

**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**İTERLÖKİN-6 VE İTERLÖKİN-10 GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLER
İLE ŞİDDETLİ COVID-19 ENFEKSİYONU ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
BELİRLENMESİ**

Ahmed Hadi Dakheel DAKHEEL

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÇANKIRI
2024**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ahmed Hadi Dakheel DAKHEEL tarafından hazırlanan “**İnterlökün-6 ve İnterlökün-10 Genlerindeki Polimorfizmler ile Şiddetli Covid-19 Enfeksiyonu Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışması 31/05/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

Eş Danışman : Prof. Dr. Abbas Dakheel MATER

Jüri Üyeleri :

Başkan : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Fiziki Coğrafya Anabilim Dalı
Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Mine TÜRKTAAŞ
Biyoloji Anabilim Dalı
Gazi Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Serkan GÜLSOY
Toprak İlimi ve Ekolojisi Anabilim Dalı
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Ebru ÖZDENİZ
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ebru GÜL
Orman Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**İnterlökin-6 ve İnterlökin-10 Genlerindeki Polimorfizmler ile Şiddetli Covid-19 Enfeksiyonu Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (31/05/2024).

Ahmed Hadi Dakheel DAKHEEL

ÖZET

Doktora Tezi

İNERLÖKİN-6 VE İNERLÖKİN-10 GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLER İLE ŞİDDETLİ COVID-19 ENFEKSİYONU ARASINDAKİ İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ

Ahmed Hadi Dakheel DAKHEEL

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Eş Danışman: Prof. Dr. Abbas Dakheel MATER

Mevcut COVID-19 salgını, hastalığın duyarlılığına ve şiddetine katkıda bulunabilecek genetik değişkenlerin bulunması için acil bir gereklilik yaratmıştır. Bu çalışmanın amacı, interlökin-6 (IL-6) (rs7802307 ve rs7802308) ve interlökin -10 (IL-10) (rs1800896) gen polimorfizmleri ile SARS-COV-2 arasındaki ilişkiyi incelemektir. Bu doğrultuda çalışmaya 50 COVID-19'lu birey ve 50 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplamda 100 kişi katılmıştır. Hasta grubunun yaşları 15 ile 72 arasında değişen 38 erkek ve 12 kadın iken kontrol grubunun yaşları 19 ile 54 arasında değişen 34 erkek ve 16 kadından oluşmaktadır. Çalışma Nisan-Ağustos 2022 tarihleri arasında Al-Hussain Eğitim Hastanesi'nde yürütülmüştür. Her iki grubun C-Reaktif Protein ve D-dimer düzeyleri belirlenmiş ve hasta grubunun sağlıklı gruba kıyasla önemli ölçüde daha yüksek değerlere sahip olduğu bulunmuştur, IL-6 ve IL-10 genetik dizisi, 25 hasta örneği (S1'den S25'e kadar) ve 25 kontrol örneği (C1'den C25'e kadar) olmak üzere 50 örnekte analiz edilmiştir. IL-6 geninin belirli bir bölgesini çoğaltmak için 708 bp'lik ve IL-10 geninin belirli bir bölgesini çoğaltmak için 781 bp'lik bir PCR parçası oluşturulmuştur. Amplifiye edilen segment, IL-6 geninde (rs7802307 ve rs7802308, T540A, T541A) ve IL-10 geninde (rs1800896, T327C) tek nükleotid polimorfizmi (SNP) içerecek şekilde dikkatle tasarlanmıştır. İncelenen örneklerde, IL-6 geninde homozigot AA, heterozigot TA ve homozigot TT paterni belirlenmiştir. rs7802307 için homozigot AA varyantı çoğu vakada ve kontrollerde bulunmuştur. rs7802308 için, vakaların ve kontrollerin çoğunda homozigot TT varyantı bulunmuştur. Bu araştırmanın bulguları, rs7802307 (rs7802307 T>A=0,33 için p-değeri) ve rs7802308 SNP (rs7802308 T>A=0,45 için p-değeri) ile SARS-COV-2 gelişimi arasında anlamlı bir sonuç olduğunu belirleyememiştir. IL-10 geninin üç formu CC, TC ve CC genotipini içermektedir. Bulgulara dayanarak, rs1800896 T>C IL-10 gen varyantı ile SARS-COV-2 riskinin ilişkili olabileceği görülmektedir.

2024, 65 sayfa

ANAHTAR KELİMELEER: Covid-19, IL-6, IL-10, Polimorfizm

ABSTRACT

PhD Thesis

DETERMINATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN POLYMORPHISMS IN INTERLEUKIN-6 AND INTERLEUKIN-10 GENES AND SEVERE COVID-19 INFECTION

Ahmed Hadi Dakheel DAKHEEL

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Melda DÖLARSLAN
Co-Advisor: Prof. Dr. Abbas Dakheel MATER

The current COVID-19 pandemic has created an urgent requirement to find genetic variants that may contribute to the susceptibility and severity of the disease. The aim of this study was to examine the association between interleukin-6 (IL-6) (rs7802307 and rs7802308) and interleukin-10 (IL-10) (rs1800896) gene polymorphisms and SARS-COV-2. In this direction, a total of 100 people, 50 individuals with COVID-19 and 50 healthy controls, participated in the study. The patient group consisted of 38 men and 12 women aged between 15 and 72, while the control group consisted of 34 men and 16 women aged between 19 and 54. The study was conducted at Al-Hussain Teaching Hospital between April and August 2022. C-Reactive Protein and D-dimer levels of both groups were determined and it was found that the patient group had significantly higher values compared to the healthy group. IL-6 and IL-10 genetic sequence was analysed in 50 samples, 25 patient samples (S1 to S25) and 25 control samples (C1 to C25). A PCR fragment of 708 bp was generated to amplify a specific region of the IL-6 gene and 781 bp to amplify a specific region of the IL-10 gene. The amplified segment was carefully designed to contain single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the IL-6 gene (rs7802307 and rs7802308, T540A, T541A) and IL-10 gene (rs1800896, T327C). For rs7802307, the homozygous AA variant was found in most cases and controls. For rs7802308, the homozygous TT variant was found in most cases and controls. The findings of this study failed to identify a significant outcome between the rs7802307 (p-value for rs7802307 T>A=0.33) and rs7802308 SNP (p-value for rs7802308 T>A=0.45) and the development of SARS-COV-2. The three forms of the IL-10 gene include the CC, TC and CC genotype. Based on the findings, it appears that the rs1800896 T>C IL-10 gene variant may be associated with SARS-COV-2 risk.

2024, 65 pages

Keywords: Covid-19, IL-6, IL-10, Polymorphism

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN'a sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

Ahmed Hadi Dakheel DAKHEEL

Çankırı, Mayıs 2024



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 Koronavirüsler	3
2.1.1 SARS-CoV-2 enfeksiyonunun mekanizması	5
2.2 İnterlökin-6 (IL-6).....	6
2.2.1 IL-6'nın düzenleyici mekanizmaları	7
2.2.2 COVID-19'da IL-6.....	8
2.3 İnterlökin-10 (IL-10).....	10
2.3.1 IL-10'un COVID-19'daki rolü.....	11
2.4 IL-6 ve IL-10 Gen Polimorfizmleri ve COVID-19	14
3. MATERYAL VE METOT	18
3.1 Materyal.....	18
3.1.1 Makine ve teçhizat	18
3.1.2 Kimyasal malzemeler	19
3.1.3 Kitler	19
3.1.4 Primerler	19
3.2 Yöntem	20
3.2.1 COVID-19 tanısı için RT-PCR testi.....	20
3.2.2 DNA izolasyonu.....	21
3.2.3 Hedef genlerin PCR ile tespiti	22
3.2.4 Agaroz jel elektroforezi	23
3.3 İstatistiksel Analiz	24

4. BULGULAR.....	25
4.1 Çalışma Gruplarının Yaş Ortalaması	25
4.2 Cinsiyete Göre Çalışma Grubu Dağılımı	25
4.3 Çalışma Gruplarının Temel Parametrelere Göre Karşılaştırılması	26
4.4 Çalışma Genleri İçin PCR Sonuçları	26
4.5 Genotipleme Analizi.....	28
4.5.1 IL-6 gen polimorfizmi.....	28
4.5.2 IL-10 gen polimorfizmi.....	35
5. TARTIŞMA.....	44
5.1 Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri	44
5.2 IL-6 ve IL-10 için PCR Sonuçları.....	44
5.3 IL-6 Gen Polimorfizmi.....	45
5.4 IL-10 Gen Polimorfizmi.....	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ.....	65

SİMGELER DİZİNİ

±	Artı, eksi
dk.	Dakika
°C	Derece santigrat
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
nm	Nanometre
pg	Pikogram
s	Saniye
%	Yüzde



KISALTMALAR DİZİNİ

ACE2	Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2
APC	Antijen sunan hücreler
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
HWE	Hardy-weinberg dengesi
HCOV-229E	İnsan koronavirüsü 229E
HCOVHKU1	İnsan koronavirüsü HKU1
HCOV-NL63	İnsan koronavirüsü NL63
HCOV-OC43	İnsan koronavirüsü OC43
IL-6	İnterlökin-6
IL-10	İnterlökin-10
CAR-T	Kimerik antijen reseptörü-T
MERS-COV	Orta doğu solunum sendromu koronavirüsü
CRS	Sitokin salınım sendromu
SARS-COV	Şiddetli akut solunum sendromu
TLR's	Toll benzeri reseptörler

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1	1Agaroz jel elektroforezi yoluyla IL-10 gen ürünü amplifikasyonu.....	27
Şekil 4.2	Agaroz jel elektroforezi yoluyla IL-6 gen ürünü amplifikasyonu.....	27
Şekil 4.3	Alınan rs7802307 ve rs7802308 SNP'lerin kromozom No. 7 üzerindeki kesin konumu.....	29
Şekil 4.4	IL-6 geninin 708 bp PCR fragmanları için referans dizilerinin, çalışma grubu numunelerinin DNA dizileriyle hizalanması.....	31
Şekil 4.5	SNP, IL-6 geninin hedeflenen 708 bp ampliconlarının kromatogramı	32
Şekil 4.6	IL10 geninin alınan rs1800896'sının kromozom No. 1 içindeki konumu	36
Şekil 4.7	Araştırılan IL-10 geninin 781 bp PCR fragmanları için referans dizilerinin, çalışma grubu örneklerinin DNA dizileriyle hizalanması	38
Şekil 4.8	SNP, IL10 geninin hedeflenen 781 bp ampliconlarının kromatogramı	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Çalışmada kullanılan makine ve teçhizatlar	18
Çizelge 3.2	Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler	19
Çizelge 3.3	Çalışmada kullanılan kitler	19
Çizelge 3.4	Gen amplifikasyonu için primer dizileri	19
Çizelge 3.5	IL-10 geninin PCR programı	22
Çizelge 3.6	IL-6 geninin PCR programı	22
Çizelge 4.1	Çalışma grubunun yaşa göre dağılımı	25
Çizelge 4.2	Çalışma grubunun cinsiyete göre dağılımı	25
Çizelge 4.3	Çalışma gruplarının temel parametrelerle karşılaştırılması	26
Çizelge 4.4	IL-6 ve IL-10 genlerine ilişkin PCR bulguları.....	26
Çizelge 4.5	IL-6 geninin bir segmentini çoğaltmak için kullanılan 708bp PCR amplikonlarının konumu ve uzunluğu	30
Çizelge 4.6	Çalışma grupları arasında rs7802307 ve rs7802308 T>A IL6 genotip sıklığı	33
Çizelge 4.7	Çalışma grupları arasında rs7802307 ve rs7802308 T>A IL6'nın alel frekansı.....	34
Çizelge 4.8	T>A IL6'nın HWE'nin Kontroller arasında rs7802307 ve rs7802308 genotipleri	34
Çizelge 4.9	Resesif model altında rs7802307 ve rs7802308 T>A IL-6 SNP dağılımı .	35
Çizelge 4.10	Baskın model altında rs7802307 ve rs7802308 T>A IL6 SNP'nin dağılımı	35
Çizelge 4.11	IL-10 geninin bir segmentini amplifiye etmek için kullanılan 781 bp PCR amplikonlarının konumu ve uzunluğu.....	37
Çizelge 4.12	COVID 19 hastaları ve kontrol grubu arasında rs1800896 T>C IL10 genotip sıklığı	41
Çizelge 4.13	COVID 19 ve kontrol arasında rs1800896 T>C IL-10 alel sıklığı.....	42
Çizelge 4.14	Kontrol grubu arasında rs1800896 T>C IL-10'da Hardy-weinberg dengesi	42
Çizelge 4.15	Resesif model altında bu çalışma popülasyonunda rs1800896 T>C IL-10 SNP'nin dağılımı.....	42
Çizelge 4.16	Baskın model altında bu çalışma popülasyonunda rs1800896 T>C IL-10 SNP'nin dağılımı.....	43

1. GİRİŞ

Yeni koronavirüs olarak da bilinen SARS-COV-2 virüsü, SARS-COV-2 olarak bilinen solunum yolu hastalığına neden olan oldukça bulaşıcı bir virüstür. İlk olarak Aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinde tanımlanmıştır. SARS-COV-2 o zamandan beri küresel olarak yayılmış ve dünya çapında milyonlarca kişiyi etkileyen bir pandemiye yol açmıştır (Wu *et al.* 2020). Wu *et al.* (2020)'e göre bu virüs, 2019'daki koronavirüs salgınının (SARS-COV-2) birincil nedeni ve dünya çapında genel halk sağlığı için ciddi bir tehlike olarak kabul edilmektedir. SARS-COV-2 enfeksiyonlarının çoğunda hafif ile orta şiddette semptomlar görülmesine rağmen, hastaların %20'sinden fazlasında ilginç bir şekilde akut akciğer hasarı (ALI) ve şiddetli akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) ortaya çıkmaktadır. Bu hastalıklar en uç durumlarda ölümlere, ciddi zatürreye ve alveollerde hasara neden olmuştur (Falahi *et al.* 2022). Gon *et al.* (2022)'a göre SARS-COV-2'nin tipik belirtileri arasında vücut ağrıları, boğaz ağrısı, ateş, öksürük, solunum güçlüğü, yorgunluk ve tat veya koku kaybı yer almaktadır. Ağır vakalarda, özellikle yaşlı kişilerde veya altta yatan tıbbi sorunları olanlarda, zatürre, organ yetmezliği ve hatta ölümle sonuçlanabilir.

SARS-COV-2 ile enfeksiyon, genellikle "sitokin fırtınaları" olarak adlandırılan iltihabı teşvik eden aşırı sitokinlere neden olur. Bahsedilen sitokinler interlökin-6 (IL-6), interlökin 10 (IL-10), interlökin 4 (IL-4), interlökin 18 (IL-18), tümör nekroz faktörü alfa (TNF α) ve interferon (IFN) γ 'dır (Costela-Ruiz *et al.* 2020). COVid-19 hastalarında ciddi tıbbi olayları etkileyen birincil faktör ve ana ölüm nedeni sitokin fırtınasıdır (Bhaskar *et al.* 2020).

Önemli bir inflamatuvar sitokin olan IL-6, hem immün hem de immün olmayan hücreler tarafından salgınır, akciğer dokusu birçok hücre türü içerir, hücreler arasında akciğer fibroblastları, alveolar epitel hücreleri (EC'ler), T lenfositleri ve alveolar makrofajlar bulunur (Zhang *et al.* 2020). SARS-COV-2 hastalarında IL-6, lenfosit apoptozunu indüklemeye rol oynar ve bu da sonuçta kanda düşük sayıda lenfosit gelişimine yol açar (Abbasifard and Khorramdelazad 2020). Yüksek IL-6 seviyelerinin bir sonucu olarak

önemli ölçüde daha az (HLA-DR) ifade edilir ve bu da lenfosit fonksiyonunu ciddi şekilde tehlikeye atar. Doğal öldürücü (NK) hücreler, CD4+ T hücreleri ve CD8+T hücreleri de azalmaktadır. Ayrıca, IL-6'nın SARS-COV-2 hastalarının ciddiyetini etkilediği ve bu ilişkinin olumsuz klinik sonuçlarla yüksek oranda ilişkili olduğu iyi bilinmektedir (Liu *et al.* 2021).

İnsanlar, IL-6 geni tarafından kodlanan 21 kilodaltonluk bir IL-6 glikoproteinine sahiptir ve kodlayan ve kodlamayan bölgeleri birkaç tek nükleotid polimorfizmi (SNP) içerir (Jia *et al.* 2015). Sitokinlerin oluşumundaki bireysel farklılıklar, intronlar, promotörler ve 3' ve 5'UTR bölümleri gibi düzenleyici alanlardaki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) varlığına bağlı olarak açıklanabilir. Bununla birlikte, genetik alanlardaki varyasyonlar üretilen proteinlerin işlevinin değişmesine veya bozulmasına neden olabilir (Haukim *et al.* 2002).

Pleiotropik sitokin IL-10 güçlü anti-inflamatuar ve immünosupresif özelliklere sahiptir. Başlangıçta T helper 2 hücreleri tarafından üretildiği düşünülen IL-10'un artık lenfoid ve miyeloid kökenli çeşitli bağışıklık hücreleri tarafından üretildiği ve hem adaptif hem de doğuştan gelen bağışıklıkta rolü olduğu bilinmektedir (Saraiva *et al.* 2019). Araştırmalara göre, IL-10'un yüksek ekspresyon seviyeleri SARS-COV-2 hastalarında kötü prognozun bir işaretidir ve SARS-COV-2 enfeksiyonunu takiben şiddetli inflamasyonun tipik bir göstergesidir. IL-10 sıklıkla bir anti-inflamatuar sitokin olarak kategorize edilir ve hastalığın erken evrelerinde kayda değer bir artış gösterir (Lu *et al.* 2021).

Bu doğrultuda çalışmamızda, İnterlökin-6 (IL-6) genindeki spesifik polimorfizmler (rs7802307 ve rs7802308) ile şiddetli COVID-19 enfeksiyonu arasındaki bağlantının araştırılması, IL-10 genindeki belirli bir polimorfizm (rs1800896) ile şiddetli SARS-COV-2 enfeksiyonu arasındaki ilişkinin belirlenmesi, IL-6 ve IL-10 genlerindeki spesifik genetik varyasyonlar ile şiddetli SARS-COV-2 enfeksiyonu gelişme riski arasında anlamlı bir korelasyon olup olmadığının belirlenmesi, rs7802307, rs7802308 ve rs1800896 polimorfizmlerinin SARS-COV-2'li bireylerin şiddeti ve klinik sonuçları üzerindeki potansiyel etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Koronavirüsler

SARS-COV-2 virüsünün 25 ülkeye daha hızla yayılmasının ardından, 30 Ocak 2020'de Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Çin'in Hubei Eyaleti, Wuhan kentindeki salgına tepki olarak bir salgın ilan etmiştir. Bu durum, hastalığın ilk vakasının 31 Aralık 2019'da bildirilmesinden tam bir ay sonra gerçekleşmiştir (Xu *et al.* 2020).

Koronavirüslerin genetik materyal olarak tek iplikli bir RNA'ya sahiptir ve zarflıdır. Çapları 80 ile 120 nm arasında değişir ve koronavirüsler; alfa, beta, gama ve delta olmak üzere dört ana cins olarak sınıflandırılabilir. Alfa virüsü, insan koronavirüsü 229E (HCOV-229E) ve insan koronavirüsü NL63 (HCOV-NL63) gibi birden fazla türü içerir, bu virüsler öncelikle hafif solunum yolu enfeksiyonlarına neden olur. Beta virüsü, 2002-2003 yıllarındaki SARS salgınından sorumlu virüs olan SARS-COV, 2012 yılında meydana gelen salgının etkeni olan MERS-COV ve devam eden SARS-COV-2 pandemisinden sorumlu virüs olan SARS-COV-2'yi içerir. Gama virüsleri kümes hayvanlarını etkileyen enfeksiyöz bronşit virüsünü (IBV) içerirken, delta virüsleri domuz delta virüsü (PDCOV), kuş koronavirüsü ve öncelikle hayvanları etkileyen diğer bazı türleri içerir (Mollarasouli *et al.* 2022). Bu arada, SARS-COV'un homolojisi ve hastalığa neden olan mekanizması. SARS-COV-2, vücut sıcaklığı insanlarınkinden daha yüksek olan yarasalarda bir adaptasyon geliştirmiştir. Sonuç olarak, bu virüs SARS-COV'a kıyasla sıcaklığa karşı daha fazla direnç göstermektedir (He *et al.* 2009).

Bu virüsler genellikle kuş ve memeli türlerini enfekte eder ve tipik olarak insanlarda orta derecede solunum yolu hastalıklarına neden olur (Mollarasouli *et al.* 2022). RNA içeren ve ortaya çıkma olasılığı yüksek olan COVID-19 tarafından üretilen solunum yolu enfeksiyonları, son zamanlarda SARS ve kızamık da dahil olmak üzere insanlarda ölümcül salgınlara neden olmuştur (Mollarasouli *et al.* 2022). Ji *et al.* (2020)'e göre, her iki tür koronavirüs enfeksiyonunun etiyolojik ajanı *Coronaviridae* familyasının bir üyesidir ve zoonotiktir.

