ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ENFEKTE HASTALARDA SARS-COV-2'NİN BAZI İMMÜNOLOJİK FAKTÖRLERİNİN BELİRLENMESİ

Athmar Azhar Ibrahim AL-SHADOOD

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Athmar Azhar Ibrahim AL-SHADOOD tarafından hazırlanan **"Enfekte Hastalarda SARS-CoV-2'nin Bazı İmmünolojik Faktörlerinin Belirlenmesi"** adlı tez çalışması 28/12/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Amran Mezher LAWAS

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Mine TÜRKTAŞ
Biyoloji
Gazi Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Biyoloji
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ebru Gül
Biyoloji
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Enfekte Hastalarda SARS-CoV-2'nin Bazı İmmünolojik Faktörlerinin 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 (28/12/2022).

Athmar Azhar Ibrahim AL-SHADOOD

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ENFEKTE HASTALARDA SARS-COV-2'NİN BAZI İMMÜNOLOJİK FAKTÖRLERİNİN BELİRLENMESİ

Athmar Azhar Ibrahim AL-SHADOOD

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Amran Mezher LAWAS

Koronavirüs hastalığı (COVID-19), dünya çapında oldukça bulaşıcı viral bir hastalıktır. Bu çalışmada SARS-CoV-2 bulaştığı düşünülen 50 kişiden ve SARS'a karşı aşılanmış 40 kişiden kan ve serum örneği, Mart-Haziran 2022 tarihleri arasında Eğitim hastanesinden alınmıştır. Elde edilen sonuçlar erkeklerin hastaneye yatma olasılığının daha yüksek olduğunu ve daha fazla risk altında olduğunu göstermiştir. Her iki cinsiyette de 51-71 yaş grubunda (%52,5) daha fazla hasta tespit edilmiştir. IL-6, C ve G alelinin frekansları, hasta ve kontrol grubunda incelenmiştir. G genotipi ve G aleli için yüksek bir prevalans ve CC genotipi ve C aleli için düşük bir prevalans tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise GG genotipi ve G alelinin hastalıklı bireylere göre daha yaygın olduğu, CC genotipi ve C alelinin ise az yaygın olduğu bulunmuştur. Ayrıca, GG genotipi ve G alelinin, CD147 geninin NCBI homolog dizilimine dayanan numunelerde en yüksek frekansa sahip olduğu, CC genotipi ve C alelinin ise kontrol bireylerinden alınan numunelerde en yüksek frekansa sahip olduğu ortaya çıkmıştır.

2022, 45 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Moleküler, İmmünoloji, SARS-CoV-2

ABSTRACT

Master of Science Thesis

DETERMINE SOME IMMUNOLOGICAL FACTORS OF SARS-COV-2 AMONG INFECTED PATIENTS

Athmar Azhar Ibrahim AL-SHADOOD

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

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Melda DÖLARSLAN
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Amran Mezher LAWAS

Coronavirus disease (COVID-19) is a highly contagious viral disease worldwide. March June 2022, blood and serum samples from 50 people who are thought to be infected with SARS-CoV-2 and 40 people who have been vaccinated against SARS were taken from the Teaching hospital in this study. Dec. The results obtained showed that men are more likely to be hospitalized and are at greater risk. More patients were identified in the 51-71 age group (52.5%) in both sexes. The frequencies of the IL-6, C and G alleles were studied in the patient and control group. A high prevalence has been identified for the G genotype and the G allele, and a low prevalence for the CC genotype and the C allele. On the other hand, it was found that the GG genotype and the G allele were more common in the control group than in the diseased individuals, while the CC genotype and the C allele were less common. In addition, it was revealed that the GG genotype and the G allele had the highest frequency in samples based on the NCBI homologous sequencing of the CD147 gene, while the CC genotype and the C allele had the highest frequency in samples taken from control individuals.

2022, 45 pages

Keywords: Molecular, Immunological, SARS-CoV-2

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışma sürecinde yol göstericiliği ve olumlu tavırlarıyla beni cesaretlendiren çok kıymetli tez danışmanım Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN'a bu süreçte bana göstermiş olduğu sabrı, rehberliği ve anlayışı için sonsuz teşekkür ederim.

Athmar Azhar Ibrahim AL-SHADOOD
Çankırı, Aralık 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
SİMGELER DİZİNİ vi
KISALTMALAR DİZİNİ vii
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
ÇİZELGELER DİZİNİ ix
1. GİRİŞ 1
2. LİTERATÜR ÖZETİ 4
2.1 Koronavirüs Tanımları 4
2.2 SARS-CoV-2 Varyantları 5
2.2.1 SARS-CoV-2 alfa varyantı 5
2.2.2 SARS-CoV-2 beta varyantları 6
2.2.3 SARS-CoV-2 omicron varyantı 6
2.3 Bağışıklık Genleri ve COVID-19 7
2.3.1 İnterlökin-6 (IL-6) 7
2.3.2 CD147 için farklılaşma 9
2.3.3 Fibrinojen alfa zinciri geni (FGA) 10
2.4 SARS-CoV-2 Enfeksiyonunun İmmünolojik Teşhisi 11
3. MATERYAL VE METOT 13
3.1 Materyal 13
3.1.1 Cihaz ve aletler 13
3.1.2 Kimyasallar 13
3.1.3 Kitler 14
3.1.4 Primerler 14
3.2 Yöntemler 15
3.2.1 Çalışma tasarımı 15
3.2.2 Örnek toplama 15
3.2.3 Tris-borat EDTA tamponunun (TBE tamponu) hazırlanması 16

3.2.4 Agaroz jelin hazırlanması 16
3.2.5 DNA ekstraksiyonu 16
3.2.6 Geleneksel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) 17
3.2.7 İnsan IL-6 (interlökin-6) ELISA kiti 20
3.2.8 IL-6 gen polimorfizmi için tetra-ARMS-PCR teknolojisi 24
3.3 İstatistiksel Analiz 25
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 26
4.1 COVID-19 Hastalarının Cinsiyet ve Yaş Dağılımı 26
4.2 ARMS-PCR Teknolojisi ile IL-6 Polimorfizm Testi 27
4.2.1 ELISA teknolojisi ile IL-6 konsantrasyonunun belirlenmesi 29
4.3 Farklılaşma Grubu 147 (CD147) 30
4.4 FGA Geninin Genetik Polimorfizmlerinin İncelenmesi 32
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 34
KAYNAKLAR 35
ÖZGEÇMİŞ 45

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
±	Artı, eksi
°C	Santigrat derece
µL	Mikrolitre
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre

KISALTMALAR DİZİNİ

COVID-19	Koronavirüs hastalığı
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
FGA	Fibrinojen alfa zinciri
HBV	Hepatit B virüsü
HCV	Hepatit C virüsü
RNA	Ribonükleik asid

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Çalışma tasarımı 15
Şekil 3.2 IL-6'nın standart solüsyonlarının seyreltilmesi 22
Şekil 3.3 Durdurma sonrası IL-6 solüsyonunun eklenmesi 23
Şekil 3.4 IL-6 U/mL konsantrasyonunun standart ortalama optik yoğunluk eğrisi 24
Şekil 4.1 IL-6'nın jel elektroforez görüntüsü (302 dpi fragmanı) 27
Şekil 4.2 CD147 geninin jel elektroforez görüntüsü 31
Şekil 4.3 FGA'nın jel elektroforez görüntüsü (392 bp fragmanı) 33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar 13
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasal ve biyolojik malzemeler 14
Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan kitler 14
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan primerler 14
Çizelge 3.5 Polimeraz zincir reaksiyonu karışımı 18
Çizelge 3.6 Polimeraz zincir reaksiyonu için amplifikasyon koşulları 18
Çizelge 3.7 IL-6 tetra-ARM-PCR için teknik amplifikasyon koşulları 25
Çizelge 4.1 SARS-CoV-2 hasta ve kontrollerinin kriterleri ve demografik dağılımı ... 27
Çizelge 4.2 IL-6 genotipive alel frekansları 28
Çizelge 4.3 ELISA testinin sonuçları 29
Çizelge 4.4 Genetik polimorfizm temelinde IL-6 düzeylerinin dağılımı 30

1. GİRİŞ

Koronavirüs hastalığı (COVID-19), dünya çapında bir salgını etkileyen oldukça bulaşıcı bir viral hastalıktır. Solunum sistemindeki iki virüs arasındaki evrimsel bağlantıya dayanan, şiddetli akut solunum sendromu SARS-CoV-2 olarak bilinen yeni bir koronavirüs suşundan kaynaklanmaktadır. Bilinen ilk şiddetli akut solunum sendromu olan SARS salgını Aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinde görülerek hızla yayılmıştır. Kaynağının bir bilim insanı olduğu (Tang *et al.* 2020) ve bu virüsün yeni bir Koronavirüs türü olduğu varsayılmıştır.

Konakla ilgili bir dizi değişkenin bu hastalığın gelişiminde rol oynadığı varsayılmıştır. Araştırmaya göre, bir kişinin kan grubunun SARS-CoV-2 kapma oranını etkilemesi olasıdır (Samadizadeh *et al.* 2021). SARS-CoV-2 gibi yeni koronavirüslere karşı aşılar (Hoiland *et al.* 2020, Latz *et al.* 2020, Muñiz-Diaz *et al.* 2021) geliştirilmektedir.

Yapılan çalışmalar kan grubunun virüse duyarlılıktaki farklılıkların doğrudan nedeni olup olmadığını ispat edememiştir, bu da genetik farklılıkların aynı olabileceğini düşündürmüştür (Serpeloni *et al.* 2021).

Zamanımızın başlıca tıbbi ve bilimsel ilerlemeleri, COVID-19'un gelişmesiyle sonuçlanan yeni koronavirüs SARS-CoV-2 enfeksiyonu, bulaşma yolları ve ardından gelen bağışıklık savunması veya immünopatoloji ile ilgili mekanizmaların daha kolay anlaşılmasını sağlamıştır. Strateji tasarlamak için giderek daha vazgeçilmez hale geliyor. Doğru tanı ve tedavi (Karcioglu Batur and Hekim 2021), konakçı genetik değişkenliği (kısmen) COVID-19'un yayılmasını ve kesilmesini etkileyebilir. İnsan polimorfizmlerindeki mekânsal değişkenlik enfeksiyon prevalansındaki bazı varyansları açıklayabilir. Bunlara ek olarak, bazı sitokinlerin, bu sitokinlerin üretimini düzenleyen genlerdeki polimorfizmlerle bağlantılı olması mümkündür. COVID-19 hasta popülasyonunda interlökin-6 (IL-6) üretiminin sonucu, COVID-19 hastalarında artan IL-6 seviyeleri, ciddi zatürree ve akciğer hasarı ile ilişkilendirilmiştir (Vatansever and Becer 2020).

IL-6, inflamatuar metabolizma, otoimmünite ve geç akut faz yanıtında rol oynayan çok işlevli bir sitokindir. COVID-19 enfeksiyonuna karşı inflamatuar yanıt özellikle güçlü ve çok miktarlarda proinflamatuar sitokinlerden oluşan bir "sitokin fırtınası" üretmektedir (Vatansever and Becer 2020). IL-6'yı B lenfositleri, T lenfositleri, makrofajlar, dendritik hücreler, monositler, mast hücreleri ve hatta fibroblastlar ve endotel hücreleri dahil olmak üzere çok çeşitli bağışıklık hücreleri ve stromal hücreler üretebilir (Jones and Jenkins 2018). SARS-CoV-2'nin yanı sıra, bağışıklık sisteminin hem doğal hem de adaptif kollarını uyararak bağışıklık sistemi tarafından IL ve diğer sitokinlerin üretimini tetikler. Şiddetli COVID-19 teşhisi konan birçok kişi, genellikle sitokin salınım sendromu (CRS) olarak bilinen sistemik bir inflamatuar reaksiyona sahiptir (Chang *et al.* 2022).

Bazen Basigin veya EMMPRIN olarak adlandırılan glikoprotein CD147 trans-membranı, immünoglobulin üst ailesine aittir (Zimmer 2021). SARS-CoV ve SARS-CoV-2'nin birçok özelliği ortak olduğundan, CD147'nin konak hücrelere virüs istilasını kolaylaştırmada işlevsel bir rol oynadığı tahmin edilmektedir. Anti-CD147 peptidi, insan embriyonik böbrek hücrelerine yüksek bağlanma oranına (HEK293) ve SARS-CoV üzerinde inhibitör etkiye sahiptir (Harvey *et al.* 2021).

Fibrinojen, kanda bulunan ve üç çift uyumsuz polipeptit zincirinden oluşan bir glikoproteindir. Fibrinojen alfa zinciri (FGA) geni tarafından ifade edilen protein, fibrinojenin alfa bileşenidir. Fibrin, vasküler hasar sonrası fibrinojenin trombin tarafından parçalanmasıyla oluşan kan pıhtılarının ana bileşenidir (Ro *et al.* 2013). Fibrinojen genleri ile etkileşimlerine rağmen, IL-6 ve IL-1 gibi interlökinler, hücresel bir fırtınanın (FGA, FGB, FGG) habercisi olabilecek yüksek fibrinojen seviyelerine yol açar (Aggarwal *et al.* 2020). Şiddetli COVID-19 vakalarında yapılan araştırmalarda fibrinojen ve pıhtı oluşumu göz önünde bulundurulmuştur. Böylece fibrinojen, akut faz reaktöründen sonra önemli bir pıhtılaşma faktörü görevi görür. Pıhtılaşma, iltihaplanma, kan viskozitesi ve SARS-CoV-2 ile ilgili etkilerdeki çeşitli rolü nedeniyle fibrinojen, karaciğerde anti-enfektif bir organ olarak üretilen bir glikoproteindir (Guan *et al.* 2020, Wang *et al.* 2020). Fenotipik vasküler özellikler, kanamaya, trombositopeniye veya hiper pıhtılaşmaya ve tromboza yol açabilen çeşitli pıhtılaşma bozuklukları ile yakından ilişkilidir (Baggio *et al.* 2013).

