

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

COVID-19 VE *IL28B* GEN POLİMORFİZMİ

Dr. Esra ARAÇ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KONYA 2023

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

COVID-19 VE *IL28B* GEN POLİMORFİZMİ

Dr. Esra ARAÇ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Bahadır FEYZİOĞLU

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2215118028 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2023

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesi ve hazırlanmasının her aşamasında desteğini gördüğüm ve her türlü yardımını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Bahadır Feyzioğlu'na;

Uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım başta Prof. Dr. Mehmet Özdemir olmak üzere Prof. Dr. Metin Doęan, Doç. Dr. Fatma Esenkaya Taşbent ve Dr. Öğr. Üyesi Selin Uğraklı'ya

Üzerimde emeęi bulunan Prof. Dr. Mahmut Baykan'a;

Uzmanlık eğitimim süresince beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, laboratuvar teknisyenlerine ve sekreterlerine;

Bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan, sevgilerini ve desteklerini her zaman hissettiğim annem Hatice Demirtaş ve babam Hasan Demirtaş'a,

Son olarak her zaman yanımda olan, beni yalnız bırakmayan, manevi desteklerini ve sevgilerini hep hissettiğim sevgili eşim Densel Araç, oğullarım Mustafa Araç ve Sencer Araç'a;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Esra ARAÇ

2023

ÖZET

COVID-19 VE *IL28B* GEN POLİMORFİZMİ

Dr. Esra ARAÇ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KONYA 2023

Çin'in Wuhan eyaletinde Aralık 2019'da başlayan ilk salgından bu yana, yeni koronavirus hastalığı (COVID-19) hızla diğer bir çok bölgeye yayıldı ve küresel bir sağlık tehdidi haline geldi. Bazı ülkelerde COVID-19 prevalansı ve mortalitesinde önemli bölgesel farklılıklar bildirilmesi nedeniyle COVID-19 şiddetinin ve mortalite oranlarının bireysel farklılık göstermesinin nedenlerini araştırma ihtiyacı doğmuştur. Konuyla ilgili ACE reseptörü ve ABO polimorfizmleri ile COVID-19 prevalansı ve mortalitesi arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçlayan pek çok çalışma bulunmaktadır.

İnterferonların (IFN) antiviral, antitümör ve immünmodilatör etkileri bulunmaktadır. IFN- α/β benzeri antiviral aktiviteye sahip yeni bir IFN sınıfı interferon-lambda (IFN- λ) ailesi veya tip III IFN'ler yakın zamanda keşfedilmiştir. Bu yeni tip IFN'ler tip IIFN'lere benzer ancak, nispeten daha az etkilidirler. IFN- λ ağırlıklı olarak solunum yolu epitel hücreleri tarafından salgılanır ve solunum yollarında antiviral etkinliğin artmasına yardımcı olur. İnterlökin 28B (IL28B) geni interferon lambda 3 (IFN- λ 3) olarak bilinen bir proteini kodlamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar hepatit C ve hepatit B enfeksiyonları başta olmak üzere birçok viral enfeksiyonda viral klirens, tedaviye yanıt ve komplikasyon oranları ile IL28B gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmıştır. Son bilgiler ışığında IL28B doğal bağışık yanıt ve antiviral etkinlik dinamikleri açısından feedback mekanizmalarının kilit oyuncusu olma adaydır.

Çalışmamıza 19-88 yaş aralığında 200 COVID-19 tanısı alan hasta ve kontrol grubu olarak 21-84 yaş aralığında 99 COVID-19 negatif hasta dahil edilmiştir. COVID-19 tanılı hastaların klinik semptom ve bulguları oluşturulan standart kriterler baz alınarak hafif, orta, şiddetli ve kritik olarak sınıflandırıldı ve IL28B gen polimorfizmleri tanımlanarak birbirleri ve kontrol grubu ile kıyaslandı. Hasta ve kontrol grubundan alınan numuneler Real-time PCR yöntemi ile çalışılarak elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Çalışmamızın sonuçlarında şiddetli/kritik hasta grubunda yaş ortalaması, erkek cinsiyet oranları, ek hastalık görülme sıklığı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Hasta ve kontrol grubunda cinsiyet ve yaş dağılımları arasında anlamlı farklılık bulunmadı. IL28B rs12979860 CC genotipi şiddetli/kritik hasta grubunda hafif/orta gruba göre daha yüksek oranda tespit edildi ($p < 0,05$). IL28B rs8099917 GT genotipi hafif/orta grupta daha yüksek görülürken, TT genotipi şiddetli/kritik hasta grubunda daha yüksek oranlarda tespit edildi ($p < 0,05$). IL28B rs8099917 GG genotipi kontrol grubunda tespit edilmezken hasta grubunda %8 oranında saptandı ($p < 0,05$). Kritik grupta; hayatta kalan ve hayatını kaybeden hastaların genotip dağılımları benzer bulundu.

Şiddetli/kritik grupta daha yüksek oranlarda tespit edilen IL28B rs12979860 CC ve rs8099917 TT genotiplerinin klinik seyir açısından olumsuz genotipler olduğu ve rs8099917 GG genotipinin hastalık bulaşında kolaylaştırıcı bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: COVID-19; Gen Polimorfizmi; SARS-CoV-2; İnterlökin 28B.

ABSTRACT

COVID-19 AND *IL28B* GENE POLYMOPHISM

Dr. Esra ARAÇ

THESIS OF MEDICAL SPECIALTY

KONYA 2023

Since the first outbreak in China's Wuhan province that began in December 2019, the novel coronavirus disease (COVID-19) has rapidly spread to many other regions and has become a global health threat. Significant regional differences in the prevalence and mortality of COVID-19 have been reported in some countries, resulting in the need to investigate the reasons for individual variation in COVID-19 severity and mortality rates. There are many studies aiming to investigate the relationship between ACE receptor and ABO polymorphisms and the prevalence and mortality of COVID-19.

Interferons (IFN) have antiviral, antitumor and immunomodulatory effects. A new family of IFN-class interferon-lambda (IFN- λ) or type III IFNs with IFN- α/β -like antiviral activity has recently been discovered. These new types of IFNs are similar to type 1 IFNs but are relatively less effective. IFN- λ is predominantly secreted by respiratory epithelial cells and helps to increase antiviral activity in the respiratory tract. The *IL28B* gene encodes a protein known as interferon lambda 3 (IFN- λ 3). Recent studies have revealed the relationship between viral clearance, response to treatment and complication rates and *IL28B* gene polymorphism in many viral infections, especially hepatitis C and hepatitis B infections. In the light of the latest information, *IL28B* is a candidate to be a key player in feedback mechanisms in terms of innate immune response and antiviral activity dynamics.

Our study included 200 patients diagnosed with COVID-19 between the ages of 19-88 and 99 patients with negative COVID-19 between the ages of 21-84 years as the control group. The clinical symptoms and findings of patients with a diagnosis of COVID-19 were classified as mild, moderate, severe and critical based on standard criteria, and *IL28B* gene polymorphisms were identified and compared with each other and the control group. The samples taken from the patient and control groups were studied with the Real-time PCR method and the results obtained were statistically compared.

In the results of our study, the mean age, male sex ratios, and the incidence of additional diseases were found to be statistically significantly higher in the severe/critical patient group. There was no significant difference between the gender and age distributions of the patient and control groups. *IL28B* rs12979860 CC genotype was detected at a higher rate in the severe/critical patient group than in the mild/moderate group ($p < 0.05$). While the *IL28B* rs8099917 GT genotype was higher in the mild/moderate group, the TT genotype was higher in the severe/critical group ($p < 0.05$). While *IL28B* rs8099917 GG genotype was not detected in the control group, it was detected in 8% of the patient group ($p < 0.05$). In the critical group; Genotype distributions of surviving and deceased patients were found to be similar.

It was concluded that *IL28B* rs12979860 CC and rs8099917 TT genotypes, which were detected at higher rates in the severe/critical group, were unfavorable genotypes in terms of clinical course, and rs8099917 GG genotype played a facilitating role in disease transmission.

Keywords: COVID-19; Gene Polymorphism; SARS COV-2; Interleukin 28.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLOLAR	viii
ŞEKİLLER	ix
RESİMLER	x
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Koronavirüslerin Tarihçesi	4
2.2. Virolojik Özellikleri	5
2.2.1. Köken ve Sınıflandırma	5
2.2.2. SARS-CoV-2'nin Yapısı	6
2.2.2.1. Yapısal olmayan proteinler	7
2.2.2.2. Yapısal proteinler.....	8
2.3. Patogenez.....	9
2.3.1. Hücreye Giriş	9
2.3.2. Viral Gen Ekspresyonu.....	10
2.4. Risk Etmenleri ve Bulaş Yolları	11
2.5. Konak İmmün Yanıtı.....	11
2.6. COVID-19'un İmmünopatolojisi.....	15
2.7. COVID-19'da Klinik	17
2.8. Tanıda Kullanılan Mikrobiyolojik Yöntemler	19
2.8.1. Moleküler Testler	19
2.8.2. Antijen Saptayan Testler	20
2.8.3. Antikor Saptayan Testler	21
2.9. Tip III İnterferonlar	22
2.9.1. Tip III IFN'lerin Antiviral Etkileri.....	23
2.9.2. Antiviral Etkinlik ve SNP İlişkisi	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Hasta Seçimi	26

3.2. Araç ve Gereçler	26
3.2.1. Kimyasal Madde ve Çözücüler	26
3.2.2. Alet ve Gereçler	26
3.2.3. Kullanılan Kitler.....	27
3.3. Kullanılan Ayıraçlar ve Hazırlanması.....	27
3.3.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Ayıraçların Hazırlanması	27
3.3.2. Kullanılan ayıraçlar	28
3.4. Gen Polimorfizmin Belirlemesi	29
3.4.1. DNA İzolasyonu.....	29
3.4.2. IL28B Polimorfizmlerinin Belirlenmesi.....	30
3.5. İstatistiksel Analiz.....	32
4. BULGULAR.....	33
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	45
6.1. Sonuç	45
6.2. Öneriler.....	45
KAYNAKLAR	46

TABLÖLAR

Sayfa No

Tablo 3.1. DNA izolasyonunda kullanılan kit içeriği	27
Tablo 3.2. Polimorfizm analizlerinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları	30
Tablo 3.3. rs12979860 ve rs8099917 polimorfizm analizleri için PCR koşulları	30
Tablo 3.4. rs12979860 ve rs8099917 SNP'lerin primer dizi, alel ve genotip bilgileri	32
Tablo 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının demografik özelliklerinin karşılaştırılması	33
Tablo 4.2. Hasta grubundaki hafif/orta/şiddetli/kritik hastaların demografik özellikleri	34
Tablo 4.3. COVID-19 klinik sınıflamasına göre hasta gruplarının klinik özellikleri	35
Tablo 4.4. COVID-19 klinik sınıflamasına göre grupların IL28B rs12979860 genotip dağılımları	36
Tablo 4.5. COVID-19 klinik sınıflamasına göre hafif/orta ve şiddetli/kritik hasta gruplarının IL28B rs12979860 genotip dağılımları	36
Tablo 4.6. COVID-19 klinik sınıflamasına göre grupların IL28B rs8099917 genotip dağılımları	36
Tablo 4.7. COVID-19 klinik sınıflamasına göre hafif/orta ve şiddetli/kritik hasta gruplarının IL28B rs8099917 genotip dağılımları	37
Tablo 4.8. Kritik grupta yer alan ölen ve iyileşen hastaların IL28B rs12979860 genotip dağılımları	37
Tablo 4.9. Kritik grupta yer alan ölen ve iyileşen hastaların IL28B rs8099917 genotip dağılımları	37
Tablo 4.10. Hasta ve kontrol gruplarında rs12979860 genotiplerinin dağılımı	38
Tablo 4.11. Hasta ve kontrol gruplarında rs8099917 genotiplerinin dağılımı	38
Tablo 5.1. İnterlökün 28B genotipleri ile COVID-19 arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar ve sonuçları	44

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 2.1. SARS-CoV-2'nin yapısal proteinleri	6
Şekil 2.2. SARS-CoV-2'nin genomik organizasyonu	7
Şekil 2.3. SARS-CoV-2'nin konak hücredeki yaşam döngüsü.....	10
Şekil 2.4. Tip I ve tip III IFN'lerin reseptör etkileşimleri ve sinyal yolları.....	23
Şekil 2.5. İnsan genomunda IFNL genlerinin organizasyonu.....	24



RESİMLER

Sayfa No

Resim 3.1. DNA izolasyonunda kullanılan kit içeriği.....28

Resim 3.2. Polimorfizm analizinde kullanılan PCR cihazı31



SİMGELER ve KISALTMALAR

°C	: Santigrat Derece
mL	: Mililitre
µL	: Mikrolitre
rpm	: Dönme hızı
sn	: Saniye
%	: yüzde
IFN	: İnterferon
IFN-λ	: İnterferon lambda
IL28B	: İnterlökin 28B
COVID-19	: Yeni koronavirus hastalığı-19
SARS	: Şiddetli akut solunum sendromu
TNF	: Tümör nekroz faktörü
ZIKV	: Zika virüs
HSV-2	: Herpes simpleks virüs-2
HCOV	: İnsan koronavirus
MERS-CoV	: Orta Doğu solunum sendromu koronavirusu
2019-nCoV	: Yeni koronavirus-2019
SARS-CoV-2	: Şiddetli akut solunum sendromu koronavirus-2
NF-kB	: Nükleer faktör kB
RdRp	: RNA'ya bağımlı RNA polimeraz
Cox-2	: Siklooksijenaz-2
ACE-2	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim-2
RBD	: Reseptör bağlama alanı
TMPRSS2/4	: Trans membran proteaz serin 2/4
CatB/L	: Endozomal katepsin B/L
ORF	: Open reading frames
ERGIC	: Endoplazmik retikulum-golgi ara bölme
MBL	: Mannoza bağlayan lektin
PRR	: Kalıp tanıma reseptörü
NET	: Nötrofil hücre dışı tuzakları
DAMP	: Hasarla ilişkili moleküler modeller
MAS	: Makrofaj aktivasyon sendromu

vWF	: vonWillebrand faktör
RAS	: Renin-anjiotensin sistem
NO	: Nitrik oksit
IC	: İmmün kompleks
MCP-1	: Monosit kemotaktik protein-1
RT-PCR	: Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu
cDNA	: Komplementer DNA
BAL	: Bronkoalveolar lavaj
ELISA	: Enzim linked immünosorbent assay
IL-10R2	: IL-10 reseptör alt birimi 2
TYK2	: Tirozinkinaz 2
ISGF3	: İnterferonla uyarılan gen faktörü 3
ISG	: İnterferonla uyarılan gen
HCV	: Hepatit C virüs
HBV	: Hepatit B virüs
RSV	: Respiratuvar sinsityal virüs
LCMV	: Lenfositik koriomeningitis virüsü
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
EDTA	: Etilen diamin tetra asetikasit
Ct	: Cycle threshold

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çin'in Wuhan eyaletinde Aralık 2019'da başlayan ilk salgından bu yana, yeni koronavirüs hastalığı (COVID-19) hızla diğer birçok bölgeye yayılmış ve küresel bir sağlık tehdidi haline gelmiştir. İlk olarak Wuhan şehrinde etiyojisi bilinmeyen pnömoni vakalarını bildirilmiş ve 7 Ocak 2020'de daha önce insanlarda tespit edilmemiş yeni bir koronavirüs (2019-nCoV) etken olarak tanımlanmıştır. Daha sonra hastalığın adı COVID-19 olarak belirtilerek, etken virüs SARS CoV'e yakın benzerliğinden dolayı SARS-CoV-2 olarak adlandırılmıştır [T.C. Sağlık Bakanlığı, COVID-19 (SARS-CoV2 Enfeksiyonu) Rehberi, 2020]. Dünya Sağlık Örgütü, ilk salgının başladığı Çin dışında 113 ülkede COVID-19 vakalarının görülmesi üzerine, COVID-19 salgınına 30 Ocak'ta "uluslararası boyutta halk sağlığı acil durumu" olarak sınıflandırmış, virüsün yayılımı ve şiddeti nedeniyle 11 Mart'ta pandemi ilan edilmiştir (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019> Erişim Tarihi: 11.07.2022). Koronavirüs-2 (SARS-COV-2)'nin neden olduğu hastalık mevcut şiddetli akut solunum sendromu (SARS) benzeri belirtilere yol açarak büyük bir pandemi ile sonuçlanmıştır (Zhu ve ark., 2020).

COVID-19 pandemisi milyonlarca kişinin ölümüne yol açmıştır (McKee M. Ve ark, 2020). COVID-19'un klinik belirti ve bulguları hastalar arasında oldukça değişkenlik göstermektedir, öyle ki bazı hastalar asemptomatik kalırken (Buitrago-Garcia ve ark, 2020), bazılarında sistemik enflamasyon, solunum yetmezliği veya ölümle birlikte ciddi COVID-19'un geliştiği bildirilmiştir (Nakanishi ve ark., 2021).

Hastalar arasındaki bu değişkenlikler, kimin ciddi hastalık riski altında olduğunu ve yoğun bakıma ihtiyaç duyabileceğini tahmin ederken klinik yönetimde zorluklar oluşturmaktadır. Ayrıca, son kılavuzlar, profilaktik tedaviye karar verirken risk sınıflandırmasının dikkate alınması gerektiğini önermektedir (Dooling ve ark., 2021; Bubar ve ark., 2021; Novelli ve ark., 2021).

COVID-19'un seyirindeki bu değişkenliklerin bir kısmı yaş, cinsiyet (O'Driscoll M ve ark, 2020) komorbiditeler (Williamson ve ark., 2021), sosyoekonomik faktörler (Chaudhry ve ark., 2020) ve SARS-CoV-2 genomundaki genetik varyantlar (Baric, 2020) gibi risk faktörlerine atfedilmiştir. Şiddetli klinik seyir için ana risk faktörü, etkisi özellikle 60 yaşından sonra katlanarak artan yaş olmakla birlikte (Baric, 2020), bazı genç bireylerde de ciddi COVID-19 sonuçları ve yüksek ölüm oranları tespit edilmiştir (Nakanishi ve ark., 2021). Son yıllarda yapılan çalışmalar; meme kanseri, miyokard enfarktüsü ve Alzheimer

hastalığı gibi birçok yaygın hastalığın genetik faktörlerden etkilendiğini tespit etmiştir (Van Der Kolk ve ark., 2010; Nordestgaard ve ark., 2013; Feng ve ark., 2020; Olarte ve ark., 2006) ve bu durumun aynı zamanda COVID-19 için de geçerli olabileceği düşünülmektedir (Nakanishi ve ark., 2021). Böylece COVID-19 şiddetinin ve mortalite oranlarının bireysel farklılık göstermesinin nedenlerini araştırma ihtiyacı doğmuştur. Birkaç genom çapında ilişkilendirme çalışması (GWAS)'nda insan genomunda COVID-19'un şiddeti ile ilişkili birden fazla lokus tanımlanmıştır (Pairo-Castineira ve ark., 2020). Ancak çalışmalar ACE (anjyotensin dönüştürücü enzim) reseptörü ve ABO polimorfizmleri ile COVID-19 prevalansı ve mortalitesi arasındaki ilişkiyi araştırmaya odaklanmıştır (Yamamoto ve ark., 2021; Lehrer ve Rheinstejn, 2021).

Viral enfeksiyon sırasında sitokinlerin immünoopatolojide önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Hızlı ve iyi koordine edilmiş doğal bağışıklık yanıtı, viral enfeksiyona karşı ilk savunma hattını oluşturmaktadır. Bununla birlikte, düzensiz ve aşırı bağışıklık tepkileri, insan vücudunda hasara neden olabilmektedir (Channappanavar ve ark., 2016; Davidson ve ark., 2015; Shaw ve ark., 2013).

COVID-19 patogenezi henüz tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte ortaya çıkan patolojik cevaplarda immün sistemin rolü her geçen gün daha iyi anlaşılmaktadır. Özellikle ağır seyreden akut solunum yolu problemi yaşayan COVID-19 hastalarında aniden ve çok yüksek miktarlarda proinflamatuvar sitokinlerin salınımı gözlenmektedir (Ye, Wang ve Mao, 2020). Laboratuvar ortamında yapılan hücre deneyleri, sitokin ve kemokinlerin gecikmeli salınımının solunum epitel hücrelerinde, dendritik hücrelerde (DC'ler) ve makrofajlarda SARS-CoV enfeksiyonunun erken evresinde meydana geldiğini göstermektedir. Daha sonra hücreler, düşük seviyelerde antiviral interferonlar ve yüksek seviyelerde proinflamatuvar sitokinler [interlökin (IL)-1 β , IL-6 ve tümör nekroz faktörü (TNF)] ve kemokinler salgılamaktadır (Law ve ark., 2005; Lau S ve ark., 2013). Bunun sonucunda TNF-alfa, IL-1beta, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, IL-23, IL-27, IFN-alfa, IFN-beta gibi sitokinler ve çeşitli kemokinler yüksek miktarlarda ve aniden ortama salınmakta, morbidite ve mortalitede artışa neden olmaktadır. Bu durum aslında düzensiz/kontrolsüz bağışık yanıt ve inflamasyonun bir sonucu olarak da yorumlanmaktadır (Fara ve ark; 2020).

IFN (tip I, II, III)'ler; antiviral, antitümör ve immünmodilatör etkileri sahip, bakteri ve virüslere karşı doğal bağışıklıkta rol oynayan merkezi sitokinlerdir. Tip I ve III interferonlar, genel olarak, viral enfeksiyon sonrası tüm çekirdekli hücreler tarafından

üretir; interferon- α ağırlıklı olarak virüs bulaşmış lökositler tarafından ve interferon- β fibroblastlar tarafından üretilir (Parkin ve Cohen, 2001). IFN- α/β benzeri antiviral aktiviteye sahip yeni bir IFN sınıfı [interferon-lambda (IFN- λ) ailesi veya tip III IFN'ler (IL-29 (IFN- λ 1) IL-28A (IFN- λ 2), IL-28B (IFN- λ 3), IFN- λ 4)] yakın zamanda keşfedilmiştir. Bu yeni tip IFN'ler tip I interferonlara benzer ancak, nispeten daha az etkilidirler. Farklı reseptör sistemlerini aktive etmelerine rağmen, IFN- λ ve tip I IFN'ler, hedef hücrelerde, çoğunlukla STAT-1 ve STAT-2 transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu ile indüklenen aktivasyonundan kaynaklanan immün yanıtları tetiklemektedirler (Zhou Z ve ark. 2007). Tip I ve tip III IFN'ler arasındaki temel fark, tip III IFN'lerin viral enfeksiyon üzerine lokal olarak etki etmesidir (Wack A ve ark, 2015). Ayrıca tip I IFN reseptörleri her yerde eksprese edilirken, IFN- λ reseptörleri ağırlıklı olarak viral solunum yolu enfeksiyonunu takiben solunum yolu epitel hücreleri tarafından salgılanır ve solunum yollarında antiviral etkinliğin artmasına yardımcı olur (Lazear HM ve ark 2019).

