ettiğimizde karışık Yakalama Boncuklarını seyreltmek için kullanılan tamponlu protein çözeltisi (1X) bulunan 10 ml'lik bir şişe.

Sitokin standartlarını hazırlama

1. Liyoflize standart 15 ml'lik konik polipropilen bir tüpe transfer edildi ve tüp "üst standart" olarak etiketlendi.
2. Standart 2 ml Assay Diluent ile sulandırıldı ve 15 dk oda sıcaklığında bekletildi.
3. 12 × 75 mm'lik tüpler; 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 ve 1:256 şeklinde etiketlendi.
4. Her bir 12 × 75 mm'lik tüpe 300 µl Assay Dilüent eklendi.
5. Üst standart'tan 1:2 seyreltme tüpüne 300 µl transfer edildi ve pipetle iyice karıştırıldı. 1:2 tüpünden 1:4 tüpüne ve böyle devam ederek 1:256 tüpüne kadar 300 µL transfer ederek seri seyreltme yapıldı.
6. Sadece Assay Dilüent içeren 12 × 75 mm'lik bir tüp hazırlandı ve negatif kontrol olarak etiketlendi.

Prosedür

1. Karışık Yakalama Boncukları vortexlendi ve tüm test tüplerine 50 µl eklendi.
2. İnsan Th1/Th2/Th17 Sitokin Standart dilüsyonları 50 µl kontrol tüplerine eklendi.
3. Her bir hasta serum örneğinden hasta tüplerine 50 µl eklendi.
4. İnsan Th1/Th2/Th17 PE Tespit Reaktifinden 50 µl tüm test tüplerine eklendi.
5. Test tüpleri karanlıkta, oda sıcaklığında 3 saat boyunca bekletildi.
6. Her bir test tüpüne 1 ml Yıkama Tamponu eklendi ve 200g'de 5 dk santrifüj edildi.
7. Her bir test tüpünden süpernatant dikkatlice çekildi ve atıldı. Boncuk pelletini yeniden süspansiyon yapmak için her bir test tüpüne 300 µl Yıkama Tamponu eklendi.

8. Akım sitometride okutuldu ve analizi yapıldı.

2.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programı (version 21, SPSS Inc., USA) ve R Version 3.6.0 (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; <https://www.r-project.org>) kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak minimum, maksimum, ortalama \pm standart sapma, medyan ve çeyrekler arası sapma verildi. Kategorik veriler sıklık ve yüzde (%) olarak ifade edilmiştir. Parametrik test varsayımlarından biri olan normallik varsayımı Shapiro-Wilk'in normallik testi ile varyansların homojenliği varsayımı ise Levene testi ile kontrol edilmiştir. Varsayımların sağlandığı durumda kontrol ve hasta grup ortalamaları arasında fark olup olmadığı Bağımsız İki Örneklem T testi, normallik varsayımının karşılanmadığı iki bağımsız grup arasında fark olup olmadığı Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir. Normallik ve varyans homojenliği varsayımlarının sağlandığı durumda kontrol, hafif seyirli ve ağır grup ortalamaları arasında fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA), normallik varsayımının sağlandığı fakat varyansları homojenliği varsayımının sağlanmadığı durumda ise gruplar arasındaki farklılık Welch testi ile analiz edilmiştir. Normallik varsayımını sağlanmadığı durumda ise Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Normal dağılmamış verilerin Korelasyonu için Pearson Spearman korelasyon katsayısı kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkinin incelenmesi amacıyla Ki-Kare testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılığı göstermek için $p < 0.05$ alınmıştır. Sonuçlar tablolar ve grafikler şeklinde sunulmuştur.

3. BULGULAR

3.1. Hasta Özellikleri

Çalışma 29 kontrol (sağlıklı) gönüllü grubu (14 kadın/15 erkek) ve 60 hasta grubu (23 kadın/37 erkek) olmak üzere toplam 89 kişiden oluşmaktadır. Hasta grubu kendi içinde hafif seyirli ve ağır olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Hafif seyirli 39 (15 kadın/24 erkek) ve ağır 21 (8 kadın/13 erkek) kişiden oluşmaktadır. Çalışma gruplarının demografik ve klinik bulguları Tablo 3.1’de sunuldu. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin yaş ve cinsiyet dağılımları benzerdi (sırasıyla, $p=0.876$, $p=0,253$).

Tablo 3.1. Hastalık şiddetine göre çalışmaya dâhil edilen hastaların, demografik özellikleri, ek hastalıkları ve klinik bulguları.

Demografik özellikler	Hastalık şiddetine göre			
	Kontrol (n: 29)	Bütün Hastalar (n: 60)	Hafif seyirli (n: 39)	Ağır (n: 21)
Yaş (Ort±SS)	54,4±11,4	54,0±13,2	57,1±12,7	48,2±12,2
Cinsiyet (K/E)	14/15	23/37	15/24	8/13
Semptom varlığı n (%)				
Ateş	-	10 (16,7)	8 (20,5)	2 (9,5)
Öksürük	-	28 (46,7)	17 (43,6)	11 (52,4)
Nefes darlığı	-	33 (55)	14 (35,9)	19 (90,5)
Halsizlik	-	26 (43,3)	19 (48,7)	7 (33,3)
Boğaz ağrısı	-	2 (3,3)	2 (5,1)	0 (0,0)
Tat koku kaybı	-	2 (3,3)	1 (2,6)	1 (4,8)
İshal	-	3 (5)	3 (7,7)	0 (0,0)
Ek hastalık n (%)				
Diyabet		17 (28,3)	11 (28,2)	6 (28,6)
Hipertansiyon		11 (18,3)	7 (18,0)	4 (19,1)
Kronik akciğer hastalığı		11 (18,3)	5 (12,8)	6 (28,6)

Altmış hastanın %16,7’sinde ateş, %28’inde öksürük, %55’inde nefes darlığı, %43,3’ünde halsizlik, %3,3’ünde boğaz ağrısı, %3,3’ünde tat-koku kaybı ve %5’inde ishal semptomları gözlemlendi. Buna ek olarak %28,3’ünde diyabet, %18,3’ünde hipertansiyon ve %18,3’ünde kronik akciğer hastalığı (KAH) mevcut idi. Hastalık şiddetine göre ise hafif seyirli grupta %20,5’inde ateş, %43,6’sinde öksürük,

%35,9'unda nefes darlığı, %48,7'sinde halsizlik, %5,1'inde boğaz ağrısı, %2,6'sında tat-koku kaybı ve %7,7'sinde ishal semptomları gözlenirken ağır grupta %9,5'inde ateş, %52,4'ünde öksürük, %90,5'inde nefes darlığı, %33,3'ünde halsizlik ve %4,8'inde tat alma bozukluğu semptomları gözlemlendi. Buna ek olarak hafif seyirli grubunun %28,2'sinde diyabet, %18,0'inde hipertansiyon ve %18,3'ünde KAH ek hastalığı mevcut iken ağır grubun %28,6'sında diyabet, %19,1'inde hipertansiyon ve %28,6'sında KAH eşlik ediyordu.

3.2. Laboratuvar Bulguları

COVID-19'lu hastalardan elde edilen hematoloji, koagülasyon ve kan gazı, biyokimya ve akut faz reaktant parametreleri açısından pnömoni şiddetine göre gruplar arası farklar uygun istatistiksel analizlerle incelendi. Analiz sonuçları ve tanımlayıcı istatistikler Tablo 3.3'de verildi.

Tablo 3.2'e göre beyaz kan hücresi (BKH), lenfosit, nötrofil, nötrofil/lenfosit oranı ve trombosit hematolojik tetkik parametreleri açısından hafif seyirli ve ağır hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). Aynı şekilde protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTT), PT-INR, D-dimer ve fibrinojen koagülasyon parametreleri açısından hafif seyirli ve ağır hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). Buna ek olarak; pH, pO₂, pCO₂ ve laktat kan gazı tetkik parametreleri açısından hafif seyirli ve ağır hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). Alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), total bilirubin, üre, kreatinin, kreatin kinaz (CK), ferritin, prokalsitonin ve troponin biyokimya tetkik ve akut faz reaktant parametreleri açısından hafif seyirli ve ağır hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$).

Albumin (hafif seyirli: 3,6 (0,30); ağır: 3,3 (0,20); $p=0,006$), laktat dehidrojenaz (LDH) (hafif seyirli: 290,4±100,6; ağır: 352,9±133; $p=0,045$) ve C reaktif protein (CRP) (hafif seyirli: 43,6 (36,35); ağır: 74,7 (42,68); $p=0,020$), parametreleri açısından hafif seyirli ve ağır hasta grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Tablo 3.2. Pnömoni şiddetine göre COVID-19'lu hastalarda laboratuvar verilerinin karşılaştırılması.

Parametreler	Hastalık şiddetine göre	Normal Değer	Min.-Maks.	Ort±SS	Medyan (ÇAS)	p-Değeri*
Hematoloji Tetkikleri						
BKH, K/uL	Hafif seyirli	3,5-10,5	3,7-15,9	7,3±2,6	6,8 (1,45)	0,944 ¹
	Ağır	3,5-10,5	2,9-11,4	7,4±2,3	7,7 (1,70)	
Lenfosit, K/uL	Hafif seyirli	0,9-2,9	0,3-2,8	12,9±6,2	1,2 (0,35)	0,055 ²
	Ağır	0,9-2,9	0,3-2,1	10,1±0,5	0,9 (0,34)	
Nötrofil, K/uL	Hafif seyirli	1,7-7	1,8-14,9	5,4±2,6	5,0 (1,60)	0,478 ¹
	Ağır	1,7-7	1,9-9,7	5,9±2,2	6,1 (1,90)	
Nötrofil/Lenfosit Oranı	Hafif seyirli	-	0,9-21,3	5,7±4,7	4,3 (2,29)	0,096 ²
	Ağır	-	1,9-23,3	7,6±5,4	5,7 (3,18)	
Trombosit, K/uL	Hafif seyirli	150-450	44,0-361,0	215,7±61,9	207,0 (36,75)	0,321 ¹
	Ağır	150-450	33,4-521,0	236,6±98,6	221,0 (59,00)	
Koagülasyon Tetkikleri						
PT, sn	Hafif seyirli	10-14	10,1-17,3	12,4±1,6	12,0 (0,90)	0,057 ²
	Ağır	10-14	11,0-17,2	13,0±1,5	12,8 (0,78)	
APTT, sn	Hafif seyirli	21-36	20,9-43,4	28,3±4,6	27,7 (2,70)	0,437 ²
	Ağır	21-36	22,9-41,5	29,0±4,5	29,2 (2,93)	
PT-INR	Hafif seyirli	0,8-1,3	0,86-1,46	1,05±0,13	1,02 (0,08)	0,062 ²
	Ağır	0,8-1,3	0,93-1,46	1,10±0,12	1,09 (0,07)	
D-dimer, ng/mL	Hafif seyirli	0-500	108,0-4220,0	588,9±732,9	408,0 (208,0)	0,242 ²
	Ağır	0-500	99,0-1660,0	645,9±437,8	505,5 (212,5)	
Fibronojen, mg/dL	Hafif seyirli	200-400	292,0-868,0	477,5±133,6	433,0 (81,00)	0,483 ²
	Ağır	200-400	215,0-936,0	515,5±177,7	480,0 (133,25)	
Kan Gazı Tetkikleri						
pH	Hafif seyirli	7,32-7,43	7,30-7,53	7,41±0,05	7,41 (0,03)	0,297 ¹
	Ağır	7,32-7,43	7,29-7,52	7,39±0,05	7,39 (0,04)	
pO ₂ , mmHg	Hafif seyirli	17-53	21,5-126,0	38,8±18,8	33,2 (9,28)	0,830 ²
	Ağır	17-53	20,0-62,9	36,5±11,8	34,8 (10,48)	
pCO ₂ , mmHg	Hafif seyirli	38-55	10,2-67,9	39,4±9,1	39,7 (5,10)	0,589 ¹
	Ağır	38-55	13,1-59,9	37,9±12,4	37,7 (6,80)	
Laktat	Hafif seyirli	0,3-2,0	1,10-3,40	0,68±2,17	2,10 (0,55)	0,179 ¹
	Ağır	0,3-2,0	1,10-6,00	2,50±1,16	2,20 (0,75)	

Min-max: minimum-maksimum, Ort±SS: Ortalama±standart sapma, ÇAS: çeyrekler arası sapma

*Hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada normal dağılıma uyan verilerde 1: bağımsız iki örneklem T Testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise 2: Mann-Whitney U Test kullanıldı. P<0,05 anlamlı kabul edildi

Tablo 3.2 (Devam). Pnömoni şiddetine göre COVID-19'lu hastalarda laboratuvar verilerinin karşılaştırılması.

Parametreler	Hastalık şiddetine göre	Normal Değer	Min.-Max.	Ort±SS	Medyan (ÇAS)	p-Değeri*
Biyokimya Tetkikleri ve Akut faz reaktantları						
ALT, U/L	Hafif seyirli	0-50	9,0-84,0	32,1±18,9	27,0 (11,00)	0,625 ²
	Ağır	0-50	10,0-114,0	37,9±27,1	36,0 (15,50)	
AST, U/L	Hafif seyirli	0-50	2,0-71,0	33,9±15,8	31,0 (12,50)	0,187 ²
	Ağır	0-50	20,0-91,0	40,5±17,8	34,0 (13,75)	
Albumin, g/dL	Hafif seyirli	3,5-5,2	2,4-4,3	3,6±0,4	3,6 (0,30)	0,006²
	Ağır	3,5-5,2	2,0-3,9	3,3±0,4	3,3 (0,20)	
Total bilirubin, mg/dL	Hafif seyirli	0,22-1,4	0,24-1,18	0,55±0,24	0,55 (0,15)	0,849 ¹
	Ağır	0,22-1,4	0,20-1,07	0,53±0,26	0,47 (0,14)	
Üre, mg/dL	Hafif seyirli	17-43	13,0-95,0	37,1±17,4	35,0 (11,50)	0,810 ²
	Ağır	17-43	20,0-98,0	41,6±24,1	30,0 (16,50)	
Kreatinin, mg/dL	Hafif seyirli	0,67-1,2	0,58-1,56	0,96±0,29	0,91 (0,17)	0,757 ²
	Ağır	0,67-1,2	0,41-3,02	0,99±0,57	0,86 (0,16)	
CK, U/L	Hafif seyirli	34-171	31,0-553,0	135,5±137,7	81,0 (51,50)	0,224 ²
	Ağır	34-171	28,0-456,0	147,2±108,7	112,0 (72,75)	
LDH, U/L	Hafif seyirli	126-222	21,0-586,0	290,4±100,6	294,0 (60,00)	0,045¹
	Ağır	126-222	48,0-654,0	352,9±133,2	331,0 (85,50)	
Ferritin, ng/mL	Hafif seyirli	23,9-336,2	5,0-1094,0	266,4±260,5	196,0 (174,00)	0,190 ²
	Ağır	23,9-336,2	16,9-849,8	331,5±245,7	251,5 (180,18)	
CRP, mg/L	Hafif seyirli	0-8	2,5-281,0	59,6±59,6	43,6 (36,35)	0,020²
	Ağır	0-8	8,9-333,0	102,4±85,9	74,7 (42,68)	
Prokalsitonin, ng/mL	Hafif seyirli	0-0,5	0,02-0,74	0,13±0,14	0,06 (0,07)	0,136 ²
	Ağır	0-0,5	0,05-0,63	0,15±0,14	0,09 (0,06)	
Troponin I, ng/L	Hafif seyirli	0-17,5	2,3-41,8	7,4±8,5	3,4 (2,40)	0,087 ²
	Ağır	0-17,5	2,3-22,5	8,2±6,0	6,4 (2,90)	

Min-max: minimum-maksimum, Ort±SS: Ortalama±standart sapma, ÇAS: çeyrekler arası sapma

*Hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada normal dağılıma uyan verilerde 1: bağımsız iki örneklem T Testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise 2: Mann-Whitney U Test kullanıldı. p<0,05 anlamlı kabul edildi.