Bu araştırmanın amacı, COVID-19'un gelişmesinden sorumlu genler ile korona virüsüne karşı aşılanmış kişilerde bulunan genler arasındaki benzerlik ve farklılıkları incelemektir. Bu nedenle, COVID-19 pozitif hastalardan alınan kan örnekleri ile ve kontrol grubundan alınan kan örnekleri gerçek zamanlı PCR ile karşılaştırılacaktır. Ardından sitokin konsantrasyonu seviyesinin tahmini ve mutasyonla ilişkisi tespit edilecektir. Ayrıca bazı MERS-CoV duyarlılık genlerinde polimorfizmlerin tespiti IL6, CD147 ve FGA geni ile yapılacaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Koronavirüs Tanımları

Virüsler, prokaryotlardan ökaryotlara kadar çok çeşitli konakçıları enfekte etmek için tasarlanmış nanopartiküllerden oluşan gruplardır ve bir zarf içine alınmış genetik materyal içerir. Virüsler zarflı ya da zarfsız olabilir. Virüs zarfına sarılmış her türlü RNA, maddenin türüne (Baltimore) ve Baltimore yöntemine göre üretilir (Enard *et al.* 2016). Orto-koronavirüs ailesinde koronavirüs adı verilen zarflı, tek sarmallı, pozitif RNA virüsleri bulundu. İlk zamanlar dört farklı koronavirüs ailesi tespit edilmiştir. Bunlar: alfakoronavirüs, betakoronavirüs, gammakoronavirüs ve delta koronavirüs ailesidir. Yarasalar ve kemirgenler alfa ve beta koronavirüsler için rezervuar görevi görürken, kuşlar gama ve delta koronavirüsler için rezervuar görevi görür. Koronavirüsler, orijinal konakçılarından insanlar dahil diğer türlere yayılabilir, ancak bunun olması için genellikle bir ara konak gerekir (Lorusso *et al.* 2020).

İnsanlar ve diğer hayvanlar, RNA virüsleri olan koronavirüslerin (COV'ler) neden olduğu enfeksiyonlara karşı hassastır. İnsanların, evcil hayvanların, kuşların, yarasaların, farelerin ve birçok vahşi türün solunum, sindirim, hepatik ve buna bağlı olarak merkezi nörolojik sistemleri enfeksiyona karşı savunmasızdır (Chan *et al.* 2020). Yeni SARS-CoV-2 virüsü, SARS-CoV ile %79 ve MERS-CoV ile %50 dizi benzerliğine sahip, ancak çok daha bulaşıcı olan, duyu-pozitif bir RNA virüsüdür (Hashemi *et al.* 2021). Koronavirüs genomu 26-31 kb tek sarmallı pozitif duyarlı RNA boyutuna sahiptir. Bu, koronavirüsleri şekil ve genler açısından en büyük RNA virüsleri yapar. 5'-Lider – Çevrilmemiş Bölge (UTR) - Tekrar/Transkript - Saplama (S) - Son olarak, 3'UTR - poli(A) - duygusal olarak kapsüllenmiş (E) - membran (M) - nükleo-kapsid (N). Diğer ORF'LER, üst üste binen birçok açık okuma çerçevesi (ORF) 1a ve 1b iken, ana yapısal, zarf ve zar proteinlerini ve ardından nükleokapsitleri kodlar (Zhou *et al.* 2020).

Koronavirüs ilk olarak elektron mikroskobunda diken benzeri tümseklere sahip bir virüsü tanımlamak için kullanılmıştır. Taç kelimesi Yunanca'da mısır veya çelenk anlamına gelmektedir ve başlangıçta görüldüğü gibi bulaşıcı suşun (virion) belirli özelliklerini

tanımlamak için kullanılır. Belirgin bir şişkin çıkıntıya (sivri uç) sahiptir. Bu projeksiyonlar daha sonra lipit çift katmanlı zarın yüzeyine bağlı protein molekülleri olarak görüntülenir (Guo *et al.* 2020). COVID-19 (SARS-CoV-2), son zamanlardaki pnömoni salgınının etken maddesi olarak tanımlanmış ve bu da onu bilim tarafından insanlara bulaşan yedinci koronavirüs (HCoV) yapmıştır. Diğer altısı HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, SARS-CoV ve MERS-CoV'dur (Corman *et al.* 2019). COVID-19 (SARS-CoV-2), 5,103,006 vakanın doğrulandığı ve 333,401 ölümün kaydedildiği 24 Mayıs 2020'de küresel bir pandemi haline gelmiştir (Karcioglu Batur and Hekim 2021).

2.2 SARS-CoV-2 Varyantları

2.2.1 SARS-CoV-2 alfa varyantı

Son yıllarda alfa değişkeninin (B 1.1.7) SARS-CoV-2 tipinde olması endişe kaynağı olmuştur. Hareketlilik takıntısı açısından yabani çeşitten %40-80 daha yüksektir. SARS-CoV-2'nin ilk örneği 2020 yılının Eylül ayında alınmış olsa da Kasım ayına kadar keşfedilmemiştir. Saf protein ve varyasyonun anormal derecede yüksek sayıda mutasyona sahip olduğu belirlenmiştir (Peacock 2022). Birleşik Krallık'ta virüsteki bir veya daha fazla değişiklik nedeniyle enfeksiyon oranları Aralık ayı ortasında hızla artmıştır. Ocak 2021 itibariyle Birleşik Krallık, dünya çapında SARS-CoV-2 genetik sıralama çalışmalarının neredeyse % 50'sini oluşturuyordu (Donnelly and Patrinos 2021). Virüsün protein oluşturucu bileşenleriyle ilgili 23 farklı değişiklik içerdiğinden, yeni alfa sürümü hakkında endişeler dile getirildi. Aynı anda bu kadar çok mutasyonun meydana gelmesinin tesadüfen gerçekleşmesi pek olası olmadığından virüsün bundan evrimsel bir avantaj elde etmiş olabileceği üzerinde tartışmalar ortaya çıktı (Schraer 2020, Sugden 2021). İngiltere Halk Sağlığı (PHE), 2 Şubat 2021'de Endişe Varyantı hakkında "az sayıda B.1.1.7 genomu (VOC)" keşfettiklerini belirten bir bildiri yayınladı (Davies *et al.* 2020). Daha sonra, Beta değişkeni N501Y mutasyonu da keşfedildi. Ayrıca gama parametresine 31 Mayıs 2021'de, resmi olarak "alfa" adı verildi (Boniol *et al.* 2021).

Bilim adamları, SARS-CoV-2 başak proteininde 4,000'den fazla mutasyon tespit etmiştir (Bilge *et al.* 2020). VoC-2012/01'de bulunan 23 mutasyon arasında 14 mutasyon eşanlamlı değildi, 3'ü silme ve 6'sı ek yer değişikliklerinden oluşmaktadır (Chand *et al.* 2022). Bu mutasyonlardan 17'si karşılık gelen proteinlerde değişikliklere neden olmuştur (Peacock 2022).

2.2.2 SARS-CoV-2 beta varyantları

B.1.351 beta varyantı, SARS-CoV-2'ye alternatiftir. İlk olarak Ekim 2020'de Güney Afrika'nın Doğu Cape Eyaletindeki Nelson Mandela Körfezi metropol bölgesinde tespit edilen ve ülkenin sağlık hizmeti tarafından 18 Aralık 2020'de açıklanan COVID-19'a neden olan virüs, özellikle ilgili birçok virüs için değişkenin görünümünü gösterir (Tegally *et al.* 2020). Varyant, bilimsel ismin yerini almak için değil, genel olarak onu değerlendiren DSÖ'ye atıfta bulunmak için genel bir isim olarak beta varyantı olarak sınıflandırılır (Kim *et al.* 2021).

B.1.351; K417N, E484K alanı ve E484K genomları, üç mutasyona sahiptir. Şimdiye kadar, N501Y ve 5 ek mutasyon (L18F, D80A, D215G, R246I ve A701V) daha az endişe yaratmıştır (Zimmer 2021). İki mutasyon, E484K ve K417N, beta formunu oluşturur Ayrıca, 69-70del mutasyonu betada varyantında yoktur (Abdool Karim and Baxter 2020).

2.2.3 SARS-CoV-2 omicron varyantı

11-16 Kasım 2021 tarihleri arasında alınan örneklerin sonuçları incelendiğinde, 22 Kasım 2021'de Amerika Birleşik Devletleri'ndeki bilim adamları, "Omicron" (B.1.1.529) adını verdikleri yeni bir SARS-COV-2 varyantı belirlediler (Zahradnik *et al.* 2021). 8 Kasım'da Güney Afrika'daki araştırmacılar bu türün ilk örneğini keşfettiler. Türkiye'ye gelen bir gezgin, Güney Afrika dışında teşhis konulan ilk kişi oldu. Dünya Sağlık Örgütü, 26 Kasım 2021'de bunu resmi olarak "endişeye alternatif" olarak adlandırdı (Parums 2021).

7 Ocak 2022'de varyant 135 ülkede görüldü (Parums 2021). Omicron, önceki varyantlara kıyasla son derece yüksek sayıda mutasyona sahiptir (Torjesen 2021, Harvey *et al.* 2021, Wei *et al.* 2021). Mutasyonların çoğu yeniydi ve işlenmemiş proteinin kapasiteyi azalttığı modifikasyonları içeriyordu. Omicron yaklaşık 70 kat daha bulaşıcı ve iki dal içinde (pulmoner hava yolları) delta değişkeni içeriyordu. Ancak, yapılan çalışmalar bunların önceki suşlardan daha az şiddetli olduğunu gösteriyordu. Özellikle suşlar delta değişkeniyle karşılaştırıldığında, Omicron genel olarak derin akciğer dokusuna daha az nüfuz etmekteydi (Al Jurdi *et al.* 2022).

Omicron varyasyonu, referans/ata formuna göre toplam 60 mutasyon içerir: 50 eşanlamlı olmayan mutasyon, 8 eşanlamlı mutasyon ve 2 kodlamayan mutasyon (Harvey *et al.* 2021). Enfeksiyondan kaynaklanan antijenik hedef antikorlar ve düzenli olarak yapılan birkaç aşı, 32 mutasyonun ana proteini olan başak proteinini bozar. Bu mutasyonların çoğu diğer suşlarda bildirilmemiştir (Callaway and Ledford 2021). Değişken, orijinal virüse kıyasla başak proteininde 30 Amino asit değişikliği, 3 küçük silme ve 1 küçük ekleme içerir; bunların 15'i reseptör bağlama bölgesindedir (Zimmer 2021). Ayrıca genomun diğer alanlarında bir dizi mutasyon ve delesyona sahiptir. Ayrıca varyasyon 3 mutasyon içermektedir (Zimmer 2021). Furin bölünme bölgesi SARS-COV-2 enfeksiyonunu artırır (Cheng *et al.* 2019). İlgili veya önemli diğer değişkenler: gama, delta, epsilon, zeta, eta, teta, iota, kappa, lambda'dır (WHO 2020).

2.3 Bağışıklık Genleri ve COVID-19

2.3.1 İnterlökin-6 (IL-6)

1970'lerde Kishimoto'nun grubu, IL-6'yı, B hücrelerinin antikor üreten hücrelere farklılaşmasını uyaran, T hücreleri tarafından üretilen çözünür bir protein olarak keşfetti. Buna göre, başlangıçta B hücresi uyarıcı faktör 2 olarak bilinen IL-6, T hücreleri, makrofajlar, endotel hücreleri, fibroblastlar ve monositler gibi çok sayıda hücre türünden oluşuyordu (Narazaki and Kishimoto 2018). IL-6, IL-1, TNF- ve interferon dahil olmak üzere proinflamatuar sitokinlerin dolaşım seviyelerindeki çarpıcı artış, onu inflamatuar metabolizmanın kontrolü, otoimmün ve akut faz yanıtı gibi sayısız role sahip önemli bir

sitokin haline getirdi. IL-6, sitokin fırtınası ve sitokin fırtınası ile ilişkili organ hasarının önlenmesi için terapötik bir hedeftir (Chu *et al.* 2018).

B hücreleri, T hücreleri, bazofiller, eozinofiller ve nötrofillerin tümü IL-6'nın hedefleridir ve IL-6'nın B hücreleri üzerindeki birçok etkisi arasında B hücresi farklılaşması, IgM üretimi, IgE üretimi ve IgA üretimi yer alır. Ek olarak IL-6, T hücresi aktivasyonunu, farklılaşmasını ve hayatta kalmasını düzenler ve lökosit aktivasyonuna neden olur (Qian *et al.* 2020). Artan IL-6 seviyeleri, kötü prognoz veya metastatik malignitelerde tespit edilir ve IL-6'nın salınması, B hücreleri tarafından antikor sentezini indükler ve antikor hiper-gama-globulinemisini arttırır. Otoimmünite, kronik enflamasyon ve Th17 farklılaşmasının tümü, IL-6'nın CD4 T hücrelerini pozitif olarak uyarmasına veya farklılaşmayı sınırlayan CD4-pozitif T hücrelerinin baskılanması bağlanabilir (Qian *et al.* 2020).

2.3.1.1 SARS-CoV-2 hastalıklarında IL-6'nın rolü

IL-6, bütünleştirici bağışıklık tepkisi üzerinde geniş etkileri olan çok yönlü bir sitokindir. IL-6'nın rollerinden biri, konağın enfeksiyona yanıt verme yeteneği olarak tanımlanan bağışıklık yeterliliğini desteklemektir (Rose-John *et al.* 2017). Bazı meta-analizler ve retrospektif çalışmalar, SARS-CoV-2 ile enfekte COVID-19 bireylerinde artmış IL-6 ve C-reaktif proteinin (CRP) hafif hastalığa kıyasla ölüm ve ciddi hastalık ile bağlantılı olduğunu ortaya koymaktadır (Zhou *et al.* 2020). Spesifik olarak, bağışıklık sisteminin düzensiz olması, IL-1beta tarafından değil, IL-6 tarafından yönlendirilir ve bu bağışıklık bozukluğunun iki ana özelliği şunlardır: monosit ve inflamatuar sitokinler CD4 ile lenfatik düzensizlik lenfositler (Giamarellos-Bourboulis *et al.* 2020). IL-6 kaybının, asit solunumuna yanıt olarak akut akciğer hasarını (ALI) hafiflettiği gösterilmiştir ve ilgili çalışmalar, IL-6'nın ALI'de önemli bir rol oynadığını öne sürmektedir (Song *et al.* 2007).