İnterlökin-28B (IL28B) geni, 19q13.13'te bir sitokin kümesinde IL28A ve IL29 ile birlikte bulunur ve IFN λ 3'ü kodlamaktadır (Murrey, 2013). IFN λ 3 patern tanıma reseptörleri (PRR) aracılığı ile patojenle ilişkili moleküler kalıpları tanıdığında JAK/STAT sinyal yolunun aktivasyonuna yol açarak antiviral yanıtları ortaya çıkarmaktadır. Rekombinant tip III sitokinlerin kullanıldığı çalışmalarda, bu sitokinlerin Zika virüsü (ZIKV), influenza A virüsü, influenza B virüsü, SARS-CoV, insan metapnömovirüsü, respiratuar sinsityal virüs ve herpes simpleks virüs-2 (HSV-2) gibi çok sayıda virüsün replikasyonunu kısıtlayabildiği gösterilmiştir (Zhou J ve ark, 2018). Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalar hepatit C enfeksiyonu başta olmak üzere birçok viral enfeksiyonda viral klirens, tedaviye yanıt ve komplikasyon oranları ile interlökin 28B gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmıştır (Mousavi ve ark., 2015). Son bilgiler ışığında IL28B (IFN- λ 3) doğal bağışık yanıt ve antiviral etkinlik dinamikleri açısından feedback mekanizmalarının kilit oyuncusu olma adayıdır.

COVID-19 prevalansı ve mortalitesi önemli bölgesel farklılıklarla seyretmektedir. Doğal viral bağışıklık yanıt dinamikleri içerisinde yer alan ve bazı viral hastalıkların seyri üzerine etkisi kanıtlanmış olan IL28B gen polimorfizminin bu hipotezin yanıtı için en güçlü adaylardan biri olduğunu düşünülmektedir. Çalışmamız bu hipoteze yanıt aramayı amaçlamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Koronavirüslerin Tarihçesi

İnsan koronavirüslerinin (HCoV) tarihi, 1965 yılında Tyrrell ve Bynoe tarafından bir yetişkinin solunum yolundan elde edilen insan embriyonik trakeal organ kültürlerinde soğuk algınlığına yol açan B814 adlı bir virüs tanımlaması ile başlamıştır (Kahn ve McIntosh, 2015). 1966 yılında Hamre ve Procknow, soğuk algınlığı semptomları taşıyan tıp öğrencilerinin solunum yolu örneklerinden “HCoV-229E” olarak adlandırdıkları yeni bir virüsü izole etmiştir. Almeida ve Tyrrell, enfekte olmuş organ kültürlerinden alınan sıvılar üzerinde yaptıkları elektron mikroskobu çalışmaları ile izole edilen bu virüslerin benzer morfolojiye sahip olduklarını göstermiştir. İlerleyen yıllarda Tyrrell bu yeni virüs grubuna üzerlerindeki çıkıntılı taç benzeri yapısından dolayı koronavirüs adını vermiştir (Tyrrell ve ark., 1975).

Ağır akut solunum yetmezliği sendromu (SARS) virüsü olarak adlandırılan yeni bir koronavirüs, 2002-2003'te Güney Çin'de ortaya çıkarak ölçülebilir bir hızla tüm dünyaya yayılmıştır (Ksiazek ve ark., 2003). Genel olarak, 774 SARS ile ilişkili ölümler birlikte 8098 enfekte birey tespit edilmiştir (<http://www.cdc.gov/ncidod/sars/index.htm>) ve insanlık tarihinin ilk insan koronavirüs kaynaklı pandemisi meydana gelmiştir (Cheng ve ark., 2007).

Koronavirüslerin giderek artan yaygınlığı, geniş genetik çeşitliliği, ve yüksek insan-hayvan arayüzü davranışı nedeniyle, zaman zaman yeni koronavirüslerin ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. 2004 yılında konjonktivit, ateş ve bronşioliti olan 7 aylık bir hastada NL63 olarak adlandırılan yeni bir insan koronavirüsü tespit edilerek tüm viral genom dizilenmiştir (Kahn ve ark., 2005). Aynı yıl Hong Kong'da pnömoni nedeniyle takip edilen 71 yaşındaki bir hastada HCoV-NL63'e benzer şekilde mevsimsel ve genellikle soğuk algınlığı semptomları ile ilişkili hafif solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan HCoV-HKU1 izole edilmiştir (Lau ve ark., 2005).

2012 yılında Suudi Arabistan'da yeni bir koronavirüse bağlı, ölümcül ikinci ciddi enfeksiyon ortaya çıkmıştır (Azhar ve ark., 2019). Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü (MERS-CoV) olarak adlandırılan bu yeni virüs 29 ülkeye yayılarak, yaklaşık 2500 kişiyi enfekte ederek ve 858 vakanın hayatını kaybettiği bir salgın oluşturmuştur (<https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en>, 2019).

Aralık 2019 tarihine gelindiğinde ise, Çin'in Hubei eyaleti Wuhan şehrinde mevcut tanı testleri ile nedeni belirlenemeyen atipik pnömoni vakaları bildirilmiştir. Etkenin saptanmasına yönelik yapılan çalışmalarda bronkoalveolar lavaj örnekleri sekanslanmış ve SARS-CoV benzeri koronavirüs ile yaklaşık %85 sekans homolojisi olan yeni bir koronavirüs tespit edilmiştir (Zou ve ark., 2020). Ocak 2020'de The Lancet'te yayınlanan, doğrulanmış ilk 41 COVID-19 vakası üzerine yapılan bir çalışmada, semptomların en erken başlangıç tarihi 1 Aralık 2019 olarak bildirilmiştir (Wu ve ark., 2020). DSÖ'nün resmi yayınları, semptomların en erken başlangıcını 8 Aralık 2019 olarak bildirmiştir ve DSÖ bu virüsü yeni koronavirus-2019 (2019-nCoV) olarak tanımlamıştır. Virüsün hücre kültüründe izole edilerek yapılan ayrıntılı genetik analiz sonuçlarına göre SARS-CoV ile yaklaşık %79, MERS-CoV ile yaklaşık %50 sekans homolojisi gösterdiği bildirilmiştir. Uluslararası Virüs Taksonomi bu yeni korona virüsü 11 Şubat 2020'de Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs 2 (SARS-CoV-2) olarak adlandırmıştır. Aynı tarihte DSÖ, virüsün neden olduğu hastalığı koronavirus hastalığı-2019 (COVID-19) olarak tanımlamıştır. 30 Ocak'ta DSÖ, koronavirüsü uluslararası öneme sahip bir halk sağlığı acil durumu olarak ilan etmiştir ve 11 Mart 2020'de ise pandemi ilan edilmiştir (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/media-resources/press-briefings> Erişim tarihi: 07.01.2022).

2.2. Virolojik Özellikleri

2.2.1. Köken ve Sınıflandırma

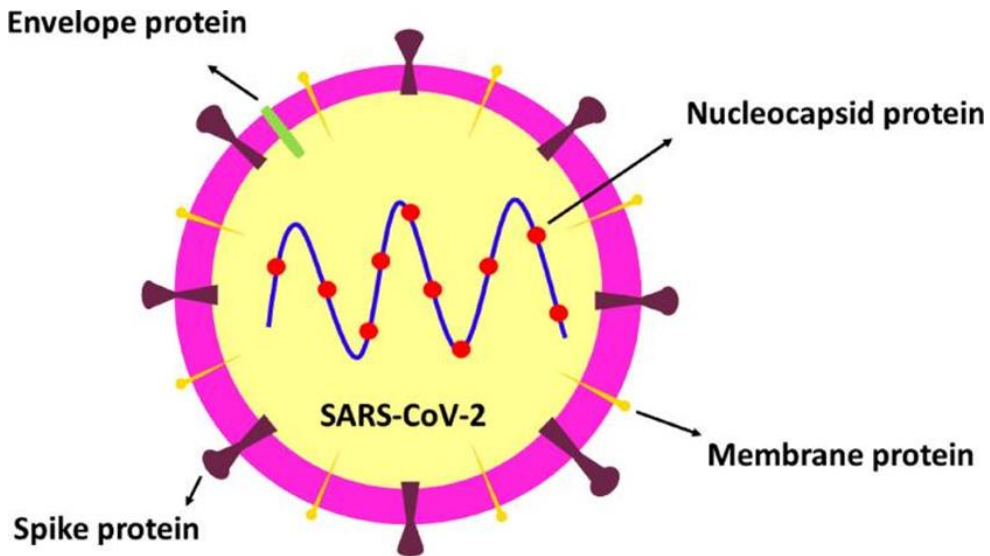
Koronavirüsler, *Coronaviridae* ailesindeki *Coronavirinae* alt ailesinin ve *Nidovirales* (Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi) takımının üyeleridir. Bu alt aile, filogenetik ilişkileri ve genomik yapılarına göre dört cinsten (alfa, beta, gama ve delta) oluşur (Masters ve Perlman, 2013). Bu dört cins farklı doku tropizmi ve konak dağılımı gösterir. Alfa ve betakoronavirüsler sadece memelileri enfekte eder. Gama ve delta koronavirüsler ise memelilerle birlikte kuşları da enfekte eder (Woo ve ark., 2012). Alfa ve betakoronavirüsler insanlarda genellikle solunum yolu hastalıklarına neden olurken hayvanlarda gastroenterite neden olur. SARS-CoV ve MERS-CoV, insanlarda ciddi solunum sendromuna neden olurken diğer dört insan koronavirüsü (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 ve HKU1), bağışıklığı yeterli kişilerde yalnızca hafif üst solunum yolu hastalıklarına neden olur (Su ve ark., 2016). MERS-CoV, SARS-CoV, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, ve SARS-CoV-2 betakoronavirüs cinsi içinde yer almaktadır (Tekol, 2020).

Mevcut dizi analizi verilerine göre, tüm insan koronavirüslerinin hayvan kaynaklı olduğu kabul edilir: SARS-CoV, MERS-CoV, HCoV-NL63 ve HCoV-229E'nin yarasası; HCoV-OC43 ve HKU1'in muhtemelen kemirgen kaynaklı olduğu kabul edilmektedir (Forni ve ark., 2017). Çeşitli çalışmalar yarasaların SARS-CoV için doğal konaklar; misk kedilerinin yalnızca ara konaklar olduğunu göstermiştir (Hu ve ark., 2017). Wuhan'daki pnömoni salgınının başlarında, SARS-CoV-2 ile enfekte olmuş beş hastadan elde edilen tam genom dizilerinin SARS-CoV ile %79.5 benzeştiği bulunmuştur. SARS-CoV-2'nin tam uzunluktaki genom dizisi ve diğer mevcut beta koronavirüs genomları karşılaştırıldığında SARS-CoV-2'nin %96 yarasası SARS benzeri koronavirüs suşu BatCov RaTG13'e benzediği bulunmuştur. Bu çalışmalar, SARS-CoV-2'nin yarasası kaynaklı olabileceğini göstermektedir (Zhou ve ark., 2020).

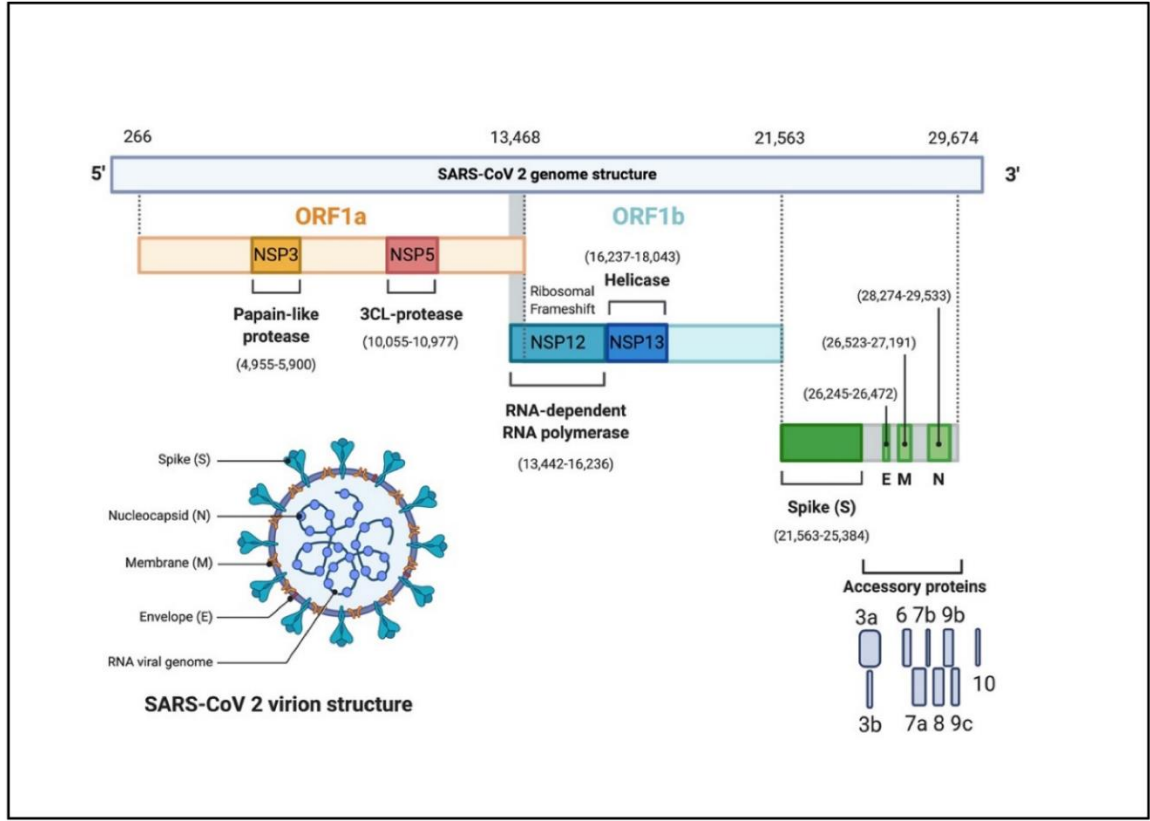
2.2.2. SARS-CoV-2'nin Yapısı

Koronavirüsler tek sarmallı, pozitif zincirli, zarflı ve RNA virüsleri içinde bilinen en büyük genoma sahip (SARS-CoV-2'nin genom boyutu yaklaşık 29.9 kb'dir) virüslerdir (Brian ve Baric, 2005; Lu ve ark., 2019).

SARS-CoV-2, dört yapısal protein (S, E, M ve N) ve on altı yapısal olmayan protein (nsp1-16) içerir (Şekil 1 ve Şekil 2).



Şekil 2.1. SARS-CoV-2'nin yapısal proteinleri (Zandi M ve ark. 2021)



Şekil 2.2. SARS-CoV-2'nin genomik organizasyonu (Alanagreh ve ark., 2020)

2.2.2.1. Yapısal olmayan proteinler

Yapısal olmayan proteinler: Nsp1, RNA işleme ve replikasyonuna aracılık eder. Nsp2, SARS CoV-2 enfeksiyonu sırasında hücre içi sinyal yollarını bloke eder. Nsp3, polipeptitleri parçalar, konak protein sentezini inhibe eder, sitokin ekspresyonunu indükler, nükleer faktör kB (NF-kB) salınımını inhibe eder. Nsp4, replikatif yapıların kopyalanması, bir araya gelmesi ve salınımını sağlar. Nsp5, replikasyon sırasında poliprotein sürecine katılır ve interferon sinyalini inhibe eder. Nsp6, endoplazmik retikulumdan otofagozomlar üretir ve otofajiye katılır. Nsp7 ve Nsp8; Nsp 12 ile birlikte kofaktördürler, primaz ve primerden bağımsız RNA polimeraz aktiviteleri vardır. Nsp9, bir ssRNA bağlayıcı protein olarak işlev görür. Nsp10, 3'-5' eksoribonükleaz ve 2'-O-metiltransferaz aktivitelerini uyarır. Nsp11, replikasyon için gereklidir. Nsp12, RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) aktivitesine sahiptir. Nsp13, helikaz ve kimotripsin benzeri proteaz aktivitesine sahiptir. Nsp14, bir düzeltme eksoribonükleazdır. Nsp15, endoribonükleaz aktivitesine sahiptir. Nsp16, bir 2'-O-riboz metiltransferazdır (Nagvi ve ark., 2020; Lin ve ark., 2021; Mirza ve Froeyen, 2020; Wang ve ark., 2020).

2.2.2.2. Yapısal proteinler

Spike (S) protein; virüsün konak hücrelerine girişine aracılık eder. Homotrimer yapıda virion membran yüzeyinden yaptığı 9-12 nm'lik çubuk şeklindeki çıkıntılarla taç benzeri bir görünüm oluşturan transmembran proteindir (Walls ve ark., 2020). S proteini, S1 ve S2 alt birimleri dahil olmak üzere iki fonksiyonel alt birimden oluşur. S1 alt birimi konak hücre üzerindeki reseptöre bağlanmayı sağlarken, S2 alt birimi virüsün ve konakçı hücre zarlarının füzyonunu gerçekleştirir. Reseptöre bağlanma ve füzyon aşamaları ilk ve en önemli adımlardır. Nötralizan antikorların ana hedefi olan bu protein doku tropizmi ve konak seçiminde de görevlidir (Huang ve ark., 2020).

Membran (M) proteini; virüs parçacıkları üzerinde en bol bulunan viral yapısal proteindir. S ve E proteini ile etkileşerek virion zarfın karakteristik şeklini oluşturur. M proteini, içte C-terminali ve dışta N-terminali olan üç transmembran alanına sahiptir. M proteini, virionların yenilenmesinde, nükleokapsidin stabilizasyonunda, virüs içi dengenin sağlanmasında önemli rol oynar (Oztan ve Issever, 2020; Boson ve ark., 2021). Siklooksijenaz-2 (Cox-2)'nin gen ekspresyonunu inhibe ederek konak hücrenin NF- κ B'si ile etkileşime girer. M proteini, NF- κ B ve Cox-2 aracılı konakçı inflamatuvar yanıtında kaçmaya aracılık eder (Kadam ve ark., 2021).

Zarf (E; Envelope) proteini; 75 aminoasitten oluşan yapısal proteinlerin en küçüğüdür (Bianchi ve ark., 2020). Viriyopirin, yani iyon kanalları oluşturabilen, SARS-CoV-2 patogenezinde ve viral yayılmada rol aldığı düşünülen bir viral proteindir (Schoeman ve Fielding, 2020). Bu proteinin inaktivasyonu veya yokluğu morfoloji ve tropizmdeki değişikliklere yol açarak viral yükte düşüklük, matürasyon ve yeni virüs oluşumunda yetersizlik ile ilişkilidir (Dhama ve ark., 2020).

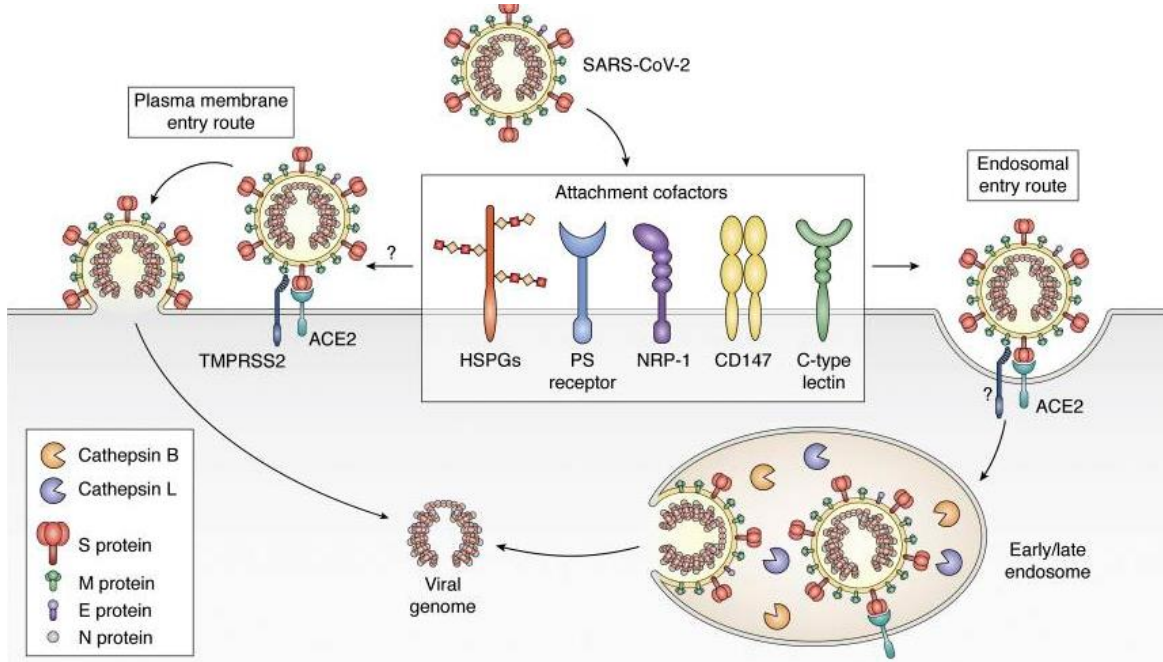
N proteini; Virüsle enfekte hücrede en fazla bulunan protein olup viral RNA transkripsiyonu ve replikasyonunda görevlidir . Viral genom oluşumu, viryon oluşumu sırasında ihtiyaç duyulan M protein etkileşimini sağlamak ve viral transkripsiyon gibi fonksiyonları vardır (Sheikh ve ark., 2020). Ayrıca IFN ve RNA interferansı için bir antagonist olarak çalışarak konağın antiviral cevabını düzenler (Cui ve ark., 2015).

2.3. Patogenez

2.3.1. Hücreye Giriş

Virüsün hücreye girişi viral patogenezde en önemli basamaktır. Dört yapısal proteinden biri olan koronavirüs spike (S) proteini, reseptör bağlanmasına ve virüsün hedef hücrelerle füzyonuna aracılık eder. S proteini tipik bir tip I füzyon proteindir ve her monomerin iki alt birime bölünmüş olduğu bir trimer olarak işlev görür (S1 reseptör bağlanmasına aracılık eder, S2 transmembran alanını içerir ve konakçı hücre zarı ile füzyona aracılık eder) (Wrobel ve ark., 2020). Koronavirüslerin S proteini, giriş sürecini kolaylaştırmak için ACE-2, dipeptidil peptidaz 4, aminopeptidaz-N ve sialik asit dahil olmak üzere çok çeşitli reseptörlerle etkileşime girebilmektedir. Koronavirüslerin sahip olduğu reseptör kullanım çeşitliliği, zoonotik bulaş açısından güçlü potansiyele sahip olduklarını göstermektedir (Evans ve ark., 2021). Bağlanma ve giriş için aynı reseptörü kullanmasına rağmen SARS-CoV-2 S proteininin dinamikleri ve reseptör bağlama özellikleri, SARS-CoV'inkinden farklıdır. Çeşitli çalışmalar, SARS-CoV-2 S proteini reseptör bağlama alanının (RBD) daha yüksek afiniteye sahip olduğunu göstermiştir (Wrapp ve ark., 2019; Wrobel ve ark., 2020).