3.3. Yardımcı T hücre Alt Grupları

COVID-19'lu hastalardan elde edilen T hücre alt grupları açısından pnömoni şiddetine ve kontrol grubuna göre gruplar arası farklar uygun istatistiksel analizlerle incelendi. Analiz sonuçları ve tanımlayıcı istatistikler Tablo 3.4'de verildi.

Tablo 3.3'e göre, CD3⁺ total T hücre, CD3⁺CD4⁺ yardımcı T hücre, CD3⁺CD8⁺ sitotoksik T hücre, CD4/CD8 oranı, Th2, Th17, Th1/Th2 oranı, CD4⁺ Tfh, CD4⁺ Tph, CD8⁺ Tfh, CD8⁺ Tph T hücre alt grupları açısından kontrol, hafif seyirli ve ağır hasta grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$).

Diğer T hücre alt grupları açısından kontrol, hafif seyirli ve ağır hasta grubu arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulundu. Th1 (hafif seyirli: 7,70 (2,74); ağır: 6,65 (2,72); kontrol: 10,97 (3,46); $p=0,001$), Th1/Th17 (hafif seyirli: 0,81 (0,46); ağır: 0,70 (0,25); kontrol: 1,36 (0,60); $p=0,003$), memory CD4 (hafif seyirli: 64,0 (8,55); ağır: 56,90 (8,90); kontrol: 72,9 (11,13); $p=0,003$), CD3⁺IL-22 (hafif seyirli: 0,40 (0,40); ağır: 0,55 (0,50); kontrol: 0,20 (0,19); $p=0,015$), CD4⁺IL-22 (hafif seyirli: 0,60 (0,30); ağır: 0,90 (0,65); kontrol: 0,40 (0,15); $p=0,013$) ve CD8⁺IL-22 (hafif seyirli: 0,30 (0,27); ağır: 0,25 (0,32); kontrol: 0,15 (0,09); $p=0,027$)

Tablo 3.3. Pnömoni şiddetine göre COVID-19'lu hastalar ile kontrol grubunun T hücre alt gruplarının karşılaştırılması.

Parametreler	Hastalık şiddetine göre	Min.-Max.	Ort±SS	Medyan (ÇAS)	p-Değeri*
CD3 ⁺ Total T Hücre	Hafif seyirli	33,1-84,6	67,7±12,6	72,1 (5,95)	0,061 ¹
	Ağır	28,4-79,3	62,9±13,5	66,4 (11,03)	
	Kontrol	62,9-83,4	72,7±5,3	71,8 (3,05)	
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Yardımcı T Hücre	Hafif seyirli	19,0-57,6	38,4±10,1	40,4 (7,70)	0,134 ²
	Ağır	19,7-56,5	36,7±9,7	37,1 (6,83)	
	Kontrol	23,6-58,3	41,8±7,6	41,5 (4,80)	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Sitotoksik T Hücre	Hafif seyirli	8,4-46,0	29,1±10,6	27,0 (9,20)	0,165 ²
	Ağır	8,8-41,7	25,9±9,2	25,1 (7,55)	
	Kontrol	15,8-47,3	30,6±7,4	31,1 (4,70)	
CD4/CD8 Oranı	Hafif seyirli	0,43-5,10	1,58±0,92	1,32 (0,55)	0,909 ¹
	Ağır	0,74-3,65	1,62±0,80	1,35 (0,48)	
	Kontrol	0,50-3,69	1,51±0,68	1,40 (0,32)	
Th1	Hafif seyirli	1,77-20,14	8,77±4,29	7,70 (2,74)	0,001^{2a}
	Ağır	1,49-14,20	7,00±3,32	6,65 (2,72)	
	Kontrol	4,31-26,47	12,33±5,64	10,97 (3,46)	
Th2	Hafif seyirli	2,59-15,95	7,70±3,33	6,96 (2,33)	0,204 ¹
	Ağır	3,96-15,47	7,69±3,17	7,34 (2,50)	
	Kontrol	3,75-17,14	8,79±3,32	7,73 (1,57)	
Th17	Hafif seyirli	3,22-23,90	10,83±4,37	10,05 (2,92)	0,229 ²
	Ağır	5,32-24,52	10,40±4,39	9,28 (2,34)	
	Kontrol	4,69-16,68	9,21±2,51	9,12 (1,63)	
Th17.1	Hafif seyirli	1,74-37,08	13,06±8,12	11,56 (4,39)	0,001^{2b}
	Ağır	14,6-15,69	8,15±4,17	7,95 (2,95)	
	Kontrol	3,98-30,79	14,53±6,89	13,86 (5,48)	
Th1/Th2 Oranı	Hafif seyirli	0,15-5,51	1,43±1,08	1,20 (0,67)	0,140 ¹
	Ağır	0,13-2,38	1,08±0,68	0,80 (0,58)	
	Kontrol	0,50-4,62	1,64±1,05	1,39 (0,64)	
Th1/Th17 Oranı	Hafif seyirli	0,11-3,49	1,04±0,78	0,81 (0,46)	0,003^{2c}
	Ağır	0,06-2,21	0,79±0,50	0,70 (0,25)	
	Kontrol	0,39-3,72	1,49±0,88	1,36 (0,60)	
Memory CD4	Hafif seyirli	39,2-92,0	65,5±13,5	64,0 (8,55)	0,003^{2d}
	Ağır	39,8-83,9	57,45±12,51	56,90 (8,90)	
	Kontrol	45,6-93,0	70,6±12,5	72,9 (11,13)	

a: hafif seyirli & kontrol $p= 0.006$, ağır & kontrol $p=0.001$

b: hafif seyirli & kontrol $p= 0.009$, ağır & kontrol $p=0.001$

c: hafif seyirli & kontrol $p= 0.044$, ağır & kontrol $p=0.005$

d: ağır & kontrol $p=0.002$

Tablo 3.3 (Devam). Pnömoni şiddetine göre COVID-19'lu hastalar ile kontrol grubunun T hücre alt gruplarının karşılaştırılması.

Parametreler	Hastalık şiddetine göre	Min.-Max.	Ort±SS	Medyan (ÇAS)	p-Değeri*
CD4 ⁺ Tfh	Hafif seyirli	1,20-9,20	3,99±1,74	3,90 (1,10)	0,537 ¹
	Ağır	2,30-10,80	4,68±2,12	4,20 (1,30)	
	Kontrol	1,10-6,50	4,08±1,27	4,00 (0,73)	
CD4 ⁺ Tph	Hafif seyirli	0,30-2,80	1,17±0,56	1,00 (0,45)	0,639 ¹
	Ağır	0,40-2,90	1,21±0,59	1,10 (0,40)	
	Kontrol	0,40-2,70	1,37±0,68	1,20 (0,55)	
CD8 ⁺ Tfh	Hafif seyirli	0,20-4,20	1,39±1,03	1,20 (0,55)	0,391 ¹
	Ağır	0,30-3,30	1,27±0,80	1,10 (0,33)	
	Kontrol	0,40-3,60	1,45-0,68	1,30 (0,45)	
CD8 ⁺ Tph	Hafif seyirli	0,4-5,90	2,09±1,28	1,80 (0,70)	0,378 ¹
	Ağır	0,40-4,10	1,97±0,92	1,90 (0,50)	
	Kontrol	0,80-4,90	2,36±1,13	2,10 (0,73)	

Min-max: minimum-maksimum, Ort±SS: Ortalama±standart sapma, ÇAS: çeyrekler arası sapma

*Hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada normal dağılıma uyan verilerde 1: bağımsız iki örneklem T Testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise 2: Mann-Whitney U Test kullanıldı. p<0,05 anlamlı kabul edildi.

3.4. Hücre İçi Sitokin Düzeylerine Göre T Hücre Alt Grupları

COVID-19'lu hastalardan hücre kültürü sonucu elde edilen sitokinler açısından T hücre alt gruplarında pnömoni şiddetine göre gruplar arası farklar uygun istatistiki analizlerle incelendi. Analiz sonuçları ve tanımlayıcı istatistikler Tablo 3.3'de verildi.

Tablo 3.4'e göre, CD3⁺IFN- γ , CD4⁺IFN- γ , CD8⁺IFN- γ , CD3⁺IL-4, CD4⁺IL-4, CD8⁺IL-4, CD3⁺IL-17, CD4⁺IL-17, CD8⁺IL-17 T hücre alt grupları açısından kontrol, hafif seyirli ve ağır hasta grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). Diğer T hücre alt grupları açısından kontrol, hafif seyirli ve ağır hasta grubu arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulundu. CD3⁺IL-22 (hafif seyirli: 0,40 (0,40); ağır: 0,55 (0,50); kontrol: 0,20 (0,19); p=0,015), CD4⁺IL-22 (hafif seyirli: 0,60 (0,30); ağır: 0,90 (0,65); kontrol: 0,40 (0,15); p=0,013) ve CD8⁺IL-22 (hafif seyirli: 0,30 (0,27); ağır: 0,25 (0,32); kontrol: 0,15 (0,09); p=0,027)

Tablo 3.4. Pnömoni şiddetine göre COVID-19'lu hastalar ile kontrol grubunun T hücre alt gruplarının salgıladıkları sitokinlerin karşılaştırılması.

Parametreler	Hastalık şiddetine göre	Min.-Max.	Ort±SS	Medyan (ÇAS)	p-Değeri*
CD3 ⁺ IFN- γ	Hafif seyirli	5,50-45,60	22,14±10,79	21,55 (7,94)	0,964 ¹
	Ağır	7,80-4,10	22,89±11,12	20,95 (6,27)	
	Kontrol	5,70-42,40	22,17±9,15	18,95 (7,48)	
CD4 ⁺ IFN- γ	Hafif seyirli	2,90-45,60	17,06±9,54	15,55 (6,03)	0,634 ¹
	Ağır	5,50-29,70	14,98±7,24	13,95 (6,08)	
	Kontrol	3,90-30,70	15,70±6,69	13,90 (4,78)	
CD8 ⁺ IFN- γ	Hafif seyirli	6,90-69,00	33,83±16,88	30,55 (13,37)	0,443 ¹
	Ağır	13,00-77,30	37,39±17,63	32,90 (12,24)	
	Kontrol	17,90-78,20	39,01±15,84	36,95 (12,48)	
CD3 ⁺ IL-4	Hafif seyirli	0,70-7,700	2,89±1,59	2,35 (1,07)	0,415 ²
	Ağır	1,10-9,30	3,51±2,40	2,60 (1,8)	
	Kontrol	0,80-6,20	2,56±1,43	2,05 (0,92)	
CD4 ⁺ IL-4	Hafif seyirli	0,80-7,60	3,43±1,65	3,20 (1,02)	0,251 ²
	Ağır	1,50-7,10	3,59±1,75	3,05 (1,29)	
	Kontrol	1,00-7,40	2,84±1,45	2,45 (1,05)	
CD8 ⁺ IL-4	Hafif seyirli	0,60-9,30	3,11±2,40	2,10 (1,6)	0,980 ²
	Ağır	0,70-13,80	3,76±3,88	2,30 (1,69)	
	Kontrol	0,70-8,70	2,92±2,25	2,15 (0,95)	
CD3 ⁺ IL-17	Hafif seyirli	0,10-3,00	0,89±0,77	0,60 (0,50)	0,502 ²
	Ağır	0,10-2,30	0,83±0,60	0,80 (0,44)	
	Kontrol	0,20-2,20	0,65±0,51	0,45 (0,25)	
CD4 ⁺ IL-17	Hafif seyirli	0,20-3,60	1,33±0,99	0,95 (0,77)	0,082 ²
	Ağır	0,10-4,40	1,36±0,99	1,20 (0,62)	
	Kontrol	0,20-2,60	0,86±0,60	0,70 (0,30)	
CD8 ⁺ IL-17	Hafif seyirli	0,10-1,80	0,59±0,42	0,40 (0,25)	0,309 ²
	Ağır	0,10-2,20	0,81±0,63	0,60 (0,58)	
	Kontrol	0,10-1,80	0,49±0,36	0,40 (0,19)	
CD3 ⁺ IL-22	Hafif seyirli	0,00-1,50	0,54±0,42	0,40 (0,40)	0,015^{2a}
	Ağır	0,10-2,00	0,73±0,59	0,55 (0,50)	
	Kontrol	0,00-0,90	0,29±0,22	0,20 (0,19)	
CD4 ⁺ IL-22	Hafif seyirli	0,10-1,50	0,72±0,41	0,60 (0,30)	0,013^{2b}
	Ağır	0,10-3,00	1,03±0,79	0,90 (0,65)	
	Kontrol	0,20-1,10	0,49±0,26	0,40 (0,15)	
CD8 ⁺ IL-22	Hafif seyirli	0,00-1,50	0,38±0,33	0,30 (0,27)	0,027^{2c}
	Ağır	0,00-1,20	0,41±0,37	0,25 (0,32)	
	Kontrol	0,00-0,40	0,19±0,11	0,15 (0,09)	

Min-max: minimum-maksimum, Ort±SS: Ortalama±standart sapma, ÇAS: çeyrekler arası sapma

*Hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada normal dağılıma uyan verilerde 1: bağımsız iki örneklem T Testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise 2: Mann-Whitney U Test kullanıldı. p<0,05 anlamlı kabul edildi.

a: ağır & kontrol p=0.027

b: ağır & kontrol p=0.018

c: hafif seyirli & kontrol p= 0.003

3.5. CBA Yöntemi İle Serumda Belirlenen Sitokinler

IL-17 sitokini, ağır pnömonili hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p=0,036$), hafif seyirli hastalarda ise kontrole göre fark yoktu ($p>0,005$). TNF, IL-10 ve IL-6 sitokinleri, hafif seyirli ve ağır pnömonili grupta kontrole göre yüksekti (TNF: hafif seyirli ile kontrol: $p=0,001$, ağır ve kontrol: $p=0,015$. IL-10: hafif seyirli ile kontrol: $p=0,001$, ağır ve kontrol: $p=0,001$. IL-6: hafif seyirli ile kontrol: $p=0,027$, ağır ve kontrol: $p=0,012$). IL-4 sitokini, ağır pnömonili grupta hafif seyirli ve kontrole göre daha yüksekti (sırasıyla, $p=0,030$ ve $p=0,012$), hafif seyirli ile kontrol grubu arasında fark yoktu ($p>0,005$). IFN- γ ve IL-2 sitokinlerinde ise hasta ve kontrol grubu arasında fark yoktu ($p>0,005$).