Koronavirüs, viral zarfın yüzeyinde bulunan Spike Proteinlerinden oluşur. Bu spike proteinler, virüsün konakçı hücreleri enfekte etme kabiliyetinde çok önemli bir rol oynar. İnsan hücrelerinin yüzeyinde bulunan ACE2 (Angiotensin-Converting Enzyme 2) gibi spesifik reseptörlere bağlanarak virüsün bu hücrelere girmesini ve enfekte etmesini sağlarlar. Zarf (E) proteinleri, membran (M) proteinleri ve nükleokapsid (N) proteinleri gibi diğer yapısal proteinler, virüsün yapısının korunmasına, genetik materyalin paketlenmesine ve viral birleşme ve salım sürecinin kolaylaştırılmasına yardımcı olur (Mollarasouli *et al.* 2022).

Spike, katepsin B ve L enzimlerinin aktivasyonunu tetikleyen asidik bir pH'a sahip lizozomlar ve endozomların varlığında homotrimer bir S glikoproteinidir; bu süreç S glikoproteininin S1 alt birimi, S2 alt birimi ve bir reseptör bağlayıcı alan (RBD) oluşturmak üzere bölünmesine yol açar. S1 alt birimi virüsün insan hücrelerinin yüzeyindeki reseptörlere, özellikle de ACE2 (anjiyotensin dönüştürücü enzim 2) reseptörüne bağlanmasına yardımcı olur. RBD özellikle ACE2 reseptörünü tanır ve ona bağlanır. Spike proteini ACE2 reseptörüne bağlandığında, S2 alt birimi konformasyonel bir değişikliğe uğrar. Bu değişiklik, viral zarfın konak hücre membranı ile füzyonunu sağlayarak virüsün hücreye girmesine ve enfekte olmasına izin verir (Mollarasouli *et al.* 2022). Virüs, hücre sitozolüne nüfuz etmek için yaklaşık pH=3 değerine ihtiyaç duyar. Virüs, RNA polimerazını kullanarak hücrenin sitoplazmasında çoğalır ve konakçı hücreden ayrıldıktan sonra komşu hücrelere yayılır (Mollarasouli *et al.* 2022). Konak hücreler, komşu hücrelerin yüzeyinde membranın bu hücrelere yapışmasına yardımcı olan spike proteinleri ürettiğinde bir sinsityum oluşur (Mollarasouli *et al.* 2022). Dahası, sinsityum oluşumu yalnızca etkilenen organın işleyişini bozmakla kalmaz, aynı zamanda virüsün çoğalması ve vücudun savunmasından kaçması için bir inkübatör görevi görür (Yan *et al.* 2020). Koronavirüsler, çift katmanlı veziküller oluşturarak örüntü tanıma reseptörlerinin (PRR'ler) aktive olmasını engeller. Sonuç olarak, virüsler vücudun savunmasından kaçır ve bu veziküllerin içinde çoğalabilir (Mollarasouli *et al.* 2022). Antiviral amaç için gerekli olan tip I interferonların üretilmesini ve antijenin bağışıklık sistemi tarafından taşınmasını da engeller (Li *et al.* 2020).

Kaydedilen ilk MERS vakası 2011-2012 yıllarında Suudi Arabistan Krallığı'nda meydana gelmiştir. Bundan sonra, 858'i ölümcül olmak üzere toplam 2495 vaka belgelenmiş ve bu da yaklaşık %34,4'lük bir ölüm oranına yol açmıştır. MERS vakaları 2004'ten beri rapor edilmemiş olsa da 2020 SARS-COV-2 pandemisi beklenmedik bir durumdur (Read 2020). Yedinci koronavirüs olan Covid-19, insanları solunum problemleriyle hasta edebilmesi açısından MERS ve SARS virüsü gibidir. Beta-koronavirüs türüne aittir ve 27 ile 35 kilobaz arasında değişen bir genomik boyuta sahiptir. Koronavirüs ailesindeki MERS-COV ve SARS-COV gibi diğer virüslerin aksine SARS-COV-2'nin viral zarfı yıkıma karşı son derece dirençlidir. Çevresel faktörlere ve biyolojik sıvılara karşı daha fazla direnç gösterir. Dahası, konakçı dışında hayatta kalma süresi daha uzundur. Lu *et al.* (2020)'ya göre, MERS ve SARS virüsü, enfeksiyon için gereken virüs partiküllerinin daha düşük bir eşiğine sahiptir ve ortam dışında kalabilir.

Kuluçka döneminde, SARS-COV-2 hastaları virüs, damlacıklar, aerosoller ve belki de fekal-oral bulaşma ile yakın temasa girerlerse başkalarına bulaştırabilirler (Mollarasouli *et al.* 2022). Ayrıca, daha aktif virüs partikülleri enfekte bir birey tarafından yayılabilir (Goh *et al.* 2019).

2.1.1 SARS-CoV-2 enfeksiyonunun mekanizması

SARS-CoV-2'ye neden olan yeni koronavirüs, esas olarak enfekte bir kişi konuştuğunda, hapşırduğunda, öksürdüğünde veya nefes aldığı anda solunum damlacıkları yoluyla yayılır. Bir kişi kontamine bir yüzeye dokunur ve daha sonra yüzüne dokunursa veya virüs içeren damlacıkları solursa, virüs ağız, burun veya göz yoluyla vücuda girebilir (Zhang *et al.* 2020).

SARS-CoV'un S proteinini bağlamak için birincil reseptörün ACE2 olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, SARS-CoV-2 virüsünün benzersiz ACE2 reseptörüne bağlanan peptitleri ve küçük molekül kompozitlerini keşfetmiş ve karakterize etmiştir. Bu bağlanma, virüsün konakçı membranlarıyla kaynaşma ve SARS-CoV S proteini ile etkileşime girme yeteneğini engelleyerek viral enfeksiyonu önler (Zhang *et al.* 2020). Bu

sonuçlar, virüsün aktivitesini yönlendiren tam reseptörü hedefleyen ilaçlar oluşturma olasılığını artırmaktadır.

Xu *et al.* (2020), SARS-CoV-2 S proteininin yapısal modelinin insan ACE2 reseptörüne bağlanma yeteneğini inceleyerek, ACE2'nin SARS-CoV-2 için reseptör olarak rolünü belirlemiştir. SARS-transmembran CoV'nin spike glikoproteini (S proteini) hücre zarındaki ACE2 reseptörüne bağlanır. Sonuç olarak, hedef hücreler SARS-CoV virüsüne bağlanabilir. TMPRSS2 gibi hücre yüzeyi proteazları daha sonra SARS-CoV-S proteinini aktive ederek COVID ve hücre membranlarının birleşmesine neden olur. Bu kombinasyon SARS-CoV'un hedef hücrelere girmesini ve çoğalmasını mümkün kılar. Ayrıca, SARS-CoV ile enfekte farelerde ACE2'nin ortadan kaldırılması viral enfeksiyonu ve üremeyi önemli ölçüde azaltmaktadır. Sonuç olarak, SARS-CoV enfeksiyonunun S proteininin ACE2 ile etkileşimini gerektirdiği genel olarak kabul edilmektedir (Kai and Kai 2020). SARS-CoV-2, alveollerin epitel hücrelerine tutunur. Virüs daha sonra doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık sistemlerinin aktive olmasına neden olur, bu da başta IL-6 olmak üzere kayda değer bir sitokin üretimine yol açar.

2.2 İnterlökin-6 (IL-6)

İnterlökin-6 (IL-6), bağışıklık sisteminde bir sinyal molekülü olarak görev yapan küçük bir protein olan bir sitokin türüdür. Vücuttaki enflamasyon ve bağışıklık tepkilerinin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar. T lenfositleri, B lenfosit hücreleri, polimorf nükleer hücreler ve fibroblastlar dahil olmak üzere çok sayıda hücre IL-6 üretir. IL-6 çeşitli hücre ve dokuları etkileyebilir ve çok çeşitli işlevlere sahiptir (Akira *et al.* 1993). İki tür bağışıklık hücresi olan B hücrelerini ve plazma hücrelerini çoğalmaya ve farklılaşmaya teşvik eder. Ayrıca antikor sentezinin ve T hücresi aktivasyonunun kontrolüne de katkıda bulunur. Ayrıca, akut faz reaksiyonları (enfeksiyon, travma veya diğer hastalıklara karşı sistemik enflamatuar reaksiyonlar) IL-6 tarafından düzenlenir (Tanaka *et al.* 2016). IL-6, vücudun patojenlere karşı bağışıklık tepkisinde ve doku iyileşmesinde kritik bir rol oynayan önemli bir sitokindir. İnterlökin-6, patojenle ilişkili moleküler kalıplar (PAMP'ler) veya hasarla ilişkili moleküler kalıplar (DAMP'ler) ile kalıp tanıma reseptörlerinin uyarılmasına yanıt olarak farklı hücreler tarafından üretilir.

Hastalık veya yaralanmaya bağlı olarak, serum IL-6 seviyeleri onlarca ile yüzlerce pg/mL'ye kadar yükselebilir; ancak sağlıklı kişilerde hiçbir zaman 4 pg/mL'yi geçmez (Kang *et al.* 2015).

2.2.1 IL-6'nın düzenleyici mekanizmaları

SARS-COV-2 hastalarında sitokin salınım sendromu (CRS), SARS-COV-2'nin ACE2 reseptörü yoluyla alveoler epitel hücrelerini enfekte etmesinden kaynaklanabilir. Artan hücre geçirgenliği ve epitel hücre ölümü virüsün salınmasına neden olur (Wang *et al.* 2022). Makrofajlar ve IL-6 dahil diğer bağışıklık hücreleri tarafından kemokin ve sitokin üretimi, koronavirüs aktivasyonu tarafından tetiklenir ve bu da vücudun doğal immünolojik tepkisini artırır. Antijen sunan hücreler (APC'ler), dendritik hücrelerin adaptif bağışıklığı başlatma yeteneğinin ana kaynağıdır (Wang *et al.* 2022). Aktivasyon zerine makrofajlar ve T hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli bağışıklık hücreleri IL-6'yı serbest bırakabilir. SARS-COV-2'deki düzensiz interlökin-6 üretimi, kısmen bağışıklık hücrelerinin aşırı aktivasyonuna bağlıdır. Kırmızı kan hücreleri ve büyük miktarda inflamatuvar sıvı, onları uyaran inflamatuvar maddelere yanıt olarak alveollere girerek nefes almayı zorlaştırır veya durdurur (Wang *et al.* 2022).

IL-6, enfekte olmuş bir lezyonda tüm vücuda alarm sinyalleri üretir. Patojen tanıma reseptörleri (PRR'ler), monositler ve makrofajlar dahil olmak üzere bağışıklık hücrelerinde bulunur ve yaralanmalarda patojenle ilişkili moleküler kalıpların tespit edilmesinden sorumludurlar (Kumar *et al.* 2011). PRR'ler, DNA reseptörlerini, TLR'leri, nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı benzeri reseptörleri ve retinoik asitle indüklenebilir gen-1 benzeri reseptörleri içerir. TLR'ler virüs bileşenlerini tanır ve IL-6'nın oluşmasına neden olabilecek sinyal yollarını başlatır. SARS-COV-2 virüsünde bulunan viral patojenle ilişkili moleküler modeller (PAMP'ler), bu aktivasyonu yönetme potansiyeline sahiptir. Ayrıca IL-6, TNF ve IL-1 aktive edici transkripsiyon faktörlerinin bir sonucu olarak üretilir (Wang *et al.* 2022).

Ayrıca IL-6, doku hasarı meydana geldiğinde bir uyarı gönderir. Serum IL-6 seviyeleri, steril cerrahi operasyonlar sırasında yükselir ve bu, vücut sıcaklığının ve C-reaktif protein

konsantrasyonunun yükselmesinden önce meydana gelir (Nishimoto *et al.* 1989). Vücuttaki hücreler hasar gördüğünde DAMP'ları serbest bırakırlar. Bu DAMP'lar tehlike sinyalleri olarak hareket eder ve savunma mekanizmasını uyararak inflamatuvar bir yanıt tetikler. SARS-COV-2 vakasında ise virüsün solunum hücrelerine verdiği hasar nedeniyle DAMP salınımı meydana gelir. Yaralanan hücreler tarafından salınan DAMP'lerden bazıları arasında Isı Şoku Proteinleri (HSP'ler), DNA ve RNA Parçaları, Yüksek Hareketli Grup Kutusu 1 (HMGB1) ve mitokondriyal DNA (Bianchi 2007) bulunur. HMGB1'in TLR4, TLR1 ve RAGE reseptörleri ile etkileşimi, DNA bağlayıcı bir proteindir ve potansiyel olarak inflamasyonu başlatabilir. Öte yandan, kontrollerle karşılaştırıldığında travma hastalarında TLR9'u uyaran ve NF- κ B'yi aktive eden kan mtDNA seviyeleri çok daha yüksektir (Zhang *et al.* 2010).

IL-6'nın sentezi için, acil bir durumun varlığını belirten bir sinyal molekülü rolünden dolayı gen transkripsiyonu ve transkripsiyon sonrası süreçlerin sıkı kontrolü gereklidir. İnsan IL-6 geninin 5' yan bölgesi, aşağıdaki proteinler için bağlanma bölgeleri içerir: interferon düzenleyici faktör 1 (IRF-1), özgüllük proteini 1 (SP1), aktivatör protein 1 (AP-1), nükleer faktör IL-6 (NF-IL-6) ve NF- κ B (Teijaro 2017). Tanaka *et al.* (2014) interlökin-6 promotörünün TNF, IL-1 ve TLR aracılı sinyale yanıt olarak cis-düzenleyici elemanlar tarafından aktive edildiğini belirtmektedir.

2.2.2 COVID-19'da IL-6

Şiddetli SARS-CoV-2'den muzdarip hastaların kan plazma sitokin seviyeleri SARS hastalarınınkinden daha yüksektir. Bu durum, hastalığın ilerlemesine katkıda bulunan inflamatuvar bir yanıt olduğunu göstermektedir (Luo *et al.* 2020). Olası SARS-CoV-2 tedavileri olarak sitokin fırtınasını (IFN, IL-6 ve IL-2) engelleme, bağışıklık hücrelerini azaltma, iyileşen plazma transfüzyonu, kök hücre tedavisi ve yapay ekstrakorporeal karaciğer desteği kullanma gibi tedaviler uygulanmaktadır (Al-Qahtani *et al.* 2017). Önemli miktarda pro-inflamatuvar sitokinin ani artışı sitokin fırtınasının ayırt edici özelliğidir (Teijaro 2017). Organ nakli sepsis, viral enfeksiyonlar ve bağışıklık hastalıkları ve T'yi yüzeylerinde kimerik antijen reseptörlerini ifade edecek şekilde modifiye ederek belirli kanser türlerini tedavi etmenin CRS'ye neden olma olasılığı daha

yüksektir (Chousterman *et al.* 2017). Yapılan SARS-CoV-2 çalışmalarında sürekli olarak yüksek IL-6 seviyeleri görülmüştür ve bu da durumun ciddiyetinin yararlı bir belirteci olabileceğini düşündürmektedir (Luo *et al.* 2020). Tanaka *et al.* (2012), SARS-CoV-2 teşhisi konan hastalar üzerinde tam bir retrospektif çalışma yürütmüş ve IL-6 seviyeleri ile ölüm arasında anlamlı bir ilişki bulmuştur. Mackay and Arden (2015)'e göre IL-6, T hücreleri ve dendritik hücreler arasındaki etkileşim sırasında T helper 17 (Th17) hücrelerinin üretimi için gereklidir. McIntosh *et al.* (1967) göre, SARS-CoV-2-pozitif kişilerde görülen Th17 hücrelerinin daha yüksek aktivitesi, yüksek IL-6 seviyeleri ile ilişkili olabilir. Hayvan çalışmaları, transkripsiyon faktörü IL-6'yı inhibe ederek veya transkripsiyon faktörü sinyallemesinin güçlü bir aktivatörü olan koronavirüs zarf (E) proteininden yoksun SARS-CoV ile hayvanları enfekte ederek IL-6 seviyelerini azaltmanın ve hayvanların hayatta kalmasını iyileştirmenin başarılabilir olduğunu göstermiştir (Zhang *et al.* 2020). Zarf proteininin koronavirüslere karşı bağışıklık tepkisinde bir işlev gördüğü ve bir virüsün şiddetini tanımlamada bir faktör olduğu göz önüne alındığında, SARS-CoV-2 ve SARS-CoV'un zarf proteinlerinin yüzde 95 benzerliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Kai and Kai 2020). Bu virüslere karşı bağışıklık tepkilerinin karşılaştırılabilir olduğuna inanmak mantıklıdır. Bu nedenle, COVID kaynaklı CRS bağlamında tedavi çabalarını IL-6'ya odaklamak oldukça faydalı olabilir.

Lagunas- Rangel and Chávez- Valencia (2020)'a göre, şiddetli SARS-CoV-2'si olanlar, hafif SARS-CoV-2'si olanlara göre daha büyük bir IFN / IL-6 oranına sahiptir. Bunun nedeni, akciğer hasarına neden olan daha güçlü bir sitokin fırtınası olabilir. Fonksiyonel IL-6 ile toplam IL-6 arasında ayırım yapabilen bir tanı testinin geliştirilmesi, tedavi seçeneklerinin yönlendirilmesinde avantaj sağlayabilir. IL-6 aktivitesinin güvenilir bir göstergesi, karaciğerin inflamasyona yanıt olarak ürettiği ve IL-6 tarafından kontrol edilen bir protein olan CRP'dir. CAR-T hücre tedavisi ile indüklenen CRS geçiren hastalarda, CRS derecesini değerlendirmek ve IL-6 blokajının ne kadar iyi çalıştığını değerlendirmek için kullanılır (De Wilde *et al.* 2018). Az sayıda vaka dışında (Hu *et al.* 2021), sitokin salınım sendromunda C-reaktif protein seviyesi hala belirsizdir; bununla birlikte, araştırmaların çoğu (Luo *et al.* 2020) yüksek CRP seviyeleri ile şiddetli SARS-CoV-2 arasında bir bağlantı bulmuştur. Bununla birlikte, riskleri kategorize etmek ve tedavilerin etkinliğini değerlendirmek için gelecekte biyo belirteçler üzerinde daha fazla

araştırma yapılması gerekecektir. Birçok farmakolojik ilaç TNF, IL-6, IFN, IL-17 ve JAK/STAT sinyalizasyonu dahil olmak üzere İnflamatuar ağı hedef almaktadır (Liu *et al.* 2020). Anti-IL-6 ilaç müdahalesinin kullanılmasının hipoksi ve solunum yetmezliği gibi SARS-CoV-2 semptomlarını iyileştirebileceği ve ölüm riskini azaltabileceği fikri, anti-IL-6 reseptör antikoru tocilizumab kullanan hastalarda SARS-CoV-2 tedavisine ilişkin klinik çalışmalar tarafından desteklenmemiştir (Declercq *et al.* 2021). IL-6 reseptörlerine doğrudan bağlanarak, tocilizumab veya sarilumab gibi ilaçlar IL-6 sinyalini bloke edebilir ve inflammatuar yanıtı azaltabilir. Bununla birlikte, ciddi durumlarda, tocilizumab hala etkili olabilir, bu nedenle ek araştırmalara ihtiyaç vardır (Soin *et al.* 2021).

2.3 İnterlökin-10 (IL-10)

Sitokinler, çeşitli hücre tipleri tarafından salgılanan çok önemli, küçük proteinlerdir. Hücreler üzerindeki yüzeyde yer alan reseptörlere bağlanarak hücreler arası iletişim ve sinyalleşme konusunda belirgin etkilere sahiptirler (Commins *et al.* 2010). Bu gen, pro-inflamatuar sitokinlerin sentezini inhibe ederek bağışıklık sisteminin enfeksiyonlara tepkisini azaltan bir anti-inflamatuar sitokin üretir (Fiorentino *et al.* 1991). Gen, T hücrelerinde ve miyeloid hücrelerde ekspresyon edilir ve kromozom 1'in uzun kolunda bulunur. Sitokinler, immünomodülatör etkilerde, gen ekspresyon modellerinin düzenlenmesinde, hücre iskeletinin iltihaplanması çok hücreli organizmalardaki kesecikler ve organizasyonunun yanı sıra salgı salgısının salınmasında önemli işlevlere sahiptir (Commins *et al.* 2010). Fiorentino *et al.* (1989), IL-10'un güçlü bir immünolojik aracı olarak yeteneklerine ilişkin ilk raporları yayınlamıştır ve IL10 üretiminin ana kaynağının (TH2) T yardımcı 2 hücreleri olduğunu göstermiştir.

T hücreleri, B hücreleri, TH2, makrofajlar, dendritik hücreler ve diğer bağışıklık hücrelerinin tümü sitokin interlökin-10'u üretir. Bu, bağışıklık sisteminin enfeksiyon ve iltihaplanmaya nasıl tepki vereceğini düzenlemek için gereklidir (Moore *et al.* 2001). Merkezi sinir sisteminin (CNS) nöronları ve astrositler, IL-10 üretiminin ana kaynaklarıdır. Periferde makrofajlar, IL-10'un ana kaynağıdır. IL-10'un, doku hasarını azaltan ve aşırı reaktif bağışıklık tepkilerini azaltan anti-inflamatuar özelliklere sahip olduğu iyi bilinmektedir. Vücut, mikroorganizmalar, bağışıklık hücreleri arasındaki

etkileşimler ve iltihaplanma sırasında üretilen spesifik kimyasallar gibi bir dizi faktör tarafından tetiklenebilen IL-10'un ekspresyonu üzerinde sıkı bir kontrole sahiptir. Ayrıca IL-10'un sentezi, IL-4 ve IL-13 dahil diğer sitokinler tarafından da uyarılabilir (Kwilasz *et al.* 2015).