IL-6 üretiminin uzadığı bulundu ve bu, birincil bir antiviral savunma mekanizmasının yokluğundan kaynaklanmış olabilecek "ikinci bir aktivasyon dalgasına" bağlandı (McGonagle *et al.* 2020). Ayrıca, ARDS'nin şiddeti, kritik derecede hasta bireylerin serumundaki viral RNA miktarı ile ilişkili olarak tespit edildi (Chen *et al.* 2020). Mevcut

tüm veriler, IL-6'nın SARS-CoV-2 enfeksiyonunda zararlı bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. SARS-CoV-1 ve SARS-CoV-2 enfeksiyonu ve SARS-CoV-2'deki akciğer lezyonları ile bağlantılı olması nedeniyle hastalığın hem erken hem de ileri evrelerinde yüksek IL-6 seviyeleri açısından değerlendirilmelidir (Zhou *et al.* 2020).

2.3.2 CD147 için farklılaşma

CD147 İmmünoglobulin ailesinin bir üyesidir. Hücre yüzeyindeki bu glikoprotein, araştırmalara göre (Muramatsu 2012), hücreler arası iletişimi kolaylaştırmaktadır ve 19p13 kromozomunda bulunur. Endotel hücreleri, epitel hücreleri ve lenfositler dahil olmak üzere birçok hücre tipi bunu ifade eder (Agrawal *et al.* 2012). İnsan CD147 yapısını toplam 269 amino asit oluşturur. Bunlar, sinyal peptidini (21), hücre dışı alanı (185), zar ötesi alanı (24), sitoplazmik kuyruğu (75) ve 39 amino asitten oluşturur (Miyauchi *et al.* 1991, Biswas *et al.* 1995). Hücre dışı kısımda hem bir IgC2 tipi (EC1) hem de bir IgI tipi (EC2) hücre dışı alan bulunabilir (Yu *et al.* 2008).

2.3.2.1 SARS-CoV-2 enfeksiyonunda CD147'nin rolü

Dolaşımdaki proteinlerin anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE2) ile daha yüksek afinitesi nedeniyle SARS-CoV-2 ve viral yükün yayılması SARS'ınkinden çok daha hızlıdır (Seif *et al.* 2020). Çok sayıda çalışma, CD147'nin SARS-CoV-2 enfeksiyonuna aracılık etmedeki kritik işlevini ve sonuç olarak CD147 anti-peptit-9'un antiviral etkisini göstermiştir (Chen *et al.* 2005). CD147'nin doğrudan viral S proteinine bağlandığı ve siklofilin A ile viral iskelet proteini arasındaki etkileşimde dolaylı bir rolü olduğu keşfedilmiştir (Shilts *et al.* 2021). (Wang *et al.* 2020), SARS-CoV-2 S proteini ile konakçı hücre reseptörü CD147 arasında bir bağlantı keşfetti ve reseptör seviyelerini ayarlamanın virüsün belirli hücreleri enfekte etme kapasitesini etkileyebileceğini kanıtlamıştır. Bunlara ek olarak, CD147 reseptörünün, ACE2'yi ifade etmeyen bağışıklık hücrelerinin SARS-CoV-2 enfeksiyonu için gerekli olduğunu göstererek, benzersiz bir giriş yolu olduğunu öne sürdüler (Wang *et al.* 2020). Spike proteinin, konakçı hücrelerde CD147 ekspresyon havuzuna bağlı olması mümkündür ve SARS-CoV-2 ve konakçı hücre istilasında rol oynayabilir (Wang *et al.* 2020).

Koronavirüsün yayılmasında anahtar faktör, konak hücreler üzerindeki trans-membran reseptörlerine bağlanarak viral enfeksiyonu kolaylaştıran dikenli proteindir. Bu sonuçlar, CD147'nin konak hücrelerin viral enfeksiyonundaki öneminin altını çizmektedir (Hulswit *et al.* 2016). Nöropilin-1, ACE2 tarafından SARS-CoV-2 aracılı enfeksiyonda bir kofaktör olarak tanımlanmıştır (Daly *et al.* 2020).

Membran füzyonu ve endositoz, virüs enfeksiyonu için ana giriş yollarıdır (Harrison 2015, Słońska *et al.* 2016), CD147 hücrelere klatrin bağımsız endositoz yoluyla girer (Eyster *et al.* 2009). Hamster böbrek 21 hücrelerinde BHK-21-CD147 ve COVID-19'lu bir hastadan alınan akciğer dokusunda Rab5 yukarı regülasyonu ve ortak lokalizasyonu bulunmuştur, bu da Rab5'in hücresel endositozun ana düzenleyicisi olduğunu ve erken endozomda mevcut olduğunu düşündürür. SARS-CoV-2, CD147 endositozu ile konak hücrelere nüfuz eder ve CD147 reseptörlerinin ve ilişkili virionların immünojenik olduğunu ve erken endozomda bulunduğunu gösterir (Saito *et al.* 2017).

Son çalışmalar, CD147'nin, soğuk algınlığı koronavirüsü CoV-OC43'ün aksine hiperaktivite ve tromboza yol açan trombositler ve megakaryositler için SARS-CoV-2 girişinin reseptörü olduğunu göstermektedir (Barrett *et al.* 2021). Başka bir çalışma da SARS-CoV-2 eksikliği olan trombositlerin CD147 reseptörü tarafından aktive edildiğini ve insan trombositlerindeki SARS-CoV-2'nin ve SARS-CoV-2 enfeksiyonunun diğer yollarının belirsizliğini koruduğunu bulmuştur (Maugeri *et al.* 2021).

2.3.3 Fibrinojen alfa zinciri geni (FGA)

FGA geni tarafından üretilen proteinler, kanda bulunan glikoproteinler olan fibrinojenin alfa bileşenleridir ve üç set uyumsuz polipeptit zincirinden oluşur (Ro *et al.* 2013). Ana glikoprotein olarak fibrinojen (pıhtılaşma faktörü I) (340 kDa) pıhtı oluşumu için gerekli olan trombin aracılı proteoliz, çözünür fibrinojeni çözünmez fibrine dönüştürür, bu da pıhtıların yapısal bütünlüğünü sağlar, böylece fibrinojen önemli bir pıhtılaşma faktörü ve akut faz reaktanı görevi görür. Tromboz, iltihaplanma ve kan viskozitesi ile ilgili çok yönlü bir rol oynayarak COVID-19'un yönetiminde etkilenir (Ro *et al.* 2013). Ayrıca, kromozom 4'ün uzun kolundaki bir gen tarafından kodlanan ve epigenetik değişikliklere

sahip olduğu gösterilen 2α, 2β ve 2γ hekzamerik bir dimer olan gpIIb/IIIa reseptörüne bağlanarak trombosit agregasyonunu uyarır (Eljilany and Elzouki 2020). Fibrinojenin β ve polipeptit zincirleri, insan dördüncü kromozomu üzerindeki üçlü bir gen grubu olan fibrinojen genleri (FGB-FGA-FGG) tarafından kodlanır. Fibrinojen için normal yetişkin aralığı 2-5 mg/mL'dir ve dolaşımdaki yarılanma ömrü yaklaşık 4 gündür. Pıhtılaşma önleyici rolüne ek olarak fibrinojen, lökosit göçünü modüle ederek inflamatuar yanıtı etkiler ve böylece akut inflamatuar bir reaktan olarak hareket eder (Hajsadeghi *et al.* 2012). Ayrıca in vitro çalışmalar, SARS-CoV ile enfekte olmuş mononükleer kan hücrelerinin fibrinojen mRNA ekspresyonunda bir artış sergilediğini göstermiştir (Lisa *et al.* 2004). Karaciğer, enfeksiyonlara, yaralanmalara ve malignitelere akut faz yanıtı sırasında fibrinojen sentezini artırır. Bunlara ek olarak, akciğer gibi hücre dışı dokularda fibrinojen sentezi artar (Rybarczyk *et al.* 2003, Lawrence and Simpson-Haidaris 2004). Ayrıca, pıhtılaşma uyarıcı ve/veya fibrinolitik aktivitelerdeki bir dengesizliğin yanı sıra sitokin üretimindeki artış, yaralanma bölgesinde aşırı fibrinojen sentezi ve fibrinojenezden kaynaklanabilir (Weir 2008). Çoğu SARS hastası trombositopeni, artan diploidler ve uzamış aktive parsiyel tromb-plastin zamanı göstererek; pıhtılaşma ve fibrin polimerizasyon yollarının düzensizliğine işaret eder. Fibrinojen ve fibrinoliz ürünlerinin artan ekspresyonu, enfekte periferik kan mononükleer hücrelerinde ve Vero E6 hücrelerinde fibrinojen tarafından yukarı regüle edildiğinden, SARS'ın patogenezinde önemli bir role sahip olabilir (Lisa *et al.* 2004)

2.4 SARS-CoV-2 Enfeksiyonunun İmmünolojik Teşhisi

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanan testler, üst solunum yolu (ideal olarak nazofarenks) örneklerinde SARS-CoV-2 RNA'yı tanımlamada yardımcı olmuştur ve SARS-CoV-2'ye karşı bağışıklığı değerlendirmek için şu anda diğer teşhis teknikleri geliştirilme aşamasındadır (Vogel 2020). Antikor testinde ilerleme kaydedilmiştir ve pazar artık mevcut test kitleriyle (hem ELISA hem de yanal akışlı immünoanalizler şeklinde hızlı testler) dolup taşmıştır. Bu gruplardan çok azı doğrulanmış olduğundan sonuçlar dikkatle incelenmelidir (Vogel 2020). Şimdiye kadar eldeki verilerden anladığımız kadarıyla COVID-19, IgA ve IgG antikorlarından oluşan tipik bir antikor tepkisine neden olmaktadır. Önce IgM indüklenir ve ardından klinik prezentasyonda

erken IgG ortaya çıkar (128) (Vogel 2020). İnterferon tip I ve tip III de COVID-19'da mevcut klinik araştırmaların konusu olmuştur. Anti-PD-1 ve LAG-3 tedavileri, işlevsiz durumu düzeltmek ve immünolojik yanıtları geri yüklemek için T hücresi tükenmesini hedefleyerek kalıcı enfeksiyon için yeni terapötik olanaklar sağlar (Barber *et al*. 2006, Nguyen and Ohashi 2015).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Cihaz ve aletler

Çizelge 3.1'de çalışmada kullanılan cihazlar listelenmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz	**Menşei**
Basınçlı fırın	Hirayama-Japonya
Hassas terazi (iki haneli)	Kern-Almanya
Biyolojik güvenlik kabini	Labogen-Danimarka
Santrifüj	Jimmy-Tayvan
Elektron Grafiği–Ultraviyole (jel dokümanlar)	ATTA-Japonya
ELISA enstrümantasyon sistemi	BioTek-ABD
Santrifüj Eppendorf 5418	Eppendorf
Yatay jel elektroforez ünitesi	Motorcycle-Japonya
Shepherd	Memmert-Almanya
Mikrodalga fırın	
Nano Damla 2000	Biodrop-ABD
PCR iş istasyonu	Jeiotech-Kore
Buzdolabı (4°C ve -20°C)	Concorde-Lübnan
Dizileme sistemi	Macrogen-Güney Kore
PCR ısı döngüsü sistemi	Boat-İngiltere
Su banyosu	GFL-Almanya
Vorteks	Heidolf-Almanya

3.1.2 Kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan kimyasal ve biyolojik materyaller Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasal ve biyolojik malzemeler

No.	Kimyasallar ve biyolojik malzemeler	Şirket (köken)
1	Mutlak etanol (%99)	Scharlau (İspanya)
2	Asetik asit	BDH-İngiltere
3	Alkol	BDH-İngiltere
4	KH_2PO_4 Potasyum dihidrojen fosfat	CDH–İngiltere
5	KOH	BDH-İngiltere
6	McFarland çözümü	Biomerieux (Fransa)
7	Metanol	BDH-İngiltere
8	Metil kırmızısı	BDH-İngiltere
9	Na_2HPO_4. $2H_2O$	BDH-İngiltere
10	NaCl	BDH-İngiltere
11	NaOH	BDH-Birleşik Krallık
12	Potasyum iyodür	GCC-İngiltere

3.1.3 Kitler

Bu çalışmada kullanılan kitler Çizelge 3.3'te gösterilmektedir.

Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan kitler

Kit	Menşei/Ülke
Elisa Kitleri (IL-6)	Elabscience-ABD
DNA ekstraksiyon kiti (kandan)	Favorite-Tayvan
PCR preMix reaksiyonu 20 µL	ABD

3.1.4 Primerler

Mevcut çalışmada kullanılan primerler Çizelge 3.4'te listelenmiştir.