3.6. Laboratuvar Bulguları ve T Hücre Alt Grupları Arasındaki Korelasyon

Hematoloji tetkik parametreleri ile T hücre alt grupları arasındaki ilişki araştırıldığında $CD3^+CD4^+$ yardımcı T hücre ile nötrofil/lenfosit oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $rho=-0.282$, $p=0.029$) (Tablo 3.5).

Koagülasyon parametreleri ile T hücre alt grupları arasındaki ilişki araştırıldığında $CD3^+CD8^+$ sitotoksik T hücre ile PT-INR arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptanırken (Spearman'ın $rho=0.300$, $p=0.020$), $CD4/CD8$ oranı ile PT-INR arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $rho=-0.312$, $p=0.015$). Th1 ile PT, APT ve PT-INR arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $rho=0,439$, $p<0,0001$; Spearman'ın $rho=0,267$, $p=0.039$; Spearman'ın $rho=0,443$, $p=0.001$). Th17.1 ile D-dimer arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $rho=0.271$, $p=0.036$). Th1/Th2 oranı ile PT ve PT-INR arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $rho=0,296$, $p=0,022$; Spearman'ın $rho=0,298$, $p=0.021$). Th1/Th17 oranı ile PT ve PT-INR arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $rho=0,348$, $p=0,006$; Spearman'ın $rho=0,351$, $p=0.006$) (Tablo 3.6).

Kan gazı parametreleri ile T hücre alt grupları arasındaki ilişki araştırıldığında $CD3^+CD4^+$ yardımcı T hücre ile laktat arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $rho=0.304$, $p=0.018$). $CD3^+CD8^+$ sitotoksik T hücre

ile pCO₂ arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=-0.272$, $p=0.035$). CD4⁺IL-17 ile pO₂ arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=0.274$, $p=0.034$) (Tablo 3.7).

Tablo 3.5. Hematoloji parametreleri ile T hücre alt grupları arasındaki ilişki.

T hücre alt grupları	BKH	Lenfosit	Nötrofil	Nötrofil/ Lenfosit Oranı	Trombosit
	ρ	ρ	ρ	ρ	ρ
CD3 ⁺ Total T Hücre	-0,069	-0,002	-0,063	-0,051	0,091
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Yardımcı T Hücre	-0,159	0,233	-0,202	-0,282 p=0,029	0,143
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Sitotoksik T Hücre	-0,014	-0,183	0,036	0,114	-0,035
CD4/CD8 Oranı	-0,089	0,217	-0,132	-0,198	0,071
Th1	0,112	-0,103	0,128	0,081	-0,099
Th2	-0,003	0,149	-0,060	-0,128	-0,122
Th17	-0,012	0,031	-0,016	-0,009	-0,077
Th17.1	0,012	-0,161	0,046	0,069	0,022
Th1/Th2 Oranı	0,101	-0,105	0,127	0,089	0,040
Th1/Th17 Oranı	0,127	-0,054	0,138	0,055	0,000
Memory CD4	-0,023	-0,043	-0,032	-0,027	-0,013
CD4 ⁺ Tfh	0,133	0,047	0,111	0,053	-0,048
CD4 ⁺ Tph	-0,148	-0,093	0,065	0,151	-0,121
CD8 ⁺ Tfh	0,034	-0,101	-0,121	0,000	0,010
CD8 ⁺ Tph	-0,001	-0,208	0,041	0,170	-0,138
CD3 ⁺ IFN- γ	-0,083	0,076	-0,098	-0,121	0,108
CD4 ⁺ IFN- γ	-0,119	0,138	-0,161	-0,188	0,022
CD8 ⁺ IFN- γ	-0,126	0,056	-0,116	-0,15	-0,061
CD3 ⁺ IL-4	-0,089	-0,086	-0,071	0,050	0,044
CD4 ⁺ IL-4	-0,090	-0,084	-0,072	0,038	-0,048
CD8 ⁺ IL-4	-0,063	-0,027	-0,060	-0,009	0,091
CD3 ⁺ IL-17	-0,115	0,015	-0,131	-0,087	0,066
CD4 ⁺ IL-17	-0,143	-0,046	-0,143	-0,064	0,029
CD8 ⁺ IL-17	0,092	0,125	0,093	0,000	0,055
CD3 ⁺ IL-22	-0,096	0,000	-0,082	-0,047	0,097
CD4 ⁺ IL-22	-0,145	-0,093	-0,112	0,002	0,092
CD8 ⁺ IL-22	-0,076	-0,081	-0,018	0,085	-0,014

ρ : Spearman korelasyon katsayısı kullanılmıştır.

Tablo 3.6. Koagülasyon parametreleri ile T hücre alt grupları arasındaki ilişki.

T hücre alt grupları	PT	APTT	PT-INR	D-dimer
	<i>rho</i>	<i>rho</i>	<i>rho</i>	<i>rho</i>
CD3 ⁺ Total T Hücre	0,168	0,172	0,162	0,139
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Yardımcı T Hücre	-0,150	-0,085	-0,153	-0,053
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Sitotoksik T Hücre	0,306	0,241	0,300 p=0,020	0,170
CD4/CD8 Oranı	-0,314	-0,202	-0,312 p=0,015	-0,127
Th1	0,439 p=0,000	0,267 p=0,039	0,443 p=0,001	0,170
Th2	0,028	0,016	0,028	-0,024
Th17	-0,074	0,060	-0,073	0,032
Th17.1	0,002	0,042	0,003	0,271 p=0,036
Th1/Th2 Oranı	0,296 p=0,022	0,164	0,298 p=0,021	0,117
Th1/Th17 Oranı	0,348 p=0,006	0,143	0,351 p=0,006	0,096
Memory CD4	0,054	0,188	0,057	0,224
CD4 ⁺ Tfh	0,064	0,003	0,061	-0,081
CD4 ⁺ Tph	-0,151	-0,118	-0,157	0,148
CD8 ⁺ Tfh	0,100	0,020	0,104	0,233
CD8 ⁺ Tph	0,057	-0,035	0,049	0,065
CD3 ⁺ IFN- γ	0,035	0,165	0,053	0,053
CD4 ⁺ IFN- γ	0,023	0,168	0,042	0,040
CD8 ⁺ IFN- γ	0,210	0,178	0,220	-0,078
CD3 ⁺ IL-4	-0,066	0,080	-0,068	0,008
CD4 ⁺ IL-4	-0,068	0,111	-0,071	0,007
CD8 ⁺ IL-4	-0,059	0,068	-0,062	-0,057
CD3 ⁺ IL-17	-0,075	0,177	-0,068	0,127
CD4 ⁺ IL-17	-0,123	0,043	-0,119	0,118
CD8 ⁺ IL-17	-0,122	0,020	-0,119	0,096
CD3 ⁺ IL-22	-0,011	0,078	-0,013	0,184
CD4 ⁺ IL-22	0,108	-0,040	0,106	0,162
CD8 ⁺ IL-22	-0,103	-0,042	-0,104	0,129

rho: Spearman korelasyon katsayısı kullanılmıştır.

Tablo 3.7. Kan gazı parametreleri ile T hücre alt grupları arasındaki ilişki.

T hücre alt grupları	pH	pO ₂	pCO ₂	Laktat
	<i>rho/r</i>	<i>rho/r</i>	<i>rho/r</i>	<i>rho/r</i>
CD3 ⁺ Total T Hücre	-0,012 ²	0,130 ²	-0,237 ²	0,126 ²
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Yardımcı T Hücre	-0,134 ¹	0,220 ²	-0,068 ²	0,304² p=0,018
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Sitotoksik T Hücre	0,054 ¹	0,036 ²	-0,272² p=0,035	-0,121 ²
CD4/CD8 Oranı	-0,086 ²	0,062 ²	0,150 ²	0,249 ²
Th1	0,209 ²	-0,074 ²	-0,023 ²	0,072 ²
Th2	-0,070 ²	0,089 ²	0,015 ²	-0,011 ²
Th17	-0,087 ²	-0,153 ²	0,055 ²	-0,233 ²
Th17.1	0,186 ²	0,186 ²	-0,199 ²	-0,166 ²
Th1/Th2 Oranı	0,179 ²	-0,054 ²	-0,043 ²	0,114 ²
Th1/Th17 Oranı	0,198 ²	0,0522 ²	-0,061 ²	0,160 ²
Memory CD4	0,178 ¹	0,047 ²	-0,140 ²	-0,174 ²
CD4 ⁺ Tfh	-0,141 ²	-0,017 ²	0,140 ²	-0,127 ²
CD4 ⁺ Tph	0,016 ²	0,068 ²	-0,106 ²	0,236 ²
CD8 ⁺ Tfh	0,087 ²	0,165 ²	-0,047 ²	-0,018 ²
CD8 ⁺ Tph	0,138 ²	0,084 ²	-0,137 ²	-0,054 ²
CD3 ⁺ IFN- γ	-0,069 ¹	0,062 ²	0,090 ²	-0,001 ²
CD4 ⁺ IFN- γ	-0,004 ²	0,090 ²	0,012 ²	-0,091 ²
CD8 ⁺ IFN- γ	-0,039 ¹	0,005 ²	0,177 ²	-0,075 ²
CD3 ⁺ IL-4	0,153 ²	0,005 ²	-0,145 ²	-0,134 ²
CD4 ⁺ IL-4	0,030 ²	0,017 ²	-0,114 ²	-0,088 ²
CD8 ⁺ IL-4	0,000 ²	0,062 ²	-0,090 ²	-0,072 ²
CD3 ⁺ IL-17	-0,031 ²	0,156 ²	-0,019 ²	-0,020 ²
CD4 ⁺ IL-17	0,020 ²	0,274² p=0,034	-0,107 ²	-0,082 ²
CD8 ⁺ IL-17	-0,124 ²	0,219 ²	-0,133 ²	-0,126 ²
CD3 ⁺ IL-22	-0,007 ²	0,185 ²	-0,105 ²	-0,063 ²
CD4 ⁺ IL-22	0,227 ²	0,213 ²	-0,154 ²	-0,065 ²
CD8 ⁺ IL-22	0,031 ²	-0,052 ²	-0,218 ²	-0,213 ²

1: *r*: Pearson korelasyon katsayısı, 2: *rho*: Spearman korelasyon katsayısı

Biyokimya ve akut faz reaktant parametreleri ile T hücre alt grupları arasındaki ilişki araştırıldığında CD3⁺ total T hücre ile CRP arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=0.274$, $p=0.034$). CD3⁺CD4⁺ Yardımcı T Hücre ile ALT arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=-0.304$, $p=0.018$). CD3⁺CD8⁺ sitotoksik T hücre ile ALT arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptanırken, üre arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=-0.285$, $p=0.027$; Spearman'ın $\rho=-0.285$, $p=0.027$). CD4/CD8 oranı ile ALT arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptanırken, albumin arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=-0.342$, $p=0.007$; Spearman'ın $\rho=0.260$, $p=0.045$). Th1 ile kreatinin ve CRP arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=0.267$, $p=0.039$; Spearman'ın $\rho=0.287$, $p=0.026$). Th17.1 oranı ile troponin I arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=0.281$, $p=0.030$). Th1/ Th2 oranı ile kreatinin ve CRP arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=0.271$, $p=0.036$; Spearman'ın $\rho=0.269$, $p=0.038$). Th1/ Th17 oranı ile CRP arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=0.255$, $p=0.049$). Memory CD4 ile ALT arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=-0.313$, $p=0.015$). CD8⁺ Tfh ile ALT arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=0.271$, $p=0.036$). CD8⁺ Tph ile üre arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=0.288$, $p=0.026$). CD4⁺ IFN- γ ile ALT arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=0.301$, $p=0.019$). CD8⁺ IFN- γ ile ALT ve üre arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=-0.264$, $p=0.041$; Spearman'ın $\rho=-0.318$, $p=0.013$). CD3⁺IL-17 ile ALT ve AST arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=-0.317$, $p=0.014$; Spearman'ın $\rho=-0.276$, $p=0.033$). CD4⁺IL-17 ile ALT arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=-0.318$, $p=0.013$). CD8⁺IL-17 ile ferritin arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=0.335$, $p=0.009$). CD3⁺IL-22 ile ALT ve AST arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=-0.424$, $p=0.001$; Spearman'ın $\rho=-0.310$, $p=0.016$). CD4⁺IL-22 ile ALT arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir ilişki saptandı (Spearman'ın $\rho=-0.353$, $p=0.006$) (Tablo 3.8).

Tablo 3.8. Biyokimya ve akut faz reaktant parametreleri ile T hücre alt grupları arasındaki ilişki.