Transkripsiyon faktörleri gen ifadesinin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar. IL-10 gen aktivasyonu için Stat3, AP-1, CREB veya NF-κB gibi transkripsiyon faktörlerine odaklanılabilir. Bu faktörlerin spesifik agonistler veya indükleyiciler kullanılarak uyarılması, IL-10 geninin aktive edilmesine yardımcı olabilir. JAK-STAT yolu, MAPK yolu veya NF-κB yolu gibi sinyal yolları, IL-10 gen regülasyonunda rol oynar. Bu yolların spesifik agonistlerin veya inhibitörlerin kullanımı yoluyla modüle edilmesi gen aktivasyonuna yol açabilir (Chang *et al.* 2007). p38 MAPK'nin aktivasyonu, IL-10 da dahil olmak üzere bir dizi inflamatuvar sitokinin üretilmesine neden olabilir (Xu *et al.* 2013).

2.3.1 IL-10'un COVID-19'daki rolü

IL-10, SARS-COV-2'ye karşı bağışıklık tepkisinde çok önemli bir rol oynar. Bir anti-inflamatuvar sitokin olan IL-10, bağışıklık sistemini düzenlemeye ve aşırı inflamasyonu önlemeye yardımcı olur (Wei *et al.* 2019). Proinflamatuvar araçların neden olduğu organ hasarı ve şiddetli pnömoni sıklıkla SARS-COV-2 hasta ölümüyle ilişkilendirilir. SARS-COV-2 mortalitesini azaltmada IL-1, IL-6 veya GM-CSF'yi inhibe etmenin önemi mevcut kanıtlarla desteklenmemektedir (Lu *et al.* 2020). Huang *et al.* (2020), şiddetli SARS-COV-2 hastalarının kanında hastalığın şiddetinin bir göstergesi olan IL-10 seviyelerinin önemli ölçüde yükseldiğini, IL-10'un koronavirüsle ilişkili ölümleri azaltmak için olası bir tedavi yaklaşımı olduğunu belirtmiştir. Lu *et al.* (2020) tarafından yürütülen araştırmada da belirtildiği gibi SARS-COV-2 hastalarının immünolojik aktivasyon ve inflamasyon yaşamaktadır. Bu bulgu, IL-10'un SARS-COV-2'nin evrimine yol açan proinflamatuvar ve immün sistemi uyarıcı yollarda rol oynadığı hipotezini desteklemektedir.

Ciddi veya kritik derecede hasta olan SARS-COV-2 hastalarının periferik kanında daha yüksek düzeyde bağışıklık uyarıcı sitokinler (IL-2, IL-7, IL-4, IL-6) bulunmaktadır (Huang *et al.* 2020). Ayrıca, periferik kandaki genel CD8+ T hücresi miktarı azalmasına rağmen, şiddetli SARS-COV-2 vakaları olan hastaların kanlarında hiperaktif olmuş, hızla çoğalan sitotoksik CD8+ T hücreleri daha yüksek seviyelerdedir (Xu *et al.* 2020). Ayrıca, periferik kanda IFN- γ üreten efektör CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin yüzdesindeki artış ile ciddi SARS-COV-2 hastalarının kanındaki yüksek IL-10 seviyeleri arasında bir korelasyon vardır (Wang *et al.* 2020). Ayrıca SARS-COV-2 geliştikçe hastaların periferik kanının daha fazla programlanmış hücre ölümü proteini 1 reseptörü, T hücresi immünoglobulin proteini 3 reseptörü, CD8 ve T lenfositleri içerdiği kaydedilmiştir.

Hasta ölümüyle sonuçlanan SARS-COV-2 enfeksiyonunu takip eden immüнопatolojik basamakta üç aşama ayırt edilebilir: başlangıç, amplifikasyon ve tamamlanma (Lu *et al.* 2020). SARS-COV-2 enfeksiyonunun erken evrelerinde IL-10'un erken akciğer aktivasyonunun, proinflatuar maddelerin inflamatuvar etkilerini ortadan kaldırmak için negatif bir geri bildirim mekanizması olarak hizmet edebileceği önerilmektedir. Bununla birlikte, artan endojen IL-10 üretiminin, proinflatuar/bağışıklık güçlendirici bir ajan olarak işlev görebileceğini, dolayısıyla diğer sitokin fırtınası araçlarının üretimini indükleyebileceğini varsayılmaktadır. Lauw *et al.* (2000)'un insan endotoksemi hakkındaki bulgularına göre, IL-10, bazı kritik hasta SARS-COV-2 hastalarında görülen viral sepsise bağlı hiperinflamasyonu potansiyel olarak yoğunlaştırabilir (Li *et al.* 2020). SARS-COV-2 hastalarında edinsel bağışıklığın hiperaktivasyonu, insan çalışmalarında IL-10'un sitotoksik efektör CD8+ T hücrelerini doğrudan artırması nedeniyle durumun kötüleşmesine katkıda bulunabilir. Sonuç olarak SARS-COV-2 hastalarının edinsel bağışıklığın hiperaktivasyonunun durumlarını kötüleştirme mümkündür. Bu teori hala kesin olmasa da SARS-COV-2 hastalarında IL-10'un vücudun inflamatuvar sitokin üretimi ve T hücrelerinin aktivasyonu ve proliferasyonu üzerindeki birleşik etkilerinin ölümcül bir immüнопatolojik durumdan sorumlu olabileceğini göstermektedir.

İnhibe edici ilaçların etkinliği şu anda klinik çalışmalarda, sitokin fırtınası yaşayan SARS-CoV-2 hastalarında önemli ölçüde arttığı tespit edilen ondan fazla inflamatuvar aracı ile tek başına veya kombinasyon halinde araştırılmaktadır (Lu *et al.* 2020). GM-

CSF, IL-6 ve IL-1'i hedefleyen nötralize edici / bloke edici antikorların kullanılmasından elde edilen ilk bulgular, SARS-CoV-2 hastaları arasındaki ölüm oranını azaltmak için ek iyileştirmelerin gerekli olduğunu göstermektedir (Lu *et al.* 2020). COVID-19 ile ilişkili mortaliteyi azaltmak için potansiyel bir stratejinin IL-10'u hedeflemek ve patolojik proinflatuar aktivitesini engellemektir. Şiddetli SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan hastalarda, IL-10 aktivitesini engelleme zamanlaması çok önemli olabilir (Lu *et al.* 2020). Ayrıca, şiddetli SARS-CoV-2'li bireyler arasında mortalitede önemli bir azalmanın, kemokinler, interlökin-2, interlökin-10 ve interlökin-6 dahil olmak üzere çeşitli inflamatuvar araçların eşzamanlı olarak hedeflenmesini gerekebilir. Sistemik olarak artan İnterlökin-10'un SARS-CoV-2'nin evrimindeki olası işlevlerinin ve potansiyel tedavilerin kapsamlı bir şekilde doğrulanması gerektiği açıktır.

İnterlökinler, SARS-CoV-2 patofizyolojisinin bir parçası olan yoğun inflamatuvar yanıtı oluşturan birçok araçtan yalnızca biridir (Hu *et al.* 2021). Lenfositler, makrofajlar, epitel hücreleri, fibroblastlar ve endotel hücreleri dahil olmak üzere birçok hücre tipi, sepsis ve akut organ hasarı sırasında inflamatuvar bölgede dolaşıma pleiotropik sitokinler salgılar (Gadient and Patterson 1999). Mehta *et al.* (2020)'ya göre, son zamanlarda yapılan bir dizi çalışma, sitokin fırtınalarının SARS-CoV-2'nin evriminde bir rolü olduğunu göstermiştir. İlk olarak, SARS-CoV-2, interlökin-6 ve interlökin-17 gibi pro-inflamatuvar sitokinleri üretmek için hastalığa neden olan T-helper 1 hücrelerini hızla aktive edebilir (Megna *et al.* 2020). Fattori *et al.* (1994), IL-6'nın akut faz yanıtını tetikleyen önemli bir pro-inflamatuvar madde olduğunu bildirmiştir. Bu yanıt, ateş, beyaz kan hücrelerinin toplanması ve aktivasyonu ve kan akışındaki değişiklikler gibi birçok yerel ve sistemik değişikliğe yol açar. Akut faz yanıtında interlökinlerin önemli bir rolü vardır. Sonuç olarak hem klinik hem de deneysel çalışmalarda sepsis ve farklı akut organ hasarı formlarında öngörücü göstergeler oldukları keşfedilmiştir. Çalışmalar, şiddetli SARS-CoV-2'li bireylerin, orta ve hafif enfeksiyonu olanlara göre daha yüksek seviyelerde interlökin-10, interlökin-7, interlökin-6 ve interlökin-2'ye sahip olduğunu göstermiştir (Liu *et al.* 2020). McKinstry *et al.* (2009)'e göre, viral enfeksiyonlar sırasında, özellikle adaptif bağışıklık sisteminin yanıtında IL-10'da kayda değer bir artış vardır. Yoğun bakım alan SARS-CoV-2 hastaları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, daha yüksek IL-17 seviyeleri gözlenmiştir. Bu nedenle, ağır vakalarda sitokin fırtınalarıyla bağlantılı

mortaliteyi anlamak için SARS-CoV-2'deki bu kritik inflamatuvar bileşenleri araştırmak önemlidir (Hu *et al.* 2021).

Bununla birlikte, bazı hastalar akut solunum sıkıntısı sendromu, sitokin salınım sendromu ve PMN aktivasyonu gibi immünolojik sorunların bir sonucu olarak ciddi komplikasyonlardan muzdariptir (Soy *et al.* 2020). SARS-CoV-2 klirensi ile enfeksiyonun uzun sürmesi, viral ve genetik özellikler, makrofajların aktivasyon seviyelerinin azalması, sitokin fırtınası, interferonlar ve potansiyel olarak tanımlanamayan diğer mekanizmalar dahil olmak üzere çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Bu unsurların hastalığın şiddeti ve ilgili sonuçları üzerinde etkisi olabilir (Soy *et al.* 2020). SARS-CoV-2'nin derecesi çoğunlukla proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi ile belirlenir ve bu da endotelial disfonksiyona neden olur. Daha sonra bu işlev bozukluğu, başta akciğerler olmak üzere hayati organlarda ciddi hasara neden olabilir (McGonagle 2020). Anti-inflamatuvar etkilerine ek olarak, interlökin-10 doku onarımını ve rejenerasyonunu destekler. Enflamasyonun akciğer dokusu üzerindeki zararlı sonuçlarını sınırlamaya yardımcı olabilir, böylece COVID-19 ile ilişkili solunum komplikasyonlarından kurtulmaya yardımcı olabilir (Gao *et al.* 2017).

2.4 IL-6 ve IL-10 Gen Polimorfizmleri ve COVID-19

Sitokinler, insan vücudunun immünomodülatör olarak ve hücre sinyali için kullandığı son derece küçük proteinlerdir (~4–20 kDa). Bu hücre sinyalleri akciğerlerdeki çeşitli inflamatuvar süreçlere aracılık edebilir ve bazı solunum yolu hastalıklarının etiolojisinde rol oynayabilir (Shieh *et al.* 2019). "İmmünogenetik profil oluşturma" terimi, (SNP'ler) tek nükleotid polimorfizmleri ile immünolojik tepkiler arasındaki korelasyonun değerlendirilmesini ifade eder (Jin and Wang 2003). Bazı araştırmalara göre, 174G/C polimorfizmine veya IL-6 geninin C aleline (rs1800795) sahip kişiler, şiddetli COVID-19 semptomlarına veya daha kötü klinik sonuçlara daha duyarlı olabilir. Bunun nedeni, C alelinin artan IL-6 seviyeleriyle bağlantılı olmasıdır. Bu durum, şiddetli COVID-19 vakalarında sıklıkla görülen aşırı inflamasyon ve immünolojik düzensizlikte bir faktör olabilir (Mao *et al.* 2017). SARS-COV-2 ile enfekte hastalarda, sitokin fırtınası sendromunun olası tedavisi olarak IL-6 reseptör antagonistleri önerilmektedir

(Chakraborty *et al.* 2020). Çok sayıda araştırma, COVID-19 duyarlılığı, ciddiyeti ve klinik sonuçlar ile interlökin-6 ve interlökin-10 genlerindeki polimorfizmler arasındaki ilişkiyi araştırmıştır.

Jin and Wang (2003), tek nükleotid polimorfizmlerinin, genellikle "immünogenetik profil oluşturma" olarak adlandırılan immünolojik yanıtlarla ilişkili önemini vurgulamıştır. Epidemiyolojik ve genetik polimorfizm çalışmalarına göre astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi bazı akciğer rahatsızlıklarının şiddeti farklılık gösterebilmektedir (Jin and Wang 2003). Chen *et al.* (2015), IL-6 promotor bölgesindeki polimorfizmlerin yüksek pnömoni riski ile bağlantılı olduğunu göstermiştir. Özellikle kronik obstrüktif akciğer hastalığı, bir dizi Kafkas popülasyonunda IL-6 polimorfizmleri G 174 C SNP (He *et al.* 2009) ve G321T (Yanbaeva *et al.* 2009) ile ilişkilendirilmiştir. Genetik polimorfizm üzerine yapılan çalışmalara göre, sitokin genlerindeki tek nükleotid polimorfizmi, sepsis ve septik şok riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Chousterman *et al.* 2017). Ancak bazı Asya popülasyonlarında, Kirtipal *et al.* (2020)'ın bildirdiği gibi, bu polimorfizmler ile KOAH arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Hepatit B virüsü (HBV), influenza virüsü ve hepatit C virüsü (HCV), IL-6 genindeki polimorfizmlerle bağlantılı viral hastalıklar arasındadır (Riazalhosseini *et al.* 2018). Örneğin, kanla kontamine olmuş ürünlerden HCV enfeksiyonunun kendiliğinden ortadan kaldırılması, kişilerde G174C'de (IL6 rs1800795) düşük üreten IL-6 genotip CC alelinin varlığıyla bağlantılıdır (Barrett *et al.* 2001). Öte yandan, G174C rs1800795 polimorfizminin yüksek üreten IL-6 genotipi CC aleline (yani GC veya GG) sahip olanlar, HIV ve HCV ile birlikte enfekte olanlar, sürekli virolojik yanıt (SVR) geliştirme şansı daha yüksektir (Nattermann *et al.* 2007). Ek olarak, CC aleli rs1800795-IL6 genotipine ve daha düşük IL-6 kan seviyelerine sahip olanların, kronik hepatit C virüsüne karşı azalmış bir edinici bağışıklık tepkisine sahip olduğu görülmüştür (Bogdanović *et al.* 2016). Doyle *et al.* (2010)'e göre, solunum sinsityal virüsü (RSV) ile ciddi enfeksiyon ile IL-6-174 C/C genotipi arasında bir korelasyon vardır.

Ayrıca TMPRSS2 genindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'lerin), SARS-COV-2 virüsünün bir hücreye girme yeteneği üzerinde etkisi olduğu gösterilmiştir (Paniri *et al.* 2021). Le *et al.* (2014), IL-6 yaygın olarak fibrozu teşvik eden bir molekül olarak kabul

edilir. Pulmoner fibrozun bleomisin modelinin kullanıldığı bir deneyde, akciğer hasarının erken evrelerinde IL-6'nın inhibe edilmesinin aslında fibrozu arttırdığı ileri sürülmüştür. Ancak Kobayashi *et al.* (2015)'nin önerdiği gibi fibrotik faz başladığında hasarın son aşamalarında IL-6'nın bloke edilmesi fibrozu iyileştirebilir.

Yapılan bir çalışmada, IL-6 rs1800795'teki G alelinin koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini, IL-10 rs1800896'daki A alelinin ise Çin Han etnik kökenine sahip kişilerde zatürreden kaynaklanan Sepsis riskini artırabileceğini belirtilmiştir. Üstelik IL-6'daki bu genetik varyantlar sepsisin ciddiyeti ile ilişkili olup hastaların IL-6 ve IL-10 üretimini önemli ölçüde etkilemiştir (Mao *et al.* 2017). IL-6 gen polimorfizmi ile pnömoni olasılığı ve ciddiyeti arasındaki bağlantıyı araştırmak amacıyla araştırmacılar ayrıca bir meta-analiz çalışması gerçekleştirmiştir. Buna göre, IL-6 174C aleli taşıyanların daha yüksek düzeyde IL-6 üretimine sahip olduğu ve daha şiddetli zatürre yaşadığını ortaya çıkmıştır (Ulhaq and Soraya 2020). IL-6 polimorfizminin incelenmesi, bu proteinin CD4 T hücresi kaderinin önemli bir düzenleyicisi olarak belgelenmiş önemi göz önüne alındığında, COVID-19 salgını hakkında ek bilgi sağlayabilir. Bu nedenle, IL-6 gen polimorfizmlerinin, insanlarda Asemptomatik semptomlar veya daha önce diğer hastalıklarda bildirildiği gibi enfeksiyona bağlı olarak bağışıklık geliştirmiş olabilecek kişilerde COVID-19 enfeksiyonlarının ciddiyetini belirlemenin yanı sıra altta yatan patolojiyi anlamak için bir işaretçi görevi görebileceğini öne sürülmektedir (Riazalhosseini *et al.* 2018).

COVID-19 hastalarında görülen sitokin fırtınası, SARS-CoV ile enfekte SARS hastalarında görülenle karşılaştırılabilir olsa da COVID-19 sitokin fırtınasının dikkate değer bir yönü, ciddi vakalarda IL-10 kan seviyelerinde önemli bir artıştır (Huang *et al.* 2020). Ayrıca, Han *et al.* (2020) SARS-CoV-2 hastalarında IL-10 seviyelerinin IL-6'dan önce yükseldiğini keşfetmiştir. Serumdaki IL-10 seviyesi, IL-6 konsantrasyonları ve C-reaktif protein de dahil olmak üzere diğer kan parametresi göstergeleri ile güçlü bir pozitif korelasyon sergilemiştir (Zhao *et al.* 2020). Promotör bölgedeki genetik varyantlar, IL-10 üretiminde bireyler arası farklılıklara yol açmaktadır. IL-10'un genetik polimorfizmi üzerine yapılan önceki bir araştırma, daha yüksek şiddetli pnömoni riski, artan kan IL-10

seviyeleri ve tek nükleotid polimorfizmi (SNP) rs1800896 (-1082 G/A) arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Gallagher *et al.* 2003).

Polimorfizm rs1800896, varsayılan bir transkripsiyon faktörü bağlayıcı bölgenin içinde yer alır ve bu transkripsiyon faktörünün bağlanmasını etkileyebilir, bu da sitokin IL-10 seviyelerini değiştirebilir (Ates *et al.* 2008). Buna karşılık, 592C>A pozisyonunda bulunan IL-10 gen polimorfizmi (rs1800872), promotörün inhibitör etkinliğinde önemli bir azalmaya neden olur. Bu da sonuçta IL-10'un transkripsiyonu ve mRNA sentezinde değişikliklere neden olmaktadır (Zhao *et al.* 2020). Bu nedenle çalışma, IL-6 gen polimorfizmleri (özellikle rs7802307 ve rs7802308'de) ve IL-10 geninin polimorfizmi (özellikle rs1800896'da) ile COVID-19'un ne kadar kötü olduğu arasında bir bağlantı olup olmadığını görmek için yapılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Bu çalışmaya 50 COVID-19'lu birey ve 50 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplamda 100 kişi katılmıştır. Hasta grubunun yaşları 15 ile 72 arasında değişen 38 erkek ve 12 kadın iken kontrol grubunun yaşları 19 ile 54 arasında değişen 34 erkek ve 16 kadından oluşmaktadır. Çalışma Nisan-Ağustos 2022 tarihleri arasında Al-Hussain Eğitim Hastanesi'nde yürütülmüştür. Çalışmanın deneysel kısmı Thi-Qar Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde gerçekleştirilmiştir. Hastalarda COVID-19'un tespiti, COVID-19 RNA (RT-PCR) kullanılarak nazofarengeal sürüntü örneklerinin analizi yoluyla belirlenmiştir. Örnekler, dakikada 24'ün altında solunum hızı, SpO₂ seviyeleri ve belirli kan değerleri gibi kriterlere göre seçilmiştir. Hasta izninin alınmasını takiben, (EDTA) etilen diamin tetra asetik asit içeren tüp kullanılarak her hastadan 2 mL periferik serum örneği alınmıştır. Daha sonra örnekler genotipleme amacıyla -20°C'de saklanmıştır.

3.1.1 Makine ve teçhizat

Çizelge 3.1'de çalışmada kullanılan makine ve teçhizatlar gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan makine ve teçhizatlar

No	Makine ve teçhizatı	Şirket/Ülke
1	Santrifüj	Human/Almanya
2	Kuluçka makinesi	Memmert/Almanya
3	Güç kaynağı	Biotech/Almanya
4	PCR sistemi	German/Agilent
5	UV transillüminatör	Optima INC./Japonya
6	Girdap	Heidolph Almanya
7	Hassas denge	Almanya
8	Termo Balıkçı	ABD
9	ABI3730XL otomatik DNA sıralayıcı	Macrogen Şirketi/Kore
10	Buzdolabı	Japonya
11	Finecare™ FIA Meter Plus	Çin

3.1.2 Kimyasal malzemeler

Çizelge 3.2’de araştırmada kullanılan kimyasal maddeler gösterilmektedir.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler

No	Kimyasal madde	Şirket/Ülke
1	Güvenli boyası	Bionear/Kore
2	TBE	Bio basic/Kanada
3	Master karışım	Bionear/Kore
4	Markör	Bionear/Kore
5	Agaroz	Bio basic/Kanada
6	Yükleme boyası	Bio basic/Kanada

3.1.3 Kitler

Bu çalışmada kullanılan kitler Çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan kitler

No	Kit	Şirket/Ülke
1	Ana karışım kiti	Geneaid/Tayvan
2	İnsan gSYNC™ DNA Ekstraksiyon Kiti	Geneaid/Tayvan

3.1.4 Primerler

Çizelge 3.4’te bu çalışmada kullanılan primerlerin listesi bulunmaktadır.