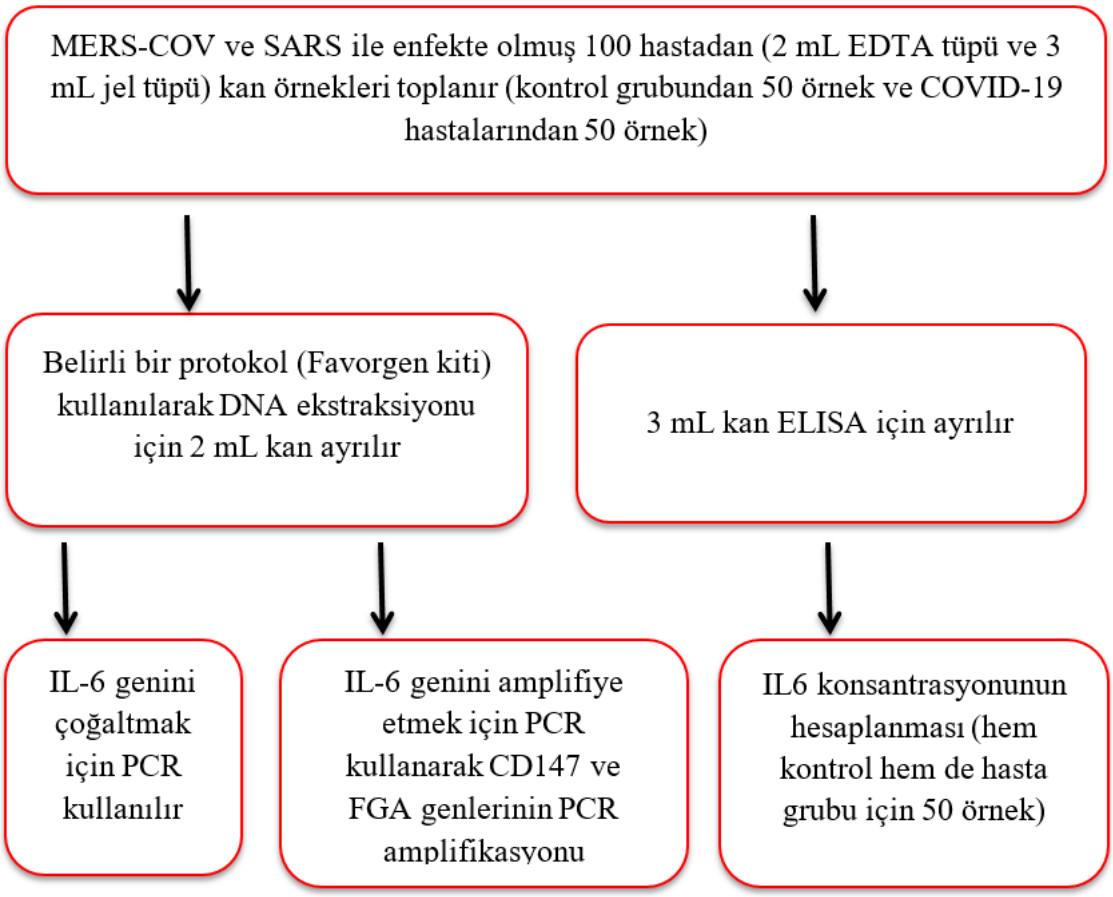
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan primerler

Primer	5' → 3' sıra		Ürün Boyutu (bp)
IL-6 G aleli & C aleli	F	GCACTCCCCCCCCTAGGGTGGTTGTTTTTCKG	206 bp
	S	ATGATGGGGGGGTCCTTAGCTGTTG	152 bp
	F	JACKTCAGCTACTTCTGGGTGGACA	302 bp
	S	GAATGAGCCTCAGACATCTCCAGTCCTA	
CD147	F	GCCTGACCCCGCCGCTGTAGTT	229 bp
	S		
FGA	F	ATAGACCGATCAGAACJ	392 bp

3.2 Yöntemler

3.2.1 Çalışma tasarımı

Çalışma tasarımı Şekil 3.1'de gösterilmiştir



Şekil 3.1 Çalışma tasarımı

3.2.2 Örnek toplama

SARS-CoV-2 (Covid-19) bulaştığı düşünülen 50 kişiden ve SARS'a karşı aşılanmış 40 kişiden kan ve serum örneği, Mart-Haziran 2022 tarihleri arasında alınmıştır. Hastaların kişisel bilgileri, isim, yaş, cinsiyet, gerçek zamanlı PCR ve röntgen sonuçları kayıt altına alınmıştır. Ayrıca alınan numuneler karışmaması için numaralandırılmıştır. Numuneleri

taşıma sırasında korumak için özel buzlu bir taşıma kabına konmuştur. Alınan tüm numuneler Eğitim hastanesinden ve farklı bölgelerden temin edilmiştir.

3.2.3 Tris-borat EDTA tamponunun (TBE tamponu) hazırlanması

Tris Borat EDTA (1x), 100 mL Tris Borat EDTA'nın (10x) 900 mL distile suda seyreltilmesiyle hazırlanmıştır (Sambrook and Russell 2006).

3.2.4 Agaroz jelin hazırlanması

2 g agarozun 100 mL seyreltilmiş Tris Borat EDTA solüsyonunda (1x) çözülmesiyle hazırlanan agaroz ile jel elektroforezi yapılmıştır (Sambrook and Russell 2006).

3.2.5 DNA ekstraksiyonu

Oksijeni giderilmiş DNA, Favorgen-Tayvan tarafından sağlanan bir kit kullanılarak ve üreticinin talimatları izlenerek kan örneklerinden ekstrakt edilmiştir.

Protokol:

- Toplam 200 µL donmuş kan 1,5 mL'lik bir mikro santrifüj tüpüne aktarıldı ve numune 200 µL 'den az ise PBS eklendi.
- Numuneye 30 mL proteinaz K (10 mg/mL, tanımlanmamış) eklenip karıştırılır ve 60°C'de 15 dakika inkübe edilir.
- 20 µL FABG Buffer örneğe eklenir.
- 70°C su banyosunda 1 dakika kaldıktan sonra, inkübasyon sırasında her 3 dakikada bir örnek ters çevrilir.
- DNA elüsyonu, 70°C su banyosunda ısıtılan bir elüsyon solüsyonunun kullanılmasını gerektirir.

DNA bağlanması

- Numuneye toplam 250 litre etanol (%96-100) ilave edildi ve 10 saniye vorteks ile karıştırıldı.
- Kolektör tüpü yarıya kadar FABG sütunu ile dolduruldu. Numune karışımı 1 dakika boyunca 16,000 rpm'de bir FABG Kolon santrifüjüne dikkatlice aktarıldı. Kolektör tüpünü çıkarıldı ve yeni bir toplayıcı tüple değiştirildi.
- Genel protokolün 13. adımıyla sütun yıkama başlatılır.400 µL tampon W1 eklenir ve 14,000 rpm'de 30 saniye santrifüjlenir. Akışı atmak için FABG sütununu toplama tüpüne geri konur.
- FABG kolonuna 600 µL yıkama tamponu ilave edildi ve 30 saniye boyunca 14,000 rpm'de santrifüjlendi. FABG kolonunu toplama tüpüne geri yerleştirerek akışı atıldı. İlk açıldığında Yıkama Tamponuna etanol eklenmesi gerekmektedir.
- Kolonu kurutmak için 14,000 rpm'de 3 dakika santrifüjlenir. Bu adım, kalan sıvıda bulunan enzimatik reaksiyonların oluşumunu önleyecektir.
- Kuru faj kolonunu yeni bir 1,5 mL'lik mikro santrifüj tüpüne yerleştirilir.
- FABG kolonunun membran merkezine 100 µL TE elüsyon tamponu ilave edilir.
- FAGB kolonu 37°C'de 10 dakika inkübe edilir.
- DNA'yı uzaklaştırmak için maksimum 14,000 rpm hızında 1 dakika santrifüjlenir. Elüsyon için standart hacim 100 µL'dir. DNA parçasını -20°C'de saklanır.

3.2.6 Geleneksel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

3.2.6.1 Primerin hazırlanması

Çalışılan genleri çoğaltmak için polimeraz reaksiyonunda kullanılan tüm primerler (ileri ve geri) çözündürülerek hazırlandı. Bu arada son konsantrasyonu 300 µL nükleaz içermeyen su ve 100 Picomol/µL stok solüsyonu olarak belirlendi. Tüpler çalkalandı ve daha sonra 10 µL çalışma solüsyonu elde etmek için stok solüsyonun 10 µL primeri (ileri ve geri) 90 µL nükleaz içermeyen su ile seyreltildi ve -20°C muhafaza edildi.

3.2.6.2 PCR karışımı

Polimeraz zincir reaksiyonu karışımı, ana bileşenlerin karışımı ile karıştırılarak çalışan genlerin amplifikasyonu için hazırlandı. Çizelge 3.5'de ileri ve geri primerler, DNA şablonu ve Nükleaz içermeyen su miktarları gösterilmiştir.

Çizelge 3.5 Polimeraz zincir reaksiyonu karışımı

No	Malzemeler	Miktar
1	Ana karışım	12,5 µL
2	DNA örneği	4 µL
3	İleri primer (10 µL)	1 µL
4	Ters primer (10 µL)	1 µL
5	Nükleaz içermeyen su	6,5 µL
6	Toplam	25 µL

3.2.6.3 Amplifikasyon koşulları

Çalışan genleri büyütmek için bir polimeraz zincir reaksiyonu termo döngüleyici kullanılmıştır. Her bir gen için büyütme koşulları ve ısı döngüleri Çizelge 3.6'da belirtilmiştir.

Çizelge 3.6 Polimeraz zincir reaksiyonu için amplifikasyon koşulları

IL-6 geni			
Aşama	**Sıcaklık**	**Zaman**	**Döngü**
İlk denatürasyon	92°C	3 dk	1
Denatürasyon	92°C	30 sn	32
Uzama	61°C	35 sn	32
Ekleme	72°C	35 sn	32
Son uzantı	72°C	3 dk	1
Son	4°C	α	1
CD147 geni			
Aşama	**Sıcaklık**	**Zaman**	**Döngü**
İlk denatürasyon	92°C	2 dk	1
Denatürasyon	92°C	30 sn	30
Uzama	57,5°C	30 sn	30
Ekleme	72°C	30 sn	30
Son uzantı	72°C	3 dk	1
Son	4°C	α	1

Çizelge 3.6 Polimeraz zincir reaksiyonu için amplifikasyon koşulları (Devam)

FGA geni			
Aşama	**Sıcaklık**	**Zaman**	**Döngü**
İlk denatürasyon	92°C	3 dk	1
Denatürasyon	92°C	30 sn	32
Uzama	55°C	30 sn	32
Ekleme	72 °C	30 sn	32
Son uzatma	72 °C	3 dk	1
Son	4 °C	α	1

3.2.6.4 Elektroforez

Jel tamamen çözündürüldü ve oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Jel, döküm tepsisine döküldü. Üzerine taraklar takıldı ve ardından oda sıcaklığında katılaşması için kaldırıldı.

Taraklar çıkarıldıktan sonra üretilen kuyulara gen amplifikasyon ürünleri (Amplikonlar) yüklendi ve DNA markörü karşılaştırma amacıyla birinci sıranın birinci ve son kuyusuna ikinci sıranın ise sadece birinci kuyusuna yerleştirildi. Elde edilen alanların ve göç tankının moleküler hacmi (1X) TBE tamponu ile dolduruldu. Gen amplifikasyon ürünlerinin elektroforezi 100 V'da 45 dakika boyunca gerçekleştirilmiştir (Sambrook and Russell 2006).

3.2.6.5 DNA konsantrasyon ve saflık ölçümü

Bir Nanodrop ile DNA konsantrasyonunun ve saflığının ölçülmesi, numunede bulunabilecek hata oranını bize gösteren kolay ve hızlı bir işlemdir, bu nedenle standart DNA okuması ~1,8'dir. Bu yüzdeden farklı okumalar, numunede kontaminasyon varlığının bir göstergesidir, yani numunenin hala protein veya diğer maddeler içerdiği anlamına gelir. İşlem, cihaz operatörü tarafından belirtilen aşağıdaki adımlara göre gerçekleştirilir:

- Cihazı açın (Nanodrop).
- Masaüstündeki Nanodrop cihaz simgesini seçin.

- Listeden DNA'yı seçin.
- DNA türünü seçin.
- Standart DNA birimini (ng/su) belirleyin.
- İncelenecek çözeltinin uygun dalga boyunu (260-280) nm seçin (DNA testi olduğu için 260 nm seçilir).
- Tüm numunelerin ölçümlerini eklemek ve kaydetmek için ‘Rapora Ekle’simgesi seçilir böylece gerektiğinde kaydedilen bilgilere geri dönülebilir.
- Cihaz kalibre edilir, merceğine 1-2 µL boş solüsyon uygulanır ve cihaz kolunu indirilir, boş kelimesine basılır ve ardından lens özel bir temizleme kâğıdı ile temizlenir.
- Numune tam konumuna yerleştirilir ve ölçümü başlatmak için "Ölç" düğmesine basılır.

3.2.7 İnsan IL-6 (interlökin-6) ELISA kiti

3.2.7.1 Kullanım amacı

Bu kit; serum, plazma, hücre kültürü üst bitkilerinde, hücre lizatlarında ve doku homojenatlarında insan interlökin-6'nın (IL-6) doğru tespiti için kullanılır.

3.2.7.2 Kit prensibi

Kit, insan interlökin-6'ya (IL-6) özgü bir antikorla kaplanmış ve enzime bağlı immünosorbent tahlili (ELISA) için kullanılmaya hazır bir mikro-ELISA plakası ile gelir. Numuneler daha sonra uygun antikorla bağlanır ve bir ELISA mikro plakasının oyuklarına konur. Bir insan IL-6 antikor saptama antikoru ve Avidin-HRP antikorunun her biri, inkübasyondan önce ilgili mikro plakalara ilave edilir. Tüm kuyucuklar bir substrat solüsyonu ile doldurulur. Mavi, yalnızca insan IL-6, biyoalgılayıcı antikorlar ve Avidin-HRP içeren oyukları gösterir. Durdurma solüsyonu eklendiğinde enzim substratının reaksiyonu durdurulur ve renk sarıya döner. Optik yoğunluğu (OD) belirlemek için 450 ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometri kullanılır.