Çoğu sınıf I viral füzyon proteini gibi, koronavirüs girişi için de koronavirüs S proteininin konakçı proteazları tarafından işlenmesi gerekir. Bu hazırlama işlemi, S proteininin S1/S2 sınırındaki ve S2 bölgesindeki iki bölünmeyi içerir (Millet ve Whittaker, 2015). S1/S2'de yer alan 'furin benzeri bölünme bölgesi'nin furin proteaz tarafından bölünmesi ile S1 ve S2 alt birimleri ayrılmış olur (Coutard ve ark., 2020). Transmembran proteaz serin 2/4 (TMPRSS2/4), endozomal katepsin B/L (CatB/L) ve diğer tripsin benzeri proteazlar tarafından katalizlenen S2 bölünmesi ile füzyon proteini açığa çıkar ve viral zarf ile hücre zarı arasında füzyon gerçekleşir. Böylece viral genom sitoplazmaya salınır (Şekil 2.3.) (Bertram ve ark., 2011).



Şekil 2.3. SARS-CoV-2'nin konak hücredeki yaşam döngüsü (Evans J. P. ve ark., 2021)

2.3.2. Viral Gen Ekspresyonu

Füzyon sonrasında çıplak virüs endozomal yol ile hücre içine alınır. Virüs pozitif polariteli RNA'ya sahip olması nedeniyle kendi viral genomunu kalıp olarak kullanır ve konak genomuna entegre olmadan replike olur. Replikasyon esnasında, viral genom mRNA işlevi görerek yapısal ve yapısal olmayan proteinleri direkt olarak kodlanır. pH'nın 5.5'e kadar düşmesiyle virüs, endozomdan çıkarak sitoplazmaya gelir. Koronavirüs genomu 10'dan fazla "open reading frames (ORF)" içerir. Pozitif polariteli RNA'nın konakçı hücre sitoplazmasına geçmesi ile replikasyon proteinleri olan poliprotein 1a ve 1ab'nin (pp1a/pp1ab) ORF1a/b'den transkripsiyonu gerçekleşir. Bu iki poliprotein (pp1a ve pp1ab), viral replikaz transkriptaz kompleksini oluşturan 16 yapısal olmayan proteine (nsp1- nsp16) dönüşür. Viral replikasyon ve transkripsiyon yapısal olmayan proteinler tarafından endoplazmik retikulumdan dönüştürülen membran veziküllerinin içinde gerçekleşir. Diğer ORF'ler ise Spike (S), Zarf (E), Nükleokapsid (N) ve Matris (M) proteinler gibi dört ana yapısal proteini kodlar (Tekol, 2020; Aydın ve Timürhan, 2020).

Viral genom N proteinleri tarafından paketlenir ve endoplazmik retikulum-golgi ara bölme (ERGIC) membranından tomurcuklanarak yeni virüsler oluşturulur (V'kovski ve ark., 2020).

2.4. Risk Etmenleri ve Bulaş Yolları

Hastalığa karşı tüm yaş grupları duyarlıdır. Her ne kadar semptomatik hastalardan bulaş ihtimali daha yüksek olsa da asemptomatik bireyler de bulaştırıcı olabilir (Rothe ve ark., 2020). Bulaş, enfekte kişinin öksürme ya da hapşırması sırasında ortama dağılan damlacıkların solunması veya kontamine olmuş yüzeylere dokunmanın ardından burun, ağız ve gözlere temas ile olmaktadır (Kampf ve ark., 2020). COVID-19 hastalarının, idrar ve gaitalarında da SARS-CoV-2 RNA'sının varlığı gösterilmiş olmasına rağmen bu yollar ile bulaşmanın önemli bir role sahip olabileceğine dair kanıt yoktur (İlhan, 2020).

Araştırmalar 34-59 yaş ortalamasına sahip erişkin erkeklerin SARS-CoV-2 enfeksiyonunun daha sık etkilendiğini ortaya koymuştur (Wang ve ark., 2019). Çin ve İtalya'da COVID-19 kaynaklı mortalitenin de erkeklerde daha yüksek olduğu bulunmuştur (Onder ve ark., 2020; Chen ve ark., 2019). SARS-CoV-2 enfeksiyonunun seyrini; kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar ile diyabet gibi kronik hastalıkların, bakteriyel ya da fungal koenfeksiyonların ağırlaştırdığı da bildirilmiştir (Chen ve ark., 2020).

2.5. Konak İmmün Yanıtı

Virüsle temastan yaklaşık 2-3 hafta sonra yeni antijenleri nötralize edebilen etkili bir adaptif bağışıklık yanıtın gelişmesi beklenir (Okbave ark., 2020). Bu süre göz önüne alındığında, asemptomatik veya hafif hastalığı olan hastalarda enfeksiyon kontrolü, muhtemelen aktivasyon için antikorlar ya da T hücreleri tarafından tanınmaya ihtiyaç duymayan doğal immün yanıtın kaynaklanmaktadır. Hastalığın şiddetli formları ise, spesifik olmayan birinci basamak savunma mekanizmalarının başarısızlığından ve komorbiditelerden ileri gelmektedir. SARS-CoV-2'ye karşı doğal bağışıklık yanıtının komponentleri arasında; kompleman sistemi, koagülasyon ve fibrinolitik sistemlerin bileşenleri, interferonlar, kemokinler ve doğal immünitede görevli antikorlar, sitokinler, doğal öldürücü hücreler sayılabilir (Boechat ve ark., 2021).

SARS-CoV-2, konak hücre reseptörüne bağlandığında viral yüzeyin S proteininde yoğun glikozilasyon gerçekleşir (Watanabe ve ark., 2020). Viral yüzeyin glikozilasyonu, protein bileşenlerinin stabilitesi, hücre tropizmi, bağışıklık mekanizmaları tarafından tanınma ve nötralize edici antikorlar tarafından tanınan antijenlerin kamufle edilmesi gibi virüs biyolojisinin çeşitli yönlerini etkileyebilir (Qiao ve ark., 2020). Doğal bağışıklıktaki tamamlayıcı sistemin bileşenlerinden biri olan mannoz bağlayan lektin (MBL), çeşitli

mikroorganizmaların zarındaki mannoz kalıntılarını tanır ve kalıp tanıma reseptörü (PRR) olarak işlev görür. Bu tanıma, inflamasyonu indükleyerek fagositozu arttırır. SARS-CoV-2'nin S1 bölgesinde mannozdan zengin glikanların varlığı ve MBL'ne bağlanmanın S1-ACE etkileşimini engelleyebileceği hipotezini desteklemektedir (Watanabe ve ark., 2020). Düşük serum MBL seviyeleri ve MBL genetik polimorfizmleri de SARS-CoV duyarlılığı ile ilişkili bulunmuştur (Zhang ve ark., 2005). Ayrıca serum MBL düzeyleri yaşla birlikte azalmaktadır (Tomaiuolo ve ark., 2012).

IFN yanıtı, virüslere karşı çok önemli olan ilk savunma hattını oluşturur. Özellikle IFN tip I ve III, hücrel bir viral direnç durumu oluşturarak ve adaptif immün yanıtları aktive ederek enfeksiyonu sınırlamada rol oynamaktadır (Park ve ark., 2020).

Mikroorganizmalar ve hücrel PRR'ler arasındaki etkileşimi takiben NF-kB ve interferon düzenleyici faktörlerin transkripsiyonu ve aktivasyonun indüklenmesi proinflamatuvar sitokinlerin ve tip I-III IFN'lerin üretimi uyarılır. JAK-STAT sinyal yolu aracılığıyla, IFN'ler, IFN ile uyarılan genlerin ekspresyonunu indükler ve bu reaksiyonlar hücrel antiviral direnç gelişimi ve birkaç kemokin üretimi ile sonuçlanır (Deng ve ark., 2020; García-Sastre, 2017).

Tip I IFN'ler (IFN- α/β), hem otokrin hem de parakrin etki ile viral direnci indükleyerek viral enfeksiyona karşı doğal bağışıklık yanıtının ilk satırında yer alır. Akut solunum yolu hastalığına neden olan SARS-CoV-1 ve MERS-CoV enfeksiyonlarında, tip I IFN'nun gecikmiş üretimi ile inflamatuvar monosit-makrofajların birikimi meydana gelmekte ve bu durum düzensiz bir inflamatuvar yanıtı açmaktadır (Boudewijns ve ark., 2020). Son veriler ayrıca SARS-CoV-2'ye yanıtta tip I ve III IFN'lerin olası bir düzensizliğini ortaya koymaktadır (Blanco-Melo ve ark., 2020; Deng ve ark., 2020). SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında çok düşük IFN I ve IFN III ekspresyonu ve IFN ile uyarılan genlerde sınırlı yanıt ortaya çıkarken, kemokinlerin ve proinflamatuvar sitokin genlerinin ekspresyonunun normal olduğu gösterilmiştir (Blanco-Melo ve ark., 2020). Ayrıca yüksek viral yüke sahip ciddi veya kritik hastalığı olan COVID-19 hastalarında artmış tümör nekroz faktörü (TNF)- α ve IL-6 ile ilişkili aşırı NF-kB güdümlü inflamatuvar yanıtın eşlik ettiği bozulmuş bir tip I IFN yanıtı tanımlanmıştır (Hadjadj ve ark., 2020). Tip I IFN'lere (esas olarak IFN- $\alpha 2$ ve IFN- ω) karşı oluşan otoantikorların nötralize edilmesinin, yaşamı tehdit eden COVID-19 pnömoni vakalarının oranını %10'unun altına düşürebileceği varsayılmaktadır (Bastard ve ark., 2020).

Tip III IFN (IFN- λ) (IL-28/IL-29), tip I IFN ve IL-10 ile oldukça benzerdir ancak tip III IFN ekspresyonu, tip I IFN'lere göre daha kısıtlıdır ve esas olarak solunum ve gastrointestinal sistemde meydana gelmektedir. Tip I ve tip III IFN'ler arasındaki temel fark, reseptörlerinin ekspresyonundadır. Tip I reseptörler hemen hemen tüm hücrelerde bulunurken tip III reseptörler (IFNLR1/IL10RB) epitel hücreleri, nötrofiller ve aktive edilmiş bazı bağışıklık hücreleri (dendritik hücreler, makrofajlar ve B hücreleri) ile sınırlıdır. Bu durum, tip III IFN'lerin mukozal immün yanıtta ve adaptif yanıtın düzenlenmesinde daha özel bir role sahip olduğunu göstermektedir. Tip III IFN'lerin tip I ile karşılaştırıldığında daha erken ve daha düşük bir viral yük ile indüklenebilmesi ve ayrıca virüsün yayılımını ve üst solunum yolundan akciğerlere geçişini de sınırlaması nedeniyle pulmoner immün yanıtta daha özel bir rolü olduğunu düşündürmektedir (Galani ve ark., 2017; Klinkhammer ve ark., 2018; Boechat ve ark., 2021).

IFN ve sitokin yanıtlarının düzenlenmesinde konak yaşı da önemli bir faktör olarak görülmektedir (Park ve ark., 2020). Yaşlanma ile oluşan immünoşenescens; patojen tanıma, uyarı sinyali ve klirensi ile etkileşime giren, enfeksiyonlara ve otoimmün hastalıklara, kanser gibi bağışıklıkla ilgili diğer kronik bozukluklara karşı artan duyarlılığa neden olan bağışıklık fonksiyonunda kademeli bir düşüşü ifade etmektedir (Domingues ve ark., 2020). Aşırı aktif ancak etkisiz bir uyarı sisteminden kaynaklanan sistemik enflamasyondaki artış ve hücresel onarım mekanizmalarındaki azalma, genom ve proteom hasarının birikmesine neden olarak, bağışıklık sisteminde sistemik değişikliklere ve proinflatuar sitokinlerin aşırı üretimine neden olur (Frasca ve ark., 2016).

IL-1, aktive mononükleer fagositler tarafından üretilerek IL-6 ve TNF gibi diğer proinflatuar sitokinleri indükleyen doğal bağışıklığın önemli bir üyesidir. Ancak SARS-CoV-2 tarafından aktive edilen IL-1, sitokin fırtınasını tetikleyebilen proinflatuar bir kompleks olan IL-6 ve TNF'nin salgılanmasını uyararak olumsuz pulmoner ve sistemik etkilere yol açabilmektedir (Conti ve ark., 2020).

SARS-CoV-2 enfeksiyonu sırasında nötrofil kemotaksisinde görevli CXCL2 ve CXCL8 indüklendiği için, nötrofillerin de COVID-19 patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir (Blanco-Melo ve ark., 2020). Nötrofili, kötü prognozun bir göstergesidir ve nötrofil/lenfosit oranı, ciddi hastalık ve ölüm için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Liu ve ark., 2020; Henry ve ark., 2020). Nötrofillerin, NETosis olarak bilinen bir süreçte doğrudan doku infiltrasyonu ve nötrofil hücre dışı tuzakların (NET) oluşumu yoluyla organ yaralanmasını ve koagülopatiyeye yol açarak COVID-19'a karşı gelişen

inflatuar yanıtta önemli bir rolü olabileceği öne sürülmüştür (Zuo ve ark., 2020, Middleton ve ark., 2020).

Antikor yanıt dinamikleri: SARS-CoV-2 insan patojenleri arasında yeni tanımlanmış bir etken olduğu için S glikoproteinine yönelik gelişen spesifik antikorlar, enfeksiyonun erken evresinde, yani adaptif bir bağışıklık tepkisi oluşmadan önce saptanamamaktadır (Okba ve ark., 2019). IgM antikor yanıtı 8. ve 12. günler arasında ortaya çıkmakta ve 12. haftadan sonra ortadan kaybolmaktadır. Bu durumun aksine IgG yanıtı ise 14. günden sonra ortaya çıkmakta ve uzun süre devam etmektedir. IgG yanıtının düzeyi hem viral yük hem de hastalık şiddeti ile ilişkilidir (Guo ve ark., 2020; Zhao ve ark., 2020). IgG yanıtının sağladığı korumanın derecesi ve süresi henüz belirlenememiş olmasına rağmen hafif hastalık geçirmiş kişilerde SARS-CoV-2'ye karşı hümorale bağışıklığın uzun sürmeyebileceğine dair endişeler bulunmaktadır (Ibarrondo ve ark., 2020). Ayrıca antikorların SARS-CoV-2'ye karşı bağışıklık yanıtında kritik bir role sahip olmadığı öne sürülmektedir. Primer agamaglobulinemisi olan hastalar ile yaygın değişken immün yetmezliği olan hastalar karşılaştırılmış, primer agamaglobulinemisi olan hastalarda gelişen pnömoniye rağmen hastalık daha hafif seyrederken, yaygın değişken immün yetmezliği olan hastalarda hastalığın daha şiddetli formlarının geliştiği tespit edilmiştir (Ibarrondo ve ark., 2020; Quintive ark., 2020).

COVID-19'lu hastaların dolaşımdaki B hücresi alt tiplerinde de değişiklikler gösterilmiştir. Şiddetli COVID-19'lu hastalarda, metabolik olarak hiperaktif plazmablastlarda bir artış ve bellek B hücrelerinde nispi bir azalma olduğu gösterilmiştir. Bu değişikliklerin inflamasyonun şiddeti ile çakıştığı ve iyileşme ile ortadan kaybolduğu bulunmuştur (Kuri-Cervantes ve ark., 2020).

COVID-19'lu hastalarda SARS-CoV-2'ye özgü T hücre yanıtının çoğunu CD8⁺ T hücreleri oluşturmaktadır. Akut dönemde SARS-CoV-2'ye özgü T hücreleri, oldukça aktif bir sitotoksik fenotip sergilerken, iyileşme dönemindeki T hücreleri çok işlevli olup hafıza fenotipi göstermektedir (Grifoni ve ark., 2020).

2.6. COVID-19'un İmmünopatolojisi

SARS-CoV-2'nin neden olduğu akciğer hastalığının patofizyolojisinin, SARS-CoV-1 ve MERS-CoV'de de olduğu gibi agresif inflamatuvar yanıtla bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Tip II pnömositler ve kapiller endotel hücrelerinde meydana gelen hasar neticesinde bozulmuş pulmoner gaz değişimi (hipoksemi) ve alveolar boşluklara plazma eksüdasyonu meydana gelmektedir. Histopatolojik çalışmalar, hiyalin membranların oluşumu, hava boşluklarının mononükleer ve makrofajlar tarafından infiltrasyonu ve alveolar duvarların yaygın kalınlaşması ile yaygın alveolar hasarı doğrulamaktadır (Xu ve ark., 2020).

COVID-19'daki hastalık şiddeti, yalnızca viral enfeksiyonla değil, aynı zamanda konakçıdaki anormal immün ve inflamatuvar yanıtlarla da modüle edilmektedir. Doğal bağışıklık sistemindeki bir dengesizlik, viral çoğalma ve bağışıklık düzensizliği için tetikleyici faktörlerden biri olabilmekte ve edinilmiş bağışıklık yanıtının bileşenleri bu düzensizliğin genişlemesine ve sürdürülmesine katkıda bulunabilmektedir (Mehta ve ark., 2020).

SARS-CoV dahil olmak üzere bazı virüsler sitopatiktir, yani piroptoz yoluyla enfekte dokularda hücre hasarına ve ölüme neden olmaktadır. Son zamanlarda, SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan hastalarda piroptoz sırasında salınan karakteristik proinflamatuvar sitokinlerden biri olan IL-1 β düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Solunum epitel hücrelerinin parçalanmasıyla salınan bileşenler alveolar makrofajların PRR'leri tarafından DAMP (damage-associated molecular patterns=hasarla ilişkili moleküler modeller) olarak tespit edilerek alveolar makrofajları aktive etmektedir. Bununla birlikte, bazı hastalarda, yüksek viral yük (Shi ve ark., 2020) ve/veya bireysel immünojenetik risk faktörleri nedeniyle, işlevsiz bir bağışıklık yanıtı gerçekleşerek sitokinlerin aşırı üretimi (sitokin fırtınası) (Mehta ve ark., 2020) veya makrofaj aktivasyon sendromu (MAS)'na neden olabilmektedir (Shoenfeld, 2020).

Yoğun bakımdaki COVID-19 hastalarında çeşitli sitokinlerin plazma seviyelerinin fazlaca yüksek olduğu tespit edilmiştir. Dolaşımdaki IL-6 seviyeleri, bu hastalarda prognozla ilişkilendirilmiştir. COVID-19'a bağlı solunum yetmezliği olan hastaların bronkoalveolar lavaj örnekleri incelendiğinde T hücre ve monosit bakımından oldukça zengin olduğu görülmüştür. Bu durum SARS-CoV-2'nin alveolar makrofajları enfekte ettiğini ve bunun da T hücre kemoatraktanları üreterek yanıt verdiği sonucunu ortaya

çıkarmıştır. Böylece T hücreleri, alveolar makrofajlardan inflamatuvar sitokinlerin salınımını indüklemek için IFN- γ üretmekte ve kalıcı alveolar inflamasyon oluşmaktadır. Hiperinflamatuvar yanıt neticesinde sitokin fırtınası olarak adlandırılan durum meydana gelmektedir ve bu durum özellikle IL-1/TNF/IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerinin yükselerek yol açtığı miyokardiyal hasar, hipotansiyon ve şok ile sonuçlanabilen ‘viral sepsis sendromu’ olarak adlandırılan çoklu organ yetmezliği ile ilişkili bulunmuştur (Boechat ve ark., 2021).

Kompleman sistemi fagositik hücrelerin enfeksiyon alanına toplanması, opsonizasyon gibi fonksiyonları ile konak immün yanıtında merkezi bir role sahiptir. Ancak kompleman sisteminin sürekli olarak aktive olması kontrolsüz inflamasyona ve akut akciğer hastalığına yol açmaktadır. Ciddi COVID-19 sonucu ölen hastaların akciğer biyopsi örneklerinde C3a birikimi ve artmış serum C5a seviyeleri gözlenmiştir (Gao ve ark., 2020; Sun ve ark., 2012).

Normal fizyolojik koşullarda sağlıklı endotel hücre yüzeyi trombojenik olmayan bir yüzey görevi görmektedir. COVID-19 hastalarından post-mortem alınan akciğer dokusunun histopatolojik incelemesinde tromboz ve mikrovasküler oklüzyon belirtileri tespit edilmiştir (Titan ve ark., 2020). Endotel hasarının göstergesi olan yüksek D-dimer seviyeleri COVID-19’da kötü prognoz ile ilişkili biyolojik belirteçlerdendir (Graziani ve ark., 2020). Endotel hücrelerinin SARS-CoV-2 tarafından enfeksiyonu, inflamatuvar hücrelerin birikmesine ve sonunda endotelial ve inflamatuvar hücre ölümüne yol açmaktadır. SARS-CoV-2’nin neden olduğu endotelit ayrıca endotel hücrelerinden büyük miktarlarda von Willebrand faktör (vWF) salınımına neden olmaktadır. Plazmada, megakaryositlerde ve subendotelial bağ dokusunda bulunan bir glikoprotein olan vWF’ün; trombositlerin subendotelial bağ dokusuna yapışmasına aracılık ettiği ve faktör VIII’e bağlandığı bilinmektedir. Yüksek vWF seviyelerinin endotel hasarını veya işlev bozukluğunu yansıttığı, trombositlerin agregasyonunu arttırdığı ve pıhtılaşma kaskadını aktive ettiği bilinmektedir (Sastry ve ark., 2022). Ayrıca mononükleer hücreler, proinflamatuvar sitokinlere yanıt olarak CD142 ekspres eder ve CD142’nin protrombinin trombine dönüşümünü desteklediği bilinmektedir (Merad ve ark., 2020). SARS-CoV-2 hastalarında meydana gelen oksidatif patlama ve renin-angiotensin sistemi (RAS) aktivasyonu ile artmış oksijen radikalleri nitrik oksit (NO) düzeylerini azaltmaktadır. NO düzeyindeki azalma ve proinflamatuvar sitokin seviyelerindeki artma trombosit agregasyonu, lökosit adezyonu ve trombolizin uyarılması ile sonuçlanmaktadır. Tüm bu olayların sonucunda gelişen endotel disfonksiyonu, aşırı trombin

üretimi ve fibrinolizisin duraksaması hiperkoagülitelye yol açmaktadır (Yılmaz ve Özdemir, 2022).