Çizelge 3.4 Gen amplifikasyonu için primer dizileri

Gen	Sekans Dizileri (5'- 3')	Ürün boyutu
IL-6	F: GGTAGTGCTCACCATGACCCC R: ACACTGGAAATGCCCTCCATC	781 bp
IL-10	F: CCCTTTCTGCCCTGAACCAA R: GAGGCTAGCGCTAAGAAGCA	708 bp

3.2 Yöntem

3.2.1 COVID-19 tanısı için RT-PCR testi

- Örnek Alınması: Solunum salgılarını toplamak için hastanın nazofarinks veya orofarenksinden bir sürüntü alınır. Bu, uzun bir çubuk çubuğunun boğazın arkasına veya burun deliğine sokulmasıyla yapılır.
- Numune Taşıma: Toplanan swab daha sonra test için laboratuvara nakledilirken numunenin bütünlüğünü korumak için steril bir viral taşıma ortamı tüpüne yerleştirilir.
- RNA Ekstraksiyonu: Laboratuvarda ilk adım, viral RNA'nın toplanan örnekten ekstrakte edilmesidir. İsviçreli Roche Holding AG tarafından Basel'de üretilen Roche High Pure'un viral nükleik asit kiti, ribonükleik asidin (RNA) ekstraksiyonu için kullanılmıştır. Çıkarılan RNA Daha sonra, COVID-19 genomunun varlığını tanımlamak için tek adımlı (RT-PCR) gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonuna tabi tutulmuştur.
- Ters Transkripsiyon (RT): RNA ekstrakte edildikten sonra ters transkriptaz enzimleri ve bazı primerler kullanılarak viral RNA, tamamlayıcı DNA'ya (cDNA) dönüştürülür. Amplikon Master Mix, üreticinin talimatına uygun olarak kullanılmıştır. SARS-COV-2'nin RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) ve zarf (E) genleri, belirli primerler ve proplar ile çoğaltıldı. RNA, 25 µL PCR karışımı oluşturmak için 12,5 µL Amplikon Master karışımı, 1 µL primer ve 0,5 µL prob ile karıştırılmıştır.
- Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR): cDNA virüsün genetik materyalinin belirli hedef bölgelerini çoğaltmak için ısıtma ve soğutma döngülerini içeren PCR'ye tabi tutulur. Amplifikasyon prosedürü 38°C'de 40 dakikalık bir ilk inkübasyonu ve ardından 95°C'de 15 dakikalık bir inkübasyonu içermektedir. Ardından, 94°C'de 15 saniye inkübasyon, RdRp geninin tespiti için 58°C'de 30 saniye ve E geninin tespiti için 57°C'de 30 saniye olmak üzere 45 döngü amplifikasyon gerçekleştirilmiştir. Numunedeki viral genetik materyalin tanımlanması ve ölçülmesi bu amplifikasyon ile mümkün olmaktadır.

- Floresan Problar veya PCR Ürünleri Tespiti: PCR işlemi sırasında, hedef genetik materyale bağlandıklarında floresan sinyaller yayan floresan problar veya boyalar eklenir. Bu sinyaller özel ekipmanlar tarafından tespit edilir ve ölçülür.
- Yorumlama ve Raporlama: Floresan sinyallerinin mevcut olup olmamasına bağlı olarak, sonuçlar amplifikasyon eğrileri analiz edilerek yorumlanır. Pozitif bir sonuç virüsün varlığını gösterirken, negatif bir sonuç yokluğuna işaret eder.

3.2.2 DNA izolasyonu

3.2.2.1 Numune hazırlama

1,5 mL'lik bir mikrosantrifüj kabına 200 µL EDTA'lı serum örneği ve 20 µL proteinaz K eklenir. Ardından pipet kullanarak karıştırılır.

- Hücre lizisi; 200 µL Guanidin Tuz Tamponu GSB eklenmiş ve karışım çalkalanarak iyice karıştırılmıştır. Beş dakika boyunca, her iki dakikada bir tüpü ters çevirerek 60°C'de inkübe edilir. Gerekli miktarda Elüsyon Tamponunu 1,5 mL'lik bir mikrosantrifüj kabına aktarılır ve inkübasyon süresi için 60°C'ye ısıtılır.
- DNA bağlanması; Örnek lizatına 200 µL saf etanol eklenir ve 10 saniye boyunca kuvvetlice çalkalayarak hemen karıştırılır. Çökelti oluşursa, mümkün olduğunca parçalamak için bir pipet kullanılır. 2 mL'lik bir Toplama Tüpü bir GS Kolonu içermelidir. Karışım tamamen GS Kolonuna aktarılır. Karışım santrifüjden sonra GS Kolon membranından geçmediyse, geçene kadar santrifüj süresini uzatılır. GS Kolonunu yeni bir 2 mL Toplama Tüpüne aktardıktan sonra, akışı içeren 2 mL Toplama tüpünü atılır.
- Yıkama; GS Kolonuna 400 µL W1 Tamponu eklenir. 14-16,000 x g'de 30 saniye santrifüj ettikten sonra akış suyu atılır. 2 mililitrelik Toplama Tüpüne GS Kolonunu yerleştirilir. GS Kolonuna 600 µL Yıkama Tamponu eklenir. 14-16,000 x g'de 30 saniye santrifüj ettikten sonra akış suyu atılır. GS Kolonunu 2 mililitrelik Toplama Tüpüne yerleştirilir. Kolon matrisini kurutmak için 14-16,000 x g'de 3 dakika santrifüjlenir.

GS Kolonu, sonraki uygulamalarda en iyi sonuçları elde etmek ve kalan etanolün taşınmasını önlemek için tekrar 14-16,000 x g'de 5 dakika santrifüj edilerek veya 60°C'de 5 dakika inkübe edilerek tamamen kurutulabilir.

3.2.3 Hedef genlerin PCR ile tespiti

Üç SNP için PCR koşulları: 5 dakikalık bir süre için 95 °C sıcaklıkta bir ilk denatürasyon adımı, ardından 30 saniyelik bir süre için 94 °C sıcaklıkta 30 döngü denatürasyon, Tavlama sıcaklığı IL-10 (rs1800896'da) için 57,4°C ve IL-6 (rs7802307 ve rs7802308'de) için 54 °C 30 saniye olarak ayarlandı. Son olarak, 5 dakikalık bir süre için 72 °C sıcaklıkta son bir uzatma aşaması vardır. IL-6 (rs7802307, rs7802308) ve IL-10 (rs1800896) polimorfizmlerinin SNP'si için PCR parçalarının özgülüğünü belirlemek üzere %2 agaroz jel üzerinde elektroforetik analiz kullanılmıştır. IL-6 geni ve IL-10 polimorfizmleri için PCR parçalarının uzunluğu sırasıyla 708 bp ve 781 bp'dir. Her iki genin PCR amplifikasyonu için ısıl döngü programı Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6'da belirtilmiştir.

Çizelge 3.5 IL-10 geninin PCR programı

Adım	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü
İlk denatürasyon	95	5 dk.	1
Denatürasyon	94	30 s	30
Tavlama	57,4	30 s	
Eklenti	72	35 sn	
Son uzatma	72	5 dk.	1

Çizelge 3.6 IL-6 geninin PCR programı

Adım	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü
İlk denatürasyon	95	5 dk.	1
Denatürasyon	95	30 s	30
Tavlama	54	30 s	
Eklenti	72	35 s	
Son uzatma	72	5 dk.	1

3.2.4 Agaroz jel elektroforezi

- Agaroz jel tozu (%1 veya %1,5), 1 ve 1,5 gram agarozun 100 mililitre 1X TBE tamponu içerisinde çözülmesiyle hazırlanır. Karışım daha sonra buharlaşmayı önlemek için alüminyum folyo ile kapatılır ve agaroz tamamen çözünene kadar sıcak bir plaka üzerinde manyetik karıştırıcıyla ısıtılır. DNA ekstraksiyon prosedürünü takiben elektroforezde %1'lik bir agaroz konsantrasyonu ve PCR tespiti kullanılarak gen amplifikasyonunun ardından %1,5'lik bir agaroz konsantrasyonu kullanılır.
- Şişe sıcak plakadan çıkarılır ve yaklaşık 45-55°C sıcaklığa kadar soğumaya bırakılır.
- Daha sonra jel, 8 µL güvenli boya ile birleştirilir.
- Hazneye 16 dişli bir tarak yerleştirilir ve agaroz jele batırılır.
- Daha sonra hazneye sıvı agaroz solüsyonu dökülür ve sıvı jel içerisinde bulunan hava kabarcıkları mikropipet ucu ile hafifçe delinerek kolaylıkla yok edilir.
- Jel oda sıcaklığında 30 dakika sertleşmeye bırakılır, ardından tarak ve bant dikkatlice jelden çıkarılır.
- Tarak tamamen katılaştıktan sonra hassas bir şekilde çıkartılır. Daha sonra elektroforez tankına yerleştirilmeden önce kavanoza TBE tamponu eklenir.
- DNA örnekleri veya PCR ürünü elektroforez ile ayrılır. Bu adımı gerçekleştirmek için 5 µL DNA'yı 2 µL bromotimol mavisi yükleme boyası ile karıştırılır ve karışım belirli kuyucuklara yerleştirilir. Bundan sonra numuneler 45-60 dakika boyunca 70V'luk bir elektrik alanına maruz bırakılır.
- Son olarak nükleik asit veya PCR ürünü, jelden geçen UV ışığı (300 nm) kullanılarak incelenmiştir (Tan *et al.* 2006).

Amplifiye edilmiş PCR fragmanları, ABI3730XL otomatik DNA sekanslayıcı (Macrogen Corporation- Kore) kullanılarak Sanger sekanslamasına göre gerçekleştirilmiştir. IL-6 gen SNP'leri (rs7802307 (T540A), rs7802308 (T541A) ve rs1800896 (T327C) IL-10 için SNP'leri ve bunların genotipleri, Gen Bankasındaki referans dizilerle hizalamanın ardından Geneious yazılımı sürüm 10.2.2 ile gösterilmiştir.

3.3 İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler için IBM SPSS yazılım paketi sürüm 22 kullanılmıştır. IL-10 için rs7802307 (T540A), rs7802308 (T541A) ve rs1800896 (T327C) SNP'lerinin genotip ve alel frekansları, COVID-19 hasta grubu ile sağlıklı grup arasındaki-kare testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca hasta ve kontrol grubundaki üç tek nükleotid polimorfizminin (SNP) her biri için Hardy-Weinberg dengesini değerlendirmek amacıyla da ki-kare testi kullanılmıştır. Olasılık oranlarını (OR'ler) ve %95 güven aralıklarını (CI'ler) hesaplamak için lojistik regresyon kullanılarak bu farklılıkların etkisi belirlenmiştir. P değerleri 0,05'ten küçük veya ona eşitse istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Çalışma Gruplarının Yaş Ortalaması

Bu çalışmada bir hasta ve bir kontrol grubu yer almış ve her grup farklı yaş aralıklarındaki bireylerden oluşmuştur. Çalışmaya yaş ortalaması $43,30 \pm 14,68$ yıl olan 50 SARS-COV2 hastası ve yaş ortalaması $38,24 \pm 10,33$ yıl olan 50 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Veriler χ^2 testi kullanılarak analiz edilmiştir. 4 serbestlik derecesi ($df=4$) ve 0,208 p-değeri ile χ^2 değeri 5,88 olarak bulunmuştur. Çizelge 4.1'de gruplar arasında anlamlı bir ilişki olmadığı görülmektedir.

Çizelge 4.1 Çalışma grubunun yaşa göre dağılımı

Yaş grubu (Yıl)	Hasta grubu		Kontrol grubu		P.Değeri
	Sayı	%	Sayı	%	
10-20	4	%8	4	%8	0,208
21-30	7	%14	8	%16	
31-40	9	%18	18	%36	
41-50	14	%28	12	%24	
50'den fazla	16	%32	8	%16	
Toplam	50	%100	50	%100	
Ortalama\pmSD	43,30 \pm 14,68		38,24 \pm 10,33		

$$\chi^2 = 5,88/df=4$$

4.2 Cinsiyete Göre Çalışma Grubu Dağılımı

Hasta grubunun %76'sı erkek ($n=38$) ve %24'ü kadındır ($n=12$). Kontrol grubunda ise katılımcıların %32'si kadın ($n=16$) ve %68'i erkektir ($n=34$). P değeri=0,37 ile araştırma grupları içinde cinsiyet dağılımında anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Çalışma grubunun cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Hasta grubu		Kontrol grubu		P. Değeri
	Sayı	%	Sayı	%	
Erkek	38	%76	34	%68	0,37
Kadın	12	%24	16	%32	
Toplam	50	%100	50	%100	

$$\chi^2=0,79/df=1$$

4.3 Çalışma Gruplarının Temel Parametrelere Göre Karşılaştırılması

Çizelge 4.3'te gösterilen sonuçlara göre, CRP ve D-dimer için sırasıyla P değerleri (0,000 ve 0,001), kontrol ve Hasta grupları arasında önemli farklılıklar göstermektedir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, Hasta grubunun değerleri önemli ölçüde daha yüksektir.

Çizelge 4.3 Çalışma gruplarının temel parametrelerle karşılaştırılması

Parametre	Hasta (n=50), Ortalama±SD	Kontrol (n=50), Ortalama±SD	T değeri	P Değeri
D-dimer	115,36±200	0,22±0,36	3,64	0,001**
CRP	26,30±30,91	0,31±0,24	5,57	0,000**

df=98, *P değeri≤0,05 Anlamlı

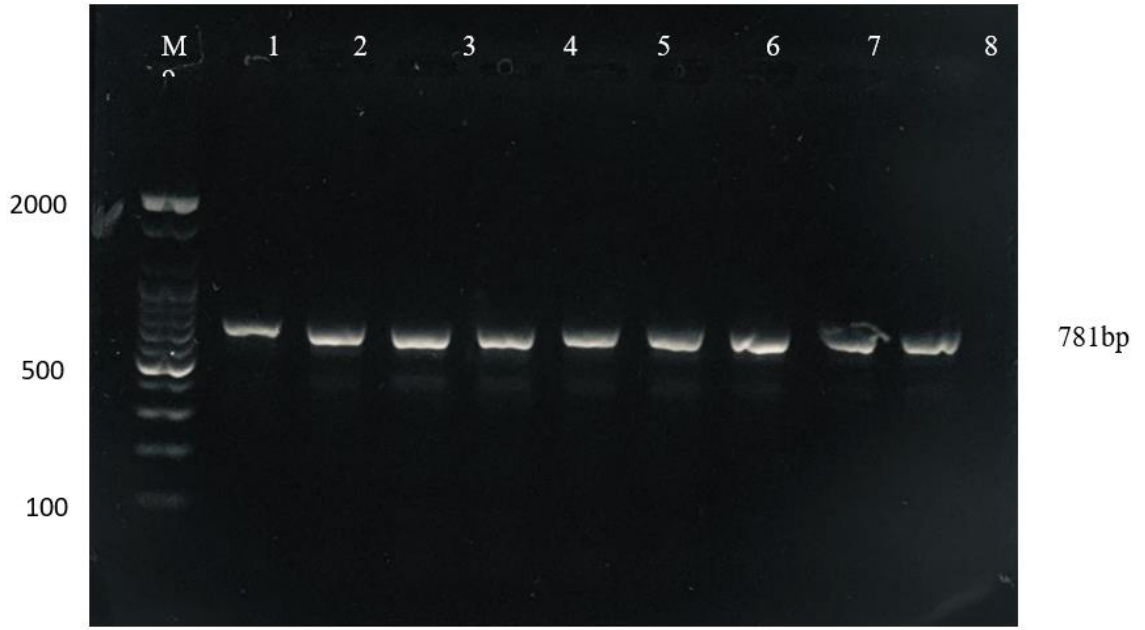
4.4 Çalışma Genleri İçin PCR Sonuçları

PCR deneyinin COVID-19 örneklerinde IL-10 genine ilişkin bulgularında, 5 hastada (%16,7) IL-10 geninin bulunmadığı ve 25 hastada ise (%83,3) bulunduğu tespit edilmiştir. IL-6 geni PCR testi COVID-19'da ve Çizelge 4.4'te gösterilen kontrol örneklerinde %100 pozitif sonuç vermiştir.

Çizelge 4.4 IL-6 ve IL-10 genlerine ilişkin PCR bulguları

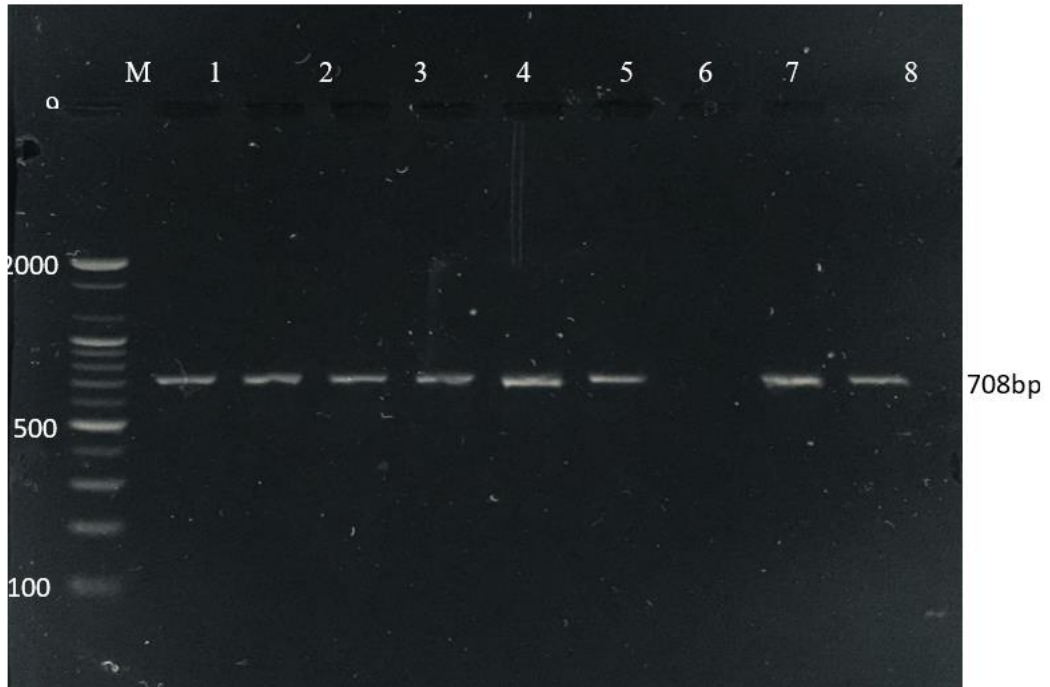
Gen	COVI-19 Pozitif n=50	Negatif	Kontrol Pozitif n=50
IL-10	25 (%83,3)	5 (%16,7)	25 (%100)
IL-6	25 (%100)	0	25 (%100)

IL-10 gen ürününün PCR testi, Şekil 4.1'deki bantların genin yaklaşık 781 bp boyutuna karşılık geldiğini ortaya koymuştur.



Şekil 4.1 1Agaroz jel elektroforezi yoluyla IL-10 gen ürünü amplifikasyonu

IL-6 gen ürününün PCR testi, Şekil 4.2'deki bantların genin yaklaşık 708 bp boyutuna karşılık geldiğini ortaya koymuştur.