3.2.7.3 İçerik

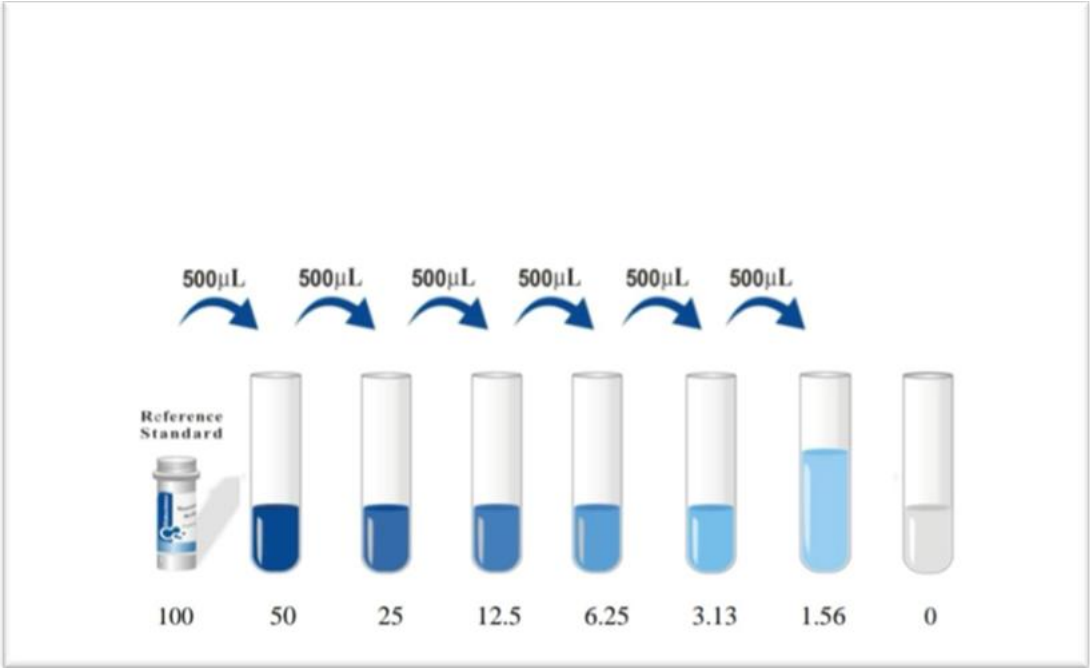
Standart solüsyon (4800 birim/mL), önceden kaplanmış ELISA mikroplaka, standart seyreltici, Avidin-HRP, HRP konsantrasyon konsantresi (100 x), durdurma solüsyonu, substrat reaktifi, referans standart ve numune seyreltici, HRP yuvarlak seyreltici, yıkama tamponu (25x), AB Seyreltici Biyodeteksiyon, Kullanıcı Talimatları, Analiz Sertifikası, Mühür Plakası, Çantadan oluşur.

3.2.7.4 Reaktif hazırlama

Tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığında (18-25°C) olmalıdır. Kitin birden fazla test için kullanılması durumunda, sadece mevcut deney için gerekli olan stripler ve reaktifler çıkarılmalı, kalan stripler ve reaktifler uygun şekilde saklanmalıdır.

750 mL yıkama tamponu yapmak için 30 mL konsantre yıkama tamponunu 720 mL deiyonize veya damıtılmış suyla birleştirilir. Ortasında kristaller oluşursa 40 derecede ısıtılır. Kristaller bir su banyosuna konur ve eriyene kadar hafifçe çalkalanır.

Çalışma solüsyonu yöntemi: 10,000 g'de 1 dakika standart santrifüjlenir. Referans standart ve numune seyrelticisinin her birinden 1'er mL eklendikten sonra, karışım oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilir ve birçok kez hafifçe döndürülür. Her şeyi çözdükten sonra, bir pipet kullanarak iyice karıştırılır. Seyreltici ilave edildikten, bir ile iki dakika beklendikten ve düşük hızlı bir vorteks ile iyice karıştırıldıktan sonra numune, 100 pg/mL'lik (veya 1 mL referans standart) bir çalışma solüsyonuna sulandırılır. Vorteks sırasında oluşan kabarcıklardan kurtulmak için santrifüjleme yapılır. Daha sonra gerektiği kadar seri olarak seyreltilir. Önerilen seyreltme gradyanı;100 3,13, 1,56, 0 pg/mL, 3,13, 12,5, 6,25, 50 pg/mL, 25 pg/mL, %12,5, %50, %25. Seyreltme prosedürü kullanılarak referans standardı ve örnek seyreltici 7 eppendorf tüpe (500 µL) eşit olarak bölünür. İlk tüp 50 pg/mL çalışma solüsyonuna sahip olmalıdır. Önceki tüpten son tüpe kadar 500 µL solüsyon aktarılır. Son tüp boş bırakılır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 IL-6'nın standart solüsyonlarının seyreltilmesi

Peroksidaz tespiti için iş solüsyonu: Ne kadar ihtiyaç duyulacağını önceden belirlenir (100 µL/kuyu). Hazırlıkta hesaplamadan biraz daha fazla özen gösterilmelidir. Konsantre biyotinlenmiş saptama Ab, 800 x g'de 1 dakika santrifüjlendikten sonra 100 kat seyreltilir. 1 çalışma solüsyonunda biyotinlenmiş bir antikor kullanılarak konsantre tespit seyreltilir (Seyreltme: 1:99).

HRP bağlantılı iş çözümü: Deney için ne kadar sıvı gerektiğini (100 µL/kuyu) önceden belirlenir. Hazırlıkta hesaplamadan biraz daha fazla özen gösterilmelidir. 1 x çalışma solüsyonu yapmak için önce konsantre HRP konjugatını 800 xg'de 1 dakika santrifüjlenir ve ardından 100 x konsantre HRP solüsyonunu seyreltilmiş HRP konjugatı ile seyreltilir (HRP Konjugat Seyreltici: 1:99)

3.2.7.5 Çalışma prosedürleri

Seyreltilmiş, kör ve örneklenmiş standart için kuyucukları belirlenir. Her standarttan 100 L eklenir ve numune uygun kuyucuklara seyreltilir (tüm numuneler ve standartlar için çift kontrol önerilir). Kitin sızdırmazlık maddesi tahtaya uygulanır ve kuruması beklenir. 90

dakika 37°C derecede tutulur. Köpürmeyi önlemek için solüsyonların mikro-ELISA plakasının altına eklenmesi önerilir.

Her kuyudan sıvı durulamadan çıkarılır. Biyosensör Ab solüsyonunun her 100 L'si hemen alınır. 37°C derecede bir saatlik inkübasyon yapılır. Solüsyon her kuyudan süzüldükten sonra 350 µL yıkama solüsyonu eklenmelidir. Bir dakika bekledikten sonra, solüsyon çekilerek veya temiz emici kâğıda dökülerek her kuyudan çıkarılır. Bu işlem üç kez daha tekrarlanır. Bu ve diğer yıkama işlemlerinde, küçük bir yıkayıcının kullanılmasından faydalanılabilir. Test edilen şeritler temizledikten sonra hemen kullanılabilir. Kuyular kuru çalıştırılmamalıdır.

Her kuyucuk 100 mL HRP konjugat çalışma solüsyonu ile doldurulmalıdır. Daha önce anlatıldığı gibi yıkama yapıldıktan sonra, her kuyudan solüsyonu süzülür.

90 L'lik substrat reaktifinin tamamı bir kuvöze yerleştirilir ve 37°C 15 dakika bekletilir. Mümkünse kartın doğrudan güneş ışığından korunması önerilir. Tepki süresi, gerçek renk değişikliğine bağlı olarak maksimum 30 dakikaya kadar düşürülebilir veya uzayabilir. Bir OD okuması almak istiyorsanız, Mikro plaka okuyucusunun yaklaşık 15 dakika ısınması gerekmektedir (Şekil 3.3).

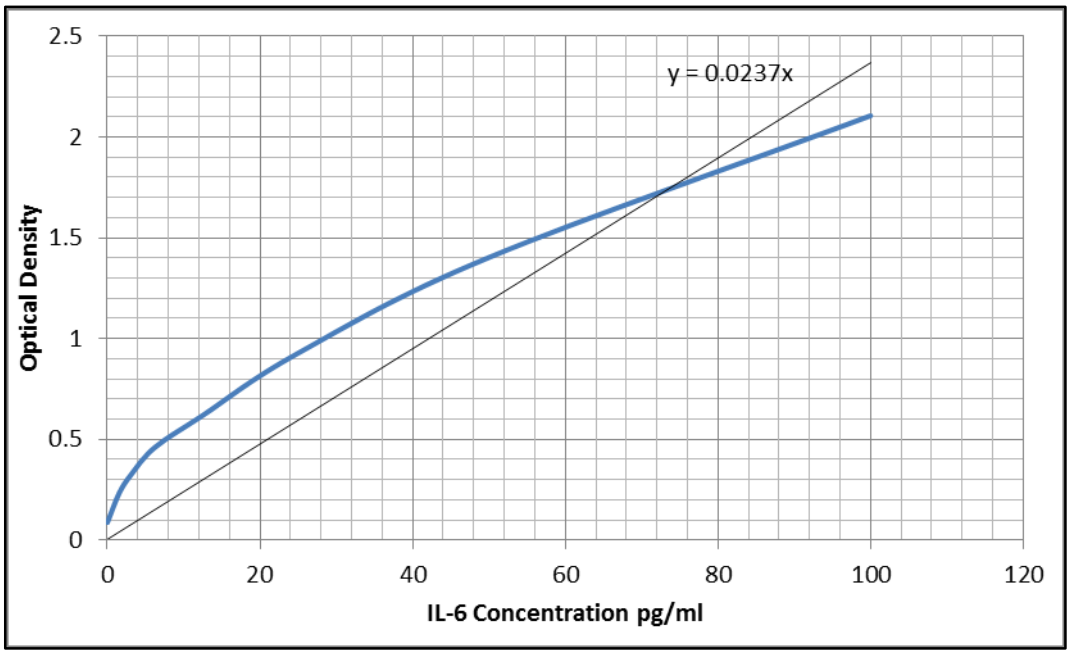


Şekil 3.3 Durdurma sonrası IL-6 solüsyonunun eklenmesi

En son olarak bir mikro plaka okuyucu kullanılarak, her kuyucuğun OD değeri (optik yoğunluk) 450 nm'de kaydedilir.

3.2.7.6 Sonuçların değerlendirilmesi

Her ortalama optik yoğunluk değerleri bilgisayar programına girilerek regresyon analizi yapılır ve verilere uygun eğri oluşturulur (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 IL-6 U/mL konsantrasyonunun standart ortalama optik yoğunluk eğrisi

3.2.8 IL-6 gen polimorfizmi için tetra-ARMS-PCR teknolojisi

3.2.8.1 Prensip

Amplifikasyon Mutasyon Sistemi (ARMS) olarak bilinen PCR prosedüründe alele özgü primerler kullanılır. Kontrol 3' ile 5' Taq eksonükleazın aktivitesinin olmaması nedeniyle, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) sırasında primerin 3' ucunda bir uyumsuzluk olduğunda tavlama ve uzatma yoluyla amplifikasyon ciddi şekilde engellenir. ARMS primerleri mutant/homozigot, mutant/polimorfik ve normal (vahşi tip) alelleri

etiketlediğinden, bu aktiviteye sahip yüksek kaliteli DNA polimerazlar ARMS'de kullanılamaz. Ancak, başlatıcılar farklı floresan boyalarla işaretlendikten sonra, aynı tüpte mutant ve normal alellerin etkileşimleri yapılabilir.

3.2.8.2 Protokol

Hazırlık tamamlandıktan sonra 1 µL F, R (G alel) primer ve F, R (C alel) primer (Microgene Corporation), 3 µL DNA örneği, 12,5 µL Master'ı (Promega), 5,5 µL su nükleaz ile birkaç saniye vorteks ile karıştırılır (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7 IL-6 tetra-ARM-PCR için teknik amplifikasyon koşulları

Gen	Başlangıç	Denatürasyon	Uzama	Ekleme	Döngü	Eklenti	Son
IL-6 geni	92°C, 3 dk	92°C, 30 sn	61°C, 35 sn	72°C, 35 sn	32	72°C, 3dk	4°C

3.3 İstatistiksel Analiz

SPSS 2012 yazılımı kullanılarak çalışmanın başarı oranını en çok hangi unsurların etkilediği belirlenmiştir. Ayrıca bu araştırmada, Ki-kare testi kullanarak karşılaştırmalar yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 COVID-19 Hastalarının Cinsiyet ve Yaş Dağılımı

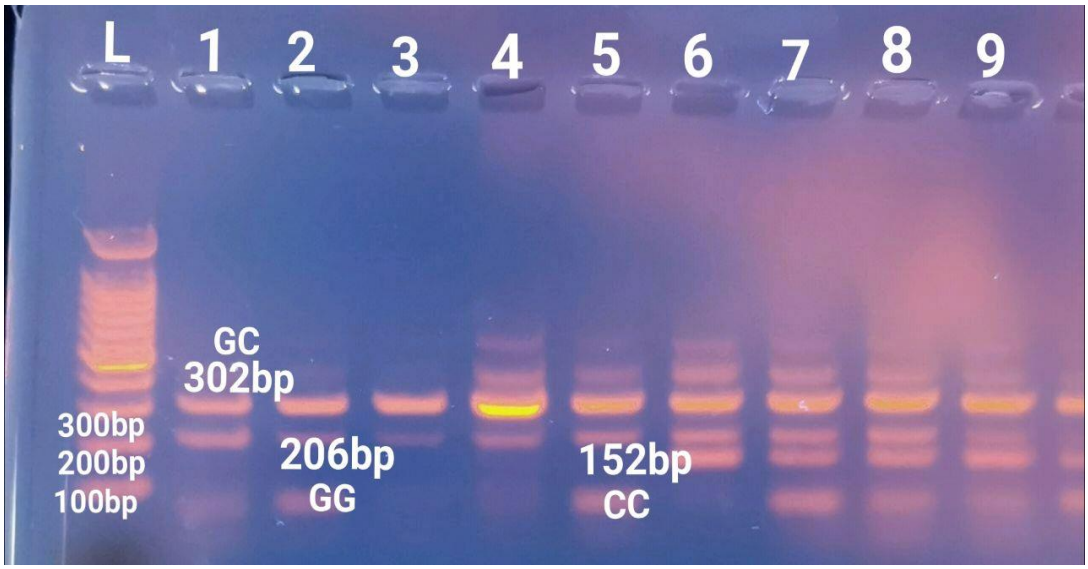
COVID-19, birçok genetik ve çevresel ilişkiye sahip karmaşık bir genetik hastalıktır. Bu çalışmadaki örneklemlerin çoğunluğunun kadın olması, erkeklerin hastaneye yatma olasılığının daha yüksek olduğunu ve daha fazla risk altında olduğunu düşündürmektedir. Hastaların çoğunluğu (%52,5) kadın olup, erkek (%47,5) hastalar ikinci sırada gelmektedir. Yaş grubuna bakıldığında 51-71yaş grubunda 32 (%80) hasta tespit edilmiştir. Çizelge 4.1'de, 30 ile 50 yaş arasında aşı olan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu, 51 ile 71 yaş arasında ise böyle bir fark olmadığını tespit edilmiştir Kontrol ve enfekte bireyler ile erkekler ve kadınlar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır. (Di Resta *et al.* 2021)'e göre kadınların serum seviyeleri erkeklerden önemli ölçüde daha yüksektir ve kadınlar erkeklerden daha fazla yan etkiye maruz kalmıştır. Bu, kadınların hastalık ve aşı yanıtı açısından erkeklerden daha fazla etkilendiğini ortaya koyan araştırma bulgularıyla uyumluluk göstermiştir (Baggio *et al.* 2013). Viral enfeksiyonlara karşı bağışıklık yanıtlarının cinsiyete göre değiştiği, bağışıklık ve endokrin sistemlerin yaşla birlikte önemli ölçüde değiştiği, bulaşıcı hastalıklara karşı duyarlılığın arttığı ve aşı etkinliğinin azaldığı unutulmamalıdır. Bağışıklık yaşlanması hem erkeklerin hem de kadınların doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık sistemlerini etkiler. Bu dinamikler, davranışı etkileyen (Parums 2021) cinsiyet varsayımlarına dayanmaktadır, Hindistan'da yapılan bir çalışmada COVID-19 hastalığından etkilenen kadınların yaş grubu 27-52, erkeklerin ise 20- 39 olarak tespit edilmiştir. Etkilenenler arasında erkeklerin sayısı kadınlardan fazla olarak belirlenmiştir. Cinsiyet ve yaş açısından bu durum çalışmamızın sonuçları ile uyumsuzdur. (Team 2020), Hubei'de; doğrulanmış, şüpheli, klinik olarak teşhis edilmiş, klinik olarak teşhis edilmiş ve asemptomatik vakaları içeren 72,314 hasta verisi ile yapmış oldukları çalışmada, doğrulanmış vakaların çoğu 30 ile 79 yaş arasında ve orta düzeyde (%80,9) olarak tespit etmişlerdir. SARS'lı hastalar bu yaş aralığına girme eğilimindedir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 SARS-CoV-2 hasta ve kontrollerinin kriterleri ve demografik dağılımı