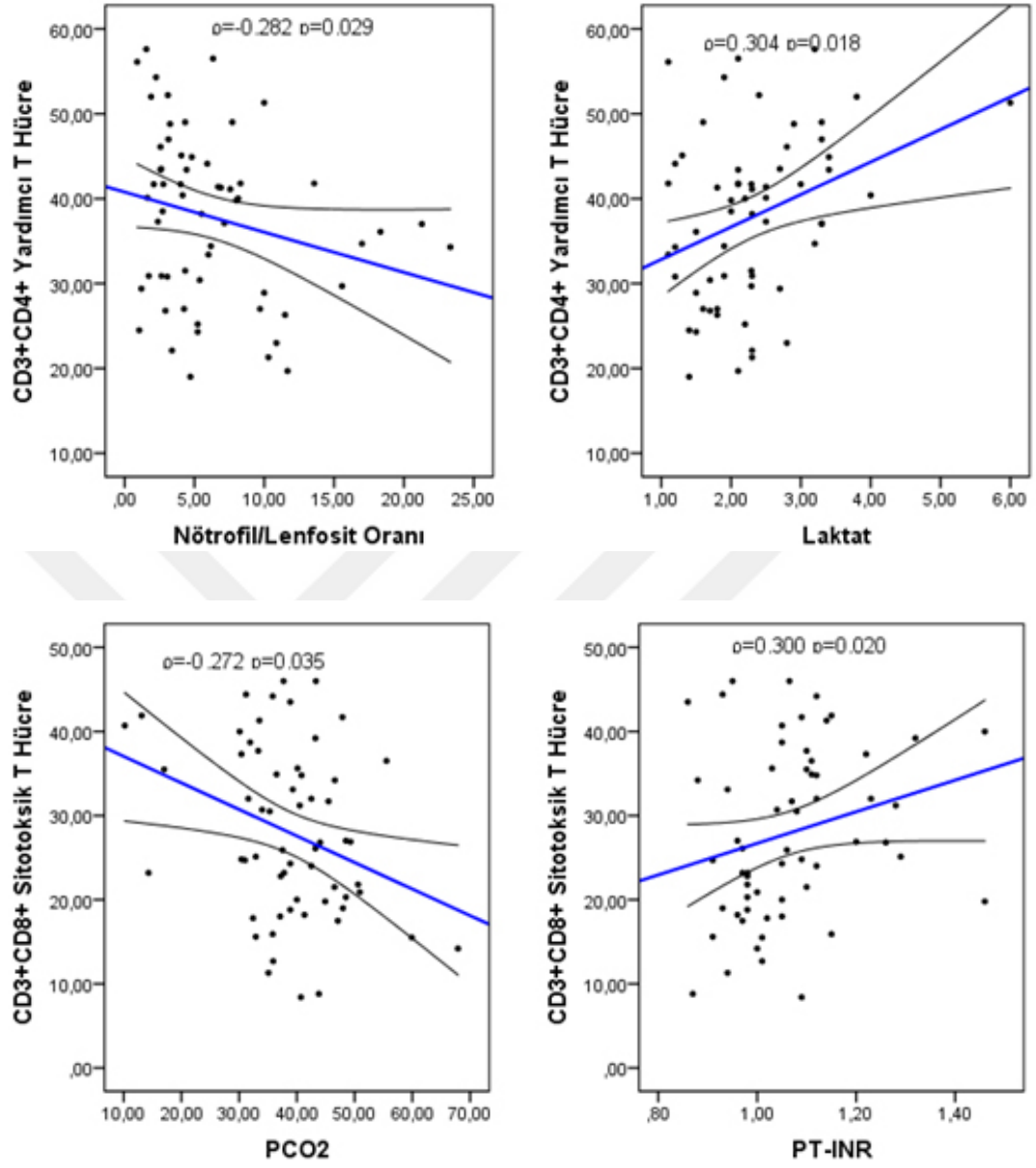
T hücre alt grupları	ALT	AST	Albumin	Üre	Kreatinin	CK	LDH
	<i>rho/r</i>	<i>rho/r</i>	<i>rho/r</i>	<i>rho/r</i>	<i>rho/r</i>	<i>rho/r</i>	<i>rho/r</i>
CD3 ⁺ Total T Hücre	-0,044 ²	-0,070 ²	-0,039 ²	0,186 ²	0,192 ²	0,010 ²	-0,034 ²
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Yardımcı T Hücre	-0,304² P=0,018	0,160 ²	0,155 ²	-0,173 ²	-0,064 ²	-0,017 ²	-0,026 ¹
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Sitotoksik T Hücre	-0,285² P=0,027	-0,192 ²	-0,232 ²	0,285² p=0,027	0,238 ²	0,074 ²	0,025 ¹
CD4/CD8 Oranı	-0,342² p=0,007	0,225 ²	0,260² p=0,045	-0,251 ²	-0,156 ²	-0,087 ²	-0,012 ²
Th1	-0,207 ²	0,109 ²	-0,216 ²	0,066 ²	0,267² p=0,039	0,118 ²	0,112 ²
Th2	-0,042 ²	0,012 ²	0,032 ²	-0,150 ²	-0,156 ²	0,152 ²	-0,036 ²
Th17	-0,023 ²	0,062 ²	-0,002 ²	-0,029 ²	-0,091 ²	0,126 ²	0,025 ²
Th17.1	-0,039 ²	0,087 ²	-0,208 ²	0,191 ²	0,185 ²	0,029 ²	0,201 ²
Th1/Th2 Oranı	-0,063 ²	0,105 ²	-0,118 ²	0,120 ²	0,271² p=0,036	0,000 ²	0,098 ²
Th1/Th17 Oranı	-0,121 ²	0,040 ²	-0,142 ²	0,082 ²	0,236 ²	0,023 ²	0,091 ²
Memory CD4	-0,313² P=0,015	-0,015 ²	-0,059 ²	0,143 ²	0,122 ²	0,043 ²	-0,015 ¹
CD4 ⁺ Tfh	-0,066 ²	-0,088 ²	-0,036 ²	0,021 ²	-0,081 ²	-0,171 ²	-0,143 ²
CD4 ⁺ Tph	0,046 ²	0,086 ²	-0,125 ²	0,256 ²	0,079 ²	-0,021 ²	0,243 ²
CD8 ⁺ Tfh	0,271² p=0,036	-0,031 ²	-0,233 ²	-0,083 ²	0,021 ²	0,055 ²	0,164 ²
CD8 ⁺ Tph	-0,045 ²	-0,152 ²	-0,251 ²	0,288² p=0,026	0,096 ²	0,075 ²	0,124 ²
CD3 ⁺ IFN- γ	-0,213 ²	-0,178 ²	-0,065 ²	-0,143 ²	-0,174 ²	-0,082 ²	-0,168 ¹
CD4 ⁺ IFN- γ	-0,301² p=0,019	-0,166 ²	0,026 ²	-0,153 ²	-0,144 ²	-0,049 ²	-0,225 ²
CD8 ⁺ IFN- γ	-0,264² P=0,041	-0,175 ²	0,046 ²	-0,318² p=0,013	-0,231 ²	-0,020 ²	-0,126 ¹
CD3 ⁺ IL-4	-0,189 ²	-0,151 ²	0,116 ²	0,011 ²	0,032 ²	-0,007 ²	-0,046 ²
CD4 ⁺ IL-4	-0,171 ²	-0,045 ²	0,065 ²	0,024 ²	0,014 ²	-0,122 ²	-0,091 ²
CD8 ⁺ IL-4	-0,147 ²	-0,216 ²	0,087 ²	0,073 ²	0,088 ²	-0,038 ²	0,035 ²
CD3 ⁺ IL-17	-0,317² p=0,014	-0,276² p=0,033	0,017 ²	-0,084 ²	-0,079 ²	-0,221 ²	0,028 ²
CD4 ⁺ IL-17	-0,318² p=0,013	-0,241 ²	-0,084 ²	-0,028 ²	-0,068 ²	-0,174 ²	0,055 ²
CD8 ⁺ IL-17	0,018 ²	-0,148 ²	-0,050 ²	0,138 ²	0,031 ²	-0,242 ²	0,107 ²
CD3 ⁺ IL-22	-0,424² p=0,001	-0,310² p=0,016	-0,109 ²	0,026 ²	-0,016 ²	-0,144 ²	-0,020 ²
CD4 ⁺ IL-22	-0,353² p=0,006	-0,169 ²	-0,069 ²	-0,165 ²	-0,141 ²	-0,010 ²	0,006 ²
CD8 ⁺ IL-22	-0,019 ²	0,099 ²	0,055 ²	0,094 ²	0,179 ²	-0,010 ²	0,243 ²

1: *r*: Pearson korelasyon katsayısı, 2: *rho*: Spearman korelasyon katsayısı

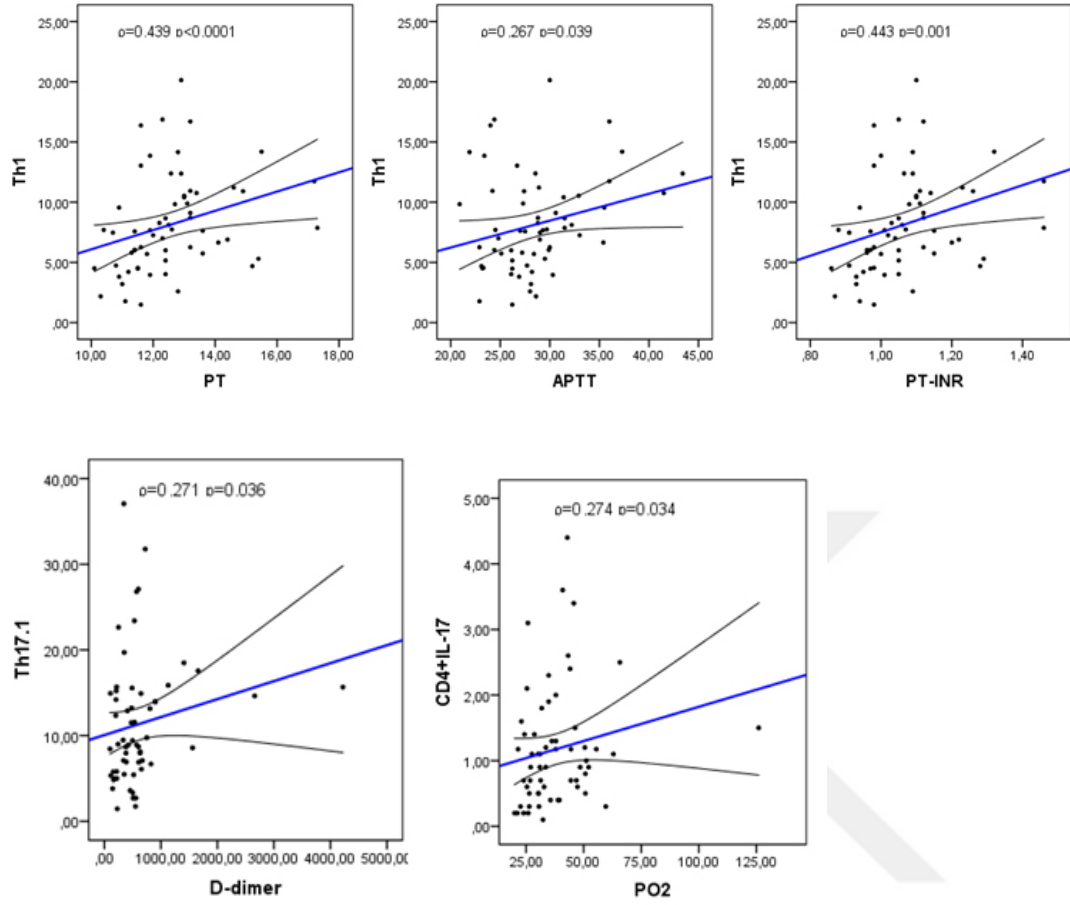
Tablo 3.8 (Devam). Biyokimya ve akut faz reaktant parametreleri ile T hücre alt grupları arasındaki ilişki.

T hücre alt grupları	Ferritin	CRP	Prokalsitonin	Troponin I
	<i>rho</i>	<i>rho</i>	<i>rho</i>	<i>rho</i>
CD3 ⁺ Total T Hücre	0,065	0,274 p=0,034	0,171	0,166
CD3 ⁺ CD4 ⁺ Yardımcı T Hücre	-0,029	0,062	-0,106	-0,110
CD3 ⁺ CD8 ⁺ Sitotoksik T Hücre	0,147	0,254	0,226	0,253
CD4/CD8 Oranı	-0,092	-0,132	-0,227	-0,221
Th1	0,015	0,287 p=0,026	0,152	0,103
Th2	-0,115	-0,101	0,076	-0,120
Th17	-0,098	-0,054	0,142	-0,010
Th17.1	0,149	0,193	0,169	0,281 p=0,030
Th1/Th2 Oranı	0,117	0,269 p=0,038	0,062	0,114
Th1/Th17 Oranı	0,101	0,255 p=0,049	0,030	0,061
Memory CD4	-0,031	0,191	0,194	0,044
CD4 ⁺ Tfh	-0,093	-0,012	0,007	0,021
CD4 ⁺ Tph	0,183	0,204	0,045	0,051
CD8 ⁺ Tfh	-0,150	0,110	0,014	-0,024
CD8 ⁺ Tph	0,186	0,142	0,039	0,159
CD3 ⁺ IFN- γ	-0,217	-0,075	-0,149	-0,057
CD4 ⁺ IFN- γ	-0,248	-0,064	-0,091	-0,098
CD8 ⁺ IFN- γ	-0,194	-0,070	-0,229	-0,156
CD3 ⁺ IL-4	0,004	-0,046	0,006	-0,074
CD4 ⁺ IL-4	0,016	0,029	0,053	-0,102
CD8 ⁺ IL-4	0,063	-0,064	-0,069	-0,168
CD3 ⁺ IL-17	-0,079	-0,101	-0,218	0,074
CD4 ⁺ IL-17	-0,138	-0,134	-0,176	0,042
CD8 ⁺ IL-17	0,335 p=0,009	-0,040	-0,042	0,010
CD3 ⁺ IL-22	-0,083	0,036	-0,162	0,023
CD4 ⁺ IL-22	-0,201	0,121	-0,115	-0,080
CD8 ⁺ IL-22	0,240	0,151	0,007	-0,017

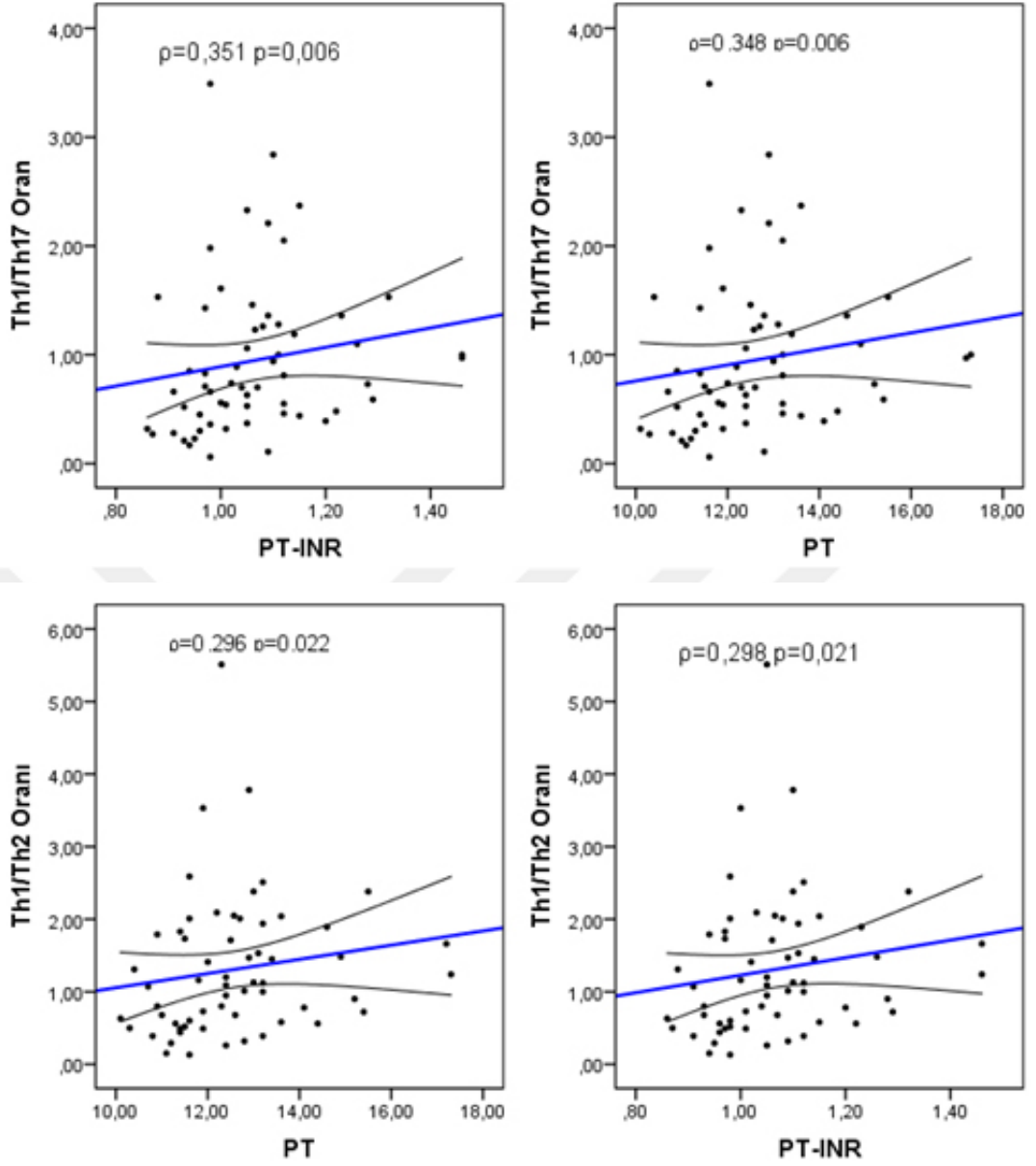
rho: Spearman korelasyon katsayısı kullanılmıştır.