Şekil 4.2 Agaroz jel elektroforezi yoluyla IL-6 gen ürünü amplifikasyonu

4.5 Genotipleme Analizi

4.5.1 IL-6 gen polimorfizmi

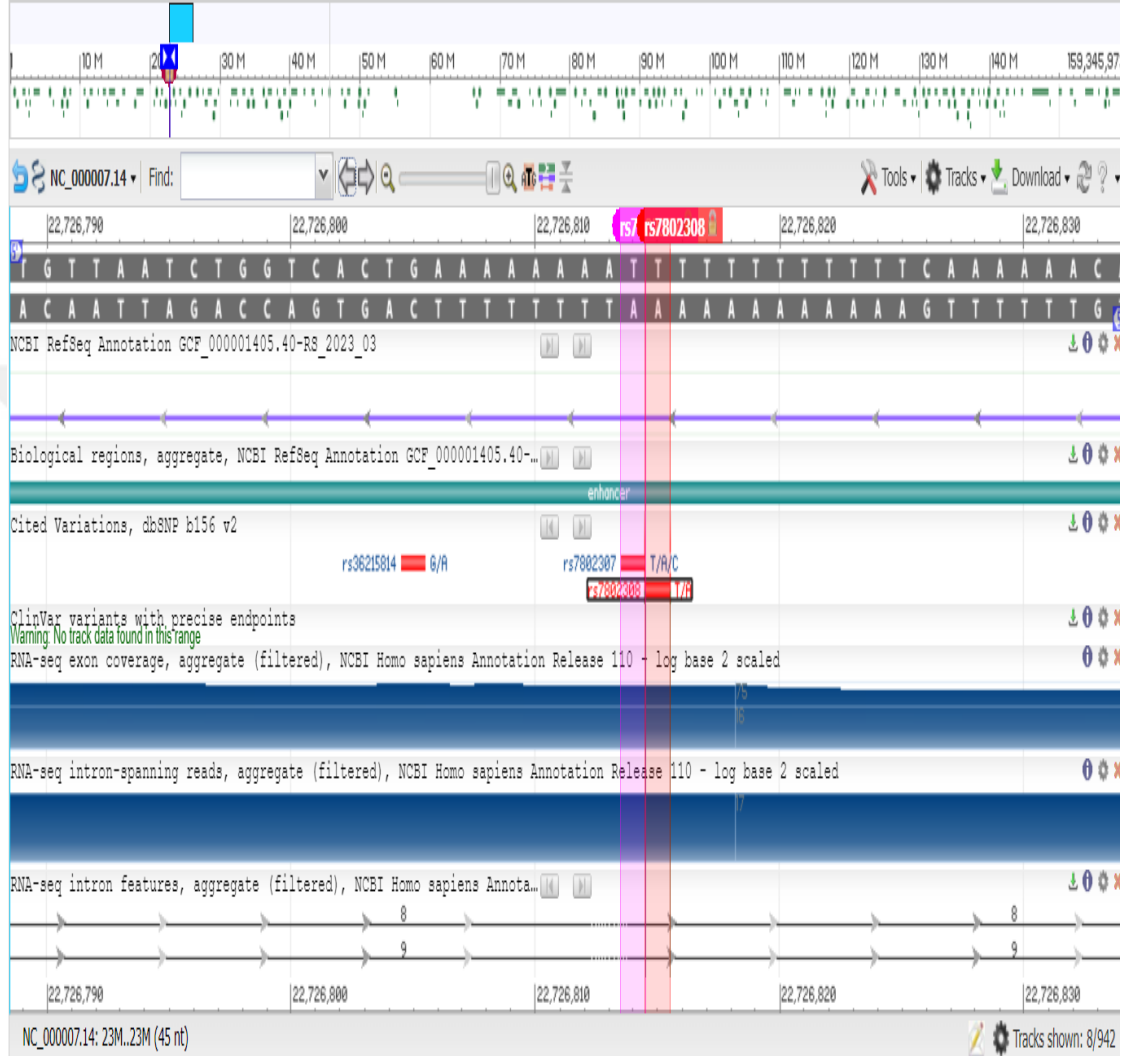
Toplam 50 örnekte IL-6 genetik dizileri üzerinde bir analiz gerçekleştirilmiştir. Buna hastalardan alınan 25 örnek (S1-S25 olarak adlandırılmıştır) ve kontrol deneklerinden alınan 25 örnek (C1-C25 olarak adlandırılmıştır) dahil edilmiştir. Sekanslama reaksiyonları, NCBI blastn analizi ile doğrulandığı üzere, şu anda amplifiye olan spesifik genetik parçanın kesin olarak belirlenmesini sağlamıştır. Motor, amplifiye edilen örnekler ile amaçlanan referans hedef dizileri arasında, yani IL-6 geninin bir kısmı için %99'un üzerinde bir dizi homolojisi olduğunu göstermiştir. Şu anda incelenen örneklerin tespit edilen DNA varyantları ile Gen Bank'tan (NC_000007.14 erişim numarası) elde edilen DNA dizileri arasında bir karşılaştırma yaparak, Şekil 4.3'te gösterildiği gibi, alınan PCR ampliconları hakkında tam konumları ve diğer spesifik bilgileri belirlenmiştir.

Homo sapiens chromosome 7, GRCh38.p14 Primary Assembly

NCBI Reference Sequence: NC_000007.14

[GenBank](#) [FASTA](#)

[Link To This View](#) [Feedback](#)



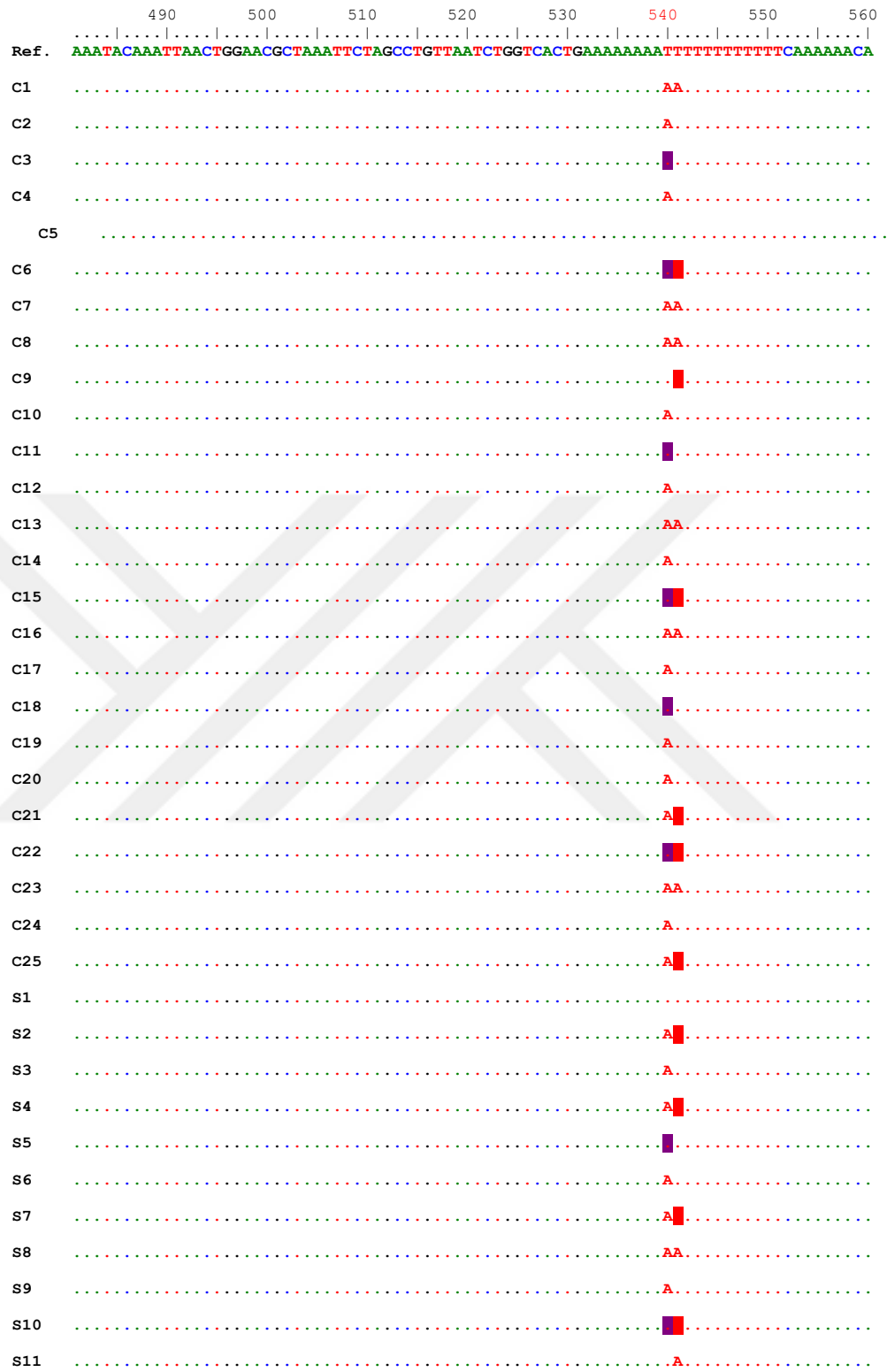
Şekil 4.3 Alınan rs7802307 ve rs7802308 SNP'lerin kromozom No. 7 üzerindeki kesin konumu

708bp PCR fragmanlarının kromozom 7 üzerine konumlandırılmasından sonra bu fragmanların spesifik dizileri tanımlanarak ve etiketlenmiştir. Ek olarak, hedeflenen rs7802307 ve rs7802308 SNP'lerin yanı sıra güçlendirilmiş 708 bp'lik segmentler hem ileri hem de geri primer pozisyonlarını içermektedir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 IL-6 geninin bir segmentini çoğaltmak için kullanılan 708bp PCR amplikonlarının konumu ve uzunluğu

Amplikon	Referans lokus dizileri (5'-3')	Uzunluk
Nükleik asit dizileri içindeki IL-6 geni	CCCTTTCTGCCCTGAACCAA GTGGGCTTCAGTAATTTTCAGGGCTCCAGGAGACCTGGGGCCCAT GCAGGT GCCCCAGTGAAACAGTGGTGAAGAGACTCAGTGGCAATGGGGA GAGCACTGGCAGCACAAAGGCAAACCTC TGGCACAGAGAGCAAAGTCTCACTGGGAGGATTCCCAAGGGG TCACTTGGGAGAGGGCAGGGCAGCAGC CAACCTCCTCTAAGTGGGCTGAAGCAGGTGAAGAAAGTGGCAG AAGCCACGCGGTGGCAAAAAGGAGTCA CACTCCACCTGGAGACGCCTTGAAGTAACTGCACGAAATTTG AGGATGGCCAGGCAGTTCTACAACAG CCGCTCACAGGGGAGCCAGAACACAGAAGAAGTCAAGTACTG GTAGTATTACCTTCTCATAATCCCA GGCTTGGGGGGCTGCGATGGAGTCAGAGGAACTCAGTTCAGA ACATCTTTGGTTTTTACAATAACAAT TAACTGGAACGCTAAATCTAGCCTGTTAATCTGGTCACTGAAA AAAAAATTTTTTTTTTTTCAAAAAACA TAGCTTTAGCTTATTTTTTTTCTCTTTGTAAACTTCGTGCATGAC TTCAGCTTTACTCTTTGTCAAGAC ATGCCAAAGTGCTGAGTCACTAATAAAAAAAAAAAAAAGAAAGTA AAGGAAGAGTGGTTCT GCTTCTTAGCG CTAGCCTC	708 bp

Uygun referans dizileriyle karşılaştırıldığında, 708 bp'lik hizalama sonuçları hem vakalarda hem de kontrollerde test edilen numunelerin nükleik asit varyasyonuna sahip olduğunu göstermiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 IL-6 geninin 708 bp PCR fragmanları için referans dizilerinin, çalışma grubu numunelerinin DNA dizileriyle hizalanması

4.5.1.1 Hardy-weinberg dengesi

Hardy-Weinberg dengesi (HWE), yıkıcı faktörlerin yokluğunda, bir popülasyondaki genetik çeşitliliğin birbirini takip eden nesiller boyunca değişmeden kalacağını ileri süren temel bir fikirdir. Hardy-Weinberg dengesini hesaplamak için, rs7802307 T>A SNP ve rs7802308 T>A SNP için IL-6'nın alel frekanslarını ve genotipini tanımlamak gerekir. Bu frekanslar Çizelge 4.6, Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8'de bulunabilir. Bu çalışmanın bulguları, rs7802307 için (P=0,33) ve rs7802308 için anlamlı olmayan bir sonuçla (P=0,45) Hardy-Weinberg dengesine karşılık gelir. Araştırma örneklerinde spesifik yüksek frekanslı tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlanmıştır. Bu SNP, amplifiye edilmiş PCR fragmanlarının 540 ve 541 pozisyonlarında bir T nükleotidinin bir A nükleotidi ile ikame edilmesini içermekte olup, 540T>A ve T541A mutasyonlarına yol açmaktadır.

Çizelge 4.6 Çalışma grupları arasında rs7802307 ve rs7802308 T>A IL6 genotip sıklığı

rs7802307T>A	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	OR	P değeri
TT	5 (%20)	2 (%8)	2,25	0,4
TA	4 (%16)	6 (%24)	0,6	0,5
AA	16 (%64)	17 (%68)	0,8	0,8
rs7802308 T>A				
TT	12 (%48)	13 (%52)	0,9	0,8
TA	8 (%32)	6 (%24)	1,4	0,6
AA	5 (%20)	6 (%24)	0,8	0,7
P değeri rs7802307=0,33				
P değeri rs7802308=0,45				

Polimorfik paternler TT, TA ve AA olmak üzere üç tiptir. Vakalardan (16/25) ve kontrollerden (17/25) alınan örneklerin çoğu homozigot AA statüsüne sahipken, hem vakalardan (4/25) hem de kontrollerden (6/25) alınan örnekler heterozigot TA paterni göstermiştir. rs7802307 için homozigot TT paterni vakalarda (5/25) ve kontrollerde (2/25) bulunurken, rs7802308 için homozigot AA durumunun vakalarda (5/25), kontrollerde (6/25) ve heterozigot TA paterninin hem vakalarda (8/25) hem de kontrollerde (6/25) daha az sıklıkta bulunması dikkat çekicidir. Tablo (4-6)'da gösterildiği gibi, homozigot TT paterninin vakaların çoğunda (12/25) ve kontrollerde (13/25) bulunması ilginçtir. Sonuç olarak, Çizelge 4.6'daki OR ve P. değerlerine göre, incelenen

IL-6 genetik varyantları (rs7802307 ve rs7802308) ile SARS-COV-2 duyarlılığı arasında güçlü bir korelasyon görünmemektedir.

IL-6 geni -540T>A ve -541T>A polimorfizmleri ile SARS-COV-2 hastalığının gelişimi arasındaki bağlantı istatistiksel olarak anlamlı değildir. rs7802307 ve rs7802308 için sırasıyla 0,4 ve 1 p değerleri belirlenmiştir. Ayrıca olasılık oranı 1,6 olup, SARS-COV-2'nin A alelinin T aleline göre biraz daha yüksek olasılığa sahip olduğunu gösterir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 Çalışma grupları arasında rs7802307 ve rs7802308 T>A IL6'nın alel frekansı

rs7802307 T>A	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	OR	P değeri
T	14	10	1,6	0,4
A	36	40		
rs7802308 T>A				
T	32	32	1	1
A	18	18		

Kontroller arasında IL-6 geni, T>A SNP'nin HWE'sinin mevcut sonuçları, rs7802307 için beklenen genotip ile gözlenen genotip arasında anlamlı olmayan, rs7802308 için beklenen genotip ile gözlenen genotip arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 T>A IL6'nın HWE'nin Kontroller arasında rs7802307 ve rs7802308 genotipleri

RS7802307'nin genotipi	TT	TA	AA	Ki-kare	P değeri
Gözlemlenen genotip	2	6	17	1.6	0,2
Beklenen genotip	1	8	16		
Donanım Frek.	(%4)	(%32)	(%64)		
RS7802308'in genotipi					
Gözlemlenen genotip	13	6	6	5,7	0,02
Beklenen genotip	10,24	11,52	3,24		
Donanım Frek.	%40,96	%46,08	%12,96		

IL-6 dağılımına göre, bu çalışma popülasyonunda resesif model altında T>A SNP (Çizelge 4-9), AA genotipi olan T>A rs7802307'nin TT+TA genotipine kıyasla 1,2'lik

OR değeri ile marjinal bir SARS-CoV-2 gelişme riski gösterdiğini ortaya koymuştur. İlişkinin p-değerinin 0,8 olduğu göz önüne alındığında, istatistiksel olarak anlamlı değildir. Buna karşılık, COVID-19 gelişimi için AA genotipinin TT+TA genotipine karşı olasılık oranı rs7802308 T>A için OR değeri 1,3'tür ve bu da biraz daha yüksek bir riske işaret etmektedir.

Çizelge 4.9 Resesif model altında rs7802307 ve rs7802308 T>A IL-6 SNP dağılımı

rs7802307 T>A	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	OR	P değeri
TT+TA	9	8	1,2	0,8
AA	16	17		
rs7802308 T>A			1,3	0,7
TT+TA	20	19		
AA	5	6		

Çizelge 4.10'da rs7802307T>A için hesaplanan OR değerinin 2,9 olduğu gösterilmektedir, bu da SNP ile SARS2 arasında hafif bir ilişkinin geliştiğini göstermektedir. 0,2'lik p değeri (P) göz önüne alındığında, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin olmadığı sonucuna varılabilir. Rs7802308T>A için OR değeri 0,9'dur ve 0,8 p değeri göz önüne alındığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin olmadığı sonucuna varılabilir.

Çizelge 4.10 Baskın model altında rs7802307 ve rs7802308 T>A IL6 SNP'nin dağılımı

rs7802307T>A	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	OR	P değeri
TT	5	2	2,9	0,2
TA+AA	20	23		
rs7802308T>A			0,9	0,8
TT	12	13		
TA+AA	13	12		

4.5.2 IL-10 gen polimorfizmi

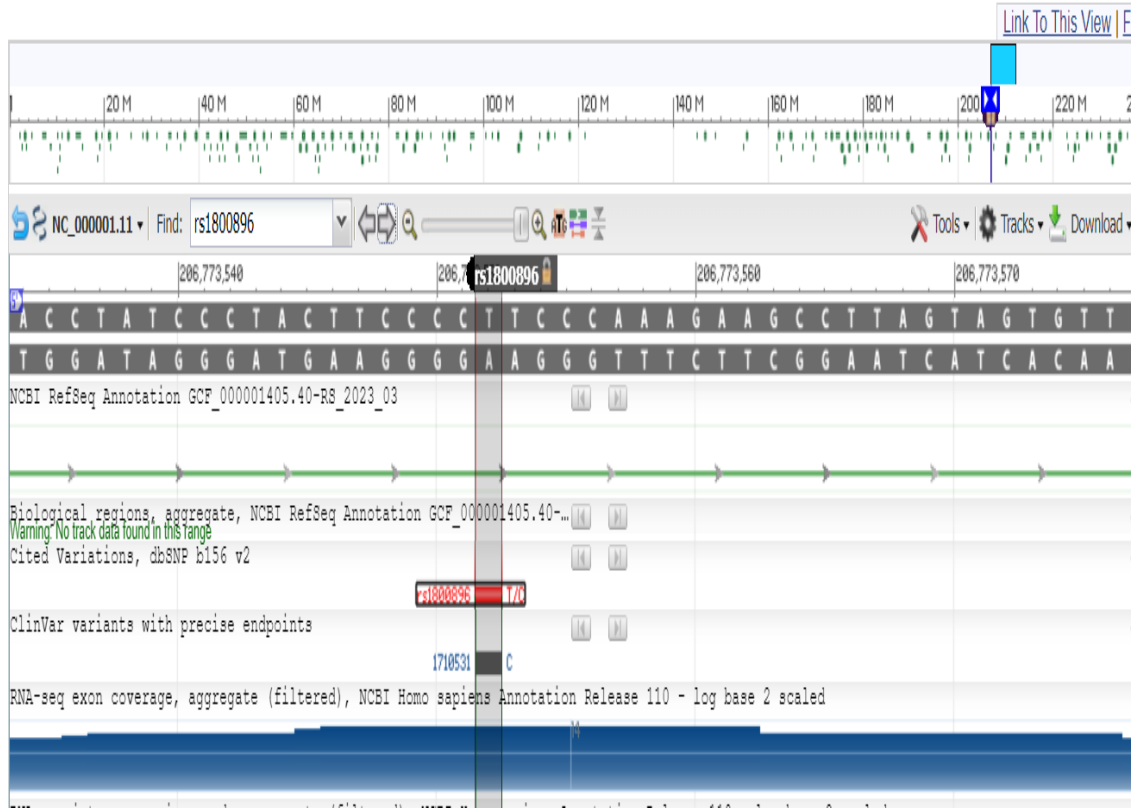
IL-10 gen dizileri hastalardan alınan 25 örnek (S1-S25 olarak adlandırılmıştır) ve kontrol deneklerinden alınan 25 örnek (C1-C25 olarak adlandırılmıştır) olmak üzere toplamda 50 örnek üzerinde gerçekleştirilmiştir. Dizileme prosedürleri, bir NCBI blastn analizi yaparak

çoğaltılan segmentin kesin genetik bileşimini ortaya çıkarmıştır. Motor, amplifiye edilen örnekler ile hedeflenen referans hedef diziler arasında, yani IL-10 geninin bir kısmı için %99'un üzerinde bir dizi homolojisi olduğunu göstermiştir. Halihazırda çalışılan örneklerin gözlemlenen DNA varyasyonları ile GenBank'tan (NC_000001.11 erişim numarası) elde edilen DNA dizileri arasında bir karşılaştırma yaparak, çıkarılan PCR ampliconlarının tam konumlarını ve diğer spesifik özellikleri belirlenmiştir (Şekil 4.6).