Yaş ve Cinsiyet		Hasta (Sayı: 50)	χ2 P (değer) Hasta	Kontrol (Sayı: 50)	χ2 P (değer) Kontrol
Yaş(yıl)	30-50	8 (%20)	14,40 *	19 (%47,5)	0,1000
	51-71	32 (%80)	(0,001)	21 (%52,5)	(0,7518)
Cinsiyet	Erkek	19 (%47,5)	0,1000	20 (%50)	0,000
	Kadın	21 (%52,5)	(0,7518)	20 (%50)	(1,00)
(P≤ 0,05)					

4.2 ARMS-PCR Teknolojisi ile IL-6 Polimorfizm Testi

IL-6 da dahil olmak üzere birçok sitokin, doğal ve adaptif bağışıklık sistemlerini uyaran SARS-CoV-2 enfeksiyonuna yanıt olarak salgılanır. İnfluenza virüsü, hepatit C virüsü (HCV) ve hepatit B virüsü ile enfeksiyonların tümü, bazı kişilerde COVID19, SARS-CoV-2 ve IL-6'daki belirli polimorfizmlerle ilişkilendirilmiştir. Bu durum, sistemik bir inflamatuar reaksiyon olan sitokin salınım sendromuna (HBV) neden olur (Zhang *et al.* 2020). Çalışmanın sonuçları, farklı bant paternlerinin saptanmasına dayalı genotiplerin belirlenmesinde kullanılmıştır. ARM-PCR primerleri (302bp, 206bp, 152bp), vahşi tip IL-6 ve GG geninin, mutasyona uğramış tip CC'nin bir kısmını üretir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 IL-6'nın jel elektroforez görüntüsü (302 dpi fragmanı)

Çizelge 4.2 CC, GG ve GC ile aşılanmış bireylerin genotip sıklıklarını sırasıyla 2, 25, 13, C ve G sıklıklarını 0,212 0,7875 ve %34,82 olarak göstermektedir. GG genotipi ve G aleli için yüksek bir prevalans ve CC genotipi ve C aleli için düşük bir prevalans tespit edilmiştir. CC, GG ve GC alel frekansları sırasıyla 1,22 ve 17, C ve G sıklıklarını 0,2375 ve 0,7625 etkilenen bireyler için tek oran 0,947 olarak belirlenmiştir. Veriler ayrıca G aleli ve GG genotipinin en yaygın olduğunu, C aleli ve CC genotipinin ise daha az yaygın olduğunu göstermektedir. Aşılanmış ve enfekte olmuş kişilerin homozigot ve heterozigot oranlarında da büyük farklılıklar belirlenmiştir.

Çizelge 4.2 IL-6 genotipive alel frekansları

Grup	**Genotipler**	**Sayı**	**Genotip frekansları (%)**	**Alelik frekanslar (%)**		**%**	**χ2 (Potansiyel değer)**
				C	**G**		
Hasta (50)	(CC)	2	5	0,2125	0,7875	34,82	0,000
	(GC)	13	32,5				
	(GG)	25	26,5				
Enfekte (50)	(CC)	1	2,5	0,2375	0,7625	0,947	0,100
	(GC)	17	42,5				
	(GG)	22	55				

Elde ettiğimiz bu veriler, Dünya Sağlık Örgütü'nün GG genotipinin özellikle Hindistan, Meksika, Türkiye, Brezilya, Rusya, İtalya, Güney Afrika, Hollanda ve Yunanistan popülasyonlarında yaygın olduğu iddiasını doğrulamaktadır. GG genotipi, İsveç, Polonya, Almanya ve Birleşik Krallık gibi ülkelerde, CC genotipi ise, yalnızca Japon popülasyonunda rs1800796 polimorfizminin en yaygın biçimi olduğu gösterilmiştir (WHO 2020). (Falahi *et al.* 2022) yapmış oldukları çalışmada, şiddetli COVID-19'lu bireyler arasında IL-6 geninin promotör bölgesinde seçilen altı SNP için genotip veya alel dağılımında önemli bir değişiklik tespit etmemiştir. Bu sonuç elde ettiğimiz verilerin sonuçları ile çelişmektedir.

4.2.1 ELISA teknolojisi ile IL-6 konsantrasyonunun belirlenmesi

ELISA testinin sonuçları incelendiğinde kontrol grubunda ortalama ve stansart sapma değerleri 11,30 ile 2,26 arasında değişirken, enfekte bireylerde 36,36 ile 13,74 olarak tespit edilmiştir. Buna göre enfekte interlökin-6 düzeylerinde bir artış gösterdi.

COVID hastalarında ve kontrollerde interlökin-6 konsantrasyonlarında artış bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 ELISA testinin sonuçları

Grup istatistikleri	Değişkenler	n	Ortalama	Standart Sapma	P değeri
Elisa	Kontrol	50	11,30	2,26	
	Enfekte	50	36,36	13,74	0,000

Elde ettiğimiz bu sonuçlar diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur (Chen *et al.* 2020, Del Valle *et al.* 2020, Zhang *et al.* 2020, Hopfer *et al.* 2021). Ayrıca bu veriler İnterlökin-6'daki artışın COVID-19 hastalığının ciddiyetini tahmin etmek kullanmanın mümkün olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, (Merza *et al.* 2021), SARS-CoV-2 ile serum sitokinlerindeki değişikliklerin, koroner inflamasyona konakçı bağışıklık tepkilerinin diğer viral enfeksiyonlarla belgelenenlerden farklı olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda enzime bağlı immün-sorbent deneylerinde, IL-6, IL-10, IL-4 ve TNF- konsantrasyonları belirlenmiştir. Bunların sonucunda IL-6 seviyeleri çok yüksek olarak tespit edilmiş olup gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Ayrıca, IL-6 polimorfizmi ELISA testi ile karşılaştırırken, enfekte hastalar için GG numunelerinin ortalama konsantrasyonu (38,6862), aşılanmış deneklerinkinden daha yüksek olarak bulunmuştur. Çizelge 4.4'de gösterildiği gibi GG numunelerinin ortalama konsantrasyonu (12,0169), CC örneklerinin ortalama konsantrasyon (8,6498) ve GG numunelerinin ise için (10,3311) aşılanan hastalardan (28,5232) daha yüksektir. Bu, GG genotipine sahip deneklerin GC genotipine sahip olanlardan daha yüksek serum IL-6

seviyelerine sahip olduğunu bulan (Kerget and Kerget 2021) çalışmasının sonuçlarıyla tutarlıdır.

Çizelge 4.4, genetik polimorfizm temelinde IL-6 düzeylerinin dağılımını göstermektedir.

Çizelge 4.4 Genetik polimorfizm temelinde IL-6 düzeylerinin dağılımı

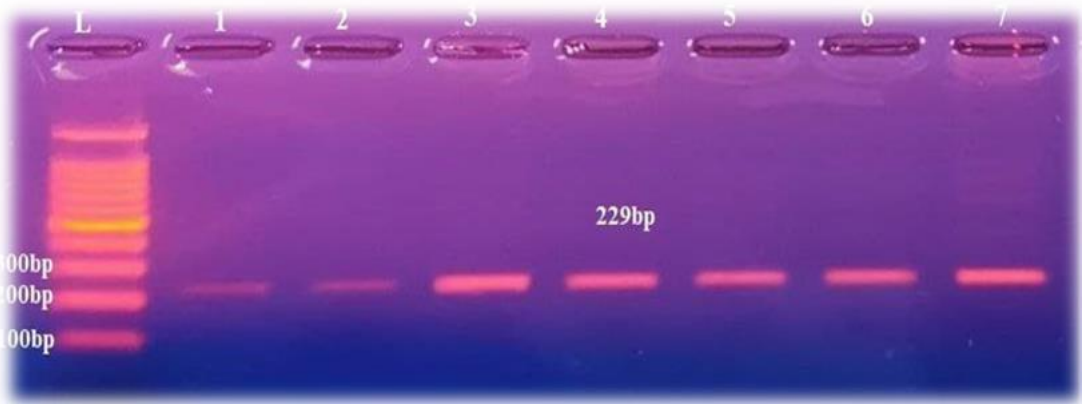
Genotipler	**Enfekte (50) numune**		**Kontrol (50) numune**	
	n (%)	**Ortalama Konsantrasyon**	**n (%)**	**Ortalama Konsantrasyon**
(GG)	22 (%55)	38,6862	25 (% 62,5)	12,0169
(CC)	1 (%2,5)	28,5232	2 (%5)	8,6498
(GC)	17 (% 42,5)	31,9087	13 (%32,5)	10,3311

4.3 Farklılaşma Grubu 147 (CD147)

Farklılaşma grubu 147 (CD147), S viral bağlayıcı reseptör olarak keşfedilmiştir. Aynı zamanda viral enfeksiyonlarda fonksiyonel öneme sahiptir. Böylece, ciddi akut solunum sendromu oluşturan SARS-CoV-2 enfeksiyonuna aracılık eden başka bir reseptör olduğu iddiaları da doğrulanmaktadır (Chan *et al.* 2016, Chu *et al.* 2018). Transmembran protein CD147; karsinojenez, Plazmodyum istilası ve bakteriyel veya viral enfeksiyonda rol oynar. Diğer adıyla hücre dışı matris metalloproteinaz (EMMPRIN) olarak da bilinir (Lu *et al.* 2018). Anti-CD147 peptit-9'un antiviral etkisi ve CD147'nin SARS-CoV-2 enfeksiyonuna aracılık etmedeki kritik rolü, bir dizi araştırmanın yapılmasına yol açmıştır (Chen *et al.* 2005).

Ayrıca orta yaşlı ve yaşlı hastalarda, genotipleri tanımlamak için farklı bant modellerinin görselleştirilmesi kullanılarak farklı tasarımlara sahip PCR'den türetilmiş ürünler, amplifikasyon için benzersiz bir şekilde sıralanmıştır. Elde edilen çeşitli PCR ürünleri için dizileme sonuçları, referans veri tabanındaki (DNA STAR, Madison, WI, ABD) uygun dizilerle eşleştiği sürece Bio Edit Sequence Alignment Editor sürüm 7.1 kullanılarak düzenlendi ve değerlendirildi.

Her numunede tespit edilen farklılıklar, PCR amplikonlarında ve bunların referans genomuna karşılık gelen lokuslarında sıralanmıştır. Halka açık veri tabanlarındaki sekans homolojisi araştırmaları için, CD147'nin PCR amplifikasyon sekanslaması, NCBI'ye özgü nükleotit patlaması ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada insanlar için CD147 geni incelenmiştir. PCR, ekzon 7 ve 8'den CD147 genlerinin 229 bp'lik bir segmentini ve ayrıca örtüşen intronu çoğaltmak için kullanılmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 CD147 geninin jel elektroforez görüntüsü

NCBI referans dizisinde sıralanan 229 bp'den elde edilen tüm sonuçları özetlemek için, örnek kontrol denekleri için tespit edilen spesifik değişiklikler, P (151) (A> G) ve P (220-221) için ekleme mutasyon (A ıns) bölgelerini gösterir ve etkilenen deneklerin örnekleri, P (220-221) (A> G) ve ekleme mutasyon (A ıns) bölgelerini gösterir.

Bu genetik fark, amino asit dizisinin UCA Serin'den (AGT) Prolin CCA'ya (GGT) değiştiği bölge 151'deki kodlayıcı olmayan DNA'da (yedinci intron) bulunabilir. 220-221 pozisyonundaki ekzon 8'deki genetik varyasyon, peptidin bu bölgesindeki amino asit dizisini değiştirir, çünkü bu mutasyon bir ekleme mutasyonuna ve Tirozin UAC'den (ATG) Lösin UUA'ya (AAT) bir değişikliğe neden olur. İstenen CD147 proteininin amino asit dizisi ile değiştirilir.