Şiddetli COVID-19 semptomları olan hastalarda spesifik IgA, IgM ve IgG seviyelerinin daha yüksek olduğu ve bu antikorların daha erken ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Bu durum yüksek viral yük ile açıklanabilse de, adaptif immün yanıtın pnömoninin patogenezi ve şiddetine katkıda bulunabileceği de öne sürülmektedir (Padoan ve ark., 2020). İlgili varsayımın mekanizması patojenik immün komplekslerin (IC) oluşumu ile açıklanmaya çalışılmaktadır. COVID-19 seyri sırasında oluşan lokal IC'ler inflamasyon ve mikrotromboza neden olabilen spesifik IgA antikorlarının gelişimine; IgM ve IgG IC'leri kompleman aktivasyonu yoluyla inflamasyona ve intravasküler pıhtılaşmaya, virüs-antikor IC'leri alveolar makrofajların Fc reseptörlerine bağlanması ve makrofajların CXCL8 (IL-8) ve CCL2 (MCP-1= monosit kemotaktik protein-1) üretmelerine neden olarak lokal inflamasyona katkıda bulunmaktadır. Diğer virüslerde de gözlemlenen bir başka ilgi çekici durum belirli SARS-CoV-2 dizilerinin konağınkilere benzerlik göstermesi ve immünolojik çapraz reaktiviteye yol açarak otoimmün yanıtı neden olabilmesidir (Boechat ve ark., 2021).

COVID-19'lu hastaların periferik kan toplam lenfosit sayısı, CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit, B lenfosit ve NK hücre sayıları çarpıcı biçimde azalmıştır. Hatta hastalığı hafif geçiren hastalarla karşılaştırıldığında hastalığı ağır geçiren hastaların CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfosit sayıları daha da düşük bulunmuştur (Mavi ve İnkaya, 2020). COVID-19 hastalarında nötrofiller Th1 yanıtını baskımlarken, Th17 yanıtını indükleyerek SARS-CoV-2'ye karşı gelişen bağışıklık yanıtının düzensizliğine katkıda bulunmaktadır. Th17 hücreleri tarafından üretilen IL-17, monositlerin / makrofajların, dendritik hücrelerin ve nötrofillerin aktivasyonuna aracılık etmektedir ve bu hücrelerden IL-1, IL-6, IL-8, IL-21, TNF- α ve MCP-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırarak sitokin fırtınasına katkıda bulunmaktadır (Hotez ve ark., 2020).

2.7. COVID-19'da Klinik

SARS-CoV-2 enfeksiyonunun klinik bulgularının spektrumu, asemptomatik enfeksiyondan COVID-19'un yaşamı tehdit eden komplikasyonlarına kadar değişebilmektedir. Semptomatik vakaların çoğunda COVID-19 belirti ve bulguları, diğer solunum yolu virüslerinininkilerle benzer şekilde hafif ile orta derecede bir üst solunum yolu hastalığı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, herhangi bir bireysel belirti veya semptomun tanısallığı oldukça zayıftır ve herhangi bir belirti veya semptomun varlığı

veya yokluğu COVID-19'a tanı koymak ya da COVID-19'u ekarte etmek için kullanılamaz (Ortiz-Prado ve ark., 2020).

En yaygın belirti ve semptomların; öksürük, boğaz ağrısı, ateş, kas-iskelet sistemi semptomları (artralji veya miyalji gibi), yorgunluk ve baş ağrısı olduğu tespit edilmiştir. Ancak semptomların hastalar arasındaki yüksek değişkenliği halen kafa karıştırıcı bir faktör olarak dikkat çekmektedir (Struyf ve ark., 2020). Daha nadir olmak üzere koku kaybı veya tat değişiklikleri, nörolojik veya kutanöz belirtiler de gözlenmektedir (Safiabadi Tali ve ark., 2021). Bazı COVID-19 vakalarında hastalık alt solunum yolu hastalığına ilerleyerek hastaneye yatış, yoğun bakım ünitesi (YBÜ) desteği ve mekanik ventilasyon gerekebilmektedir ve bu durumlarda akut solunum sıkıntısı, çoklu organ disfonksiyonu ve ölüm gibi komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Genel olarak olumsuz sonuçlar ve ölüm oranları yaş ve komorbid durumların varlığı ile artmaktadır (Li ve ark., 2020). Çalışmalar ve ülkeler arasında oransal farklılıklar olsa da genel olarak hastanede tedavi gören hastaların ölüm oranları daha yüksek bulunmuştur (Singhal, 2020).

Genel olarak, semptomların hiçbiri COVID-19 için spesifik değildir ve tanıyı doğrulamak için laboratuvar testlerinin gerekliliği devam etmektedir.

Klinik Sınıflama; Hastalar belirti ve bulgularına göre hafif, orta, şiddetli ve kritik olmak üzere 4 sınıfta toplanmaktadır.

Hafif hastalık; semptomlar ılımlı olup pnömoni bulgusu, görüntülemelerde patolojik değişiklik bulunmamaktadır.

Orta hastalık; ateş ve üst solunum yolu enfeksiyon bulguları olabildiği durumları kapsamaktadır.

Şiddetli hastalık takipne (solunum sayısı \geq 30/dk), hipoksi (oda havasında SaO₂ \leq %93), akciğer görüntülemesinde akciğerlerin %50'sinden fazlasının etkilendiği hastalar bu sınıfa dahil edilmektedir.

Kritik hastalık; şok tablosu, mekanik ventilasyon gerektirecek kadar ciddi solunum yetmezliği, çoklu organ yetmezliği gibi yoğun bakım takibi gerektirecek durumları kapsamaktadır (Cai ve ark., 2020).

2.8. Tanıda Kullanılan Mikrobiyolojik Yöntemler

COVID-19'un semptom ve bulgularının, üst solunum yolu enfeksiyon bulguları ve pnömoni ile seyreden diğer viral enfeksiyonlardan ayırt edici nitelikte olmaması, hastalar arasında klinik seyir asemptomatikten ARDS gibi ağır tablolara kadar değişkenlik göstermesi ayrıca halen hastalığın etkin bir tedavisinin bulunmaması nedeniyle, tanı testleri pandeminin kontrolünde kilit rol oynamaktadır. COVID-19 tanı testleri uygun zamanda ve doğru uygulandığında, ayrıca virüsü bulaştırma potansiyeli olan asemptomatik vakaları da tespit edebilmesi nedeniyle salgının yönetiminin önemli bir parçası konumundadır (Tekol, 2020).

Viral enfeksiyonların mikrobiyolojik tanısında klasik olarak; viral kültür, serolojik ve moleküler testler kullanılmaktadır. SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tanısında DSÖ ilk basamak tanı aracı olarak nükleik asit amplifikasyon testlerini önermektedir (WHO, 2020).

2.8.1. Moleküler Testler

SARS-CoV-2'yi saptamak için standart bir referans test halen bulunmamakla birlikte, real time revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) gibi nükleik asit amplifikasyon testleri SARS-CoV-2 tanı testi için tercih edilen yöntemlerdir. SARS-CoV-2 genomunun dizilenmesinin ardından SARS-CoV-2 tanısı için hızlıca pek çok test geliştirilmiş ve DSÖ, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration=FDA), Avrupa Üniversiteler Birliği (European University Association = EUA) gibi kuruluşlar tarafından acil kullanım onayı almıştır (Safiabadi ve ark., 2021).

RT-PCR; hücrelerden izole edilen RNA moleküllerinin revers transkriptaz enzimi yardımıyla komplementer DNA (cDNA) sentezini gerçekleştirmesi sonucu, gen ekspresyonu analizlerinin yapılabildiği hızlı ve hassas bir yöntemdir. Bu teknik iki aşamadan oluşmaktadır; retrovirüslerden izole edilen ters transkriptaz enzimi ile RNA'nın komplementer DNA'ya (cDNA) çevrilmesi ve elde edilen cDNA'ların gen spesifik primerler ile floresanla işaretli hidroliz problemlerini kullanan polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmasıdır. Her döngü farklı sıcaklıklardan oluşan 3 bölüm (denatürasyon, annealing = birleşme, extension = uzama) içermektedir. Bu tekrarlayan döngüler sonucunda DNA kopya sayısı artırılmaktadır. Genomun sadece seçilen bölgesinin amplifikasyonunu gerçekleştirmek için gen spesifik primerler kullanılmaktadır. Amplifiye olmuş gen bölgesine floresan sinyalleri yollayan problemler ile ölçülebilir bir reaksiyon sistemi oluşturulmaktadır. Bu

yöntemle düşük seviyelerde gen transkriptlerinin saptanmasının yolu açılmış olup dünya genelinde bulaşıcı hastalıkların tanısında hızla yaygınlaşmıştır. Virüs kültürü ve izolasyonu, biyogüvenlik riski nedeniyle önerilememektedir, SARS-CoV-2 tanısı için altın standart yöntem RT-PCR'dir (Nolan ve ark., 2006).

RT-PCR'nin performansı, numune türü, numune toplama zamanı, viral RNA'nın kalitesi -miktarı, tasarlanan primerler ve bunların viral RNA hedefi, kullanılan reaktifler gibi bir dizi faktörlere bağlı olmakla birlikte tipik olarak, RT-PCR testleri, SARS-CoV-2 için yüksek hassasiyet ve özgüllük göstermektedir (Hellou ve ark., 2021). SARS-CoV-2 tespitinde RT-PCR için E, N, S ve ORF1ab'yi kodlayan gen bölgeleri hedef olarak kullanılmaktadır (Safiabadi ve ark., 2021). Bu amaçla üst solunum yolundan (nazofarenks ve/veya orofarenks) alınan sürüntü örneklerinin yanı sıra yaygın olarak bronkoalveolar lavaj (BAL) ve balgam gibi alt solunum yolu örnekleri de kullanılmaktadır. Orofarenks örnekleri ile karşılaştırıldığında nazofarenks örneklerinin daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Viral yükün üst solunum yolu örneklerinde ilk hafta sonunda, pnömoni gelişen hastalarda ise alt solunum yolu örneklerinde üç ve dördüncü haftaların sonunda pik yaptığı tespit edilmiştir. SARS-CoV-2 RNA'sı dışkı, idrar ve kan örneklerinden de izole edilmesine rağmen duyarlılıkları düşük olduğu için tanıda kullanımları önerilmemektedir (Tekol, 2020). Her ne kadar SARS-CoV-2 tanısında en güvenilir yöntem olmasına rağmen, RT-PCR'in pahalı olması, güvenlik önlemleri ve özel ekipmanlar gerektirmesi, sonuçlanmasının uzun sürmesi gibi dezavantajları mevcuttur. Bu sebeple RT-PCR tabanlı moleküler testlerin spike, zarf veya nükleokapsid gibi viral belirteçleri hedefleyen antijen testleri ile desteklenmesi önerilmektedir (Yüce ve ark., 2021).

2.8.2. Antijen Saptayan Testler

SARS-CoV-2 antijen tespiti için hızlı tanı testlerinin keşfi testlere ulaşılabilirliği artırmıştır. Hızlı antijen testi, lateral flow testi prensibi ile viral antijenlerin hızlı tespitine olanak sağlamaktadır. Bu yöntemde, örnek nirtoselüloz membran boyunca ilerler ve antikorlarla kaplanmış reaksiyon pedine ulaştığında antikorlar tarafından immobilizasyon uğratılarak oluşan renk değişikliği gözlemlenir. COVID-19'un tespiti için uygun bir testin seçilmesi, salgının hızlı kontrolü için oldukça önemlidir. Virüsün erken tespiti, enfeksiyonların hızla ortadan kaldırılmasını olanak sağlamaktadır. Yine bu yöntemle enfeksiyona karşı gelişen antikorlar da tespit edilebilmektedir. Toplanması için kişisel koruyucu ekipman ve kalifiye sağlık uzmanı gerektiren nazofaringeal sürüntü örnekleri

yerine tükürük veya burun sürüntüsü gibi kendi kendine toplanabilen örneklerin kullanılması antijen saptayan hızlı testler için avantaj oluşturmaktadır (Ulinici ve ark., 2021). Ancak diğer koronavirüsler ve çeşitli bakterilerle çapraz reaksiyon vermesi klinik şüphenin devam ettiği negatif sonuç alınan hastalarda RT-PCR testi ile doğrulanması gerekliliği gibi kısıtlılıkları da bulunmaktadır (Tekol, 2020).

2.8.3. Antikor Saptayan Testler

Çeşitli SARS-CoV-2 antijenlerine özgü IgM, IgG ve IgA tipi antikorları kan veya plazmada tespit edebilen testler geliştirilmiştir. Enfeksiyonda ilk üretilen antikorlar IgM tipinde olmasına rağmen en çok ve en sık saptanan antikor tipi IgG'dir. Dolayısı ile bu testlerin özellikle COVID-19'un geç evresinde test edilen hastaların tanısında veya moleküler tahlillerle tanımlanmayan hafif/orta şiddette hastalığı olan hastalarda şüpheli vakaların doğrulanmasında yardımcı olabileceği düşünülmektedir (Sethuraman ve ark., 2020). Yaygın kullanılan serolojik testler; enzim linked immünosorbent assay (ELISA), nötralizasyon testi, hızlı tanı testleri ve kemilüminesans immünoassay testleridir. Nötralizasyon testinde, Vero E6 hücre kültüründe SARS-CoV-2'nin replikasyonunu inhibe etme yeteneğine sahip immünoglobulinler tespit edilmektedir. ELISA testleri rekombinant viral antijen ile kaplı kuyucuklara hasta serumları ilave edilerek hedef antikorların tespit edilmesi prensibine dayanmaktadır. Kemilüminesans immünoassay yönteminde antijen-antikor kompleksine bağlanan antikorlar aracılığıyla kemilüminesans aktivitesi oluşturularak hastanın kanında bulunan antikorların tespit edilmesi hedeflenmektedir (Rasool ve ark., 2022).

Literatür verileri, serokonversiyonun semptomların başlamasından 7-14 gün sonra meydana geldiğini göstermektedir (Yongchen ve ark., 2020). Geleneksel olarak ilk IgM'nin, ardından sıklıkla IgA'nın ortaya çıkması ve en son IgG'nin üretiminin olması beklenmektedir ancak SARS ilişkili koronavirüslerde bu sıralama değişebilmektedir (Li ve ark., 2003).

SARS-CoV-1 ve SARS-CoV-2 arasındaki genetik benzerlik oranının yüksek olmasından (%80) dolayı serolojik testler ile ilgili en endişe verici durum çapraz reaktivite nedeniyle gelişen yalancı pozitif sonuçlardır (Kim ve ark., 2020). Çoğu hastada SARS-CoV-2'ye karşı gelişen antikorlar ortalama 2 hafta sonra tespit edilebilir düzeylere ulaşmaktadır. Bu durum yalancı negatif sonuçlara yol açabilmektedir. Dolayısı ile test sonucunun negatif olması hastanın enfekte olmadığı anlamını taşımamaktadır. Diğer yandan viral yükün düşük

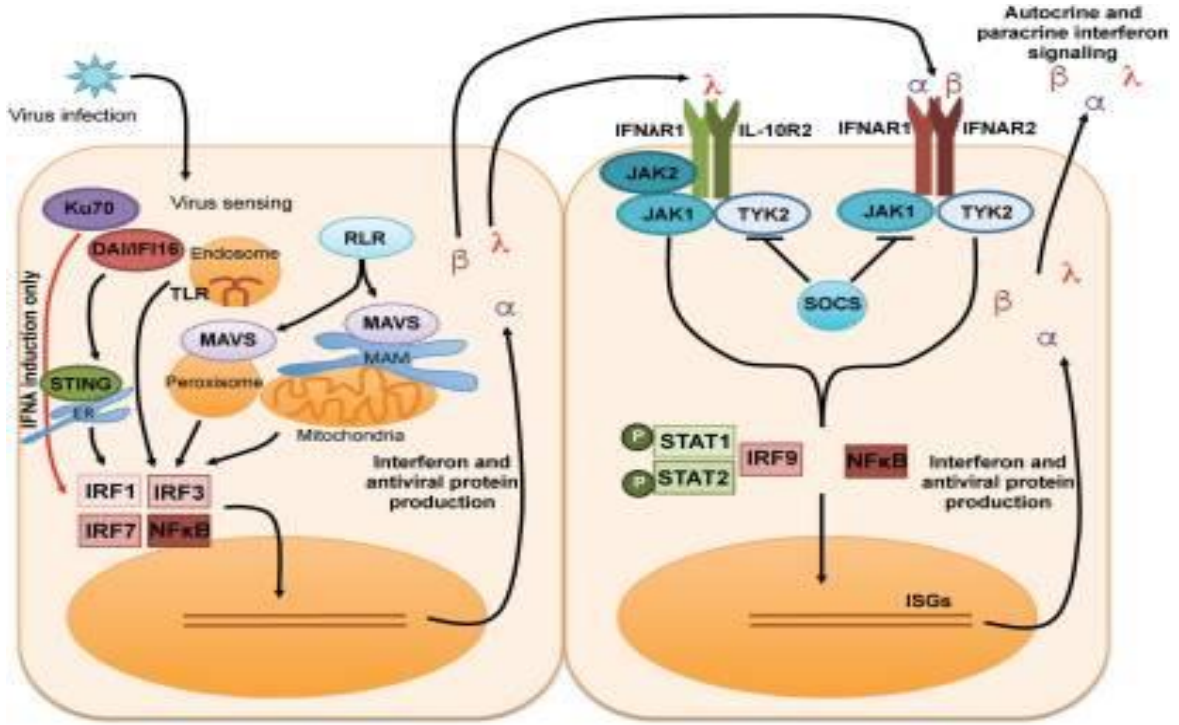
olması, virüsün alt solunum yollarına inmesi gibi nedenlerle RT-PCR'ın negatif olduğu durumlarda, geriye dönük yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, aşı çalışmalarında serolojik testlerin faydalı olacağı düşünülmektedir (Rasool ve ark., 2022).

2.9. Tip III İnterferonlar

IFN λ 'lar olarak da bilinen Tip III interferonlar, 2003 yılında keşfedilen IFN ailesinin en genç üyeleridir. Her ne kadar Tip I interferonlara işlevsel olarak benzerlik gösterebilir de farklı fonksiyonlara sahip oldukları bilinmektedir. Tip I IFN'lerin reseptörleri tüm hücrelerde eksprese edilebilirken, Tip III IFN'ler gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve kan-beyin bariyerinde işlev görmektedir. Tip III IFN'ler yapısal olarak IL-10 ailesinin üyelerine benzemektedirler. IFN λ geninde meydana gelen tek nükleotid polimorfizmleri ile viral enfeksiyonların sonuçları arasındaki güçlü ilişkiler Tip III IFN'lerin antiviral mekanizmalardaki işlevlerinin kanıtı olma niteliğindedir (Hemann ve ark., 2017).

IFN λ ailesi üyeleri başlangıçta IL-28 ve IL-29 olarak adlandırılmış ve ortak IL-10 reseptör alt birimi 2 (IL-10R2) aracılığıyla sinyal verdikleri için IL-10 ailesi genleri içine dahil edilmişlerdir (Sheppard ve ark., 2003). İnsanlarda *IFNL1* (IL29'u kodlar), *IFNL2* (IL28A'yı kodlar), *IFNL3* (IL28B'yi kodlar) ve *IFNL4* olmak üzere dört *IFNL* geni vardır. *IFNL* genleri 19. kromozom üzerinde yer almaktadır ve *IFNL1* ile *IFNL2* %81, *IFNL2* ile *IFNL3* %96 homoloji gösterirken. *IFNL4* diğer *IFNL* genleriyle yalnızca ~%28 benzerlik göstermektedir.

IFN λ , IFN λ R1 ve IL-10R2'den oluşan heterodimerik reseptör aracılığıyla fonksiyon göstermektedir. IL-10R2, IL-10 sitokin ailesinin üyeleri tarafından kullanılan bir reseptör alt birimidir. Buna karşılık, IFN λ R1'in ekspresyonu epitel hücreleri, miyeloid hücreleri ve nöronal hücreler olmak üzere daha sınırlıdır. IFN'lerin reseptörleri ile etkileşimi, JAK-STAT sinyal yolağının aktivasyonunu başlatır. JAK1, tirozin kinaz 2 (TYK2) ve JAK2 fosforilasyon sonucu aktive olur. Daha sonra IRF9 ile ilişkilendirilen STAT1 ve STAT2'nin fosforilasyonuna ve aktivasyonuna yol açar. STAT1, STAT2 ve IRF9 kompleksi, interferonla uyarılan gen faktörü 3 (ISGF3) transkripsiyonel kompleksi olarak adlandırılır. Aktive edilmiş ISGF3 çekirdeğe hareket ederek ve geniş bir interferonla uyarılan gen (ISG) dizisinin transkripsiyonunu başlatır (Liu B. ve ark., 2015). (Şekil 2.4.)



Şekil 2.4. Tip I ve tip III IFN'lerin reseptör etkileşimleri ve sinyal yolları (Hemann E. A. ve ark., 2017).

2.9.1. Tip III IFN'lerin Antiviral Etkileri

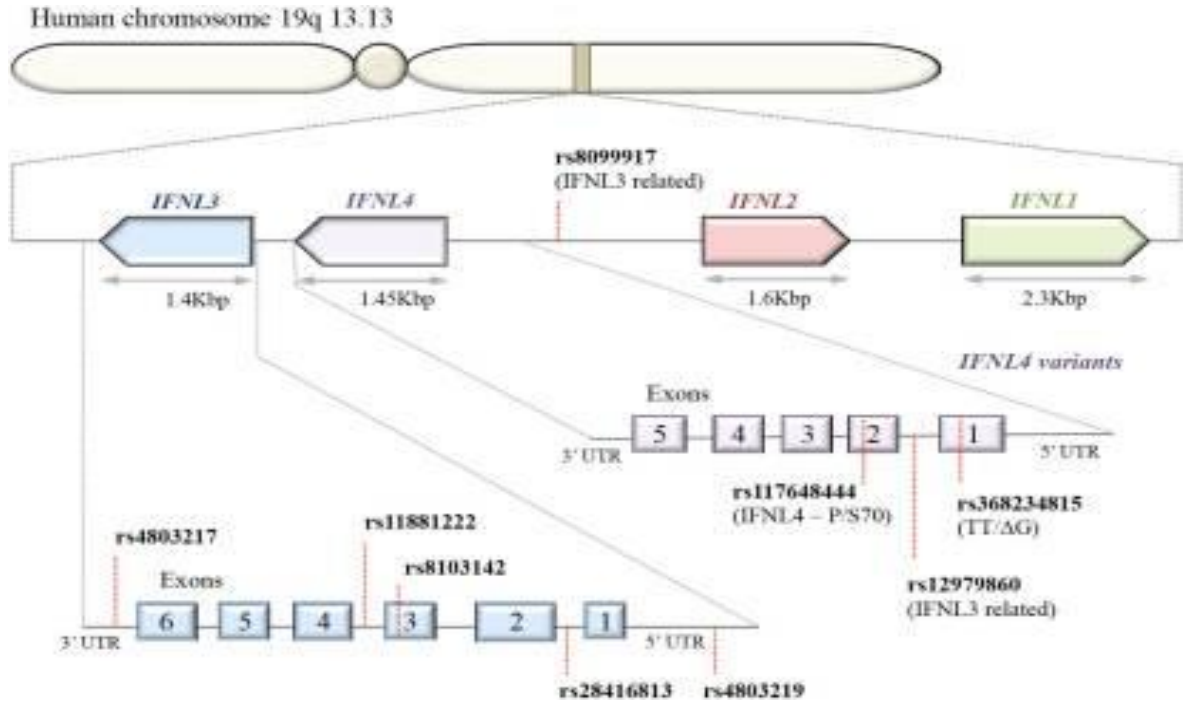
IFN λ antiviral fonksiyonlarına ilişkin çalışmaların çoğu, karaciğeri, solunum sistemini ve gastrointestinal mukozayı enfekte eden virüsler ile kan-beyin bariyerini geçerek nöroinvasiv viral enfeksiyona neden olan HCV, HBV, influenza virüsü, rinovirüs, respiratuar sinsityal virüs (RSV), lenfositik koriomeningit virüsü (LCMV), rotavirüs, reovirüs, norovirüs ve Batı Nil virüsü gibi virüslere odaklanmıştır. Fareler üzerinde yapılan invivo deneyler influenza A virüsü, SARS koronavirüs, RSV ve insan metapnömovirüs enfeksiyonlarının yanı sıra gastrointestinal sistemdeki norovirüs, reovirüs ve rotavirüs enfeksiyonlarının kontrolünde IFN λ sinyalinin önemini vurgulamıştır (Pott J. ve ark., 2011).