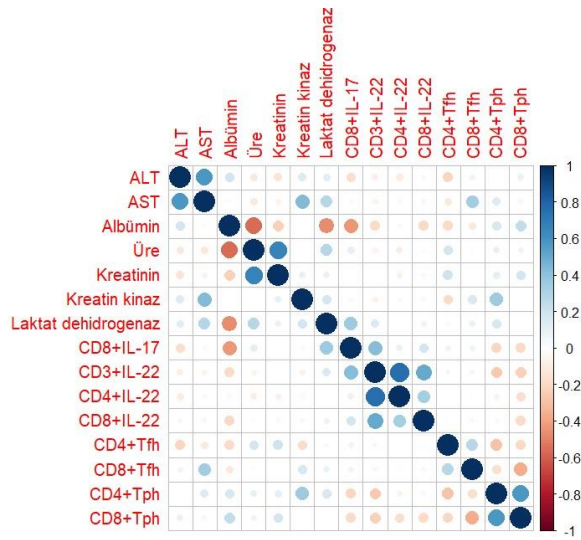
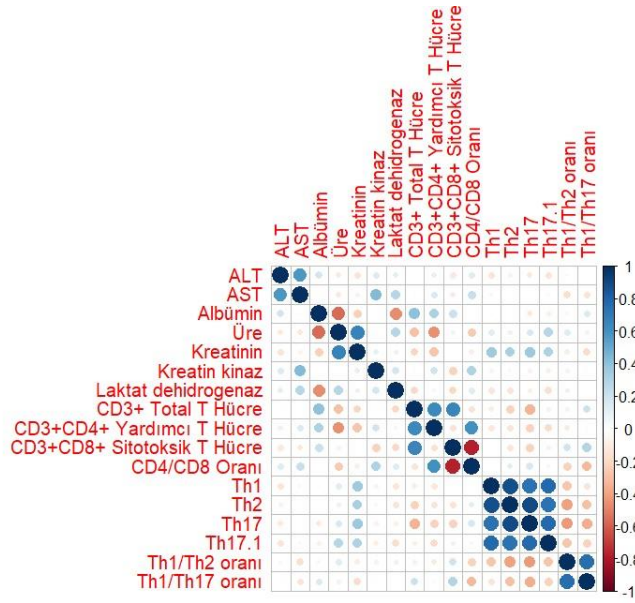
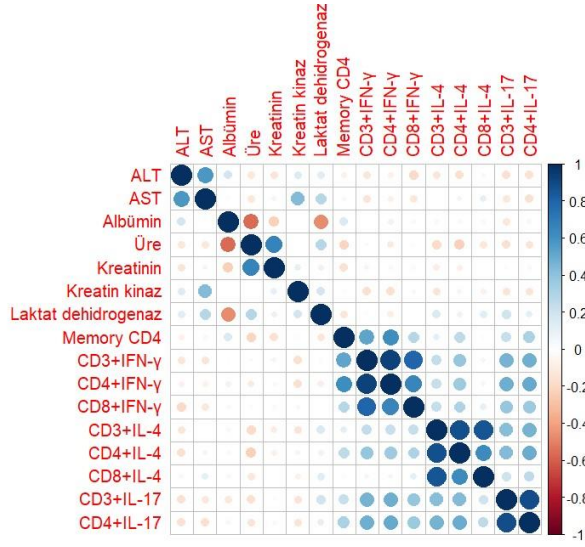
Şekil 3.1. CD4⁺ Yardımcı T hücre ve CD8⁺ sitotoksik T hücreleri ile laboratuvar parametreleri arasındaki korelasyon grafiği.



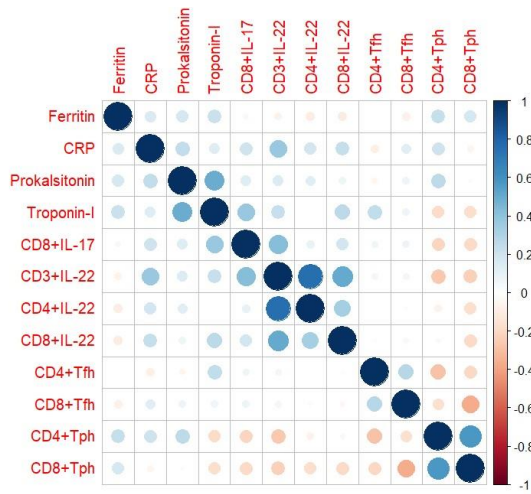
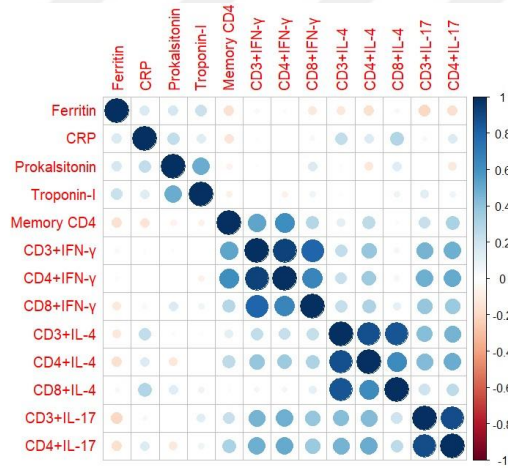
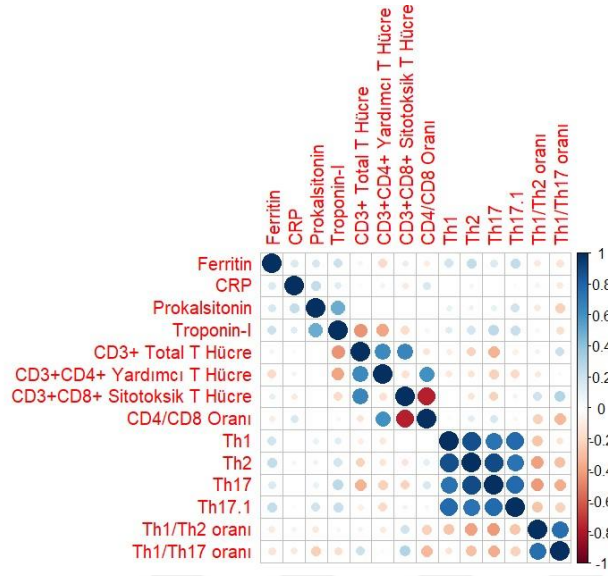
Şekil 3.2. Th1, Th17.1 ve CD4⁺IL-17 hücreleri ile laboratuvar parametreleri arasındaki korelasyon grafiği.



Şekil 3.3. Th1/Th17 oranı ve Th1/Th2 oranı ile laboratuvar parametreleri arasındaki korelasyon grafiği.



Şekil 3.4. Laboratuvar parametreleri ile T hücre alt grupları korelasyon matrisi.



Şekil 3.5. Laboratuvar parametreleri ile T hücre alt grupları korelasyon matrisi.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada 60 COVID-19 pnömonili hasta ve 29 sağlıklı kontrolde CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre alt grupları ekspres ettikleri yüzey reseptörlerine ve/veya hücre içi sitokin düzeylerine göre akım sitometri yöntemi ile belirlendi. Hasta ve kontrol grubunda total T hücre, yardımcı T hücre, Th2, Th17, Th22, CD4⁺ foliküler T hücre, CD4⁺ periferik T hücre, sitotoksik T hücre, CD8⁺ foliküler T hücre, CD8⁺ periferik T hücre alt grupları açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. IFN- γ , IL-17 ve IL-4 salgılayan T hücre alt grupları arasında da hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu. Ağır ve hafif seyirli pnömonili hastalarda Th1, Th17.1, Th1/Th17 oranı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü. Ağır pnömonili hastalarda memory CD4⁺ T hücreler kontrol grubuna göre düşüktü. IL-22⁺ salgılayan T hücre alt grupları ise ağır pnömonili hastalarda kontrole kıyasla yüksek olduğu saptandı.

Viral enfeksiyonlara yanıt, doğal ve edinilmiş bağışıklık sisteminin aktivasyonu ile birlikte gerçekleşir. Çeşitli viral enfeksiyonlara karşı en etkili yanıt, özellikle T hücre aktivasyonu olan hücrel bağışıklık yanıtının aktivasyonudur (Ganji ve ark 2020). CD8⁺ sitotoksik T hücreleri (Tc), perforin, granzim ve interferonlar (IFN'ler) dahil bir dizi molekül salgılayarak virüsleri vücuttan uzaklaştırabilir (Mescher ve ark 2006). CD4 yardımcı T hücreleri (Th) ayrıca sitotoksik T hücrelerine ve B hücrelerine yardımcı olarak viral enfeksiyonun ortadan kaldırılmasına yardımcı olur (Zhu ve ark 2009).

SARS-CoV-2 spesifik CD4⁺ T hücreleri, özellikle kritik durumdaki hastalarda IFN- γ , TNF- α ve IL-2 üreten baskın bir Th1 yanıtını sergiliyor olmasına rağmen Th2 ve Th17 yanıtlarına özgü sitokinler de tespit edilmiştir. COVID-19 seyri sırasında dolaşan Tfh hücre yanıtı yaygın olarak gözlenmektedir. Bu hücreler B lenfositleri antikor üretimi için uyarabilme yeteneğine sahiptir. Ancak, sitotoksik özelliklere sahip Tfh hücrelerindeki bir artış, edinsel bağışıklığın azalmış aktivitesine etki edebileceği için B hücreleri için zararlı olabilir. SARS-CoV enfeksiyonunda hafif-orta şiddetli grupta güçlü bir Th1 hücre yanıtı ve daha yüksek düzeyde nötralize edici antikorlar gözlemlenirken, ölümcül grupta daha yüksek düzeyde Th2 sitokinleri (IL-4, IL-5, IL-10) tespit edilmiştir. Mevcut kanıtlar, Th1 yanıtının SARS-CoV ve MERS-CoV'yi başarılı bir şekilde kontrol etmek için kritik olduğunu ve bu durumun SARS-CoV-2

için de önemli olabileceğini göstermektedir (Li ve ark 2008). Çalışmamızda Th1 oranının hem hafif seyirli hem de ağır pnömonili hastalarda kontrole kıyasla düşük olduğu bulunmuştur. Th17.1 oranının ise, ağır pnömonili hastalarda, hafif seyirli hastalar ve kontrole kıyasla hada düşük olduğu gözlenmiştir. Th1/Th17 oranı da COVID-19 hastalarında düşük bulunmuştur. Th1 yanıtları hastalığın ilk evresindeki viral enfeksiyonun kontrol altına alınmasında çok önemlidir. (Alebrahim Dehcordi ve ark 2022). Hastalarımızda pnömoni gelişiminde ve hastalığın ilerlemesinde Th1 yanıt yetersizliğinin ve T hücre alt gruplarındaki dengesizliğin sorumlu olduğunu göstermektedir.

Naif ve memory T hücreleri arasındaki denge, enfeksiyonun kontrolü için önemlidir. Naif T hücreleri, sitokin üretimi yoluyla yeni, önceden tanınmamış enfeksiyona karşı savunmadan sorumludur. Öte yandan, memory T hücreleri antijen-spesifik bağışıklık yanıtlarını teşvik eder. Naif T hücreleri lehine dengeyi bozma, aşırı iltihaplanmayı kuvvetlice destekleyebilir. Diğer yandan, hafıza T hücrelerinin azalması, COVID-19 nüksüne katkıda bulunabilir. Bu durum COVID-19'un bazı iyileşen vakalarında bildirilmiştir (Chen ve ark 2020a, Qin ve ark 2020, Yuan ve ark 2020). Çalışmamızda literatürle benzer şekilde ağır pnömonili COVID-19 hastaları kontrolle karşılaştırıldığında memory hücre sayısı önemli ölçüde düşük bulunmuştur.

COVID-19 enfeksiyonu sırasında tespit edilen sitokinlerin ve kemokinlerin büyük üretimi, "sitokin fırtınası" olarak adlandırılan, yaygın ve kontrolsüz gözlenen doku hasarından başlıca sorumlu olan durumdur. Sitokin fırtınası, sitokin salınım sendromu (CRS) ile benzerlik gösterir ve plazma sızıntısı, vasküler geçirgenlik ve yaygın damar pıhtılaşmasıyla sonuçlanır (Bhaskar ve ark 2020). Çalışmamızda Th hücrelerinin kültür ortamında salgıladıkları sitokinler açısından (IFN- γ , IL-4 ve IL-17) COVID-19 pnömonisi olan olan hastalar ile kontrol grubu arasında bir fark gözlenmedi.

Th17 hücreleri IL-17 üretimi ile karakterizedir. Bu hücreler aynı zamanda IL-22'yi, Th1 veya Th2 hücrelerinden önemli ölçüde daha yüksek miktarlarda ifade ederler. IL-22, IL-10 ailesinin bir üyesidir. Etkilerini, akciğer, cilt, bağırsak, karaciğer, pankreas ve böbrek gibi hematopoietik olmayan hücre hatları tarafından ifade edilen IL-22 reseptör kompleksi aracılığıyla gerçekleştirir. IL-17 ve IL-22, epitelyal hücreler üzerinde sinerjik bir etkiye sahiptirler ve bunun sonucunda antimikrobiyal peptitlerin

üretimini uyarırlar, bu da enfeksiyonlara karşı koruyucudur. Bununla birlikte, her iki interleukin'in üretimi kontrol edilmezse, her ikisi de ARDS patolojisine katkıda bulunabilir (Mostafa ve ark 2022). Mostafa ve ark'nın yaptığı çalışmada COVID-19'lu çocuk hastaların serum IL-22 düzeylerinin kontrole kıyasla arttığı bulunmuştur. Biz de çalışmamızda benzer şekilde IL-22 salgılayan hücrelerin ağır pnömonili hastalarda hastalarda kontrole kıyasla daha yüksek olduğunu gösterdik.