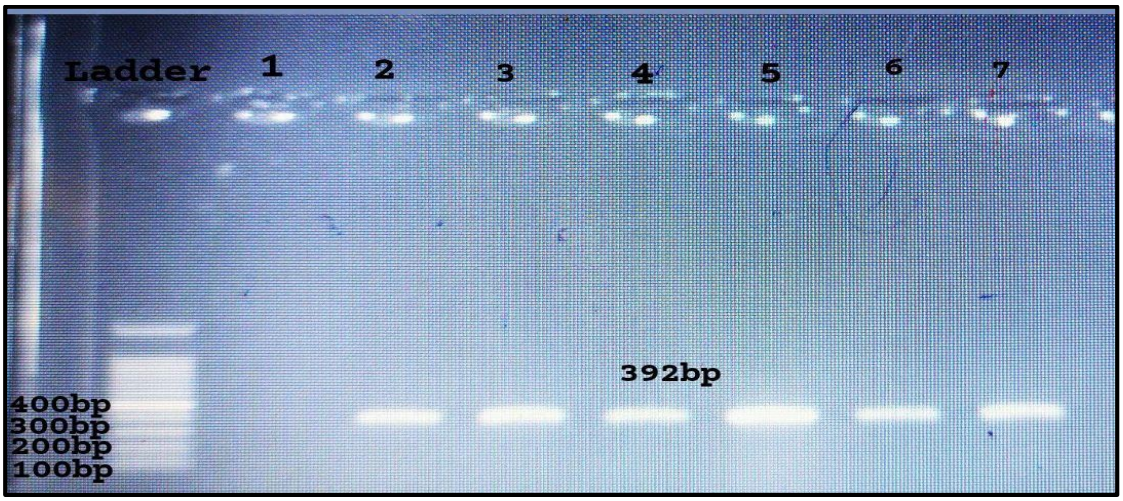
2021 yılında, (Harvey *et al.* 2021), SARS-CoV-2 protein antijenik değişikliklerinin ve nötrleştirici antikorları etkileyen amino asit değişikliklerinin yanı sıra nötrleştirici antikorları etkileyen yüksek amino asit ikamelerinin küresel virüs popülasyonlarında

büyük sıklıkta meydana geldiğini keşfetmiştir. Ayrıca, CD147 SARS-CoV-2 ve varyantları için küresel bir reseptör olarak tanımlanmıştır, CD147 antikoru, SARS-CoV-2 ve varyantlarına karşı geniş inhibisyon gösterir ve enfeksiyon önemli ölçüde baskılanmıştır. SARS-CoV-2 mutasyon virüs bulaş oranını ve bağışıklığın kaçışını azaltır.

4.4 FGA Geninin Genetik Polimorfizmlerinin İncelenmesi

Solunum sistemini etkilemeye ek olarak, COVID-19'un potansiyel kardiyovasküler etkileri olduğu gösterilmiştir (Huang *et al.* 2020, Klok *et al.* 2020, Marone and Rinaldi 2020, Snell 2021). Kardiyovasküler sistemdeki değişiklikler (aritmi, iskemik kalp hastalığı veya kardiyomiyopati) SARS-COV-2 enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir ve bu değişikliklerin pıhtılaşmadaki anormallikler ve tromboza neden olabilen endotel hasarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Alvarado-Moreno *et al.* 2021, Thachil *et al.* 2020). Fibrinojen alfa zinciri, insanlarda FGA geni tarafından kodlanır. Kan pıhtılaşmasında yer alan bir protein olan fibrinojenin alfa alt birimi bu gen tarafından kodlanır. Vasküler hasarı takiben fibrinojenin fibrine dönüşümü sırasında önceden kodlanmış olan proteinin trombin tarafından proteolitik sindirimi nedeniyle, bu gendeki mutasyonların zararlı etkileri vardır. Fibrinojenemi ve akut solunum sendromu kaynaklı renal amiloidoz nedeniyle ciddi vakaları olan COVID-19 hastalarında hücresel fırtınalar ortaya çıkar (Huang *et al.* 2020). COVID-19'un önemli bir ayırt edici özelliği, hastalarda yaygın olarak saptanan ve ciddi tromboembolik bozukluklarla ilişkili olan koagülopatidir (Haematology 2020).

Lokus on örnek içerir ve FGA lokusundan 392 bp'lik bir amplikon modellenmiştir. 4. kromozom üzerindeki bu amplikonlar, fibrinojen proteininin tek bir parçası (alt birimi) olan, fibrinojen A (A) zinciri olarak bilinen bir proteini üretmek için talimatlar içerir. Tüm amplifiye edilmiş FGA amplikonları, sıralama analizlerine gönderilmeden önce spesifik ve net bantlar için kontrol edilir. Güçlendirilmiş ürünleri tanımlamak için NCBI patlamalarının kullanılması, etkileşimlerin sıralaması olan köklü kimliklerini ortaya çıkmasını sağlamıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 FGA'nın jel elektroforez görüntüsü (392 bp fragmanı)

Tanımlanan farklılıklar, 392 bp hedef amplikon için incelenen örneklerde farklı bir dağılıma sahiptir. Bu SNP bir ekleme mutasyonu olduğu için peptidin bu bölgesindeki amino asit dizisini değiştirir, Histidin CAU'dan (GTA) Threonin ACA'ya (TGT) geçiş amino asit dizisini değiştirir ve aşağıdaki nükleotit bazlarının aşağıdaki gibi değişmesine neden olur. Mutasyon eklemenin sonucu oluşur ve SARS-CoV-2 hastalarının sadece birkaç örneğinde tespit edilmiştir. Aşılanmış kişilerde ise bulunmamıştır. Bununla birlikte, alfa zinciri fibrinojen FGA ile SARS-CoV-2 arasında doğrudan bir bağlantı olduğunu gösteren hiçbir araştırma yayınlanmamıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Öncelikle, SARS-CoV-2 nükleik asitlerini veya genlerini tespit etmek için en yaygın ve güvenilir yaklaşım, tanımlama için daha yüksek hassasiyet metodolojisi kullanan gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonudur (PCR). Kontrollerle karşılaştırıldığında, COVID-19 virüsü bulaşmış hastalarda daha yüksek IL-6 seviyeleri tespit edilmiştir, bu da COVID-19 ağır geçiren vakalarda IL-6'nın güvenilir bir göstergesi olmuştur. COVID-19 hastaları ve kontroller arasında CD147 gen polimorfizminde önemli (P 0,05) farklılıklar bulunmuştur. CD147, SARS-CoV-2 için potansiyel bir giriş noktası olarak tanımlanmıştır ve SARS-CoV-2 enfeksiyonuna aracılık etmede rol oynadığı ortaya çıkmıştır. COVID-19 hastaları ile kontrol grubu arasında FGA gen polimorfizminde (P=0,05) önemli farklılıklar bulunmuştur. Hastalarda kan pıhtılarının ve yüksek D-dimer düzeylerinin nedeni bu olabileceği düşünülmektedir.

Tüm bu elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucunda, COVID-19 gelişimindeki rollerini belirlemek için diğer polimorfizmleri ve genetik mutasyonların araştırılması, diğer sitokinlerin COVID-19 gelişimindeki rolünün belirlenmesi, farklı vaka, lokasyon ve varyantlar nedeniyle daha fazla vakanın incelenmesi, aşılama öncesi ve sonrası S proteininin incelenmesi ve karakterizasyonu, Pfizer, AstraZeneca ve Sino Pharm ile aşılanmış kişilerin karşılaştırılması, daha ciddi vakaların, ölümlerin, enfeksiyon süresinin ve proteinlerle olan ilişkisinin izlenmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Abdool Karim, S. S. and Baxter, C. 2022. Impact of SARS-CoV-2 variants of concern on Covid-19 epidemic in South Africa. Transactions of the Royal Society of South Africa, 77(1): 101-104.

Aggarwal, M., Dass, J. and Mahapatra, M. 2020. Hemostatic abnormalities in COVID-19: an update. Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion, 36(4): 616-626.

Agrawal, S. M., Silva, C., Wang, J., Tong, J. P. W. and Yong, V. W. 2012. A novel anti-EMMPRIN function-blocking antibody reduces T cell proliferation and neurotoxicity: relevance to multiple sclerosis. Journal of Neuroinflammation, 9(1): 1-14.

Al Jurdi, A., Gassen, R. B., Borges, T. J., Lape, I. T., Morena, L., Efe, O. and Riella, L. V. 2022. Diminished antibody response against SARS-CoV-2 Omicron variant after third dose of mRNA vaccine in kidney transplant recipients. MedRxiv, 22(2): 8-21.

Alvarado-Moreno, J. A., Davila-Moreno, J., Dominguez-Reyes, V., Arreola-Diaz, R., Isordia-Salas, I., Chavez-Gonzalez, A. and Majluf-Cruz, A. 2021. Morphological and functional alterations in endothelial colony-forming cells from recovered COVID-19 patients. Thrombosis Research, 206, 55-59.

Baggio, G., Corsini, A., Floreani, A., Giannini, S. and Zagonel, V. 2013. Gender medicine: a task for the third millennium. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 51(4): 713-727.

Barber, D. L., Wherry, E. J., Masopust, D., Zhu, B., Allison, J. P., Sharpe, A. H. and Ahmed, R. 2006. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. Nature, 439(7077): 682-687.

Barrett, T. J., Bilaloglu, S., Cornwell, M., Burgess, H. M., Virginio, V. W., Drenkova, K. and Berger, J. S. 2021. Platelets contribute to disease severity in COVID-19. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 19(12): 3139-3153.

Bilge, N., Can, F. K. and Handan, A. L. A. Y. 2020. The relationship of headache with inflammatory serum parameters and disease severity in COVID-19 patients. Duzce Medical Journal, 22: 44-50.

Biswas, C., Zhang, Y., DeCastro, R., Guo, H., Nakamura, T., Kataoka, H. and Nabeshima, K. 1995. The human tumor cell-derived collagenase stimulatory factor (renamed EMMPRIN) is a member of the immunoglobulin superfamily. Cancer Research, 55(2): 434-439.

Boniol, M., McIsaac, M., Xu, L., Wuliji, T., Diallo, K. and Campbell, J. 2021. Gender equity in the health workforce: analysis of 104 countries (No. WHO/HIS/HWF/Gender/WP1/2019.1). World Health Organization.

Callaway, E. and Ledford, H. 2021. How bad is Omicron? What scientists know so far. Nature, 600(7888): 197-199.

Chan, C. M., Chu, H., Wang, Y., Wong, B. H. Y., Zhao, X., Zhou, J. and Yuen, K. Y. 2016. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 5 is an important surface attachment factor that facilitates entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus. Journal of Virology, 90(20): 9114-9127.

Chan, J. F. W., Yuan, S., Kok, K. H., To, K. K. W., Chu, H., Yang, J. and Yuen, K. Y. 2020. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. The Lancet, 395(10223): 514-523.

Chand, M., Viana, R., Moyo, S., Amoako, D. G., Tegally, H., Scheepers, C., Althaus, C. L. and De Oliveira, T. 2022. Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa. Nature, 603(7902): 679-686.

Chang, C. C., Garcia-Beltran, W. F., Denis, K. J. S., Hoelzemer, A., Lam, E. C., Nitido, A. D., Sheehan, M. L. and Balazs, A. B. 2022. mRNA-based COVID-19 vaccine boosters induce neutralizing immunity against SARS-CoV-2 Omicron variant. Cell, 185(3): 457-466.

Chen, L., Liu, H. G., Liu, W., Liu, J., Liu, K., Shang, J. and Wei, S. 2020. Analysis of clinical features of 29 patients with 2019 novel coronavirus pneumonia. Zhonghua jie he he hu xi za zhi= Zhonghua jiehe he huxi zazhi= Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 43: E005-E005.

Chen, W., Lan, Y., Yuan, X., Deng, X., Li, Y., Cai, X. and Tang, X. 2020. Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity. Emerging Microbes & Infections, 9(1): 469-473.

Chen, Z., Mi, L., Xu, J., Yu, J., Wang, X., Jiang, J. and Zhu, P. 2005. Function of HAb18G/CD147 in invasion of host cells by severe acute respiratory syndrome coronavirus. The Journal of Infectious Diseases, 191(5): 755-760.

Cheng, V. C., Wong, S. C., Chen, J. H., Yip, C. C., Chuang, V. W., Tsang, O. T. and Yuen, K. Y. 2020. Escalating infection control response to the rapidly evolving epidemiology of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) due to SARS-CoV-2 in Hong Kong. Infection Control & Hospital Epidemiology, 41(5): 493-498.

Chu, H., Chan, C. M., Zhang, X., Wang, Y., Yuan, S., Zhou, J. and Yuen, K. Y. 2018. Middle East respiratory syndrome coronavirus and bat coronavirus HKU9 both can utilize GRP78 for attachment onto host cells. Journal of Biological Chemistry, 293(30): 11709-11726.

Corman, V. M., Lienau, J. and Witzenrath, M. 2019. Coronaviruses as the cause of respiratory infections. Der Internist, 60(11): 1136-1145.

Daly, J. L., Simonetti, B., Klein, K., Chen, K. E., Williamson, M. K., Antón-Plágaro, C. and Yamauchi, Y. 2020. Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. Science, 370(6518): 861-865.

Davies, N. G., Barnard, R. C., Jarvis, C. I., Kucharski, A. J., Munday, J., Pearson, C. A. and CMMID COVID-19 Working Group. 2020. Estimated transmissibility and severity of novel SARS-CoV-2 Variant of Concern 202012/01 in England. MedRxiv, 12-20.

Del Valle, D. M., Kim-Schulze, S., Huang, H. H., Beckmann, N. D., Nirenberg, S., Wang, B. and Gnjatic, S. 2020. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. Nature Medicine, 26(10): 1636-1643.

Di Resta, C., Ferrari, D., Viganò, M., Moro, M., Sabetta, E., Minerva, M., ... & Tomaiuolo, R. 2021. The gender impact assessment among healthcare workers in the SARS-CoV-2 vaccination—An analysis of serological response and side effects. Vaccines, 9(5): 522.

Donnelly, R. and Patrinos, H. A. 2021. Learning loss during COVID-19: An early systematic review. Prospects, 1-9.

Eljilany, I. and Elzouki, A. N. 2020. D-dimer, fibrinogen, and IL-6 in COVID-19 patients with suspected venous thromboembolism: a narrative review. Vascular Health and Risk Management, 16: 455.

Enard, D., Cai, L., Gwennap, C. and Petrov, D. A. 2016. Viruses are a dominant driver of protein adaptation in mammals. Elife, 5: 12469.