Homo sapiens chromosome 1, GRCh38.p14 Primary Assembly

NCBI Reference Sequence: NC_000001.11

[GenBank](#) [FASTA](#)



Şekil 4.6 IL10 geninin alınan rs1800896'sının kromozom No. 1 içindeki konumu

781bp PCR fragmanlarının kromozom 1'e konumlandırılmasından sonra, bu fragmanların özel dizileri tanımlanmış ve etiketlenmiştir. Ek olarak, amplifiye edilmiş 781 bp fragmanındaki ileri ve geri primer konumları, spesifik olarak rs1800896 SNP'yi hedef olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

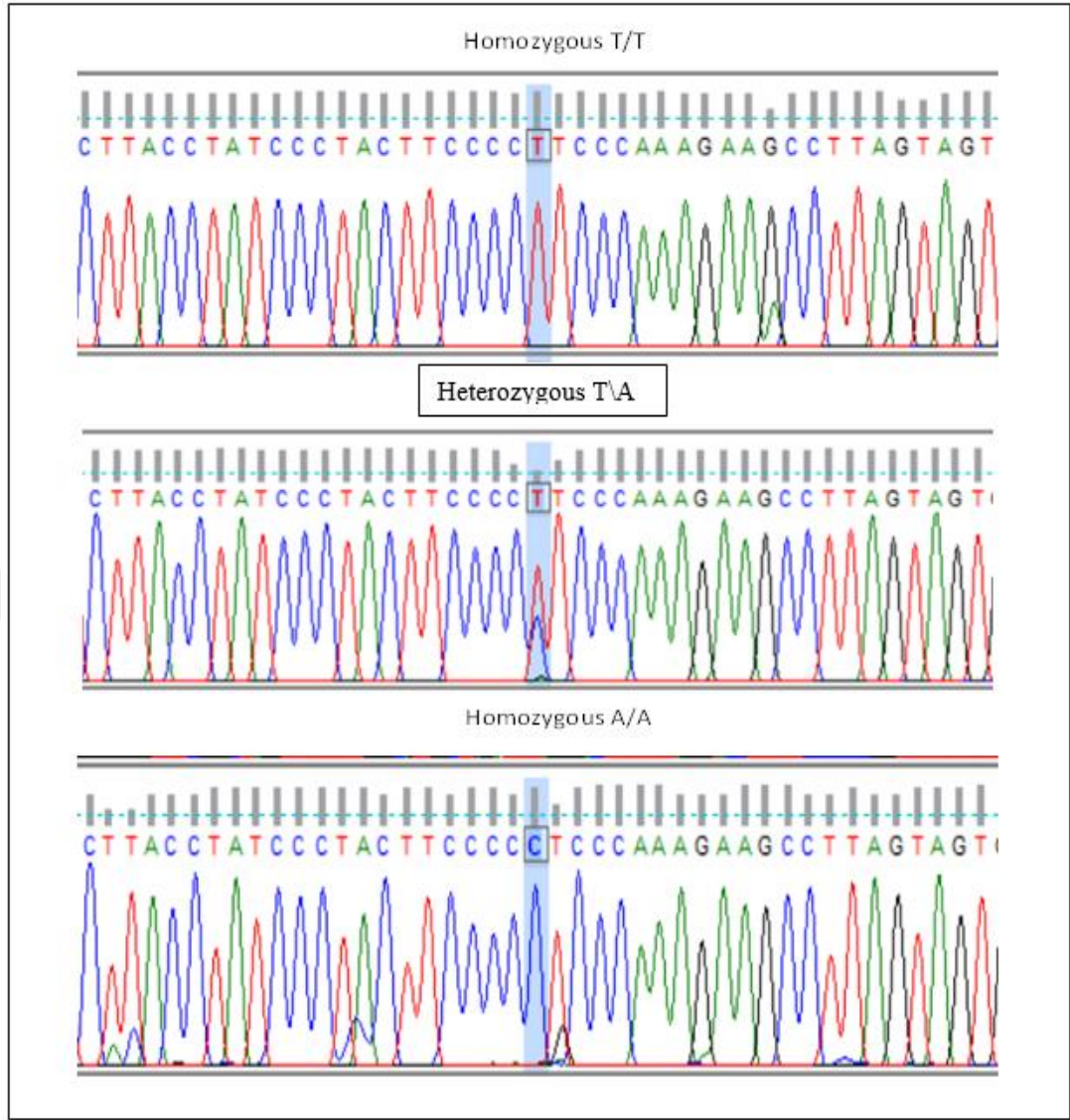
Çizelge 4.11 IL-10 geninin bir segmentini amplifiye etmek için kullanılan 781 bp PCR ampliconlarının konumu ve uzunluğu

Amplikon	Referans lokus dizileri (5'-3')	Uzunluk
IL-10 genindeki nükleik asit dizileri	GGTAGTGCTCACCATGACCC TACCGTCTCTATTTTATAGTGAGCAAAGTGGAGGCACAGAGATATT ACATCACCTGTACAAGGGTACACCAGTGCCAAGTGGAGAATTTGG TTTCCTCACCTACTGTACACCATCTCCAGCACATAGAATGAAAC CTTGATTAAATTGGCCTTAGAGTTTCTTTTAGTTGTAAGCTTCTG TGGCTGGAGTCTAAAGTTTAAAAGATGGGGTGGGAAGAAGTTGAA ATAACAAGGAAAAGAAGTCAGGATTCCATGGAGGCTGGATAGG AGGTCCTTACTTTCTCTTACCTATCCCTACTTCCCCTTCCCAA GAAGCCTTAGTAGTGTTGTCTTGGATTTGTGTGTGTGTGTGTGTG TG AGTTGGGTTGCGGCGAGGAGTGTGCTCTACCTGGGGAAGGACC GGGCGAGTGACATCAGGACTTCTTCAGATATCTGGAAAAGTCTCTG GGGATCCTTTGATTGAGCCTTACCTTCCCCTTCCACAGGGGCTT TGCCTGCCATTCCAGTTTAGACTGTAAGTGGGAGGAACACTGACC TAGGTGCAGGAGGCTGGGCTCTGCCTTGGCCCTGCCACTCTATA GTCAGGGCAAATCACTCATCCTCCCTGTGTCTGTTTTTCATCTGTC CCAACAGGGCAATAGCACCTGTCTCCTGCCTGCCAGGGAGCAT TGAGCTTAAGTAGCCATGGACC CAGATGGAGGGCATTTCAGTG	781bp

781 bp'lik örneklerin hizalama sonuçları, eşleşen referans dizileri ile karşılaştırıldığında her iki çalışma grubu olmak üzere araştırılan örneklerin nükleik asit bileşiminde yalnızca bir fark olduğunu göstermiştir (Şekil 4.7).

İncelenen örneklerde, keşfedilen polimorfik lokus oldukça yaygındır. Bu nedenle, dbSNP veri tabanında listelenen IL-10 geninin genomik DNA dizileri içindeki ilgili konumlarında bu özel varyasyon hakkında ek bilgilerin araştırılması gereklidir. Dizilenen 781bp'lik parçaların SNP veri tabanına göre hedeflenen varyantın spesifik genomik konumlarını keşfetmek için dbSNP sunucusundan IL-10 geninin uygun konumu elde edilmiştir. Ayrıca, tespit edilen tek nükleotid polimorfizmi (SNP) hakkında daha fazla bilgi sağlamak için grafiksel gösterimler sunulmuştur. Bu gösterimler, özellikle 1 numaralı kromozoma odaklanan ve NC_000001.11 GenBank Erişim numarasını kullanan IL-10 dbSNP veritabanına dayanmaktadır.

Tanımlanan varyantın sekans kromatogram dosyaları, kapsamlı ek açıklamalarıyla birlikte kaydedilmiş ve oluşturulan 781 bp PCR fragmanlarındaki eşleşen konumuna göre gösterilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 SNP, IL10 geninin hedeflenen 781 bp ampliconlarının kromatogramı

4.5.2.1 Hardy-weinberg dengesi

Hardy-Weinberg dengesi (HWE), genetik çeşitliliğin, bozucu faktörlerin yokluğunda, birbirini takip eden nesiller boyunca bir popülasyon içinde değişmeden kalacağını ileri süren temel bir fikirdir. Hardy-Weinberg dengesini hesaplamak için, Çizelge 4.12, Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14'te sunulduğu gibi IL-10 T>C SNP'nin alel frekanslarını ve genotipini belirlemek gerekir. Bu çalışmanın bulguları Hardy-Weinberg dengesi (HWE) ile uyumludur ve istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç göstermektedir (P=0,0028).

Çizelge 4.12 COVID 19 hastaları ve kontrol grubu arasında rs1800896 T>C IL10 genotip sıklığı

rs1800896 T>C	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	OR	P değeri
TT	4 (% 34,6)	11(%60)	0,24	0,036
TC	3	5	0,54	0,44
CC	18	9	4,56	0,012

Analiz edilen örneklerde spesifik bir yüksek frekanslı tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tespit edilmiştir. Bu SNP, 327T>C veya T327C olarak gösterilen, çoğaltılmış PCR parçalarının 327. pozisyonunda bir T nükleotidinin bir C nükleotidi ile yer değiştirmesini içermektedir. Çizelge 4.12'ye göre: rs1800896 TT genotipi için SARS-CoV-2'li 4 birey ve kontrol grubundaki 11 birey bu genotipe sahiptir. OR değeri 0,24'tür ve bu genotipin COVID-19'a karşı olası koruyucu etkisini göstermektedir. P-değeri 0,036'dır ve bu genotip ile SARS-CoV-2 gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı olduğunu göstermektedir.

rs1800896 TC genotipi için: SARS-CoV-2'li 3 kişi ve kontrol grubundaki 5 kişi bu genotipe sahiptir. OR değeri 0,54'tür ve bu genotip ile SARS-CoV-2 duyarlılığı arasında güçlü bir ilişki olmadığını ve 0,44 P-değeri ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir.

rs1800896 CC genotipi için: SARS-CoV-2'li 18 kişi ve kontrol grubundaki 9 kişi bu genotipe sahiptir. OR değeri 4,56'dır ve bu genotiple ilişkili olası bir COVID-19 risk artışına işaret etmektedir. P değeri 0,012'dir ve bu genotip ile SARS-CoV-2 hastası olmak arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Bu bulgulara göre, TC genotipi COVID-19'a karşı koruma sağlayabilirken, rs1800896 CC genotipi virüse yakalanma olasılığını artırabilir

Çizelge 4.13'e göre, COVID 19 hastalığı ve kontrol arasında IL-10, T>C SNP allel frekansı, IL-10-327 T>C polimorfizmleri ile SARS-COV-2 hastalığının gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki göstermiştir. 0,24'lük OR oranı, C aleli taşıyan kişilerin

COVID-19'a yakalanma olasılığının T aleli taşıyan kişilere göre daha düşük olduğunu gösterir.

Çizelge 4.13 COVID 19 ve kontrol arasında rs1800896 T>C IL-10 alel sıklığı

rs1800896 T>C	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	OR	P değeri
T	11	27	0,24	0,001
C	39	23		

Çizelge 4.14'te, gözlemlenen genotip frekansları beklenen frekanslardan önemli ölçüde farklı olduğundan, sonuçlar popülasyonun kontroller arasında rs1800896 T>C IL-10 geni için Hardy-Weinberg dengesinde olmadığını göstermiştir. Hardy-Weinberg dengesinden sapma istatistiksel olarak anlamlı olup, kontrol grubu arasında beklenen genotip ile gözlenen genotip arasındaki ilişki anlamlıdır.

Çizelge 4.14 Kontrol grubu arasında rs1800896 T>C IL-10'da Hardy-weinberg dengesi

Genotip	TT	TC	CC
Gözlemlenen genotip	11	5	9
Beklenen genotip	7,29	12,42	5,29
Donanım Frek.	(%29,16)	(%49,68)	(%21,16)

Resesif bir modelde, Çizelge 4.15'te gösterilen bilgilere göre CC genotipinin, TT+TC genotipine kıyasla SARS-COV-2 ile daha yüksek bir risk ilişkisine sahip olduğu görülmektedir. 2,5'lik OR değerine göre, CC genotipine sahip kişilerin SARS-COV-2'ye yakalanma riski, TT+TC genotipine sahip kişilere kıyasla 2,5 kat daha fazladır. Ayrıca, bu sonuçlara dayanarak, resesif bir model altında rs1800896 T>C IL-10 SNP ile SARS-COV-2 duyarlılığı arasında anlamlı bir bağlantı olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.15 Resesif model altında bu çalışma popülasyonunda rs1800896 T>C IL-10 SNP'nin dağılımı

Genotip	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	OR	P değeri
TT+TC	7	16	0,21	0,01
CC	18	9	2,5	

Çizelge 4.16, sırasıyla hasta grubunda 4 kişinin ve kontrol grubunda 11 kişinin TT genotipine sahip olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde hasta grubunda 21 kişi, kontrol grubunda ise 14 kişide TC+CC genotipi vardır. TT genotipine sahip kişilerle karşılaştırıldığında, TC+CC genotipine sahip olanların, 0,85'lik olasılık oranının gösterdiği gibi, COVID-19'a yakalanma olasılıkları biraz daha düşüktür. Bu ilişki, 0,04'lük p değeriyle gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlıdır. Buna göre bu sonuçlar, çalışma popülasyonunda, baskın model altında, COVID-19 duyarlılığının rs1800896 T>C IL-10 SNP ile bağlantılı olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.16 Baskın model altında bu çalışma popülasyonunda rs1800896 T>C IL-10 SNP'nin dağılımı

Genotip	Hasta (n=25)	Kontrol (n=25)	OR	P değeri
TT	4	11	0,85	0,04
TC+CC	21	14		

5. TARTIŞMA

5.1 Çalışma Grubunun Demografik Özellikleri

Bu çalışmada bir hasta ve bir kontrol grubu yer almış ve her grup farklı yaş aralıklarındaki bireylerden oluşmuştur. Yaş ortalaması $43,30 \pm 14,68$ olan 50 SARS-CoV-2 hastası ve yaş ortalaması $38,24 \pm 10,33$ olan 50 sağlıklı birey üzerinde çalışılmıştır. Bu karakterler, kontrol grubu ile hasta grubu arasında yaş dağılımı açısından bir karşılaştırmayı temsil etmektedir ve 0,208 P değeri, iki grup arasındaki yaş ve cinsiyet farklılıklarının istatistiksel olarak anlamlı olmadığını göstermektedir. Çalışmamızda yaş ile COVID-19 şiddeti arasında önemli bir bağlantı olduğunu tespit edilmiştir. Spesifik olarak, 50 yaş ve üzerindeki kişilerin 50 yaşın altındaki kişilere göre ciddi bir SARS-COV-2 formu geliştirme olasılığının önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$).

Bununla birlikte, yaşın SARS-COV-2 sonuçlarını nasıl etkilediğini araştırmak için yakın zamanda bir meta-analiz yapılmıştır, bu çalışmanın sonuçları yaşın SARS-COV-2'nin şiddeti ve mortalite üzerinde nispeten küçük bir etkisi olduğunu göstermiştir (Romero Starke *et al.* 2020). Gausman and Langer (2020), SARS-COV-2 hastalarında cinsiyete göre farklılıkları araştırmıştır. Kadınların erkeklerden daha büyük bağışıklık tepkilerine sahip olduğunu gözlemleyerek, bağışıklık sisteminin cinsiyet farklılaşmasında önemli bir faktör olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuç, Mo *et al.* (2021) tarafından Çin'de yapılan ve erkeklerin SARS-COV-2 enfeksiyonuna karşı kadınlara kıyasla daha hassas olduğunu ortaya koyan bir çalışmayla tutarlıdır. Bu çalışma, hem D-dimer hem de CRP için kontrol grubu ile hasta grubu arasında gözlemlenen farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ki bu da Mardani *et al.* (2020) ile uyumludur.

5.2 IL-6 ve IL-10 için PCR Sonuçları

COVID-19 örneklerinde IL-10 geni için PCR testinin sonuçlarında, 5 hastada (%16,7) IL-10 geni bulunmazken, 25 hastada (%83,3) IL-10 geni tespit edilmiştir. Ayrıca pozitif sonuçların hepsi (%100) kontrol örneklerindedir. IL-6 geni PCR testi COVID-19 ve

kontrol örneklerinde %100 pozitif sonuç vermiştir. Viral suştaki değişiklikler, kişinin genetik bileşimi, hastalığın ilerlemesi veya enfeksiyon aşaması veya sitokin düzenlemesini ve bağışıklık sistemini etkileyen diğer unsurlardan kaynaklanabilir. Pánico *et al.* (2022) SARS-COV-2'nin DNA hasarının indüklenmesine katkıda bulunabileceğine inanmaktadır. Veriler, bu virüslerin memeli hücrelerinde çoğalırken hücre döngüsünün bozulmasına, genomik kararsızlığa ve DNA hasarına neden olabileceğini göstermektedir. Malignite, tip 2 diyabet, nörolojik sendrom ve ateroskleroz gibi kronik hastalıkların gelişimi DNA hasarı ve anormal DNA onarım sistemlerinin uyarılmasıyla bağlantılı olduğundan, SARS-COV-2'nin geri kazanılmasında karşılaştırılabilir etkilere ve sonuçlara odaklanmak çok önemli olacaktır.

5.3 IL-6 Gen Polimorfizmi

IL-6, ilgili spesifik sinyal yoluna bağlı olarak inflamasyonu uyarabilen veya inhibe edebilen çeşitli etkilere sahip bir sitokindir (Scheller *et al.* 2011). Bu sitokin, beyaz kan hücrelerinin hayatta kalması, büyümesi, uzmanlaşması ve göçü gibi önemli hücresel süreçlerde hayati bir işleve sahiptir (Scheller *et al.* 2011). Enfeksiyonlara veya doku hasarına yanıt olarak fibroblastlar, nötrofil, mast hücreleri, keratinositler, DC'ler, monositler, endotel hücreleri (EC'ler) ve hücre lenfositleri dahil olmak üzere farklı hücre tipleri IL-6'yı üretir ve sentezler (Mauer *et al.* 2015). İnterlökin-6 (IL-6), IL-8, IL-4, TNF- α ve IL-10 gibi inflamasyonu teşvik eden diğer sitokinlere ek olarak, bağışıklık tepkisinin kontrolünü bozan sitokin fırtınalarını indükleme potansiyeline sahiptir (Barrett 2019). IL-6'nın ayrıca kansere ve viral hastalıklara karşı immünolojik yanıt üzerinde olumsuz etkisi vardır. Programlanmış hücre ölümü proteini 1 (PD-1) gibi bağışıklık fonksiyonunu azaltan moleküllerin üretiminde artışa neden olmaktadır (Bardhan *et al.* 2016). Gupta *et al.* (2020)'a göre, SARS-COV-2, MERS-COV ve SARS-COV gibi viral enfeksiyonlar sitokin fırtınası ve lenfopeni olmak üzere iki önemli immünopatolojik özellik sergiler. Ayrıca SARS-COV-2 şiddetine sahip bireylerde interlökin-6 seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir. Bunların akciğer dokusu tahribatı ve enfeksiyonun seyri ile yakından bağlantılı olduğu keşfedilmiştir (Liu *et al.* 2020). Ayrıca, IL-6 düzeylerinin inflamasyonun bir göstergesi olarak görev yaptığı ve hafif bir hastalıktan şiddetli bir hastalığa ilerlemenin tahmin edilmesine olanak sağladığı öne sürülmüştür (Wang *et al.*

2020). Sitokinlerde rol oynayan genlerin belirli alanlarında genetik varyasyonların varlığı Haukim *et al.* (2002) tarafından gösterildiği gibi potansiyel olarak sitokin çıktısında değişikliklere yol açabilir.

Bu çalışmada, iki işlevsel SNP (rs7802307 (T540A) ve rs7802308 (T541A)) içeren IL-6 geni ve bir SNP (rs1800896 (T327C)) içeren IL-10 ile SARS-CoV-2 hastalığının gelişimi arasındaki potansiyel bağlantılar, Irak popülasyonundaki 50 SARS-CoV-2 hastası ve 50 sağlıklı kontrolden oluşan iki grup arasında incelenmiştir. Sonuçlar, iki grup arasında IL-6'daki SNP (rs7802307) için genotip ve alel frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir varyasyon olmadığını, IL-6'daki (rs7802308) alel frekansları ve genotiplerinde anlamlı olmayan varyasyon olduğunu ve iki grup arasında IL-10'daki (rs1800896) alel frekansları ve genotiplerinde anlamlı varyasyon olduğunu göstermiştir.

Dizilenen 708bp'lik segment için SNP veri tabanına göre spesifik SNP'lerin konumlarını belirlemek amacıyla, IL-6 geninin uygun konumları SNP veri tabanı web sitesinden elde edilmiştir. Bu (SNP'ler) tek nükleotid polimorfizmlerinin özelliklerini belirlemek için kromozom 1 üzerindeki IL-6 dbSNP veritabanı (GenBank Acc. Nc_000007.14) kullanılarak grafiksel bir gösterim gerçekleştirilmiştir. dbSNP veritabanında tanımlanan on dört tek nükleotid polimorfizminin (SNP) tamamı incelenmiştir. DNA dizilemesinin mevcut bulguları, interlökin-6 geni içinde rs7802307 ve rs7802308 olarak da bilinen T540A tek nükleotid polimorfizmini (SNP) tanımlamıştır. Bu tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ClinVar veri tabanında belgelenmiştir.

Bu çalışma, rs7802307 T>A SNP için IL-6'nın genotip ve alel frekansının HWE hesaplamasını anlamlı olmayan bir sonuçla ($P=0,2$) gösterirken, rs7802308 için beklenen genotip ile gözlenen genotip arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Analiz edilen örneklerde spesifik yüksek frekanslı tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlanmıştır. Bu SNP, özellikle 540T>A ve 541T>A olarak adlandırılan amplifiye PCR fragmanlarının 540 ve 541 pozisyonlarında bir T nükleotidinin bir A nükleotidi ile yer değiştirmesini içermektedir.