Bastug ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada YBÜ grubu hastalarında daha yüksek üre, kreatinin, AST, LDH, INR, fibrinojen, CRP, ferritin, D-dimer düzeylerinin yanı sıra lenfositler, hemoglobin, hematokrit, toplam protein ve albümin düşük seyretmiştir (Bastug ve ark 2020). Çeşitli çalışmalarda COVID-19 hastalarına sıklıkla albümin azalmasının eşlik ettiğini ve şiddetli hastalarda serum albümin seviyesinin hafif hastalardan daha düşük olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda ağır seyirli grupta hafif gruba göre albümin seviyesinin daha düşük olduğu, LDH ve CRP'nin ise daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda diğer biyokimyasal veriler açısından hafif ve ağır seyirli hasta grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Ağır COVID-19'u olan hastalarda aşırı inflamatuvar sitokin üretimi (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-10) sonucu sitokin salınım sendromu ve bunun en şiddetli formu olan sitokin fırtınası görülebilmektedir. Çok sayıda çalışmada sitokin fırtınasının COVID19 hastalarının kötüleşmesinde etkili olduğu belirtilmiştir. NF-kB yolu, tip I interferon yolağı ve inflamazom aktivasyonu sonucu proinflamatuvar sitokinlerin genlerindeki aktifleşmeyle sitokinler sentezlenir ve salgılanır. SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında önce IL-1 β , IL-1RA, IL-7, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α gibi sitokinlerin düzeyi artar (Chatterjee ve ark 2020, Li ve ark 2020b). Çalışmamızda CBA yöntemi ile serumda çalıştığımız; IL-17 sitokini, ağır pnömonili hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu (p=0,036), hafif seyirli hastalarda ise fark yoktu (p>0,005). TNF, IL-10 ve IL-6 sitokinleri, hafif seyirli ve ağır pnömonili grupta kontrole göre yüksekti (TNF: hafif seyirli ile kontrol: p=0,001, ağır ve kontrol: p=0,015. IL-10: hafif seyirli ile kontrol: p=0,001, ağır ve kontrol: p=0,001. IL-6: hafif seyirli ile kontrol: p=0,027, ağır ve kontrol: p=0,012). IL-4 sitokini, ağır pnömonili grupta hafif seyirli ve kontrole göre daha yüksekti (sırasıyla, p=0,030 ve p=0,012). IFN- γ ve IL-2 sitokinlerinde ise hasta ve kontrol grubu arasında fark yoktu (p>0,005).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

SARS-CoV-2 enfeksiyonu, klinik hastalık sunumunda geniş bir spektruma sahiptir. Bu spektrum, semptomsuzdan ölümcül olana kadar uzanmaktadır. Nötralize edici antikor yanıtları, semptomatik ve şiddetli enfeksiyona karşı koruma ile ilişkilidirken, T hücre yanıtının hastalığın çözünmesine veya ilerlemesine katkısı hala belirsizdir. Yeni ortaya çıkan varyantlar kısmen antikor yanıtlarından kaçma kapasitesine sahip oldukları için, bireysel T hücre alt gruplarının hastalık sonucuna katkısını tanımlamak, gelecek nesil COVID-19 aşılarının geliştirilmesine bilgi sağlamak için önemlidir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular doğrultusunda;

Ağır ve hafif seyirli pnömonili hastalarda Th1, Th17.1, Th1/Th17 oranı kontrol grubuna kıyasla düşük bulunmuştur.

Ağır pnömonili hastalarda memory CD4⁺ T hücreler kontrol grubuna göre düşük olması hastalığın seyrinde bu hücrelerin önemli olabileceğini göstermektedir.

IL-22⁺ salgılayan T hücre alt gruplarının ağır pnömonili hastalarda kontrole kıyasla yüksek olması IL-22'nin önemini göstermektedir.

CBA yöntemi ile; IL-17 sitokini, ağır pnömonili hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. TNF, IL-10 ve IL-6 sitokinleri, hafif seyirli ve ağır pnömonili grupta kontrole göre yüksekti. IL-4 sitokini, ağır pnömonili grupta hafif seyirli ve kontrole göre daha yüksekti. IFN- γ ve IL-2 sitokinlerinde ise hasta ve kontrol grubu arasında fark yoktu.

Hastaların başlangıçtaki ve iyileştikten sonraki T hücre alt grupları ve sitkonleri karşılaştırılmalıdır.

Çalışmamızın, yalnızca yetişkinleri içermesi, hastalık şiddeti yüksek ve ağır hastalar ile kontrol grubunun az olması ve maddi kısıtlılık nedeniyle NK ve B hücrelerinin çalışılmaması gibi çeşitli sınırlamaları vardır.

6. KAYNAKLAR

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, 2015. Cellular and Molecular Immunology, Eighth ed. Elsevier, p. 17.
- Agrati C, Sacchi A, Bordoni V, Cimimi E, Notari S, Grassi G, Casetti R, Tartaglia E, Lalle E, et al, 2020. Expansion of myeloid-derived suppressor cells in patients with severe coronavirus disease (COVID-19). *Cell Death Dis*, 27 (11), 3196-3207.
- Akira S, Uematsu S, Takeuchi O, 2006. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124, 783-801.
- Aleebrahim-Dehkordi E, Molavi B, Mokhtari M, Deravi N, Fathi M, Fazel T, Mohebalizadeh M, Koochaki P, Shobeiri P, Hasanpou-ehkordi A, 2022. T helper type (Th1/Th2) responses to SARS-CoV-2 and influenza A (H1N1) virus: From cytokines produced to immune responses. *Transpl Immunol*, 70, 101495.
- Alipoor SD, Mortaz E, Jamaati H, Tabarsi P, Bayram H, Varahram M, Adcock IM, 2021. COVID-19: molecular and cellular response. *Front Cell Infect Microbiol*, 11, 563085.
- Assiri A, Al-Tawfiq JA, Al-Rabeeah AA, Al-Rabiah FA, Al-Hajjar S, Al-Barrak A, et al, 2013. Epidemiological, demographic, and clinical characteristics of 47 cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus disease from Saudi Arabia: a descriptive study. *Lancet Infect Dis*, 13 (9), 752-61.
- Astuti I, Ysrafil, 2020. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. *Diabetes Metab Syndr*, 14 (4), 407-12.
- Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, Borczuk A, Cools-Lartigue J, Crawford JM, et al, 2020. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*, 217 (6): e20200652.
- Barton LM, Duval EJ, Stroberg E, Ghosh S, Mukhopadhyay S, 2020. COVID-19 Autopsies, Oklahoma, USA. *Am J Clin Pathol*, 153 (6), 725-733.
- Bastug A, Bodur H, Erdogan S, Gokcinar D, Kazancioglu S, Kosovali BD, Ozbay BO, et al, 2020. Clinical and laboratory features of COVID-19: Predictors of severe prognosis. *Int Immunopharmacol*, 88: 106950.
- Bhaskar S, Sinha A, Banach M, Mittoo S, Weissert R, Kass JS, et al, 2020. Cytokine Storm in COVID-19—Immunopathological Mechanisms, Clinical Considerations, and Therapeutic Approaches: The REPROGRAM Consortium Position Paper. *Front Immunol*, 11, 1648
- Bosmann M, 2021. Complement control for COVID-19. *Sci Immunol*, 6 (59), eabj1014.
- Bozkurt FT, Tercan M, Patmano G, Bingol Tanrıverdi T, Demir HA, Yurekli UF, 2021 Can Ferritin Levels Predict the Severity of Illness in Patients With COVID-19? *Cureus*, 13, e12832.
- Brandao SCS, Ramos JOX, Dompieri LT, Godoi ETAM, Figueiredo JL, Sarinho ESC, Chelvanambi S, Aikawa M, 2021. Is Toll-like receptor 4 involved in the severity of COVID-19 pathology in with cardiometabolic comorbidities? *Cytokine Growth Factor Rev*, 58, 102-110.
- Breedveld A, van Egmond M, 2019. IgA and Fc α RI: Pathological roles and therapeutic opportunities. *Front Immunol*, 10, 553.
- Brian DA, Baric RS, 2005. Coronavirus genome structure and replication. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Berlin, Springer, p.1-30.
- Brufsky A, Lotze MT, 2020. DC/L-SIGNs of hope in the COVID-19 pandemic. *J Med Virol*, 92 (9), 1396-1398.
- Bunte K, Beikler T, 2019. Th17 Cells and the IL-23/IL-17 axis in the pathogenesis of periodontitis and immune-mediated inflammatory diseases. *Int J Mol Sci*, 20 (14), 3394.
- Buttenschön J, Mattner J, 2021. The interplay between dendritic cells and CD8 T lymphocytes is a crucial component of SARS-CoV-2 immunity. *Cell Mol Immunol*, 18 (2), 247-249.
- Cai W, Qin A, Guo P, Yan D, Hu F, Yang Q, Xu M, Fu Y, Zhou J, Tang X, 2013. Clinical significance and functional studies of myeloid-derived suppressor cells in chronic hepatitis C patients. *J Clin Immunol*, 33 (4), 798-808.

- Cameron MJ, Bermejo-Martin JF, Danesh A, Muller MP, Kelvin DJ, 2008. Human immunopathogenesis of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Virus Res*, 133 (1), 13-19.
- Cao X, 2020. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nat Rev Immunol*, 20, 269–70.
- Carvelli J, Demaria O, Vely F, Batista L, Chouaki Benmansour N, Fares J, Carpentier S, Thibault ML, Morel A, et al, 2020. Association of COVID-19 inflammation with activation of the C5a-C5aR1 axis. *Nature*, 588 (7836), 146–150.
- Casadevall A, Pirofski L-A, 2020. The convalescent sera option for containing COVID-19. *J Clin Invest*, 130 (4), 1545-1548.
- Chatterjee SK, Saha S, Munoz MNM, 2020. Molecular Pathogenesis, Immunopathogenesis and Novel Therapeutic Strategy Against COVID-19. *Front Mol Biosci*, 7:196.
- Chen D, Xu W, Lei Z, Huang Z, Liu J, Gao Z, Peng L, 2020a. Recurrence of positive SARS-CoV-2 RNA in COVID-19: A case report. *Int J Infect Dis* 93, 297–299.
- Chen G, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, Wang T, Zhang X, Chen H, Yu H, Zhang X, et al, 2020b. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Invest*, 30, 2620-9.
- Chen J, Lau YF, Lamirande EW, Paddock CD, Bartlett JH, Zaki SR, Subbarao, 2010. Cellular immune responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection in senescent BALB/c mice: CD4+ T cells are important in control of SARS-CoV infection. *J Virol*, 84 (3), 1289-1301.
- Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, Qui Y, Wang J, Liu Y, Wei Y, Xia J, Yu T, Zhang X, Zhang L, 2020c. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*, 395 (10223), 507–13.
- Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, Ma K, Xu D, Yu H, Wang H, Wang T, Guo W, Chen J, Ding C, et al, 2020d. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*, 368:m1091.
- Cheng W, Hornung R, Xu K, Yang CH, Li J, 2021. Complement C3 identified as a unique risk factor for disease severity among young COVID-19 patients in Wuhan, China. *Sci Rep*, 11, 7857.
- Cizmecioglu A, Emsen A, Sumer S, Ergun D, Akay Cizmecioglu H, Turk Dagi H, Artac H, 2022. Reduced Monocyte Subsets, Their *HLA-DR* Expressions, and Relations to Acute Phase Reactants in Severe COVID-19 Cases. 35 (3), 273-282.
- Coomes EA, Haghbayan H, 2020. Interleukin-6 in COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Rev Med Virol*, 30 (6), 1-9.
- Desai N, Neyaz A, Szabolcs A, Shih AR, Chen JH, Thapar V, Nieman LT, Solovyov A, Mehta A, Lieb DJ, Kulkarni AS, et al, 2020. Temporal and spatial heterogeneity of host response to SARS-CoV-2 pulmonary infection. *Nat Commun*, 11, 6319.
- Du Y, Tu L, Zhu P, Mu M, Wang R, Yang P, Wang X, 2020. Clinical features of 85 fatal cases of COVID-19 from Wuhan. A retrospective observational study. *Am J Respir Crit Care Med*, 201 (11), 1372–1379.
- Dutzan N, Abusleme L, 2019. T helper 17 cells as pathogenic drivers of periodontitis. *Adv Exp Med Biol*. 1197, 107-117.
- Emsen A, Sumer S, Tulek B, Cizmecioglu H, Vatansev H, Goktepe MH, Kanat F, ve ark, 2022. Correlation of myeloid-derived suppressor cells with C-reactive protein, ferritin and lactate dehydrogenase levels in patients with severe COVID-19. *Scand J Immunol*, 95 (1), e13108.
- Felsenstein S, Herbert JA, McNamara PS, Hedrich CM, 2020. COVID-19: Immunology and treatment options. *Clin Immunol*, 215, 108448.
- Flude BM, Nannetti G, Mitchell P, Compton N, Richards C, Heurich M, Brancale A, Ferla S, Bassetto, 2021. Targeting the complement serine protease masp-2 as a therapeutic strategy for coronavirus infections. *Viruses*, 13 (2), 312.

- Fox SE, Akmatbekov A, Harbert JL, Li G, Brown JQ, Vander Heide RS, 2020. Pulmonary and cardiac pathology in Covid-19: The first autopsy series from new orleans. *Lancet Respir Med*, 8 (7), 681-686.
- Fu Y, Cheng Y, Wu Y, 2020. Understanding SARSCoV-2 mediated inflammatory responses: from mechanisms to potential therapeutic tool. *Virol Sin*, 35 (3), 266-271.
- Ganji A, Farahani I, Khansarinejad B, Ghazavi A, Mosayerbi G, 2020. Increased expression of CD8 marker on T-cells in COVID-19 patients. *Blood Cells, Molecules Dis*, 83, 102437.
- Giamarellos-Bourboulis EJ, Netea MG, Rovina N, Akinosoglou K, Antoniadou A, Antonakos N, Damoraki G, Gkavogianni T, Adami ME, et al, 2020. Complex immune dysregulation in COVID-19 patients with severe respiratory failure. *Cell Host Microbe*, 27 (6) 992-1000.e3.
- Giannis D, Ziogas IA, Gianni P, 2020. Coagulation disorders in coronavirus infected patients: COVID-19, SARS-CoV-1, MERS-CoV and lessons from the past. *J Clin Virol*, 127, 104362
- Goh C, Narayanan S, Hahn YS, 2013. Myeloid-derived suppressor cells: the dark knight or the joker in viral infections? *Immunol Rev*. 2013;255(1):210-221. 13.
- Gomez-rial J, Rivero-calle I, Salas A, 2020. Role of monocytes/macrophages in covid-19 pathogenesis: implications for therapy. *Infect Drug Resist*, 13, 2485–2493.
- Gong J, Dong H, Xia SQ, Huang YZ, Wang DK, Zhao Y, Liu WH, Tu SH, Zhang MM, Wang Q, Lu FE, 2020. Correlation analysis between disease severity and inflammation-related parameters in patients with COVID-19: a retrospective study. *BMC Infect Dis*, 20 (1), 963.
- Gracia-Hernandez M, Sotomayor EM, Villagra A, 2019. Targeting macrophages as a therapeutic option in coronavirus disease. *Front Pharmacol*, 11, 577571.
- Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, 2020. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*, 382 (18), 1708-1720.
- Guindolet D, Gabison EE, 2020. Role of CD147 (EMMPRIN/basigin) in tissue remodeling. *Anat Rec*, 303 (6), 1584–1589.
- Gustine JN, Jones D, 2021. Immunopathology of hyperinflammation in COVID-19. *Am J Pathol*, 191 (1), 4–17.
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu N, Nitsche A, 2020. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 181(2), 271-280.e8.
- Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, Borgert BA, et al, 2020a. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease. *medRxiv*, 04.14.20065771
- Huang C, Wang Y, Li Xi Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, 2020b. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 395 (10223), 497-506.
- Java A, Apicelli AJ, Kathryn Liszewski M, Coler-Reilly A, Atkinson JP, Kim AH, Kulkarni HS. 2020. The complement system in COVID-19: friend and foe? *JCI Insight*, 5 (15), e140711.
- Jesenak M, Banovcin P, Diamant Z, 2020. COVID-19, chronic inflammatory respiratory diseases and eosinophils – Observations from reported clinical case series. *Allergy*. 2020;75:1819-1822.
- Kulhan M, Ozdemir H, Bilgi A, Celik C, Aktug Demir N, Turk Dagi H, Ucar MG, Kulhan NG, Artac H, 2023. Evaluation of T-cell subsets in pregnant women infected with SARS-CoV-2. *Int Immunopharmacol*, 124, 110798.
- Kumar V, 2021. How could we forget immunometabolism in SARS-CoV2 infection or COVID-19? *Int Rev Immunol*, 40(1–2), 72–107.
- Kvedaraitė E, Hertwig L, Sinha I, Ponzetta A, Hed Myrberg I, Lourda M, Dzidic M, Akber M, et al, 2021. Major alterations in the mononuclear phagocyte landscape associated with COVID-19 severity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 118 (6), e2018587118.