Eyster, C. A., Higginson, J. D., Huebner, R., Porat-Shliom, N., Weigert, R., Wu, W. W. and Donaldson, J. G. 2009. Discovery of new cargo proteins that enter cells through clathrin-independent endocytosis. Traffic, 10(5): 590-599.

Falahi, S., Zamanian, M. H., Feizollahi, P., Rezaiemanesh, 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: 155889.

Giamarellos-Bourboulis, E. J., Netea, M. G., Rovina, N., Akinosoglou, K., Antoniadou, A., Antonakos, N. and Koutsoukou, A. 2020. Complex immune dysregulation in COVID-19 patients with severe respiratory failure. Cell Host & Microbe, 27(6): 992-1000.

Guan, W. J., Ni, Z. Y., Hu, Y., Liang, W. H., Ou, C. Q., He, J. X. and Zhong, N. S. 2020. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. New England Journal of Medicine, 382(18): 1708-1720.

Guo, L., Ren, L., Yang, S., Xiao, M., Chang, D., Yang, F. and Wang, J. 2020. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). Clinical Infectious Diseases, 71(15): 778-785.

Haematology, T. L. 2020. COVID-19 coagulopathy: an evolving story. The Lancet. Haematology, 7(6): e425.

Hajsadeghi, S., Kerman, S. R., Khojandi, M., Vaferi, H., Ramezani, R., Jourshari, N. M. and Pouraliakbar, H. 2012. Accuracy of D-dimer: fibrinogen ratio to diagnose pulmonary thromboembolism in patients admitted to intensive care units: cardiovascular topic. Cardiovascular Journal of Africa, 23(8): 446-456.

Harrison, S. C. 2015. Viral membrane fusion. Virology, 479: 498-507.

Harvey, W. T., Carabelli, A. M., Jackson, B., Gupta, R. K., Thomson, E. C., Harrison, E. M. and Robertson, D. L. 2021. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. Nature Reviews Microbiology, 19(7): 409-424.

Hashemi, S. M. A., Thijssen, M., Hosseini, S. Y., Tabarraei, A., Pourkarim, M. R. and Sarvari, J. 2021. Human gene polymorphisms and their possible impact on the

clinical outcome of SARS-CoV-2 infection. Archives of Virology, 166(8): 2089-2108.

Hoiland, R. L., Fergusson, N. A., Mitra, A. R., Griesdale, D. E., Devine, D. V., Stukas, S. and Sekhon, M. S. 2020. The association of ABO blood group with indices of disease severity and multiorgan dysfunction in COVID-19. Blood Advances, 4(20): 4981-4989.

Hopfer, H., Herzig, M. C., Gosert, R., Menter, T., Hench, J., Tzankov, A. and Miller, S. E. 2021. Hunting coronavirus by transmission electron microscopy–a guide to SARS-CoV-2-associated ultrastructural pathology in COVID-19 tissues. Histopathology, 78(3): 358-370.

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.

Hulswit, R. J. G., De Haan, C. A. M. and Bosch, B. J. 2016. Coronavirus spike protein and tropism changes. Advances in Virus Research, 96: 29-57.

Jones, S. A. and Jenkins, B. J. 2018. Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer. Nature Reviews Immunology, 18(12): 773-789.

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.

Kerget, F. and Kerget, B. 2021. Frequency of interleukin-6 rs1800795 (-174G/C) and rs1800797 (-597G/A) polymorphisms in COVID-19 patients in Turkey who develop macrophage activation syndrome. Japanese Journal of Infectious Diseases, 74: 543-8.

Kim, Y. J., Jang, U. S., Soh, S. M., Lee, J. Y. and Lee, H. R. 2021. The impact on infectivity and neutralization efficiency of SARS-CoV-2 lineage B. 1.351 pseudovirus. Viruses, 13(4): 633.

Klok, F. A., Boon, G. J., Barco, S., Endres, M., Geelhoed, J. M., Knauss, S. and Siegerink, B. 2020. The Post-COVID-19 Functional Status scale: a tool to measure functional status over time after COVID-19. European Respiratory Journal, 56(1).

Latz, C. A., DeCarlo, C., Boitano, L., Png, C. Y., Patell, R., Conrad, M. F. and Dua, A. 2020. Blood type and outcomes in patients with COVID-19. Annals of Hematology, 99(9): 2113-2118.

Lawrence, S. O. and Simpson-Haidaris, P. J. 2004. Regulated de novo biosynthesis of fibrinogen in extrahepatic epithelial cells in response to inflammation. Thrombosis and Haemostasis, 92(08): 234-243.

Lisa. P. F., Hibberd, M. L., Ooi, E. E., Tang, K. F., Neo, S. Y., Tan, J. and Ren, E. C. 2004. A human in vitro model system for investigating genome-wide host responses to SARS coronavirus infection. BMC Infectious Diseases, 4(1): 1-11.

Lorusso, A., Calistri, P., Petrini, A., Savini, G. and Decaro, N. 2020. Novel coronavirus (SARS-CoV-2) epidemic: a veterinary perspective. Veterinaria Italiana, 56(1): 5-10.

Lu, M., Wu, J., Hao, Z. W., Shang, Y. K., Xu, J., Nan, G. and Bian, H. 2018. Basolateral CD147 induces hepatocyte polarity loss by E-cadherin ubiquitination and degradation in hepatocellular carcinoma progress. Hepatology, 68(1): 317-332.

Marone, E. M. and Rinaldi, L. F. 2020. Upsurge of deep venous thrombosis in patients affected by COVID-19: preliminary data and possible explanations. Journal of Vascular Surgery: Venous and Lymphatic Disorders, 8(4): 694-695.

Maugeri, N., De Lorenzo, R., Clementi, N., Antonia Diotti, R., Criscuolo, E., Godino, C. and Manfredi, A. A. 2022. Unconventional CD147-dependent platelet activation elicited by SARS-CoV-2 in COVID-19. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 20(2): 434-448.

McGonagle, D., Sharif, K., O'Regan, A. and Bridgewood, C. 2020. The role of cytokines including interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease. Autoimmunity Reviews, 19(6): 102537.

Merza, M. Y., Hwaiz, R. A., Hamad, B. K., Mohammad, K. A., Hama, H. A. and Karim, A. Y. 2021. Analysis of cytokines in SARS-CoV-2 or COVID-19 patients in Erbil city, Kurdistan Region of Iraq. Plos One, 16(4): e0250330.

Miyauchi, T., Masuzawa, Y. and Muramatsu, T. 1991. The basigin group of the immunoglobulin superfamily: complete conservation of a segment in and around transmembrane domains of human and mouse basigin and chicken HT7 antigen. The Journal of Biochemistry, 110(5): 770-774.

Muñiz-Diaz, E., Llopis, J., Parra, R., Roig, I., Ferrer, G., Grifols, J. and Contreras, E. 2021. Relationship between the ABO blood group and COVID-19 susceptibility, severity and mortality in two cohorts of patients. Blood Transfusion, 19(1): 54.

Muramatsu, T. 2012. Basigin: a multifunctional membrane protein with an emerging role in infections by malaria parasites. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 16(10): 999-1011.

Narazaki, M. and Kishimoto, T. 2018. The two-faced cytokine IL-6 in host defense and diseases. International Journal of Molecular Sciences, 19(11): 3528.

Nguyen, L. T. and Ohashi, P. S. 2015. Clinical blockade of PD1 and LAG3—potential mechanisms of action. Nature Reviews Immunology, 15(1): 45-56.

Parums, D. V. 2021. Revised World Health Organization (WHO) terminology for variants of concern and variants of interest of SARS-CoV-2. Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research, 27: e933622-1.

Peacock, S. J. 2022. SARS-CoV-2 variants: past, present and future. Socio-Life Science and the COVID-19 Outbreak, 3-23.

Qian, S., Gao, Z., Cao, R., Yang, K., Cui, Y., Li, S. and Li, Z. 2020. Transmissible gastroenteritis virus infection up-regulates fcrn expression via nucleocapsid protein and secretion of tgf-β in porcine intestinal epithelial cells. Frontiers in Microbiology, 10: 3085.

Ro, M., Won, S., Kang, H., Kim, S. Y., Lee, S. K., Nam, M. and Kwack, K. 2013. Association of the FGA and SLC6A4 genes with autistic spectrum disorder in a Korean population. Neuropsychobiology, 68(4): 212-220.

Rose-John, S., Winthrop, K. and Calabrese, L. 2017. The role of IL-6 in host defence against infections: immunobiology and clinical implications. Nature Reviews Rheumatology, 13(7): 399-409.

Rybarczyk, B. J., Lawrence, S. O. and Simpson-Haidaris, P. J. 2003. Matrix-fibrinogen enhances wound closure by increasing both cell proliferation and migration. Blood, 102(12): 4035-4043.

Saitoh, S., Maruyama, T., Yako, Y., Kajita, M., Fujioka, Y., Ohba, Y. and Fujita, Y. 2017. Rab5-regulated endocytosis plays a crucial role in apical extrusion of transformed cells. Proceedings of the National Academy of Sciences, 114(12): E2327-E2336.

Samadizadeh, S., Masoudi, M., Rastegar, M., Salimi, V., Shahbaz, M. B. and Tahamtan, A. 2021. COVID-19: Why does disease severity vary among individuals?. Respiratory Medicine, 180: 106356.

Sambrook, J. and Russell, D. W. 2006. The condensed protocols: from molecular cloning: a laboratory manual (No. Sirsi) i9780879697723). Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 800 page, New York.

Schraer, R. 2020. Covid: New variant found 'due to hard work of UK scientists. BBC News, 20(12).

Seif, F., Aazami, H., Khoshmirsafa, M., Kamali, M., Mohsenzadegan, M., Pornour, M. and Mansouri, D. 2020. JAK inhibition as a new treatment strategy for patients with COVID-19. International Archives of Allergy and Immunology, 181(6): 467-475.

Serpeloni, J. M., Neto, Q. A. L., Lucio, L. C., Ramao, A., De Oliveira, J. C., Gradia, D. F. and Cavalli, L. R. 2021. Genome interaction of the virus and the host genes and non-coding RNAs in SARS-CoV-2 infection. Immunobiology, 226(5): 152130.

Shilts, J., Crozier, T. W., Greenwood, E. J., Lehner, P. J. and Wright, G. J. 2021. No evidence for basigin/CD147 as a direct SARS-CoV-2 spike binding receptor. Scientific Reports, 11(1): 1-10.

Słońska, A., Cymerys, J. and Bańbura, M. W. 2016. Mechanisms of endocytosis utilized by viruses during infection. Advances in Hygiene and Experimental Medicine, 70: 572-580.

Snell, J. 2021. SARS-CoV-2 infection and its association with thrombosis and ischemic stroke: a review. The American Journal of Emergency Medicine, 40: 188-192.

Song, J., Duncan, M. J., Li, G., Chan, C., Grady, R., Stapleton, A. and Abraham, S. N. 2007. A novel TLR4-mediated signaling pathway leading to IL-6 responses in human bladder epithelial cells. PLoS Pathogens, 3(4): e60.

Sugden, J. 2021. How the U.K. became World leader in sequencing the coronavirus genome. The Wall Street Journal, 21(6).

Tang, N., Li, D., Wang, X. and Sun, Z. 2020. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 18(4): 844-847.

Team, E. 2020. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19)—China, 2020. China CDC Weekly, 2(8): 113.

Tegally, H., Wilkinson, E., Giovanetti, M., Iranzadeh, A., Fonseca, V., Giandhari, J. and De Oliveira, T. 2020. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. MedRxiv, 20(2).

Thachil, J., Tang, N., Gando, S., Falanga, A., Cattaneo, M., Levi, M. and Iba, T. 2020. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 18(5): 1023-1026.

Torjesen, I. 2021. Covid-19: Omicron may be more transmissible than other variants and partly resistant to existing vaccines, scientists fear. BMJ, 21(3): 1-5.

Vatansever, H. S. and Becer, E. 2020. Relationship between IL-6 and COVID-19: to be considered during treatment. Future Virology, 15(12): 817-822.

Vogel, G. 2020. 'These are answers we need.'WHO plans global study to discover true extent of coronavirus infections. Science, 20: 1-7.

Wang, D., Hu, B., Hu, C., Zhu, F., Liu, X., Zhang, J. and Peng, Z. 2020. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China. Jama, 323(11): 1061-1069.

Wang, K. E., Chen, W., Zhang, Z., Deng, Y., Lian, J. Q., Du, P. and Chen, Z. N. 2020. CD147-spike protein is a novel route for SARS-CoV-2 infection to host cells. Signal Transduction and Targeted Therapy, 5(1): 1-10.

Wei, C., Shan, K. J., Wang, W., Zhang, S., Huan, Q. and Qian, W. 2021. Evidence for a mouse origin of the SARS-CoV-2 Omicron variant. Journal of Genetics and Genomics, 48(12): 1111-1121.

Weir, A. B. 2008. Hazard identification and risk assessment for biologics targeting the immune system. Journal of Immunotoxicology, 5(1): 3-10.

WHO, World Health Organization. 2020. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): situation report, 51.

Yu, X. L., Hu, T., Du, J. M., Ding, J. P., Yang, X. M., Zhang, J. and Chen, Z. N. 2008. Crystal structure of HAb18G/CD147: implications for immunoglobulin superfamily homophilic adhesion. Journal of Biological Chemistry, 283(26): 18056-18065.

Zahradnik, J., Tuekprakhon, A., Ginn, H. M., Duyvesteyn, H. M., Bahar, M., Khan, S. and Stuart, D. I. 2021. Receptor binding and escape from Beta antibody responses drive Omicron-B. 1.1. 529 evolution. BioRxiv, 21(1).

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, J., Walters, E. H., Tang, M. L., Lowe, A. J., Lodge, C. J., Bui, D. and Dharmage, S. C. 2020. Serum cytokine concentrations and asthma persistence to middle age. Allergy, 75(11): 2985-2988.

Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z. and Cao, B. 2020. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. The Lancet, 395(10229): 1054-1062.

Zimmer, C. 2021. A planet of viruses. University of Chicago Press, 144 page, Chicago.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Athmar Azhar Ibrahim AL-SHADOOD

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-Halen
Lisans	Mazaya Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Biyoloji Bölümü	2013-2017