Polimorfik modeller TT, TA ve AA olmak üzere üç tiptir. Vakalardan (16/25) ve kontrollerden (17/25) alınan örneklerin çoğu homozigot AA statüsüne sahipken, hem vakalardan (4/25) hem de kontrollerden (6/25) alınan örnekler heterozigot TA paterni göstermiştir. rs7802307 için homozigot TT paterni vakalarda (5/25) ve kontrollerde (2/25) bulunurken, rs7802308 için homozigot AA durumunun vakalarda (5/25), kontrollerde (6/25) ve heterozigot TA paterninin hem vakalarda (8/25) hem de kontrollerde (6/25) daha az sıklıkta bulunması dikkat çekicidir. Çizelge 4.6'da gösterildiği gibi, homozigot TT paterninin vakaların çoğunda (12/25) ve kontrollerde (13/25) bulunmuştur. Sonuç olarak, incelenen IL-6 genetik varyantları (rs7802307 ve rs7802308) ile SARS-CoV-2 duyarlılığı arasında güçlü bir korelasyon yok gibi görünmektedir.

Bu tek nükleotid polimorfizmi (SNP), Karcioğlu Batur and Hekim (2021)'in IL-6 genlerindeki varyasyonların mortalite ve prevalans oranlarıyla korelasyon göstermediğine dair bulgularıyla örtüşmektedir. Ayrıca, Falahi *et al.* (2022)'nin sonuçlarıyla da uyumludur. Ağır ve hafif SARS-COV-2 hastalarında IL-6 geninin promotörleri için belirlenen alandaki belirli SNP'lerin (rs1800796 (-572 G > C), rs1800795 (-174 G>C) ve rs1800797 (-597 G>A)) alel dağılımında veya genotipinde kayda değer bir farklılık yoktur. Öte yandan, bu SNP, Çinli Han hastalarının IL6 SNP rs1800795 G aleli ile pnömoni kaynaklı sepsise karşı dirençli olabileceğini keşfeden Mao *et al.* (2017)'nin sonuçlarıyla çelişmektedir.

Mevcut çalışma, rs7802308 için IL-6 ile SARS-COV-2 hastalığının oluşumu arasında p değeri 0,45 olan anlamlı bir bağlantı olmadığını ortaya koymuştur. Yeni bir araştırma, G174C'deki SNP'de (rs1800795) IL-6 gen polimorfizmi ile Türk halkı arasında SARS-CoV-2'nin gelişme olasılığı arasında anlamlı bir bağlantı keşfetmiştir ve bu çalışma ile tutarlı değildir. Sonuçlar, metabolik asidoz sendromu olan grubun GG genotipi sıklığının (P=0,002) metabolik asidoz sendromu olmayan gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir.

Ayrıca, Kafkas gruplarını içeren bir çalışmada G174C (rs1800795) SNP'sinin SARS-CoV-2 gelişimiyle güçlü bir şekilde bağlantılı olduğu, ancak aynı zamanda KOAH'a (kronik obstrüktif akciğer hastalığı) duyarlılıkla da önemli ölçüde bağlantılı olduğu

bulunmuştur (Kirtipal *et al.* 2020). Jiménez-Sousa *et al.* (2017), büyük kalp veya sindirim ameliyatı geçiren Kafkasyalı grupları içeren bir çalışmanın, rs1800795 CC genotipine sahip hastaların septik şokla ilişkili mortaliteye karşı daha savunmasız olduğunu gösterdiğini bildirmiştir. Çin'de yapılan bir çalışmada, C174C genotipine sahip kişilerin pnömoninin neden olduğu sepsis gelişimine daha yatkın olduğu bulunmuştur (Mao *et al.* 2017).

IL-6 polimorfizmleri viral hepatit türleri, influenza virüsü ve EBV gibi bazı viral hastalıklarla ilişkilidir (Riazalhosseini *et al.* 2018). Mao *et al.* (2017)'a göre IL-6 rs1800795 G aleli bir koruma kaynağı olarak işlev görebilirken, IL-10 rs1800896 pnömoni kaynaklı sepsisli Çinli bireylerde bir alel tehlike belirteci olarak hizmet edebilir. Dahası, bu IL-6 varyasyonları IL-6 ve IL-10 salınımını etkilemiş ve septik klinik evre ile bağlantılı bulunmuştur.

Buna ek olarak, IL-6 geninin iki SNP'sini (rs1800796 ve rs1800795) inceleyen ayrı bir çalışmada, IL-6'nın rs1800797 AA'sı rs1800795 CC'si arasında bir korelasyon bulunmuş ve bu da Litvanya popülasyonunda rahim ağzı kanserine karşı daha büyük bir savunmasızlığa işaret etmiştir (Vitkauskaite *et al.* 2021).

Genetik araştırmaların sonuçlarındaki varyasyonlar, birden fazla faktörden etkilenen karmaşık bir konudur. Bu alandaki araştırmacılar, örneklem seçme süreci, çalışmanın tasarlanması, teknolojik kısıtlamalar ve istatistiksel analiz gibi faktörler nedeniyle sorunlarla karşılaşmaktadır. Genetik araştırmaların güvenilirliğini ve tutarlılığını artırmak için araştırmacılar sonuçlardaki tutarsızlık sorununu ele alabilirler. Bu da insan sağlığı ve hastalıklarının karmaşık genetik temellerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Çeşitli araştırmalarda bildirilen sonuçlardaki farklılıklar, örneklem büyüklüğü, hasta seçim kriterleri, iltihaplı hastalıkların etiyolojisi, coğrafi konum, etnik köken ve ırk çeşitliliğindeki farklılıklara bağlanabilir.

5.4 IL-10 Gen Polimorfizmi

İnflamatuar bir sitokin olan IL-10, SARS-CoV-2 enfeksiyonunu takiben ağır veya kritik hastalık durumuna giren hastalarda yüksek konsantrasyon gösterir. IL-10, diğer bağışıklık hücrelerinin yanı sıra T hücreleri ve makrofajlar tarafından salınır. Özellikle T hücresi ve makrofaj aktivitesi olmak üzere bağışıklık sistemi aktivitesini inhibe ederek immünolojik yanıtın kontrolünde hayati bir rol oynar (Diao *et al.* 2020). İnflamasyonu azaltmaya yardımcı olduğu ve bir bağışıklık tepkisi sırasında aşırı doku hasarını azalttığı için IL-10, bir anti-inflamatuar sitokin olarak kabul edilir. Durumun ciddi vakalarında, artan bir inflammatuar yanıt ortaya çıkabilir; IL-10 bu reaksiyonu kontrol etmeye yardımcı olabilir. IL-10, bağışıklık tepkisini azaltarak doku hasarına ve solunum rahatsızlığına neden olabilecek sitokin fırtınasını azaltabilir (Soy *et al.* 2020). IL-10, pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar yanıtlar arasındaki dengeyi düzenlemeye yardımcı olur; bu, özellikle şiddetli COVID-19 vakalarında görülen bağışıklık düzensizliğini kontrol etmede önemlidir (Han *et al.* 2020). Çalışmalar, şiddetli SARS-CoV-2 hastalarının genellikle önemli ölçüde daha düşük IL-10 seviyeleri sergilediğini göstermiştir. Bu, IL-10'un eksik üretiminin, şiddetli vakalarda bulunan aşırı inflammatuar reaksiyonda bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

IL-10 geninin gerekli konumları dbSNP web sitesinden alınmış ve bu da dizilenmiş 781bp segmentin SNP veritabanına göre bireysel SNP'lerin konumlarının belirlenmesine yardımcı olmuştur. Bu tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) özelliklerini belirlemek için, kromozom 1 üzerinde bulunan IL-10 dbSNP veritabanı (GenBank Acc. Nc_000001.11) kullanılarak görsel bir gösterim oluşturulmuştur. dbSNP veritabanında tanımlanan on dört tek nükleotid polimorfizminin (SNP) tümü incelenmiştir. DNA dizilemesinin mevcut bulguları, IL-10 geninde rs1800896 olarak da bilinen bir T327C tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlamıştır. İnternet sitesinden görüntülenebilen ClinVar veritabanı, bu SNP'nin varlığına ilişkin bilgiler içermektedir.

Mevcut çalışmada rs1800896 polimorfizmi ile SARS-COV-2 virüsünün şiddeti arasında önemli bir ilişki gözlemlenmiştir; bu da Rizvi *et al.* (2022) interlökin-10 gen polimorfizminin (rs1800872) SARS-COV-2 hastalarının şiddeti ile ilişkili olduğu

bulgularıyla tutarlıdır. Chong *et al.* (2006) ile tutarlı olmasa da SARS COVID'deki IL-10 polimorfizmi, bu tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ile SARS arasında bir bağlantı olmadığını göstermiştir.

Mevcut çalışmada, çoğaltılmış PCR parçalarının 327. pozisyonunda bir T nükleotid bazının bir C nükleotid bazı ile yer değiştirdiği tek nükleotid polimorfizminin (SNP) olduğu kaydedilmiştir. Mevcut bulgular, 23 ülkede bir çalışma yürüten Karcioğlu Batur and Hekim (2021)'in bulguları ile uyumludur. rs1800896'nın AG genotipi ile SARS-COV-2'nin gelişimi arasında dikkate değer güçlü bir bağlantı gözlemlenmiştir.

Hastalarda (18/25) ve kontrollerde (9/25) ortak örneklerde homozigot CC tespit edilirken, heterozigot TC paterni hem vakalarda (3/25) hem de kontrollerde (5/25) gözlenmiştir. Önceki bir çalışmada, IL-10'un (rs1800896) hastalık şiddetinin azalması ile önemli bir bağlantı ortaya koyduğu bulunmuştur. Spesifik olarak, heterozigot AG genotipine sahip bireyler arasında hastalık şiddeti riski azalmıştır ($p=0,068$). Bununla birlikte, AG ve AA genotipleri ile SARS-COV-2'nin şiddeti arasında istatistiksel olarak önemli bir bağlantı tespit edilmemiştir ($p>0,05$) (Rizvi *et al.* 2022). Yirmi üç ülkeyi kapsayan bir çalışma, rs1800896 AG genotip sıklığı ile SARS-COV-2 oluşumu arasında güçlü bir bağlantı olduğunu göstermiştir (Rizvi *et al.* 2022). rs1800896 SNP'sinin IL-10 gen polimorfizmleri popülasyon farklılıkları sergilemektedir. AA genotipi Meksika halkı, Japonya ve Tunus arasında sıklıkla görülürken, AG genotipi İspanyol popülasyonları, Hindistan, İran, Çekya, Hollanda, Polonya, Almanya, Birleşik Krallık ve Norveç arasında daha yaygındır (Rizvi *et al.* 2022). SNP rs1800896 polimorfizminin GG genotipi, yalnızca İtalyan popülasyonunda en yüksek prevalansa sahiptir (Karcioğlu Batur and Hekim 2021).

SARS'ta IL-10 polimorfizmine ilişkin ilk çalışma, Chong *et al.* (2006) tarafından bildirildiği üzere, tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ile SARS arasında ilgisiz bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Tek nükleotid polimorfizmi IL-10'un sitokin genotipini araştıran bir vaka kontrol araştırması, SARS'lı hastalar arasında hayatta kalma ve ölüm oranıyla ilişkili olarak IL-10 polimorfizmlerinin alel frekansları ve genotipi arasında önemli bir bağlantı olmadığını bulmuştur (Lau and Peiris 2009). Sonuçlarımız,

bu çalışmanın bulgularıyla uyumlu değildir. Promotör bölgedeki genetik varyantlar, IL-10 üretimindeki bireyler arası farklılıklara katkıda bulunur. IL-10 genetik polimorfizmini araştıran başka bir çalışmada, SNP rs1800896 (-1082 G/A) ile daha yüksek kan IL-10 seviyeleri arasında bir korelasyon bulunmuştur, buna ek olarak, pnömoni için yüksek risk şiddeti de tespit edilmiştir (Gallagher *et al.* 2003).

Diğer bir çalışmada, GG genotipine sahip kişilerin AA genotipine sahip bireylere kıyasla daha yüksek IL-10 transkripsiyon seviyeleri ve kanda daha yüksek IL-10 sergilediğini göstermiştir (Galley *et al.* 2003). IL-10 (rs1800896) polimorfizmi, heterozigot AG formu ile ciddi bir hastalık geliştirme tehlikesinin azalması arasında neredeyse anlamlı bir bağlantı sergilemiştir ($p=0,068$). Bununla birlikte, AG ve AA genotipleri ile SARS-COV-2 gelişimi arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Rizvi *et al.* 2022). Oysa bu çalışma CC genotipi ile SARS-CoV-2'ye yakalanma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı olduğunu göstermektedir ($p>0,012$). Sitokin SNP IL-10'u araştıran bir vaka kontrol araştırması, SARS hastaları arasında sağkalım ve ölüm oranıyla ilişkili olarak IL-10 polimorfizmlerinin alel ve genotip sıklığı arasında anlamlı bir korelasyon bulmamıştır (Lau and Peiris 2009).

Elde edilen sonuçlar, analiz edilen örneklerde T alelinin (OR=0,24) önemli bir yaygınlığını ortaya koyarken, ilgili C aleli daha önce dbSNP veri tabanında kaydedilmiştir, SARS2 enfeksiyonu sırasında, inflamasyonu uyaran aşırı kemokinlerin ve sitokinlerin salınması, sitokin fırtınaları olarak bilinen kontrolsüz sistemik inflamatuvar reaksiyonlara yol açabilir (Zhang *et al.* 2020).

Gözlenen farklılıkların, örneklem büyüklüğü, popülasyonlar arasındaki genetik çeşitlilik ve belirli SNP'lerin çeşitli etnik gruplar ve ölçüm teknikleri de dahil olmak üzere çalışma metodolojileri arasındaki potansiyel farklı etkisi dahil olmak üzere birkaç olası nedeni vardır. Genetik değişkenlik, tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) için farklı alel frekansları gösterebilir ve bu da gözlemlenen ilişkiyi etkileyebilir. SNP belirli bir demografik grupta daha yüksek bir frekansa sahipse, SARS-COV-2 ile herhangi bir korelasyon bu belirli grupta daha güçlü olabilir.

SARS-COV-2'nin ilerlemesi çeşitli genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Hastalık riski ile rs7802308 gibi tek bir SNP arasındaki ilişki olası değildir. Ek genetik polimorfizmler, epigenetik değişiklikler ve çevresel değişkenler rs7802308 ile birleşerek genel SARS-COV-2 duyarlılığını etkileyebilir.

Bir korelasyonun önemi, bir çalışmadaki örneklem büyüklüğüne bağlı olabilir. Yetersiz örneklem büyüklüğü, ilişkileri tanımlamak için istatistiksel kapasiteyi kısıtlayabilir. Ayrıca, çalışmaların tasarımları farklılık gösterebilir; bazı tasarımlar diğerlerinden daha katıdır ve bu da bulguları yeniden üretme ve yorumlama kapasitesini etkileyebilir.

SARS-COV-2'nin gelişimi muhtemelen yaş, cinsiyet, komplikasyonlar ve ekonomik durum gibi belirli değişkenlerden etkilenmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma COVID-19 gelişimi ile IL-6 (rs7802308) ve IL -10 gen polimorfizmleri arasındaki SNP (rs1800896) ilişkisini vurgulamaktadır. Elde edilen sonuçlar, SARS-COV-2'nin gelişimi ile bu genlerin varyasyonları arasında önemli bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Öte yandan, bu çalışma SNP (rs7802307) için IL-6 geni ile SARS-COV-2 gelişimi arasında önemsiz bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu durum, bu spesifik SNP'deki farklılıkların SARS-COV-2'nin evrimini belirlemede önemli bir etkiye sahip olmadığını ifade etmektedir. Ayrıca çalışmamız, hücrelerde viral replikasyon sırasında bu virüslerin DNA'da hasara, genomik yapıda istikrarsızlığa ve hücre döngüsünde bozulmaya neden olabileceği teorisine destek sağlamaktadır. D-dimer ve C-Reaktif Protein konsantrasyonu SARS-COV-2 testinin sonucunu tahmin etmek ve SARS-COV-2 hastalarının ciddiyetini değerlendirmek için kullanılabilir. Bu veriler COVID-19 duyarlılığını etkileyen genetik değişkenler hakkındaki bilgilerimize katkıda bulunmaktadır. SARS-CoV-2'nin tekrar gelişmesini önlemek için, hastalıkla bağlantılı spesifik gen polimorfizmlerini tanımlayarak hedefe yönelik müdahaleler ve tedaviler geliştirebilir

Çalışmamız, SARS-CoV-2 gelişim sürecinde genetik faktörlerin önemini göstermekte ve gen polimorfizmleri ile hastalık şiddeti arasındaki ilişkinin daha fazla araştırılmasını desteklemektedir. Bu bağlamda, diğer interlökin genleri arasındaki bağlantının ve bunların SARS-CoV-2 hastalık şiddeti ve sonuçları üzerindeki rolünün araştırılması, IL-6 ve IL-10 gen polimorfizmleri ile COVID-19 arasında gözlemlenen ilişkinin genellenebilirliğini sağlamak için çalışmanın diğer popülasyonlarda ve etnik kökenlerde yapılması, IL-6 ve IL-10 polimorfizmleri ile SARS-CoV-2 arasındaki korelasyon hakkında daha kapsamlı fikirler sunmak üzere çok merkezli çalışmaların başlatılması için işbirliğinin yapılması, hastaların uzun süreli takibi, bu polimorfizmlerin hastalığın ilerlemesi ve uzun vadeli sonuçlar üzerindeki potansiyel etkisini ortaya çıkarılması ve bu genetik varyantların potansiyel terapötik hedefler olarak tespit edilmesi önerilmektedir. Bu durum, hedefe yönelik tedavi stratejilerinin tasarlanmasını veya bireysel genetik profillere dayalı kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımlarının geliştirilmesini içerebilir.

KAYNAKLAR

- Abbasifard, M. and Khorramdelazad, H. 2020. The bio-mission of interleukin-6 in the pathogenesis of COVID-19: A brief look at potential therapeutic tactics. *Life Sciences*, 257(8): 118097.
- Akira, S., Taga, T. and Kishimoto, T. 1993. Interleukin-6 in biology and medicine. *Advances in Immunology*, 54(5): 71-78.
- Al-Qahtani, A. A., Lyroni, K., Aznaourova, M., Tseliou, M., Al-Anazi, M. R., Al-Ahdal, M. N. and Tsatsanis, C. 2017. Middle east respiratory syndrome corona virus spike glycoprotein suppresses macrophage responses via DPP4-mediated induction of IRAK-M and PPAR γ . *Oncotarget*, 8(6): 9053.
- Ates, Ö., Musellim, B., Ongen, G. and Topal-Sarikaya, A. 2008. Interleukin-10 and tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in tuberculosis. *Journal of Clinical Immunology*, 28(2): 232-236.
- Bardhan, K., Anagnostou, T. and Boussiotis, V. A. 2016. The PD1: PD-L1/2 pathway from discovery to clinical implementation. *Frontiers in Immunology*, 7(6): 218368.
- Barrett, D. 2019. IL-6 blockade in cytokine storm syndromes. *Cytokine Storm Syndrome*, 19(7): 561-568.
- Barrett, S., Goh, J., Coughlan, B., Ryan, E., Stewart, S., Cockram, A. E. A. and Crowe, J. 2001. The natural course of hepatitis C virus infection after 22 years in a unique homogenous cohort: spontaneous viral clearance and chronic HCV infection. *Gut*, 49(3): 423-430.
- Bhaskar, S., Sinha, A., Banach, M., Mittoo, S., Weissert, R., Kass, J. S. and Kutty, S. 2020. Cytokine storm in COVID-19—immunopathological mechanisms, clinical considerations, and therapeutic approaches: the REPROGRAM consortium position paper. *Frontiers in Immunology*, 11(4): 1648.
- Bianchi, M. E. 2007. DAMPs, PAMPs and alarmins: All we need to know about danger. *Journal of Leucocyte Biology*, 81(1): 1-5.
- Bogdanović, Z., Marinović-Terzić, I., Kuret, S., Jerončić, A., Bradarić, N., Forempoher, G. and Terzić, J. 2016. The impact of IL-6 and IL-28B gene polymorphisms on treatment outcome of chronic hepatitis C infection among intravenous drug users in Croatia. *PeerJ*, 4(4): 2576.

- Chakraborty, C., Sharma, A. R., Bhattacharya, M., Sharma, G., Lee, S. S. and Agoramoorthy, G. 2020. COVID- 19: Consider IL- 6 receptor antagonist for the therapy of cytokine storm syndrome in SARS- CoV- 2 infected patients. *Journal of Medical Virology*, 92(11): 2260-2262.
- Chang, H. D., Helbig, C., Tykocinski, L., Kreher, S., Koeck, J., Niesner, U. and Radbruch, A. 2007. Expression of IL- 10 in Th memory lymphocytes is conditional on IL- 12 or IL- 4, unless the IL- 10 gene is imprinted by GATA- 3. *European Journal of Immunology*, 37(3): 807-817.
- Chen, H., Li, N., Wan, H., Cheng, Q., Shi, G. and Feng, Y. 2015. Associations of three well-characterized polymorphisms in the IL-6 and IL-10 genes with pneumonia: a meta-analysis. *Scientific Reports*, 5(1): 8559.
- Chong, W. P., Ip, W. E., Tso, G. H. W., Ng, M. W., Wong, W. H. S., Law, H. K. W. and Lau, Y. L. 2006. The interferon gamma gene polymorphism+ 874 A/T is associated with severe acute respiratory syndrome. *BMC Infectious Diseases*, 6(5): 1-4.
- Chousterman, B. G., Swirski, F. K. and Weber, G. F. 2017. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. In *Seminars in immunopathology*. Springer, 39(4): 517-528.
- Commins, S. P., Borish, L. and Steinke, J. W. 2010. Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2): 53-72.
- Costela-Ruiz, V. J., Illescas-Montes, R., Puerta-Puerta, J. M., Ruiz, C. and Melguizo-Rodríguez, L. 2020. SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 54(3): 62-75.
- De Wilde, A. H., Snijder, E. J., Kikkert, M. and Van Hemert, M. J. 2018. Host factors in coronavirus replication. Roles of host gene and non-coding RNA expression in virus infection. Springer, 18(7): 1-42.
- Declercq, J., Van Damme, K. F., De Leeuw, E., Maes, B., Bosteels, C., Tavernier, S. J. and Lambrecht, B. N. 2021. Effect of anti-interleukin drugs in patients with COVID-19 and signs of cytokine release syndrome (COV-AID): a factorial, randomised, controlled trial. *The Lancet Respiratory Medicine*, 9(12): 1427-1438.
- Diao, B., Wang, C., Tan, Y., Chen, X., Liu, Y., Ning, L. and Chen, Y. 2020. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Frontiers in Immunology*, 11(3): 827.