IFN λ tarafından indüklenen ISG yanıtının IFN α/β ile karşılaştırıldığında daha az olması, IFN λ 'nın IFN α/β 'ya kıyasla çok daha az inflamatuvar olduğunu göstermektedir. Ancak IFN λ tip I IFN'lera göre daha az inflamatuvar yanıt oluşturmaya rağmen antiviral etkilerini korumaktadır. Bununla birlikte, terapötik olarak IFN λ 'nın potansiyel antiviral etkileri ve daha az inflamatuvar fonksiyonlarından dolayı hepatik viral enfeksiyonların tedavisinde faydalı olabileceği düşünülmektedir (Hemann ve ark., 2017). IFN λ tedavisinin solunum yolu viral enfeksiyonlarını kontrol altına almak için de kullanılabileceği düşünülmektedir. Fareler üzerinde yapılan birkaç deneysel çalışma, farelerin IFN λ 2 veya

IFN λ 3 ile profilaktik ve terapötik tedavisinin, IFN α veya IFN β tedavisine benzer şekilde influenza A virüs titrelerini kontrol etmede etkili olduğunu göstermiştir (Kim ve ark., 2017).

2.9.2. Antiviral Etkinlik ve SNP İlişkisi

IFN- λ ligand ve reseptör genlerinde, önemli klinik fenotipler ile ilişkilendirilen bir dizi tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlanmıştır. IFN- λ genleri, 19. kromozom üzerinde yer almaktadır. IFN- λ genlerinin kodlanan ve kodlanmayan bölgelerindeki pek çok SNP bulunmaktadır (Syedbasha ve Egli, 2017) (Şekil 4).



Şekil 2.5. İnsan genomunda IFNL genlerinin organizasyonu (Syedbasha ve Egli, 2017)

IFN- λ ligandlarının ekspresyonu, hem transkripsiyon faktörü bağlama bölgelerindeki hem de promotör bölgenin metilasyon alanındaki ve ayrıca çerçeve kayması mutasyonlarına yol açan SNP'ler tarafından düzenlenmektedir. IFNL3/4 lokusunda SNP'lerin klinik etkisi, kronik hepatit C hastalarında IFN- α tedavisine yanıt ile ilişkilendirilmiştir (Rauch ve ark., 2010).

Birçok çalışma, SNP rs12979860 CT/TT ve rs8099917 TG/GG mikroallerlerin kronik HCV enfeksiyonu sırasında azalmış IFNL3 ekspresyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir, ayrıca bu SNP'lerin daha düşük CMV replikasyon insidansı ve influenza aşılara daha güçlü yanıtla da ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Syedbasha ve Egli, 2017).

SNP rs8099917'nin TG/GG alelini taşıyan bireylerde, influenza virüs enfeksiyonları sırasında mononükleer hücrelerden anlamlı ölçüde düşük seviyelerde IFN- α , IL-2 ve IL-6 salgılandığı gösterilmiştir. Bir influenza aşısı kohort çalışmasında, rs8099917 TG/GG minör aleline sahip aşı alıcılarında hümmoral bağışıklık yanıtlarının önemli ölçüde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Egli ve ark., 2014). Benzer şekilde, kızamığa karşı aşılanmış çocuklarda yapılan bir kohort çalışmasında, aşı sonrası antikor titreleri, rs10853727 SNP AG ve GG minör aleline sahip olan grupta önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (Haralambieva ve ark., 2011). Her iki SNP, IFNL3 promotör bölgesi içinde yer almaktadır ve daha düşük IFNL3 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (Egli ve ark., 2014, Aralambieva ve ark., 2011).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışmaya Kasım 2020 ile Şubat 2021 tarihleri arasında Meram Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran ve alınan nasofarengial sürüntü örneklerinden çalışılan SARS-CoV-2 RT-PCR sonucu pozitif olarak tespit edilen 200 yetişkin hasta dahil edildi. Hastaların klinik sınıflaması literatüre uygun bir şekilde; semptomlarına, görüntüleme bulgularına, solunum sayısı ve oksijen saturasyon değerlerine, mekanik ventilasyon desteğine, yoğun bakım takibi gerektiren durumlara göre yapıldı. Pandemi başlangıcından Şubat 2021 tarihine kadar SARS-CoV-2 semptomları bulunmayan ve RT-PCR sonuçları negatif olan, Meram Tıp Fakültesi Hastanesine farklı nedenlerle başvurmuş 99 yetişkin ise kontrol grubu olarak seçildi.

Klinik sınıflandırma:

Hafif hastalarda; semptomlar hafif, görüntüleme bulgusu yoktur.

Orta hastalarda; ateş ve boğaz ağrısı, öksürük gibi solunum yolu enfeksiyonu semptomları ile görüntülemelerde pnömoni bulguları tespit edilebilir.

Şiddetli hastalarda takipne, oksijen saturasyon değerinde düşüklük (≤ 93) veya $PaO_2 / FiO_2 \leq 300$ mmHg veya akciğer görüntülemelerinde 24-48 saat içerisinde lezyonlarda hızla ilerleme vardır.

Kritik hastalarda; şok tablosu, yoğun bakım takibi gerektiren diğer organ yetmezlikleri, mekanik ventilasyon ihtiyacı olabilir (Cai H ve ark., 2020).

3.2. Araç ve Gereçler

3.2.1. Kimyasal Madde ve Çözücüler

- Mutlak etil alkol (Reidel-Haen, Almanya)
- 2-propandiol (Merck, Almanya)
- Bidistile su

3.2.2. Alet ve Gereçler

- Santrifüj (Sigma k-15-1, Almanya)

- Etüv (Nüve EN 500, Türkiye)
- -20 °C Derin dondurucu (Uğur Derin Dondurucu, Türkiye)
- -80 °C Derin dondurucu (Jouan, Danimarka)
- +4 °C Soğutucu (Bosch, Almanya)
- 1, 5 ml'lik kapaklı ependorf tüp (Isolab, Almanya)
- Otomatik ayarlanabilir pipetler (Eppendorf, Almanya)
- Gerçek zamanlı PCR cihazı (LightCycler96, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)
- Distile su cihazı (Milli pore, Fransa)

3.2.3. Kullanılan Kitler

- High Pure PCR Template Kit (Cat. No. 1 796 828, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)
- TaqMan Universal Master Mix II, no UNG (Lot. No. 00660627, Thermo Fisher Scientific, ABD)

3.3. Kullanılan Ayıraçlar ve Hazırlanması

3.3.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Ayıraçların Hazırlanması

DNA izolasyonu için High Pure PCR Template Kit kullanılmıştır. Kit içeriği Tablo 3.1 ve Resim 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. DNA izolasyonunda kullanılan kit içeriği

Kimyasal	Miktarı	İçeriği
Bağlayıcı tampon	20 ml	6 M guanidin HCl, 10 mM Tris-HCl, %20 Triton X-100 (v/v), pH:4, 4
Proteinaz K	90 mg	Liyofilize preparat
İnhibitör uzaklaştırıcı tampon	53 ml	5 M guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl pH:6, 6
Yıkama tamponu	20 ml	20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH:7, 5
Elüsyon tamponu	40 ml	10 mM Tris, pH:8, 5



Resim 3.1. DNA izolasyonunda kullanılan kit içeriği

Yukarıda belirtilen kit içeriklerinden bağlayıcı tampon ve elüsyon tamponu doğrudan hiçbir işlem yapılmadan kullanılırken, diğer içerikler kit prospektüsünde verilen uygulama talimatına göre aşağıda verilen şekilde hazırlanmıştır.

3.3.2. Kullanılan ayıraçlar

Proteinaz K: Liyofilize proteinaz K (liyofilize halde oda sıcaklığında saklanmıştır) 4,5 ml steril bidistile su ile sulandırılmış ve 500 µL'lik porsiyonlar halinde -20°C'de korunmuştur.

İnhibitör uzaklaştırıcı tampon: 33 mL tampona 20 mL mutlak etil alkol eklenmiştir.

Yıkama tamponu: 20 mL yıkama tamponunun üzerine 80 mL mutlak etil alkol eklenerek hazırlanmıştır.

Ayrıca DNA izolasyon kitinin içerisinde bulunmayan fakat uygulama da gerekli olan 2-propandiol herhangi bir hazırlığa gerek duyulmadan, stok çözeltiden doğrudan kullanılmıştır.

3.4. Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

3.4.1. DNA İzolasyonu

a) **Prensip;** Hücreler, tüm nükleazları hemen inhibe eden bir kaotropik tuz (guanidin HCl) varlığında proteinaz K ile kısa bir inkübasyon sonunda parçalanır. Hücresel nükleik asitler pürifikasyon filtre tüplerinde bulunan özel fiber cam yapıya seçici olarak bağlanır. Bağlı nükleik asitler kontamine edici hücresel elemanlardan hızlı yıkama ve çevirme işlemleri ile arındırılır. Bu işlemin gerçekleşmesinde tablo 3.1’de içeriği verilen inhibitör temizleyici tampon ile yıkama tamponu kullanılmaktadır. Son olarak düşük tuz elüsyonu ile nükleik asitlerin fiber cam yapıdan ayrılmaları sağlanır.

b) Protokol;

- Hasta ve kontrol grubundan etilen diammin tetra asetik asit (EDTA)’li tüplere toplanan kan örneklerinden 200 µL steril bir tüplere (1, 5 mL’lik kapaklı) aktarıldı ve üzerine sırası ile 200 µL bağlayıcı tampon ve 40 µL proteinaz K eklendi. Proteinaz K eklenmesini takiben tüplerin kapakları kapatılarak hemen karıştırıldı.

- Tüpler 10 dakika 72 °C’de inkübe edildi.

- İnkübasyonun ardından 100 µL izopropanol eklendi, iyice karıştırıldı ve karışım filtre tüpüne aktarıldı.

- Bir dakika 8000 rpm’de santrifüj edildi.

- Toplama tüpü değiştirildi ve tüpe 500 µL inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklendi. 1 dakika 8000 rpm’de santrifüj edildi ve toplama tüpü tekrar değiştirildi.

- Ardından tüpe 500 µL yıkama tamponu eklendi ve 1 dakika 8000 rpm’de santrifüj edildi. Toplama tüpü değiştirildi.

- Bu yıkama işlemi bir kez daha tekrar edilerek, toplama tüpü değiştirildi.

- Tüpe herhangi bir çözelti eklenmeden 10 saniye 13.000 rpm’de tekrar santrifüj edildi.

- Son olarak 1,5 mL’lik kapaklı DNA saklama tüplerine filtre tüpleri yerleştirilerek içerisine 72°C’de bekletilen elüsyon tamponundan 200 µL eklenerek 1 dakika 8000 rpm’de santrifüj edildi. Böylece DNA, elüsyon tamponunun yardımı ile 1, 5 mL’lik kapaklı DNA saklama tüplerine geçtiği için DNA eldesi tamamlanmış oldu.

3.4.2. IL28B Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

Rs12979860 ve rs8099917 polimorfizmlerinin belirlenmesi için ‘TaqMan Universal Master Mix II, no UNG (Lot. No. 00660627, Thermo Fisher Scientific, ABD)’ üretici firmanın belirlediği protokoller doğrultusunda kullanılarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Rt-PCR) yapıldı. Rs12979860 ve Rs8099917 analizi için kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları Tablo 3.2’de, polimorfizm analizi için PCR koşulları Tablo 3.3’de, polimorfizm analizi için kullanılan PCR cihazı Resim 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. Polimorfizm analizlerinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları

İçerik	Miktar
Taqman assay master mix	10 µL
Sn primer probe assay	1 µL
Pcr grade su	4 µL
Örnek DNA	5 µL
Toplam Tepkime Hacmi	20 µL

Tablo 3.3. rs12979860 ve rs8099917 polimorfizm analizleri için PCR koşulları

PCR aşamaları		Hedef ısı (°C)	Bekleme süresi	Isı geçiş oranı (°C/sn)	Floresan okuma
Denatürasyon		95	10 dk	4, 4	Yok
Amplifikasyon (45 Döngü)	Denatürasyon	95	10 sn	4, 4	Yok
	Uzama	60	50 sn	2, 2	Tek
Soğuma		37	30 sn	2, 2	Yok



Resim 3.2. Polimorfizm analizinde kullanılan PCR cihazı

Analiz sırasında aşağıdaki basamaklar uygulandı:

1. Tablo 3.3.'de belirtilen içerikler kullanılarak toplamda 15 μ L hacime sahip reaksiyon karışımı hazırlandı.
2. Numaralandırılmış 96'lık mikrotüplerin üzerine 5 μ L DNA örnekleri eklendi.
3. Mikrotüplerin üzerine şeffaf kapaklar kapatıldı.
4. Hazırlanan örnekler gerçek zamanlı PCR cihazına (LightCycler 96, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya) yerleştirildi ve Tablo 3.4.'de belirtilen PCR aşamaları dahilinde PCR çalışması tamamlandı.
5. Rs12979860 SNP için VIC kanalında oluşan pikler homozigot C/C, FAM kanalında oluşan pikler homozigot T/T, her iki kanalda da oluşan pikler heterozigot C/T genotipi olarak değerlendirildi.

6. Rs8099917SNP için VIC kanalında oluşan pikler homozigot G/G, FAM kanalında oluşan pikler homozigot T/T, her iki kanalda da oluşan pikler heterozigot G/T genotipi olarak değerlendirildi.

L28B genindeki rs12979860 ve rs8099917 SNP'lerin primer dizi, alel ve genotip bilgileri Tablo 3.4.'de verildi.

Tablo 3.4. rs12979860 ve rs8099917 SNP'lerin primer dizi, alel ve genotip bilgileri

SNP ID	Dizi	Alel	Genotipler
rs8099917	TTTTGTTTTTCCTTTCTGTGAGCAAT[G/T]TCACCC AAATTGGAACCATGCTGTA	G/T	TT/TG/GG
rs12979860	TGAACCAGGGAGCTCCCCGAAGGCG[C/T]GAA CCAGGGTTGAATTGCACTCCGC	C/T	CC/CT/TT

3.5. İstatistiksel Analiz

Araştırma kapsamında verilerin analizi için SPSS 26 istatistik paket programından yararlanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak $p < 0,05$ olarak belirlendi. Gruplar arasında rs12979860, rs8099917 genotip dağılımlarını değerlendirmek için ki-kare (χ^2) testinden yararlanılmıştır. Grupların yaş dağılımlarına göre kıyaslanması için ise bağımsız örneklem t testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Anova testi sonrası anlamlı çıkan bulgular post-hoc olan bonferroni testi ile değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya Meram Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran COVID-19 tanısı RT-PCR ile doğrulanmış 200 yetişkin alındı. Hastaların yaş dağılımı 19-88 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 56, 6±17,8 yıl (ort.±SD), medyan yaş 58 yıl olarak bulundu. Kontrol grubunun yaş dağılımı 21-84 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 52, 8±16,7 yıl, medyan yaş 53 yıl olarak tespit edildi. Hasta ve kontrol grubunda yaş dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Hasta grubunun %51 (n=102)'i erkek, %49 (n=98)'u kadın; kontrol grubunun %58, 5 (n=58)'i erkek, %41, 5 (n=41)'i kadın cinsiyette idi, her iki grup arasında cinsiyet dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0,05$). Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri Tablo 4.1'de sunuldu.

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grupları demografik özellikleri karşılaştırılması

	Hasta (n=200)	Kontrol (n=99)	p değeri
Yaş yıl (ort±SD)	56, 6±17, 8	52, 8±16, 7	0, 132
Erkek % (n)	%51 (n=102)	%58, 5 (n=58)	0, 393
Kadın % (n)	%49 (n=98)	%41, 5 (n=41)	

COVID-19 klinik sınıflamasına göre hastaların 50'si hafif, 51'i orta, 50'si şiddetli ve 49'u kritik grupta yer almaktaydı. Hafif grup hastaların yaş ortalaması 44, 78±13,58 yıl, medyan yaş 44 bulundu. Orta sınıftaki hastaların yaş ortalaması 55, 31±11,74 yıl, medyan yaş 57 bulundu. Şiddetli grup hastaların yaş ortalaması 57, 66±12,5 yıl, medyan yaş 58 bulundu. Kritik hastaların yaş ortalaması 69, 06±10,42 yıl, medyan yaş 69 tespit edildi. Covid -19 klinik sınıflamasına göre grupların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0,01$). En yüksek yaş ortalaması kritik hasta grubunda iken, en düşük yaş ortalaması hafif hasta grubunda yer almaktaydı.

Hafif hastaların %62 (31)'si kadın, %38 (19)'i erkek cinsiyette idi. Orta hastaların %55 (28)'i kadın, %45 (23)'i erkek cinsiyette; şiddetli hastaların %58 (29)'i kadın, %42 (22)'si erkek cinsiyette iken kritik hastaların %36, 7 (18)'si kadın, %63, 3 (31)'ü erkek cinsiyetteydi. COVID-19 klinik sınıflamasına göre grupların cinsiyete göre dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğu tespit edildi ($p=0,048$). Erkek hastaların en yüksek oranda olduğu hastalık sınıfı kritik grup iken, kadın hastaların en yüksek oranda bulunduğu hastalık sınıfı hafif gruptaydı.

Hafif, orta, şiddetli ve kritik gruptaki hastaların demografik özellikleri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Hasta grubundaki hafif/orta/şiddetli/kritik hastaların demografik özellikleri

	Hafif (n=50)	Orta (n=51)	Şiddetli (n=50)	Kritik (n=49)	P değeri
Yaş (ort.±SD)	44, 78±13, 58	55, 31±11, 74	57, 66±12, 5	69, 06±10, 42	0, 001
Kadın % (n)	%62 (31)	%55 (28)	%58 (29)	%36, 7 (18)	0, 048
Erkek % (n)	%38 (19)	%45 (23)	%42 (21)	%63, 3 (31)	

Hafif hastaların tamamında öksürük, kırgınlık, boğaz ağrısı gibi non-spesifik semptomlar bulunmaktaydı. Solunum sıkıntısı, oksijen saturasyonunda düşüklük ya da akciğer grafilerinde pnömoni bulguları yoktu. Bu gruptaki hastaların özgeçmişinde %2 (1)’sinde astım, %6 (3)’ünde hipertansiyon ve %2 (1)’sinde malignite tanıları vardı, %90 (45)’inde ise herhangi bir ek hastalık yoktu.

Orta hastaların tamamında görülen gribal şikayetlere ek olarak %25, 4 (13)’ünde yüksek ateş, %3, 9 (2)’unda hafif solunum sıkıntısı vardı. Bu gruptaki hastaların %37, 2 (19)’sinde akciğer görüntülemelerinde pnömoni bulgusu tespit edildi. Bu gruptaki hastaların %15, 6 (8)’sında hipertansiyon, %1, 9 (1)’unda malignite, %1, 9 (1)’unda diyabet, %3, 9 (2)’unda kronik HBV enfeksiyonu, %5, 8 (3)’ünde diyabet ve hipertansiyon tanıları mevcutken, %70, 5 (36)’inde herhangi bir ek hastalık yoktu.

Şiddetli hastaların tamamının solunum sıkıntısı şikayeti vardı ve %58 (29)’inin oksijen saturasyon değerleri \leq %93 olarak tespit edildi. Bu gruptaki hastalara yapılan akciğer görüntülemelerinde %54 (27)’ünde buzlu cam görüntüsü, %8 (4)’ünde konsolidasyon, %2 (1)’sinde plevral efüzyon tespit edildi. Saturasyon değerleri normal olan hastaların tamamının akciğer bilgisayar tomografi görüntülemesinde buzlu cam görüntüsü vardı. Hastaların %36 (18)’sında akciğer görüntüleme bulgusu tespit edilmedi ancak bu hastaların tamamında saturasyon değerleri %93’ün altında idi. Bu gruptaki hastaların %72 (36)’sine yatırılarak, %28 (14)’üne ise ayaktan tedavi uygulandı. Şiddetli hastaların %10 (5)’ünde hipertansiyon, %10 (5)’ünde diyabet, %14 (7)’ünde hipertansiyon ve diyabet, %14 (7)’ünde malignite tanıları mevcutken %4 (2)’ü ise solid organ alıcısı idi. Bu gruptaki hastaların %48 (24)’ünde ise herhangi bir ek hastalık yoktu.

Kritik hastaların tamamında genel durumda bozulma ve nefes darlığı şikayeti vardı ve oksijen saturasyon değerleri ≤ 93 olarak tespit edildi. Tamamı yoğun bakım ünitelerinde tedavi alan bu gruptaki hastaların %53 (26)'ü entübe edilerek invaziv mekanik ventilasyon tedavisi alırken, %34,6 (17)'sine non-invaziv ventilasyon tedavileri uygulandı. Hastaların %12,2 (6)'sine $\geq 4L/dk$ akım hızında nazal oksijen tedavisi uygulandı. Kritik hastaların %53 (26)'ü hayatını kaybetti. Hastaların tamamının akciğer görüntülemesinde yaygın konsolidasyon veya buzlu cam görüntüsü tespit edildi. Bu gruptaki hastaların %18,4 (9)'ünün malignite, %16,3 (8) 'ünün koroner arter hastalığı, %16,3 (8)'ünün hipertansiyon, %12,3 (6)'ünün diyabet, %8,2 (4)'sinin hipertansiyon ve diyabet, %4 (2)'ünün kronik böbrek yetmezliği, %4 (2)'ünün kronik obstrüktif akciğer hastalığı tanıları vardı. Hastaların %20,4 (10)'ünde ise herhangi bir ek hastalık yoktu.