- Lee N, Hui D, Wu A, Chan P, Cameron P, Joynt GM, Ahuja A, Yung MY, Leung CB, To KF, Lui SF, Szeto CC, Chung S, Sung JJ, 2003. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med*, 348 (20), 1986–94.
- Leng Z, Zhu R, Hou W, Feng Y, Yang Y, Han Q, Shan G, Meng F, Du D, Wang S, Fan J, Wang W, Deng L, et al, 2020. Transplantation of ACE2 mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia. *Aging Dis*, 11 (2), 216-228.
- Li C KF, Wu H, Yan H, Ma S, Wang L, Zhang M, Tang X, Terpertion NJ, Weiss RA, Brenchley JM, et al, 2008. T cell responses to whole SARS coronavirus in humans. *J Immunol*, 181 (8), 5490–5500.
- Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, Pan P, Wang W, Hu D, Liu X, Zhang Q, Wu J, 2020a. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol*, 92 (4), 424-432.
- Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, Lu S, 2020b. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal*, 10 (2), 102–8.
- Libraty DH, O'Neil KM, Baker LM, Acosta LP, Olveda RM, 2007. Human CD4(+) memory T-lymphocyte responses to SARS coronavirus infection. *Virology*, 368 (2), 317-321.
- Lindsley AW, Schwartz JT, Rothenberg ME, 2020. Eosinophil responses during COVID-19 infections and coronavirus vaccination. *J Allergy Clin Immunol*, 146 (1), 1–7.
- Lippi G, Henry BM, 2020. Eosinophil count in severe coronavirus disease 2019. *QJM*, 113 (7), 511-512.
- Lippi G, Plebani M, 2020a. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med*, 58 (7), 1131-1134.
- Lippi G, Plebani M, 2020b. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Clin Chim Acta*, 505, 190-191.
- Liu DX, Liang JQ, Fung TS. Human Coronavirus-229E, -OC43, -NL63, and -HKU1 (Coronaviridae), 2021. *Encyclopedia of Virology*, 4th edition, Volume 2.
- Liu J, Li S, Liu J, Liang B, Wang X, Wang H, Li W, Tong Q, Yi J, Zhao L, Xiong L, Guo C, et al, 2020a. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARSCoV-2 infected patients. *EBioMedicine*. 55, 102763.
- Liu K, Fang YY, Deng Y, Liu W, Wang MF, Ma JP, Xiao W, Wang YN, et al, 2020b. Clinical characteristics of novel coronavirus cases in tertiary hospitals in Hubei Province. *Chin Med J (Engl)*, 133, 1025-31.
- Lucas C, Wong P, Klein J, Yale IMPACT Team, 2020. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*, 584 (7821), 463–469.
- Lydyard P, Whelan A, Fanger M, 2011. *BIOS Instant Notes in Immunology*. Third ed. Routledge, p. 36.
- Ma L, Sahu SK, Cano M, Kuppuswamy V, Bajwa J, McPhatter J, Pine A, 2021. Increased complement activation is a distinctive feature of severe SARS-CoV-2 infection. *Sci Immunol*, 6 (59), eabh2259.
- Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, Nuovo G, Salvatore S, Harp J, Baxter-Stolzfus A, Laurence J, 2020. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: a report of five cases. *Transl Res*, 220, 1–13.
- Manni ML, Robinson KM, Alcorn JF, 2014. A tale of two cytokines: IL-17 and IL-22 in asthma and infection. *Expert Rev Respir Med*, 8(1):25-42.
- Matic S, Popovic S, Djurdjevic P, Todorovic D, Djordjevic N, Mijailovic Z, Sazdanovic P, et al, 2020. SARSCoV-2 infection induces mixed M1/M2 phenotype in circulating monocytes and alterations in both dendritic cell and monocyte subsets. *PLOS One*, 15 (12), e0241097.
- McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C, 2020. The role of cytokines including interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease. *Autoimmun Rev*, 19(6):102537.
- Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Mansen JJ, 2020. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*, 395 (10229), 1033–1034.

- Meidaninikjeh S, Sabouni N, Marzouni HZ, Bengar S, Khalili A, Jafari R, 2021. Monocytes and macrophages in COVID-19: friends and foes. *Life Sci*, 269 (119010), 119010.
- Merad M, Martin JC, 2020. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat Rev Immunol*, 20 (6), 355–362.
- Mescher MF, Curtsinger JM, Agarwal P, Casey KA, Gerner M, Hammerbeck CD, Popescu F, Xiao Z, 2006. Signals required for programming effector and memory development by CD8⁺ T cells, *Immunol. Rev*, 211, 81–92.
- Moore JB, June CH, 2020. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science*, 368 (6490), 473–474.
- Moremo-Eutimio MA, Loper-Macias C, Pastelin-Palacies R, 2020. Bioinformatic analysis and identification of single-stranded RNA sequences recognized by TLR7/8 in the SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV genomes. *Microbes Infect*, 22 (4-5), 226-229.
- Mostafa GA, Ibrahim HM, Shehab AAS, Magdy SM, Soliman NA, El-SherifDF, 2022. Up-regulated serum levels of interleukin (IL)-17A and IL-22 in Egyptian pediatric patients with COVID-19 and MIS-C: Relation to the disease outcome. *Cytokine*, 154, 155870.
- Murali-Krishna K, Altman JD, Suresh M, Sourdive DJ, Zajac AJ, Miller JD, Slansky J, et al, 1998. Counting antigen-specific CD8 T cells: A reevaluation of bystander activation during viral infection. *Immunity*, 8 (2), 177-187.
- Ng N, Powell CA, 2021. Targeting the complement cascade in the pathophysiology of COVID-19 disease. *JCM*, 10 (10), 2188.
- Ng O-W, Chia A, Tan AT, Jadi RS, Leong HN, Bertoletti Ai Tan Y-J, 2016. Memory T cell responses targeting the SARS coronavirus persist up to 11 years post-infection. *Vaccine*, 34 (17), 2008-2014.
- O'Connor MA, Rastad JL, Green WR, 2017. The role of myeloid-derived suppressor cells in viral infection. *Viral Immunol*, 30 (2), 82-97.
- Onodi F, Bonnet-Madin L, Meertens L, Karpf L, Poirot J, Zhang SY, Picard C, et al, 2021. SARS-CoV-2 induces human plasmacytoid dendritic cell diversification via UNC93B and IRAK4. *J Exp Med*, 218 (4), e20201387.
- Otsuka R, Seino KI, 2020. Macrophage activation syndrome and COVID-19. *Inflamm Regen*, 40 (19), 19.
- Peck KM, Burch CL, Heise MT, Baric RS, 2015. Coronavirus host range expansion and middle east respiratory syndrome coronavirus emergence: biochemical mechanisms and evolutionary perspectives. *Ann Rev Virol*, 2 (1), 95–117.
- Pence BD, 2020. Severe COVID-19 and aging: are monocytes the key? *Geroscience*, 42 (4), 1051–1061.
- Perez L, 2019. Acute phase protein response to viral infection and vaccination. *Arch Biochem Biophys*, 671, 196-202.
- Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, Xie C, 2020. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*, 71 (15), 762-768.
- Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Muhammad J, Khan A, Sule AA, Tirupathi R, Mutair AA, et al, 2021. Role of inflammatory cytokines in covid-19 patients: a review on molecular mechanisms, immune functions, immunopathology and immunomodulatory drugs to counter cytokine storm. *Vaccines*, 9 (5), 436.
- Radzikowska U, Ding M, Tan G, Zhakparov D, Peng Y, Wawrzyniak P, Wang M, et al, 2020. Distribution of ACE2, CD147, CD26, and other SARS-CoV-2 associated molecules in tissues and immune cells in health and in asthma, COPD, obesity, hypertension, and COVID-19 risk factors. *Allergy*, 75 (11), 2829–2845.
- Rahimi N, 2020. C-type lectin CD209L/L-SIGN and CD209/DC-SIGN: Cell adhesion molecules turned to pathogen recognition receptors. *Biology*, 10 (1), 1.

- Retamal-Diaz A, Covian C, Pacheco GA, Castiglione-Matamala AT, Bueno SM, Gonzalez PA, Kalergis AM, 2019. Contribution of resident memory CD8(+) T cells to protective immunity against respiratory syncytial virus and their impact on vaccine design. *Pathogens*, 8 (3), 147.
- Sacchi A, Grassi G, Bordoni V, Lorenzini P, Cimini E, Casetti R, Tartaglia E, Marchioni L, et al, 2020. Early expansion of myeloid-derived suppressor cells inhibits SARS-CoV-2 specific T-cell response and may predict fatal COVID-19 outcome. *Cell Death Dis*, 11 (10), 921
- Schett G, Sticherling M, Neurath MF, 2020. COVID-19: risk for cytokine targeting in chronic inflammatory diseases?. *Nat Rev Immunol* 20 (5), 271–2.
- Shang J, Wan Y, Luo C, 2020. Cell entry mechanisms of SARSCoV-2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 117(21),11727-11734.
- Sinkovits G, Mezo B, Reti M, Müller V, Ivanyi Z, Gal J, Gopcsa L, Remenyi P, 2021. Complement overactivation and consumption predicts in-hospital mortality in SARS-CoV-2 infection. *Front Immunol*, 12, 663187.
- Song Z, Xu Y, Bao L, Zhang L, Yu P, Qu Y, Zhu H, Zhao W, Han Y, Qin C, 2019. From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight, *Viruses* 11(1), 59.
- Stenmark KR, Frid MG, Gerasimovskaya E, Zhang H, McCarthy MK, Thurman JM, Morrison TE, 2021. Mechanisms of SARS-CoV-2-induced lung vascular disease: potential role of complement. *Pulm Circ*, 11 (2), 1–14.
- Su H, Wan C, Wang Z-D, Gao Y, Li Y-C, Tang F, Zhu H-Y, Yi L-X, Zhang C, 2021. Expression of CD147 and cyclophilin a in kidneys of patients with COVID-19. *Clin J Am Soc Nephrol*, 16 (4), 618–619.
- Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, Liu W, Bi Y, Gao GF, 2016. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol Jun*, 24 (6), 490–502.
- Takada A, Kawaoka Y, 2003. Antibody-dependent enhancement of viral infection: molecular mechanisms and in vivo implications. *Rev Med Virol*, 13 (6), 387-398.
- Tan YJ, Goh PY, Fielding BC, Shen S, Chou C-F, Fu J-L, Leong HN, et al, 2004. Profiles of antibody responses against severe acute respiratory syndrome coronavirus recombinant proteins and their potential use as diagnostic markers. *Clin Diagn Lab Immunol*, 11 (2), 362-371.
- Tay MZ, Poh CM, Renia L, MacAry PA, Ng LFP, 2020. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*, 20, 363–74.
- Temperton NJ, Chan PK, Simmons G, Zambon MC, Tedder RS, Takeuchi Y, Weiss RA, 2005. Longitudinally profiling neutralizing antibody response to SARS coronavirus with pseudotypes. *Emerg Infect Dis*, 11 (3), 411-416.
- Thevarajan I, Nguyen THO, Koutsakos M, Druce J, Carl L, van de Sandt CE, Jia X, et al, 2020. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: A case report of non-severe COVID-19. *Nat Med*, 26 (4), 453-455.
- Uçaryılmaz H, Ergün D, Vatansev H, Köksal H, Ural O, Arslan U, Artaç H, 2022. The role of CD8⁺ regulatory T cells and B cell subsets in patients with COVID-19 *Turk J Med Sci*. 52, 888-898.
- Ursavaş A, Akalın H, 2021. COVID-19. *Birinc, Baskı, Medyay*, p.31.
- Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, Levatovsky R, Malle L, et al, 2020. Immunology of COVID-19: Current state of the science. *Immunity*, 52(6), 910-941.
- Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, Mehra MR, Schuepbach RA, 2020. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *The Lancet*, 395(10234), 1417-8.
- Vollbrecht T, Stirner R, Tufman A, Roeder J, Huber RM, Bogner JR, Lechner A, Bourquin C, et al, 2012. Chronic progressive HIV-1 infection is associated with elevated levels of myeloid-derived suppressor cells. *Retrovirology*, 9, P283
- Wang C, Xie J, Zhao L, Fei X, Zhang H, Tan Y, Nie X, Zhou L, 2020a. Alveolar macrophage dysfunction and cytokine storm in the pathogenesis of two severe COVID-19 patients. *EBioMedicine*, 57, 102833.

- Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, Wang B, Xiang H, Cheng Z, et al, 2020b. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*, 323 (11), 1061-1069.
- Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, Xiong Y, Deng L, Son S, et al, 2020c. Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *J Infect Dis*, 221 (11), 1762-1769.
- Wang H, Xiao X, Lu J, Chen Z, Li K, Liu H, et al, 2016. Factors associated with clinical outcome in 25 patients with avian influenza a (H7N9) infection in Guangzhou, China. *BMC Infect Dis*, 16, 534.
- Wang JT, Sheng WH, Fang CT, Chen YC, Wang JL, Yu CJ, Chang SC, Yang PC, 2004. Clinical manifestations, laboratory findings, and treatment outcomes of SARS patients. *Emerg Infect Dis*, 10 (5), 818-824
- Wang K, Chen W, Zhang Z, Deng Y, Lian J-Q, Du P, Wei D, et al, 2020d. CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells. *Signal Transduct Target Ther*, 5 (1), 283.
- Wang Q, Zhang Y, Wu L, Niu S, Song C, Zhang Z, Lu G, Qiao C, Hu Y, Y K, 2020e. Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. *Cell*, 181(4), 894-904.e9.
- Wauters E, Van Mol P, Garg AD, Janse S, Herck YV, Vanderbeke L, Bassez A, Boeckx B, et al, 2021. Discriminating mild from critical COVID-19 by innate and adaptive immune single-cell profiling of bronchoalveolar lavages. *Cell Res*, 31 (3), 272–290.
- Xin X, Zeng X, Gu H, Li M, Tan H, Jin Z, Hua T, Shi R, Wang H, 2016. CD147/EMMPRIN overexpression and prognosis in cancer: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*, 6, 32804.
- Xiong Y, Liu Y, Cao L, Wang D, Guo M, Jiang A, Guo D, Hu W, 2020. Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*, 9 (1), 761-770.
- Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, Liu S, 2020. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*, 8 (4), 420-422.
- Yang D, Chu H, Hou Y, Chai Y, Shuai H, Lee ACY, Zhang X, Wang Y, Hu B, Huang X, et al, 2020a. Attenuated interferon and proinflammatory response in SARSCoV-2-infected human dendritic cells is associated with viral antagonism of STAT1 phosphorylation. *J Infect Dis*, 222 (5), 734–745.
- Yang Y, Shen C, Li J, Yuan J, Yang M, Wang F, et al, 2020b. Exuberant elevation of IP-10 MCP-3 and IL-1ra during SARS-CoV-2 infection is associated with disease severity and fatal outcome, MedRxiv.
- Yao XH, Li TY, He ZC, Ping YF, Liu HW, Yu SC, Mou HM, Wang LH, et al, 2020. A pathological report of three COVID-19 cases by minimal invasive autopsies. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 49, 411-7.
- Ye Q, Wang B, Mao J, 2020. The pathogenesis and treatment of the Cytokine Storm in COVID-19. *J Infect*, 80 (6), 607-613.
- Yousif AS, Ronsard L, Shah P, Omatsu T, Sangesland M, Moreno TB, Lam EC, Vrbanac VD, et al, 2021. The persistence of interleukin-6 is regulated by a blood buffer system derived from dendritic cells. *Immunity*, 54 (2), 235–246. e5.
- Yu J, Yuan X, Chen H, Chaturvedi S, Braunstein EM, Brodsky RA, 2020. Direct activation of the alternative complement pathway by SARSCoV-2 spike proteins is blocked by factor D inhibition. *Blood*, 136 (18), 2080–2089.
- Yuan B, Liu HQ, Yang ZR, Chen YX, Liu ZY, Zhang K, et al, 2020. Recurrence of positive SARS-CoV-2 viral RNA in recovered COVID-19 patients during medical isolation observation. *Sci Rep*, 10 (1), 11887
- Zhang B, Zhou X, Zhu C, Song Y, Feng F, Qui Y, Feng J, Jia Q, Song Q, Zhu B, Wang J, 2020a. Immune Phenotyping Based on the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and IgG Level Predicts Disease Severity and Outcome for Patients With COVID-19. *Front Mol Biosci*, 7, 157.
- Zhang J-J, Dong X, Cao Y-Y, Yuan Y-D, Yang Y-B, Yan Y-Q, Akdiş CA, Gao Y-D, 2020b. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*, 75,1730-1741.

- Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, Xiang J, Wang Y, Song B, et al, 2020a. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 395, 1054-62.
- Zhou R, To KKW, Wong YC, Liu L, Zhou B, Li X, Huang H, Mo Y, et al, 2020b. Acute SARSCoV-2 infection impairs dendritic cell and T cell responses. *Immunity*, 53 (4), 864–877.
- Zhou Y, Vedantham P, Lu K, 2015. Protease inhibitors targeting coronavirus and filovirus entry. *Antiviral Res.* 116, 76-84.
- Zhu J, Yamane H, Paul WE, 2009. Differentiation of effector CD4 T cell populations, *Annu. Rev. Immunol*, 28, 445–489.



EK-B: Tezden Üretilmiş Yayınlar

Sizin Sesiniz, Sizin Kongreniz...

www.uask2023.com



SS-172 Covid-19 Pnömonisi Olan Hastalarda Yardımcı T Hücre Alt Gruplarının Rolü

Hülya Özdemir¹, Dilek Ergün², Hatice Türk Dağ³, Hasibe Artaç⁴

¹Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

²Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları AD

³Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD

⁴Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve Alerji BD

Giriş-Amaç: SARS-CoV-2 enfeksiyonunun klinik formları asemptomatik enfeksiyondan, hafif üst solunum yolu hastalığı, solunum yetmezliğine neden olan ciddi viral pnömoni, sepsis, çoklu organ yetmezliği ve hatta ölüme kadar giden geniş bir spektrum içerir. En sık rastlanan klinik semptomlar ateş, öksürük, boğaz ağrısı, baş ağrısı, yorgunluk, kas ağrısı ve nefes darlığıdır. Ancak tüm bu semptomların hastalığa spesifik olmaması ve hastalığın hızla ağır pnömoniye ilerleyebilmesi sebebiyle tanı testlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Yardımcı T (Th) hücre alt gruplarındaki dengesizliğin COVID-19'un patogeneze katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir. Bu çalışmada Th hücre alt gruplarının, COVID-19 pnömonisi olan hastalar-daki rolünün araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya PCR testi pozitifliği ile doğrulanan 60 COVID-19'lu hasta ile 30 sağlıklı kontrol dahil edildi. Total T hücre (CD3+), yardımcı T hücre (CD3+CD4+), sitotoksik T hücre (CD3+CD8+) ile Th alt grupları olan Th1 (CD3+CD4+CXCR3+CCR4-CCR6-), Th2 (CD3+CD4+CXCR3-CCR4+CCR6-), Th17 (CD3+C-D4+CXCR3-CCR4+CCR6+) ve Th17.1 (CD3+CD4+CXCR3+CCR4-CCR6+) ve memory Th (CD3+CD4+CD45RA-) oranları akım sitometri yöntemi ile belirlendi.

Bulgular: COVID-19 hastalarında yardımcı T hücre (hasta: 37.8±9.9 ve kontrol: 41.8±7.6), Th1 (hasta: 8.2±4.0 ve kontrol: 12.3±5.6), Th17.1 (hasta: 11.3±7.4 ve kontrol: 14.5±6.9) ve memory Th (hasta: 62.7±13.6 ve kontrol: 70.6±12.5), hücrelerinin yüzdeleri ile Th1/Th17 oranı (hasta: 0.9±0.7 ve kontrol: 1.5±0.9) kontrol grubuna kıyasla daha düşüktü ve istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05). Hasta ve kontrol grubunda total T hücre, sitotoksik T hücre, Th2 ve Th17 hücre yüzdeleri açısından fark yoktu (p>0.05).

Tartışma-Sonuç: Çalışmamızda COVID-19 hastalarında Th, Th1, Th17.1 ve memory Th hücreleri kontrole kıyasla azalmıştır. T hücreleri, solunum sistemindeki birçok viral enfeksiyonun kontrolünde çok önemlidir. Düzensiz T hücre cevapları COVID-19 hastalarındaki hastalık şiddetini artırır. Th17.1'in şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında sekonder doku hasarına neden olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamız, SARS-CoV-2'nin T lenfositler üzerinde etkili olduğunu ve COVID-19 hastalarında immün patolojiye sebep olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, Th1, Th2, Th17, Th17.1

www.uask2023.com 267

8. TURNİTİN RAPORU

COVID-19 PNÖMONİSİ OLAN HASTALARDA T HÜCRE ALT GRUPLARININ ROLÜ

Yazar Hülya özdemir

Gönderim Tarihi: 03-Oca-2024 10:16AM (UTC+0300)

Gönderim Numarası: 2266343358

Dosya adı: COVID.docx (1.9M)

Kelime sayısı: 10831

Karakter sayısı: 71599

COVID-19 PNÖMONİSİ OLAN HASTALARDA T HÜCRE ALT GRUPLARININ ROLÜ

ORJİNALLİK RAPORU

% **14**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **10**
İNTERNET KAYNAKLARI

% **6**
YAYINLAR

% **4**
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1 jcog.com.tr İnternet Kaynağı % **2**

2 www.researchgate.net İnternet Kaynağı % **1**

3 hdl.handle.net İnternet Kaynağı % **1**

4 Submitted to KTO Karatay Üniversitesi Öğrenci Ödevi % **1**

5 dergipark.org.tr İnternet Kaynağı % **1**

6 Caroline Mangare, Sabine Tischer-Zimmermann, Sebastian B. Riese, Anna C. Dragon et al. "Robust Identification of Suitable T-Cell Subsets for Personalized CMV-Specific T-Cell Immunotherapy Using CD45RA and CD62L Microbeads", International Journal of Molecular Sciences, 2019
Yayın % **1**

acikbilim.yok.gov.tr

7	İnternet Kaynağı	<% 1
8	saglikveuyku.com İnternet Kaynağı	<% 1
9	Jia Zhu, Jie Wu, Changgan Mo, Siyuan Liang, Tao Lian, Tiantian Qi, Rongbin Qiu, Xiaoting Yu, Xiuge Tang, Biao Wu. "The tumor microbiome is implicated in breast cancer prognosis", Research Square, 2020 Yayın	<% 1
10	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<% 1
11	cdn.comu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
12	www.selcukmedj.org İnternet Kaynağı	<% 1
13	www.ankaratipdahiliye2022.org İnternet Kaynağı	<% 1
14	Submitted to Uludag University Öğrenci Ödevi	<% 1
15	Submitted to Mersin Āniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
16	openaccess.bezmialem.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

- 17 J. A. García Vela, I. Delgado, R. Bornstein, B. Alvarez, M. C. Auray, I. Martin, F. Oña, F. Gilsanz. " Comparative Intracellular Cytokine Production by Stimulated T Lymphocytes from Human Umbilical Cord Blood (HUCB) and Adult Peripheral Blood (APB) ", Analytical Cellular Pathology, 2000
Yayın <% 1
-
- 18 G. Ciprandi, A.M. Castellazzi, D. Fenoglio, F. Battaglia, G. Marseglia. "Peripheral TH-17 Cells in Children with Allergic Rhinitis: Preliminary Report", International Journal of Immunopathology and Pharmacology, 2010
Yayın <% 1
-
- 19 docs.neu.edu.tr
İnternet Kaynağı <% 1
-
- 20 acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080
İnternet Kaynağı <% 1
-
- 21 Submitted to Kahramanmaraş Sütçü İmam University
Öğrenci Ödevi <% 1
-
- 22 www.yumpu.com
İnternet Kaynağı <% 1
-
- 23 Di Zhang, Yikong Lin, Yunyun Li, Dong Zhao, Meirong Du. "Mesenchymal stem cells enhance Treg immunosuppressive function at

the fetal-maternal interface", Journal of
Reproductive Immunology, 2021

Yayın

24	tubitak.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
25	www.mdpi.com İnternet Kaynağı	<% 1
26	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
27	www.preprints.org İnternet Kaynağı	<% 1
28	Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University Öğrenci Ödevi	<% 1
29	Dennis Jiménez, Marbel Torres Arias. "Immunouniverse of SARS-CoV-2", Immunological Medicine, 2022 Yayın	<% 1
30	Aijie Huang, Xiaoming Zhao, Meizhang Li, Gusheng Tang et al. "Suppression of Hematopoietic Primitive Cells in Patients with Secondary Failure of Platelet Recovery after Acute Graft-versus-Host Disease", Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2020 Yayın	<% 1
31	acikerisim.pau.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1

32	www.researchsquare.com İnternet Kaynağı	<% 1
33	C.-C. Wu, J.-S. Chen, S.-J. Chen, S.-H. Lin, A. Chen, L.-C. Chang, H.-K. Sytwu, Y.-F. Lin. "Kinetics of adaptive immunity to cationic bovine serum albumin-induced membranous nephropathy", <i>Kidney International</i> , 2007 Yayın	<% 1
34	Submitted to Recep Tayyip Erdogan University Öğrenci Ödevi	<% 1
35	www.biolegend.com İnternet Kaynağı	<% 1
36	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
37	L. Ying. "Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 immunoglobulin modified dendritic cells attenuate allergic airway inflammation and hyperresponsiveness by regulating the development of T helper type 1 (Th1)/Th2 and Th2/regulatory T cell subsets in a murine model of asthma : DC-CTAL4Ig in treatment of asthma", <i>Clinical & Experimental Immunology</i> , 07/2011 Yayın	<% 1
38	Narissara Suratannon, Chupong Ittiwut, Willem A. Dik, Rungnapa Ittiwut et al. "A	<% 1

germline STAT6 gain-of-function variant is associated with early-onset allergies", Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2022

Yayın

39	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
40	covidreference.com İnternet Kaynağı	<% 1
41	www.bdbiosciences.com İnternet Kaynağı	<% 1
42	Submitted to Afyon Kocatepe University Öğrenci Ödevi	<% 1
43	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	<% 1
44	Submitted to Sağlık Bilimleri Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
45	acikerisim.nku.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
46	acikerisim.omu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
47	asosjournal.com İnternet Kaynağı	<% 1
48	repositorio.ufpe.br:8080 İnternet Kaynağı	<% 1

49	tmc.dergisi.org İnternet Kaynağı	<% 1
50	www.aust-biosearch.com.au İnternet Kaynağı	<% 1
51	www.guvenplus.com.tr İnternet Kaynağı	<% 1
52	doczz.net İnternet Kaynağı	<% 1
53	ouci.dntb.gov.ua İnternet Kaynağı	<% 1
54	utsakcongress.com İnternet Kaynağı	<% 1
55	www.thefreelibrary.com İnternet Kaynağı	<% 1
56	veteriner.fusabil.org İnternet Kaynağı	<% 1
57	www.eurasianbiochem.org İnternet Kaynağı	<% 1
58	Deniz Mavi, Ahmet Çağkan İnkaya. "COVID-19: İmmün Patogenez", Flora the Journal of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, 2020 Yayın	<% 1

59 Sijie Fang, Yazhuo Huang, Ningjian Wang, Shuo Zhang et al. "Insights Into Local Orbital Immunity: Evidence for the Involvement of the Th17 Cell Pathway in Thyroid-Associated Ophthalmopathy", The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2019
Yayın

<% 1

60 bilimblogum.wordpress.com
İnternet Kaynağı

<% 1

61 Şebnem Soysal, Seda Tan, Seçil Aldemir. "WISC-R ve Raven Standart Progresif Matrisler Testinin DEHB tanısı alan çocuklarda matematik başarısını belirleme gücü / Accuracy of WISC-R and Raven Standard Progressive Matrices Tests in mathematical success of children with ADHD", Dusunen Adam: The Journal of Psychiatry and Neurological Sciences, 2012
Yayın

<% 1

Alıntılarını çıkart Kapat
Bibliyografyayı Çıkart Kapat

Eşleşmeleri çıkar Kapat