- Doyle, W. J., Casselbrant, M. L., Li-Korotky, H. S., Cullen Doyle, A. P., Lo, C. Y., Turner, R. and Cohen, S. 2010. The interleukin 6-174 C/C genotype predicts greater rhinovirus illness. *The Journal of Infectious Diseases*, 201(2): 199-206.
- Falahi, S., Zamanian, M. H., Feizollahi, P., Rezaeiemanesh, A., Salari, F., Mahmoudi, Z. and Karaji, A. G. 2022. Evaluation of the relationship between IL-6 gene single nucleotide polymorphisms and the severity of COVID-19 in an Iranian population. *Cytokine*, 154(4): 155889.
- Fattori, E., Cappelletti, M., Costa, P., Sellitto, C., Cantoni, L., Carelli, M. and Poli, V. 1994. Defective inflammatory response in interleukin 6-deficient mice. *The Journal of Experimental Medicine*, 180(4): 1243-1250.
- Fiorentino, D. F., Bond, M. W. and Mosmann, T. R. 1989. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *The Journal of Experimental Medicine*, 170(6): 2081-2095.
- Fiorentino, D. F., Zlotnik, A., Mosmann, T. R., Howard, M. and O'Garra, A. 1991. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *Journal of Immunology*, 147(11): 3815-3822.
- Gadient, R. A. and Patterson, P. H. 1999. Leukemia inhibitory factor, Interleukin 6, and other cytokines using the GP130 transducing receptor: roles in inflammation and injury. *Stem Cells*, 17(3): 127-137.
- Gallagher, P. M., Lowe, G., Fitzgerald, T., Bella, A., Greene, C. M., McElvaney, N. G. and O'Neill, S. J. 2003. Association of IL-10 polymorphism with severity of illness in community acquired pneumonia. *Thorax*, 58(2): 154-156.
- Galley, H. F., Lowe, P. R., Carmichael, R. L. and Webster, N. R. 2003. Genotype and interleukin- 10 responses after cardiopulmonary bypass. *British Journal of Anaesthesia*, 91(3): 424-426.
- Gao, J., Wei, L., Fu, R., Wei, J., Niu, D., Wang, L. and Zhang, W. 2017. Association of interleukin-10 polymorphisms (rs1800872, rs1800871, and rs1800896) with predisposition to IgA nephropathy in a Chinese Han population: a case-control study. *Kidney and Blood Pressure Research*, 42(1): 89-98.
- Gausman, J. and Langer, A. 2020. Sex and gender disparities in the COVID-19 pandemic. *Journal of Women's Health*, 29(4): 465-466.

- Goh, G. K. M., Dunker, A. K., Foster, J. A. and Uversky, V. N. 2019. HIV vaccine mystery and viral shell disorder. *Biomolecules*, 9(5): 178.
- Gong, B., Huang, L., He, Y., Xie, W., Yin, Y., Shi, Y. and Yang, Z. 2022. A genetic variant in IL-6 lowering its expression is protective for critical patients with COVID-19. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1): 112.
- Gupta, K. K., Khan, M. A. and Singh, S. K. 2020. Constitutive inflammatory cytokine storm: a major threat to human health. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 40(1): 19-23.
- Han, H., Ma, Q., Li, C., Liu, R., Zhao, L., Wang, W. and Xia, Y. 2020. Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerging Microbes and Infections*, 9(1): 1123-1130.
- Haukim, N., Bidwell, J. L., Smith, A. J. P., Keen, L. J., Gallagher, G., Kimberly, R. and D'Alfonso, S. 2002. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 2. *Genes and Immunity*, 3(6): 313-330.
- He, J. Q., Foreman, M. G., Shumansky, K., Zhang, X., Akhabir, L., Sin, D. D. and Sandford, A. J. 2009. Associations of IL6 polymorphisms with lung function decline and COPD. *Thorax*, 64(8): 698-704.
- Hu, B., Huang, S. and Yin, L. 2021. The cytokine storm and COVID- 19. *Journal of Medical Virology*, 93(1): 250-256.
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y. and Cao, B. 2020. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223): 497-506.
- Ji, W., Wang, W., Zhao, X., Zai, J. and Li, X. 2020. Cross- species transmission of the newly identified coronavirus 2019- nCoV. *Journal of Medical Virology*, 92(4): 433-440.
- Jia, W., Fei, G. H., Hu, J. G. and Hu, X. W. 2015. A study on the effect of IL-6 gene polymorphism on the prognosis of non-small-cell lung cancer. *OncoTargets and Therapy*, 8(3): 2699-2704.
- Jiménez-Sousa, M. A., Medrano, L. M., Liu, P., Fernandez-Rodriguez, A., Almansa, R., Gomez-Sanchez, E. and Resino, S. 2017. IL-6 rs1800795 polymorphism is associated with septic shock-related death in patients who underwent major surgery: a preliminary retrospective study. *Annals of Intensive Care*, 7(3): 1-9.

- Jin, P. and Wang, E. 2003. Polymorphism in clinical immunology—from HLA typing to immunogenetic profiling. *Journal of Translational Medicine*, 1(8): 1-11.
- Kai, H. and Kai, M. 2020. Interactions of coronaviruses with ACE2, angiotensin II, and RAS inhibitors—lessons from available evidence and insights into COVID-19. *Hypertension Research*, 43(7): 648-654.
- Kang, S., Tanaka, T. and Kishimoto, T. 2015. Therapeutic uses of anti-interleukin-6 receptor antibody. *International Immunology*, 27(1): 21-29.
- Karcioglu Batur, L. and Hekim, N. 2021. Correlation between interleukin gene polymorphisms and current prevalence and mortality rates due to novel coronavirus disease 2019 (COVID- 2019) in 23 countries. *Journal of Medical Virology*, 93(10): 5853-5863.
- Kirtipal, N., Thakur, H., Sobti, R. C. and Janmeja, A. K. 2020. Association between IL6 gene polymorphism and the risk of chronic obstructive pulmonary disease in the north Indian population. *Molecular Biology Research Communications*, 9(2): 41.
- Kobayashi, T., Tanaka, K., Fujita, T., Umezawa, H., Amano, H., Yoshioka, K. and Kasuya, Y. 2015. Bidirectional role of IL-6 signal in pathogenesis of lung fibrosis. *Respiratory Research*, 16(4): 1-14.
- Kumar, H., Kawai, T. and Akira, S. 2011. Pathogen recognition by the innate immune system. *International Reviews of Immunology*, 30(1): 16-34.
- Kwilasz, A. J., Grace, P. M., Serbedzija, P., Maier, S. F. and Watkins, L. R. 2015. The therapeutic potential of interleukin-10 in neuroimmune diseases. *Neuropharmacology*, 96(7): 55-69.
- Lagunas- Rangel, F. A. and Chávez- Valencia, V. 2020. High IL- 6/IFN- γ ratio could be associated with severe disease in COVID- 19 patients. *Journal of Medical Virology*, 92(10): 1789.
- Lau, Y. L. and Peiris, J. S. 2009. Association of cytokine and chemokine gene polymorphisms with severe acute respiratory syndrome. *Hong Kong Medical Journal*, 15(4): 43-46.
- Lauw, F. N., Pajkrt, D., Hack, C. E., Kurimoto, M., Van Deventer, S. J. and Van Der Poll, T. 2000. Proinflammatory effects of IL-10 during human endotoxemia. *The Journal of Immunology*, 165(5): 2783-2789.

- Le, T. T. T., Karmouty-Quintana, H., Melicoff, E., Le, T. T. T., Weng, T., Chen, N. Y. and Blackburn, M. R. 2014. Blockade of IL-6 Trans signaling attenuates pulmonary fibrosis. *The Journal of Immunology*, 193(7): 3755-3768.
- Li, H., Liu, L., Zhang, D., Xu, J., Dai, H., Tang, N. and Cao, B. 2020. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. *The Lancet*, 395(10235): 1517-1520.
- Li, X., Geng, M., Peng, Y., Meng, L. and Lu, S. 2020. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(2): 102-108.
- Liu, B., Li, M., Zhou, Z., Guan, X. and Xiang, Y. 2020. Can we use interleukin-6 (IL-6) blockade for coronavirus disease 2019 (COVID-19)-induced cytokine release syndrome (CRS)? *Journal of Autoimmunity*, 111(35): 102452.
- Liu, F., Li, L., Xu, M., Wu, J., Luo, D., Zhu, Y. and Zhou, X. 2020. Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19. *Journal of Clinical Virology*, 127(3): 104370.
- Liu, J., Li, S., Liu, J., Liang, B., Wang, X., Wang, H. and Zheng, X. 2020. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine*, 55(2): 98.
- Liu, X., Wang, H., Shi, S. and Xiao, J. 2022. Association between IL-6 and severe disease and mortality in COVID-19 disease: A systematic review and meta-analysis. *Postgraduate Medical Journal*, 98(1165): 871-879.
- Lu, L., Zhang, H., Dauphars, D. J. and He, Y. W. 2021. A potential role of interleukin 10 in COVID-19 pathogenesis. *Trends in Immunology*, 42(1): 3-5.
- Lu, L., Zhang, H., Zhan, M., Jiang, J., Yin, H., Dauphars, D. J. and He, Y. W. 2020. Preventing mortality in COVID-19 patients: Which cytokine to target in a raging storm?. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8(7): 572936.
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H. and Tan, W. 2020. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, 395(10224): 565-574.
- Luo, X., Zhou, W., Yan, X., Guo, T., Wang, B., Xia, H. and Yang, W. 2020. Prognostic value of C-reactive protein in patients with coronavirus 2019. *Clinical Infectious Diseases*, 71(16): 2174-2179.
- Mackay, I. M. and Arden, K. E. 2015. MERS coronavirus: diagnostics, epidemiology and transmission. *Virology Journal*, 12(2): 1-21.

- Mao, Z. R., Zhang, S. L. and Feng, B. 2017. Association of IL-10 (-819T/C,-592A/C and-1082A/G) and IL-6-174G/C gene polymorphism and the risk of pneumonia-induced sepsis. *Biomarkers*, 22(2): 106-112.
- Mardani, R., Vasmehjani, A. A., Zali, F., Gholami, A., Nasab, S. D. M., Kaghazian, H. and Ahmadi, N. 2020. Laboratory parameters in detection of COVID-19 patients with positive RT-PCR; A diagnostic accuracy study. *Archives of Academic Emergency Medicine*, 8(1): 43.
- Mauer, J., Denson, J. L. and Brüning, J. C. 2015. Versatile functions for IL-6 in metabolism and cancer. *Trends in Immunology*, 36(2): 92-101.
- McGonagle, D. 2020. Interleukin-6 use in COVID-19 pneumonia related macrophage activation syndrome *Autoimmunity Reviews* 2020. 19(8): 102537.
- McIntosh, K., Dees, J. H., Becker, W. B., Kapikian, A. Z. and Chanock, R. M. 1967. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 57(4): 933-940.
- McKinstry, K. K., Strutt, T. M., Buck, A., Curtis, J. D., Dibble, J. P., Huston, G. and Swain, S. L. 2009. IL-10 deficiency unleashes an influenza-specific Th17 response and enhances survival against high-dose challenge. *The Journal of Immunology*, 182(12): 7353-7363.
- Megna, M., Napolitano, M. and Fabbrocini, G. 2020. May IL-17 have a role in COVID-19 infection?. *Medical Hypotheses*, 140(2): 109749.
- Mehta, P., McAuley, D. F., Brown, M., Sanchez, E., Tattersall, R. S. and Manson, J. J. 2020. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*, 395(10229): 1033-1034.
- Mo, P., Xing, Y., Xiao, Y., Deng, L., Zhao, Q., Wang, H. and Zhang, Y. 2021. Clinical characteristics of refractory coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*, 73(11): 4208-4213.
- Mollarasouli, F., Zare-Shehneh, N. and Ghaedi, M. 2022. A review on corona virus disease 2019 (COVID-19): current progress, clinical features and bioanalytical diagnostic methods. *Microchimica Acta*, 189(3): 103.
- Moore, K. W., De Waal Malefyt, R., Coffman, R. L. and O'Garra, A. 2001. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual Review of Immunology*, 19(1): 683-765.

- Nattermann, J., Vogel, M., Berg, T., Danta, M., Axel, B., Mayr, C. and Spengler, U. 2007. Effect of the interleukin- 6 C174G gene polymorphism on treatment of acute and chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus coinfecting patients. *Hepatology*, 46(4): 1016-1025.
- Nishimoto, N., Yoshizaki, K., Tagoh, H., Monden, M., Kishimoto, S., Hirano, T. and Kishimoto, T. 1989. Elevation of serum interleukin 6 prior to acute phase proteins on the inflammation by surgical operation. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 50(3): 399-401.
- Pánico, P., Ostrosky-Wegman, P. and Salazar, A. M. 2022. The potential role of COVID-19 in the induction of DNA damage. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 789(7): 108411.
- Paniri, A., Hosseini, M. M. and Akhavan-Niaki, H. 2021. First comprehensive computational analysis of functional consequences of TMPRSS2 SNPs in susceptibility to SARS-CoV-2 among different populations. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(10): 3576-3593.
- Read, R. 2020. Flawed methods in “COVID-19: Attacks the 1-beta chain of hemoglobin and captures the porphyrin to inhibit human heme metabolism”. *ChemRxiv*, 4(14): 2.
- Riazalhosseini, B., Mohamed, Z., Apal Sammy, Y. D., Shafie, N. S. and Mohamed, R. 2018. Interleukin-6 gene variants are associated with reduced risk of chronicity in hepatitis B virus infection in a Malaysian population. *Biomedical Reports*, 9(3): 213-220.
- Rizvi, S., Rizvi, S. M. S., Raza, S. T., Abbas, M., Fatima, K., Zaidi, Z. H. and Mahdi, F. 2022. Implication of single nucleotide polymorphisms in Interleukin-10 gene (rs1800896 and rs1800872) with severity of COVID-19. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 23(1): 145.
- Romero Starke, K., Petereit-Haack, G., Schubert, M., Kämpf, D., Schliebner, A., Hegewald, J. and Seidler, A. 2020. The age-related risk of severe outcomes due to COVID-19 infection: a rapid review, meta-analysis, and meta-regression. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(16): 5974.
- Saraiva, M., Vieira, P. and O’Garra, A. 2019. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *Journal of Experimental Medicine*, 217(1): 20190418.

- Scheller, J., Chalaris, A., Schmidt-Arras, D. and Rose-John, S. 2011. The pro-and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1813(5): 878-888.
- Shieh, J. M., Tseng, H. Y., Jung, F., Yang, S. H. and Lin, J. C. 2019. Elevation of IL- 6 and IL- 33 levels in serum associated with lung fibrosis and skeletal muscle wasting in a bleomycin- induced lung injury mouse model. *Mediators of Inflammation*, 2019(1): 7947596.
- Soin, A. S., Kumar, K., Choudhary, N. S., Sharma, P., Mehta, Y., Kataria, S. and Ramanan, A. V. 2021. Tocilizumab plus standard care versus standard care in patients in India with moderate to severe COVID-19-associated cytokine release syndrome (COVINTOC): an open-label, multicentre, randomised, controlled, phase 3 trial. *The Lancet Respiratory Medicine*, 9(5): 511-521.
- Soy, M., Keser, G., Atagündüz, P., Tabak, F., Atagündüz, I. and Kayhan, S. 2020. Cytokine storm in COVID-19: Pathogenesis and overview of anti-inflammatory agents used in treatment. *Clinical Rheumatology*, 39(7): 2085-2094.
- Tanaka, T., Narazaki, M. and Kishimoto, T. 2012. Therapeutic targeting of the interleukin-6 receptor. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 52(4): 199-219.
- Tanaka, T., Narazaki, M. and Kishimoto, T. 2014. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(10): 16295.
- Tanaka, T., Narazaki, M. and Kishimoto, T. 2016. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm. *Immunotherapy*, 8(8): 959-970.
- Tang, Y. W., Stratton, C. W., Podzorski, R. P., Loeffelholz, M. and Hayden, R. T. 2006. Detection and characterization of molecular amplification products: agarose gel electrophoresis, southern blot hybridization, restriction enzyme digest analysis, and enzyme-linked immunoassay. *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*, 6(5): 243-263.
- Teijaro, J. R. 2017. Cytokine storms in infectious diseases. In *Seminars in immunopathology*. Springer, 39(5): 501-503.
- Ulhaq, Z. S. and Soraya, G. V. 2020. Anti-IL-6 receptor antibody treatment for severe COVID-19 and the potential implication of IL-6 gene polymorphisms in novel coronavirus pneumonia. *Medicina Clínica*, 155(12): 548.

- Vitkauskaitė, A., Celiesiute, J., Juseviciute, V., Jariene, K., Skrodeniene, E., Samuolyte, G. and Vaitkiene, D. 2021. IL-6 597A/G (rs1800797) and 174G/C (rs1800795) gene polymorphisms in the development of cervical cancer in Lithuanian women. *Medicina*, 57(10): 1025.
- Wang, F., Hou, H., Luo, Y., Tang, G., Wu, S., Huang, M. and Sun, Z. 2020. The laboratory tests and host immunity of COVID-19 patients with different severity of illness. *JCI Insight*, 5(10): 34-57.
- Wang, F., Nie, J., Wang, H., Zhao, Q., Xiong, Y., Deng, L. and Zhang, Y. 2020. Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *The Journal of Infectious Diseases*, 221(11): 1762-1769.
- Wang, X., Tang, G., Liu, Y., Zhang, L., Chen, B., Han, Y. and Shao, S. 2022. The role of IL-6 in coronavirus, especially in COVID-19. *Frontiers in Pharmacology*, 13(3): 1033674.
- Wei, H., Li, B., Sun, A. and Guo, F. 2019. Interleukin-10 family cytokines immunobiology and structure. *Structural immunology*, 19(3): 79-96.
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G. and Zhang, Y. Z. 2020. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798): 265-269.
- Xu, K., Liu, L., Dere, R., Mai, E., Erickson, R., Hendricks, A. and Kaur, S. 2013. Characterization of the drug-to-antibody ratio distribution for antibody–drug conjugates in plasma/serum. *Bioanalysis*, 5(9): 1057-1071.
- Xu, X., Chen, P., Wang, J., Feng, J., Zhou, H., Li, X. and Hao, P. 2020. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Science China Life Sciences*, 63(2): 457-460.
- Xu, Z., Shi, L., Wang, Y., Zhang, J., Huang, L., Zhang, C. and Wang, F. S. 2020. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(4): 420-422.
- Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., Guo, Y. and Zhou, Q. 2020. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, 367(6485): 1444-1448.

- Yanbaeva, D. G., Dentener, M. A., Spruit, M. A., Houwing-Duistermaat, J. J., Kotz, D., Passos, V. L. and Wouters, E. F. 2009. IL6 and CRP haplotypes are associated with COPD risk and systemic inflammation: a case-control study. *BMC Medical Genetics*, 10(3): 1-11.
- Zhang, C., Wu, Z., Li, J. W., Zhao, H. and Wang, G. Q. 2020. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(5): 105954.
- Zhang, H., Penninger, J. M., Li, Y., Zhong, N. and Slutsky, A. S. 2020. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Medicine*, 46(4): 586-590.
- Zhang, X., Li, S. and Niu, S. 2020. ACE2 and COVID-19 and the resulting ARDS. *Postgraduate Medical Journal*, 96(1137): 403-407.
- Zhang, Z. W., Zhang, Q. Y., Zhou, M. T., Liu, N. X., Chen, T. K., Zhu, Y. F. and Wu, L. 2010. Antioxidant inhibits HMGB1 expression and reduces pancreas injury in rats with severe acute pancreatitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 55(2): 2529-2536.
- Zhao, Y., Qin, L., Zhang, P., Li, K., Liang, L., Sun, J. and Zhang, Y. 2020. Longitudinal COVID-19 profiling associates IL-1RA and IL-10 with disease severity and RANTES with mild disease. *JCI Insight*, 5(13): 9-18.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Ahmed Hadi Dakheel DAKHEEL

Eğitim

Doktora	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2022-2024
Yüksek Lisans	El-Kadisiyah Üniversitesi Fen Fakültesi Medikal Mikrobiyoloji	2013-2015
Lisans	Bağdat Üniversitesi Medikal Teknolojileri Tıbbi Laboratuvar Teknolojisi	2005-2009