COVID-19 klinik sınıflamasına göre hasta gruplarının klinik özellikleri Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.3. COVID-19 klinik sınıflamasına göre hasta gruplarının klinik özellikleri

Klinik Sınıf	SaO₂ ≤ 93 % (n)	Radyolojik Bulgu % (n)	Ek Hastalık % (n)
Hafif	Yok	Yok	%10 (5)
Orta	Yok	%37, 2 (19)	%29, 5 (15)
Şiddetli	%58 (29)	%64 (32)	%52 (26)
Kritik	%100 (49)	%100 (49)	%79 (39)

COVID-19 klinik sınıflamasına göre grupların IL28B rs12979860 genotip dağılımları; hafif hasta grubunda %50 (25) CT, %32 (16) CC, %18 (9) TT; orta hasta grubunda %31, 4 (16) CT, %56, 9 (29) CC, %11,8 (6) TT; şiddetli hasta grubunda %28 (14) CT, %62 (31) CC, %10 (5) TT; kritik hasta grubunda %42, 9 (21) CT, %44, 9 (22) CC, %12, 2 (6) TT olarak tespit edildi (Tablo 4.4). CT genotipinin en yüksek oranda görüldüğü klinik sınıf hafif/orta grup iken, en düşük oranda görüldüğü klinik sınıf ise şiddetli/kritik hasta grubu oldu. CC genotipi dağılımları incelendiğinde ise; CC genotipinin en yüksek oranda görüldüğü klinik sınıf şiddetli/kritik hasta grubu iken, en düşük oranda görüldüğü sınıfın ise hafif/orta hasta grubu olduğu belirlendi. COVID-19 klinik sınıflamasına göre hafif/orta hasta grubu ile şiddetli/kritik hasta grubu IL28B rs12979860 genotip dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0,043$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.4. COVID-19 klinik sınıflamasına göre grupların IL28B rs12979860 genotip dağılımları

	Hafif	Orta	Şiddetli	Kritik
CT	25 (%50)	16 (%31,4)	14 (%28)	21 (%42,9)
CC	16 (%32)	29 (%56,9)	31 (%62)	22 (%44,9)
TT	9 (%18)	6 (%11,8)	5 (%10)	6 (%12,2)
Toplam	50 (%100)	51 (%100)	50 (%100)	49 (%100)

Tablo 4.5. COVID-19 klinik sınıflamasına göre hafif/orta ve şiddetli/kritik hasta gruplarının IL28B rs12979860 genotip dağılımları

	Hafif/Orta	Şiddetli/Kritik	p
CT	41 (%40,6)	35 (%35,4)	0,043
CC	45 (%44,6)	53 (%53,5)	
TT	15 (%14,9)	11 (%11,1)	
Toplam	101 (%100)	99 (%100)	

COVID-19 klinik sınıflamasına göre grupların IL28B rs8099917 genotip dağılımları; hafif hasta grubunda %50 (25) GT, %4 (2) GG, %46 (23) TT; orta hasta grubunda %27,5 (14) GT, %2 (1) GG, %70,6 (36) TT; şiddetli hasta grubunda %30 (15) GT, %2 (4) GG, %66 (33) TT; kritik hasta grubunda %34,7 (17) GT, %6,1 (3) GG, %59,2 (29) TT olarak saptandı (Tablo 4.6).Diğer gruplarla karşılaştırıldığında klinik sınıflaması hafif olan hasta grubunda GT genotipi daha yüksek oranlarda tespit edilirken, yine hafif hasta grubunda TT genotipi istatistiksel olarak anlamlı oranda daha düşük olduğu görüldü.GT genotipinin en yüksek oranda görüldüğü klinik sınıf hafif/orta grup iken, en düşük oranda görüldüğü klinik sınıf ise şiddetli/kritik hasta grubu oldu. TT genotipi dağılımları incelendiğinde ise; TT genotipinin en yüksek oranda görüldüğü klinik sınıf şiddetli/kritik hasta grubu iken, en düşük oranda görüldüğü klinik sınıfın hafif/orta hasta grubu olduğu gözlemlendi. COVID-19 klinik sınıflamasına göre hafif/orta hasta grubu ile şiddetli/kritik hasta grubu IL28B rs8099917 genotip dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (p=0,037) (Tablo 4.7).

Tablo 4.6. COVID-19 klinik sınıflamasına göre grupların IL28B rs8099917 genotip dağılımları

	Hafif	Orta	Şiddetli	Kritik
GT	25 (%50)	14 (%27,5)	15 (%30)	17 (%34,7)
GG	2 (%4)	1 (%2)	2 (%4)	3 (%6,1)
TT	23 (%46)	36 (%70,6)	33 (%66)	29 (%59,2)
Toplam	50 (%100)	51 (%100)	50 (%100)	49 (%100)

Tablo 4.7. COVID-19 klinik sınıflamasına göre hafif/orta ve şiddetli/kritik hasta gruplarının IL28B rs8099917 genotip dağılımları

	Hafif/Orta	Şiddetli/Kritik	p
GT	39 (%38,6)	32 (%32,3)	0, 037
GG	3 (%3)	5 (%5,1)	
TT	59 (%58,4)	62 (%62,6)	
Toplam	101 (%100)	99 (%100)	

Kritik grupta yer alan hastalardan ölenler ile iyileşenlerin IL28B rs12979860/rs8099917 genotip dağılımları karşılaştırıldı. Hayatını kaybeden hastalarda rs12979860 CT/CC/TT genotiplerinin görülme oranları sırasıyla %52 (13)/%40 (10)/%8 (2) iken, hayatta kalan hastalarda %33,3 (8)/%50 (12)/%16,7 (4) olarak tespit edildi ve iki grup arasında genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Tablo 4.8).

Hayatını kaybeden hastalarda rs8099917IL28BGT/GG/TT genotiplerinin görülme oranları sırasıyla %36 (9)/%4 (1)/%60 (15) iken, hayatta kalan hastalarda %33,3 (8)/%8,3 (2)/%58,3 (14) olarak tespit edildi ve iki grup arasında genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Tablo 4.9)

Tablo 4.8. Kritik grupta yer alan ölen ve iyileşen hastaların IL28B rs12979860 genotip dağılımları

	Ölen	İyileşen	p
CT	13 (%52)	8 (%33,3)	0, 364
CC	10 (%40)	12 (%50)	
TT	2 (%8)	4 (%16,7)	
Toplam	25 (%100)	24 (%100)	

Tablo 4.9. Kritik grupta yer alan ölen ve iyileşen hastaların IL28B rs8099917 genotip dağılımları

	Ölen	İyileşen	p
GT	9 (%36)	8 (%33,3)	0, 316
GG	1 (%4)	2 (%8,3)	
TT	15 (%60)	14 (%58,3)	
Toplam	25 (%100)	24 (%100)	

Hasta ve kontrol grubu IL28B rs12979860 genotip dağılımları incelendi. Hasta grubunun %38'inde CT, %49'unda CC, %13'inde TT genotipi tespit edildi. Kontrol grubunda ise olguların %45,5'inde CT, %46,5'inde CC, %8,1'inde TT genotipi tespit edildi.

Grupların genotip dağılımları birbirine benzerdi ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

Tablo 4.10. Hasta ve kontrol gruplarında rs12979860 genotiplerinin dağılımı

	Hasta	Kontrol	p
CT	76 (%38)	45 (%45,5)	0,300
CC	98 (%49)	46 (%46,5)	
TT	26 (%13)	8 (%8,1)	
Toplam	200 (%100)	99 (%100)	

Hasta ve kontrol grubu IL28B rs8099917 genotip dağılımları incelendi. Hasta grubunun %35,5'inde GT, %8'inde GG, %60,5'inde TT genotipi tespit edildi. Kontrol grubunda ise olguların %34,7'sinde GT, %62,6'sında TT genotipi görülürken, GG genotipi ise görülmedi. Grupların genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0,038$).

Tablo 4.11. Hasta ve kontrol gruplarında rs8099917 genotiplerinin dağılımı

	Hasta	Kontrol	p
GT	71 (%35,5)	37 (%37,4)	0,038
GG	8 (%4)	0 (%0)	
TT	121 (%60,5)	62 (%62,6)	
Toplam	200 (%100)	99 (%100)	

5. TARTIŞMA

COVID-19'da klinik seyir multifaktöriyel olmakla birlikte şiddetli kliniğe sahip olabilecek hastaların ön görülmesinin acil bir gereklilik olduğu düşünülmektedir. Her ne kadar hafif/orta vakalar hastaların çoğunu oluştursa da, şiddetli/kritik vakaların klinisyenler tarafından belirlenmesi hastaların prognozunu tahmin etme konusunda en önemli kriterdir (Ghahramani ve ark., 2020).

COVID-19 klinik seyri ile yakından ilişkili olduğu bilinen yaş, cinsiyet, ek hastalık gibi konak faktörlerini araştıran birçok çalışma mevcuttur. Yaşlı hasta popülasyonunda mortalitenin arttığını bildiren pek çok çalışma bulunmaktadır. Uluslararası bir çalışmada yaş, COVID-19 mortalitesini etkileyen en önemli değişken olarak tanımlanmıştır (Dayyap ve ark., 2023). Elimian ve arkadaşları, >51 yaşın mortalite ile ilişkili bağımsız bir faktör olduğunu bildirmiştir (Eliminian ve ark., 2020). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde şiddetli/kritik hasta grubunun yaş ortalaması hafif/orta hasta grubuna göre belirgin olarak yüksek bulundu.

Hipertansiyon, kronik böbrek hastalıkları, kronik kalp hastalıkları, diyabet ve malignensi gibi ek hastalıklar da hastalığın şiddetini artıran faktörler olarak belirlenmiştir. Hipertansiyonun endotel disfonksiyonu ve renin anjiyotensin aldosteron sistemi düzensizliği ile ilişkisinin COVID-19'un ilerlemesine yol açabileceği öne sürülmüştür (Osibogun ve ark.; 2021). Bizim çalışmamızda da ek hastalık oranları şiddetli/kritik hasta grubunda hafif/orta hasta grubuna göre daha yüksek bulundu.

Tüm dünyada COVID-19'un şiddetli ve kritik klinik sınıfının görülme oranlarının yaş ve ek hastalıktan bağımsız olarak erkek cinsiyette yüksek olduğu bilinmektedir. Daha önce yapılan pek çok çalışma ile gösterildiği gibi çalışmamızda da COVID-19'un şiddeti ile erkek cinsiyet arasında korelasyon olduğu belirlendi. Çok ileri yaş grupları hariç dünya çapında kronik akciğer hastalıkları, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet gibi morbiditelerin erkeklerde kadınlardan daha yüksek oranlarda görüldüğü bilinmektedir (Kopel ve ark., 2020). Yaptığımız çalışmada olduğu gibi, literatürde komorbiteye yol açan hastalıklarla COVID-19 şiddeti arasında ilişki olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur (Gebhard ve ark.; 2020). Ayrıca sigara ve içki tüketimi gibi riskli alışkanlıkların dünya genelinde erkeklerde daha yaygın olduğu bulunmuştur (Cai Hua, 2020). Monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerinde içinde yer aldığı doğal bağışıklık hücrelerinin sayısı ve aktivitesi ile enflamatuvar immün cevapların kadınlarda erkeklerden daha yüksek olduğu bilinmektedir

(Boissier ve ark., 2003). Hem bazal immüoglobülin seviyelerinin hem de antikor yanıtlarının, kadınlarda erkeklere göre sürekli olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca seks hormonlarının doğal ve kazanılmış immünite cevapları üzerine olan farklı etkileri de tespit edilmiştir (Gebhard ve ark., 2020).

2000’li yılların başlarında keşfedilen ve viral enfeksiyonlara cevapta ilk üretilen sitokinlerden olmaları nedeniyle tip III interferonların antiviral yanıtta kilit rol oynadıkları düşünülmektedir. Tip I IFN’lerin aksine tip III IFN (IFN λ)’lar solunum yolu ve gastrointestinal sistem gibi epitelyal bariyerlerde ve kan-beyin bariyerlerinde yoğun olmak üzere lokal etki göstermeleri nedeniyle, tip III IFN’lerin özellikle gastrointestinal sisteme, solunum yoluna ve sinir sistemine tropizm gösteren virüslere karşı konak savunmasında etkin rol oynadıkları düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarla IFN λ genlerindeki tek nükleotid polimorfizmleri ile viral enfeksiyonların prognozu arasında güçlü ilişkiler olduğu tespit edilmiştir (Hemann ve ark., 2017).

IL28B gen polimorfizmlerinin; kronik hepatit B, kronik hepatit C, HIV gibi viral enfeksiyonlarda viral klirens ve tedaviye yanıt ile ilişkili olabileceğine dair pek çok çalışma bulunmaktadır (Junaid K. Ve ark., 2021; Aksak-Waş. ve ark., 2022; Cakal B. ve ark., 2022). Hatta bazı çalışmalarda IL28B rs12979860 CC ve rs8099917 TT genotipleri; HBV’ye bağlı siroz ve hepatosellüler karsinom gibi ileri karaciğer hasarı riskinin azalması ve bu genotiplerin hastalığın klinik seyri ve sonuçları üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle olumlu genotipler olarak isimlendirilmiştir. Diğer taraftan, rs12979860 TT ve rs8099917 TG/GG minör alel polimorfizmlerinin varlığı ile karakterize edilen genotipler, HBV’ye bağlı gelişen siroz ve hepatosellüler karsinom riskinde artış oluşturdukları için olumsuz genotipler olarak kabul edilmiştir (Suo GJ. ve ark., 2013; Ying SY. ve ark., 2021). Tüm bu çalışmaların aksine bu polimorfizmler ile HBV enfeksiyonunda klinik seyir ve tedaviye yanıt arasında herhangi bir ilişki bulunmadığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Lee DH. ve ark., 2013). Ayrıca IL28B genotipinin HBV veya HCV enfeksiyonu olan ve interferon tedavisi alan hastalarda önemli bir prognostik faktör olduğu da iddia edilmiştir (Lopez-Rodriguez R. ve ark., 2011). IL28B gen polimorfizmlerinin HCV klirensi ve HCV hastalarının IFN tedavisine yanıtı ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur (Estrabaud E. ve ark., 2012). Tayvan’da yapılan bir vaka-kontrol çalışmasında rs12979860 CT/TT ve rs8099917 GT/GG genotipleri ile tip 1 HCV hastalarında düşük viral klirens ve yüksek hepatosellüler karsinom gelişme riski ile ilişkili gösterilmiştir (Lee MH. ve ark.; 2015).

İnterlökin 28B'nin viral üst solunum yolu enfeksiyonlarında kilit rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarla IFN λ 3-IFN λ 4 varyantları için Afrika kökenlilerde fazlaca rastlanan homozigotluğun, rhinovirüs ve coronavirüs dahil olmak üzere akut solunum yolu enfeksiyonlarından etkilenen çocuklarda viral klirensin azalmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Hemann E.A. ve ark., 2017). Yine 2022 yılında yayınlanan respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonu olan 2 yaş altındaki pediatrik hastalarda hastalığın ciddiyeti ile konak genetik faktörleri arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada IL28B rs12979860 CT, rs8099917 TG, rs12979860 TT ve rs8099917 TT genotipleri ile RSV sıklığı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (Heloisa ve ark., 2020).

Son yıllarda yapılan çalışmalar IL-28B'nin genetik adjuvan olarak kullanılmasının aşılardan indüklenen hem hücresel hem de hümmoral immün yanıtları artırabileceğini göstermektedir (Morrow ve ark., 2009). 2021 yılında interlökin-28B'nin adjuvan olarak kullanıldığı gama ışınlanmış influenza A aşısının hücresel ve hümmoral immün yanıtları arttırdığı ve antiviral etkinlik üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (Sabbaghi ve ark., 2021).

Konak genetiğinin SARS-CoV-2 enfeksiyonu ve klinik belirtileri üzerine etkisi hakkında hali hazırda çok az çalışma bulunmaktadır. Birçok çalışma, araştırmalarını virüsün reseptörleri ve ACE-2 genetik varyantları ile enfeksiyona karşı artan hasta duyarlılığı arasındaki birkaç genetik bağlantı üzerine odaklansa da, hastalığın patolojisinde yer alan diğer genler hakkındaki bilgiler sınırlıdır (Chen ve ark.; 2020). Son zamanlarda yapılan çalışmalar yaşamı tehdit eden COVID-19 pnömonisi olan bir grup hastada, , tip I IFN'lere karşı nötralize edici otoantikörlerin varlığını göstermiş ve genetik olarak hatalı tip I IFN'lere sahip vakalarda klinik seyrin daha şiddetli olduğu iddiasını gündeme getirmiştir (Bastard ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020). Bu kanıtlara göre, COVID-19 hastalarına veya yüksek enfeksiyon riski taşıyan kişilere antiviral bir ilaç olarak IFN λ 'ların kullanılması önerilmiştir. Pegile IFN- λ tedavisi ile B ve T hücre yanıtlarından bağımsız olarak interferon ile uyarılan genlerin indüklendiği ve viral klirensin hızlandığı saptanmıştır. Bu durum T hücre yanıtının geciktiği yaşlı hastalarda bir avantaj olarak görülmektedir (Santer ve ark., 2022).

Tip III IFN'lerin bağışıklık yanıtının düzenlenmesindeki kilit rolünün kanıtı olarak, IFN λ genlerindeki tek nükleotid polimorfizmleri, viral enfeksiyonun sonuçlarıyla güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiş (Yousefzadegan ve Rezaei, 2020) olmasına rağmen COVID-19 hastalarında konuyla ilgili çalışma sayısı oldukça azdır. 2020 yılında yapılan bir çalışma ile SARS-CoV-2 viral klirensi ile interlökin 28B gen polimorfizmleri arasındaki ilişki

araştırılmıştır. Amodio E. ve arkadaşlarının COVID-19 tanılı 381 hastada yaptıkları bu çalışmada rs1297860 TT ve rs368234815 DG/DG haplotipine sahip hastaların, inflamatuvar yollardaki defektif regülasyonu ile bağlantılı olarak viral klirens yeteneklerinde azalma olduğunu bildirilmiştir (Amodio ve ark.; 2020). 2021 yılında Rahimi P. ve arkadaşlarının 750 (375'i iyileşen ve 375'i hastalık nedeniyle ölen) hastanın katılımıyla yaptığı bir diğer çalışmada *IFNL3/4*'ün rs12979860 CC, rs12980275 AA, rs8099917 TT ve rs368234815 TT/TT genotiplerini aynı anda bulunduran hastaların COVID-19 enfeksiyonuna karşı daha yüksek oranlarda dirençli oldukları bulunmuştur (Rahimi ve ark., 2021). 2021 yılında Agwa ve ark., tarafından yapılan 141 COVID-19 pozitif ve 100 sağlıklı kontrol grubundan oluşan *İnterferon-Lambda-3* rs12979860, *TLL1* rs17047200 ve *DDR1* rs4618569 polimorfizmleri ile SARS-CoV-2 hastalığının seyri arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada; IL28B rs12979860 CC genotipinin kontrol grubuna kıyasla COVID-19 hastalarında daha fazla ifade edildiği gösterilmiştir. Bu veriler ışığında, C aleline (TC ve CC) sahip kişilerin COVID-19 geliştirme riskinin daha yüksek olduğu çıkarımında bulunulmuştur. Yine aynı çalışmada IL28B rs12979860 TC ve CC genotiplerine sahip hastalarda hastalık seyrinin daha şiddetli olduğu bulunmuştur (Agwa ve ark., 2021).

Türkiye'den COVID-19 klinik sınıfları ile interlökin 28B gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Çalışmamızda COVID-19 hastalarında 4 klinik sınıf (hafif-orta-şiddetli-kritik)'ta rs12979860 ve rs8099917 interlökin 28B gen polimorfizmlerini RT-PCR yöntemi ile araştırdık. Kontrol grubu olarak belirlediğimiz, çalışmayı yaptığımız tarihe kadar şiddetli COVID-19 semptomu bulunmayan ve RT-PCR sonuçları negatif olan yetişkinler ile hastaların interlökin 28B gen polimorfizmlerini karşılaştırdık.

COVID-19 klinik sınıflamasına göre gruplandırdığımız hastalarda rs12979860 genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu belirlendi. CT genotipinin en yüksek oranda görüldüğü grup hafif/orta vakalar olurken, CC genotipinin en yüksek oranda görüldüğü grup ise şiddetli/kritik vakaların olduğu gözlemlendi. Daha önce yapılan viral solunum yolu virüsleri ile yapılan çalışmalarda rs12979860 polimorfizmdeki homozigot genotipler azalmış viral klirensle ilişkilendirilmiştir (Amodio ve ark.; 2020, Hemann ve ark., 2017). Ayrıca 2021 yılında Agawa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CT genotipi ile birlikte CC genotipine sahip hastalarda klinik bulguların şiddetinde artış olduğu saptanmıştır. Biz de çalışmamızda bu sonuçlara paralel olarak şiddetli/kritik vakaların yer aldığı grupta homozigot CC genotipini daha yüksek oranlarda saptadık. Hasta ve kontrol grubu

rs12979860 genotip dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Her iki grupta da baskın genotip CC idi.

COVID-19 klinik sınıflamasına göre gruplandırılan hastalarda rs8099917 genotip dağılımlarında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edildi. GT genotipinin en yüksek oranda görüldüğü grup hafif/orta vakalar olurken, TT genotipinin en yüksek oranda görüldüğü grup ise şiddetli/kritik vakalardı. Her ne kadar COVID-19 hastalarında rs8099917 genotip dağılımları ile klinik şiddet arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma hali hazırda bulunmasa da yapılan bu çalışma ile rs8099917 GT genotiplerini taşıyan hastaların COVID-19 enfeksiyonuna karşı daha yüksek oranlarda dirençli oldukları ve rs8099917 TT genotipinin ise şiddetli kliniğe sahip olabilecek hastaların ön görülmesinde prognostik bir faktör olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Hasta ve kontrol grubu rs8099917 genotip dağılımları karşılaştırıldığında GG genotipi hasta grubunda %8 oranında rastlanırken kontrol grubunda GG genotipi tespit edilmedi, GT genotiplerinin dağılımları ise benzerdi. Bu sonuçlardan yola çıkarak GG genotipine sahip kişilerde COVID-19 gelişme riskinin daha yüksek olabileceği ve bu genotipin hastalık bulaşında kolaylaştırıcı bir rol oynayabileceği düşünüldü.

Rahimi ve arkadaşları 2021 yılında yaptıkları çalışmada IL28B rs12979860 CC, rs12980275 AA, rs8099917 TT ve rs368234815 TT/TT genotiplerinin sıklığını iyileşen hastalarda ölen hastalara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bulmuşlardır (Rahimi ve ark., 2021). Çalışmamızın kritik hasta grubundaki COVID-19 nedeniyle hayatını kaybeden ve hayatta kalan hastaların interlökin 28B rs12979860 ve rs8099917 genotip dağılımları karşılaştırıldı ancak bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

İnterlökin 28B genotipleri ile COVID-19 arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların sonuçları Tablo 5.1’de özetlenmiştir.

Tablo 5.1. İnterlökün 28B genotipleri ile COVID-19 arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar ve sonuçları

İL28B genotipleri	Amodio ve ark.; 2020	Rahimi ve ark., 2021	Agwa ve ark., 2021	Bizim çalışmamız
rs1297860 TT	Viral klirenste azalma			Klinik bulgularla anlamlı ilişki yok
rs12979860 CC		COVID-19 enfeksiyonuna karşı artmış direnç/azalmış mortalite	TC genotipi ile birlikte klinik bulguların şiddetinde artma	Klinik bulguların şiddetinde artma
rs12980275 AA		COVID-19 enfeksiyonuna karşı artmış direnç/azalmış mortalite		
rs8099917 TT		COVID-19 enfeksiyonuna karşı artmış direnç/azalmış mortalite		Klinik bulguların şiddetinde artma
rs368234815 TT/TT		COVID-19 enfeksiyonuna karşı artmış direnç/azalmış mortalite		
rs8099917 GG				Viral bulaşta artma
Hasta ve kontrol grubu sayıları	381 hasta	375 ölen/375 iyileşen hasta	141 COVID-19 pozitif ve 100 sağlıklı kontrol grubu	200 COVID-19 pozitif ve 99 kontrol grubu

Bu çalışmanın kısıtlılığı hastaların viral yükleri ile interlökün 28B rs12979860 ve rs8099917 genotip dağılımlarının karşılaştırılmamasıdır. Viral yükler PCR Ct (cycle threshold) değerleri kullanılarak tahmin edilmektedir. Düşük PCR Ct değerlerinin yüksek viral yüke, yüksek PCR Ct değerlerinin ise düşük viral yüke karşılık geldiği bilinmektedir. Ancak viral yük ile PCR Ct değerleri arasındaki korelasyonun iyi bir şekilde standardize edilmemiş olmasından dolayı PCR Ct değerlerinin düşük doğruluk ve kesinlikte olduğu düşünülmüştür. Ayrıca maddi kısıtlılıklar nedeniyle literatürde yer alan her genotipe bakılamamıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuç

Bu çalışma ile birbirlerinden bağımsız olmak üzere erkek cinsiyet, ileri yaş ve ek hastalık oranlarının COVID-19 klinik sınıflamasına göre kritik gruptaki hastalarda daha yüksek olduğu belirlendi. Hasta ve kontrol grupları arasında interlökin 28B rs12979860 genotip dağılımlarında anlamlı bir farklılık tespit edilmezken, rs8099917 GG genotipi kontrol grubunda tespit edilmedi. Rs12979860 CT genotipi en yüksek oranda hafif/orta vakaların yer aldığı grupta tespit edilirken, CC genotipi en yüksek oranda şiddetli/kritik vakaların olduğu grupta tespit edildi. Rs8099917 GT genotipi en yüksek oranda hafif/orta vakaların olduğu grupta bulunurken, TT genotipi en yüksek oranda şiddetli/kritik vakaların olduğu grupta görüldü. Kritik hasta grubundaki COVID-19 nedeniyle ölen ve iyileşen hastaların interlökin 28B rs12979860 ve rs8099917 genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

6.2. Öneriler

Genotip dağılımlarındaki farklılıkların COVID-19 prognozu üzerinde etkisi olabileceğine dair kuvvetli ipuçları elde edilmiştir. COVID-19 ve benzeri viral hastalıklar için hastalık başlangıcından sonuna kadar ki tüm süreçlerin dahil edildiği, daha ayrıntılı kategorize edilmiş ve daha geniş popülasyonlarda yapılmış çalışmalar bu ipuçlarının teyidi açısından değerlidir.

KAYNAKLAR

- A. Wack**, E. Terczyńska-Dyla, R. Hartmann Guarding the frontiers: The biology of type III interferons *Nature Immunology*, 2015;16 (8) :802-809, 10.1038/ni.3212 Nature Publishing Group US
- Agwa SHA**, Kamel MM, Elghazaly H, Abd Elsamee AM, Hafez H, Girgis SA, Ezz Elarab H, Ebeid FSE, Sayed SM, Sherif L, Matboli M. Association between *Interferon-Lambda-3* rs12979860, *TLL1* rs17047200 and *DDR1* rs4618569 Variant Polymorphisms with the Course and Outcome of SARS-CoV-2 Patients. *Genes (Basel)*. 2021 May 28;12(6):830
- Aksak-Şaş, B.**, & Parczewski, M. (2022). Genetic factors influencing HIV infection: a review. *HIV & AIDS Review*. *International Journal of HIV-Related Problems*. <https://doi.org/10.5114/hivar.2022.121398>
- Alanagreh L**, Alzoughool F, Atoum M. The Human Coronavirus Disease COVID-19: Its Origin, Characteristics, and Insights into Potential Drugs and Its Mechanisms. *Pathogens*. 2020; 9 (5):331. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050331>
- Aliyu AA**. Public health ethics and the COVID-19 pandemic. *Ann Afr Med*. 2021;20 (3):157-163. doi:10.4103/aam.aam_80_20
- Amodio E**, Pipitone RM, Grimaudo S, Immordino P, Maida CM, Prestileo T, Restivo V, Tramuto F, Vitale F, Craxì A, Casuccio A. SARS-CoV-2 Viral Load, IFN λ Polymorphisms and the Course of COVID-19: An Observational Study. *J Clin Med*. 2020 Oct 15;9 (10):3315. doi: 10.3390/jcm9103315. PMID: 33076493; PMCID: PMC7602550.
- Aydın, H.**, & Timurkan, M. Ö. (2020). SARS CoV-2 bulaşma ve replikasyon dinamiği. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 2020; (Covid-19 Special Issue):17-22.
- Baric RS**. Emergence of a highly fit SARS-CoV-2 variant. *N Engl J Med*. 2020;383 (27):2684–2686. doi: 10.1056/NEJMcibr2032888
- Bastard P.**, Rosen L.B., Zhang Q., Michailidis E., Hoffmann H.-H., Zhang Y., Dorgham K., Philippot Q., Rosain J., Béziat V., et al. Auto-antibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science*. 2020:eabd4585. doi: 10.1126/science.abd4585.
- Bianchi M**, Benvenuto D, Giovanetti M, Angeletti S, Ciccozzi M & Pascarella S (2020). Sars-CoV-2 envelope and membrane proteins: structural differences linked to virus characteristics? *Biomed Res Int* 2020, 4389089.
- Blanco-Melo D.**, Nilsson-Payant B.E., Liu W.-C., Uhl S., Hoagland D., Moller R. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell*. 2020;181 doi: 10.1016/j.cell.2020.04.026. 1036-45.e9.
- Boechat JL**, Chora I, Morais A, Delgado L. The immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 immunopathology - Current perspectives. *Pulmonology*. 2021 Sep-Oct;27 (5):423-437. doi: 10.1016/j.pulmoe.2021.03.008. Epub 2021 Apr 9. PMID: 33867315; PMCID: PMC8040543.
- Boechat JL**, Chora I, Morais A, Delgado L. The immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 immunopathology - Current perspectives. *Pulmonology*. 2021 Sep-Oct;27 (5):423-437. doi: 10.1016/j.pulmoe.2021.03.008. Epub 2021 Apr 9. PMID: 33867315; PMCID: PMC8040543.
- Boissier J**, Chlichlia K, Digon Y, Ruppel A, Mone H. Preliminary study on sex-related inflammatory reactions in mice infected with schistosoma mansoni. *Parasitol Res*. 2003;91 (2):144–150.
- Boson B**, Legros V, Zhou B, Siret E, Mathieu C, Cosset FL, Lavillette D, Denolly S. The SARS-CoV-2 envelope and membrane proteins modulate maturation and retention of the spike protein, allowing assembly of virus-like particles. *J Biol Chem*. 2021 Jan-Jun;296:100111. doi: 10.1074/jbc.RA120.016175. Epub 2020 Dec 3. PMID: 33229438; PMCID: PMC7833635.

- Boudewijns R.**, Thibaut H.J., Kaptein S.J., Li R., Vergote V., Seldeslachts L. STAT2 signaling restricts viral dissemination but drives severe pneumonia in SARS-CoV-2 infected hamsters. *Nat Commun.* 2020;11:5838. doi: 10.1038/s41467-020-19684-y.
- Bouvet M**, Lugari A, Posthuma CC, Zevenhoven JC, Bernard S, Betzi S, Imbert I, Canard B, Guillemot JC, Lécine P, Pfefferle S, Drosten C, Snijder EJ, Decroly E, Morelli X. Coronavirus Nsp10, a critical co-factor for activation of multiple replicative enzymes. *J Biol Chem.* 2014 Sep 12;289 (37):25783-96. doi: 10.1074/jbc.M114.577353. Epub 2014 Jul 29. PMID: 25074927; PMCID: PMC4162180.
- Brian D. A.**, Baric R. S. (2005). Coronavirus genome structure and replication. *Curr. Topics Microbiol. Immunol* 2005; 287:1–30. 10.1007/3-540-26765-4_1
- Bubar KM**, et al. Model-informed COVID-19 vaccine prioritization strategies by age and serostatus. *Science.* 2021;371 (6532):916–921. doi: 10.1126/science.abe6959
- Buitrago-Garcia D**, et al. Asemptomatik ve presemptomatik SARSCoV-2 enfeksiyonlarının oluşumu ve bulaşma potansiyeli: Canlı bir sistematik derleme ve meta-analiz. *PLoS Med.* 2020; 17 (9):e1003346. doi: 10.1371/journal.pmed.1003346.
- Cai H**, Chen Y, Chen Z, et al. Handbook of COVID-19 prevention and treatment. 1st ed. Liang T, editor. China: The First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine. 2020. p. 1-84
- Cai Hua.** Sex difference and smoking predisposition in patients with COVID-19. *The Lancet Respiratory Medicine.* 2020;8 (4):e20
- Cakal, B.**, Cavus, B., Atasoy, A., Altunok, D., Poda, M., Bulakci, M., ... & Akyuz, F. (2022). The effects of IL28B rs12979860 and rs8099917 polymorphism on hepatitis B infection. *Northern Clinics of Istanbul*, 9 (5), 439-444.
- Centers for Disease Control and Prevention.** Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/sars/index.htm>.
- Channappanavar R.**, Fehr AR, Vijay R., Mack M., Zhao J., Meyerholz DK Düzensiz Tip I İnterferon ve inflamatuvar monosit-makrofaj tepkileri, SARS-CoV ile Enfekte Farelerde ölümcül pnömoniye neden olur. *Hücre Konak Mikrobi.* 2016; 19 (2):181–193. PubMed PMID: 26867177. müh.
- Chaudhry R**, et al. A country level analysis measuring the impact of government actions, country preparedness and socioeconomic factors on COVID-19 mortality and related health outcomes. *EClinicalMedicine.* 2020;25:100464. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100464.
- Chen G**, Wu D, Guo W, Cao Y, Huang D, Wang H, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J Clin Investig.* 2020;130 (5):2620–2629. doi: 10.1172/JCI137244.
- Chen N**, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395 (10223):507-513. doi: 10.1016/S0140- 6736 (20)30211-7.
- Chen T**, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: Retrospective study. *BMJ.* 2020; 368:m1091. doi: 10.1136/bmj.m1091.
- Cheng VC**, Lau SK, Woo PC, Yuen KY. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus As An Agent Of Emerging And Reemerging Infection. *Clin Microbiol Rev.*2007;20:660-94.
- Conti P.**, Caraffa A., Gallenga C.E., Ross R., Kritas S.K., Frydas I. Coronavirus-19 (SARS-CoV-2) induces acute severe lung inflammation via IL-1 causing cytokine storm in COVID-19: a promising inhibitory strategy. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2020;34:1971–1975. doi: 10.23812/20-1-E.
- Coutard B**, Valle C, de Lamballerie X, Canard B, Seidah NG, Decroly E. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res.* 2020;176:104742.

- Cui L**, Wang H, Ji Y, Yang J, Xu S, Huang X, Wang Z, Qin L, Tien P, Zhou X, Guo D, Chen Y. The nucleocapsid protein of coronaviruses acts as a viral suppressor of RNA silencing in mammalian cells. *J Virol* 2015; 89:9029–9043. doi: 10.1128/JVI.01331-15.
- D.A. Tyrrell**, J.D. Almeida, C.H. Cunningham, *et al.* Coronaviridae Intervirology, 1975;5 :76-82
- Davidson S.**, Maini MK, Wack A. Tip I interferonların viral, bakteriyel ve koenfeksiyonlarda hastalığı teşvik edici etkileri. *J Interf Sitokin Res Offic J Int Soc Interf Sitokin Res.* 2015; 35 (4):252–264. PubMed PMID: 25714109. Epub 2015/02/25. İng.
- Deng X.**, Chen Y., Mielech A.M., Hackbart M., Kesely K.R., Mettelman R.C. Structure-guided mutagenesis alters deubiquitinating activity and attenuates pathogenesis of a murine coronavirus. *J Virol.* 2020;94 doi: 10.1128/JVI.01734-19. e01734-19.
- Dhama K**, Khan S, Tiwari R, Sircar S, Bhat S, Malik YS, Singh KP, Chaicumpa W, Bonilla-Aldana DK, Rodriguez-Morales AJ. Coronavirus Disease 2019-COVID-19. *Clin Microbiol Rev.* 2020 Jun 24;33 (4):e00028-20. doi: 10.1128/CMR.00028-20. PMID: 32580969; PMCID: PMC7405836.
- Domingues R.**, Lippi A., Setz C., Outeiro T.F., Krisko A. SARS-CoV-2, immunosenescence and inflammaging: partners in the COVID-19 crime. *Aging.* 2020;12:18778–18789. doi: 10.18632/aging.103989.
- Dooling K**, et al. The Advisory Committee on immunization practices’ updated interim recommendation for allocation of COVID-19 vaccine - United States, December 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2021;69 (5152):1657–1660. doi: 10.15585/mmwr.mm695152e2.
- E.I. Azhar**, et al. The Middle East respiratory syndrome (MERS) *Infect Dis Clin*, 2019;33 : 891-905
- Estrabaud E**, Vidaud M, Marcellin P, et al. Genomics and HCV infection: progression of fibrosis and treatment response. *J Hepatol* 2012;57:1110–25.
- Evans JP**, Liu SL. Role of host factors in SARS-CoV-2 entry. *J Biol Chem.* 2021 Jul;297 (1):100847. doi: 10.1016/j.jbc.2021.100847. Epub 2021 May 28. PMID: 34058196; PMCID: PMC8160279.
- Fara A**, Mitrev Z, Rosalia RA, Assas BM. Cytokine storm and COVID-19: a chronicle of pro-inflammatory cytokines. *Open Biol.* 2020 Sep;10 (9):200160. doi: 10.1098/rsob.200160. Epub 2020 Sep 23. PMID: 32961074; PMCID: PMC7536084.
- Feng YCA**, et al. Findings and insights from the genetic investigation of age of first reported occurrence for complex disorders in the UK Biobank and FinnGen [preprint]. Posted on medRxiv November 25, 2020
- Forni D**, Cagliani R, Clerici M, Sironi M. Molecular evolution of human coronavirus genomes. *Trends Microbiol.* 2017;25:35–48.
- Frasca D.**, Blomberg B.B. Inflammaging decreases adaptive and innate immune responses in mice and humans. *Biogerontology.* 2016;17:7–19. doi: 10.1007/s10522-015-9578-8
- Galani I.E.**, Triantafyllia V., Eleminiadou E.E., Koltsida O., Stavropoulos A., Manioudaki M. Interferon- λ mediates non-redundant front-line antiviral protection against influenza virus infection without compromising host fitness. *Immunity.* 2017;46:875–890. doi: 10.1016/j.immuni.2017.04.025. e6.
- Gao T.**, Hu M., Zhang X., Li H., Zhu L., Liu H. Highly pathogenic coronavirus N protein aggravates lung injury by MASP-2-mediated complement over-activation. *medRxiv.* 2020 doi: 10.1101/2020.03.29.20041962. preprint
- García-Sastre A.** Ten strategies of interferon evasion by viruses. *Cell Host Microbe.* 2017;22:176–184. doi: 10.1016/j.chom.2017.07.012

- Gebhard C**, Regitz-Zagrosek V, Neuhauser HK, Morgan R, Klein SL. Impact of sex and gender on COVID-19 outcomes in Europe. *Biol Sex Differ*. 2020 May 25;11 (1):29. doi: 10.1186/s13293-020-00304-9. PMID: 32450906; PMCID: PMC7247289.
- GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators**. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018 Nov 10;392(10159):1789-1858. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32279-7. Epub 2018 Nov 8. Erratum in: *Lancet*. 2019 Jun 22;393(10190):e44. PMID: 30496104; PMCID: PMC6227754.
- Graziani A**, Domenicali M, Zanframundo G, Palmese F, Caroli B, Graziani L. Pulmonary artery thrombosis in COVID-19 patients. *Pulmonology*. 2020 doi: 10.1016/j.pulmoe.2020.07.013. S2531-0437(20)30185-9.
- Grifoni A**, Weiskopf D, Ramirez S.I., Mateus J., Dan J.M., Moderbacher C.R. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell*. 2020;181:1489–1501. doi: 10.1016/j.cell.2020.05.015. e15.
- Guo L**, Ren L., Yang S., Xiao M., Chang D., Yang F. Profiling early humoral response to diagnose novel Coronavirus Disease (COVID-19) *Clin Infect Dis*. 2020;71:778–785. doi: 10.1093/cid/ciaa310.
- Hadjadj J**, Yatim N., Barnabei L., Corneau A., Boussier J., Smith N. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*. 2020;369:718–724. doi: 10.1126/science.abc6027.
- Heloisa I. G.** Giamberardino, PhD, MD, Ana P O. Pacheco, MSc, Luciane A Pereira, PhD, Maria do Carmo Debur, MSc, Gustavo Genehold, MSc, Sonia M Raboni, MD, PhD, Respiratory syncytial virus: host genetic susceptibility and factors associated with disease severity in a cohort of pediatric patients, *Journal of Tropical Pediatrics*, Volume 68, Issue 6, December 2022, fmac091, <https://doi.org/10.1093/tropej/fmac091>
- Hemann EA**, Gale M Jr, Savan R. Interferon Lambda Genetics and Biology in Regulation of Viral Control. *Front Immunol*. 2017 Dec 6;8:1707. doi: 10.3389/fimmu.2017.01707. PMID: 29270173; PMCID: PMC5723907.
- Henry B.M.**, Cheruiyot I., Vikse J., Mutua V., Kipkorir V., Benoit J. Lymphopenia and neutrophilia at admission predicts severity and mortality in patients with COVID-19: a meta-analysis. *Acta Biomed*. 2020;91:e2020008. doi: 10.23750/abm.v91i3.10217.
- Hotez P.J.**, Bottazzi M.E., Corry D.B. The potential role of Th17 immune responses in coronavirus immunopathology and vaccine-induced immune enhancement. *Microb Infect*. 2020;22:165–167. doi: 10.1016/j.micinf.2020.04.005.
- Hu B**, et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLOS Pathog*. 2017;13:e1006698.
- Huang Y**, Yang C, Xu XF, Xu W, Liu SW. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacol Sin*. 2020 Sep;41 (9):1141-1149. doi: 10.1038/s41401-020-0485-4. Epub 2020 Aug 3. PMID: 32747721; PMCID: PMC7396720.
- Ibarrondo F.J.**, Fulcher J.A., Goodman-Meza D., Elliot J., Hoffman C., Hausner M.A. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild Covid-19. *NEJM*. 2020;383:1085–1087. doi: 10.1056/NEJMc2025179.
- İlhan, A. Ş.** SARS-CoV-2 ve COVID-19 patogenzi. *Gazi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2020;78-87.
- J. Zhou**, et al. Type III interferons in viral infection and antiviral immunity *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018;51 (1) :173-185, 10.1159/000495172

- J.S. Kahn, K. McIntosh, T.M. Bestebroer, et al.** History and recent advances in coronavirus discovery *Pediatr Infect Dis J*, 24 (2005), pp. S223-S227
- Junaid K,** Rasool H, Ul Mustafa A, Ejaz H, Alsrhani A, Yasmeen H, Younas S, Abdalla AE, Abdalla Abosalif KO, Mohamed Hamam SS. Association of IL28 B and IL10 Polymorphism with HCV Infection and Direct Antiviral Treatment. *Ann Clin Lab Sci*. 2021 Jul;51 (4):512-520. PMID: 34452889.
- Kadam SB,** Sukhramani GS, Bishnoi P, Pable AA, Barvkar VT. SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights. *J Basic Microbiol*. 2021 Mar;61 (3):180-202. doi: 10.1002/jobm.202000537. Epub 2021 Jan 18. PMID: 33460172; PMCID: PMC8013332.
- Kampf G,** Todt D, Pfaender S, Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and its inactivation with biocidal agents. *J Hosp Infect*. 2020; 104 (3):246-251.
- Kim D,** Lee J-Y, Yang J-S, et al. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell* 2020;181: 914–921.
- Kim S,** Kim MJ, Kim CH, Kang JW, Shin HK, Kim DY, et al. The superiority of IFN-lambda as a therapeutic candidate to control acute influenza viral lung infection. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2017 ;56 (2):202–12. 10.1165/rcmb.2016-0174OC
- Klinkhammer J.,** Schnepf D., Ye L., Schwaderlapp M., Gad H.H., Hartmann R. IFN- λ prevents influenza virus spread from the upper airways to the lungs and limits virus transmission. *Elife*. 2018;7:e33354. doi: 10.7554/eLife.33354.
- Kopel J,** Perisetti A, Roghani A, Aziz M, Gajendran M, Goyal H. Racial and gender-based differences in COVID-19. *Front public Heal*. 2020;8:418
- Kuri-Cervantes L.,** Pampena M.B., Meng W., Rosenfeld A.M., Ittner C., Weisman A.R. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci Immunol*. 2020;5:eabd7114. doi: 10.1126/sciimmunol.abd7114
- Lau S.K.P.,** Lau C.C.Y., Chan K.-H., Li C.P.Y., Chen H., Jin D.-Y. Delayed induction of proinflammatory cytokines and suppression of innate antiviral response by the novel Middle East respiratory syndrome coronavirus: implications for pathogenesis and treatment. *J Gen Virol*. 2013;94 (Pt 12):2679–2690. PubMed PMID: 24077366. Epub 2013/09/28. eng.
- Lau SK,** Woo PC, Li KS, et al. Severe acute respiratory syndrome coronaviruslike virus in Chinese horseshoe bats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102 (39):14040-14045.
- Law HKW,** Cheung CY, Ng HY, Sia SF, Chan YO, Luk W. SARS-koronavirüsü ile enfekte, monosit türevli insan dendritik hücrelerinde kemokin yukarı regülasyonu. *Kan*. 2005; 106 (7):2366–2374. PubMed PMID: 15860669. Epub 2005/04/28. İng,
- Lazear HM,** Schoggins JW, Diamond MS. Shared and distinct functions of type I and type III interferons. *Immunity*. 2019;50:907–923.
- Lee DH,** Cho Y, Seo JY, Kwon JH, Cho EJ, Jang ES, Kwak MS, Cheong JY, Cho SW, Lee JH, Yu SJ, Yoon JH, Lee HS, Kim CY, Shin HD, Kim YJ. Polymorphisms near interleukin 28B gene are not associated with hepatitis B virus clearance, hepatitis B e antigen clearance and hepatocellular carcinoma occurrence. *Intervirology*. 2013;56 (2):84-90. doi: 10.1159/000342526. Epub 2013 Jan 22. PMID: 23343781.
- Lee MH,** Yang HI, Lu SN, et al. Polymorphisms near the IFNL3 gene associated with HCV RNA spontaneous clearance and hepatocellular carcinoma risk. *Sci Rep* 2015;5:17030.
- Lehrer S,** Rheinstein PH. ABO blood groups, COVID-19 infection and mortality. *Blood Cells Mol Dis*. 2021 Jul;89:102571. doi: 10.1016/j.bcmd.2021.102571. Epub 2021 Apr 21. PMID: 33894687; PMCID: PMC8059281.

- Li G**, Chen X, Xu A, et al. Profile of specific antibodies to the SARS-associated coronavirus. *New England Journal of Medicine* 2003;349: 508–509.
- Li L-Q**, Huang T, Wang Y-Q, Wang Z-P, Liang Y, Huang T-B, Zhang H-Y, Sun W, Wang Y.. COVID-19 patients' clinical characteristics, discharge rate, and fatality rate of meta-analysis. *J Med Virol* 2020;92:577–583. 10.1002/jmv.25757.
- Lin S**, Chen H, Chen Z, Yang F, Ye F, Zheng Y, Yang J, Lin X, Sun H, Wang L, Wen A, Dong H, Xiao Q, Deng D, Cao Y, Lu G. Crystal structure of SARS-CoV-2 nsp10 bound to nsp14-ExoN domain reveals an exoribonuclease with both structural and functional integrity. *Nucleic Acids Res.* 2021 May 21;49 (9):5382-5392. doi: 10.1093/nar/gkab320. PMID: 33956156; PMCID: PMC8136770.
- Liu B**, Chen S, Guan Y, Chen L. Type III interferon induces distinct SOCS1 expression pattern that contributes to delayed but prolonged activation of Jak/STAT signaling pathway: implications for treatment non-response in HCV patients. *PLoS One* 2015; 10 (7):e0133800. 10.1371/journal.pone.0133800
- Liu Y.**, Du X., Chen J., Jin Y., Peng L., Wang H. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an independent risk factor for mortality in hospitalized patients with COVID-19. *J Infect.* 2020;81:e6–e12. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.002.
- Lopez-Rodriguez R**, Trapero-Marugan M, Borque MJ, et al. Genetic variants of interferon-stimulated genes and IL-28B as host prognostic factors of response to combination treatment for chronic hepatitis C. *Clin Pharmacol Ther* 2011;90:712–21.
- Lu R.**, Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet (London England)* 2020;395, 565–574. 10.1016/s0140-6736 (20)30251-8
- Masters, PS & Perlman, S.** in *Fields Virology* Vol. 2 (eds Knipe, DM & Howley, PM) 825-858 (Lippincott Williams & Wilkins, 2013).
- Mavi D**, İnkaya AÇ. COVID-19: İmmün patogenezi. *FLORA* 2020;25 (28 Mayıs 2020).
- McKee M**, Stuckler D. Dünya ekonomiyi koruyamazsa, COVID-19 sağlığa sadece şimdi değil gelecekte de zarar verecek. *Nat Med.* 2020; 26 (5):640–642. doi: 10.1038/s41591-020-0863-y.
- Mehta P.**, McAuley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020;395:1033–1034. doi: 10.1016/S0140-6736 (20)30628-0.
- Merad M.**, Martin J.C. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat Rev Immunol.* 2020;20:355–362. doi: 10.1038/s41577-020-0331-4.
- Middleton E.A.**, He X.-Y., Denorme F., Campbell R.A., Ng D., Salvatore S.P. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood.* 2020;136:1169–1179. DOI: 10.1182/blood.2020007008.
- Millet J.K.**, Whittaker G.R. Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res.* 2015;202:120–134
- Mirza M U**, Froeyen M, Structural elucidation of SARS-CoV-2 vital proteins: Computational methods reveal potential drug candidates against main protease, Nsp12 polymerase and Nsp13 helicase, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2020;10 (4):320-328 <https://doi.org/10.1016/j.jpah.2020.04.008>.
- Morrow MP**, Pankhong P, Laddy DJ, Schoenly KA, Yan J, Cisper N, Weiner DB. Comparative ability of IL-12 and IL-28B to regulate Treg populations and enhance adaptive cellular immunity. *Blood.* 2009;113 (23):5868–5877. doi: 10.1182/blood-2008-11-190520.
- Mousavi Nasab SD**, Baharlou R, Piroozmand A, Toghiani H, Shadmeh E, Fazel H, Sadeghi K, Hashemi SM, Shokouh MR, Gheshlaghi A, Ahmadi NA, Ahmadi Vasmehjani A. Distribution of IL-28B

genotypes in patients with hepatitis C and healthy individuals in Jahrom city. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench.* 2015 Fall;8 (4):278-87. PMID: 26468348; PMCID: PMC4600518.

- Mustafa Hellou M**, Górska A, Mazzaferri F, Cremonini E, Gentilotti E, De Nardo P, Poran I, Leeflang MM, Tacconelli E, Paul M. Nucleic acid amplification tests on respiratory samples for the diagnosis of coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2021;27:341–351. 10.1016/j.cmi.2020.11.002.
- Nakanishi T**, Pigazzini S, Degenhardt F, Cordioli M, Butler-Laporte G, Maya-Miles D, Bujanda L, Bouysran Y, Niemi ME, Palom A, Ellinghaus D, Khan A, Martínez-Bueno M, Rolker S, Amitrano S, Roade Tato L, Fava F; FinnGen; COVID-19 Host Genetics Initiative (HGI), Spinner CD, Prati D, Bernardo D, Garcia F, Darcis G, Fernández-Cadenas I, Holter JC, Banales JM, Frithiof R, Kiryluk K, Duga S, Asselta R, Pereira AC, Romero-Gómez M, Nafria-Jiménez B, Hov JR, Migeotte I, Renieri A, Planas AM, Ludwig KU, Buti M, Rahmouni S, Alarcón-Riquelme ME, Schulte EC, Franke A, Karlsen TH, Valenti L, Zeberg H, Richards JB, Ganna A. Age-dependent impact of the major common genetic risk factor for COVID-19 on severity and mortality. *J Clin Invest.* 2021 Dec 1;131 (23):e152386. doi: 10.1172/JCI152386. PMID: 34597274; PMCID: PMC8631592.
- Naqvi A. A. T.**, Fatima K., Mohammad T., Fatima U., Singh I. K., Singh A., et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020;1866, 165878. 10.1016/j.bbadis.2020.165878
- Nolan T**, Hands RE, Bustin SA. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nat. Protoc.* 2006;1:1559–1582.
- Nordestgaard BG**, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: Consensus Statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J.* 2013;34 (45):3478–3490. doi: 10.1093/eurheartj/eht273
- Novelli G**, et al. COVID-19 one year into the pandemic: from genetics and genomics to therapy, vaccination, and policy. *Hum Genomics.* 2021;15 (1):1–13. doi: 10.1186/s40246-020-00297-x.
- O'Driscoll M**, et al. Age-specific mortality and immunity patterns of SARS-CoV-2. *Nature.* 2020;590 (7844):140–145.
- Okba N.M.A.**, Müller M.A., Li W., Wang C., Geurtsvan Kessel C.H., Corman V.M. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-specific antibody responses in Coronavirus Disease 2019 patients. *Emerg Infect Dis.* 2020;26 doi: 10.3201/eid2607.200841. [published online ahead of print, 2020 April 8]
- Olarte L**, et al. Apolipoprotein E epsilon4 and age at onset of sporadic and familial Alzheimer disease in Caribbean Hispanics. *Arch Neurol.* 2006;63 (11):1586–1590. doi: 10.1001/archneur.63.11.1586
- Onder G**, Rezza G, Brusaferro S. Case-fatality rate and characteristics of patients dying in relation to COVID-19 in Italy. *JAMA.* 2020 Mar 23. doi: 10.1001/jama.2020.4683.
- Ortiz-Prado E**, Simbaña-Rivera K, Gómez-Barreno L, Rubio-Neira M, Guaman LP, Kyriakidis NC, Muslin C, Jaramillo AMG, Barba-Ostria C, Cevallos-Robalino D, Sanches-SanMiguel H, Unigarro L, Zalakeviciute R, Gadian N, López-Cortés A. Clinical, molecular, and epidemiological characterization of the SARS-CoV-2 virus and the coronavirus disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2020;98:115094. 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115094.
- Oztan G**, Issever H. Molecular Structure and Genomic Characterization of The New Coronavirus (Covid-19). *Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi* 2020; 3 (2): 61-71. <https://doi.org/10.26650/JARHS2020-726533>
- Padoan A.**, Cosma C., Sciacovelli L., Faggian D., Plebani M. Analytical performances of a chemiluminescence immunoassay for SARS-CoV-2 IgM/IgG and antibody kinetics. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58:1081–1088. doi: 10.1515/cclm-2020-0443

- Pairo-Castineira E**, et al. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19. *Nature*. 2020;591 (7848):92–98.
- Park A.**, Iwasaki A. Type I and Type III interferons – induction, signaling, evasion and application to combat Covid-19. *Cell Host Microbe*. 2020;27:870–878. doi: 10.1016/j.chom.2020.05.008.
- Parkin J**, Cohen B. An overview of the immune system. *Lancet* 2021;357: 1777–1789. (10.1016/S0140-6736(00)04904-7)
- Pott J**, Mahlakoiv T, Mordstein M, Duerr CU, Michiels T, Stockinger S, et al. IFN-lambda determines the intestinal epithelial antiviral host defense. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108 (19):7944–9. 10.1073/pnas.1100552108
- Qiao B.**, de la Cruz M. Enhanced binding of SARS-CoV-2 spike protein to receptor by distal polybasic cleavage sites. *ACS Nano*. 2020;14:10616–10623. doi: 10.1021/acsnano.0c04798
- Quinti I.**, Lougaris V., Milito C., Cinetto F., Pecoraro A., Mezzaroma I. A possible role for B cells in COVID-19?: lesson from patients with Agammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146:211–213. doi: 10.1016/j.jaci.2020.04.013. e4.
- Rahimi P**, Tarharoudi R, Rahimpour A, Mosayebi Amroabadi J, Ahmadi I, Anvari E, Siadat SD, Aghasadeghi M, Fateh A. The association between interferon lambda 3 and 4 gene single-nucleotide polymorphisms and the recovery of COVID-19 patients. *Virology*. 2021 Nov 14;18 (1):221. doi: 10.1186/s12985-021-01692-z. PMID: 34775984; PMCID: PMC8590865.
- Rasool G**, Riaz M, Abbas M, Fatima H, Qamar MM, Zafar F, Mahmood Z. COVID-19: Clinical laboratory diagnosis and monitoring of novel coronavirus infected patients using molecular, serological and biochemical markers: A review. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2022 Jan-Dec;36:3946320 221115316. doi: 10.1177/03946320221115316. PMID: 35840546; PMCID: PMC9289644.
- Rothe C**, Schunk M, Sothmann P, Bretzel G, Froeschl G, Wallrauch C. et al. Transmission of 2019 nCoV infection from an asymptomatic contact in Germany. *N Engl J Med*. 2020; 382 (10):970-971. doi: 10.1056/NEJMc2001468
- Sabbaghi A**, Zargar M, Zolfaghari MR, Motamedi-Sedeh F, Ghaemi A. Protective cellular and mucosal immune responses following nasal administration of a whole gamma-irradiated influenza A (subtype H1N1) vaccine adjuvanted with interleukin-28B in a mouse model. *Arch Virol*. 2021 Feb;166 (2):545-557. doi: 10.1007/s00705-020-04900-3. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33409549; PMCID: PMC7787640.
- Safiabadi Tali SH**, LeBlanc JJ, Sadiq Z, Oyewunmi OD, Camargo C, Nikpour B, Armanfard N, Sagan SM, Jahanshahi-Anbuhi S. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev*. 2021 May 12;34 (3):e00228-20. doi: 10.1128/CMR.00228-20. PMID: 33980687; PMCID: PMC8142517.
- Santer DM**, Li D, Ghosheh Y, Zahoor MA, Prajapati D, Hansen BE, Tyrrell DLJ, Feld JJ, Gehring AJ. Interferon-λ treatment accelerates SARS-CoV-2 clearance despite age-related delays in the induction of T cell immunity. *Nat Commun*. 2022 Nov 16;13 (1):6992. doi: 10.1038/s41467-022-34709-4. PMID: 36385011; PMCID: PMC9667439.
- Sastry S**, Cuomo F, Muthusamy J. COVID-19 and thrombosis: The role of hemodynamics. *Thromb Res*. 2022 Apr;212:51-57. doi: 10.1016/j.thromres.2022.02.016. Epub 2022 Feb 23. PMID: 35219932; PMCID: PMC8864963.
- Schoeman D & Fielding BC**. Is there a link between the pathogenic human coronavirus envelope protein and immunopathology? A review of the literature. *Front Microbiol* 2020;11: 2086.
- Sethuraman N**, Jeremiah SS, Ryo A, et al. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *Jama* 2020;323: 2249–2251

- Shaw AC**, Goldstein DR, Montgomery RR Doğuştan bağışıklığın yaşa bağlı düzensizliği. *Doğa Rev İmmünol.* 2013; 13 (12):875-887. PubMed PMID: 24157572. Epub 2013/10/25. İng.
- Sheikh A**, Al-Taher A, Al-Nazawi M, Al-Mubarak AI, Kandeel M. Analysis of preferred codon usage in the coronavirus N genes and their implications for genome evolution and vaccine design. *J Virol Methods* 2020;277:113806. doi: 10.1016/j.jviromet.2019.113806.
- Sheppard P**, Kindsvogel W, Xu W, Henderson K, Schlutsmeyer S, Whitmore TE, et al. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat Immunol* 2003; 4 (1):63–8. 10.1038/ni873
- Shi Y.**, Wang Y., Shao C., Huang J., Gan J., Huang X. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses. *Cell Death Differ.* 2020;27:1451–1454. doi: 10.1038/s41418-020-0530-3
- Shoenfeld Y.** Corona (COVID-19) time musings: our involvement in COVID-19 pathogenesis, diagnosis, treatment and vaccine planning. *Autoimmun Rev.* 2020;19:102538. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102538
- Singhal T.** A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatr* 3020;87:281–286. 10.1007/s12098-020-03263-6
- Struyf T**, Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Leeftang MM, Spijker R, Hooft L, Emperador D, Ditttrich S, Domen J, Horn SRA, Van den Bruel A, Cochrane COVID-19 Diagnostic Test Accuracy Group. Signs and symptoms to determine if a patient presenting in primary care or hospital outpatient settings has COVID-19 disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2020;7:CD013665. 10.1002/14651858.CD013665.
- Su S**, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016;24:490–502.
- Sun S.**, Zhao G., Liu C., Wu X., Guo Y., Yu H. Inhibition of complement activation alleviates acute lung injury induced by highly pathogenic avian influenza H5N1 virus infection. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013;49:221–230. doi: 10.1165/rcmb.2012-0428OC.
- Suo GJ**, Zhao ZX. Association of the interleukin-28B gene polymorphism with development of hepatitis virus-related hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis: a meta-analysis. *Genet Mol Res.* 2013;12:3708–17.
- T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü:** COVID-19 (SARS-CoV2 Enfeksiyonu) Rehberi. Bilim Kurulu Çalışması, T.C. Sağlık Bakanlığı. 07 Aralık 2020, Ankara
- T.G. Ksiazek**, D. Erdman, C.S. Goldsmith, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome *Engl J Med*, 2003;348 : 1953-1966
- Tekol, S. D.** SARS-CoV-2: Virolojisi ve Tanıda Kullanılan Mikrobiyolojik Testler. *Southern Clinics of Istanbul Eurasia* 2020.
- The Severe Covid-19 GWAS Group.** Genome wide association study of severe Covid-19 with respiratory failure. *N Engl J Med.* 2020;383:1522–1534. doi: 10.1056/NEJMoa2020283.
- Tian S.**, Xiong Y., Liu H., Niu L., Guo J., Liao M. Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through postmortem core biopsies. *Mod Pathol.* 2020;33:1007–1014. doi: 10.1038/s41379-020-0536-x.
- Tomaiuolo R.**, Ruocco A., Salapete C., Carru C., Baggio G., Franceschi C. Activity of mannose-binding lectin in centenarians. *Aging Cell.* 2012;11:394–400. doi: 10.1111/j.1474-9726.2012.00793.x.
- Ulinici M**, Covantev S, Wingfield-Digby J, et al. Screening, diagnostic and prognostic tests for COVID-19: a comprehensive review. *Life* 2021;11: 561.

- Van Der Kolk DM**, et al. Penetrance of breast cancer, ovarian cancer and contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 families: High cancer incidence at older age. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;124 (3):643–651. doi: 10.1007/s10549-010-0805-3.
- V'kovski P**, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS CoV-2. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19 (3):155- 170.
- Walls A. C.**, Park Y. J., Tortorici M. A., Wall A., McGuire A. T., Velesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell* 2020;181:281–292.e286. 10.1016/j.cell.2020.02.058
- Wang D**, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China . *JAMA.* 2020; 323 (11):1061- 1069. doi:10.1001/jama.2020.1585
- Wang MY**, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020 Nov 25;10:587269. doi: 10.3389/fcimb.2020.587269. PMID: 33324574; PMCID: PMC7723891.
- Watanabe Y.**, Allen J.D., Wrapp D., McLellan J.S., Crispin M. Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike. *Science.* 2020;369:330–333. doi: 10.1126/science.abb9983.
- WHO**, Diagnostic testing for SARS-CoV-2 Interim guidance, 11 September 2020
- Williamson EJ**, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature.* 2020; **584** (7821):430–436. doi: 10.1038/s41586-020-2521-4.
- Woo PC**, et al. Discovery of seven novel mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *J. Virol.* 2012;86:3995–4008.
- World Health Organization (2020)** Novel coronavirus (2019-nCoV) Situation Report 11, 31 January 2020 [Online]. Erişim: [<https://apps.who.int/iris/handle/10665/330776>] Erişim Tarihi:10.06.2022
- World Health Organization** Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) (November 2019) Available from: <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en>
- Wrapp D.**, Wang N., Corbett K.S., Goldsmith J.A., Hsieh C.-L., Abiona O., Graham B.S., McLellan J.S. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science.* 2020;367:1260–1263
- Wrobel A.G.**, Benton D.J., Xu P., Roustan C., Martin S.R., Rosenthal P.B., Skehel J.J., Gamblin S.J. SARS-CoV-2 and bat RaTG13 spike glycoprotein structures inform on virus evolution and furin-cleavage effects. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2020;27:763–767.
- Wrobel A.G.**, Benton D.J., Xu P., Roustan C., Martin S.R., Rosenthal P.B., Skehel J.J., Gamblin S.J. SARS-CoV-2 and bat RaTG13 spike glycoprotein structures inform on virus evolution and furin-cleavage effects. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2020;27:763–767.
- Xu Z.**, Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med.* 2020;8:420–422. doi: 10.1016/S2213-2600 (20)30076-X. [published correction appears in *Lancet Respir Med.* 2020 February 25]
- Y.C. Wu**, C.S. Chen, Y.J. Chan, March The outbreak of COVID-19: an overview *J Chin Med Assoc.* 2020;83 (3) : 217-220
- Yamamoto N**, Nishida N, Yamamoto R, Gojobori T, Shimotohno K, Mizokami M, Ariumi Y. Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) 1 Gene Polymorphism and Phenotypic Expression of COVID-19 Symptoms. *Genes (Basel).* 2021 Oct 1;12 (10):1572. doi: 10.3390/genes12101572. PMID: 34680966; PMCID: PMC8535484.

- Ye Q**, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect.* 2020 Jun;80 (6):607-613. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.037. Epub 2020 Apr 10. PMID: 32283152; PMCID: PMC7194613.
- Yılmaz E. A.**, & ÖZDEMİR, Ö. SARS-CoV-2 Enfeksiyonunda Patofizyoloji ve İmmün Sistemin Rolünün Klinik Bulgular ve Tedaviye Yansımaları. *Sakarya Tıp Dergisi*, 2022;12 (1), 178-187.
- Ying SY**, Hu YR, Gao GS, Lou KH, Huang Z. Interleukin-28B polymorphisms predict the efficacy of peginterferon alpha in patients with chronic hepatitis B: a meta-analysis. *Front Med (Lausanne)* 2021;8:691365.
- Yongchen Z**, Shen H, Wang X, et al. Different longitudinal patterns of nucleic acid and serology testing results based on disease severity of COVID-19 patients. *Emerging microbes & infections* 2020;9: 833–836.
- Yousefzadegan S.**, Rezaei N. Case Report: Death due to COVID-19 in Three Brothers. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020;102:1203–1204. doi: 10.4269/ajtmh.20-0240.
- Yüce M**, Filiztekin E, Özkaya KG. COVID-19 diagnosis -A review of current methods. *Biosens Bioelectron.* 2021;172:112752.
- Zandi M**, Behboudi E, Soltani S. Role of Glycoprotein Hemagglutinin-Esterase in COVID-19 Pathophysiology? *Stem Cell Rev Rep.* 2021 Dec;17 (6):2359-2360. doi: 10.1007/s12015-021-10210-1. Epub 2021 Jun 28. PMID: 34181186; PMCID: PMC8237253.
- Zhang H.**, Zhou G., Zhi L., Yang H., Zhai Y., Dong X. Association between mannose-binding lectin gene polymorphisms and susceptibility to severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J Infect Dis.* 2005;192:1355–1361. doi: 10.1086/491479.
- Zhang Q.**, Bastard P., Liu Z., Le Pen J., Moncada-Velez M., Chen J., Ogishi M., Sabli I.K.D., Hodeib S., Korol C., et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science.* 2020:eabd4570. doi: 10.1126/science.abd4570. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar] [Ref list]
- Zhao J.**, Yuan Q., Wang H., Liu W., Liao X., Su Y. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020;71:2027–2034. doi: 10.1093/cid/ciaa344.
- Zhou P.**, Yang X. L., Wang X. G., Hu B., Zhang L., Zhang W., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020;2020579:270–273. 10.1038/s41586-020-2012-7
- Zhou Z**, Hamming OJ, Ank N, Paludan SR, Nielsen AL, et al. Type III interferon (IFN) induces a type I IFN-like response in a restricted subset of cells through signaling pathways involving both the Jak-STAT pathway and the mitogen-activated protein kinases. *J Virol.* 2007;81:7749–7758.
- Zou L**, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, Yu J, Kang M, Song Y, Xia J, Guo Q, Song T, He J, Yen HL, Peiris M, Wu J. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med.* 2020 Mar 19;382 (12):1177-1179. doi: 10.1056/NEJMc2001737. Epub 2020 Feb 19. PMID: 32074444; PMCID: PMC7121626.
- Zuo Y.**, Yalavarthi S., Shi H., Gockman K., Zuo M., Madison J.A. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight.* 2020;5:e138999. doi: 10.1172/jci.insight.138999.